

ӨОЖ 661.12

<sup>1</sup>М.Ж. Буркеев, <sup>1</sup>Е.М. Тажбаев\*, <sup>1</sup>Л.Ж. Жапарова, <sup>2</sup>Й. Кройтер<sup>1</sup>Академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды мемлекеттік университеті, Қазақстан, Қарағанды қ.<sup>2</sup>Й. Гете университетінің фармацевтикалық технология институты, Германия, Франкфурт/Майн қ.

\*E-mail: tazhbaev@mail.ru

### Ісікке және туберкулезге қарсы дәрілік препараттарды тасымалдауға арналған полимерлі наножүйелер

Бұл мақалада Қарағанды мемлекеттік университетінің химия факультетінде дәрілік заттарды бағытты тасымалдау мақсатымен полимерлердің негізіндегі нанобөлшектер мен нанокапсулаларды синтездеу және оларды зерттеу бағытында жүргізіліп жатқан жұмыстарға қысқаша шолу келтірілген.

**Түйін сөздер:** полимерлі тасымалдаушылар, нанобөлшектер, нанокапсулалар, альбумин, туберкулезге қарсы препараттар.

M.Zh. Burkeev, E.M. Tazhbayev, L.Zh. Zhaparova, J. Kreuter

#### Polymeric nanosystems for the delivery of antitumor and antituberculosis drug preparations

The paper represents brief review of the works held on Chemical Department of Karaganda State University named after E.A. Buketov directed to the synthesis and investigation of nanoparticles and nanocapsules based on polymers for purposeful drug delivery.

**Keywords:** polymer carriers, nanoparticles, nanocapsules, albumin, antituberculosis drugs.

М.Ж. Буркеев, Е.М. Тажбаев, Л.Ж. Жапарова, Й. Кройтер

#### Полимерные наносистемы для транспорта противоопухолевых и противотуберкулезных препаратов

В настоящей статье приведен краткий обзор работ, проводимых на химическом факультете Карагандинского государственного университета имени Е.А. Букетова по синтезу и исследованию наночастиц и нанокапсул на полимерной основе для целенаправленного транспорта лекарственных препаратов.

**Ключевые слова:** полимерные носители, наночастицы, нанокапсулы, альбумин, противотуберкулезные препараты.

#### Кіріспе

Көптеген зерттеулердің нәтижесі полимерлі наножүйелерді әсері күшті дәрілерді көп мөлшерде қабылдауды қажет ететін туберкулез, ісік, артериалды гипертония тәрізді хроникалық ауруларды емдеуде пайдаланудың болашағы зор екендігін көрсетті [1-5]. Басқа коллоидты жүйелерге қарағанда наножүйелердің бірталай артықшылықтары (өлшемінің кішілігі, айтарлықтай тұрақтылығы, бетінің үлкен болуы, т.б.) олардың негізінде жаңа дәрілік үлгілерді алудың тиімділігін айқындады.

Қазіргі кезде, негізінен, дәрілік затты бақыланған түрде бөліп шығаратын наножүйелерді (нанобөлшектер мен нанокапсулалар) синтездеу бағытында жұмыс жасап жатқан бірнеше ғылыми топ бар. Дәріні бағытты жеткізіп, оны бақыланған түрде бөліп шығаруға қабілетті нанобөлшектерді жасап шығару саласының негізін қалаушылардың бірі – Цюрих университетінің профессоры Питер Спайзер [1]. Профессор Спайзердің ең маңызды идеялары дәрілік заттарды бағытты тасымалдау мақсатымен нанобөлшектерді жасап шығару және оларды қан жүйесіне енгізіп,

