

Liposzómák átlagos vezikulaméretének befolyásolása búzacsíra olajjal

JÓJÁRTNÉ LACZKOVICH ORSOLYA*, BÓNIS ERZSÉBET, NÉMETH ZSÓFIA,
SZABÓNÉ RÉVÉSZ PIROSKA

*Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézet, Szeged,
Eötvös u. 6. – 6720*

**e-mail címe: laczkovo@pharm.u-szeged.hu*

Összefoglalás

Bevezetés: A liposzómális formulációk a modern gyógyszer technológia központi nanohordozó rendszerei. Fontosságuk a targetálásban betöltött szerepükben keresendő, legyen az akár aktív, akár passzív targetálás. Méretük az alkalmazás szempontjából kulcsfontosságú.

Célkitűzés: A publikáció rövid irodalmi bevezetést ad a liposzómális készítményekről, fókuszálva a készítmények átlagos vezikulaméretére. Az experimentális rész célkitűzése a liposzómák vezikulaméretének vizsgálata. A formulálás során alkalmazott búzacsíra olaj vezikulaméretre, illetve méreteloszlásra gyakorolt hatását tanulmányozza.

Módszerek: A felhasznált analitikai módszer a dinamikus fényszóráson alapuló méretmeghatározás. Ezt a vizsgálatot egészítik ki műszeres analitikai eljárások: termomikroszkópia, differenciális pásztázó kalorimetria és porröntgen diffrakció.

Eredmények: Az alkalmazott előállítási eljárással egyenletes filmréteg alakítható ki és 200 nm részecskeméret alatti liposzómák nyerhetők. A búzacsíra olaj falanyag additívként való alkalmazásának befolyásoló hatása van a részecskeméretre. Az elvégzett mérések alapján az 5 %-os búzacsíra olajtartalom jelentős szemcseméret csökkenést okoz. Ez a koncentráció tekinthető optimálisnak a vezikulák kettős foszfolipid rétegének fluiditásában. Az olajtartalom további növelése a polidiszperzitás növekedéséhez vezetett. A 20 %-os olajtartalom alkalmazása előnytelen tulajdonságokkal ruházta fel a terméket. Az anyagszerkezeti porröntgen diffrakciós vizsgálat eredményei alapján a termék megfelelő stabilizálása trehalóz alkalmazásával és 2 napos liofilezési idővel volt elérhető.

Következtetések: Az eredményeket tekintve következtetésként levonható, hogy termoanalitikai vizsgálatokkal a lipidek átmeneti hőmérséklete mérhető, a meghatározott érték felhasználható az előállítási paraméterek beállításánál. Az összetétel tervezésénél az 5 % búzacsíra olaj alkalmazása javasolható a legkisebb vezikulaméret elérése céljából.

Kulcsszavak: liposzóma, búzacsíra olaj, vezikulaméret, lipidfilm hidratációs technika

Summary

O. Jójárt-Laczkovich, E. Bónis, Zs. Németh, P. Szabó-Révész: *Influence of wheat germ oil content on mean vesicle size of liposomes*

Introduction: Liposomal formulations are important nano-carriers of the modern pharmaceutical technology. The reason of the central position of this form is their role in active and passive target therapy. Designing the vesicle sizes is crucial for the application.

Aim: This publication gives a short literature background about the topic of liposomal preparations, and focuses on the mean vesicle size. The aim of the experimental part is the investigation of the vesicle sizes. The work deals with application of wheat germ oil as wall component and its impact on mean vesicle size and size distribution.

Method: One of the investigation methods was dynamic light scattering process. Additionally, thermomicroscopy, differential scanning calorimetry and X-ray powder diffraction (XRPD) were applied.

Results: The lipid film hydration method resulted in smooth thin film layer and the mean vesicle size of liposomes was smaller than 200 nm. The amount of wheat germ oil using as a wall additive influenced on the vesicle size. 5 w/w% wheat germ oil resulted in the most effective vesicle size reduction. This concentration is the optimal for the fluidity of the phospholipid layer. Using higher amount of oil increased the polydispersity of the product. 20 w/w% oil content affected adversely the product's properties. XRPD measurement showed that product stabilization could be reached with lyophilization for two days in the presence of trehalose as cryoprotectant agent.

Conclusion: Based on the results, it can be concluded that the phase transition temperature of the wall components can be measured with thermoanalytical techniques and the results can be used for setting the preparation parameters. Furthermore, using 5 w/w% wheat germ oil could be suggested to decrease the vesicle size.

Keywords: liposome, wheat germ oil, vesicle size, lipid film hydration techniques

Bevezetés

A gyógyszer technológia egyik rohamosan fejlődő területe napjainkban a nanotechnológia. A hagyományos gyógyszerformák mellett a gyógyszerhordozó rendszereket (DDSs, Drug Delivery Systems) tartalmazó készítmények egyre nagyobb teret hódítanak, amelyekben belül a nanohordozó rendszerek kiemelt szerepet kapnak. Ezen formulációk egyik legfontosabb csoportja a liposzómális készítmények csoportja [1]. Publikációnk ezt a formát kívánja fókuszba helyezni.

