

Liposzómas gyógyszerhordozó rendszerek

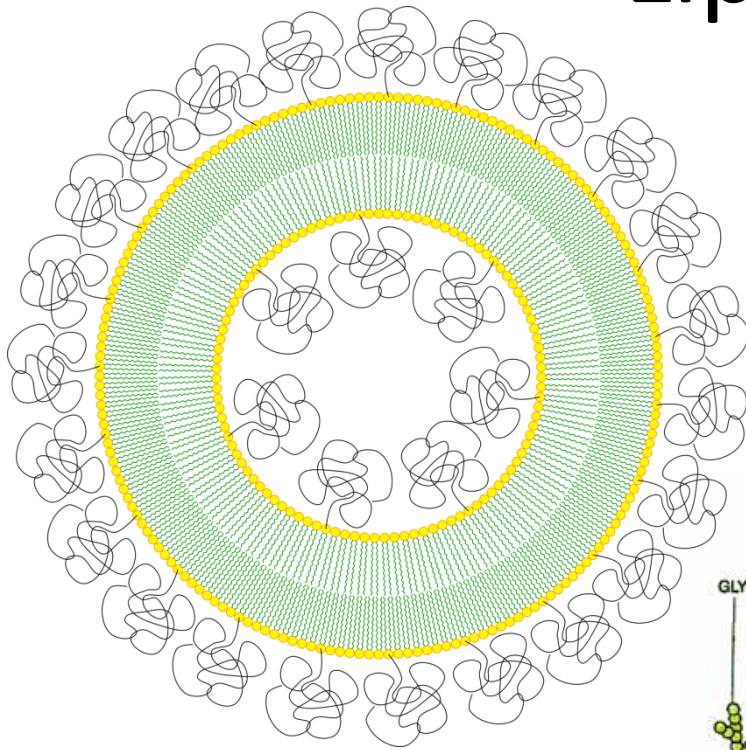
Arany Eszter - Lovassy László Gimnázium, Veszprém
Kovács Márton - Eötvös József Gimnázium, Budapest

Témavezetők: Dr. Szigyártó Imola, Deák Róbert, Wacha András

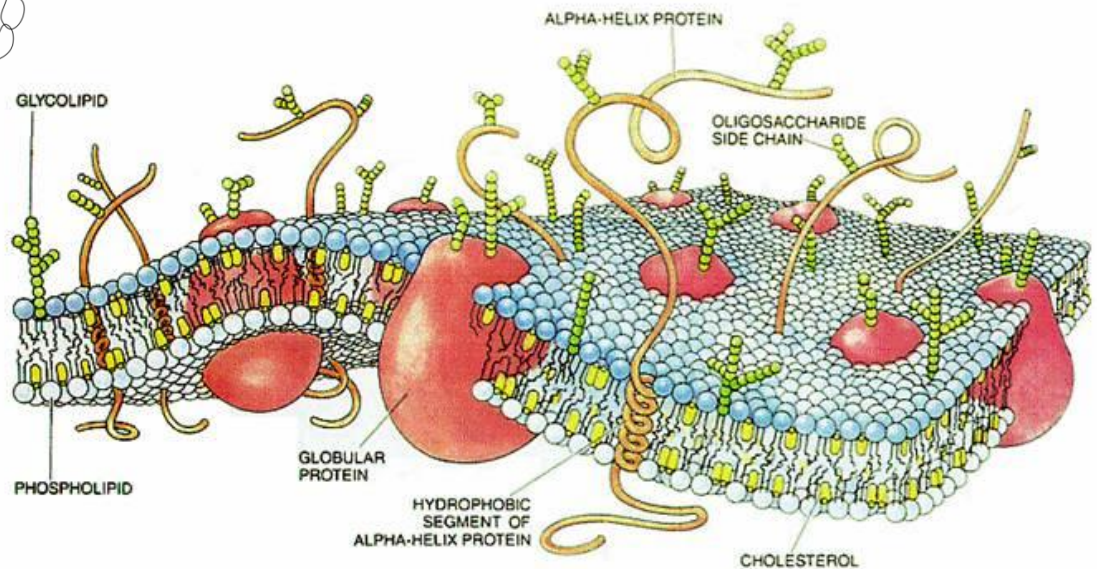
Vázlat

- Bevezetés
 - Mik azok a liposzómák?
 - Célok
 - Felhasznált anyagok
- Mintakészítés
- Mérések
 - Kiszögű röntgenszórás (SAXS)
 - Dinamikus fényszórás (DLS)
 - Infravörös spektroszkópia (ATR-FTIR)
 - UV-látható spektroszkópia (UV-Vis)

Liposzómák

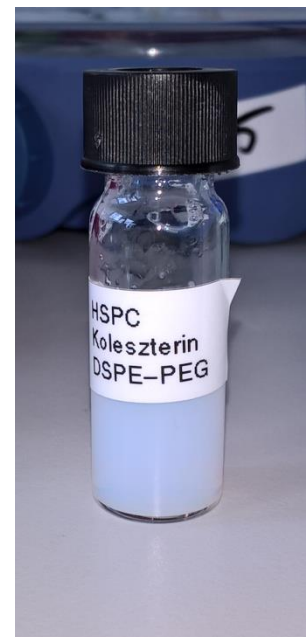


- Hatékony, célzott gyógyszer-bejuttatás
- Kisebb mennyiség elég
- Kevesebb mellékhatás



