



УДК 577.164.16;615.28;615.277.3

# ВИТАМИН В<sub>12</sub> В СИСТЕМАХ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

© 2024 г. А. А. Скуредина\*, #, Д. Е. Ялама\*, И. М. Ле-Дейген\*

\* Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет,  
Россия, 119991 Москва, Ленинские горы, 1/3

Поступила в редакцию 16.03.2024 г.

После доработки 24.03.2024 г.

Принята к публикации 25.03.2024 г.

Витамин В<sub>12</sub> – жизненно необходимое биологически активное соединение для человека, участвующее в широком круге метаболических процессов. Распространенность дефицита витамина В<sub>12</sub> и его низкая проникающая способность в клетки обуславливает актуальность разработки систем доставки для создания лекарственных формуляций с улучшенными биофармацевтическими свойствами. В данной работе представлена краткая характеристика основных химических и биохимических свойств витамина В<sub>12</sub>, а также обсуждаются пероральные, инъекционные и трансдермальные многокомпонентные лекарственные формы витамина В<sub>12</sub>, которые направлены на решение данной проблемы. Более того, представлен анализ литературы по перспективам использования витамина В<sub>12</sub> в качестве вспомогательного компонента для пассивной и активной доставки других лекарственных молекул, например, пептидно-нуклеиновых кислот и противоопухолевых препаратов. В обзоре подробно рассмотрены типы предлагаемых систем доставки биологически активных соединений с использованием витамина В<sub>12</sub> в качестве одного из компонентов.

*Ключевые слова:* витамин В<sub>12</sub>, системы доставки лекарств

**DOI:** 10.31857/S0132342324060047, **EDN:** NFULKV

## СОДЕРЖАНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ	763
2. ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВИТАМИНА В <sub>12</sub>	763
3. МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ БИОДОСТУПНОСТИ В <sub>12</sub>	765
4. СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ВИТАМИНА В <sub>12</sub>	767
4.1. Регуляция физико-химических свойств В <sub>12</sub> при инкапсуляции в систему доставки	767
4.2. Трансдермальные системы доставки В <sub>12</sub>	769
4.3. Комбинированные системы доставки В <sub>12</sub> с другими витаминами	770
5. ВИТАМИН В <sub>12</sub> В КАЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТА СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ДЛЯ ДРУГИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ	771
5.1. Конъюгаты В <sub>12</sub> и их антибактериальная активность	771
5.2. Светочувствительные конъюгаты В <sub>12</sub>	773
5.3. Конъюгаты В <sub>12</sub> с противоопухолевыми препаратами	774
5.4. Использование В <sub>12</sub> в системе доставки других лекарственных компонентов	774
6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	776
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	777

Сокращения: В<sub>12</sub> – витамин В<sub>12</sub>; ПНК – пептидно-нуклеиновые кислоты.

# Автор для связи: (эл. почта: anna.skuredina@yandex.ru).

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Витамин В<sub>12</sub> (В<sub>12</sub>) необходим для осуществления многочисленных биохимических процессов, в том числе синтеза и обмена белков, углеводов, липидов, созревания эритроцитов и миелинового слоя. Поскольку В<sub>12</sub> не синтезируется *in vivo* (за исключением некоторых прокарриот и архей), он попадает в организм человека посредством приема пищи. Основным источником В<sub>12</sub> – продукты животного происхождения (мясо, молоко, рыба и т.д.); лишь небольшую долю вещества можно получить с помощью растительной пищи, например, сушеных зеленых водорослей [1, 2].

Недостаток В<sub>12</sub> в клетках может возникать в результате наследственных факторов, которые обуславливают снижение всасываемости витамина В<sub>12</sub> в кишечнике: мутациях в генах *CUBN* и *AMN* (синдром Иммерслунд–Гресбека) или различных мутациях гена *GIF* (мутации в сайтах сплайсинга, частичная делеция гена и др.) [3, 4]. Кроме того, дефицит В<sub>12</sub> наблюдается при повышенной потребности в нем (например, при беременности), неполноценного питания, нарушения всасываемости витамина (в том числе впоследствии хирургических вмешательств в желудочно-кишечный тракт), дефицита транспортных белков и др. При выраженном дефиците В<sub>12</sub> наблюдаются системные нарушения со стороны кроветворной, нервной и эндокринной систем, атрофии слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта и развитие характерной клиники фуникулярного миелоза (повреждение спинного мозга).

Суточная потребность взрослого человека в витамине В<sub>12</sub> составляет 2.4 мкг. Для восполнения дефицита В<sub>12</sub> рекомендуется пероральное применение форм препарата или парентеральные (чаще внутримышечные) инъекции. Используют дозы 100–200 мкг/сут через день, а в случае нарушения функции нервной системы дозировку увеличивают до 500 мкг/сут в первую неделю ежедневно, далее – с интервалами между введениями до 5–7 дней [5]. Остро стоит проблема восполнения дефицита В<sub>12</sub> у пациентов с существенными нарушениями ЖКТ, такими как целиакия и болезнь Крона, а также у пациентов после операций (уменьшение желудка и/или перестраивание кишечника вследствие бариатрической хирургии, резекция желудка или кишечника, особенно подвздошной кишки) [6, 7], поскольку пероральный прием препарата не приводит к удовлетворительным результатам, а пожизненная инъекционная терапия снижает качество жизни и сопряжена с развитием местных осложнений.

В качестве альтернативы для таких пациентов могут использоваться назальные формы В<sub>12</sub>, для которых характерна биодоступность 2–5%, что соответствует показателю при пассивной адсорбции витамина в кишечнике [8]. Результаты клинических испытаний назальной формы В<sub>12</sub> CureSupport (Нидерланды) [9], проведенных на 51 пациенте с синдромом хронической усталости, показали увеличение концентрации В<sub>12</sub> в плазме крови в 3 раза через 3 месяца введения по 5 мг – по одной капле в каждую ноздрию 2 раза в неделю.

Также в качестве альтернативы существуют сублингвальные формы В<sub>12</sub>. Согласно ретроспективному анализу перспективности использования таких систем в терапии, было показано [10], что прием сублингвальной формы Contract Pharmacal Corp. (США) позволяет повысить концентрацию В<sub>12</sub> в крови до уровня, который примерно соответствует результатам при внутримышечных инъекциях. К достоинствам такой формы введения относятся удобство и простота использования, что положительно сказывается на соблюдении пациентом рекомендаций врачей при длительной терапии.

В последнее время предлагается использовать В<sub>12</sub> не в свободной форме, а в комплексе с наноматериалами различной химической природы. При инкапсуляции препарата в систему доставки (носитель) возможно достижение замедленного высвобождения В<sub>12</sub> и увеличение его биодоступности. Подобные системы представляют собой перспективные материалы с точки зрения удобной формы В<sub>12</sub> для высокоэффективной терапии дефицита витамина [8]. С другой стороны, в литературе предлагается использовать В<sub>12</sub> для решения и других важных биомедицинских задач. В частности, в связи с особенностями некоторых свойств В<sub>12</sub> возможно его использование с целью направленной регуляции характеристик другой биологически активной молекулы.

Данный обзор посвящен исследованию существующих систем доставки, содержащих В<sub>12</sub> в качестве основного или вспомогательного компонента, для определения наиболее перспективной траектории поиска новых высокоэффективных лекарственных форм.

## 2. ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВИТАМИНА В<sub>12</sub>

В<sub>12</sub> относится к водорастворимым витаминам В-группы (растворимость в воде ~10 мг/мл [11]). С химической точки зрения под термином “витамин В<sub>12</sub>” зачастую понимают круг корриноидных

соединений (макроциклов, схожих с порфиринами). Присутствие иона кобальта обуславливает более распространенное название этой группы соединений – кобаламины (рис. 1): 5'-дезоксиаденозилкобаламин, метилкобаламин, гидроксокобаламин и глутатионилкобаламин и др. Среди всех кобаламинов наиболее часто в работах упоминается цианокобаламин – наиболее стабильная форма  $V_{12}$ . Вместе с гидроксокобаламином они представляют собой витамеры, т.е. соединения со схожей структурой и биологической функцией в организме.

Часть молекулы  $V_{12}$ , связанная с кобальтом (корриновое кольцо), имеет плоское строение. В перпендикулярной плоскости расположен нуклеотидный фрагмент. Образованная структура носит название кобаламина. Шесть ковалентных связей кобальта распределены следующим образом: четыре связи – с атомами азота корринового кольца, одна связь – с азотом в нуклеотидном фрагменте, а шестая связь – с цианогруппой (для цианокобаламина), метильной группой (для метилкобаламина) и т.д. [12].

Стабильность цианокобаламина зависит от условий среды, в том числе от pH и температуры. Например, в работе [13] показано, что наибольшее значение времени полужизни ( $t_{1/2}$ ) витамина наблюдается при pH 6 и 4°C ( $t_{1/2} = 231$  день). При нагреве растворов до 37°C увеличивается скорость деградации  $V_{12}$ : наблюдается снижение  $t_{1/2}$  в ~2 раза. Важно отметить, что значение pH в большей степени оказывает влияние на стабильность цианокобаламина. Так, при 37°C

для pH 6  $t_{1/2}$  составляет 116 дней, а при pH 2  $t_{1/2}$  – 8 дней.

Связанный с белками  $V_{12}$  попадает в пищеварительную систему с пищей (рис. 2). Высвобождение  $V_{12}$  происходит в желудке в результате кислотного гидролиза белков, после чего витамин образует комплекс с белком транскобаламином I, что позволяет защитить  $V_{12}$  от возможных химических превращений в агрессивной среде желудка [2].

Комплекс  $V_{12}$ –транскобаламин I разрушается панкреатическими ферментами в двенадцатиперстной кишке. Путем пассивной диффузии энтероциты поглощают не более 2%  $V_{12}$ , поэтому ключевым аспектом, усиливающим дальнейший транспорт витамина, является образование его комплекса с гликопротеином внутренним фактором (фактором Кастла), который кодируется геном *CUBN*. Внутренний фактор обеспечивает поглощение  $V_{12}$  путем рецептор-опосредованного эндоцитоза на апикально экспрессируемом рецепторе (кубулин). При дефиците или в отсутствие фактора Кастла в значительной степени снижается эффективность всасывания витамина  $V_{12}$ .