гематоэнцефалиттік кедергіден өтуі қажет дәрілер үшін пайдалану мүмкіндігі болды [1]. Дәрілік заттарды тасымалдауға қабілетті мұндай жүйелерді синтездеу мүмкіндігі бастапқыда күмән тудыарлық ой болып көрінгенмен, профессор Спайзердің ғылыми тобының күшімен бұл идея 15 жылдан да аз уақытта жүзеге асты [1]. Бұл ғылыми бағытты Гете университетінің фармацевтикалық технология институтының профессоры Йорг Кройтер (Франкфурт/Майн, Германия) одан әрі дамытты. Профессор Й. Кройтердің басшылығымен 1970 жылдардан бастап бүгінгі күнге дейін әртүрлі табиғи (альбумин) және синтетикалық (полиалкилцианоакрилаттар) полимерлердің негізінде доксорубин, аполипротеин, ДНК, РНК, т.б. биологиялық белсенді заттар мен ісікке қарсы препараттарды бақыланған түрде босатып шығаратын наножүйелерді синтездеу бағытында жұмыстар жүргізіп келеді [2]. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде алғаш рет ми ісігіне қарсы доксорубин препараты полисорбатпен қапталған полибутилцианакрилатты нанобөлшектерге енгізіліп, олардың гематоэнцефалитті кедергіден өтуге қабілетті екендігі дәлелденді [2].

Осыған байланысты, бұл мақалада академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды мемлекеттік университетінің химия факультетінде дәрілік заттарды тасымалдауға арналған наноөлшемді бөлшектерді синтездеу бағытында жүргізілген жұмыстарға қысқаша шолу жасалған.

### **Тәжірибелік бөлім**

#### **Альбуминді нанобөлшектерді синтездеу**

Бос альбуминді нанобөлшектер десольваттау әдісімен дайындалды [1].

200 мг альбумин 2 мл суда ерітіліп, араластыра отырып, рН-ы 8,5-ға жеткізілді. Одан соң, бөлме температурасында үздіксіз араластыра отырып, ерітіндіге қажетті мөлшерде этил спиртінің ерітіндісі және глутар альдегидінің ерітіндісі қосылды. Ерітіндіні 24 сағат бойы араластырғаннан соң, нанобөлшектер ерітіндіден центрифугалау арқылы бөліп алынып, дистилденген сумен бірнеше қайтара жуылды.

#### **Арглабиннің бос альбуминді нанобөлшектердің бетіне адсорбциясы**

Концентрациялары 0,25; 0,50; 0,75; 1,0;

2,0; 4,0, дәрілік заттың этанолдағы ерітінділері дайындалып, концентрациялары 10 мг/мл-ге болатын бос альбуминді нанобөлшектер ерітінділеріне құйылды. Қоспа бөлме температурасында 2 сағат араластырылды. Одан соң ерітінділерді центрифугалау арқылы бөлшектер тұнбаға түсіріліп, бөлініп алынып, сумен жуылды.

#### **Альбумин нанобөлшектеріне Арглабинді енгізу**

Әрқайсысында 20 мг альбумин бар 4 пробиркаға әртүрлі концентрацияда субстанциялы Арглабин және тағы төртеуіне Арглабин гидрохлориді салынып, оларға 1 мл су қосылды. Барлық ерітінділердің рН-ы 8,5-ға келтіріліп, 2 сағат үздіксіз араластырылды. Липофилді Арглабині бар пробиркаларға алдын-ала 1 мл этил спирті қосылды. Нанобөлшектер түзілуі үшін үздіксіз араластыра отырып, мининасос арқылы липофилді және гидрофилді Арглабин ерітінділеріне сәйкесінше 2 және 3 мл этил спиртінің ерітіндісі және глутар альдегиді қосылды. Ерітінділер 24 сағат араластырылды.

#### **Полисүт қышқылды нанобөлшектерді алу**

Полисүт қышқылының нанобөлшектері нанотұндыру әдісімен алынды. Дәрілік препараттың есептелген мөлшері 0,2 мл су және қажетті мөлшерде ацетон дәрінің судағы ерітіндісіне қосылды. Полисүт қышқылы ацетонда ерітіліп, олар дәрілік затты бар ерітіндімен араластырылды. Одан соң дәрілік затты бар полимер ерітіндісі араластыра отырып, 5 мл сыртқы фазаға (су) қосылды. Органикалық еріткіш 40 мин бойы төмен қысымда буландырылды, ал нанобөлшектер дисперсиясы 20 мл сумен сұйылтылып, ірі бөлшектерден бөлу үшін сүзілді.