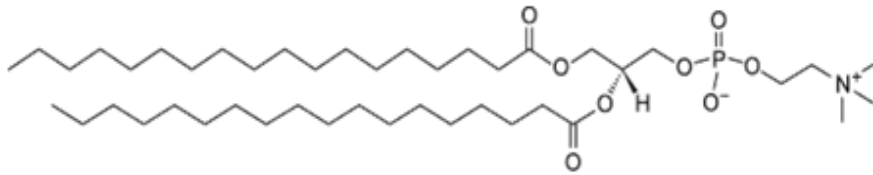
Cél:

- Egy liposzómás gyógyszerkészítmény készítése és jellemzése

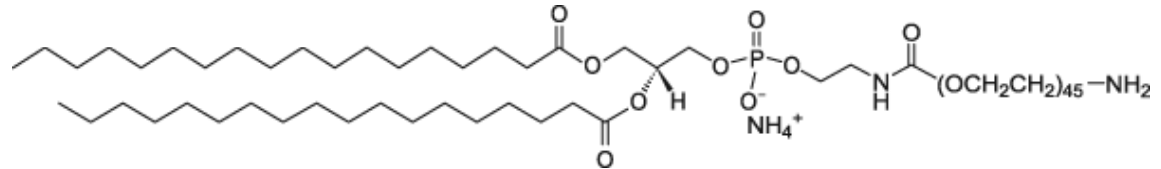


Felhasznált anyagok

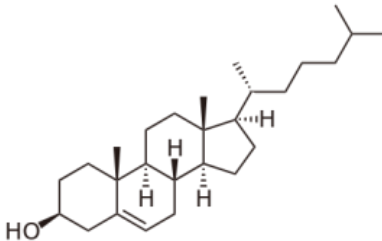
HSPC (hidrogénezett szójalecitin)



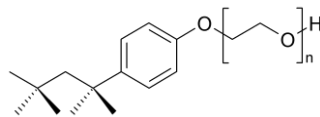
DSPE-PEG (disztearil-sn-glicero-foszfatidil-etanolamin-polietilén-glikol)



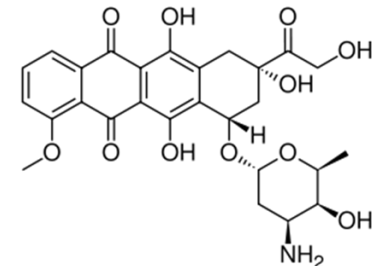
Koleszterin



Triton X-100



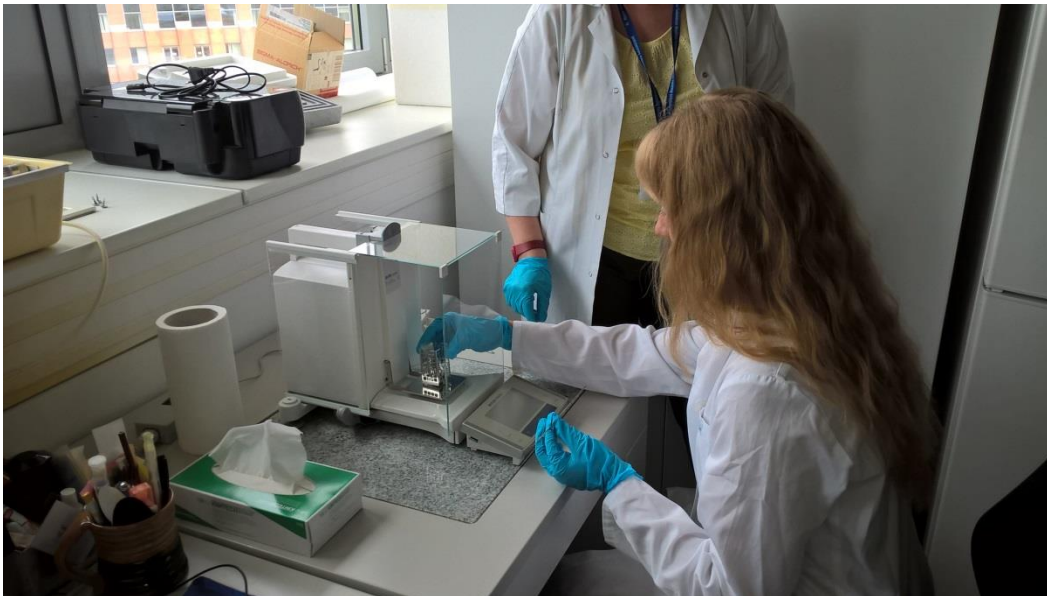
Doxorubicin



Munkafolyamat

1) Lipidkeverék elkészítése

1. Lipidek bemérése
2. Oldás kloroform és metanol 2:1 arányú elegyében
3. Bepárlás rotációs vákuumszivattyúban
4. Szárítószekrény



