

GYÓGYSZERÉSZI NANOTECHNOLÓGIA

Lipid alapú gyógyszerhordozó rendszerek

2021.03.04.

Gyógyszertechológiai és Biofarmáciai Intézet

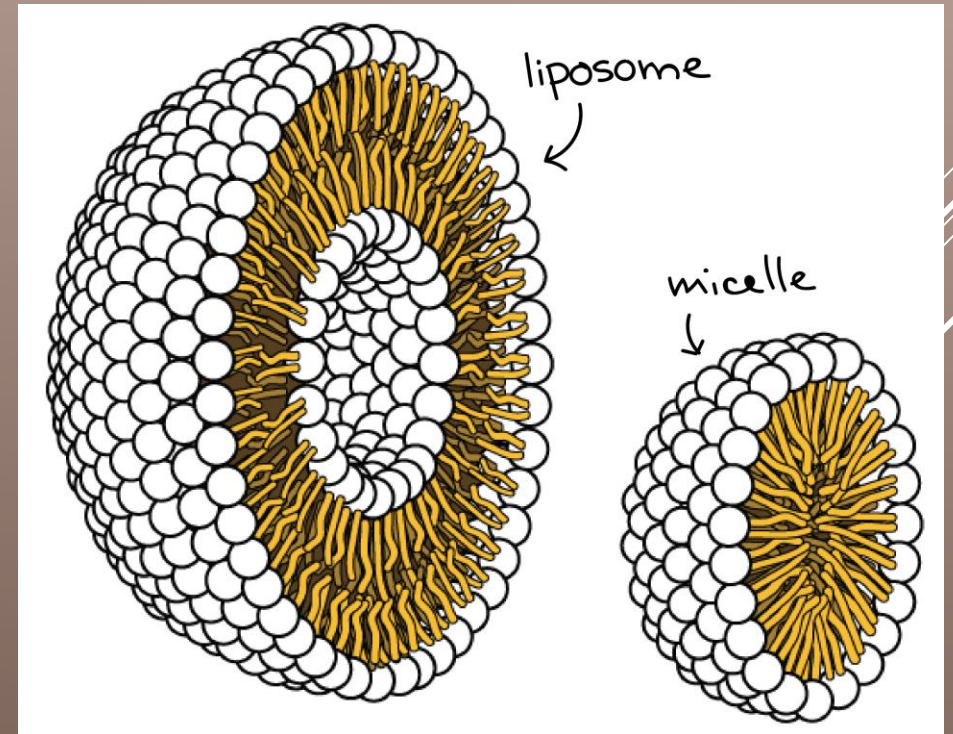
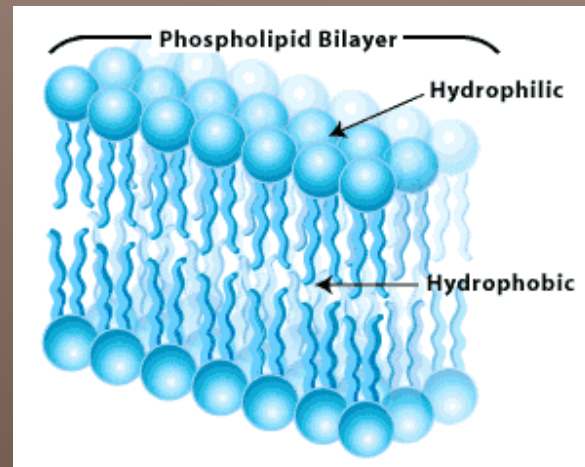
Vörös-Horváth Barbara

LIPOZÓMÁK

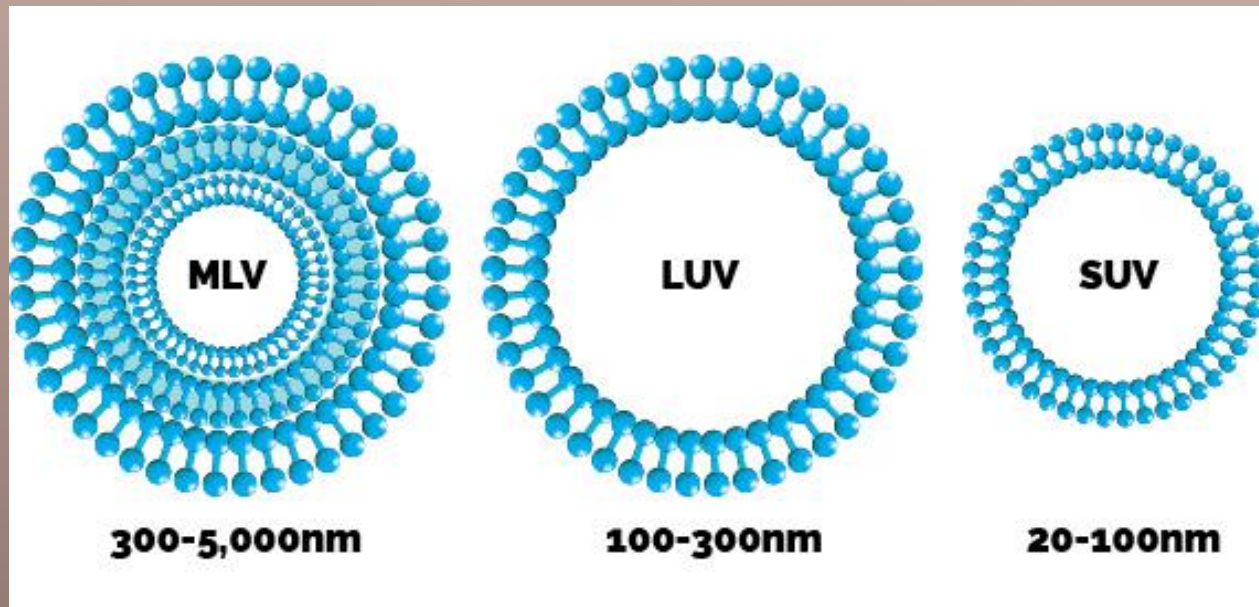
Definíció: A liposzómák olyan vezikulák, amelyek egy, vagy több lipid kettősréteget tartalmaznak, átmérőjük néhány nm-től néhány száz nm-ig terjed.

A liposzómák olyan amfifil karakterű lipidek hidratálásakor keletkeznek, amelyek vizes közegben nem micellákba, hanem szabályos kettősrétegbe rendeződnek, majd önbezáródással sajátos, szférikus szerkezetet képeznek.

A liposzómák felfedezése egy angol hematológus, A. D. Bangham nevéhez fűződik, aki a 60-as években megállapítja, hogy a liposzómák egy-vagy több réteggel rendelkező vezikulumok.