#### **Полиэтилцианакрилатты нанобөлшектерді алу**

Араластырғышпен және термометрмен жабдықталған екі мойынды колбаға 10 мл бидистилденген су (алдын-ала буферлі ерітіндімен рН 2,0-2,5 мәніне дейін қышқылдандырылған), Твин-85-тің есептелген мөлшері құйылып, 20 минут араластырылды. Одан соң бұл қоспаға мономердің қажетті мөлшері қосылды. Процестің ұзақтығы – 1,5-2 сағат.

### **Бөлшектердің өлшемін, полидисперстілігін және олардың беттік зарядын өлшеу**

Бөлшектердің орташа өлшемдері, полидисперстілігі және  $\zeta$ -потенциал шамалары фотонды корреляциялық спектроскопия әдісімен анықталды. Өлшеулер Malvern Zetasizer 3000HSA (Malvern Instruments Ltd., Malvern, UK) қондырғысында, 25°C температурада, 90° шашырату бұрышында жүргізілді. Үлгілер бидистилденген суда дайындалды.

Бос және дәрілік затпен толтырылған нанобөлшектердің суреттері CM 12 transmission electron microscope (Philips) трансмиссионды электронды микроскопта және сканирлеуші (Phenom, FEI company) электронды микроскопта жасалды.

### **Арглабиннің байланысу дәрежесін кондуктометрлік және спектрофотометрлік әдістермен анықтау**

Ерітінділердің электрөткізгіштіктері Conductivity meter Type OK-102 (Hungary) №1182 және ООО «Эконикс-Эксперт», ИНН/КПП 7728209000/772801001 (Москва) қондырғысында өлшенді. Бұл жағдайда пайдаланылған электродтар – платиналы электродтар, UTU-2/77 (Polanol) маркалы термостат, көлемі 25 мл термостатталған (293 K) ұяшық.

Ерітіндідегі дәрілік заттың мөлшері УК-спектрофотометриялық әдіспен U3000 Spectrophotometer ( $\lambda=204$  нм) (Hitachi) қондырғысында анықталды. Үлгі ерітінділері Sephadex колонкалары (Sigma Chemical Co. DE-52) арқылы өткізіліп, алдын-ала 1:5,7 қатынасындағы этанол:су ерітіндісімен жуылды. Алынған нәтижелер бойынша Арглабиннің байланысу дәрежесі есептелді.

### **Нанобөлшектердің шығымын гравиметриялық әдіспен анықтау**

Алдымен алюминийден жасалған бос тигельдер дәлдігі өте жоғары ( $1 \cdot 10^{-4}$  мг) таразыда өлшенді. Одан соң, тигельдердің барлығы әрқайсысына 0,05 мл нанобөлшектер ерітінділерімен толтырылып, 80°C температурада 2 сағатқа кептіргіш шкафқа қойылып, 2 сағаттан соң тигельдер қайта өлшенді.

### **Нәтижелер және оларды талқылау**

Соңғы жиырма жылда академик Е.А. Бөкетов атындағы Қарағанды мемлекеттік

университетінің химия факультетінің профессоры М.Ж. Буркеевтің жетекшілігімен дәрілік заттарды тасымалдауға арналған наноөлшемді бөлшектерді синтездеу бағытында зерттеу жұмыстары жүргізіліп келеді. Ғылыми зерттеулер нәтижесінде ісікке қарсы Отандық «Арглабин» препаратының және туберкулезге қарсы бірқатар дәрілік препараттардың полисүтқышқылды, полиалкилцианакрилатты және альбуминді нанобөлшектері синтезделіп, олардың физика-химиялық сипаттамалары анықталып, биологиялық белсенді заттардың полимерлі матрицадан босап шығу кинетикасы зерттелді [3-5].