1)Lipidkeverék elkészítése

5.Pufferek:

a) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oldat

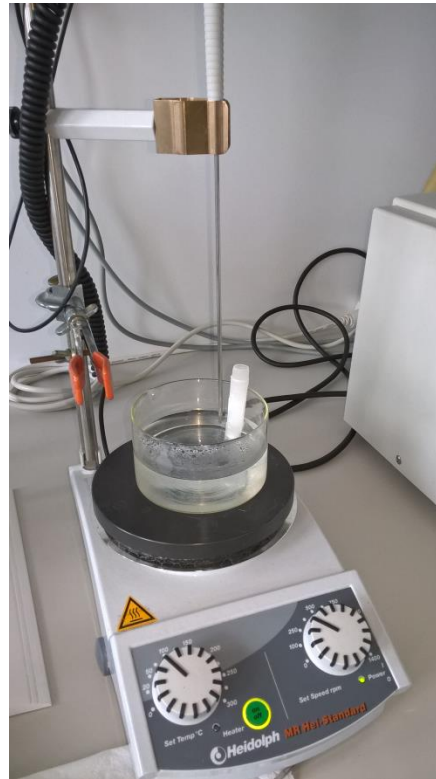
b) Hisztidin szacharóz-oldat – pH:6.5



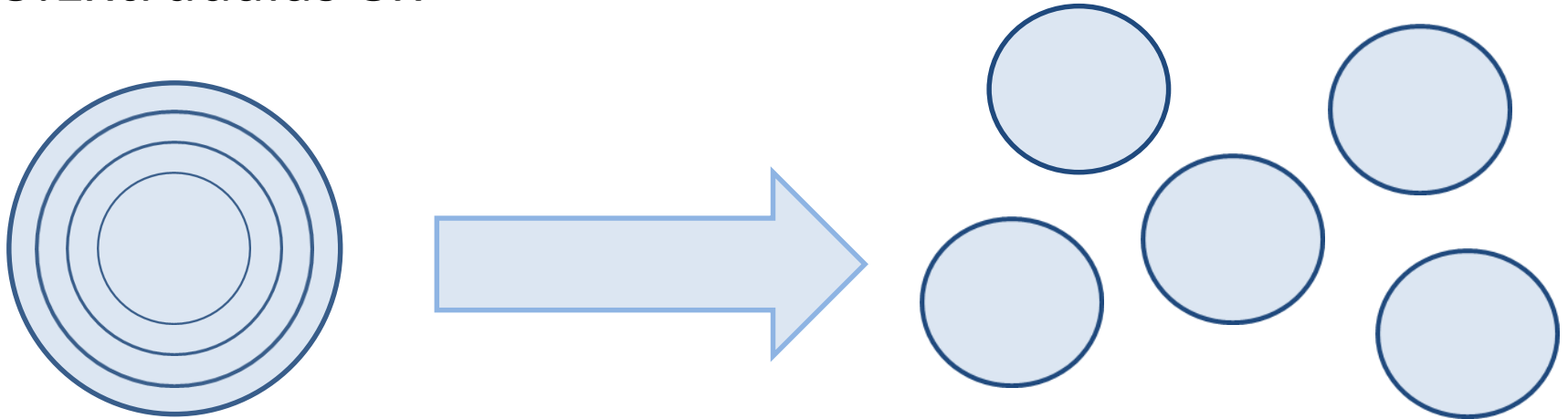
2) Liposzómák készítése

1. Lipidfilmréteg hidratálása
(felöntjük az $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -pufferrel)
2. Hőtorna 5x
(áthelyezés
fagyálló csőbe)

Ezzel multilamellás
liposzómákat kaptunk.

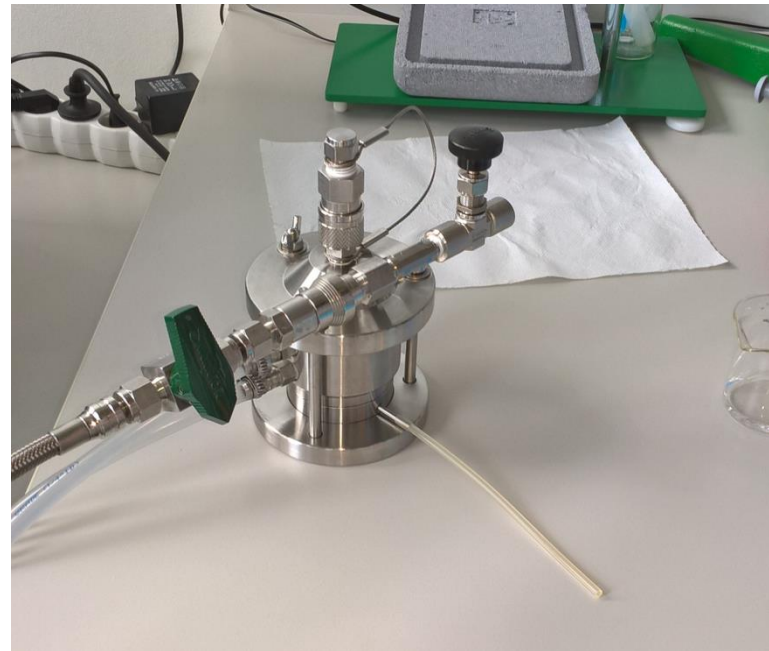


3.Extrudálás 5x



100 nm-es pórusokkal rendelkező membránon nagy nyomáson extrudáljuk.

