Georgian Scientists

ქართველი მეცნიერები

Vol. 5 Issue 2, 2023

https://doi.org/10.52340/gs.2023.05.02.39

ამფიცეზინის ლიპოსომური და პოლიმერული ნანონაწილაკების ტექნოლოგია

ალიოშა ბაკურიძე[1], ირაკლი ნადირაძე[2], ნოდარ ჩიგოგიძე[3]

[1]თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ფარმაცევტული ტექნოლოგიის დეპარტამენტი; [2]საქართველო-ისრაელის ერთობლივი კლინიკა გიდმედი; [3]საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

ამფიცეზინის ლიპოსომები მივიღეთ ლიპიდური ფენის ჰიდრატაციით. ლიპოსომების მომზადებისათვის ავიღეთ ამფიცეზინი, სოიოს ლეციტინი (Lipoid, გერმანია), ქოლესტერინი (Sigma-Aldrich, იაპონია), შემდეგი მოლარული თანაფარდობით: 1:50:10 და გავხსენით ქლოროფორმში. მიღებული ხსნარი გადავიტანეთ მრგვალძირიან კოლბში და გამხსნელი ავაორთქლეთ გაიშვიათების პირობებში 50^{0}C ტემპერატურაზე. წარმოიქმნა ნახევრად გამჭვირვალე ფირფიტა, რომლის შრობა ქლოროფორმის სრულ მოცილებამდე განვახორციელეთ ასევე გაიშვიათების პირობებში. ფირფიტის ჰიდრატაცია მოვახდინეთ მასზე გამოხდილი წყალის დამატებით, შედეგად წარმოიქმნა მრავალფენიანი ლიპოსომა ამფიცეზინის კონცენტრაციით 5მგ/მლ-ში. ლიპოსომური მასა დავამუშავეთ ულტრა სონიკატორით (1400 ბრ/წთ-ში) და გავფილტრეთ 0,2მკმ დიამეტრის ფორების მქონე მემბრანაში (Whatman, დიდი ბრიტანეთი).

კრიოპროტექტორის სახით შევარჩიეთ საქაროზა იზომალტი (ქიმიურად სუფთა, დიდი ბრიტანეთი).

ლიპოსომების ზომების განსაზღვრა ვაწარმოეთ ელექტრონული ემისიური მიკროსკოპის გამოყენებით.

მომზადებული ნიმუშების ხარისხზე ვმსჯელობდით ვეზიკულების ზომებით და ძეტა-პოტენციალით.

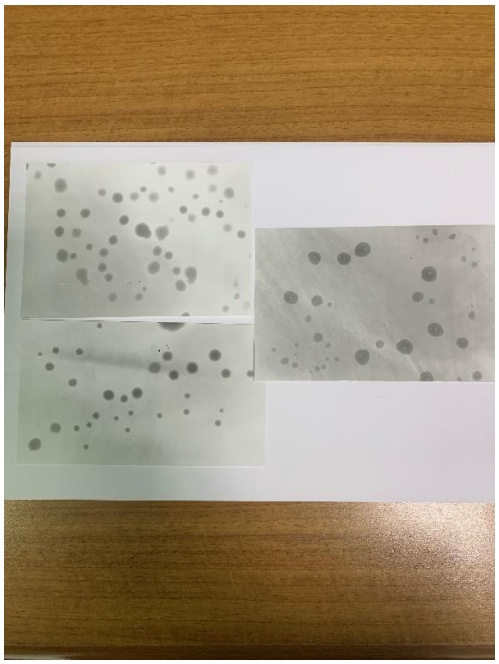
შედეგები. კრიოპროტექტორის ლიპოსომური ფორმების შემადგენლობაში შეტანის სტადიის მიხედვით გაანალიზდა 3 ტექნოლოგიური სქემა. შედეგები მოყვანილია N1 ცხრილში.