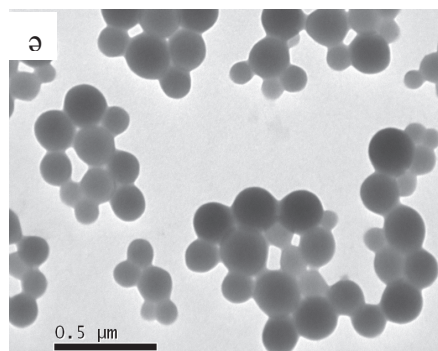
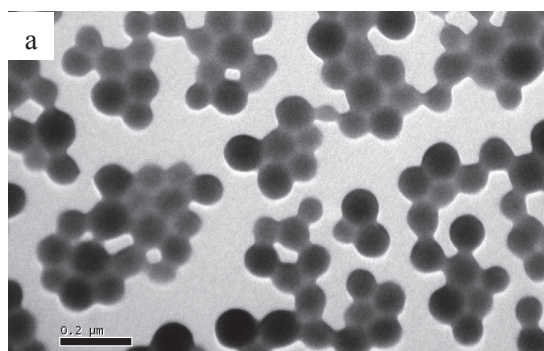
Бұл жұмыста полимерлі тасымалдаушы ретінде кең қолданылатын табиғи полимерлер – альбумин мен полисүт қышқылы пайдаланылды. Ісікке қарсы Отандық препарат «Арглабин» мен туберкулезге қарсы дәрілік препарат *n*-аминосалицил қышқылын альбуминді нанобөлшектермен байланыстыру мүмкіндіктері зерттелді. Бұл жағдайда «Арглабин» препаратының суда ерігіш (диметиламиноарглабин гидрохлориді) және нативті (суда ерімейтін липофилді түрі) үлгілері мен *n*-аминосалицил қышқылы альбуминді нанобөлшектерге 2 әдіспен имобилизацияланды: 1) дәрілік затты алдын-ала синтезделген полимерлі нанобөлшектердің бетіне адсорбциялау; 2) арглабин мен *n*-аминосалицил қышқылын жүйеге альбумин макромолекулаларын тігу барысында тікелей енгізу. Дәрілік затты альбуминді нанобөлшектерге адсорбциялау нәтижесінде арглабиннің полимермен байланысу дәрежесі дәрінің минималды концентрациясында 81%-ға тең болып, ал ең шекті жағдайда байланысу дәрежесі 97,8%-ға дейін жетті. Арглабинді альбумин матрицасына енгізу әдісімен имобилизациялау өлшемдері 150-250 нм аралығында және полидисперстілік мәні төмен нанобөлшектер алуға мүмкіндік берді. Олардың нативті (липофилді) және диметиламиноарглабин гидрохлоридімен байланысу дәрежесі сәйкесінше 51%-дан және 73 %-дан жоғары болды (1-кесте). Екі әдіспен Арглабинмен имобилизацияланған альбуминді нанобөлшектердің электронды микроскопиялық түсірілімдері 1-суретте көрсетілген. Берілген суреттерден нанобөлшектердің пішіні сфералық ал таралуы бойынша мономодальдыға жақын екендігі көрініп тұр. Мұндай нәтижелер ісікке

қарсы препарат «Арглабинді», әсіресе, суда ерімеуіне байланысты қолданыс таппаған

дәрінің липофилді түрін алдағы уақытта ауруды емдеуде пайдалануға жол ашады.

**1-кесте** – Дәрілік заттармен иммобилизацияланған табиғи полимер негізіндегі нанобөлшектердің салыстырмалы физикахимиялық сипаттамалары