Ezzel kisebb, unilamellás liposzómákat kapunk.



4. Oszlopkromatográfia

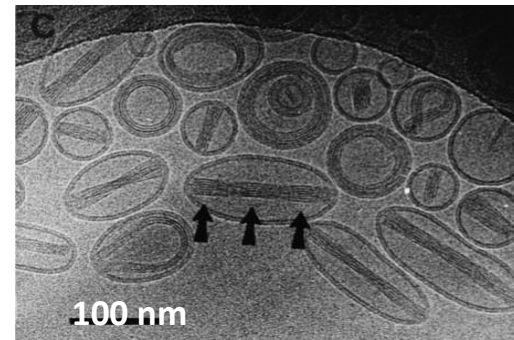
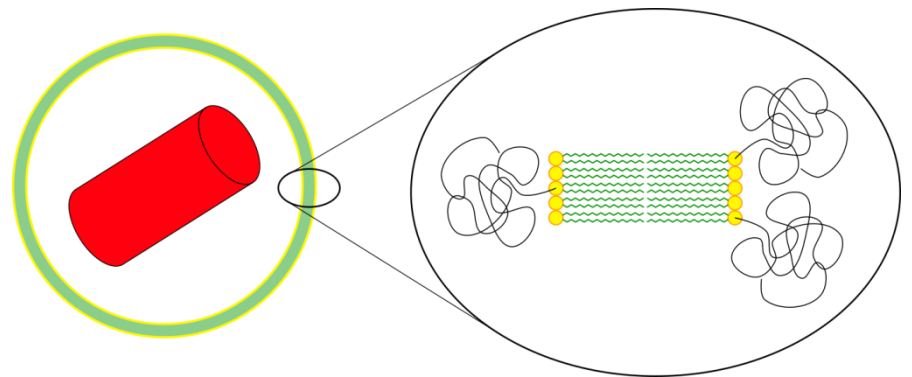
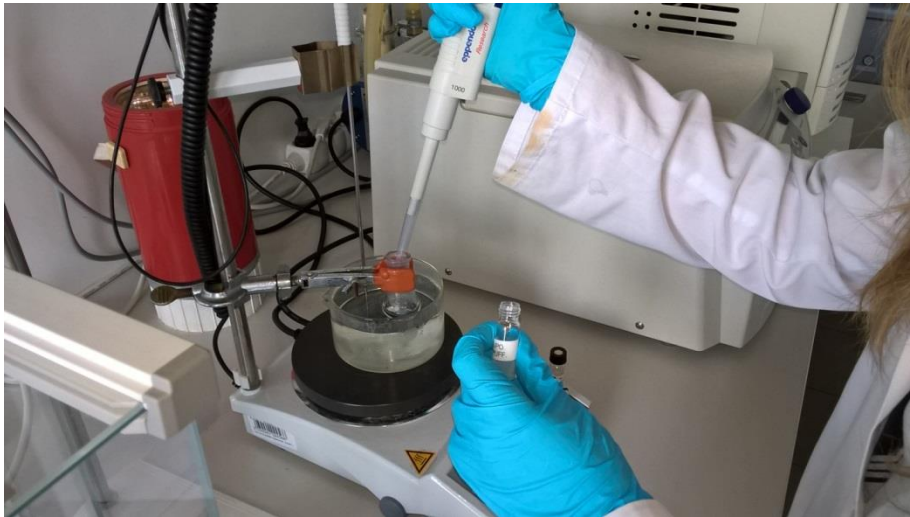
- pH különbség kialakítása

- Sephadex G-25 M töltetű oszlop
- Hisztidines-szacharózos puffer a liposzómákon kívül, ammónium-szulfátos puffer belül



3) Betöltés

- 60°C-os fürdő, mágneses keverőlapon
- Mintavételek 0, 2, 5, 7, 10, 20 és 60 percnél