Спустя 2.5–4 ч после первоначального приема  $V_{12}$  попадает в кровь в комплексе с белком транскобаламином II. После рецептор-опосредованного (TCbIR) проникновения в целевые клетки свободный  $V_{12}$  высвобождается в результате деградации комплекса в лизосомах. Внутри клеток вне зависимости от формы  $V_{12}$  с помощью ряда ферментов и шаперонов витамин переводится в метилкобаламин (преобладающая форма  $V_{12}$  в плазме крови) или в 5'-дезоксиаденозилкобаламин

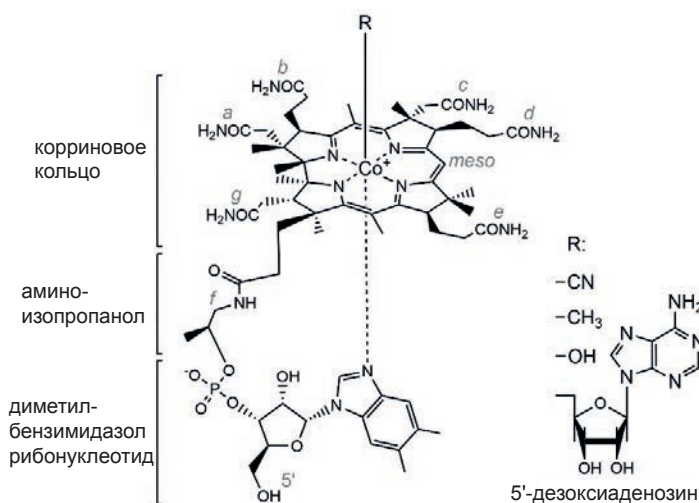
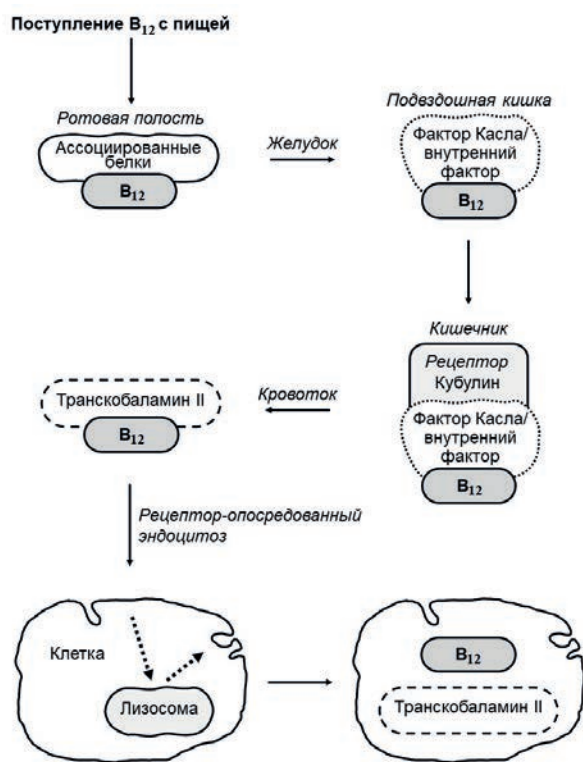


Рис. 1. Химические структуры кобаламинов.

3. МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ  
БИОДОСТУПНОСТИ В<sub>12</sub>Рис. 2. Схема метаболизма витамина В<sub>12</sub> [32].

(преобладающая форма в тканях) [2, 14]. Таким образом, В<sub>12</sub> связывается с большим количеством белков, что необходимо учитывать при его использовании в качестве компонента системы доставки. Этот аспект подробнее будет рассмотрен далее.

В<sub>12</sub> участвует в большом количестве жизненно важных химических реакций. Так, аденозилкобаламин необходим для получения сукцинил-КоА, интермедиата цикла Кребса, а метилкобаламин – для превращения гомоцистеина в метионин. Преимущественно В<sub>12</sub> выступает в качестве кофактора или кофермента. Кобаламин-зависимые ферменты можно разделить на четыре основных класса, которые включают процессы метилирования, изомеризации, восстановительного дегалогенирования. Таким образом, дефицит В<sub>12</sub> может повлиять на широкий спектр биохимических реакций, затрагивающих метаболизм ДНК, гормонов, жиров и белков. Кроме того, происходит накопление продуктов метаболизма в плазме и моче, например, метилмалоновой кислоты, которая при высоких концентрациях токсична [8, 12].

Основной недостаток существующих методов восполнения дефицита В<sub>12</sub> при пероральном применении – низкая биодоступность препарата. Принимая во внимание разветвленную схему метаболизма В<sub>12</sub> (рис. 2), можно выделить две основные функциональные структуры, которые в наибольшей степени влияют на проникновение препарата в клетки: транспортные белки и поверхность эндоцитов.

Ramalho et al. [15] задавались вопросом о роли биомембран в биодоступности В<sub>12</sub> и исследовали взаимодействие В<sub>12</sub> с модельными биомембранами с целью выявления роли липидного состава везикул на распределение и проникновение В<sub>12</sub>. Везикулы были получены на основе мажорных фосфолипидов биомембран эукариот (1,2-димиристоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин, сфингомиелин и холестерин). Авторы исследовали коэффициент распределения В<sub>12</sub>, а также локализацию витамина в бислое, его влияние на текучесть липидной мембраны. В<sub>12</sub> продемонстрировал высокое сродство к мембранам, при этом наиболее вероятно В<sub>12</sub> локализован вблизи гидрофильных фрагментов липидов, но также способен проникать в толщу бислоя. Взаимодействие В<sub>12</sub> с везикулами не обуславливает изменение текучести мембран. Авторы пришли к выводу, что количество типов липидов в бислое – это основной фактор, регулирующий взаимодействие В<sub>12</sub> с бислоем. Увеличение сложности архитектуры, упорядоченности и жесткости бислоя способствуют снижению возможной диффузии молекул. Тем не менее на основании результатов исследования можно предположить, что низкая биодоступность витамина не обусловлена только невысоким взаимодействием В<sub>12</sub> с биологическими мембранами.

Ранее обсуждалось, что недостаток белков, а именно транскобаламинов и внутреннего фактора, может способствовать возникновению дефицита В<sub>12</sub>. Таким образом, использование комплекса белок–В<sub>12</sub> может способствовать увеличению биодоступности вещества. В 2018 г. для увеличения биодоступности В<sub>12</sub> в литературе были описаны еще три основных подхода (табл. 1). Важно отметить, что до сих пор не определена наиболее успешная стратегия разработки высокоэффективных терапевтических форм В<sub>12</sub>.

Наиболее простым решением могут показаться альтернативные способы введения В<sub>12</sub>.



**Таблица 1.** Основные методы увеличения биодоступности  $B_{12}$  [48]

№	Метод	Примеры дополнительных компонентов	Степень изученности в литературе	Недостатки метода
1	Использование комплекса $B_{12}$ с веществами, обуславливающими усиление пероральной адсорбции	Салькапрозат натрия, внутренний фактор, транскобаламин, D-сорбитол и др.	Средняя	Неизвестны задействованные механизмы, неочевиден потенциальный эффект улучшения абсорбции
2	Альтернативные методы введения $B_{12}$	Пероральные, трансдермальные, сублингвальные формы, внутримышечные инъекции и др.	Средняя	Отсутствуют клинические исследования по сравнению различных форм введения
3	Альтернативные биотехнологические подходы	Рекомбинантный внутренний фактор, генно-модифицированные микроорганизмы – продуценты $B_{12}$ и др.	Низкая	Нерациональность использования и высокая стоимость
4	Системы доставки	Инкапсуляция $B_{12}$ в носители различной природы (неорганические и органические)	Средняя	Отсутствуют клинические обоснования для использования у человека

В метаанализе 2024 г. обсуждается вопрос о наиболее эффективном способе приема  $B_{12}$  [16]. Авторы выбрали 13 публикаций, из них 8 – рандомизированные клинические испытания, которые удовлетворяли ряду критериев: исследования проводились на пациентах с дефицитом  $B_{12}$ , экспериментальная и контрольные группы получали  $B_{12}$  разными способами, оценивали концентрацию  $B_{12}$  или  $B_{12}$ -ассоциированного показателя (фолиевая кислота, гемоглобин, гематокрит, средний объем эритроцитов, гомоцистеин плазмы, метилмалоновая кислота в моче, лейкоциты и тромбоциты). Показано, что повышение уровня  $B_{12}$  в крови наиболее выражено для внутримышечных инъекций, далее идут подъязычные формы и на последнем месте – пероральное применение. Однако, как отмечают авторы, другие исследуемые показатели (общий анализ крови и концентрация гомоцистеина), а также клинические проявления были сопоставимы для всех трех способов введения  $B_{12}$ . Таким образом, все перечисленные способы введения  $B_{12}$  в организм обуславливают сравнимый терапевтический результат, но с точки зрения переносимости пациентами, преимуществ и недостатков каждого способа сублингвальный способ предпочтительнее внутримышечного и перорального. Тем не менее требуются более масштабные исследования для подтверждения данного результата.

На сегодняшний день развиваются альтернативные биотехнологические подходы для прео-

доления дефицита  $B_{12}$  (табл. 1, № 3). Например, в работе [17] предлагается использовать микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* в качестве дополнительного источника  $B_{12}$ , что особенно актуально для вегетарианцев. Авторы проводят обогащение клеток витамином  $B_{12}$  посредством вставки кодируемого участка человеческого внутреннего фактора в ген *PSAD* и последующей экспрессии белка в цитоплазме и внеклеточном пространстве. Показано, что в случае цитоплазматического фактора Касла концентрация  $B_{12}$  в клеточных лизатах выше, чем в контрольном штамме. Тем не менее биотехнологические подходы недостаточно изучены и не позволяют определить рациональность использования дополнительных компонентов, которые могут иметь высокую стоимость (в первую очередь, технологии их получения). Кроме того, недостаток исследований не позволяет предсказать, какие механизмы задействованы в регуляции биодоступности  $B_{12}$  и на сколько данный показатель возможно увеличить.