Дәрілік заттармен иммобилизацияланған альбуминді нанобөлшектер				
1. Арглабинмен иммобилизацияланған				
Нанобөлшектердің сипаттамалары	Бос нанобөлшектер	Дәрілік затпен иммобилизацияланған нанобөлшектер		
		адсорбция әдісімен алынған	енгізу әдісімен алынған	
		липофилді түрі	липофилді түрі	гидрофилді түрі
Орташа өлшемі, d, нм	159,0	161,9	126,2	314,7
Нанобөлшектердің полидисперстілігі	0,027	0,012	0,046	0,138
ζ-потенциал, мВ	-27,6	-17,2	-25,8	-37,9
Максималды байланысу дәрежесі, %	-	97,8	81,0	78
2. n-аминосалицил қышқылымен (ПАСҚ) иммобилизацияланған				
Орташа өлшемі, d, нм	310,2	313,4	435,0	
Нанобөлшектердің полидисперстілігі	0,142	0,145	0,147	
ζ-потенциал, мВ	-	-	-	
Максималды байланысу дәрежесі, %	-	95	99	
Изониазидпен иммобилизацияланған полисүт қышқылды нанобөлшектер				
Орташа өлшемі, d, нм	290,1	-	256,7	
Нанобөлшектердің полидисперстілігі	0,316	-	0,384	
ζ-потенциал, мВ	- 35,0	-	- 30,4	
Байланысу дәрежесі, %	-	-	50,0	



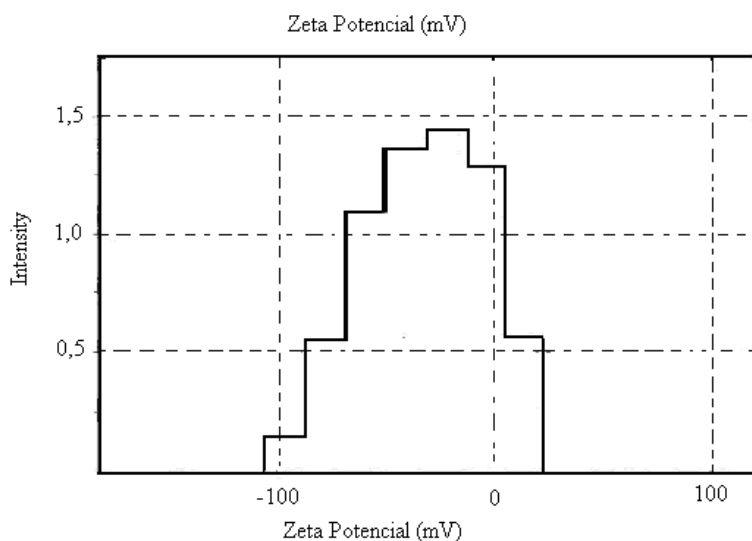
**1-сурет** – Адсорбция (а) және енгізу (ә) әдістерімен арглабинмен иммобилизацияланған альбуминді нанобөлшектер

Байланысу дәрежесінің дәрілік заттың концентрациясынан тәуелділігін зерттеу қосылған *n*-аминосалицил қышқылының максималды концентрациясында адсорбция әдісімен 95 %-ға дейін, ал енгізу әдісімен 99 %-ға дейін дәрілік затты альбуминмен байланыстыруға болатынын көрсетті. Алынған нанобөлшектердің физикахимиялық сипаттамалары 1-кестеде келтірілді.

Одан әрі туберкулезге қарсы қолданылатын бірден-бір дәрілік препарат «Изоиназидтің» полимерлі нанобөлшектермен байланыстыру мүмкіндігі зерттелді. Бұл жағдайда полимерлі негіз ретінде кең қолданыс тапқан табиғи полимер – полисүт қышқылы пайдаланылды. Полисүт қышқылының наноөлшемді бөлшектерін алудың үш әдісі зерттеліп, изониазидті полисүт қышқылының матрицасына енгізуде нанотұндыру әдісінің перспективтілігін көрсетті. Осы әдіспен қанағаттандырылғық физика-химиялық сипаттамаларға ие және байланысу дәрежесі жоғары (50 %) туберкулезге қарсы

дәрілік препарат «Изоиназидпен» иммобилизацияланған полисүт қышқылының нанобөлшектері алынды (1-кесте). Алынған бос және дәрілік затпен иммобилизацияланған полимерлердің молекулалық массасы сәйкесінше 1520 және 1630, ал нанобөлшектердің шығымы 77 %-дан жоғары болды.