X. Li et al. / BBA 1415 (1998) 23-40.

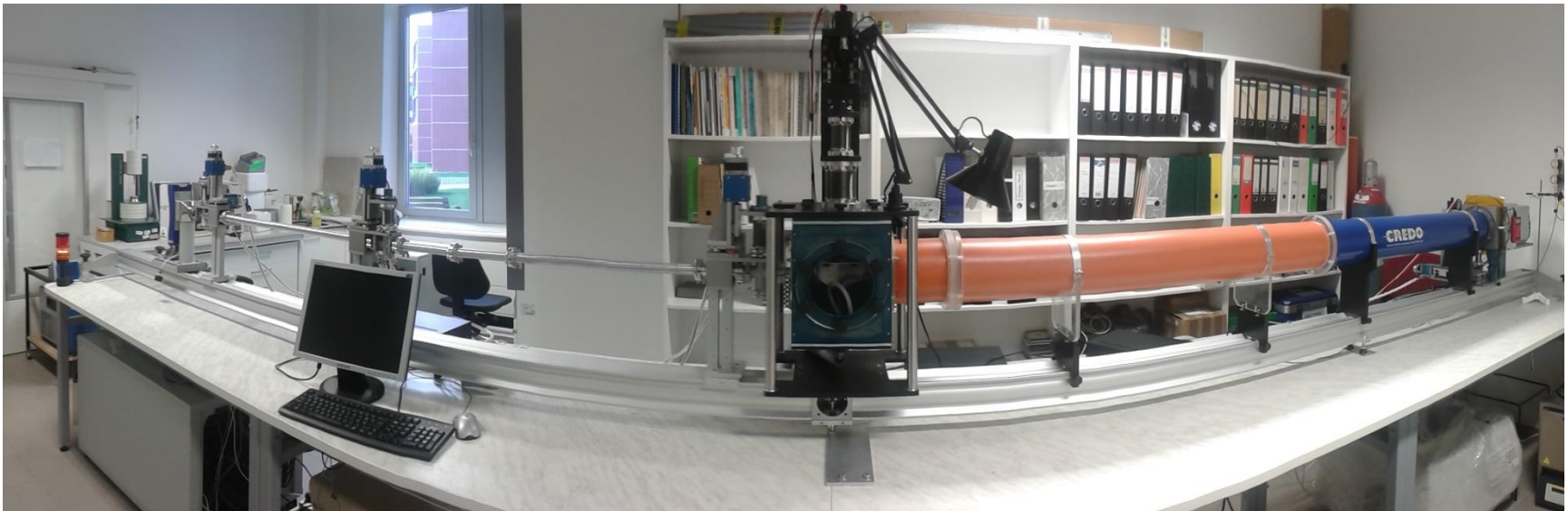
- Zeba Spin minioszlop előkészítés, folyadék kicentrifugálása
- Minták oszlopon centrifugálása
 - elválasztás a betöltetlen doxorubicintől
 - a liposzómás doxorubicint Eppendorfba rakjuk

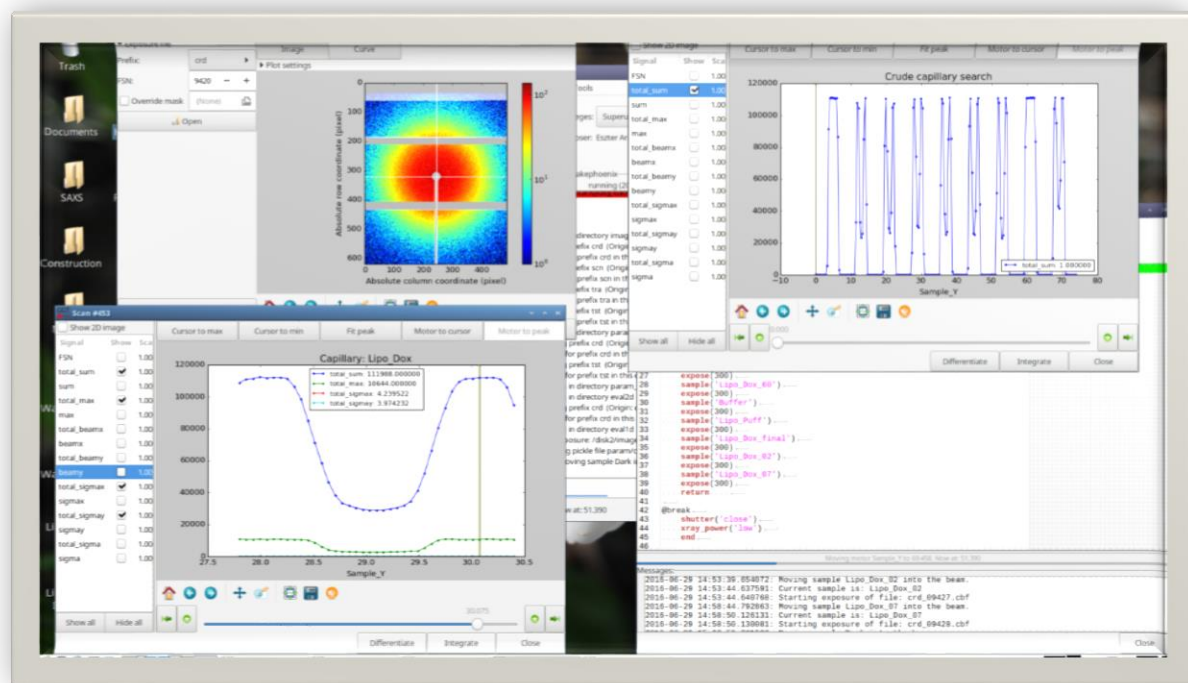
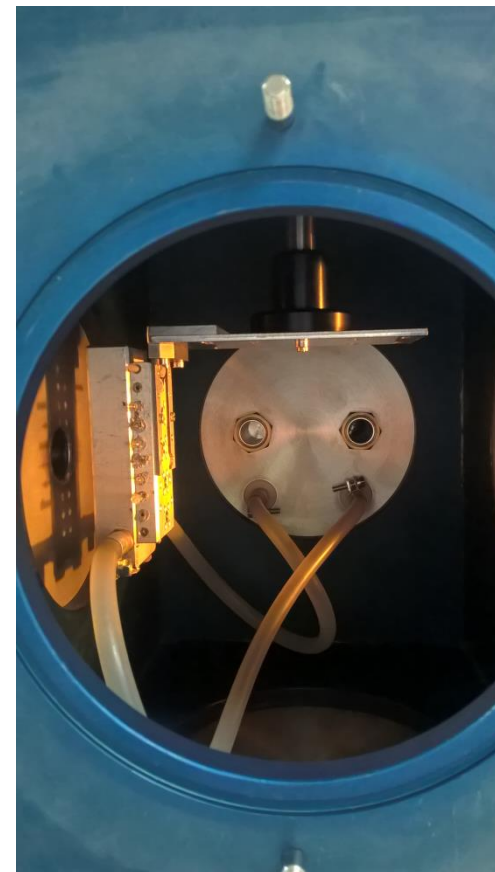