A liposzómák definícióját először Alec Douglas Bangham fogalmazta meg 1965-ben [2]. Az akkoriban még csak sejtmembrán-modellezésre alkalmazott liposzómák mára már komplex hatóanyag hordozó rendszert képviselnek. A liposzómák tehát olyan hatóanyag- vagy aktív anyag szállító kolloidális rendszert képeznek, amelyek spontán szerveződés révén jönnek létre, amfifil lipidekből. Tartozhatnak a gyógyszerformák negyedik generációjába is, azaz négydimenziós targetált terápiás rendszerek is lehetnek [3,4]. Intravénás, dermális, inhalációs és egyéb beviteli kapun történő alkalmazásuk során nem csak térben és időben szabályozott, de a célszervben történő gyógyszer-felszabadulás is elérhető segítségükkel [5-7]. Míg a kutatásban a sejtmodellek előállítására, addig a terápiában diagnosztizálásra, citosztatikus terápiában [8], antibakteriális és gomba ellenes készítményként, HIV fertőzés kezelésében és a génterápiában is használják. A gyógyászati területeken kívül a textiliparban, a mezőgazdaságban, az élelmiszeriparban és a nanokozmetológiában is használják őket [9-12].

Ezen cikk fókuszba helyezi annak a ténynek a fontosságát, hogy az alkalmazni kívánt liposzómális készítmény vezikulamérete központi fontossággal bír. Legyen az akár terápiás céllal alkalmazott hatóanyag hordozó liposzómális formuláció, vagy akár kozmetikai célra szánt liposzómákat tartalmazó készítmény. A munka során annak befolyásoló szerepét mutatjuk be, hogy a falalkotók egymáshoz viszonyított arányát változtatva, hogyan módosul a liposzómák átlagos vezikulamérete és méreteloszlása [13].

A liposzómák mérete átlagosan 25 nm és 2,5 μm között változik. Méretük alapján történő csoportosításuk az **1. táblázatban** kerül bemutatásra.

1. táblázat: Liposzómák csoportosítása méretük alapján

Elnevezés	Méret	Alkalmazás, megjegyzés
MLV <i>„multilamellar vesicles”</i>	500 nm feletti	Nagy bezárási hatékonyságuk van az apoláris hatóanyagokra nézve. A keringésből gyorsan eliminálódnak a reticuloendotheliális rendszer működése miatt. Jelentős mértékben a hatóanyagok lépbe, májba juttatására alkalmazhatjuk őket.
OLV <i>„oligolamellaris vesicles”</i>	100-1000 nm	Hozzávetőleg 5 rétegű fal határolja őket.
SUV <i>„small unilamellar vesicles”</i>	20-100 nm	Citosztatikus hatóanyagot tartalmazó nanoDDS-ek ebbe a csoportba esnek elsősorban.
MUV <i>„medium sized unilamellar vesicles”</i>	köztes méretű (nincs pontos definíció)	Egyes irodalmak ilyen kategóriát is említenek, amely a SUV felső intervallumának mérettartományát célozza (40-100 nm).
LUV <i>„large unilamellar vesicles”</i>	100 nm feletti	Leginkább hidrofil hatóanyagok bezárására alkalmasak. Méreteik miatt pedig jó hatékonysággal zárják be a makromolekulákat is.
GUV <i>„gigant unilamellar vesicles”</i>	1000 nm feletti	Leginkább a kozmetikai ipar alkalmazza.

Kísérletes munka

Kísérletes munkánk célja egyrészt 200 nm vezikulaméret alatti liposzómák előállítása, másrészt a falalkotó összetevők részecskeméret-befolyásoló hatásának megfigyelése volt. Munkánk során búzacsíra olajjal modellezett natúr olajkomponens vezikulaméretet befolyásoló hatását tanulmányoztuk.

A búzacsíra olaj magas antioxidáns (tokoferol, tokotrienol) tartalma miatt gyakori összetevője a kozmetikai készítményeknek [14]. Antioxidáns tartalma mellett 26-35%-ban fehérjéket, 10-15%-ban lipideket, 17%-ban cukrot, és 4%-ban ásványi anyagokat is tartalmaz.

Emiatt fogyasztása illetve bőrön való alkalmazása pozitív hatással van a szervezetre. Az E-vitamin mellett más bioaktív anyagok is kimutathatók összetételében. Fitoszterolokat, polikozanolt, karotinoidokat, tiamint és riboflavint azonosítottak komponensei között [15]. Az olajok liposzómába inkorporálása által a tartalomanyagok védetté válnak a degradációval, oxidációval szemben [15,16]. A búzacsíra olajnak a gyógyszeres liposzómális készítmények terén is igen nagy jelentősége van. Annak WGA („wheat germ agglutinin”) tartalmát felhasználják aptamerként is (olyan rövid DNS vagy RNS szálak, amelyek térbeli szerkezetüknek köszönhetően, nem kovalens jellegű kölcsönhatásokon keresztül egy adott célvegyület szelektív felismerésére, megkötésére alkalmasak). A WGA a lektinek csoportjába tartozó glikoprotein, amely a lektin-receptorba bekötve felismerésre kerül a szervezet által. Karbopol polimerhez kötött WGA-t (CP-WGA) felhasználhatják olyan liposzómák targetálására, ahol a célsejten nagy a lektin-receptor expressziója. Ezáltal lehetőség nyílik az intestinális, colon tumorok per os kezelésére. A CP-WGA által módosított felszínű liposzómák gyakori gyógyszerhordozó rendszerei a calcitoninnak. Liposzómális készítményekben a calcitonin per os, illetve pulmonáris beviteli módja is ismert [17, 18].