Современные достижения инструментальных методов исследования и разнообразные подходы к дизайну наноматериалов открывают новые возможности для разработки высокоэффективных лекарственных форм. Таким образом, наиболее популярный подход к разработке новых форм  $B_{12}$  – использование различных систем доставки, чаще всего для перорального введения [8].

#### 4. СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ВИТАМИНА В<sub>12</sub>

##### 4.1. Регуляция физико-химических свойств В<sub>12</sub> при инкапсуляции в систему доставки

Описанные в литературе исследования систем доставки В<sub>12</sub> в основном нацелены на предотвращение неспецифического распределения витамина, а также разработки систем с контролируемым высвобождением. Данные задачи особенно важны для целенаправленной доставки В<sub>12</sub> в костный мозг и нервные клетки для восстановления миелина. Инкапсуляция В<sub>12</sub> в разнообразные носители способствует повышению биодоступности витамина, снижению частоты введения препарата, а также снижению стоимости продукции. Таким образом, подобные системы обладают значительными преимуществами для пациентов [8].

Некоторые примеры систем доставки В<sub>12</sub> представлены в табл. 2. В качестве носителей в большинстве случаев используются матрицы из органических веществ различной природы: полисахариды, синтетические полиэлектролиты, липиды и полипептиды. Чаще всего предлагаемые носители используют не в чистом виде, их подвергают модификации разнообразными агентами для регуляции свойств полученного высокомолекулярного вещества. Так, во многих работах показано, что сшивка цепей полимера обуславливает более выраженное замедленное высвобождение инкапсулированного В<sub>12</sub>.

Тем не менее не все системы доставки способны обеспечить замедленное высвобождение витамина В<sub>12</sub>. Так, в работе [18] методом распылительной сушки были получены сферические микрочастицы (3 мкм в диаметре) на основе одного из трех биополимеров: хитозана, карбоксилированного хитозана и альгината. В данных системах был инкапсулирован В<sub>12</sub> или витамин С. В зависимости от химической природы носителя наблюдалась различная скорость высвобождения в деионизированную воду для обоих препаратов: 100%-ное высвобождение наблюдается в течение 120 мин для хитозана, 15–20 мин – для модифицированного хитозана и альгината. Авторы связывают скорость высвобождения препарата с морфологией микрочастиц – замедление характерно для образцов с более грубой поверхностью.

Предложены гибридные микрогели [19], полученные методом эмульсионной полимеризации, на основе хитозана и непористого силикагеля, модифицированных винильными группами.

В зависимости от массового соотношения исходных полимеров были получены образцы микрогелей, способные высвободить 100% инкапсулированного В<sub>12</sub> за 45–60 мин. Столь быстрое высвобождение авторы связывают с высокой гидрофильностью В<sub>12</sub>, а также с тем фактом, что при pH 1.2 и 7.4 протонированные группы хитозана отталкиваются друг от друга, формируя каналы в геле, что снижает стерические затруднения для витамина В<sub>12</sub>.

Согласно табл. 2, помимо профиля высвобождения витамина также исследуется и другой важный параметр – степень инкапсуляции В<sub>12</sub> в носитель. Как правило, витамин вносится в раствор материала на этапе его получения/синтеза или готовый носитель вымачивается в растворе В<sub>12</sub>. После очистки системы доставки от несвязавшегося вещества проводят определение степени включения В<sub>12</sub> относительно добавленного количества. В целом для В<sub>12</sub> характерны степени включения >30%, при этом часто этот параметр достигает значений >80%.

В большинстве работ предложенные нано- и микрочастицы, волокна и гидрогели охарактеризованы с точки зрения морфологии поверхности материала, а также их физико-химических свойств. Результаты испытаний *in vitro* и *in vivo*, как правило, получены с использованием клеточного монослоя эукариотических клеток и исследований фармакокинетических параметров на животных моделях (грызунах) соответственно.

Для исследования влияния носителя на проникающую способность В<sub>12</sub> в клетки использовали монослой аденокарциномы Сасо-2, моделирующий энтероциты, выстилающие тонкую кишку. Проницаемость препаратов изучают в двух направлениях (от апикальной стороны к базолатеральной и наоборот) на монослое 20-дневной клеточной культуры на микропористом фильтре. По изменению концентрации вещества во внешнем растворе с учетом площади клеточной поверхности рассчитывали коэффициент проницаемости  $P_{app}$  (apparent permeability coefficient, см/с), а также индекс асимметрии транспорта. Возможно проведение корреляции между данными *in vitro* и ожидаемыми результатами *in vivo*: при значениях  $P_{app} \sim 10^{-6}$  см/с препарат полностью (на 100%) адсорбируется в желудочно-кишечном тракте, а при  $P_{app} \sim 10^{-7}$  см/с адсорбция препарата составляет менее 1%. Оптимальным диапазоном значений  $P_{app}$  считается  $10^{-6}$ – $10^{-5}$  см/с [20].

Инкапсуляция В<sub>12</sub> в системы доставки позволяет увеличить параметр  $P_{app}$  в несколько раз

Таблица 2. Системы доставки витамина В<sub>12</sub>

Тип системы	Химическая структура носителя В <sub>12</sub>	Тип включения В <sub>12</sub> в систему доставки	Степень включения В <sub>12</sub> в систему доставки*	Наиболее важные результаты	Ссылка
Полимерный носитель	Полиакриловая кислота, модифицированная цистеином	Добавление раствора с последующей лиофильной сушкой	–	Трехкратное увеличение площади под кривой (AUC) у крыс при пероральном введении	[49]
	Полимерные капсулы, полученные путем покрытия частиц карбоната кальция поли(гидрохлоридалимонамом) и поли(4-стиролсульфонатом)	Адсорбция из раствора	~100%	Формирование ассоциатов В <sub>12</sub> в полимерной капсуле	[50]
	Кубосомы на основе фитантриола и ппироника F127	Добавление раствора к высушенной липидной пленке	30%	В <sub>12</sub> стабилизирует липидную систему, выступая в роли структурообразующего элемента	[51]
	Гидрогель на основе желатина и дубильной кислоты	Адсорбция из раствора	–	Замедленное высвобождение В <sub>12</sub> из носителя (за 24 ч 50% при pH 1.2 и 70% при pH 7.4)	
	Микрокапсулы из полиакрилата, модифицированного L-цистеином	Добавление раствора к полимеру перед распылительной сушкой	~1% по массе относительно микрокапсул	Замедленное высвобождение В <sub>12</sub> (100% за 3 ч, pH 7.2). Увеличение проницаемости через монослой Сасо-2 и слизистой оболочки кишечника крысы в ~3.8 и ~4.8 раза соответственно	[52]
Полипептиды	pH-чувствительные материалы на основе модифицированных нанослоев монтмориллонита	Адсорбция из раствора	20–160 мг на 1 г носителя	Отсутствие наблюдаемого высвобождения В <sub>12</sub> при pH 1.2 и замедленные кинетики высвобождения витамина при pH 7.4 (<50%) за 400 мин	[53]
	Микрокапсулы, нановолокна и пленки на основе зеина, проламина кукурузы	Добавление раствора к белку перед распылительной сушкой или электроспиннинга	>60%	Замедленное высвобождение В <sub>12</sub> в этанол (100% наблюдается через 140–3000 мин в зависимости от формы носителя и способа его получения)	[54]
	Наночастицы из изолятов соевого белка	Добавление к раствору белка и внесение хлорида кальция	~10–13%	Увеличение проникновения В <sub>12</sub> через монослой Сасо-2 в 2–3 раза. Увеличение проникновения в 3–4-й участки тощей кишки крыс по сравнению с раствором свободного В <sub>12</sub>	[55]
Липидные системы доставки	Твердые липидные наночастицы	Добавление к липидной матрице в жидкокристаллической фазе	~92%	Замедленное высвобождение при pH 7.4 и 6.8 (только в первые 15 мин). Наночастицы локализуются в цитоплазме и мембране ядра клеточной линии H-Ras 5RP7 фибробластов, в то время как свободный В <sub>12</sub> обнаружен преимущественно вне клеток. Усиление цитотоксических свойств препарата (наиболее выраженное усиление составляет 53%)	[56]
	Липосомы и липосомы, функционализированные трансферрином	Добавление к липидной пленке	14–27%	Выраженное замедленное высвобождение В <sub>12</sub> : за 9 дней 20% в случае В <sub>12</sub> , инкапсулированного в липосомы, модифицированные трансферрином, а в случае свободного В <sub>12</sub> – 100% (pH 7.4)	[57]
Комплексные системы	Наночастицы на основе белков семян ячменя, α-токоферола и соевого фосфатидилхолина, модифицированные янтарным ангидридом	Добавление к исходной смеси компонентов	~70%	Замедленное высвобождение В <sub>12</sub> в присутствии пепсина и без пепсина при pH 2.0 и с панкреатином или без панкреатина при pH 7.4. Улучшение проникновения в монослой Сасо-2 в 20 раз, а также высокая степень поглощения клетками в присутствии ингибиторов различных путей эндоцитоза	[58]

\* Если не указано иное, степень включения рассчитывали как отношение количества инкапсулированного В<sub>12</sub> относительно количества В<sub>12</sub>, добавленного в систему.

(табл. 2). Во многих работах проводили анализ поглощения В<sub>12</sub> клетками Сасо-2 (в процентах относительно добавленного), а также определяли процент захваченных частиц. Отмечается, что инкапсуляция витамина в систему доставки приводила к значительному увеличению поглощения В<sub>12</sub> (от 2 до 20 раз).