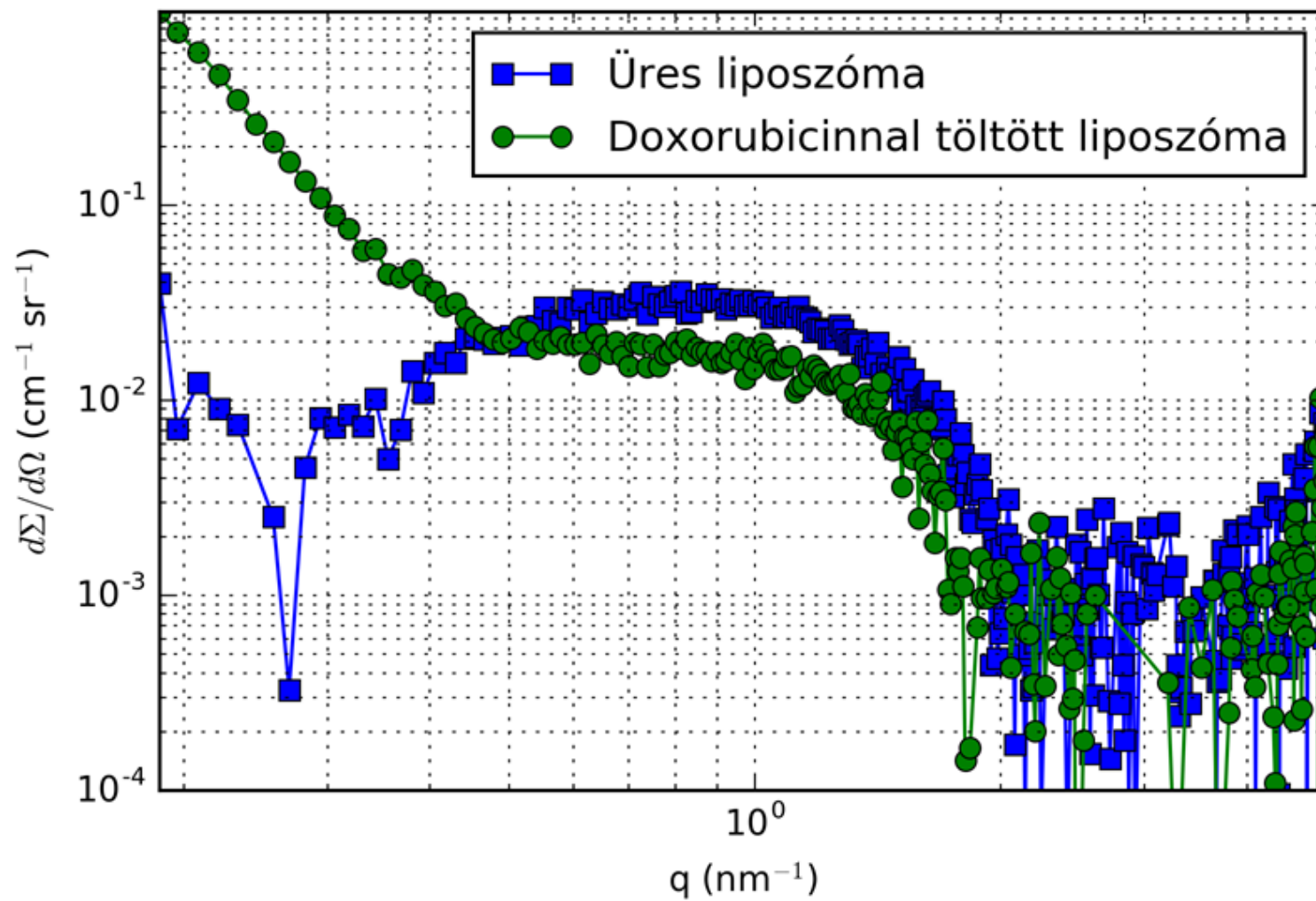
Mérések

1. Kiszögű röntgenszórás

1. Minták mérhető állapotba hozása
2. Műszer kalibrációja
3. Szórásképp mérése





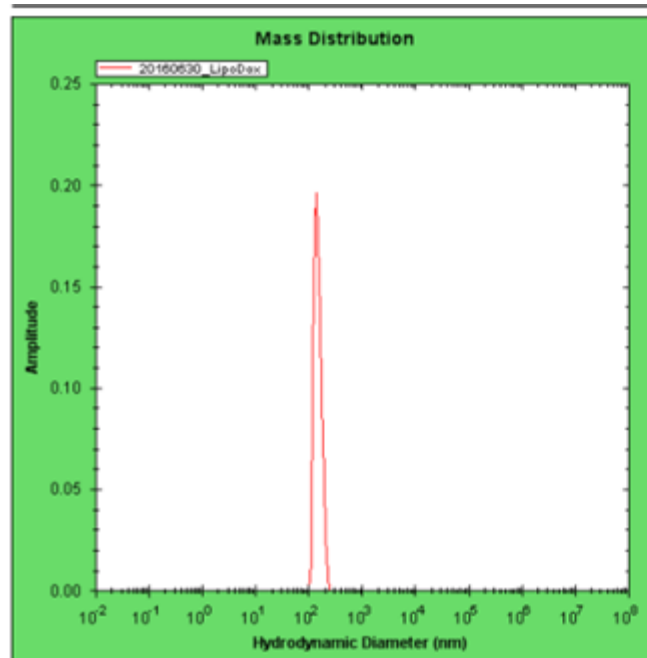


$$q = (2\pi \sin\theta / \lambda) \cdot 2$$

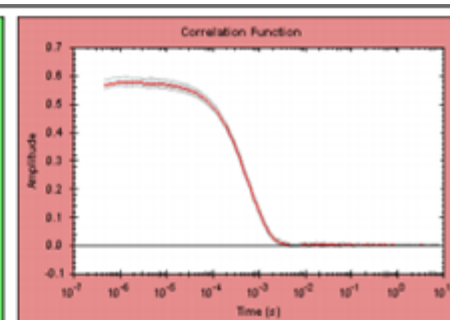
2. Átlagos méret és méreteloszlás meghatározása dinamikus fényszórással

