

ბ. შეკილაძე^{1,2}, თ. მძინარაშვილი², მ. ხვედელიძე²
DPPC ლიპოსომებისა და ვიტამინების C და E კომპლექსების
სტაბილურობის კალორიმეტრული კვლევა

¹ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი, ი.ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი; ²სამედიცინო და გამოყენებითი ბიოფიზიკის ინსტიტუტი, ი.ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი; ³თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

E. SHEKILADZE, T. MDZINARASHVILI, M. KHVEDELIDZE,
CALORIMETRIC STUDY OF THE STABILITY OF DPPS-LIPOSOMES
AND C AND E VITAMINS COMPLEXES

Iv. Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi State Medical University, Georgia

SUMMARY

The modern nanotechnology was used to encapsulate vitamins (C, E) in DPPC liposomes. Proportions of vitamins and DPPC lipids were selected as one vitamin per one lipid molecule. The hydrophobic vitamin E was located in hydrophobic part of liposome and the hydrophilic vitamin C - on the surface of a bilayer of liposomes' membrane. The formation of such complex was confirmed with either calorimetric or biological experiments. In particular, calorimetric curve of the complex differs considerably from calorimetric peak profiles of the pure DPPC liposomes, that further emphasize the existence of vitamins and liposomes complex.

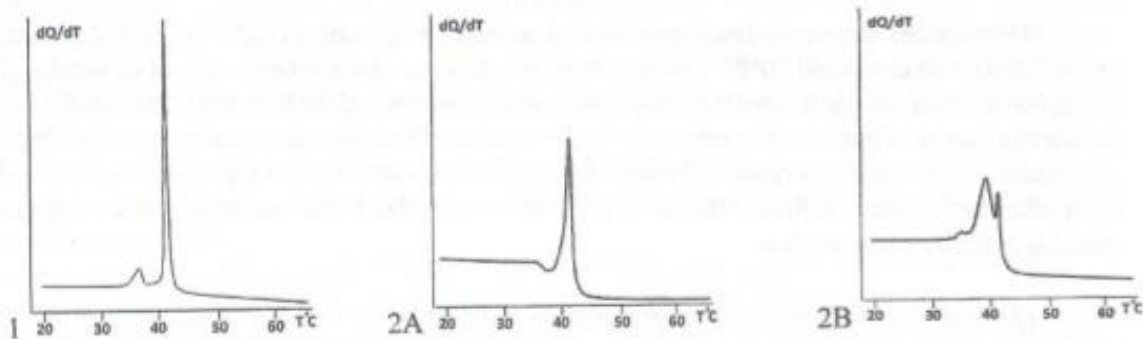
ცნობილია, რომ ვარკვეული დაბავადებები ლოკალურად მოიცავს ცალკეულ ორგანოებს და ქსოვილებს. წაშლის მოქმედების ეფექტურობა განისაზღვრება რამდენიმე ფაქტორით. ასეთია, მაგალითად, პრეპარატის დოზა, ანუ წაშლის ის საკმარისი რაოდენობა (კონცენტრაცია), რომელიც უსტად მატანელი უნდა იქნას დაბავადებულ კერასთან, ისე რომ მინიმალურად შეესაბამებოდეს სხვა ორგანოებს. არსებული პრობლემის მოგვარების ერთ-ერთ ყველაზე რეალურ ქმად მიჩნეულია წაშლის გადამტანის შექმნა, რომელიც სამკურნალო საშუალებებს უსტად დანიშნულების ადგილას მიიტანს. ნანოტექნოლოგიით შეფუთული წამალები არ ვანიცდიან არაბაირ სტრუქტურულ ცვლილებას და ამგვარად შეფუთული წამალები ყოველგვარი ქიმიური მოდიფიცირების გარეშე მიიტანება დაზიანებულ ქსოვილებთან [1,5].

უნდა აღინიშნოს, რომ ზოგიერთი ასეთი ტიპის ნანონაწილაკები მეცნიერებმა უკვე შექმნეს, რომლებიც შექმნილების აზრით გამოირჩევიან მეტი ეფექტურობით [6-8]. ნანოსისტემების შექმნას სშირად გამოიყენება ფოსფოლიპოსომები, რომლებიც ორგანიზმში მოძრაობისას წამალს იცავს გარეშე ფაქტორების შემოქმედებისგან და ამავე დროს ორგანიზმისთვის არიან უსაფრთხო [2-4].