Кроме того, особый интерес вызывает способность В<sub>12</sub> обуславливать нейропротекторные свойства *in vitro* как в свободном виде, так и в системе доставки. Так, в работе [15] была изучена многокомпонентная система для сублингвального и трансдермального применения. Авторы инкапсулировали В<sub>12</sub> в наночастицы, полученные из нескольких типов полимеров, и опционально впоследствии частицы помещали в матрицу нановолокна. Нейропротекторный потенциал синтезированных наноматериалов *in vitro* был изучен на клетках SH-SY5Y. Изначально к клеткам добавляли β-амилоидный пептид (Аβ<sub>1-42</sub>), который способствовал подавлению жизнеспособности клеток до 28.6%. Предложенные наноматериалы, содержащие В<sub>12</sub>, проявляли высокий нейропротекторный эффект, вероятно, из-за высокой дозы препарата и контролируемого высвобождения, что перспективно для разработки лекарственных форм с целью предотвращения нейродегенеративных заболеваний.

Таким образом, в качестве носителей для В<sub>12</sub> используются вещества различной природы, которые позволяют в значительной степени влиять на физико-химические и биологические свойства В<sub>12</sub>. Среди предложенных систем доставки наиболее часто исследуются высокомолекулярные соединения в форме нано- или микрочастиц. На сегодняшний день большинство авторов предлагает системы для перорального введения. Интересно, что в работе [21] рассмотрены микрочастицы на основе бычьего сывороточного альбумина для ингаляционного введения В<sub>12</sub>. Белок дополнительно покрывали мукоадгезивным полисахаридом пуллуланом. Система характеризовалась высокой степенью загрузки микрочастиц витамином В<sub>12</sub> (88%), продемонстрировала выраженное увеличение максимальной концентрации В<sub>12</sub> в крови при интратрахеальном введении крысам, а также увеличение биодоступности в 4.5 раза. Тем не менее на сегодняшний день в литературе ингаляционный способ введения В<sub>12</sub> описан в недостаточной степени. Помимо вышеперечисленных систем доставки В<sub>12</sub> среди исследователей очень популярны системы трансдермальной доставки

как наиболее простой и удобный способ введения В<sub>12</sub>.

#### 4.2. Трансдермальные системы доставки В<sub>12</sub>

В работе [22] были получены гибридные нановолокна на основе полисахарида хитозана и азолектина методом электроспиннинга. Авторы определили размеры, структуру, морфологию волокон, а также продемонстрировали отсутствие цитотоксичности на культуре клеток фибробластов мыши L929. Загрузку волокон витамином В<sub>12</sub> осуществляли путем замешивания исходной смеси хитозана и азолектина с раствором препарата перед проведением электроспиннинга. Показано замедленное высвобождение В<sub>12</sub> (100% свободного витамина во внешнем растворе наблюдается по истечении 48 ч). К сожалению, на основе представленных результатов невозможно оценить перспективы использования нановолокон, поскольку не было проведено исследований в системе, моделирующей кожный барьер.

Напротив, Yekrang et al. [23] для своих систем определили не только физико-химические параметры, но и характеристики *in vitro* с точки зрения механической прочности материала и его биodeградации, а также фармакокинетические параметры В<sub>12</sub> *in vivo*. В работе предложены пластыри на основе нановолокон из поливинилового спирта и хитозана, полученных методом электроспиннинга. В экспериментах *in vivo* крыс разделили на контрольную группу и группу, в которой животным помещали пластырь на область кожи между лопаток. Для второй группы показано увеличение уровня В<sub>12</sub> в крови на 22% (спустя 8 ч после нанесения пластыря), что указывает на успешное проникновение и перенос В<sub>12</sub> через кожный барьер, а также поступление препарата в кровоток. Согласно гистологическим исследованиям, нановолокна не способствуют повреждению кожного покрова, а также не обуславливают возникновение воспалительных процессов. Состояние эпидермиса и дермы в обеих группах было одинаковым. Важно отметить, что для регуляции свойств материала предложена модификация нановолокон посредством сшивки цепей хитозана глутаровым альдегидом. При исследовании влияния сшивки на физико-химические параметры пластыря показано более значительное замедление высвобождения В<sub>12</sub> (в фосфатный буфер, 37°C), снижение скорости биodeградации (на ~20%) и улучшение механических свойств.



Более глубокое исследование системы трансдермальной доставки  $V_{12}$  провели Ramöller et al. [24], которые предложили в качестве носителя  $V_{12}$  быстрорастворимые микроиглы из поливинилпирролидона. В первую очередь, была исследована возможность проникновения микроигл в модель искусственной кожи (восемь слоев Parafilm M). Определено, что микроиглы заглубляются в толщу слоя до 381 мкм, что составляет ~64% от их общей длины (600 мкм). При нанесении пластыря с микроиглами на кожу новорожденных свиней >100% образца растворяется в течение 2 мин. С помощью вертикальной диффузионной ячейки Франца показано высвобождение  $V_{12}$  в фосфатно-солевой буфер (pH 7.4) при 37°C: 20% через 15 мин и 70% через 5 ч. Таким образом, результаты исследований *in vitro* указывают на успешное проникновение системы доставки сквозь кожный барьер и эффективное высвобождение препарата.

При исследовании фармакокинетических параметров *in vivo* мышам вводили подкожно контроль (раствор  $V_{12}$ ) или помещали образец материала (4 микроиглы) на кожу спины и фиксировали пластырем. После удаления пластыря с микроиглами показано полное растворение образца и отсутствие покраснения кожи. При исследовании концентрации  $V_{12}$  в крови в случае контроля (подкожное введение) максимальная концентрация составила  $\sim 1.30 \pm 0.25$  мкг/мл, что в 3.5 раза больше концентрации, достигнутой в случае трансдермального проникновения препарата. Важно отметить, что в пластыре содержалось в 2.7 раза больше  $V_{12}$ , чем в подкожной инъекции. Как отмечают авторы, такой результат может быть связан с тем, что не вся микроигла проникает в кожу (64% по результатам *in vitro*), что значительно снижает биодоступность препарата. Однако при дальнейшем определении содержания  $V_{12}$  в крови обнаружено, что у мышей контрольной группы после 24 ч витамин не был обнаружен, в то время как в случае микроигл у отдельных животных был у отдельных животных зафиксировано присутствие препарата даже через 30 ч после введения.

Таким образом, в литературе предлагаются разнообразные материалы для трансдермальной доставки, в первую очередь, на основе полимерных волокон и микроигл. Однако применение трансдермальных форм  $V_{12}$  все еще ограничено в связи с трудностями по преодолению кожного барьера.

Помимо непосредственно форм  $V_{12}$  для трансдермальной доставки существует несколько работ по изучению влияния  $V_{12}$  на эффективность заживления кожных ран. Например, в работе [25] получены нановолокна на основе поликапролактона и желатина (последний использовался для увеличения гидрофильности поверхности волокон). Добавление  $V_{12}$  значительно усиливало пролиферацию клеток L929 спустя 1 и 3 суток культивирования. Авторы провели исследования *in vivo* на крысах для сравнения заживляющего потенциала материала. В результате хирургического вмешательства животным проводили удаление кусочка кожи в области спины, после чего закрывали рану пластырем, содержащим  $V_{12}$ , “пустым” пластырем или стерильной марлей. При анализе скорости заживления повреждения обнаружено, что за 7 дней в контрольной группе наблюдалось уменьшение размера раны на ~20%, а в случае  $V_{12}$ -нановолокон этот показатель составил ~60%. При этом для незагруженных нановолокон достижение 60%-ного заживления раны наблюдалось только за 14 дней, в то время как при использовании  $V_{12}$ -пластыря за две недели размер раны уменьшился на 92%. При обсуждении механизма такой выраженной эффективности заживления кожного повреждения авторы ссылаются на другие работы, в которых показано участие  $V_{12}$  в пролиферации резидентных клеток фибробластов и кератиноцитов, а также в усилении синтеза белков, среди которых может быть коллаген.

Подобные исследования указывают на высокий потенциал применения материалов, содержащих  $V_{12}$ , для кожных покровов в качестве платформы как для доставки  $V_{12}$ , так и для ускорения заживления раневых повреждений. Особый интерес в случае трансдермальной доставки представляют собой носители – наноматериалы, в частности нановолокна, полученные методом электроспиннинга.

#### 4.3. Комбинированные системы доставки $V_{12}$ с другими витаминами

Существуют и системы доставки с несколькими витаминами, один из которых – витамин  $V_{12}$ . Комбинированные лекарственные формы, содержащие ряд биологически активных молекул, перспективны в качестве терапевтических агентов, поскольку позволяют при однократном приеме обеспечивать одновременную доставку нескольких веществ.

В работе [26] предложена система одновременной доставки  $V_{12}$  и витамина  $B_9$  на основе частиц

сополимера полигликолиевой и полимолочной кислот. Инкапсулирование препаратов в частицы с диаметром 190 нм показало высокий процент загрузки препаратами относительно количества введенного вещества: ~89% для витамина В<sub>9</sub> и ~70% для В<sub>12</sub>. Система доставки обеспечивает значительное замедление высвобождения обоих витаминов в эксперименте с биорелевантными средами, моделирующими прохождение системы через пищеварительный тракт. Так, в общей сложности методом равновесного диализа показано, что за 5 ч из носителя высвободилось < 10% В<sub>12</sub>, что более чем в 4 раза меньше по сравнению с раствором свободного витамина. Для витамина В<sub>9</sub> наблюдалась аналогичная тенденция, однако менее выраженная. Авторы склоняются к тому, что причина выраженной разницы в профилях высвобождения витаминов связана с более высокой гидрофильностью В<sub>12</sub>. В продолжении эксперимента по высвобождению препарата в работе исследована биодоступность витаминов *in vitro*. Показано увеличение биодоступности В<sub>12</sub> в ~1.8 раза, что обусловлено замедленным высвобождением и защитой носителем от внешних факторов.

