

ОЦЕНКА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ЛИПОСОМ

¹*Адзериho И.Э.,* ²*Коровицкий Ю.А.,* ¹*Владимирская Т.Э.,*
³*Дубатовка Е.И.*

ГУО Белорусская медицинская академия последипломного образования

²*Минская областная клиническая больница*

³*Институт химии новых материалов НАН РБ*
г. Минск, Республика Беларусь

Актуальность Разработка систем локальной доставки (Drug Delivery Systems, DDSs) лекарственных средств к определенным органам и тканям позволила повысить эффективность препаратов и минимизировать побочные эффекты. В настоящее время данное направление актуально для многих лекарственных средств, недостатки которых связаны с коротким периодом полувыведения и высоким риском возникновения системных побочных эффектов.

Цель. Оценить физико-химические свойства систем доставки лекарственных средств на основе липосом с тромболитическим препаратом тенектеплазой.

Материалы и методы. Для получения липосом были выбраны липидные композиции, состоящие из холестерина (ХС), стабилизированного α -токоферолом, и смеси фосфатидилхолинов (L-(α)-лецитина, ФХ) различного природного происхождения: соевого и яичного. Для формирования липосом был использован метод гидратации липидной пленки. Для включения в состав липосом тканевого активатора плазминогена были выбраны следующие композиции: фосфатидил-холин (соевый и яичный): холестерин с содержанием ХС от 33 до 40%. Для каждого из вариантов получали липосомы с соотношениями Липиды:ТАП 1:0,5, 1:0,75, 1:1. Активатор плазминогена добавляли к пустым лиофилизированным липосомам и проводили процедуру замораживания-оттаивания (5 раз, -20°C - $+55^{\circ}\text{C}$) для увеличения доли включения активного компонента в везикулы, после чего снова лиофилизировали. Полученные порошки использовали для изучения свойств липосом с тканевым активатором плазминогена (Лип(ТАП)). Гидродинамический диаметр липосом определяли методом динамического рассеяния света, а дзета-потенциал – по электрофоретической подвижности частиц. Для количественного определения содержания тромболитического препарата в составе липосом использовали метод Бредфорда. Для изучения высвобождения тканевого активатора плазминогена липосомы выдерживали в водной среде при температуре 37°C в течение 96 часов, затем этого проводили анализ супернатанта после центрифугирования образцов при 20 000 об/мин в течение 1 часа. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета статистических программ «SPSS Statistics

v.22». Для проверки нормальности распределения данных использовались метод Колмогорова-Смирнова. Различия между выборками оценивали, используя U-тест Манна–Уитни. Представление результатов: Me (медиана) – значение, справа и слева от которого на оси значений признака располагаются равные количества значений признака данной выборки; 25; 75 перцентиль. Достоверным считалось различие при уровне значимости $p < 0,05$ (вероятность выше 95%) и высоко достоверными при $p < 0,001$ (вероятность выше 99,9%).

Результаты. Было показано, что в случае применения липосом из соевого лецитина с содержанием холестерина 33-40% размеры Лип(ТАП) составили 30-70 нм. При этом значение дзета-потенциала составляло до -59 мВ, что указывает на стабильное состояние средств доставки на основе липосом при включении в них ТАП. Увеличение количества холестерина в липосомах до 40-50% приводило к незначительному увеличению гидродинамического диаметра липосом, который составил 55 – 100 нм с одновременным увеличением значения дзета-потенциала до -45 мВ. При использовании яичного лецитина размеры липосом составили 80-105 нм, их дзета потенциал уменьшался от -20 до -49 мВ при увеличении количества ТАП до соотношения 1:1. Увеличение содержания холестерина в липосомах приводило к агрегации липосом и увеличению их гидродинамического диаметра до 470 нм для соевого ХС и до 240 нм для яичного ХС. При этом значение дзета-потенциала изменялось незначительно и оставалось в пределах от -58,1 до -46,5 мВ, что указывает на коллоидную устойчивость системы. Выход липосомальной формы (ЛипТАП) зависел главным образом от содержания тканевого активатора плазминогена: увеличение его количества приводило к уменьшению выхода от 81,2 – 96,9 % для Лип:(ТАП) - 33% до 76,4 – 80,0 % в случае Лип:(ТАП) - 50%. Основные потери веществ приходятся на стадию лиофилизации. Увеличение количества ТАП, добавляемого к липидам, от 33 до 50 % во всех случаях приводило к увеличению эффективности его включения и степени загрузки в липосомы. Наименьшие значения эффективности включения характерны для липосом с соотношением липидов 2:1 - 75,5 % в случае соевого и 72,5 % для яичного ФХ. Наибольшая эффективность включения, равная 85,8 – 89,2 %, характерна для образцов, содержащих в исходной смеси 43-50 % ТАП и при соотношении ФХ:ХС 1,5:1. При анализе высвобождения лекарственного средства установили, что исходное содержание свободного ТАП в суспензии из липосом из яичного ФХ составило $15,1 \pm 4,1\%$, а после инкубации в течение 4 суток уменьшилось до $8,8 \pm 4,6\%$, что возможно связано с адсорбцией белка на липидной мембране и соосаждением при центрифугировании. В случае липосом из соевого ФХ содержание ТАП в супернатанте увеличилось от ~11 до ~33% в течение 96 часов, т.е. выход целевого вещества составил ~12%. При этом за первый час высвободилось ~4%, что указывает на стабильность липосом в растворе и возможность их хранения и использования в первый час после приготовления суспензии без существенной потери вещества.

Выводы. Липосомальное средство доставки тенектеплазы является эффективным и безопасным с учётом размеров до 470 нм, эффективности включения ТАП 85-90% и показателем дзета-потенциала -45 мВ и менее.