ӘОЖ 615.4-620.3

Б.Х.Мұсабаева, М.М.Слямова, Л.К.Оразжанова,
З.Ж.Арипжанова, К.Б.Мұрзағұлова

Семей қаласының Шәкәрім атындағы мемлекеттік университеті
(E-mail: binur60@mail.ru)

Туберкулезге қарсы препараттарды геллан және полиэлектролитті мультиқабаттармен капсулдеу мүмкіндігін зерттеу

Мақала геллан биополимерін матрица ретінде пайдаланып, хитозан және декстрансульфаттан тұратын полиэлектролитті мультиқабаттармен туберкулезге қарсы препараттарды капсулдеу мүмкіндігін зерттеуге арналған. Алынған капсулалар растрлі электрондық микроскопия әдісімен зерттелген. Туберкулезге қарсы препараттарды капсулаға енгізу тиімділігі анықталған.

Кілт сөздер: туберкулезге қарсы препараттар, геллан, полиэлектролитті мультиқабаттар, хитозан, декстрансульфат.

Кіріспе

Медицинаның соңғы жетістіктеріне қарамастан, туберкулез әлі де ғаламдық өзекті мәселе болып тұр, себебі әлем бойынша жыл сайын миллиондаған адам осы аурумен ауыруда. Сонымен қоса туберкулездің резистентті, яғни дәріге төзімді, формаларын емдеу тиімділігі, әлі де төмен. Дәріге төзімді туберкулез көпшілік дәрілік-төзімді және мол дәрілік-төзімді (КДТ-ТБ және МДТ-ТБ) болып бөлінеді. Әлемде КДТ-ТБ емдеу тиімділігі 48 % құрайды, емдеу барысында өлім пайызы — 15 %, әдетте дәрілерге жанама реакциялармен байланысты болатын емдеуден бастарту — 28 %. Мұндай аурулар қысқа уақыт ішінде өздерімен қатынаста болған 25 адамға КДТ-ТБ жұқтыра алады. МДТ-ТБ емдеу тиімділігі 33 % құрайды, өлім — 26 % [1].

Дәріге төзімді туберкулез (ДТ-ТБ) түптеп келгенде емделеді, бірақ пациент 6 антибиотиктен тұратын емдеу курсын өтуі тиіс, 2–3 жыл бойы тәулігіне 20 дәрі қабылдауы керек. Емделуге жанама әсерлер қабаттасады, оның ішінде жүрек айну, ағыл-тегіл құсу, дәрілік гепатит, агрессивті мінез-құлық, бас айналу, диарея, естімей қалу, күйзеліс, галлюцинация, летаргия. Кейбір емделушіге жанама әсерлерден арылу үшін қосымша дәрілер беру керек. Яғни емдеу процесі емделушінің тұрмыс сапасын төмендетеді: тіпті өзіне қол салу жағдайлары орын алған. Сондықтан ДТ-ТБ бар емдеуін жетілдірудің кез келген әрекеті өзекті және әлеумет үшін маңызды.

Осындай міндеттердің қатарына мөлшерлеуді оңтайландыру, препараттардың әрекетін ұзарту, биожетімділігін арттыру, сонымен қатар әр түрлі туберкулезге қарсы препараттарды (ТҚП) қауіпсіз үйлестіре қолдану жолдарын іздестіру жатады, бұлар ДТ-ТБ емдеу ұзақтығын азайтып, аурудың тұрмыс сапасын арттырады.

Полимерлі мультиқабаттарды биомедициналық мақсатта қолдану мүмкіндіктері [2, 3] шолуда қарастырылған. Бірақ ондада полиэлектролитті комплекстерді пайдалану жайлы мәліметтер аз. LbL (Layer by Layer deposition) техникасымен алынған мультиқабатты полиэлектролитті капсулалар рекомбинатталған инсулинді пероральды жеткізу үшін қолданылған [4], аниондық және катиондық полисахаридтар қабаттарынан түзілген микробөлшектер құрамына инсулиндер енгізілген, сонымен қоса инсулиннің биожетімділігін арттыру үшін протеазалар ингибиторлары қоса енгізілген.