LIPOSZÓMÁK

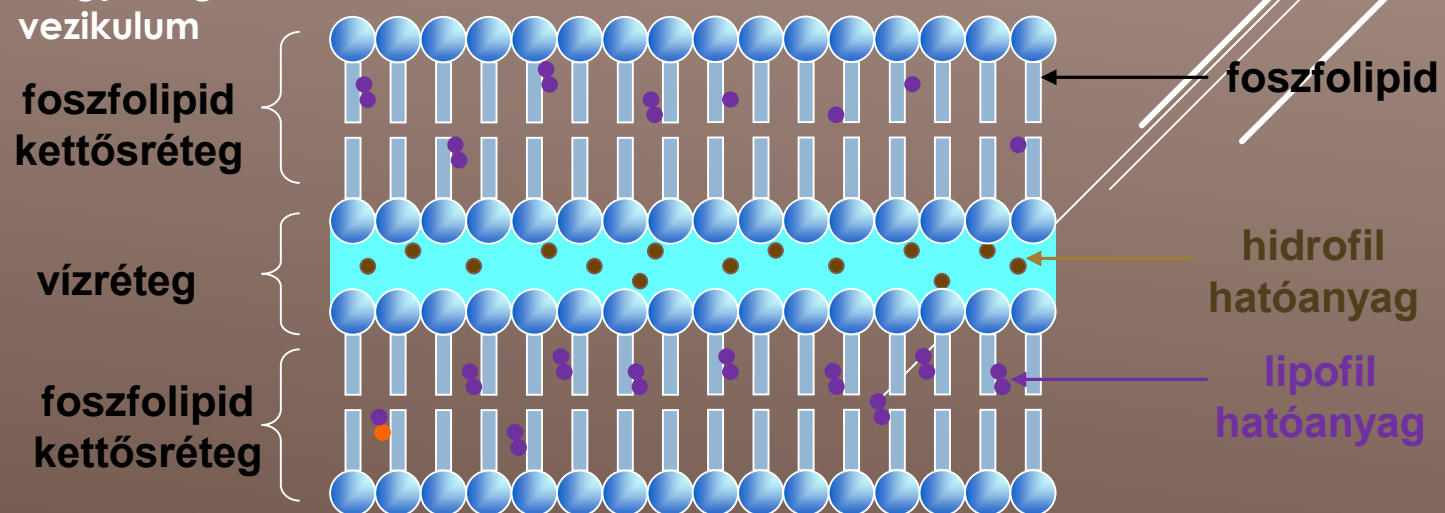


MLV: Multilamellar
Large Vesicle
Nagy, többrétegű
vezikulum

LUV: Large Unilamellar
Vesicle
Nagy, egyrétegű
vezikulum

SUV - Small
Unilamellar Vesicle
Kis, egyrétegű
vezikulum

Membránszerkezet



LIPOSZÓMÁK

Liposzómák csoportosítása

- ▶ Hagyományos liposzómák
 - ▶ Természetes lipidekből készülnek
 - ▶ Kevésbé stabilak
- ▶ Újgenerációs liposzómák
 - ▶ kis méretűek, $d \leq 100$ nm
 - ▶ módosított felület
 - ▶ felületi töltés megváltoztatása
 - ▶ polimerizációval stabilitás nő
 - ▶ polietilén glikolokkal a mononukleáris fagocitózis csökkenthető

Lipzóma generációk

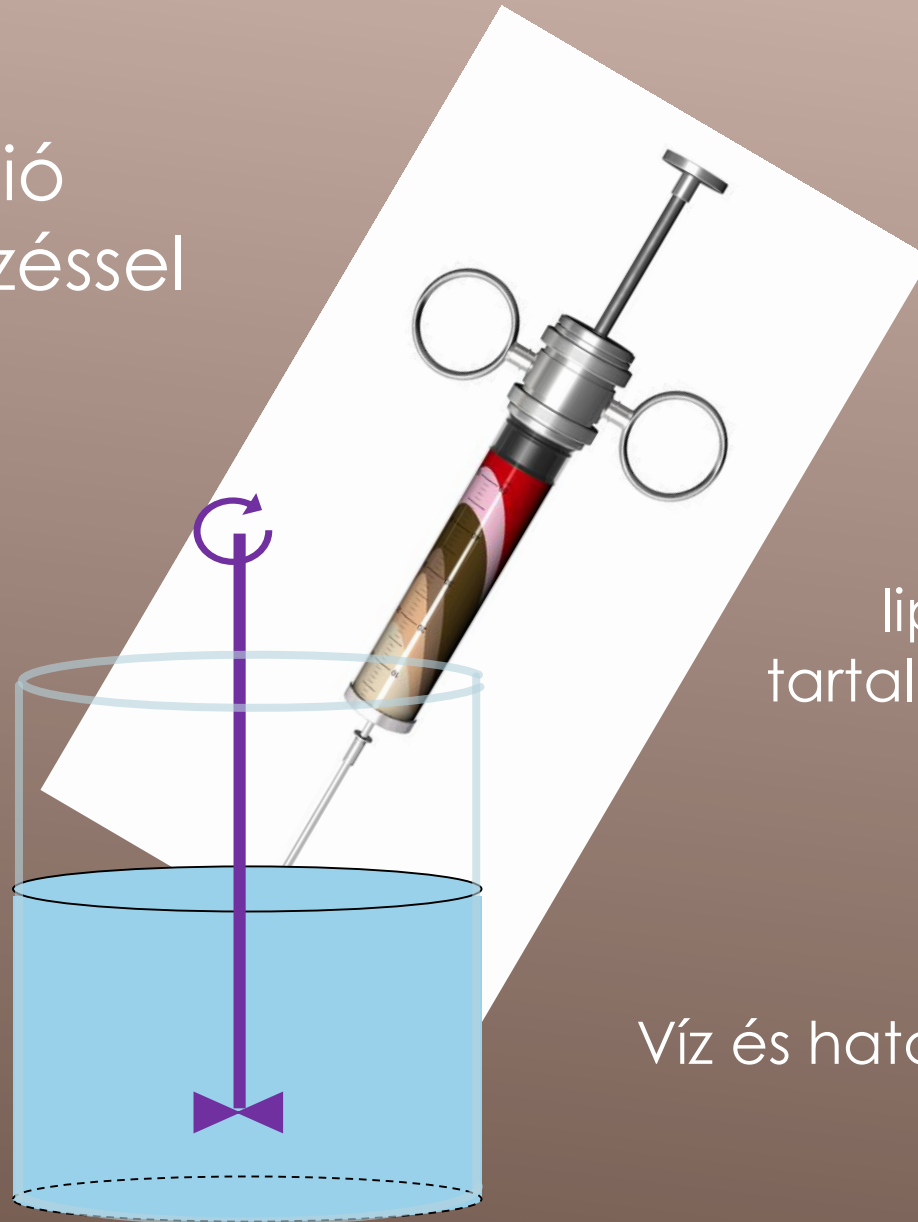
- ▶ 1. generáció (1970-90-es évek)
 - ▶ MLV, SUV
 - ▶ szerkezeti instabilitás
 - ▶ alacsony bezárási kapacitás
 - ▶ toxicitási problémák
- ▶ 2. generáció (1990-2000)
 - ▶ SUV
 - ▶ sztérikus stabilizáció, pegilált liposzómák
 - ▶ ligandumokkal (antitestek, immunoglobulinok, lektinek, oligoszaharidok) vezérelt liposzómák
 - ▶ sejtmembránon áthatoló ligandumok
 - ▶ DNS-t célzó liposzómák
 - ▶ In situ-aktiváció: -pH, ion, hő, fény
- ▶ 3. generáció (2000-es évektől napjainkig)
 - ▶ SUV
 - ▶ Multifunkcionális rendszerek
 - ▶ Külső vezérlés (remote control)
 - ▶ Önszabályozás

