

ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ПОЛИМЕРНЫХ ДИСПЕРСИЙ НА ОСНОВЕ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА

*Л. Ж. Жапарова, Е. М. Тажбаев, д.х.н., М. Ж. Буркеев, д.х.н.,
Т. С. Жумагалиева, к.х.н.*

Карагандинский государственный университет им. Е. А. Букетова

Бұл жұмыста ісікке қарсы препарат «Арглабинді» енгізу үшін сарысулы альбумин нанобөлшектерін синтездеу нәтижелері келтірілген. Алынған нанобөлшектердің негізгі физикахимиялық сипаттамалары (бөлшектердің орташа өлшемі, полидисперстілік, беттік заряд) табылды. Альбуминді нанобөлшектерді десольваттау әдісімен алған жағдайда жүйенің тұрақтылығын анықтайтын негізгі фактор орта рН болып табылатыны анықталды. Оның өзгеруі бөлшектердің беттік зарядына әсер етеді.

Түйінді сөздер: нанобөлшектер, сарысулы альбумин, арглабин.



The results of the synthesis of serum albumin nanoparticles for loading them with antitumor drug preparation "Arglabin" are given in this work. Main physicochemical characteristics (z-average particle diameter, polydispersity, surface charge) of obtained nanoparticles were determined. It is established that while obtaining albumin nanoparticles by desolvation method the main factor which controls the stability of the system is medium pH; the change of pH affects on surface charge of the particles.

Key words: nanoparticles, serum albumin, arglabin.

На сегодняшний день известно, что использование новых форм лекарственных препаратов на основе полимерных систем позволяет достичь значительно лучших эффектов по сравнению с применением стандартных лекарственных форм. Такие системы конструируются на микро- и наноуровне. Во многих работах показано повышение терапевтического эффекта в случае применения коллоидных систем доставки лекарств (микрочастиц и микрокапсул, липосом, наночастиц (НЧ), нанокапсул и др.) при лечении микобактерий туберкулеза и раковых

заболеваний [1,2]. При этом в качестве полимерной основы используются полимеры, допущенные к применению в медицине. Из числа широко используемых природных полимеров наиболее перспективным является сывороточный альбумин.

Настоящая работа посвящена исследованию возможности получения стабильной системы НЧ сывороточного альбумина для транспорта противоопухолевого препарата арглабин. В результате экспериментальных и клинических исследований, проведенных в крупных научно-исследовательских центрах Казахстана, России, США и Германии, доказана значительная эффективность лекарственного препарата арглабин против рака молочной железы, рака легкого и первичного рака печени [3]. Получение полимерных НЧ арглабина позволит повысить терапевтическую активность препарата.

В работах [4,5] НЧ сывороточного альбумина получали методами эмульсионной полимеризации, десольвации и коацервации. В числе наиболее простых и эффективных методов - получение НЧ в эмульсии [5]. Однако этот метод имеет некоторые недостатки, ограничивающие его применение, одним из которых является необходимость удаления остатков эмульгатора, стабилизатора и других органических компонентов после проведения процесса [4,5]. В университете им. Й. Гете [4,5] в качестве альтернативы для синтеза НЧ сывороточного альбумина предложен метод десольвации, суть которого заключается в следующем: растворенный в воде сывороточный альбумин подвергают десольвации этанолом с последующей стабилизацией частиц. Макромолекулы альбумина сшивают глутаровым альдегидом. Кроме того, учеными университета им. Гете исследовано влияние на процесс приготовления НЧ таких факторов, как рН среды, скорость добавления десольватирующего агента, концентрация сывороточного альбумина и условия очистки частиц [4,5].

При получении коллоидных систем необходимо изучение агрегативной и седиментационной устойчивости высокодисперсных систем и молекулярных растворов, которая, в свою очередь, определяется такими свойствами дисперсной фазы, как размер частиц и характер их взаимодействия с жидкой средой. НЧ обладают высоким отношением величины поверхности к объему по сравнению с более крупными частицами, поэтому контроль за их поверхностными свойствами очень

важен в процессе внедрения НЧ в организм человека. Пространственно стабильные частицы (например, полимеры полиэтиленгликоля на поверхности), обладающие небольшим отрицательным или положительным поверхностным зарядом, минимально взаимодействуют между собой и с другими частицами. Таким образом, минимизация неспецифических взаимодействий благодаря пространственной стабилизации и контролю за поверхностным зарядом помогает предотвратить нежелательную коалесценцию НЧ.

Авторами работы показано, что главенствующим фактором, определяющим размер частиц до проведения процесса десольвации, является рН раствора альбумина. По-видимому, это связано с влиянием кислотности среды на поверхностный заряд частиц, способствующий устойчивости коллоидных систем. Поверхностный заряд частиц количественно характеризующийся ζ -потенциалом, является важнейшей характеристикой высокодисперсных систем и определяет возможность и скорость перемещения дисперсной фазы относительно дисперсионной среды, интенсивность электрокинетических явлений, устойчивость зольей и разрушение дисперсных систем электролитами. ζ -потенциал коллоидной системы существенно изменяется при колебаниях рН, поскольку водородные и гидроксильные ионы обладают высокой способностью адсорбироваться; первые - благодаря малому радиусу, что позволяет им близко подходить к поверхности твердой фазы; а вторые - вследствие большого дипольного момента. В кислой среде ζ -Потенциал имеет положительный знак, а в щелочной среде - отрицательный. Очевидно также, что должно существовать такое значение рН, при котором ζ -потенциал равен нулю и система окажется в так называемом изоэлектрическом состоянии. В этом состоянии число положительных и отрицательных зарядов на поверхности будет одинаковым. Авторами работы было также установлено, что изоэлектрическая точка (рI) НЧ альбумина должна равняться 5,05. При рН в области этого значения НЧ становились нестабильными, и средний диаметр полученных частиц увеличился от 250 нм до 2,7 мкм. Причем процесс агрегации был необратим, и даже при повышении значения рН и при отрицательном значении поверхностного заряда оказалось невозможным добиться установления первоначальных размеров частиц. Поэтому при получении НЧ альбумина перед проведением процесса десоль-

вазии авторы [4] рекомендуют доводить pH раствора до щелочного.