ცხრილი N1

ამფიცეზინის ლიპოსომური ფორმის მიღების ტექნოლოგიების შედარებითი ანალიზი

მახასიათებლები		ტექნოლოგია		
		1	2	3
კრიოპროტექტორის შეტანის სტადია		ლიპიდური ფირფიტის ჰიდრატაცია	ლიპიდური ფირფიტა ჰიდრატაციის შემდეგ	სონიკატორით დამუშავებისა და გაფილტვ-რის შემდეგ
მრავალფენიანი ლიპოსომების ხარისხის მაჩვენებლები	ვეზიკულების ზომები, ნმ	210±10	315±17	460±20
	ζ პოტენციალი, მვ	-(21,4±1,0)	-(25,2±1,3)	-(22,9±1,6)
ერთფენიანი ლიპოსომების ხარისხის მაჩვენებლები	ვეზიკულების ზომები, ნმ	145±8	1860±12	174±18
	ζ პოტენციალი, მვ	-(17,9±1,4)	-(20,0±1,5)	-(19,1±1,3)

N1 ცხრილიდან ჩანს, რომ კრიოპროტექტორის შეტანა მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ლიპოსოსმების ხარისხის მაჩვენებლებზე. ოპტიმალური შედეგები მიღებულია, როდესაც კრიოპროტექტორი შეგვაქვს ლიპიდური ფირფიტის ჰიდრატაციის სტადიაზე. ამ შემთხვევაში მრავალფენიანი და ერთფენიანი ლიპოსომების ზომები შეადგენს 190 და 163 ნმ-ს შესაბამისად.



სურათი N1. ერთფენიანი ლიპოსომების მიკროსკოპული სურათები

საბოლოო პროდუქტზე ელექტრონული ემისიური მიკროსკოპით გადაღებული სურათები (სურ. N1) მოწმობენ, ლიპოსომური ნანონაწილაკების ფორმირებას. ნაწილაკები არის გლუვი ზედაპირის მქონე, სფეროს ან ელიპსური ფორმის, ამასთან, არ ფიქსირდება ნაწილაკების აგრეგაცია. აღსანიშნავია, რომ მიკროსკოპული შედეგები თანხვედრაშია ნანოსაიზარით მიღებულ შედეგებთან, კერძოდ, ნაწილაკების ზომა 140-210 ნმ-ის ფარგლებშია. ცალკეული, შედარებით დიდი ზომის ნაწილაკების არსებობა, განპირობებულია მიკროსკოპისთვის ნიმუშების მომზადების სპეციფიკით, რაც მოიცავს ნიმუშზე მაღალი სიჩქარით ელექტრონული ნაკადის ზემოქმედებას ვაკუუმის ქვეშ და ცალკე ნანონაწილაკების შემოგარსვას. ყოველივე ეს კი განაპირობებს ნაწილაკების კოალესცენციას.

კვლევის შემდეგ ეტაპზე მოვამზადეთ ამფიცეზინის პოლიმერული ნანონაწილაკები. ტექნოლოგიური პროცესი შედგება 4 თანმიმდევრული სტადიისაგან:

1.პოლირძისმჟავას ხსნარის მომზადება

125 მგ პოლირძისმჟავას ათავსებენ 100მლ მოცულობის კოლბში, ამატებენ 25 მლ აცეტონს და ხსნიან მაგნიტურ შემრევზე შერევით, ოთახის ტემპერატურაზე.

2. ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებების (ზან) ხსნარის მომზადება

200 მლ მოცულობის კოლბში გადააქვთ 125მგ პოლოქსამერ 188 (ეთილენოქსიდის თანაპოლიმერი პროპილენგლიკოლთან), ამატებენ 50 მლ გამოხდილ წყალს და ხსნიან მაგნიტურ შემრევზე შერევით, ოთახის ტემპერატურაზე.

3. ნანონაწილაკების შემცველი სუსპენზიის მიღება

მაგნიტურ შემრევზე შერევის პირობებში (100 ბრ/წთ) პოლირძისმჟავას აცეტონიან ხსნარში ახდენენ 5მგ ამფიცეზინის დისპერგირებას. მიღებულ აცეტონიან ხსნარს შერევის პირობებში წვრილი ნაკადის სახით ამატებენ პოლოქსამერ 188-ის წყლიან ხსნარს.