LIPOZÓMÁK ELŐÁLLÍTÁSA

Lipzóma típusa	Előállítási módszer
SUV	Ultrahangos módszerek Injektálás Extrúzió
LUV	Extrúzió kis pórusátmérőjű membránon
MLV	Lassú hidratálás

LIPOZÓMÁK ELŐÁLLÍTÁSA

Lipid hidratáció
befecskendezéssel



lipideket
tartalmazó oldat

Víz és hatóanyag

LIPOSZÓMÁK ELŐÁLLÍTÁSA



Oldószer elpárolgztatás

Feloldjuk a lipideket, és a nem vízoldékony hatóanyagot pl. kloroformban és a lipid fázisátalakulási hőmérséklete fölé melegítjük.

Az oldószert elpárolgztatjuk és a lipid-filmet azonos hőmérsékleten hidratáljuk.

A rendszert lehűtjük, a liposzómákat elkülönítjük.

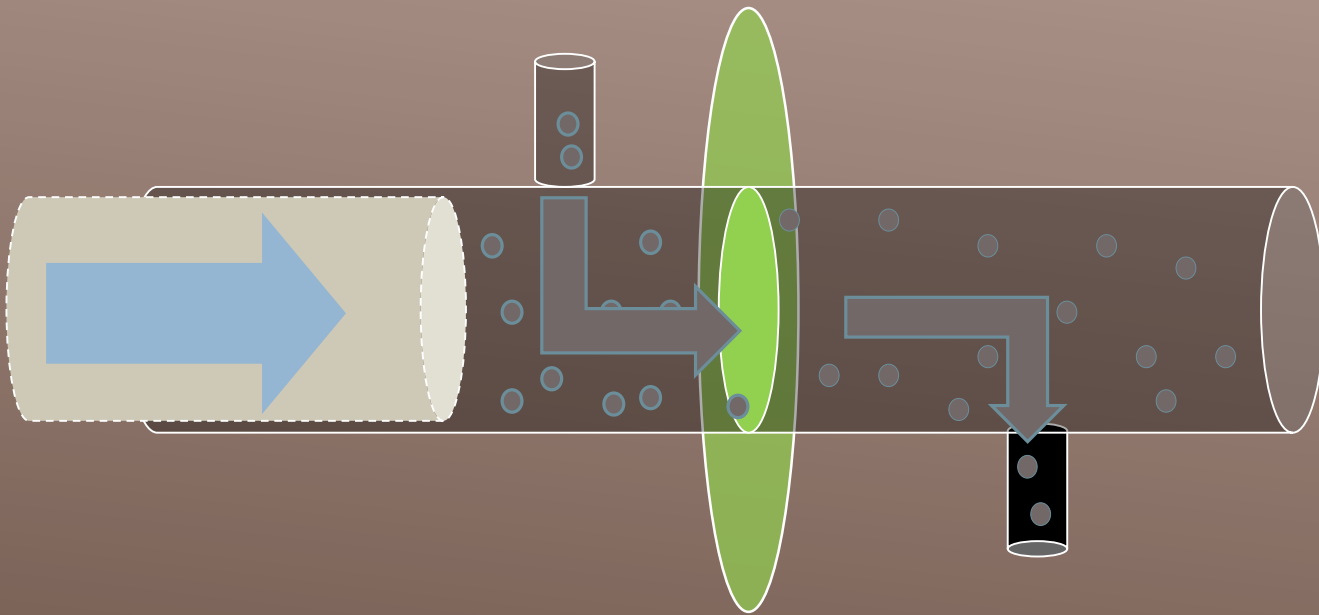