С использованием разработанной немецкими учеными методики получения НЧ альбумина десольвацией в настоящем исследовании синтезированы НЧ сывороточного альбумина. При этом до десольвации pH раствора поддерживалось в пределах 8,2-8,5, а скорость подачи этанола регулировалась с помощью мини-насоса и поддерживалась постоянной (1 мл/мин). От непрореагировавшего сывороточного альбумина раствор очищали трехкратной промывкой водой и последующим центрифугированием.

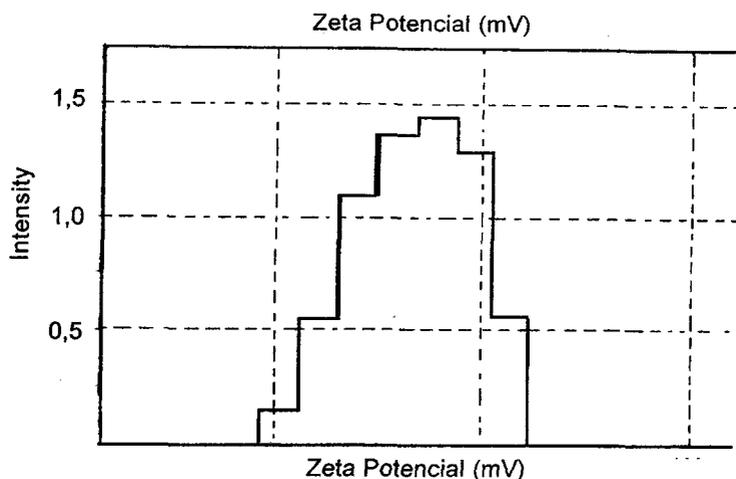
О физико-химических характеристиках полученных частиц судили по следующим параметрам: размер частиц (d , нм), полидисперсность (P), ζ -потенциал (Z , мВ). Средний диаметр частиц, их поверхностный заряд и распределение частиц по размерам измеряли на приборе «Malvern Zetasizer 3000HSA» (Malvern Instruments Ltd., Malvern, UK) (температура 25 °С и угол наклона 90°). Результаты двух независимо полученных образцов сведены в таблицу.

Физико-химические характеристики НЧ сывороточного альбумина

Параметр	Образец А			Образец Б		
	#1	#2	#3	#1	#2	#3
Размер частиц, нм	222,9	164,2	160,6	158,9	159,2	158,6
Полидисперсность	0,154	0,043	0,033	0,022	0,018	0,020
ζ -потенциал, мВ	-11,3	-21,2	-24,2	-30,4	-29,5	-33,8

Наиболее перспективным для дальнейших исследований в качестве полимеров-носителей из полученных нами образцов является образец Б, поскольку имеет меньший диаметр частиц (158,6-159,2 нм) и низкое значение полидисперсности (0,018-0,022). При этом самое главное - НЧ альбумина в образцах пробы Б характеризуются наименьшим средним значением ζ -потенциала (-31,2), что позволяет сделать вывод о стабильности системы (рисунок).

Общеизвестно, что для получения стабильных коллоидных систем значение ζ -потенциала должно быть ниже -30 мВ или выше +30 мВ, т. е. при значениях в интервале -30+30 мВ система является неста-



Распределение поверхностного заряда на НЧ альбумина

Result

Zeta Potential (mV):	-31,2	Mobility (umcm/V.s):	-2,447
StDev(mV):	6,5	StDev (umcm/V.s):	0,508
Conductivity (mS/cm):	0,00	F(ka):	1,50

бильной. Низкое значение ζ -потенциала полученных НЧ указывает на достаточную стабильность коллоидной системы во времени.

Таким образом, получены НЧ сывороточного альбумина с удовлетворительными физико-химическими характеристиками, позволяющими их использовать в качестве носителей лекарственных веществ.

Литература

1. Гельперина С. Э., Смирнова З. С., Халанский А. С. и др. Исследование наносомальной лекарственной формы доксорубицина // Рос. биотерапевт. журн. - 2004. - Т. 3. - С. 56-64.
2. Скидан И., Гельперина С., Северин С. и др. Повышение антибактериальной активности рифампицина в отношении внутриклеточных инфекций с помощью биodeградируемых наночастиц // Антибиотики и химиотерапия. - 2003. - Т. 48, № 1. - С. 23-26.

3. *Адекенов С. М.* Синтез и биологическая активность новых производных арглабина и перспективы производства оригинальных фитопрепаратов // *Рос. биотерапевт. журн.* - 2005. - Т. 5, № 5. - С. 7-14.

4. *Langer K., Balthasar S., Vogel V. et al.* Optimization of the preparation process for human serum albumin (HSA) nanoparticles // *International journal of Pharmaceutics.* - 2003. - Vol. 257. - P. 169-180.

5. *Weber C., Kreuter J., Langer K.* Desolvation process and surface characteristics of HSA-nanoparticles // *International journal of Pharmaceutics.* - 2000. - Vol.196. - P. 197-200.