Более сложные многокомпонентные системы рассмотрены в работе [27], в которой предложены офтальмологические гели для более эффективного заживления ран роговицы и регенерации нервных волокон. Авторы изучали сшитые и несшитые гиалуронаты с инкапсулированным таурином, витамином В<sub>6</sub> и В<sub>12</sub>, взятыми в различных массовых соотношениях, а также препарат ReperviX с аналогичным качественным составом. Результаты исследований формуляций на клеточной линии роговицы кролика (SIRC) и испытания *in vivo* на кроликах показали высокую эффективность систем для восстановления функциональных нервов роговицы, защиты клеток от окислительного стресса и высокую скорость заживления ран. Тем не менее для достижения ключевых показателей наличие витаминов было не обязательным фактором, что ставит под сомнение необходимость этих компонентов в формуляции. Однако в более ранней работе [28] в исследованиях на крысах для гелей аналогичного состава (гиалуронат, содержащий таурин и В<sub>12</sub>) было показано выраженное ускорение реэпителизации роговицы после механической травмы при наличии 0.05% В<sub>12</sub>.

В целом предлагаемые системы доставки нескольких витаминов аналогичны системам доставки В<sub>12</sub>: наблюдается замедленное высвобождение препарата и увеличение биодоступ-

ности. Тем не менее в литературе не отмечается взаимное влияние В<sub>12</sub> на физико-химические и биологические параметры других витаминов, и наоборот. Таким образом, разработка многофункциональной системы на основе нескольких витаминов может быть весьма перспективной с точки зрения удобства для пациентов.

## 5. ВИТАМИН В<sub>12</sub> В КАЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТА СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ДЛЯ ДРУГИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ

Во многих исследованиях В<sub>12</sub> используется в качестве не основного терапевтического агента, а вспомогательного компонента для улучшения ряда свойств другого препарата. Подобные системы, как правило, нацелены на адресную доставку широкого спектра лекарств, в основном низкомолекулярных соединений, а также макромолекул разных терапевтических групп. При этом возможно использование как свободного В<sub>12</sub> или его производных, так и ковалентная пришивка В<sub>12</sub> непосредственно к исследуемой молекуле или через спейсер. Наиболее известный пример подобных систем – конъюгат В<sub>12</sub>–инсулин [29, 30], полученный с целью улучшения доставки белка для эффективной регуляции концентрации глюкозы в крови.

### 5.1. Конъюгаты В<sub>12</sub> и их антибактериальная активность

Для осуществления присоединения В<sub>12</sub> посредством формирования ковалентных связей необходимо обратить внимание на доступные функциональные группы В<sub>12</sub>, по которым возможно провести модификацию [31]. Здесь следует подчеркнуть, что формирование комплексов В<sub>12</sub> с белками – важный фактор для химической стабильности и транспорта препарата *in vivo* (рис. 2). Поэтому необходимо учитывать, какие функциональные группы нежелательно задействовать для формирования новых связей. При этом в литературе отсутствуют работы по изучению влияния структурных изменений В<sub>12</sub> на формирование комплексов с белками. Отмечено [2, 32], что  $K_d$  комплексов белок–В<sub>12</sub> составляют ~10<sup>-15</sup> М, при этом комплексы образуются путем “обволакивания” почти всей молекулы В<sub>12</sub> белком. Таким образом, В<sub>12</sub> прочно удерживается внутри белковой глобулы. Незащищенной остается 5'-гидроксигруппа рибозного фрагмента – основной сайт химической модификации для получения производных В<sub>12</sub> или конъюгатов (рис. 1). Также часто подвергают модификации

фосфатную группу и периферический  $\epsilon$ -пропион-амид.

Например, в работе [11] вводили небольшие фрагменты с концевыми карбоксильными группами в цианокобаламин путем образования сложноэфирных связей по 2'- и/или 5'-гидроксильной группе рибозного фрагмента. Синтезированные вещества в 20 раз превосходили исходный витамин по растворимости в фосфатно-солевом буфере и дистиллированной воде. В общей сложности <50% от внесенных в водный раствор конъюгатов подверглись гидролизу за 24 ч.

В литературе также предлагается модифицировать непосредственно макроцикл коррин, что было продемонстрировано в работе [33]. Авторы исследовали влияние структурных особенностей форм  $B_{12}$  на проникновение молекул в бактериальные клетки. Для этой цели на примере кобировой кислоты была внесена флуоресцентная метка (Orgeon green или BoDIPY) через спейсер к C5 корринового кольца. Исследования проводили на нескольких штаммах *E. coli*, содержащих и не содержащих BtuB-рецептор, ответственный за поглощение  $B_{12}$ , а также на *M. tuberculosis*. Продemonстрировано успешное проникновение модифицированных аналогов кобировой кислоты в *M. tuberculosis* и *E. coli* с активным геном *btuB*, при этом для некоторых штаммов поглощение данных соединений на порядок превосходило поглощение исходного цианокобаламина. Таким образом, при разработке таргетных лекарственных форм с использованием  $B_{12}$  необходимо учитывать не только взаимодействие  $B_{12}$  с транспортными белками, но и особенности молекулярного узнавания витамина на поверхности клеток микроорганизмов.

Для разработки эффективных антибактериальных лекарственных препаратов в работах изучаются конъюгаты  $B_{12}$  с пептидно-нуклеиновыми кислотами (ПНК) [34]. ПНК представляют собой олигомерные молекулы, в которых азотистые основания соединены с остовом (рис. 3) – пептидной незаряженной ахиральной структурой, не содержащей пентоз и остатков фосфорной кислоты. В связи с особенностью своего строения ПНК – это в некотором смысле аналоги нуклеиновых кислот, что обуславливает их способность образовывать устойчивые дуплексы ПНК–ПНК, ПНК–ДНК и ПНК–РНК, а также триплексы (ПНК) $_2$ (ДНК). При этом, в отличие от нуклеиновых кислот, ПНК исключительно чувствительны к наличию некомплементарных пар в структуре ДНК или РНК [35].

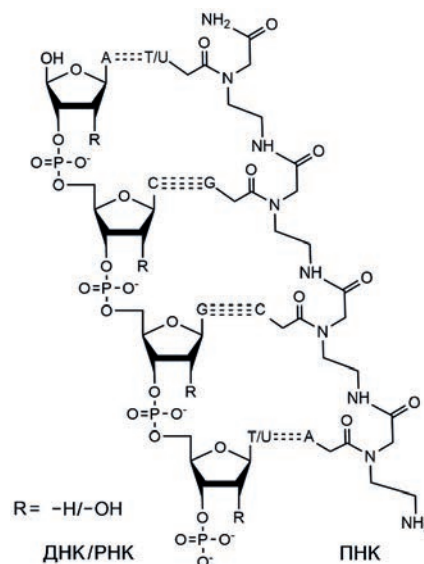


Рис. 3. Схематичное представление взаимодействия цепи ПНК с ДНК/РНК.

Высокая чувствительность и стабильность обуславливает особый интерес к ПНК в вопросах создания новых лекарственных препаратов. Так, в работе [36] в качестве противомикробного компонента авторы синтезировали ПНК, комплементарную 10 остаткам нуклеотидов в мРНК гена *acpP*, кодирующего белок-переносчик, который участвует в биосинтезе жирных кислот.  $B_{12}$  был присоединен к N-концу ПНК по 5'-ОН группе рибозного фрагмента двумя способами: либо с образованием карбамидной связи через линкер  $-(CH_2)_6-$  и триазол, либо с формированием связи  $-S-S-$ .

При исследовании антибактериальной активности образцов на *E. coli* K-12 MG1655 в бульоне Мюллера–Хинтона (МНВ) не наблюдалось ингибирования роста микроорганизмов. Авторы связывают этот результат с тем, что среда МНВ не селективная, содержит много разнообразных питательных веществ, в том числе и продукты животного происхождения, что может исключать необходимость дополнительного потребления клетками  $B_{12}$ -содержащего конъюгата. Выбор другой питательной среды (Скарлет и Тернер) обусловлен наличием этаноламина в качестве источника азота. Химические превращения этого субстрата сопряжены с ферментом, для которого  $B_{12}$  является кофактором. Для данных условий авторы продемонстрировали выраженную антибактериальную активность синтезированных конъюгатов, причем минимальная ингибирующая концентрация образцов (5 мкМ) была сравнима



с конъюгатами, в которых вместо В<sub>12</sub> к ПНК был пришит пептид (KFF)<sub>3</sub>K, который хорошо проникает в клетки. Поскольку использование таких катионных синтетических пептидов, как (KFF)<sub>3</sub>K, не всегда целесообразно, В<sub>12</sub> показал себя перспективным компонентом ПНК для разработки высокоэффективных лекарственных форм.

К аналогичному выводу пришла группа ученых под руководством профессора J. Trylska [37–39]. Авторы исследовали методом компьютерного моделирования механизм проникновения конъюгатов В<sub>12</sub>–ПНК внутрь бактериальной клетки, а также продемонстрировали антибактериальную активность таких систем на *E. coli* и *S. typhimurium*. Важно отметить, что ПНК был пришит к различным функциональным группам витамина В<sub>12</sub>: кобальту, –ОН 5'-рибозного фрагмента, амидным группам *c* и *e* в мезо-положении и –ОН-группе кобинамида. Наиболее выраженная активность продемонстрирована для модификации рибозного фрагмента.

Помимо ПНК возможно использовать и олигонуклеотидные последовательности, которые могут блокировать репликацию белков посредством специфичного взаимодействия с мРНК. Так, показана возможность блокирования гена *mrp1* в плазмиде в клетках *E. coli* и *S. typhimurium* [40]. Снижение экспрессии красного флуоресцентного белка в бактериях на 50% указывало на успешное проникновение и ингибирование синтеза белка. Подобные конъюгаты можно использовать в качестве подхода для селективного ингибирования синтеза бактериальных белков.

Таким образом, системы ПНК–В<sub>12</sub> и олигонуклеотиды–В<sub>12</sub> – это перспективные антибактериальные агенты, которые можно использовать целенаправленно для ингибирования экспрессии необходимых бактериальных белков. Кроме того, данные конъюгаты имеют большое значение для преодоления резистентности микроорганизмов к существующим антибактериальным низкомолекулярным соединениям.