Anyagok

Az előállítás során falalkotó komponensekként foszfolipon 90G[®] lipidkeveréket (Phospholipid GmbH, Köhn, Németország), koleszterint (Molar Chemicals Kft, Budapest, Magyarország), búzacsíra olajat (Primavera Life GmbH, Oy-Mittelberg, Németország) használtunk.

A lipidfilm oldására fiziológiás sóoldatot, illetve trehalóz oldatot alkalmaztunk. Az ehhez felhasznált komponensek: NaCl (Molar Chemicals Kft, Halásztelek, Magyarország) és D(+)-trehalóz-dihidrát (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Németország) voltak.

Előállítás

Az előállítás lipidfilm-hidratációs technikával történt. A lipidszuszpenzió elkészítésekor meghatározott mennyiségű foszfolipon 90G lipidkeveréket, búzacsíra olajat és koleszterint mértünk be gömblombikba. Oldószerként minden esetben összesen 50 ml 96%-os etanolt

alkalmaztunk. Az összetételeket a **2. táblázat** szemlélteti. A bepárlás Rotavapor® R-210/215 vákuumbepárló készülékkel (BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Svájc) történt. Az alkalmazott vízfürdő hőmérséklete 65°C, a forgás sebessége 25 rpm volt, a vákuumot fokozatosan alakítottuk ki.

2. táblázat: Előállított minták összetétele

Minta neve	Foszfolipon 90G (mg)	Búzacsíra olaj (mg, %)		Koleszterin*
I. 1	500,00	0,00	0,00	25 mg
I. 2	475,30	25,51	5,09	25 mg
I. 3	500,00	53,05	9,60	25 mg
I. 4	425,80	74,8	14,94	25 mg
I. 5	400,00	101,22	20,19	25 mg
II. 1	250,85	0,00	0,00	12,5 mg
II. 2	237,73	12,49	4,99	12,5 mg
II. 3	226,60	26,60	10,37	12,5 mg
II. 4	212,27	37,10	14,88	12,5 mg
II. 5	200,05	49,64	19,88	12,5 mg
III. 1	500,68	0,00	0,00	25 mg
III. 2	474,94	25,12	5,02	25 mg
III. 3	450,73	50,71	10,11	25 mg
III. 4	425,27	75,47	15,07	25 mg
III. 5	400,08	98,28	19,72	25 mg

*Minden esetben etanoszoldatból bemérve.

Az elkészített 15 sarzs három kísérletsorozatba osztható. Az első és a második sorozat lipidfilm hidratálása 150 ml fiziológiás sóoldat részleteivel történt. A második sorozat az elsőől abban különbözött, hogy a lipidszuszpenzió összeállításakor az alkalmazott anyagok tömegét a felére csökkentettük. A harmadik sorozat az elsővel megegyező tömegek felhasználásával történt, azonban a visszaoldást 150 ml fiziológiás trehalóz oldattal (300 mOsm/l) végeztük. Az ozmolalitás mérése KNAUER SEMI-MICRO ozmométerrel (UNICAM Magyarország Kft, Budapest, Magyarország) valósult meg. A hidratálást Elma Transsonic Digital S D-78224 kád ultrahangozó készülékkel (Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Németország) segítettünk elő. Az ultrahangozás minden esetben 65°C-on 120%-os teljesítményen, azaz 48 kHz alkalmazásával történt 15 percig.

Az elkészített liposzómák méretformázása két lépésben történt. Először 0,45 μ m-es pórusátmérőjű (Millipore® SLHV033NS Millex® HV Syringe Filter with Durapore® PVDF Membrane), majd 0,22 μ m-es membránszűrőn (Millipore® SLGV033RS Millex® GV Sterile Syringe Filter with Durapore® PVDF Membrane) végeztük az extrúziót. Megvizsgáltuk mind a szűretlen (minta neve-TL), mind csak a 0,45 μ m-es (minta neve-0,45), mind a 0,22 μ m-es membránszűrőn szűrt mintákat (minta neve-0,22). Az elkészített mintákat lezárt tárolóedényekben, 2-8°C között hűtőben tároltunk.

Liposzómák stabilizálása

5 mintát választottunk ki a fagyasztva szárításhoz (I. 2, II. 3, III. 1, III. 2, III. 3). A kiválasztott mintákból 3-3 ml-t töltöttünk le porampullákba. A szárítandó mintákkal fenékfagyasztást végeztünk Coolsafe 100-9 Pro ScanVac (LaboGene ApS, Lyngge, Dánia) fagyasztva szárító készülékkel, majd manuális üzemmódban liofileztük azokat.

Vizsgálatok

Termomikroszkópos vizsgálat

A koleszterin olvadási pontjának, a foszfolipon 90G lipidkeverék átmeneti hőmérsékletének közelítő meghatározását a Leica MZ6 (Leica Microsystems Wetzlar GmbH, Wetzlar, Németország) fűthető tárgyasztalú termomikroszkóppal végeztük.