LIPOZÓMÁK ELŐÁLLÍTÁSA

Extrúzió

polikarbonát
mikroszűrő

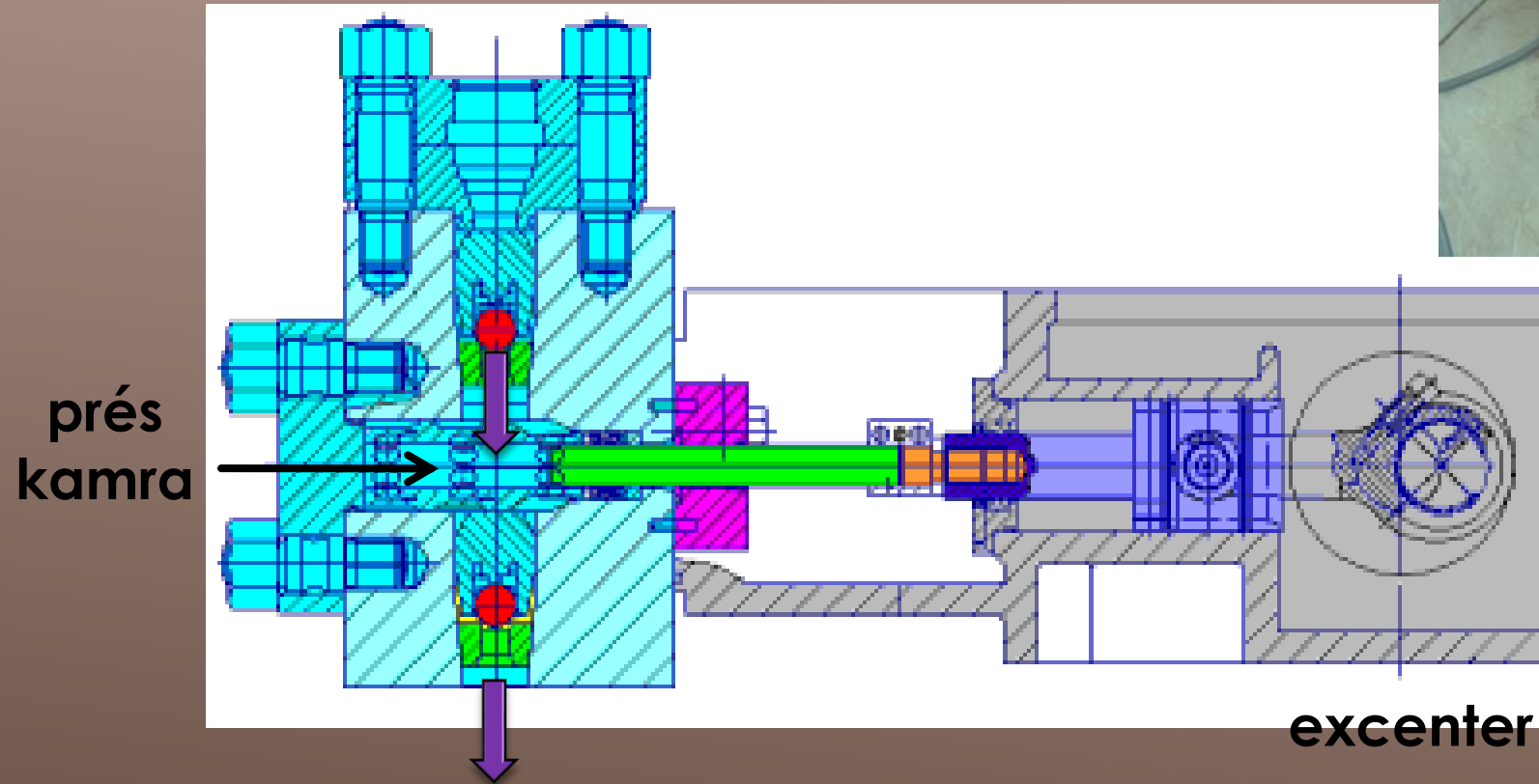
MLV → Extrúzió → SUV



LIPOZÓMÁK ELŐÁLLÍTÁSA

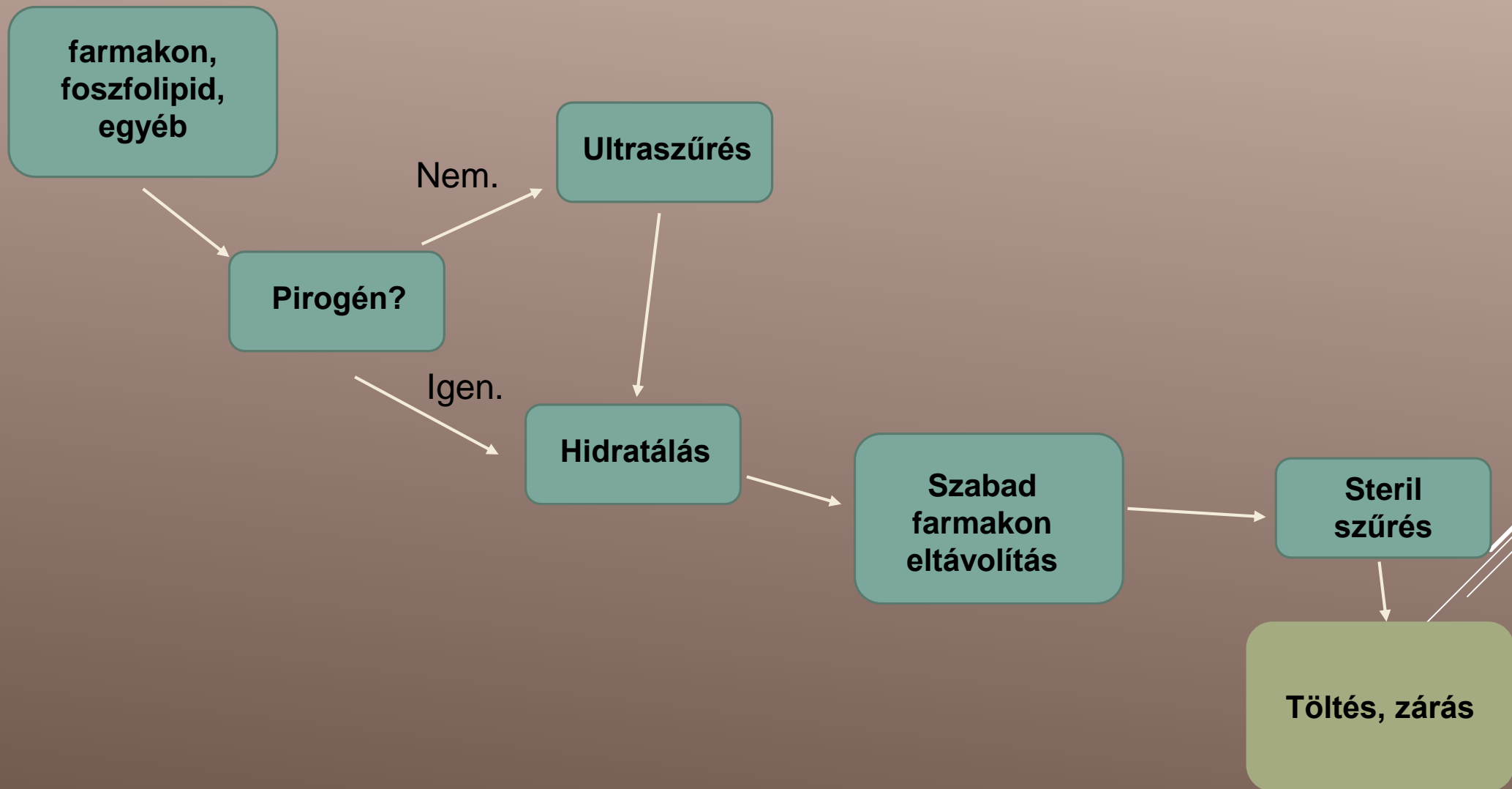
Préselés kis nyíláson át, nagy nyomáson

MLV → SUV



LIPOSZÓMÁK ELŐÁLLÍTÁSA

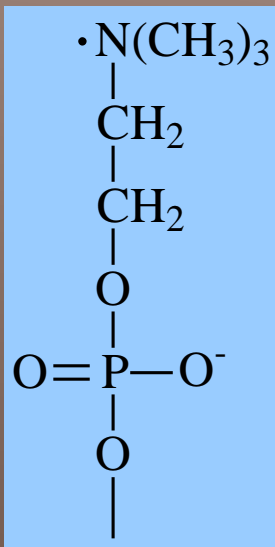
Aszeptikus gyártás



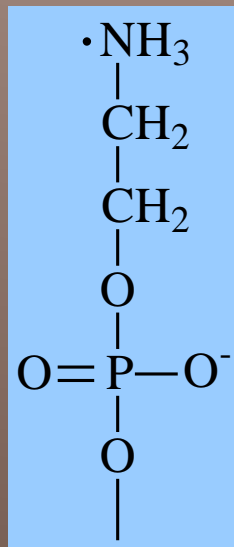
LIPOSZÓMÁK ÖSSZETÉTELE

Fosfolipidek

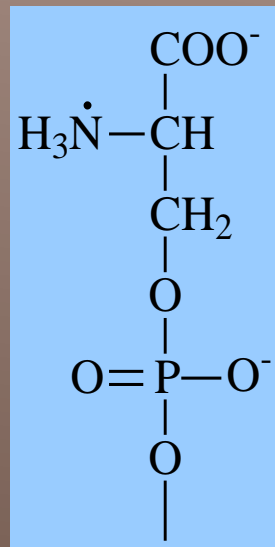
- ▶ Elsősorban foszfatidil-kolin
 - ▶ Tojásból vagy szójaból extrakcióval
 - ▶ Szintetikus úton
- ▶ szol-gél fázisátalakulási hőmérséklet
 - ▶ Lánc hossza
 - ▶ Lánc telítettsége