Liposzómás minták átlagos mérete és méreteloszlása

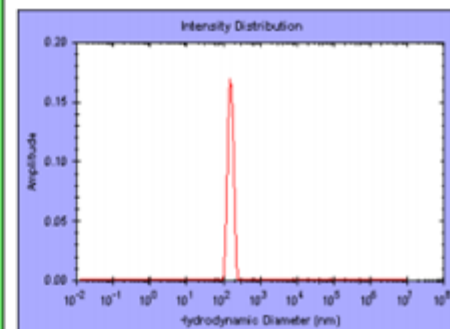
Minta	Átlagos átmérő	Szórás	Polidiszperzitás
LipoPuff	185 nm	± 29 nm	16%
LipoDox	165 nm	± 64 nm	38%
Caelyx	101 nm	± 18 nm	18%



Méreteloszlás
tömeg szerint

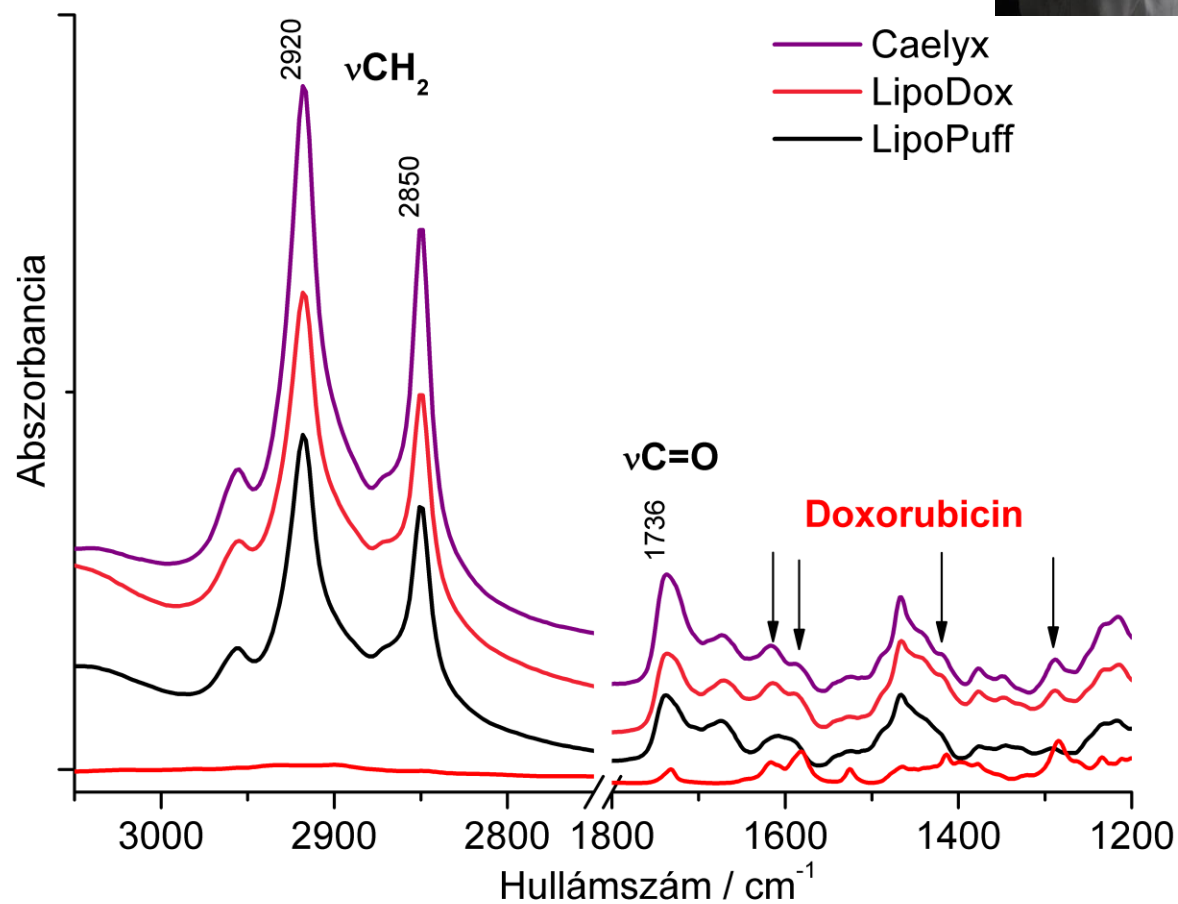
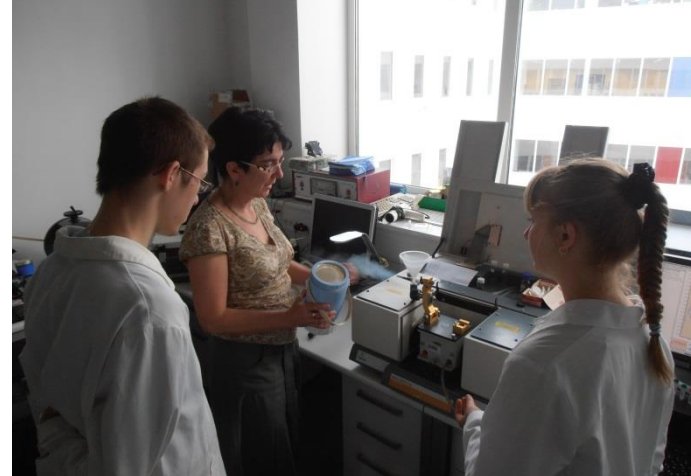