Differenciális pásztázó kalorimetria (DSC)

A koleszterin olvadáspontjának és a foszfolipon 90G lipidkeverék átmeneti hőmérsékletének pontos meghatározása a METTLER Toledo 821^e DSC (Mettler-Toledo GmbH., Gießen, Németország) készülékkel történt. A mért értékeket az előállítási paraméterek meghatározásához használtuk fel. A vizsgálatot 40 μ l-es alumínium mintatartókban végeztük. a bemérési tömeg 2-5 mg volt. A mintákat Ar gázöblítés mellett vizsgáltuk 25-től 250 °C-ig fűtve 10 és 20 °C/perc fűtési sebességgel. A kiértékeléshez STAR^e szoftvert használtunk.

Dinamikus fényszóráson alapuló vezikulaméret-meghatározás

A vezikulaméret meghatározást a Malvern Zetasizer Nano S Dynamic Light Scattering particle size analyzer (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Anglia) készülékkel végeztük.

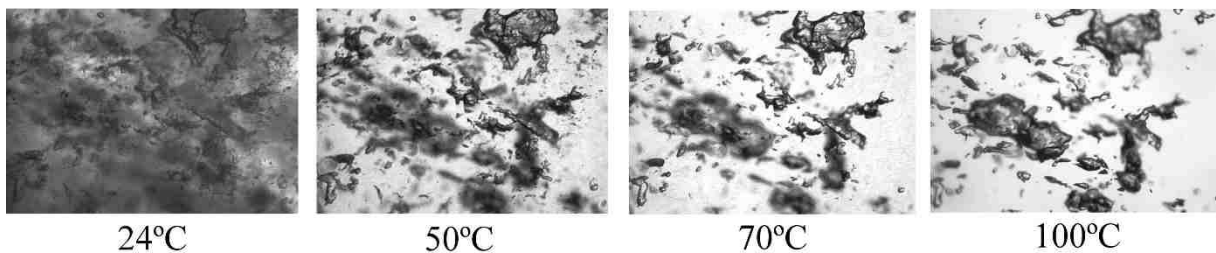
Porröntgen diffrakciós vizsgálat (XRPD)

A porröntgen diffrakciós vizsgálatokat a Bruker D8 Advance diffraktométerrel (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Németország) végeztük. A készülékkel a fagyasztva szárítással stabilizált mintákat vizsgáltuk. Sugárforrásként Cu K α I sugárzást ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) alkalmaztunk. A minták vizsgálata 40 kV feszültség és 40 mA áramerősség alkalmazása mellett 3° -tól 40° -ig (2θ) történt. A szkennelési sebesség $0,1^\circ/\text{min}$, a lépésköz pedig $0,010^\circ$ volt. A műszer kalibrálása korund segítségével történt. Az eredmények kiértékelésére pedig DIFFRACTplus EVA szoftvert alkalmaztunk. A diffraktogramokat $K\alpha_2$ -vel korrigáltuk, simítottuk és az alapvonal korrekcióját is elvégeztük.

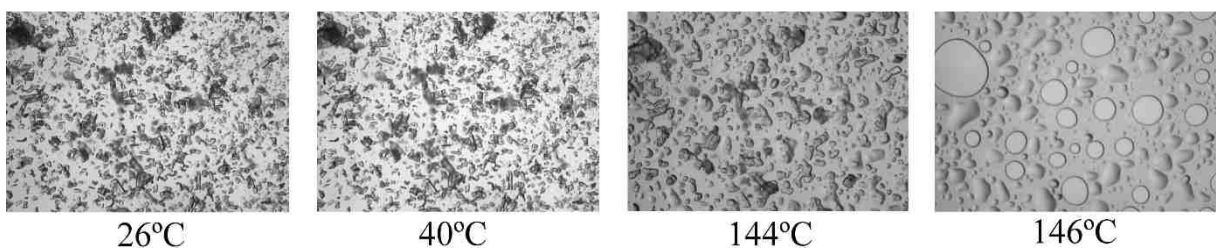
Eredmények

Preformulációs vizsgálatok

A termomikroszkópos vizsgálattal megállapítottuk, hogy a foszfolipon 90G esetén átmeneti hőmérséklet, míg a koleszterin esetén olvadáspont meghatározásra van szükség. A foszfolipon 90G átmeneti hőmérséklete vizuálisan detektálva 50°C , a mikroszkópos képen részleges feltisztulást észleltünk, amely változás nem élesen egy hőmérsékleti pontban történik (1. ábra). A koleszterin esetén egyértelmű olvadás történt, adott hőmérsékleten pillanatszerűen jelentek meg a tárgylemezen a cseppek. Olvadása 144 és 146°C között történt (2. ábra).