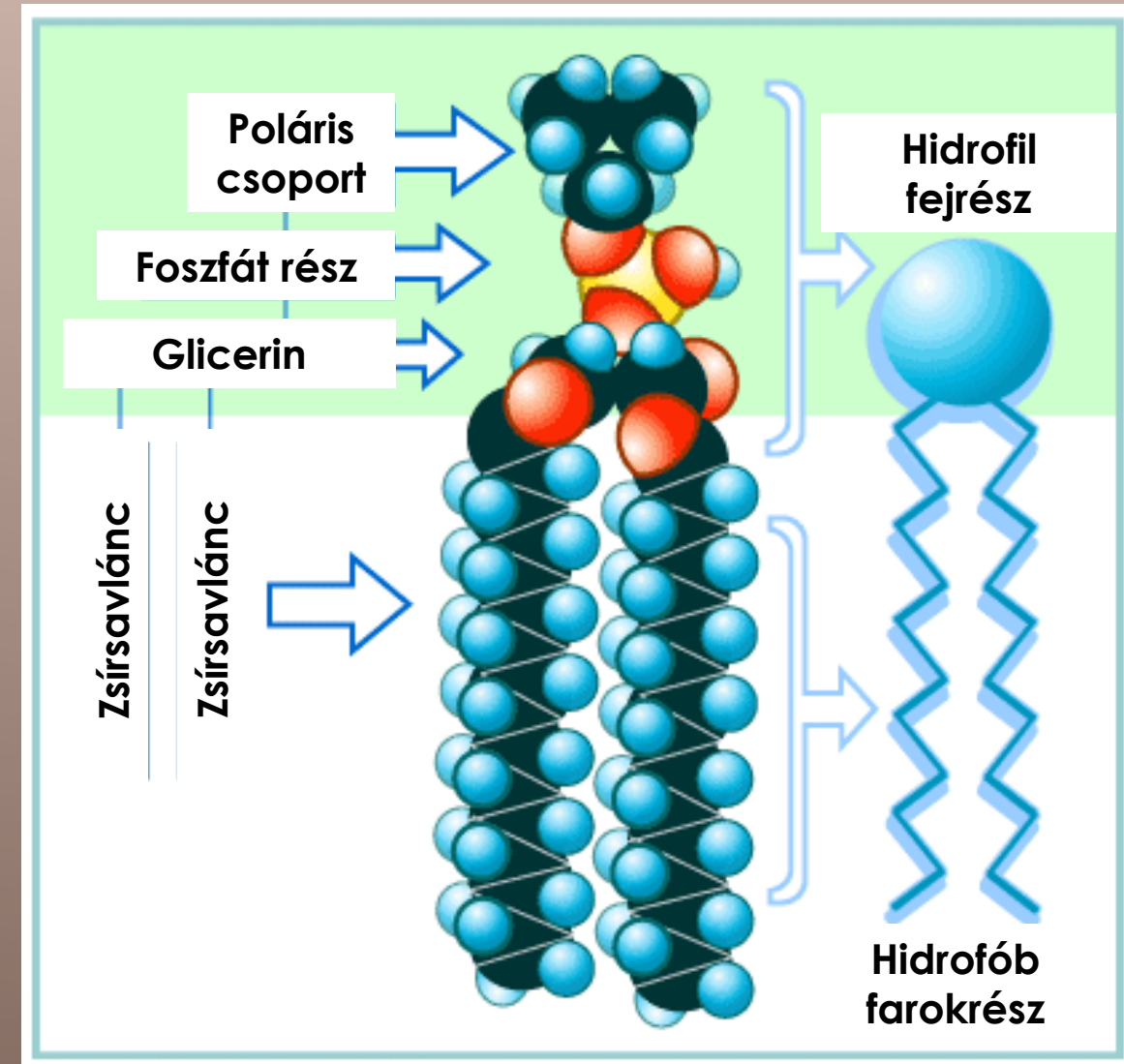
Foszfatidil-kolin



Foszfatidil-
etanolamin

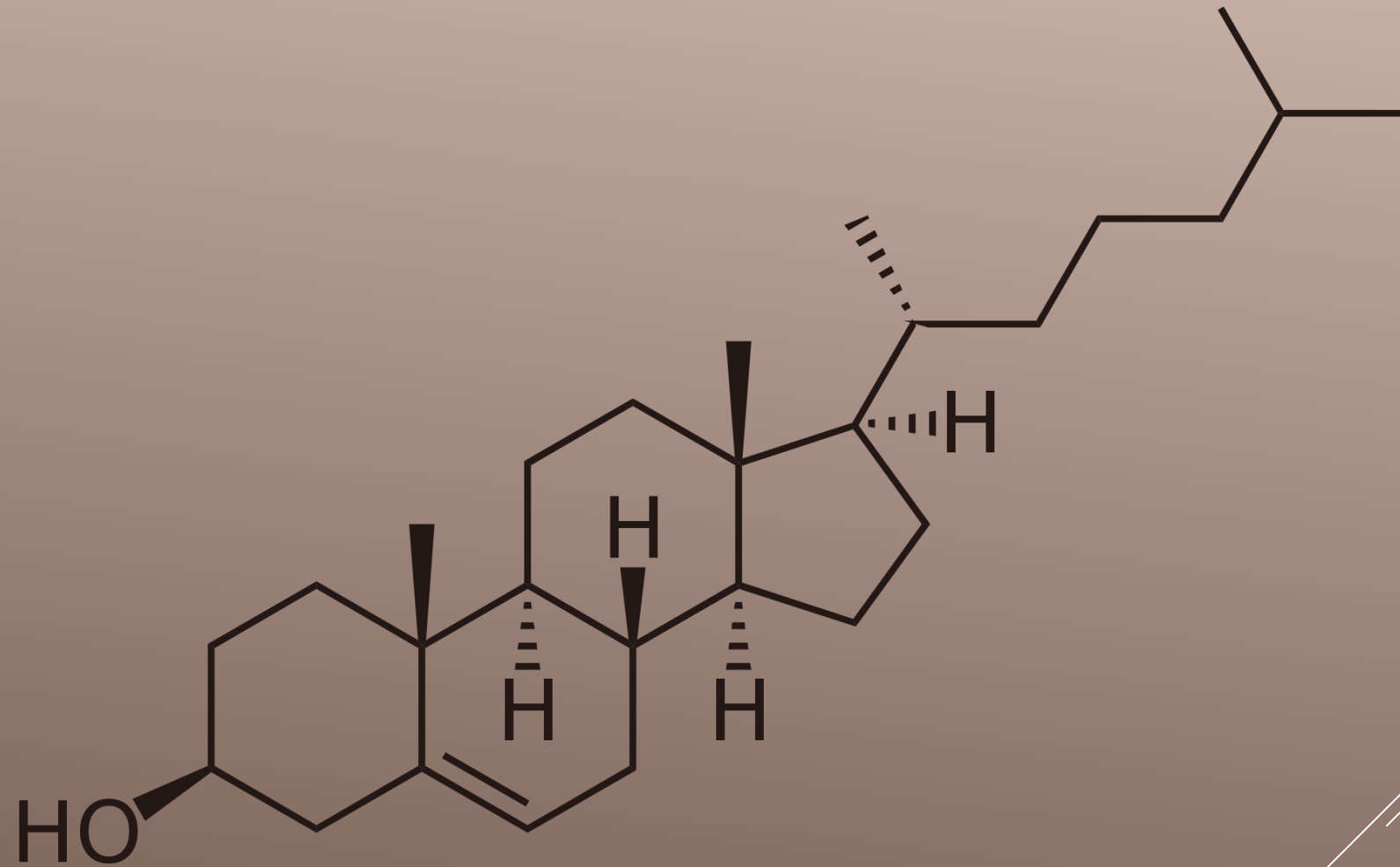


Foszfatidil-szerin



LIPOSZÓMÁK ÖSSZETÉTELE

Koleszterin



A liposzóma szerkezetét stabilizáló segédanyag.