Ерекше айта кететін жайт, осы жолмен алынған микрокапсулалар қышқылдық ортада (асқазанда) әбден тұрақты болған, ал pH бейтарап шамаларында (ішек ортасы) инсулинді бөліп, жылдам ыдырап кеткен. LbL техникасының тағы бір маңызды ерекшелігі — ол микрокапсулаларға басқа әрекет етуші бастама, мысалы, протеаза ингибиторын қосымша қосуына мүмкіндік береді. Бұл жағдайда бейтарап ортада ерітіндіге бөлініп шығатын микрокапсулденген инсулин протеазалар әсерінен қорғалады, ал бұл жағдай оның биожетімділігін арттырады. Алайда бұл зерттеулер фундаменталды сипатта және осы уақытқа дейін емдеу тәжірибесінде қолданыс таппаған.

Әдебиетте ТҚП көп қабатты капсулаларға енгізудің кейбір нәтижелері келтірілген. Мысалы, рифампицинді pH=2 шамасында поливинилхлоридоннан (ПВПД) және полиметилакрил қышқылынан тұратын 8 қабатты, өлшемі бірнеше микрон болатын капсулаларға енгізген. pH=7,4 кезінде дәрі 90 %-ға босап шыққан; *in vitro* және *in vivo* зерттеу нәтижелері инкапсулденген және бос

препараттар бірдей емдік әрекет ететіні көрсетілген [5]. Алайда бұл жағдайда қабаттар полиэлектролитті комплекс түзу арқылы емес, сутектік байланыс арқылы әрекеттесетінін атап өту керек.

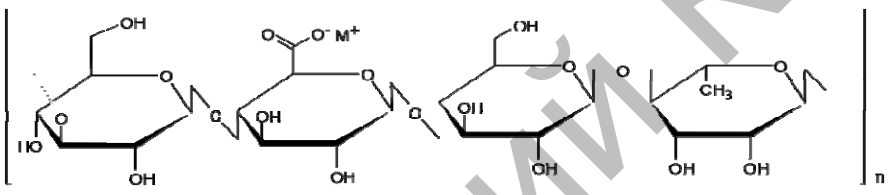
Р.И.Мұстафин қызметкерлерімен бірге [6] моноқабатты интерполиэлектролитті комплекс (аниондық және катионды табиғаты бар эудрагиттер) негізінде дәрілік заттарды ішекке пероральды жеткізу жүйесін алу технологиясын әзірлеген.

Берілген жұмыстың мақсаты туберкулезге қарсы препараттардың, нақты айтқанда, формуласында геллан мен хитозан және декстрансульфаттан тұратын полиэлектролитті мультиқабаттары бар капсулаларға пиразинамид, изониазид немесе моксифлоксацин препараттарын енгізу мүмкіндігін зерттеу болып табылады.

Тәжірибелік бөлім

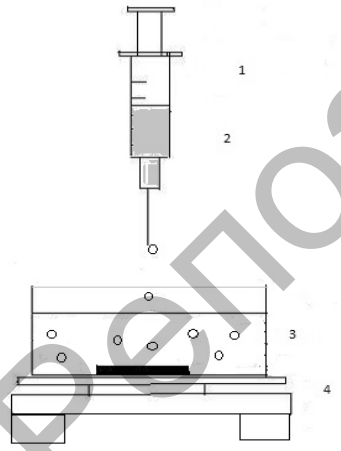
Жоғарыда аталған жұмыста [4] инсулиннің өзі жоғары молекулалы ақуыз, ал біздің пайдаланған препараттарымыз төменгі молекулалық қосылыстар, сондықтан бізге капсула дайындау үшін полимерлі матрица қажет. Осындай матрица ретінде биополимер геллан таңдалды. Соның ішінде Қытайда өндірілген төмен ацетилденген геллан алынды.

Геллан — *Sphingomonaselodea* бактерияларынан туындайтын сызықты анионды полисахарид. 1:2:1 молярлы қатынастағы α-L-рамноза, β-D-глюкоза, β-D-глюкуронат сияқты мономерлі бірліктерден тұрады. Сілтімен өңдей отырып, төмен ацетилденген геллан алады (low-acyl) (1-сур.).