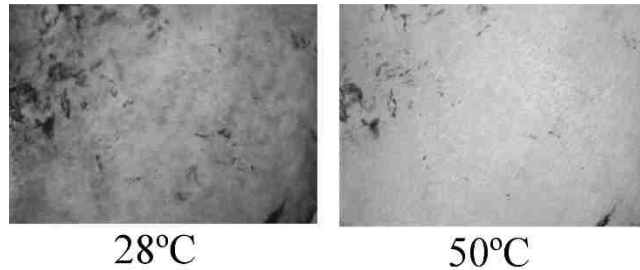


1. ábra: Foszfolipon 90G szerkezetének változása termomikroszkópos vizsgálattal



2. ábra: Koleszterin szerkezetének változása termomikroszkópos vizsgálattal

A fűthető mágneses keverő segítségével előállított foszfolipon 90G és koleszterin 9:1 tömegarányú olvadék termomikroszkópos vizsgálatát is elvégeztük. Nem karakteres, de vizuálisan érzékelhető változást 50°C-nál tapasztaltunk (3. ábra).



3. ábra: Foszfolipon 90G és koleszterin 9:1 arányú keverékének termomikroszkópos vizsgálata

A hőhatásra bekövetkező változások pontosítása végett DSC vizsgálatokat végeztünk. Ezek során megállapítottuk, hogy a koleszterin olvadáspontja 147°C-nál található, a foszfolipon 90G átmeneti hőmérséklete pedig 56°C. Ezen termoanalitikai adatok figyelembevételével végeztük a továbbiakban a formulálást.

Formulálás és a vizsgálatokból származó eredmények

A fent leírt előállítási módszerrel termékeket állítottunk elő. A megadott összetételt alkalmazva a 0-5-10%-os búzacsíra olajtartalom mellett egyenletes lipidfilm réteget alakítottunk ki. 15%-os olajtartalom esetén a kialakított lipidfilm a gömblombik oldalán elvékonyodott, alján vastagodott. Míg 20%-os olajtartalom alkalmazása egyenetlen, változatos vastagságú filmréteget eredményezett.

A termékek szemcseméret vizsgálata

A dinamikus fényszórásmérés eredményeit a szüretlen mintákra vonatkozóan összesítve a **3. táblázat** tartalmazza. Megállapítható, hogy az I. és a III. sarzs 5%-os olajtartalmú mintáinak (I. 2-TL, III. 2-TL) átlagos részecskemérete jelentősen csökkent a búzacsíra olajat nem tartalmazó mintákhoz képest. A mért intenzitás megnövekedett, a polidiszperzitási index ekkor a legkisebb az adott sarzsban belül. Az olajtartalom további növelése az I. sarzs mintáiban az átlagos vezikulaméretet növelte. A III. sarzs mintáiban a 15%-os olajtartalom alkalmazásakor az olajat nem tartalmazó mintákhoz képest alacsonyabb átlagos

részecskeméretet eredményezett, a legalacsonyabb átlagos szemcseméretet azonban itt is az 5%-os olajtartalom biztosította. A II. sarzs szűretlen mintáiban az olajtartalom változtatása nem okozott számottevő változást sem az átlagos részecskeméretben, sem az intenzitásban, sem a polidiszperzitási indexben.

3. táblázat: Szűretlen minták vezikulaméret vizsgálatának

<i>Minta neve</i>	<i>Z-átlag (d.nm)</i>	<i>szórás</i>	<i>PdI-átlag</i>	<i>szórás</i>
I. 1-TL	227,100	9,965	0,567	0,110
I. 2-TL	168,733	0,929	0,400	0,027
I. 3-TL	226,667	1,589	0,776	0,011
I. 4-TL	243,700	12,425	0,556	0,124
I. 5-TL	263,067	7,637	0,804	0,023
II. 1-TL	266,700	6,085	0,915	0,015
II. 2-TL	267,100	8,962	0,905	0,024
II. 3-TL	254,200	3,223	0,839	0,018
II. 4-TL	252,333	3,485	0,833	0,014
II. 5-TL	266,800	1,127	0,513	0,036
III. 1-TL	163,800	1,908	0,412	0,001
III. 2-TL	132,433	1,021	0,271	0,007
III. 3-TL	175,867	1,343	0,408	0,010
III. 4-TL	151,333	0,961	0,304	0,024
III. 5-TL	246,067	3,329	0,490	0,008