LIPOSZÓMÁK VIZSGÁLATI MÓDSZEREI

Fizikai paraméterek

- ▶ **Szemcseméret és szemcseméret eloszlás**
 - ▶ dinamikus fényszórás mérés [DLS], gél-permeációs kromatográfia
- ▶ **Alak és felület**
 - ▶ TEM és krio-TEM
 - ▶ lamellaritás
 - ▶ P-NMR, RTG fényszórás
 - ▶ szerkezeti stabilitás,
 - ▶ SEM és krio-TEM
 - ▶ felületi töltés
 - ▶ elektroforetikus fényszórás mérés

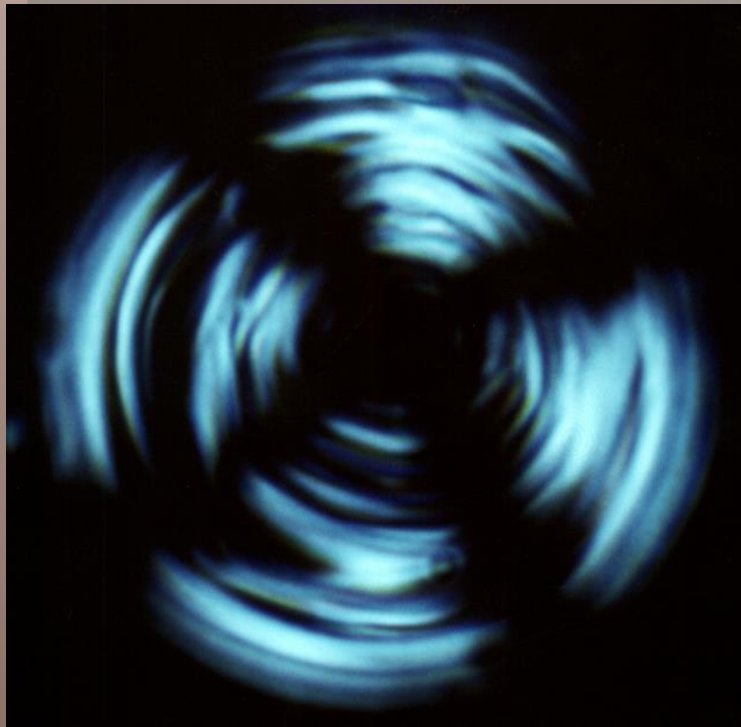
Kémia paraméterek

- ▶ **Szabad hatóanyag tartalom meghatározás**
 - ▶ Ioncsere kromatográfia
 - ▶ Radioaktívan jelzett HA
 - ▶ HPLC (foszfolipid esetén is)
- ▶ **Koleszterin koncentráció**
 - ▶ HPLC
 - ▶ Foszfolipid peroxidáció: HPLC, GC, GC-LC
 - ▶ Foszfolipid hidrolízis: HPLC, TLC

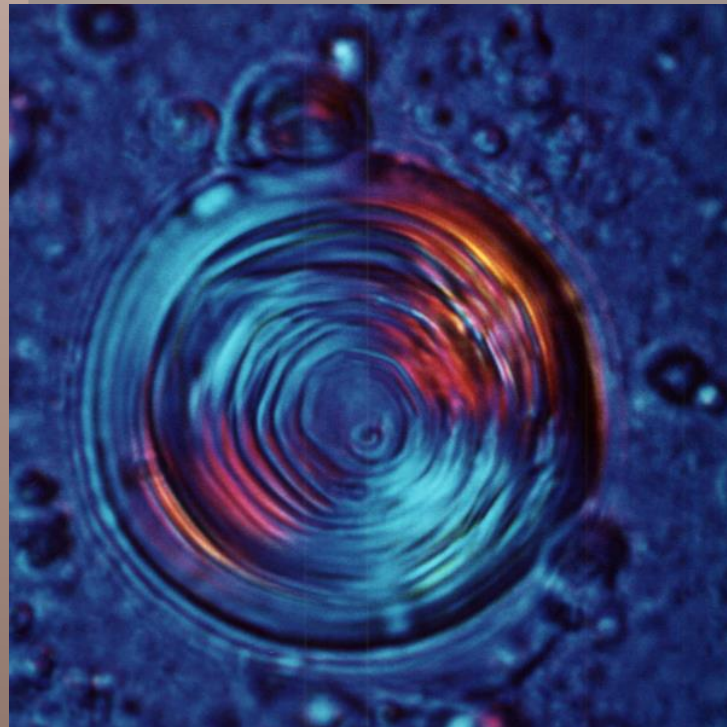
Biofarmáciai paraméterek

- ▶ **Hatóanyag-leadás**
 - ▶ Franz féle diffúziós cella
- ▶ **Hatóanyag permeációja membránon át**
 - ▶ membrán diffúzió (*in vivo*)

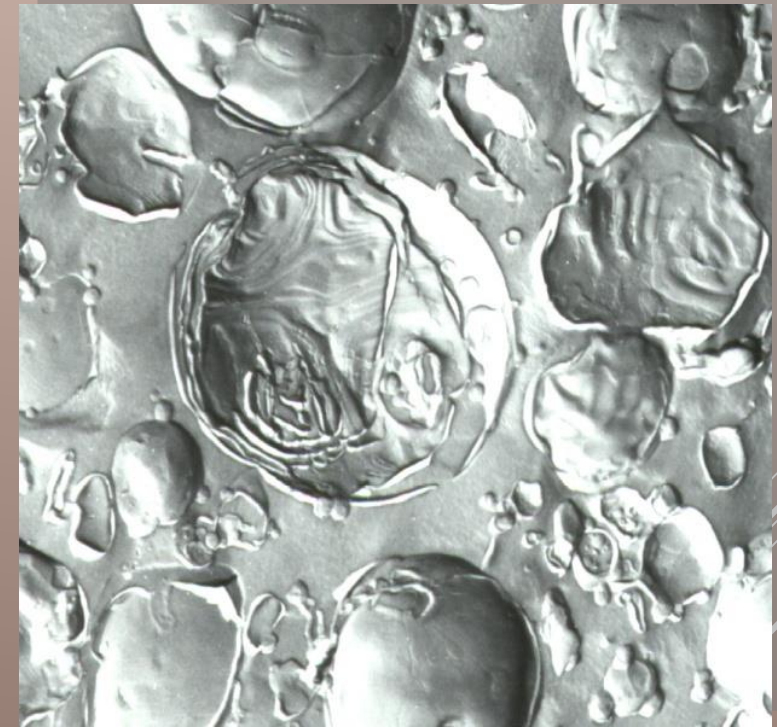
LIPOSZÓMÁK VIZSGÁLATI MÓDSZEREI



Fénymikroszkóp
(polarizált fényben)