### 5.2. Светочувствительные конъюгаты В<sub>12</sub>

Для биомедицинского применения В<sub>12</sub> Т.А. Shell и D.S. Lawrence [41] предложили обратить внимание на особенности светочувствительности витамина. Авторы собрали свои основные результаты, а также достижения коллег по разнообразным конъюгатам В<sub>12</sub>, способным разрушаться под действием электромагнитного излучения.

В случае синтезированных алкилкобаламинов связь углерод–кобальт непрочная (<30 ккал/моль), поэтому возможно провести направленный фотогомолиз под действием света в видимой области, который способен поглощать корриновое кольцо (330–560 нм), т.е. В<sub>12</sub> можно использовать для разработки фототерапевтических средств с заданными характеристиками активации. Например, авторы рассматривают возможности направленного действия конъюгатов В<sub>12</sub>–доксорибуцин и В<sub>12</sub>–цАМФ. Оба типа конъюгатов не оказывали никакого воздействия на жизнеспособность и/или морфологию клеточных линий REF52 и HeLa соответственно. При облучении длиной волны 530 нм, при которой происходит фотогомолиз, высвобождаются свободные биологически активные агенты, и, ожидается, доксорибуцин способствует снижению жизнеспособности клеток, а цАМФ – сокращению и округлению клеток. Интересно отметить, что в случае конъюгата В<sub>12</sub>–BODIPY расщепление наблюдается при длине волны 650 нм, значение которой выходит за возможности поглощения корринового кольца. Таким образом, флуорофоры могут выступать в качестве “антенн” для длин волн активации до 800 нм.

В качестве сложной комплексной лекарственной формы, включающей в себя все рассмотренные результаты, авторы обсуждают двухкомпонентную систему, в которой представлены конъюгат липид–В<sub>12</sub>–лекарство и липид–флуорофор. В экспериментах *in vitro* одновременно исследуются клетки HeLa и эндциты, содержащие липидные конструкции. На примере противовоспалительного средства дексаметазона показано, что фототерапевтические конструкции изначально находились только на поверхности клеток-носителей; активация заданной длиной волны способствует высвобождению лекарственного препарата, который впоследствии проникает во второй тип клеток.

Важно отметить, что локализация подобных конструкций не ограничивается только поверхностью клеток-носителей, возможно введение в эндосомы, что может быть использовано для высвобождения вещества непосредственно в цитоплазму клеток-носителей. Подобные лекарственные формы были успешно протестированы *in vitro* на стволовых клетках, способных переходить в глиобластому, а также *in vivo*. Таким образом, вышеописанные примеры фотоактивных конструкций – перспективные сложные системы доставки лекарств с высокой временной точностью.



### 5.3. Конъюгаты $V_{12}$ с противоопухолевыми препаратами

В литературе витамин  $V_{12}$  рассматривается как перспективный компонент многих комплексных лекарственных форм противоопухолевых препаратов. Многие авторы обращают внимание на активный метаболизм раковых клеток. Для клеточного поглощения  $V_{12}$  требуется формирование комплекса витамина с транскобаламином II (рис. 2) с помощью белка рецептора плазматической мембраны (TCblR), кодируемого геном *CD320*. Поступление  $V_{12}$  в клетки млекопитающих обусловлено высокой аффинностью и селективностью рецептора к комплексу транскобаламин- $V_{12}$ . Важно отметить, что рецептор TCblR поглощается клеткой вместе с комплексом транскобаламин- $V_{12}$  и деградирует в лизосомах, что способствует высвобождению витамина в цитоплазму. Появление новых рецепторов на поверхности клеток зависит от уровня экспрессии *CD320*. Данный процесс взаимосвязан с клеточным циклом, т.е. высокое содержание белка наблюдается в активно пролиферирующих клетках, в то время как более низкий уровень экспрессии наблюдается в дифференцированных клетках в  $G_0$ -фазе. Таким образом, многие линии раковых клеток демонстрируют более высокую экспрессию TCblR, что может использоваться для адресной доставки и увеличения эффективности действия лекарств [42].

Для усиления эффекта от данного подхода можно обратить внимание на еще одну особенность раковых клеток: в опухоли концентрация глутатиона в 4 раза выше, чем в нормальной ткани, т.е. возможно более активное расщепление  $-S-S-$  связей посредством реакций тиол-дисульфидного обмена именно в патологической ткани. Так, в работе [43] авторы разработали трехступенчатый синтез конъюгатов  $V_{12}$  с дисульфидной связью в 5'-положении рибозного фрагмента. Получены соединения, содержащие остатки цистеина, глутатиона, олигопептида и др. Дисульфидные конъюгаты перспективны тем, что глутатион/дисульфид глутатиона – хорошо изученная окислительно-восстановительная пара в животных клетках, которая обеспечивает антиоксидантную активность. Похожие системы доставки на основе полимеров подробно изложены в работе [44].

### 5.4. Использование $V_{12}$ в системе доставки других лекарственных компонентов

Для доставки низкомолекулярных лекарственных веществ (реже макромолекул) в литературе используют разнообразные носители (табл. 3).

В случае подобных многокомпонентных систем с  $V_{12}$  возможно включение витамина в систему посредством нековалентного связывания или путем “декорирования” носителя витамином (ковалентная пришивка), в который впоследствии будет инкапсулирован препарат. Модификацию  $V_{12}$ , как правило, проводят по  $-OH$ -группе рибозного фрагмента с использованием спейсера небольшого размера или без спейсера. Согласно табл. 3, авторы используют разнообразные типы носителей с точки зрения химической структуры (однокомпонентные/многокомпонентные, неорганической/органической природы) и формы (нано- и микрочастицы, нановолокна). Особенно часто  $V_{12}$  применяют для доставки противоопухолевых препаратов, по-видимому, вследствие высокой активности *CD320*.

Некоторые работы исследуют комплексные системы с  $V_{12}$ , но не выявляют роль витамина в свойствах предлагаемого материала. Например, разработан пластырь из нановолокон из поликапролактона с инкапсулированным  $V_{12}$  и ингибитором ацетилхолинэстеразы донепезилом для терапии болезни Альцгеймера [45]. Материал продемонстрировал двойной профиль высвобождения донепезила, повышение жизнеспособности клеток SH-SY5Y в присутствии  $A\beta_{1-42}$  и снижение экспрессии генов, кодирующих предшественников  $\beta$ -амилоида.

Для низкомолекулярных лекарственных молекул вследствие инкапсуляции в носитель ожидается замедленное высвобождение препарата.  $V_{12}$  в качестве дополнительного агента в большинстве случаев ковалентно пришивают к системе доставки, т.е. проводят “декорирование” поверхности носителя. Главное преимущество подобных систем – выраженное увеличение эффективности транспортировки основной действующей молекулы через клеточный монослой. Такой результат достигается посредством взаимодействия  $V_{12}$  на поверхности носителя с энтероцитами, что, по-видимому, повышает количество адсорбированных молекул лекарственных форм и последующее их поглощение.

Описанный эффект наблюдается и для биологически активных высокомолекулярных соединений. Особый интерес среди макромолекул представляют собой белки, поскольку в случае пероральной комплексной системы доставки возможно сразу решить две задачи: увеличение стабильности полипептида (ферментативная деградация, низкое значение pH), а также улучшение проникновения в энтероциты, что показано на

Таблица 3. Системы доставки активного агента с использованием витамина В<sub>12</sub>

Система доставки			Активное вещество		Наиболее важные результаты влияния введения витамина В <sub>12</sub> в систему доставки	Ссылка
Тип системы	Тип модификации системы В <sub>12</sub> *	Химическая структура	Название	Краткая характеристика		
Системы доставки низкомолекулярных веществ						
Мицеллы	К	Модификация серинин-поли(γ-бензил-L-глутамата) с использованием N,N'-карбонилдимидазола	Паклитаксел	Противоопухолевое средство	Усиление проникновения паклитаксела в клетки BGC-823/PR через CD320-опосредованный путь эндоцитоза, что способствует более выраженному снижению деления клеток и их пролиферации. Данные эффекты значительно ниже в присутствии свободного В <sub>12</sub> . Значительное снижение размера опухолей в экспериментах <i>in vivo</i>	[59]
Силикатель	Н	Пористые наночастицы диоксида кремния с карбоксильными группами	Цисплатин	Противоопухолевое средство, неорганический комплекс	Снижение высвобождения цисплатина из наночастиц на 26% по сравнению с частицами, не содержащими витамин В <sub>12</sub>	[60]
Частицы производных хитозана	К	Модификация гликоль-хитозана по аминокетонам дезоксиголевой кислотой и В <sub>12</sub>	Скутелларин	Противоопухолевое средство	Увеличение проникновения в клетки Сасо-2 в 2,5 раза за 2 ч инкубации с Сасо-2. Повышение биодоступности скутелларина в ~2–3 раза, выраженное снижением индекса резистентности и уровня экспрессии белков ангиогенеза (VEGF, VEGFR2 и vWf) сетчатки в <i>in vivo</i> экспериментах на крысах с диабетом II типа	[61]
Микрокапсулы диатомовой земли	К	Модификация поверхности носителя с помощью янтарного ангидрида	Цисплатин, 5-фторурацил, комплекс трис-тетрагидро[2,2'-бипиридин]-4,4'-диамин–рутенний(II)	Противоопухолевые средства	Значительное усиление адсорбции микрокапсул на поверхность клеток НТ-29 и МСН-7 (увеличение количества адсорбированных частиц до 3 раз)	[62]
Частицы на основе гиалуроновой кислоты	К	Модификация поверхности гиалуроновой кислоты, в качестве линкера использовали колестин	Колестин	Пептид	Снижение нефротоксичности на 20–30% (НЕК 293) при сохранении противомикробной активности. Увеличение Р <sub>app</sub> до 3,5 × 10 <sup>-6</sup> см/с	[63]
Модифицированные липидные частицы	К	Твердые липидные частицы, покрытые конъюгатам В <sub>12</sub> со стеариновой кислотой	Амфотерицин В	Противогрибковый препарат	Снижение значения IC <sub>50</sub> в 2 раза ( <i>Leishmania donovani</i> )	[64]
Системы доставки макромолекул						
Частицы производных хитозана	К	Модификация триметил-хитозана по аминогруппе с использованием янтарного ангидрида	Инсулин	Гормон Белок	Усиление поглощения модифицированных частиц комплексом клеток Сасо-2 и НТ29-MTX при наличии и отсутствии слизи на клеточной поверхности	[65]
Мицеллы	К	Модификация декстран-8-полиэтиленоксидного цетилового эфира через 2,2'-(этилендиокси) бис(этиламиновый) спейсер	Циклоспорин А	Иммунодепрессант Полипептид	Увеличение апикального и базолатерального проникновения циклоспорина через монослой Сасо-2 клеток в ~2 раза по сравнению с немодифицированными мицеллами	[66]

\* К – ковалентная прививка В<sub>12</sub> к носителю; Н – удержание молекул В<sub>12</sub> в носителе посредством нековалентных взаимодействий.