მასალა და მეთოდი. კალორიმეტრული ექსპერიმენტები ჩატარებული იქნა მგრძობიარე მიკროკალორიმეტრი DASM-4A (რუსეთი) გამოყენებით. ექსპერიმენტებში გამოყენებულ იქნა ფოსფოლიპიდი DPPC (დიპალმიტოლიფოსფატიდილიქოლინი) ლიპიდებში, გამოშვებული Lipoid (Newark, USA) მიერ. ამჟამად ლიპოსომების დაშვადების პროცესი სორციელდება სხვადასხვა პროტოკოლების გამოყენებით [7-9]. გინაიდან წამალი შეიძლება იყოს როგორც ჰიდროფობული, ასევე ჰიდროფილური ბუნების, ჩვენ ავიღეთ ორი სხვადასხვა ლიფანდი, ჰიდროფილური ბუნების C ვიტამინი და ჰიდროფობური - E ვიტამინი. საწყის ეტაპზე შევარჩიეთ ლიპიდებისა და ლიპოსომების კონცენტრაციები ისე, რომ მთლიანი თანაფარდობა გვექონდა 1:1. ნიმუშის ბუნების ვათვალისწინებით, ჰიდროფილური ლიფანდის შემთხვევაში ლიპიდების და ვიტამინის ნარევის გაშატებდით 50 გრადუსამდე ვაცხელებულ დისტილირებულ წყალს, ხოლო ჰიდროფობური ლიფანდის ლიპოსომში მთავსებისათვის ნარევის ჯერ გაშატებდით მცირე რაოდენობის (მიკროლიტრის რიფს) ორგანულ გამსხნელს და შემდეგ 50 გრადუსამდე ვაცხელებულ დისტილირებულ წყალს. მიღებულ სუსპენზიას ინტენსიური ნჯღრევის შემდეგ სასურველი ზომის კომპლექსური ლიპოსომების მიღების მიზნით გატარებდით ექსტრუდერში.

ექსპერიმენტული ნაწილი. აღსანიშნავია, რომ ლიპოსომების ფიზიკურ თვისებებს შორის ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესია მათი თერმოსტაბილობა, რადგანაც ამ პარამეტრით შეიძლება განისაზღვროს მათი გამოყენების პერსპექტივა, როგორც წამლის გადაამტანსა. ვიტამინებისა და მათი ლიპოსომებთან კომპლექსების თერმოდინამიკური თვისების დადგენის მიზნით, ჩატარებული იქნა კალორიმეტრული ექსპერიმენტები. საწყის ეტაპზე გავიხილოთ იქნა სუფთა DPPC ლიპოსომების სუსპენზიის კალორიმეტრული ჩანაწერი, რომელიც მოცემულია ნახაზ 1-ზე. როგორც ნახაზიდან ჩანს, DPPC ლიპოსომების მოწყვრიფებული სტრუქტურა განიცდის სტრუქტურულ ცვლილებებს რამდენიმე ტემპერატურულ ინტერვალში, კერძოდ -37°C და 42°C ტემპერატურის მახლობლობაში.

კალორიმეტრულად შესწავლილ იქნა თერმოდინამიკური თვისებები DPPC ლიპოსომების მასში ინკორპორირებული C და E ვიტამინებითურთ, რომლის შესაბამისი კალორიმეტრული მრუდები მოყვანილია ნახაზ 2A და 2B.



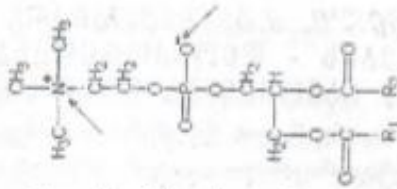
ნახაზი 1. DPPC ლიპოსომების სუსპენზიის კალორიმეტრული ჩანაწერი.

ნახაზი 2. A-კალორიმეტრული ჩანაწერი DPPC ლიპოსომებისა C ვიტამინის თანაობისას;

B-კალორიმეტრული ჩანაწერი DPPC ლიპოსომებისა E ვიტამინის თანაობისას.

კალორიმეტრული მრუდიდან აშკარად ჩანს, რომ წარმოიქმნა კავშირი, როგორც C ვიტამინისა და ლიპოსომის შორის, ასევე E ვიტამინისა და ლიპოსომის შორის. ამას ადასტურებს ლიპოსომა-C ვიტამინიან ნანონაწილაკებისა და სუფთა ლიპოსომების კალორიმეტრული მრუდები (იხილეთ ნახაზი-1 და ნახაზი 2A). კალორიმეტრული ექსპერიმენტებით ასევე დასტურდება, რომ ადგილი აქვს E ვიტამინის ლიპოსომების სტრუქტურაში ინკორპორირების პროცესს. ეს განპირობებული უნდა იყოს E ვიტამინის ჰიდროფობურობით (იხილეთ ნახაზი 2B).