Тұрақты коллоидты жүйелерді алу үшін  $\zeta$ -потенциал мәні  $-30$  мВ немесе  $+30$  мВ жақын болуы керек екендігі белгілі, себебі беттік заряды 0-ге жақын жүйелер тұрақсыз және коагуляцияға бейім келеді. Кестедегі мәліметтерден көрініп тұрғандай, жүйелердегі бос және дәрілік заттармен иммобилизацияланған нанобөлшектердің беттік заряды, яғни  $\zeta$ -потенциалдары барлық жағдайда өте төмен теріс мәнге ие ( $-17,2$ – $-37,8$  мВ), ал бұл жүйенің уақыт аралығында тұрақтылығын көрсетеді (Кесте 1). Мұны полисүт қышқылды нанобөлшектер бетіндегі зарядтың таралу графигінен де көруге болады (2-сурет).



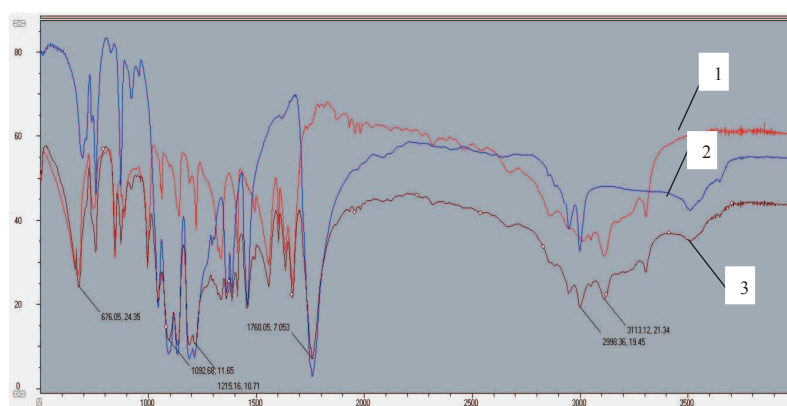
**2-сурет** – Полисүт қышқылды нанобөлшектердің бетіндегі электр зарядының таралуы

Туберкулезге қарсы дәрілік препарат «Изониазидтің» полисүт қышқылының матрицасына енуін ИҚ-спектроскопиялық зерттеу нәтижелері 3-суретте келтірілген.

Бұл суреттен дәрілік затпен иммобилизацияланған полисүт қышқылды нанобөлшектердің спектрлерінде «Изониазид» пен полимердің

құрылысындағы негізгі химиялық байланыстардың өзгеріске ұшырамағандығы көрініп тұр. Ал бұл полимер мен дәрілік заттың арасында жаңа байланыстың түзілмегенін, яғни изоникотин қышқылы гидразидінің полисүт қышқылының матрицасына ене отырып, өзінің белсенділігін сақтап қалғанының дәлелі болып табылады.





**3-сурет** – «Изониазид» (1), полисүт қышқылы (2) және дәрілік затпен иммобилизацияланған полисүт қышқылды нанобөлшектердің (3) ИҚ-спектрлері

Бұдан кейінгі зерттеулер полимерлі тасымалдаушы ретінде синтетикалық полимер полиэтилцианакрилатты пайдалана отырып, онымен туберкулезге қарсы дәрілік препарат капреомицин сульфатының нанобөлшемді үлгілерін алу мүмкіндігін қарастыруға арналды. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде полиэ-

тилцианакрилатты нанобөлшектерге капреомицин сульфатын енгізудің ықшамды жағдайлары табылып, қанағаттанарлық физикахимиялық сипаттамаларға ие (орташа өлшемі 130-150 нм) және байланысу дәрежесі 33 %-дан жоғары нанобөлшектер синтезделді (2-кесте).

**2-кесте** – Капреомицин сульфатымен иммобилизацияланған полиэтилцианакрилатты нанобөлшектердің физика-химиялық сипаттамалары

Нанобөлшектердің сипаттамалары	Бос нанобөлшектер	Капреомицин сульфаттымен иммобилизацияланған нанобөлшектер
Орташа өлшемі, d, нм	153,7	132,3
Нанобөлшектердің полидисперстілігі	0,132	0,042
Полимердің молекулалық массасы	2428	2012
Максималды байланысу дәрежесі, %	-	33,3

In vitro зерттеулер капреомицин сульфатының полиэтилцианакрилатты наносомалы үлгіден босап шығу уақытының 3 есеге дейін артатынын көрсетті [4,5].