Fénymikroszkóp – Nomarski
módszer:
differenciál interferencia
kontraszt (DIC) mikroszkóp



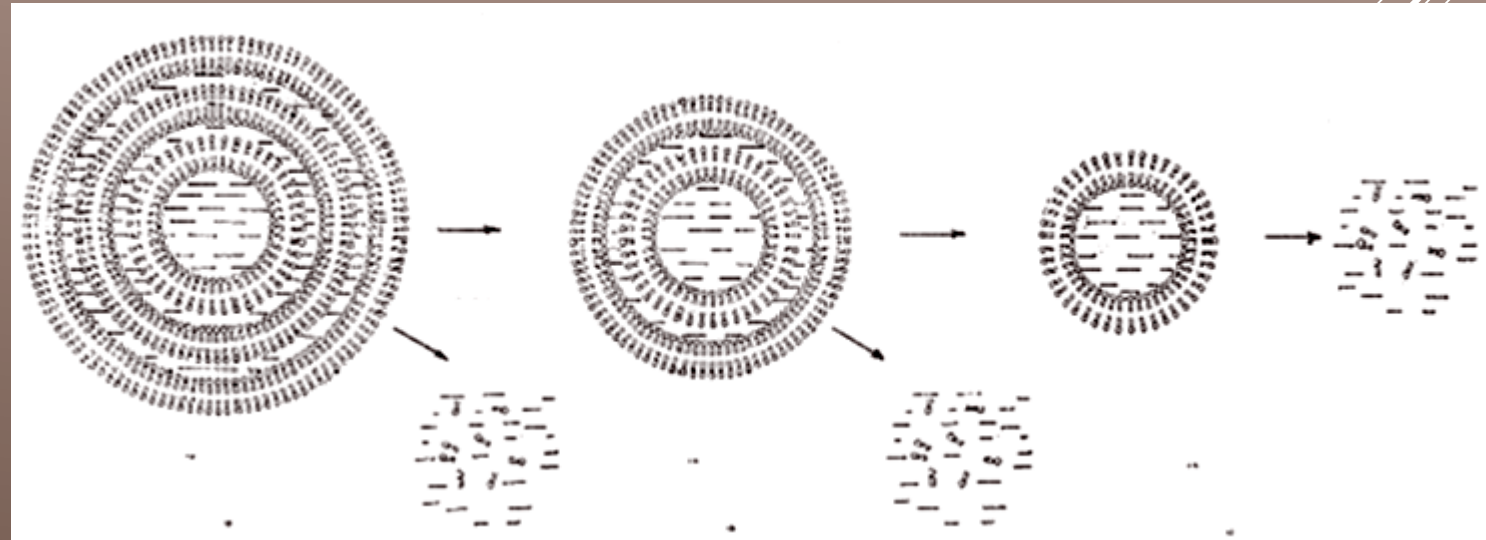
SEM

LIPOSZÓMÁK HATÓANYAG LEADÁSA

- ▶ Függ a felhasználás módjától: célzott HA leadás, HA adszorpciójának módja
- ▶ A leadás általában függ:
 - ▶ a mérettől
 - ▶ lamellaritástól (MLV, SUV)
 - ▶ lipidek érzékenységtől: pH ,enzim
 - ▶ hatóanyag paraméterei, oldékonysága
 - ▶ a hatóanyag és a lipid interakciójától

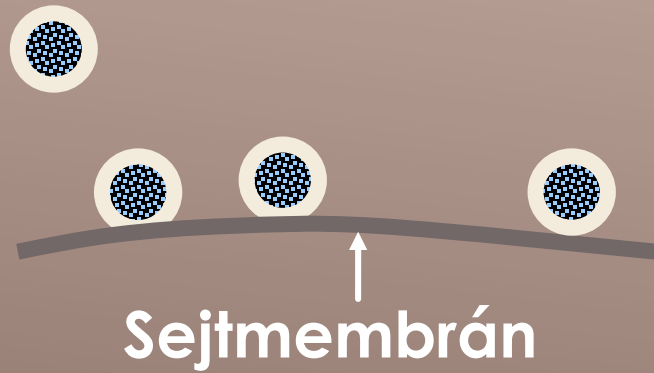
A szerkezet mind a tárolás, mind a leadás során változhat.

A hatóanyag a liposzómák rétegeiből a szerkezet szétesésével szabadul fel.