Korrelációs görbe



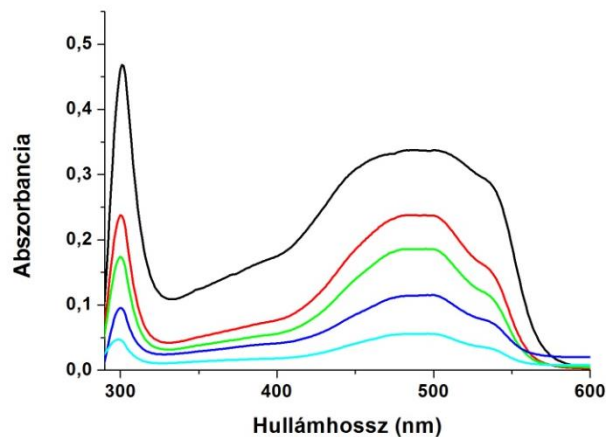
Méreteloszlás
intenzitás szerint

3. Infravörös spektroszkópia

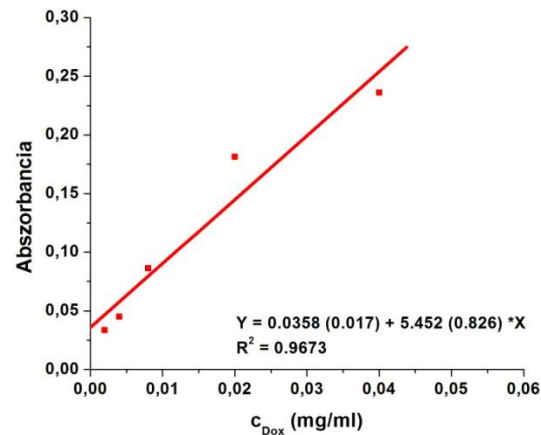


4. UV-látható spektroszkópia (UV-Vis) – doxorubicin tartalom meghatározása (485 nm)

- Doxorubicin oldatok spektrumai

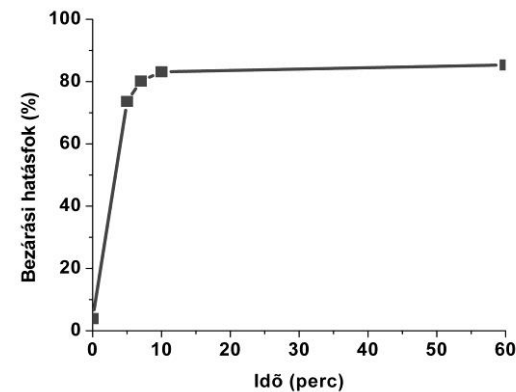


- Doxorubicin kalibrálási görbéje



- Bezárási hatások

Bezárt dox. mennyiség/teljes dox. mennyiség



Összefoglalás

- Elkészítettünk egy célzott hatóanyagbejuttatásra használható liposzómás gyógyszerkészítményt
- A preparátumot többféle mérési módszerrel (DLS, SAXS, FT-IR, UV-Vis) jellemeztük
- Alapvető jártasságot szereztünk laboratóriumi munkában
- Felfedeztük a kézzsibbasztót...



Köszönetnyilvánítás

- MTA Természettudományi Kutatóközpont
- Lendvayné Dr. Győrik Gabriella
- Dr. Mihály Judit