клеточной линии Сасо-2 (табл. 3). Например, в работе [46] были получены альгинатные наночастицы, модифицированные кобаламином. В данные системы инкапсулировали инсулин, который использовали в качестве модельного пептидного лекарственного препарата. Сферические частицы продемонстрировали более высокую способность к проникновению через монослой Сасо-2 (увеличение значения  $P_{app}$  в среднем на 10–25%). Эксперименты *in vivo* показали, что при пероральном введении наночастиц мышам с сахарным диабетом I типа наблюдается более длительное удержание в кишечнике. Кроме того, продемонстрировано более выраженное снижение уровня глюкозы в крови в течение 12 ч (на 54% по сравнению с 25% в случае немодифицированных частиц при одинаковой дозе инсулина). Таким образом, использование  $B_{12}$  в подобных системах имеет большой потенциал для эффективной пероральной доставки пептидных лекарственных средств.

Важно отметить, что также существуют работы по доставке олигонуклеотидов. Для ингибирования быстрого роста и метастазирования рака желудка в работе [47] предлагается декорировать витамином наночастицы двух типов: полиэтиленгликоля и сополимера гликолиевой и молочных кислот. В качестве противоопухолевого препарата авторы используют микроРНК, которая способствует апоптозу клеток рака человека. Для предложенных систем характерно избирательное связывание с  $CD320$  и увеличение количества доставленной микроРНК в клетки BGC-823, что способствует митохондриально-опосредованному апоптозу. Испытания *in vivo* на мышах показали снижение размеров опухолей на 60–90%.

## 6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Витамин  $B_{12}$  – жизненно необходимое соединение для человека. Наследственные заболевания, хирургические вмешательства, нарушение питания, а также низкая проникающая способность в клетки  $B_{12}$  могут приводить к возникновению дефицита витамина. Для более эффективной терапии в литературе предлагается использовать несколько подходов, среди которых – инкапсуляция  $B_{12}$  в системы доставки как наиболее изученный и быстроразвивающийся подход. Системы доставки кобаламинов в существенной форме способствуют замедленному или стимулирующему высвобождению препарата, увеличению проникновения  $B_{12}$  в энтероциты, а также увеличению биодоступности препарата. Степень загрузки  $B_{12}$  может варьироваться в

зависимости от природы носителя и в ряде случаев достигает значений >90%.

Поскольку на сегодняшний день отсутствуют крупномасштабные исследования по наиболее эффективному методу введения  $B_{12}$  *in vivo* с точки зрения терапевтического эффекта, то все предлагаемые системы доставки имеют потенциал для дальнейшего применения. Наиболее популярны в литературе носители на основе модифицированных высокомолекулярных соединений (из одного или нескольких типов полимеров), формирующие наночастицы или волокна для пероральной или трансдермальной доставки соответственно.

Рассмотренные в обзоре системы доставки имеют потенциал последующей коммерциализации и внедрения в клиническую практику для коррекции дефицита витамина  $B_{12}$ . С другой стороны, фундаментальный интерес представляет собой использование витамина  $B_{12}$  как вспомогательного компонента для доставки других лекарственных молекул: пептидно-нуклеиновых кислот, пептидов, белков и противоопухолевых препаратов. Здесь потенциал использования витамина  $B_{12}$  существенно шире: рассматривается возможность включения его в лекарственные формуляции для борьбы с социально-значимыми заболеваниями, такими как резистентные инфекции, онкологические и нейродегенеративные заболевания. Это направление требует дополнительных исследований на стыке биоорганической и медицинской химии и потенциально открывает новые перспективы для создания лекарственных препаратов с улучшенными биофармацевтическими свойствами.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований, выполненных кем-либо из авторов данной работы, с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследований.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы внесли равный вклад в написание этой статьи.

## ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Guéant J.L., Guéant-Rodriguez R.M., Alpers D.H. // *Vitam. Horm.* 2022. V. 119. P. 241–274.  
<https://doi.org/10.1016/bs.vh.2022.01.016>
- Temova Rakuša Ž., Roškar R., Hickey N., Geremia S. // *Molecules.* 2022. V. 28. P. 240.  
<https://doi.org/10.3390/molecules28010240>
- Kozyraki R., Cases O. // *Biochimie.* 2013. V. 95. P. 1002–1007.  
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.11.004>
- Tanner S.M., Li Z., Perko J.D., Öner C., Çetin M., Altay Ç., Yurtsever Z., David K.L., Faivre L., Ismail E.A., Gräsbeck R., de la Chapelle A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. P. 4130–4133.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0500517102>
- Клинические рекомендации “Железодефицитная анемия” 2021–2022–2023 (09.09.2021), разработанные Национальным гематологическим обществом, Национальным обществом детских гематологов и онкологов – Утверждены Минздравом РФ.
- Antoine D., Li Z., Quilliot D., Sirveaux M.A., Meyre D., Mangeon A., Brunaud L., Guéant J.L., Guéant-Rodriguez R.M. // *Clin. Nutr.* 2021. V. 40. P. 87–93.  
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.04.029>
- Montoro-Huguet M.A., Belloc B., Domínguez-Cajal M. // *Nutrients.* 2021. V. 13. P. 1254.  
<https://doi.org/10.3390/nu13041254>
- Fidaleo M., Tacconi S., Sbarigia C., Passeri D., Rossi M., Tata A.M., Dini L. // *Nanomaterials.* 2021. V. 11. P. 743.  
<https://doi.org/10.3390/nano11030743>
- Van Campen C.M.C., Riepma K., Visser F.C. // *Front. Pharmacol.* 2019. V. 10. P. 1102.  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01102>
- Bensky M.J., Ayalon-Dangur I., Ayalon-Dangur R., Naamany E., Gaftier-Gvili A., Koren G., Shiber S. // *Drug Deliv. Transl. Res.* 2019. V. 9. P. 625–630.  
<https://doi.org/10.1007/s13346-018-00613-y>
- Wang X., Wei L., Kotra L.P. // *Bioorg. Med. Chem.* 2007. V. 15. P. 1780–1787.  
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.11.036>
- Smith A.D., Warren M.J., Refsum H. // *Adv. Food Nutr. Res.* 2018. V. 83. P. 215–279.  
<https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2017.11.005>
- Bajaj S.R., Singhal R.S. // *J. Food Eng.* 2020. V. 272. P. 109800.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109800>
- Rizzo G., Laganà A.S. // *Molecular Nutrition: Vitamins* / Ed. Patel V.B. London: Academic Press, 2020. P. 105–129.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811907-5.00005-1>
- Ramalho M.J., Andrade S., Coelho M.A.N., Loureiro J.A., Pereira M.C. // *Colloids Surf. B.* 2020. V. 194. P. 111187.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111187>
- Abdelwahab O.A., Abdelaziz A., Diab S., Khazragy A., Elboraay T., Fayad T., Diab R.A., Negida A. // *Ir. J. Med. Sci.* 2019. V. 193. P. 1621–1639.  
<https://doi.org/10.1007/s11845-023-03602-4>
- Lima S., Webb C.L., Deery E., Robinson C., Zedler J.A.Z. // *Biology.* 2018. V. 7. P. 19.  
<https://doi.org/10.3390/BIOLOGY7010019>
- Estevinho B.N., Carlan I., Blaga A., Rocha F. // *Powder Technol.* 2016. V. 289. P. 71–78.  
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.11.019>
- Galdioli Pellá M.C., Simão A.R., Lima-Tenório M.K., Tenório-Neto E., Scariot D.B., Nakamura C.V., Rubira A.F. // *Carbohydr. Polym.* 2020. V. 239. P. 116236.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116236>
- Шохин И.Е., Кулинич Ю.И., Раменская Г.В., Кузнец В.Г. // *Биомедицина.* 2012. Т. 3. С. 91–97.
- Sugandhi V.V., Mahajan H.S. // *J. Drug Delivery Sci. Tech.* 2022. V. 70. P. 103212.  
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103212>
- Mendes A.C., Gorzelanny C., Halter N., Schneider S.W., Chronakis I.S. // *Int. J. Pharm.* 2016. V. 510. P. 48–56.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.06.016>
- Yekrang J., Gholam Shahbazi N., Rostami F., Ramyar M. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2023. V. 230. P. 123187.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123187>
- Ramöller I.K., Tekko I.A., McCarthy H.O., Donnelly R.F. // *Int. J. Pharm.* 2019. V. 566. P. 299–306.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.05.066>
- Farzanfar S., Kouzekonani G.S., Mirjani R., Shekarchi B. // *Biomed. Eng. Lett.* 2020. V. 10. P. 547–554.  
<https://doi.org/10.1007/s13534-020-00165-6>
- Ramalho M.J., Loureiro J.A., Pereira M.C. // *ACS Appl. Nano Mater.* 2021. V. 4. P. 6881–6892.  
<https://doi.org/10.1021/acsanm.1c00954>
- Bucolo C., Maugeri G., Giunta S., D’Agata V., Drago F., Romano G.L. // *Front. Pharmacol.* 2023. V. 14. P. 1109291.  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1109291>
- Romano M.R., Biagioni F., Carrizzo A., Lorusso M., Spadaro A., Micelli Ferrari T., Vecchione C., Zurria M., Marrazzo G., Mascio G., Sacchetti B., Madonna M., Fornai F., Nicoletti F., Lograno M.D. // *Exp. Eye Res.* 2014. V. 120. P. 109–117.  
<https://doi.org/10.1016/j.exer.2014.01.017>
- Petrus A.K., Vortherms A.R., Fairchild T.J., Doyle R.P. // *ChemMedChem.* 2007. V. 2. P. 1717–1721.  
<https://doi.org/10.1002/cmdc.200700239>
- Clardy-James S., Allis D.G., Fairchild T.J., Doyle R.P. // *MedChemComm.* 2012. V. 3. P. 1054–1058.  
<https://doi.org/10.1039/c2md20040f>
- Wierzba A.J., Hassan S., Gryko D. // *Asian J. Org. Chem.* 2018. V. 8. P. 6–24.  
<https://doi.org/10.1002/ajoc.201800579>
- Petrus A.K., Fairchild T.J., Doyle R.P. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2009. V. 48. P. 1022–1028.  
<https://doi.org/10.1002/anie.200800865>
- Lawrence A.D., Nemoto-Smith E., Deery E., Baker J.A., Schroeder S., Brown D.G., Tullet J.M.A., Howard M.J., Brown I.R., Smith A.G., Boshoff H.I., Barry C.E., Warren M.J. // *Cell Chem. Biol.* 2018. V. 25. P. 941–951.e6.  
<https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2018.04.012>
- Wierzba A.J., Wojciechowska M., Trylska J., Gryko D. // *Methods Mol. Biol.* 2021. V. 2355. P. 65–82.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1617-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1617-8_7)
- Анцыпович С.И. // *Успехи химии.* 2002. Т. 39. № 1. С. 81–96.  
<https://doi.org/10.1070/RC2002v071n01ABEH000691>