შიღვებული შედეგების ანალიზი. კალორიმეტრული ექსპერიმენტები ვეაძლევეს საშუალებას დაგადვინოთ, რომ ნამდვილად მოხდა ლიპოსომების დამზადება, რომლის სტრუქტურაშიც მითაყვებულია როგორც ჰიდროფობური ვიტამინი E, ასევე ჰიდროფილური ვიტამინი N (ნახაზი 2A და 2B). თუ სუფთა DPPC ლიპოსომების სითბური ლლობისას მთავარ გადასვლის პეკამდე დაიშორება შედარებით მცირე სითბოსშთანთქმის პეკი (ნახაზი 1), ლიპოსომის C ვიტამინთან კომპლექსის შემთხვევაში, ე.წ. პრეპეკი აღარ არსებობს, და მთავარ სითბოსშთანთქმის პეკამდე ადგილი აქვს სითბოტყვადობის ზრდის ვეექტს (იხი ნახაზი 2A). როგორც ნახაზი 3-დან ჩანს, საგარაუდო კავშირი ვიტამინ C-სა და ლიპიდის თავაკს შორის შეიძლება წარმოიქმნას ელექტრო-სტატიკური კავშირით ასკორბინის შფავის ნაშისა და ქოლინიში არსებულ დადებით მუხტის ანოტის ატომს შორის. თუმცა ვასათგაღისწინებულა ინიც, რომ როგორც ცნობილია, ქოლინის ანოტის დადებით მუხტი ლიპიდში წარმოქმნის ვანდერ-ვაალსის კავშირს თავაკში არსებულ ფოსფორიშფავის ჟანგბადის ატომის უარყოფით მუხტთან. ასკორბინის შფავის ნაშის, რომელიც წყალსნარეში იქვს უარყოფით მუხტს შესწევს უნარი წარმოქნას კავშირი ქოლინის ანოტის დადებით მუხტთან.



ნახაზი 3. ლიპიდში არსებული ქოლინის ქიმიური ფორმულა. იხრებით მითითებულია აზოტის დადებითი და ფოსფორმუიკაციის უარყოფითი მუხტების ადგილმდებარეობა

ლიპოსომაში E ვიტამინი მითავსებულია ლიპოსომების ბიშრის პიდროფობულ ნაწილში. აღნიშნული კომპლექსის წარმოქმნას ადასტურებს კალორიმეტრული კერძოდ, მიღებული კომპლექსის კალორიმეტრული მრუდი მნიშვნელოვნად არის განსხვავებული სუფთა DPPC ლიპოსომების კალორიმეტრული პიკის პროფილისაგან-ერთი კოჰეზიტიული სითბოს შთანთქმის პიკისაგან, რომელიც დაშახახათებულია სუფთა ლიპოსომის კალორიმეტრული მრუდისთვის (ნახაზი 2B). ვიტამინ E-სთან კომპლექსის წარმოქმნის გამო სითბოს შთანთქმის პიკის პროფილი მნიშვნელოვნად შეიცვალა. ლიპოსომების პიკი ვახდა ნაკლებად კოჰეზიტიული და ნაკლებად თერმოსტაბილური (მთხდა სითბოს შთანთქმის პიკის წახაცვლება დაბალი ტემპერატურისკენ).

დასკვნა. კალორიმეტრული ექსპერიმენტებით დასტურდება, რომ შესაძლებელია ლიპოსომის სტრუქტურაში მითავსდეს, როგორც პიდროფილური, ისე პიდროფობური ბუნების ნივთიერებები. კერძოდ, ჩვენს მიერ DPPC ლიპოსომებში ინკორპორირებული იქნა პიდროფობული E ვიტამინი და პიდროფილური ვიტამინი C. ვახსაზღვრული იქნა ლიგანდებისა და ლიპოსომების დაკავშირების საგარაუდო ადგილები, კალორიმეტრული ექსპერიმენტებზე დაყრდნობით ჩვენ შეგვიძლია ვივარაუდოდ, რომ ლიპოსომაში პიდროფობული E ვიტამინი მითავსდა ლიპოსომის სტრუქტურის პიდროფობულ ნაწილში, ხოლო პიდროფილური ვიტამინი C ლიპოსომების შედაბირზე ვახლაგდა.

ლიტერატურა

1. Akbarzadeh A. et al. – Synthesis, characterization, and in vitro evaluation of novel polymer-coated magnetic nanoparticles for controlled delivery of doxorubicin// *J. Nanotechnol. Sci. Appl.*, 2012, #5, 13-25.
2. Al-Jamal T., Kostarelos K. – Liposome-nanoparticle hybrids for multimodal diagnostic and therapeutic applications// *J. Nanomedicine*, 2007, #2, 85-98.
3. Agnieszka Z. et al. – Nanoparticles as drug delivery systems// *J. Pharmacological Reports*, 2012, #64, 1020-1037.
4. Amarnath S., Sharma U. – Liposomes in drug delivery: progress and limitations// *Int. J. Pharm.*, 1997, #154, 123-140.
5. Banerjee R. et al. – Anisamide-targeted stealth liposomes: a potent carrier for targeting doxorubicin to human prostate cancer cells// *Int. J. Cancer*, 2004, #112, 693-700.
6. Brown M., Schatzlein A., Uchegbu I. – Gene delivery with synthetic (non viral) carriers// *Inter. J. Pharmaceutics*, 2001, #229, 1-21.
7. Hofheinz R. et al. – Liposomal encapsulated anti-cancer drugs// *Anticancer Drugs*, 2005, #16, 691-707.
8. Shaheen S. et al. – Liposome as a carrier for advanced drug delivery// *Pak. J. Biol. Sci.*, 2006, #9(6), 1181-1191.
9. Riaz M. – Liposome preparation method// *Pak. J. Pharm. Sci.*, 1996, #9(1), 65-77.