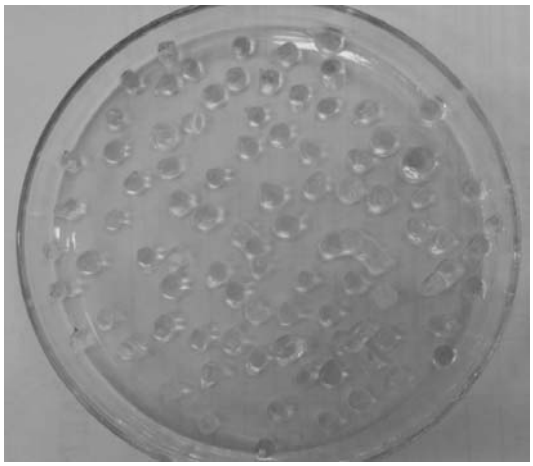
1-сурет. Төмен ацетилденген геллан формуласы

Полиэлектролит ретінде оң зарядты полиэлектролит хитозан және теріс зарядты полиэлектролит декстрансульфат таңдалынды. Жұмыста суда еритін хитозан, молекулалық массасы ≥ 8000 Да («Биопрогресс» ЖАҚ, Мәскеу) және натрий декстрансульфаты, 500 кДа (Sigma-Aldrich) пайдаланды.



1 – шприц;
2 – геллан және дәрі-дәрмек ерітіндісі;
3 – 1 % кальций хлориді сулы ерітіндісі;
4 – магнитті араластырғыш

2-сурет. Туберкулезге қарсы препараттар енгізілген геллан капсулаларын алу схемасы



3-сурет. Полиэлектролитті мультиқабаттармен қапталған пиразинамид-геллан капсулалары

Гелланды капсулалар кеңінен қолданылып жүрген ионотропты гель түзу әдісімен алынды. 1 % (3 %) геллан ерітіндісі 0,01 г/мл пиразинамид (немесе 0,02 г/мл изониазид/моксифлоксацин) ерітіндісімен бірге 90°С дейін қыздырылды. Алынған ерітінді, 2-суретте көрсетілгендей, медициналық шприц пайдаланып, 1 % кальций хлориді ерітіндісіне тамшылатып енгізілді. Орташа диаметрі 3–3,5 мм мөлшері бойынша таралатын мөлдір капсулалар алынды (3-сур.). Алынған капсулалар кальций хлориді ерітіндісінде 10 мин бойы ұсталып, одан кейін елеуіш арқылы өткізіліп,

20 мл сумен шайылды. Капсулалар аздап ауада кептіріліп, ал ерітіндісі дәрі-дәрмекті гелланға енгізу тиімділігін анықтау үшін пайдаланды.

Ерітіндідегі пиразинамид мөлшері Specord 210 (Германия) аспабында, Қазақстандық фармакопеяда [7] көрсетілгендей, 268 нм толқын ұзындығында спектрофотометрия әдісімен анықталды. Изониазид мөлшері броматометрия әдісімен анықталды. Моксифлоксацин мөлшерін анықтау 295 нм толқын ұзындығында спектрофотометрия әдісімен жүргізілді [7].

Геллан капсулаларын полиэлектролитті мультиқабаттармен қаптау үшін LbL техникасы пайдаланды. Ол үшін алынған гелланды капсулалар кезекпен алдымен декстрансульфат ерітіндісіне (натрий хлоридінің 0,5 % ерітіндісінде дайындалған) салынды, екі рет сумен шайылды, одан кейін 0,5 % хитозан ерітіндісіне (сірке қышқылының 3 % сулы ерітіндісінде дайындалған) салынып, тағы да сумен шайылды. Осы процедура 20 рет қайталанды. Осылайша оң және теріс зарядталған полиэлектролиттердің 20 қабаты пайда болды.