Қазіргі кезде альбуминді нанобөлшектерге капреомицин сульфаты және басқа да туберкулезге және ісікке қарсы препараттарды иммобилизациялау бағытында зерттеулер жүргізілуде.

### Қорытынды

Сонымен, жүргізілген зерттеулер нәтижесінде

полиэтилцианакрилат, альбумин және полисүт қышқылының негізінде ісікке қарсы отандық препарат «Арглабин» мен туберкулезге қарсы кейбір дәрілік препараттардың полимерлі нанобөлшектері синтезделді. Алынған нанобөлшектердің сипаттамалары дәрілік заттардың полимерлі тасымалдаушыларына қойылатын талаптарға жауап береді, ал бұл мұндай жүйелерді болашақта туберкулезге және ісікке қарсы препараттардың тасымалдаушылары ретінде қолдануға жол ашады.

### Әдебиеттер

- 1 Kreuter J. Nanoparticles—a historical perspective // Int. Journal of Pharmaceutics. – 2007. – Vol. 331, № 1.- P. 1-10.
- 2 Kreuter. J. Colloidal Drug Delivery Systems. – CRC Press, 1994. – 353 p.
- 3 Zhaparova L., Tazhbayev Y., Burkeev M., Adekenov S., Ulbrich K., Kreuter J. Preparation and investigation of antitumor drug Arglabin loaded human serum albumin nanoparticles. // Trends in Cancer Research. Ltd. India. – 2008. – Vol. 4. – P. 43-47.
- 4 Жапарова Л.Ж., Тажбаев Е.М., Буркеев М.Ж., Кажмуратова А.Т., Жумағалиева Т.С., Али С.И., Ван Херк А.М. Синтез и характеристика полиэтилцианоакрилатных наночастиц, иммобилизованных сульфатом капреомицина // Хим.-фарм. журн. – 2012. – Т.46, № 1. – С. 77-80.
- 5 Буркеев М.Ж., Жапарова Л.Ж., Тажбаев Е.М., Жумағалиева Т.С., Али С.И., Ван Херк А.М. Исследование in vitro высвобождения капреомицина сульфата из полиэтилцианоакрилатных наночастиц // Хим.-фарм. журн. – 2013. – Т.47, № 3. – С.30-32.

### References

- 1 Kreuter J. Nanoparticles – a historical perspective. Int. Journal of Pharmaceutics, 2007, 331(1). P. 1-10.
- 2 Kreuter. J. Colloidal Drug Delivery Systems.CRC Press, 1994. 353 p.
- 3 Zhaparova L., Tazhbayev Y., Burkeev M., Adekenov S., Ulbrich K., Kreuter J. Preparation and investigation of antitumor drug Arglabin loaded human serum albumin nanoparticles. Trends in Cancer Research, Ltd. India, 2008, 4. P. 43-47.
- 4 Zhaparova L.Zh., Tazhbayev Y.M., Burkeev M.Zh., Zhumagalieva T.S., Kazhmuratova A.T., Ali S.I., Van Herk A.M. Synthesis and characterization of polyethyl cyanoacrylate nanoparticles immobilized by capreomycin sulfate [Sintez i harakteristika polie'tilcianoakrilatnyh nanochastic, immobilizovannyh sul'fatom kapreomicina]. Khim.-farm. zhurn. – Pharm. Chem.J., 2012, 46(1). P.77-80.
- 5 Burkeev M.Zh., Zhaparova L.Zh., Tazhbayev Ye.M., Zhumagalieva T.S., Ali S.I., Van Herk A.M. An in vitro study of the release of capreomycin sulfate polyethyl from cyanoacrylate nanoparticles [Issledovanie in vitro vysvobozhdeniya kapreomicina sul'fata iz polie'tilcianoakrilatnyh nanochastic]. Khim.-farm. zhurn. – Pharm. Chem. J., 2013, 47(3). P.30-32.