36. Równicki M., Dąbrowska Z., Wojciechowska M., Wierzbę A.J., Maximova K., Gryko D., Trylska J. // ACS Omega. 2019. V. 4. P. 819–824. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b03139>
37. Wierzbę A.J., Maximova K., Wincenciuk A., Równicki M., Wojciechowska M., Nexø E., Trylska J., Gryko D. // Chemistry. 2018. V. 24. P. 18772–18778. <https://doi.org/10.1002/chem.201804304>
38. Pieńko T., Wierzbę A.J., Wojciechowska M., Gryko D., Trylska J. // J. Phys. Chem. B. 2017. V. 121. P. 2968–2979. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b00649>
39. Pieńko T., Czarnecki J., Równicki M., Wojciechowska M., Wierzbę A.J., Gryko D., Bartosik D., Trylska J. // Biophys. J. 2021. V. 120. P. 725–737. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2021.01.004>
40. Giedyk M., Jackowska A., Równicki M., Kolanowska M., Trylska J., Gryko D. // Chem. Commun. 2019. V. 55. P. 763–766. <https://doi.org/10.1039/c8cc05064c>
41. Shell T.A., Lawrence D.S. // Acc. Chem. Res. 2015. V. 48. P. 2866–2874. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.5b00331>
42. Gick G.G., Arora K., Sequeira J.M., Nakayama Y., Lai S.C., Quadros E.V. // Exp. Cell Res. 2020. V. 396. P. 112256. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2020.112256>
43. Wierzbę A., Wojciechowska M., Trylska J., Gryko D. // Bioconj. Chem. 2016. V. 27. P. 189–197. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00599>
44. Liu L., Liu P. // Front. Mater. Sci. 2015. V. 9. P. 211–226. <https://doi.org/10.1007/s11706-015-0283-y>
45. Ertas B., Onay I.N., Yilmaz-Goler A.M., Karademir-Yilmaz B., Aslan I., Cam M.E. // J. Drug Delivery Sci. Tech. 2023. V. 89. P. 104963. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104963>
46. Long L., Lai M., Mao X., Luo J., Yuan X., Zhang L.M., Ke Z., Yang L., Deng D.Y.B. // Int. J. Nanomedicine. 2019. V. 14. P. 7743–7758. <https://doi.org/10.2147/IJN.S218944>
47. Chen Z., Liang Y., Feng X., Liang Y., Shen G., Huang H., Chen Z., Yu J., Liu H., Lin T., Chen H., Wu D., Li G., Zhao B., Guo W., Hu Y. // Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl. 2021. V. 120. P. 111722. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111722>
48. Brito A., Habeych E., Silva-Zolezzi I., Galaffu N., Allen L.H. // Nutr. Rev. 2018. V. 76. P. 778–792. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy026>
49. Sarti F., Müller C., Iqbal J., Perera G., Laffleur F., Bernkop-Schnürch A. // Eur. J. Pharm. Biopharm. 2013. V. 84. P. 132–137. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.11.024>
50. Maiorova L.A., Erokhina S.I., Pisani M., Barucca G., Marcaccio M., Koifman O.I., Salnikov D.S., Gromova O.A., Astolfi P., Ricci V., Erokhin V. // Colloids Surf. B. 2019. V. 182. P. 110366. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110366>
51. Nath J., Saikia P.P., Handique J., Gupta K., Dolui S.K. // J. Appl. Polym. Sci. 2020. V. 137. P. 49193. <https://doi.org/10.1002/app.49193>
52. Sarti F., Iqbal J., Müller C., Shahnaz G., Rahmat D., Bernkop-Schnürch A. // Anal. Biochem. 2012. V. 420. P. 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2011.08.039>
53. Ramazani Afarani Z., Sarvi M.N., Akbari Alavijeh M. // J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 2018. V. 84. P. 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.01.002>
54. Coelho S.C., Laget S., Benaut P., Rocha F., Estevinho B.N. // Powder Technol. 2021. V. 392. P. 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.06.056>
55. Zhang J., Field C.J., Vine D., Chen L. // Pharm. Res. 2015. V. 32. P. 1288–1303. <https://doi.org/10.1007/s11095-014-1533-x>
56. Genç L., Kutlu H.M., Güney G. // Pharm. Dev. Technol. 2015. V. 20. P. 337–344. <https://doi.org/10.3109/10837450.2013.867447>
57. Andrade S., Ramalho M.J., Loureiro J.A., Pereira M.C. // Int. J. Pharm. 2022. V. 626. P. 122167. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122167>
58. Liu G., Yang J., Wang Y., Liu X., Guan L.L., Chen L. // Food Hydrocoll. 2019. V. 92. P. 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.020>
59. Guo W., Deng L., Chen Z., Chen Z., Yu J., Liu H., Li T., Lin T., Chen H., Zhao M., Zhang L., Li G., Hu Y. // Nanomedicine. 2019. V. 14. P. 353–370. <https://doi.org/10.2217/nnm-2018-0321>
60. Thepphankulngarm N., Wonganan P., Sapcharoenkun C., Tuntulani T., Leeladee P. // New J. Chem. 2017. V. 41. P. 13823–13829. <https://doi.org/10.1039/c7nj02754k>
61. Wang J., Tan J., Luo J., Huang P., Zhou W., Chen L., Long L., Zhang L. ming, Zhu B., Yang L., Deng D.Y.B. // J. Nanobiotechnology. 2017. V. 15. P. 18. <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0251-z>
62. Delasoie J., Rossier J., Haeni L., Rothen-Rutishauser B., Zobi F. // Dalton Trans. 2018. V. 47. P. 17221–17232. <https://doi.org/10.1039/c8dt02914h>
63. Dubashynskaya N.V., Bokaty A.N., Sall T.S., Egorova T.S., Nashchekina Y.A., Dubrovskii Y.A., Murashko E.A., Vlasova E.N., Demyanova E.V., Skorik Y.A. // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. P. 11550. <https://doi.org/10.3390/ijms241411550>
64. Singh A., Yadagiri G., Parvez S., Singh O.P., Verma A., Sundar S., Mudavath S.L. // Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl. 2020. V. 117. P. 111279. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111279>
65. Ke Z., Guo H., Zhu X., Jin Y., Huang Y. // J. Pharm. Pharm. Sci. 2015. V. 18. P. 155–170. <https://doi.org/10.18433/j3j88q>
66. Francis M.F., Cristea M., Winnik F.M. // Biomacromolecules. 2005. V. 6. P. 2462–2467. <https://doi.org/10.1021/bm0503165>

## Vitamin B<sub>12</sub> in Drug Delivery Systems

A. A. Skuredina<sup>\*, #</sup>, D. E. Ialama<sup>\*</sup>, and I. M. Le-Deygen<sup>\*</sup>

<sup>#</sup> E-mail: [anna.skuredina@yandex.ru](mailto:anna.skuredina@yandex.ru)

<sup>\*</sup> Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University,  
Leninskie Gory 1/3, Moscow, 119991 Russia

Vitamin B<sub>12</sub> is a vital biologically active compound for human and is involved in a wide range of metabolic processes. The widespread vitamin B<sub>12</sub> deficiency and vitamin's low penetrating ability into cells determine the urgency of delivery systems development for the design of formulations with improved biopharmaceutical properties. This work provides a brief discussion of the main chemical and biochemical properties of the vitamin B<sub>12</sub>, as well as considers oral, injectable and transdermal multicomponent dosage forms of vitamin B<sub>12</sub> that are aimed at solving the issue. Moreover, the literature analysis of the prospects of using vitamin B<sub>12</sub> as an auxiliary component for both passive and active delivery of other drug molecules, for example, peptide nucleic acids and antitumor drugs, is presented. The review describes in detail the types of proposed delivery systems for biologically active compounds, in which vitamin B<sub>12</sub> is one of the components.

*Keywords:* vitamin B<sub>12</sub>, drug delivery systems