Нәтижелерді талдау

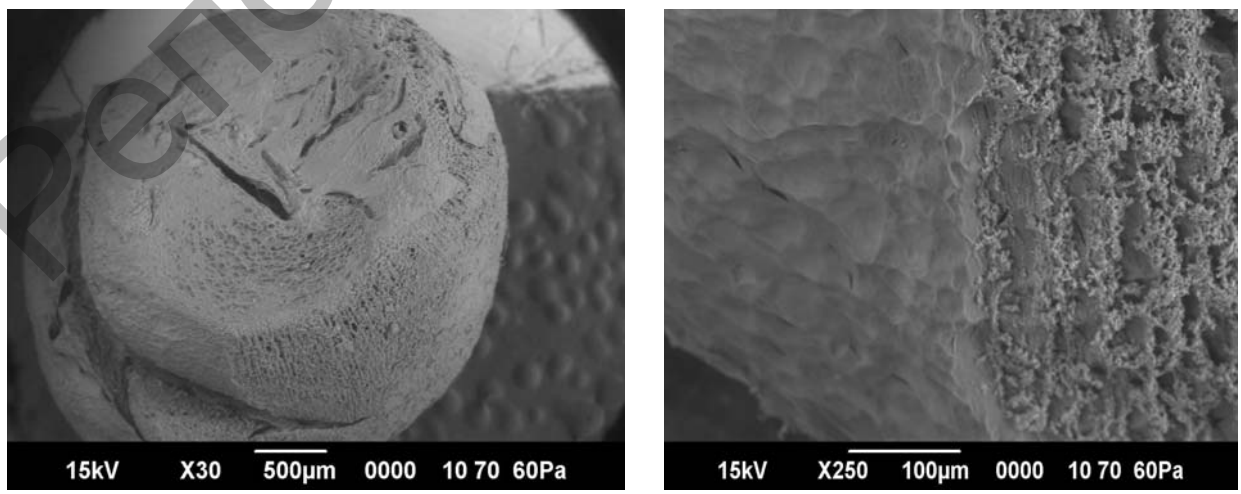
Пиразинамид, изониазид, моксифлоксацинды капсулаға енгізу тиімділігін анықтау нәтижелері төменгі кестеде көрсетілген.

К е с т е

Геллан негізіндегі капсулаларға препараттарды енгізу тиімділігі (%)

Капсула матрицасы	Тәжірибе номері	Препарат		
		Пиразинамид	Изониазид	Моксифлоксацин
1 % геллан	1	22	26	32
	2	23	27	31
	3	23	26	30
3 % геллан	1	24	22	50
	2	26	21	50
	3	25	23	49
3 % геллан және хитозан	1	27	32	52
	2	28	33	53
	3	27	30	53

Жоғарыда көрсетілген мәліметтер бойынша, препараттарды енгізу тиімділігі геллан концентрациясы артқан сайын артады. Сонымен қоса ≥2 % концентрациядағы гелланнан капсулаларды дайындаған кезде гидрогель пайда болады, олар құрғатқаннан кейін формасын сақтап қалады (диаметрі 3–3,5 мм гидрогель капсулаларынан құрғатқаннан кейін диаметрі 1 мм гранулалар пайда болады) және қайтадан суға салған кезде бұндай гранулалар өзінің алғашқы формасына және мөлшеріне қайтып келеді. Геллан хитозанмен комплекс түзсе, енгізу тиімділігі одан да көп артатыны анықталды (кестені қара).



4-сурет. Полиэлектролитті мультиқабаттары бар геллан-изониазид капсулалары (кесіндіде)

4-суретте төмен вакуумды растрлы электронды микроскопия әдісімен «JEOL» фирмасының (Жапония) «JSM-6390 LV» аспабында алынған микрофотографиялар көрсетілген. Оң жақ суретте кесіндіде геллан мен полиэлектролитті қабатар асындағы шекара жақсы көрінеді.

Қорытынды

Сонымен, тәжірибе жүзінде полимерлі матрица ретінде гелланды пайдаланып, туберкулезге қарсы 3 препарат — пиразинамид, изониазид және моксифлоксацинді ионотропты гель түзу әдісімен капсулдеу жүргізілді. Капсулаларға препараттарды енгізу тиімділігі анықталды. Капсулаларды полиэлектролиттердің мультиқабаттарымен қаптау мүмкін екендігі анықталды. Алынған капсулалар дәрілерді жеткізу жүйесі ретінде қолдану үшін зерттелетін болады.

Жұмыс ҚР БжҒМ Ғылым комитетінің қаржылық қолдауымен жүргізілген, грант № 0794/ГФ4.