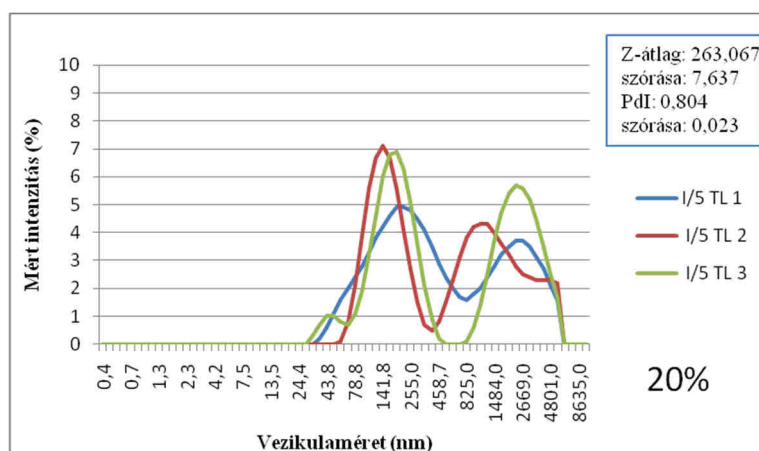
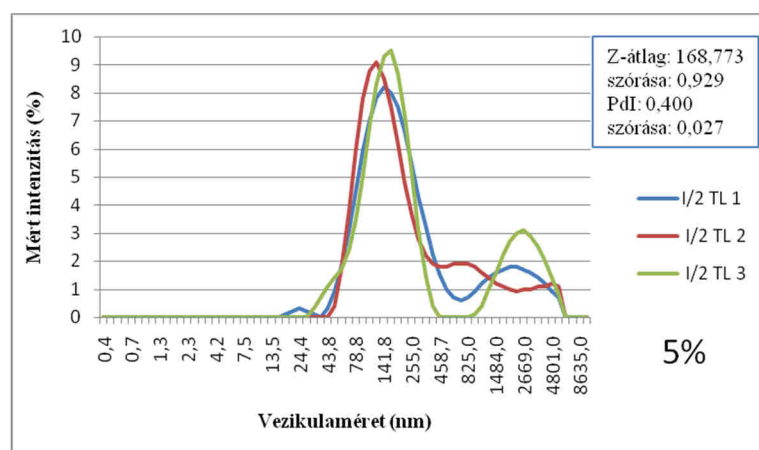
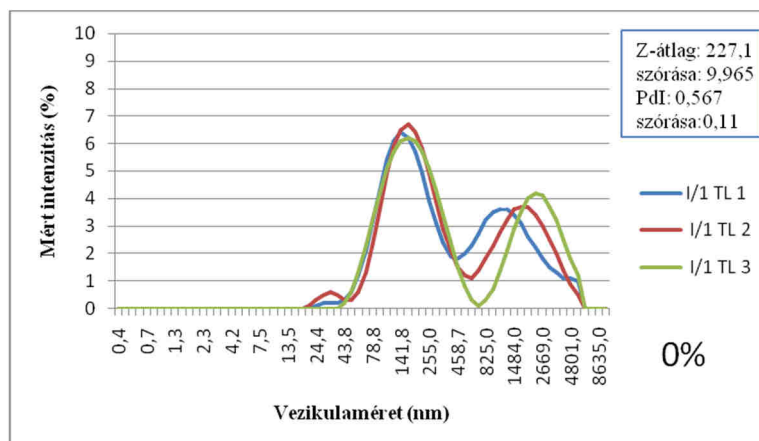
A 0,45 µm-es pórusátmérőjű membránszűrőn szűrt minták közül az I. sarzs átlagos szemcseméret változásának tendenciája a szűretlen III. sarzs tendenciájához hasonló. Az olajtartalom nélküli mintához képest az 5%-os (I. 2-0,45), és a 15%-os (I. 4-0,45 minta) olajtartalom alkalmazásával értünk el átlagos részecskeméret csökkenést. Ez esetben is az 5%-os olajtartalmú mintánál tapasztaltunk nagyobb mértékű átlagos vezikulaméret csökkenést. A II. sarzs 0,45 µm-es membránszűrőn szűrt mintái kiértékelésekor már látható, hogy az 5%-os olajtartalom ebben a sarzsban is jelentősen csökkenti a szemcseméretet, annak ellenére, hogy ez a szűretlen minták esetén nem volt megfigyelhető. Az I. és II. sarzs szűretlen és 0,45 µm-es membránszűrőn szűrt azonos olajtartalmú mintáit összehasonlítva nem tapasztaltunk lényeges részecskeméretbeli eltérést, valamint ezt köztiterméknek tekintettük, ezért a III. sarzs esetén a 0,45 µm-en szűrt mintákat nem vizsgáltuk.

A 0,22 µm-es membránszűrőn szűrt minták értékelésekor azt tapasztaltuk, hogy az átlagos vezikulaméret minden esetben csökkent a szűretlen mintákhoz képest. Mindhárom sarzs esetén az 5%-os olajtartalommal érhető el a legkisebb átlagos részecskeméret, a további olajtartalom növelése (egy kivételtől eltekintve: I. 4-0,22 minta esetén) az átlagos szemcseméret növekedését okozza. A 0,22 µm-es membránszűrést követően a minta olajtartalma nem gyakorol lényeges hatást a polidiszperzitási indexre, minden esetben monodiszperz mintákat nyertünk a végső termékek előállításának során.

4. táblázat: 0,22 µm-en szűrt minták vezikulaméret vizsgálatának eredményei

<i>Minta neve</i>	<i>Z-átlag (d.nm)</i>	<i>szórás</i>	<i>PdI -átlag</i>	<i>szórás</i>
I. 1-0,22	160,767	0,833	0,349	0,005
I. 2-0,22	131,700	1,418	0,233	0,005
I. 3-0,22	195,567	3,530	0,423	0,007
I. 4-0,22	141,700	0,300	0,231	0,030
I. 5-0,22	166,600	2,287	0,307	0,033
II. 1-0,22	159,333	1,617	0,385	0,027
II. 2-0,22	142,567	1,242	0,331	0,010
II. 3-0,22	156,267	0,757	0,279	0,004
II. 4-0,22	162,600	0,557	0,272	0,008
II. 5-0,22	190,000	2,307	0,389	0,020
III. 1-0,22	133,633	0,404	0,245	0,024
III. 2-0,22	120,133	0,723	0,239	0,003
III. 3-0,22	143,800	0,889	0,252	0,013
III. 4-0,22	134,733	2,040	0,305	0,038
III. 5-0,22	162,167	0,666	0,384	0,006