4. ნანონაწილაკების შემცველი სუსპენზიის დისპერგირება

ნანონაწილაკების შემცველ სუსპენზიას ამუშავებენ ულტრა სონიკატორით (1400 ბრ/წთ-ში). კრიოპროტექტორის სახით შევარჩიეთ საქაროზა (ქიმიურად სუფთა, თურქეთი).

ნანონაწილაკების ზომების განსაზღვრა ვაწარმოეთ ელექტრონული ემისიური მიკროსკოპის გამოყენებით.

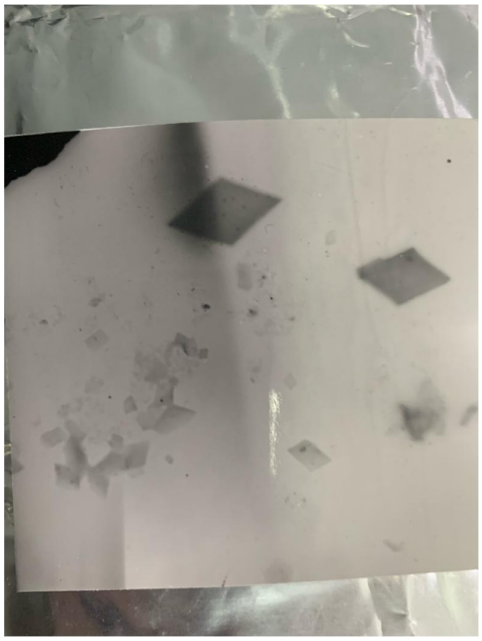
მომზადებული ნიმუშების ხარისხზე ვმსჯელობდით პოლიმერული ნანონაწილაკების ზომებით და ძეტა-პოტენციალით.

შედეგები. კრიოპროტექტორის (საქაროზას) პოლიმერულ მასაში შეტანის სტადიის მიხედვით გაანალიზდა 4 ტექნოლოგიური სქემა. შედეგები მოყვანილია N2 ცხრილში.

ცხრილი N2

ამფიცეზინის პოლიმერული ნანონაწილაკების მიღების ტექნოლოგიების შედარებითი ანალიზი

მახასიათებლები		ტექნოლოგია			
		1	2	3	4
კრიოპროტექტორის შეტანის სტადია		პოლირძისმჟავას ხსნარის მომზადება	ზან-ის ხსნარის მომზადება	ნანონაწილაკების შემცველი სუსპენზიის მიღება	ნანონაწილაკების შემცველი სუსპენზიის დისპერგირება
პოლიმერული ნანონაწილაკის ხარისხის მაჩვენებლები	ნანონაწილაკების ზომები, ნმ	230±16	136±12	255±20	346±24
	ζ პოტენციალი, მვ	-(7,6±1,4)	-(4,6±1,2)	-(8,3±1,6)	-(12,4±1,8)
პოლიმერული ნანონაწილაკის ხარისხის მაჩვენებლები კრიოპროტექტორის შეტანის შემდეგ	ნანონაწილაკების ზომები, ნმ	210±9	125±7	235±10	290±15
	ζ პოტენციალი, მვ	-(6,5±1,5)	-(4,0±1,0)	-(7,1±1,2)	-(8,7±1,5)



სურათი N2. პოლიმერული ნანონაწილაკის მიკროსკოპული სურათი

მიკროსკოპული სურათი (სურ.N2) ადასტურებს ნანონაწილაკების ფორმირებას. ნაწილაკები არის გლუვი ზედაპირის მქონე, ოთხკუთხა ფორმის, ამასთან, არ ფიქსირდება ნაწილაკების აგრეგაცია. აღსანიშნავია, რომ ნაწილაკების ზომა 200-230 ნმ-ის ფარგლებშია.

ლიტერატურა:

Dmitreva M., Shprak Z., Orlova O., Ignatyeva E., Lantsova A., Nikolaeva L., Krasniuk I. Selection of the composition of a liposomal dosage form of a Russian somatostatin analogue with antitumor activity. International journal of applied pharmaceutics. 2020:12(6):65-68