Әдебиеттер тізімі

1 Ежегодный отчет ВОЗ. — 2014. // http://who.int/gho/publications/en/

2 *Pavlukhina S., Sukhishvili S.* Polymer assemblies for controlled delivery of bioactive molecules from surfaces // Adv. Drug Deliv. Rev. — 2011. — Vol. 63. — P. 822–836.

3 *Soike T., Streff A.K., Guan C., Ortega R., Tantawy M., Pino C., Shastri V.P.* Engineering a Material Surface for Drug Delivery and Imaging using Layer-by-Layer Assembly of Functionalized Nanoparticles // Advanced Materials. — 2010. — Vol. 22(12). — P. 1392–1397.

4 *Печенкин М.А.* Мультифункциональные полиэлектролитные микрочастицы для пероральной доставки рекомбинантных инсулинов: Дис. … канд. мед. наук. — 2012. — 158 с. // Российская государственная библиотека: 04201350872. [ЭР]. Режим доступа: http://dlib.rsl.ru/rsl.

5 *Anil Kumar N., Basu Ray S., Nagaraja V., Raichur Ashok M.* Encapsulation and release of rifampicin using poly(vinyl pyrrolidone)-poly(methacrylic acid) polyelectrolyte capsules // Materials Science and Engineering: C. — 2009. — Vol. 29(8). — P. 2508–2513.

6 *Мустафин Р.И., Буховец А.В., Гарипова В.Р., Ситенков А.Ю., Шамсутдинова А.Р., Кеменова В.А., Ромбаут П., Моотер Г. Ванден.* Сравнительная оценка новых носителей для контролируемой доставки лекарственных веществ на основе Eudragit® epo/l100 интерполиэлектролитных комплексов // Химико-фармацевтический журнал. — 2012. — № 8. — С. 42–46.

7 Государственная фармакопея Республики Казахстан: В 2 т. — 1-е изд. — Т. 2.— Алматы: Жибек жолы, 2009. — 804 с.

Б.Х.Мусабаева, М.М.Слямова, Л.К.Оразжанова, З.Ж.Арипжанова, К.Б.Мурзагулова

Изучение возможности капсулирования противотуберкулезных препаратов с помощью геллана и полиэлектролитных мультислоев

Статья посвящена исследованию возможностей капсулирования противотуберкулезных препаратов полиэлектролитными мультислоями из хитозана и декстрансульфата с использованием в качестве матрицы биополимера геллана. Полученные капсулы изучены методом растровой электронной микроскопии. Определена эффективность включения противотуберкулезных препаратов в капсулы.

B.Kh.Mussabayeva, M.M.Slyamova, L.K.Orazzhanova, Z.Zh.Aripzhanova,K.B.Murzagulova

Study of possibilities of encapsulation of the antituberculous drugs by using of gellan and polyelectrolytic multilayers

The article is devoted to research of opportunities of encapsulation of antituberculous drugs bypolyelectrolytic multi-layers from hitosan and dextransulfate with use as a gellan biopolymer matrix. The prepared capsules are studied by method of a raster submicroscopy. Efficiency of inclusion of antituberculous drugs in capsules is defined.

References

1 *Annual report of the World Health Organization*, 2014, http://who.int/gho/publications/en/

2 Pavlukhina S., Sukhishvili S. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2011, 63, p. 822–836.

3 Soike T., Streff A.K., Guan C., Ortega R., Tantawy M., Pino C., Shastri V.P. *Advanced Materials*, 2010, 22(12), p. 1392–1397.

4 Pechenkin M.A. *Multifunctional polyelectrolyte microparticles for oral delivery of recombinant insulin*: PhD thesis, 2012. 158 p.; Russian state library 04201350872, http://dlib.rsl.ru/rsl.

5 Anil Kumar N., Basu Ray S., Nagaraja V., Raichur Ashok M. *Materials Science and Engineering: C*, 2009, 29(8), p. 2508–2513.

6 Mustafin R.I., Bukhovets A.V., Garipova V.R., Sitenkov A.Yu., Shamsutdinova A.R., Kemenova V.A., Rombout P., Mooter G. Vanden. *Chemical-pharmaceutical journal*, 2012, 8, p. 42–46.

7 *State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan*. In 2 vol., 1st ed., Almaty: Zhibek Zholy, 2009, 2, p. 804.