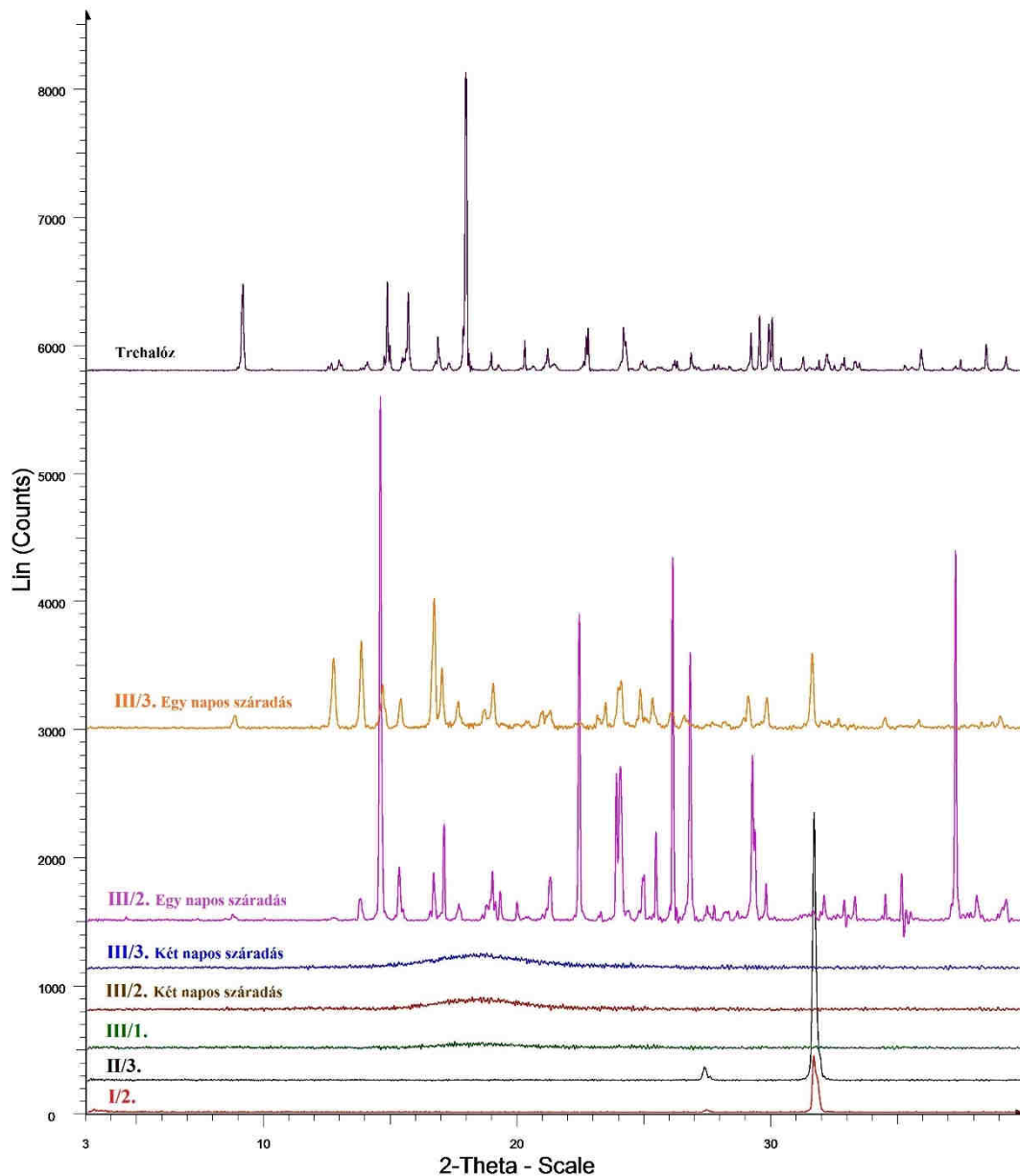
A vezikulaméret meghatározó vizsgálatok alapján megállapítható, hogy az 5%-os olajtartalom jelentős részecskeméret-csökkenést okoz minden sarzs esetén. Emellett megfigyeltük, hogy a trehalóz oldattal készült liposzómák átlagos vezikulamérete minden esetben kisebb, mint a fiziológias sóoldattal készült sarzsok szemcsemérete. 0,22 µm-es szűréssel monodiszperz eloszlás érhető el. Az 5%-os búzacsíra olajtartalom monodiszperz részecskeméret eloszlást eredményez a szűretlen mintákban is, míg a 20%-os olajtartalom növeli a polidiszperzitást (4. ábra).



4. ábra: 0%, 5%, és 20%-os olajtartalom befolyásoló hatása a szemcseméretre

Porröntgen diffrakciós vizsgálatok eredményeit az 5. ábra mutatja. Az I. és II. sarzs liofilezett mintáiban a két éles jel a beoldáshoz használt fiziológias sóoldatból származó nátrium-klorid jelenlétére utal, mely a későbbiekben hatóanyagot is tartalmazó termékek esetén, akár a belső standard szerepét is betöltheti az analitikai meghatározás során. A trehalóz röntgen diffrakciós spektruma összevethető az egy napos szárítási idővel történő kriodehidrációval készült III. 2 és III. 3 minták spektrumával. Egy napos szárítással mindkét

mintánál a trehalóz kristályos jelei detektálhatók. Ez a visszakristályosodási folyamat előnytelen a liposzómális formuláció szempontjából, a foszfolipid kettősréteget károsíthatja. Jól látható a két napos szárítási idővel készült minták spektrumán, hogy a szárítási idő növelésével a trehalóz visszakristályosodása kiküszöbölhető, az amorf szerkezet elérhető, aminek fontos szerepe lehet abban az esetben is, ha a későbbiekben fehérje természetű anyag liposzómbába történő inkorporálása a célunk.



5. ábra: A kiindulási anyagok és a liofilezett termékek porröntgen diffraktogramjai

Összefoglalás

A bemutatott munka eredményei felhívják a figyelmet a liposzómális formulációk vezikulaméretének fontosságára, mind irodalmi oldalról, mind pedig a technológiai folyamat helyes kialakítása szempontjából. A preformulációs vizsgálatokkal az átmeneti hőmérséklet mérhető, a meghatározott értékek jól alkalmazhatók az előállítási paraméterek beállításánál. A lipid film hidratációs eljárással egyenletes filmréteg alakítható ki és 200 nm részecskeméret alatti liposzómák nyerhetők. Megállapítható, hogy a búzacsíra olaj falanyag additívként való alkalmazásának befolyásoló hatása van a részecskeméretre. Az elvégzett mérések alapján az 5%-os búzacsíra olajtartalom jelentős szemcseméret csökkenést okoz. Ez a koncentráció tekinthető optimálisnak a vezikulák kettős foszfolipid rétegének fluiditásában. Az olajtartalom további növelése a polidiszperzitás növekedését eredményezi. A 20%-os olajtartalom alkalmazása előnytelen tulajdonságokat eredményezett, mind a gyártástechnológia, mind a termékek részecskeméret eloszlásának szempontjából. Az anyagszerkezeti analitikai vizsgálat eredményei alapján a termék megfelelő stabilizálása trehalóz alkalmazásával és 2 napos szárítási idővel volt elérhető.

A munka a GINOP-2.2.1-15-2016-00007 projekt „Nanotechnológia: nanoterápiás rendszerek kutatása és fejlesztése” altéma keretein belül valósult meg.

Irodalomjegyzék

- [1] Bozó, T., Pál, S., Dévay, A.: *Acta Pharm. Hung.*, 78, 103-109. (2008).
- [2] Bangham, A. D., Standish, M. M., Watkins, J. C.: *J. Mol. Biol.* 13, 238-252. (1965).
- [3] Budai, M.: Gyógyszermolekulák és UV-fény hatásának vizsgálata biológiai- és modellmembránokon. 2005.
- [4] Gelencsér, A., Csóka, G.: *Gyógyszerészet* 49, 217-223. (2005).
- [5] Budai, M., Szőgyi, M.: *Acta Pharm. Hung.* 71, 114-118. (2001).
- [6] Révész P., Aigner Z., Csányi E., Erős I., Hódi K., Ifj. Kása P., Ifj. Regdon G., Sipos P.: *Gyógyszer technológia*. JETE Press, Szeged, 2009
- [7] Dékány, G., Csóka, I., Erős, I.: *Colloid Polym. Sci.* 279, 966-975. (2001).
- [8] Dér, K., Révész, P., Sipos, P.: *Gyógyszerészet*, 59, 85-92. (2015).

- [9] Dua, J. S., Rana, P. A. C., Bhandari, D. A. K.: *Int. J. Pharm. Stud. Res.* 3, 14-20. (2012).
- [10] Patravale, V. B., Mandawgade, S. D.: *Int. J. Cosmet. Sci.* 30, 19-33. (2008).
- [11] Aparajita, V., Ravikumar, P.: *Int. J. Current Pharm. Res.* 6, 1-7. (2014).
- [12] Jójártné Laczkovich, O., Bónis, E., Szabóné Révész, P.: *Gyógyszerészet* 59, 1-9. (2015).
- [13] Kutas, J., Bodor, Á.: *Acta Pharm. Hung.* 71, 422-427. (2001).
- [14] Sherry, M., Charcosset, C., Fessi, H., Greige-Gerges, H.: *J. Liposome Res.* 23, 268-275. (2013).
- [15] Gumus, Z. P., Guler, E., Demir, B., Barlas, F. B., Yavuz, M., Colpankan, D., Sensik, A. M., Teksoz, S., Unak, P., Coskunol, H., Timur, S.: *Colloid Surfaces B Biointerfaces* 133, 73-80. (2015).
- [16] Rodríguez, J., Martín, M. J., Ruiz, M. A., Clares, B.: *Food Res. Int.* 83, 41-59. (2016).
- [17] Makhlof, A., Fujimoto, S., Tozuka, Y., Takeuchi, H.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 77, 216-224. (2011).
- [18] Murata, M., Yonamine, T., Tanaka, S., Tahara, K., Tozuka, Y., Takeuchi, H.: *J. Pharm. Sci.* 102, 1281-1289. (2013).