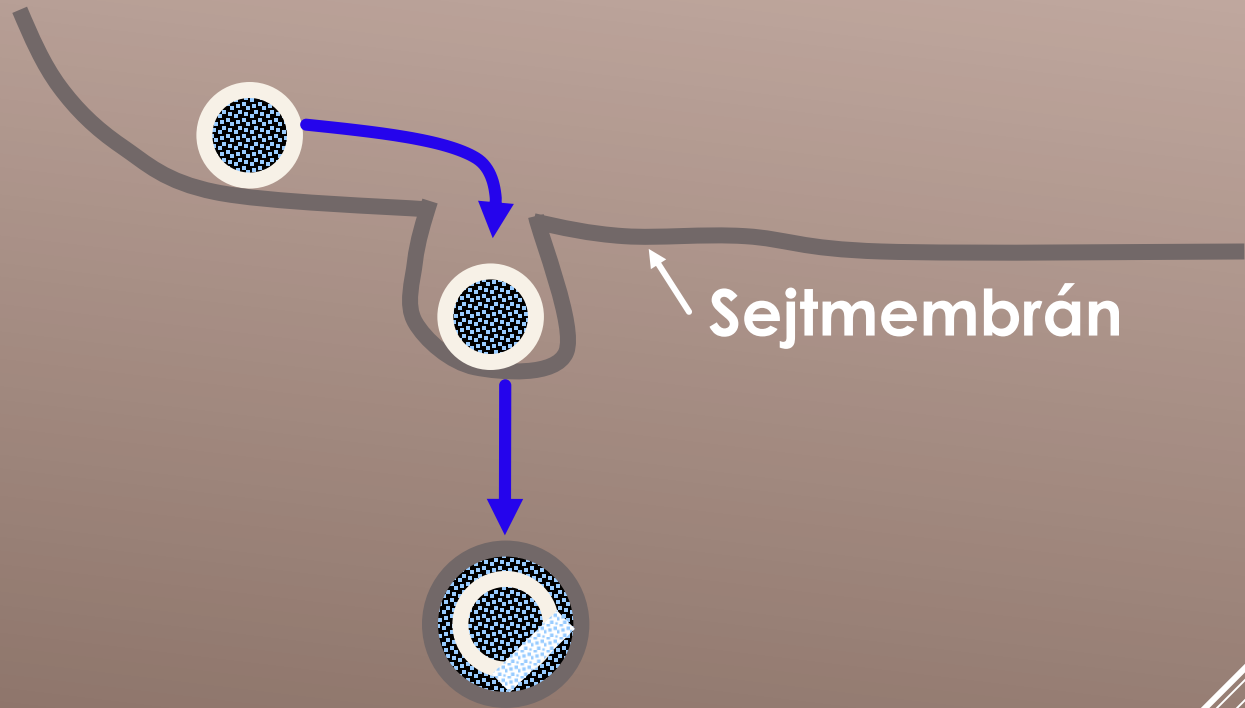


LIPOSZÓMÁK ÉS SEJTEK KÖLCSÖNHATÁSA

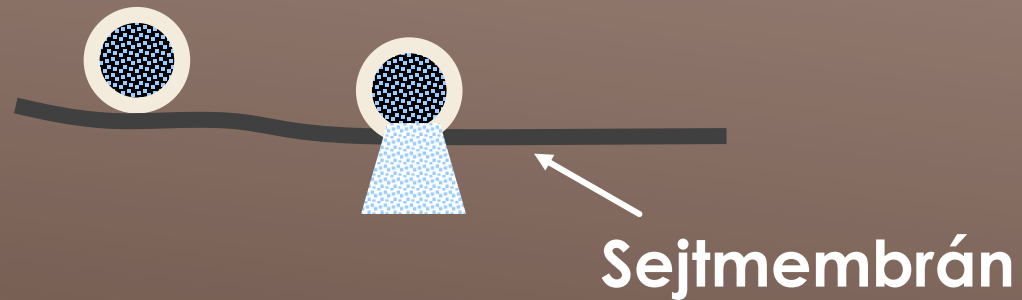
Adszorpció



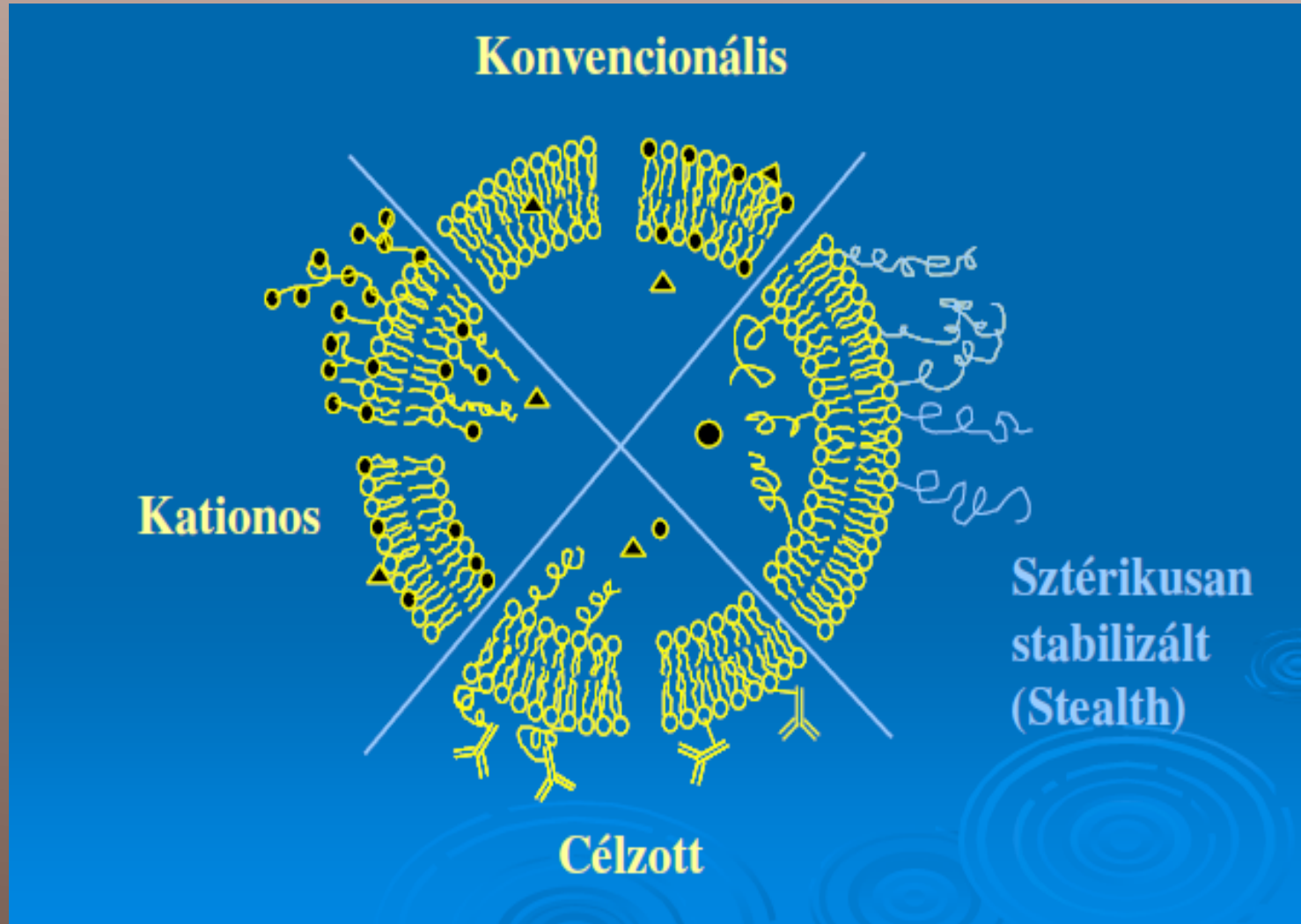
Endocitózis



Membrán fúzió



A GYÓGYÁSZATBAN ALKALMAZOTT LIPOSZÓMÁK TÍPUSAI

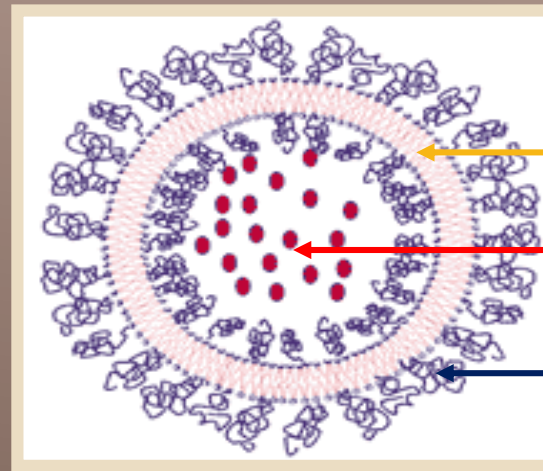


LIPOZÓMÁK A VÉRÁRAMBAN

Cél: a liposzómák gyors kiürülésének megakadályozása

- ▶ a liposzómákat elsősorban a máj és lép gyorsan felveszi
- ▶ a gyors kiürülést gátolni lehet üres liposzómák egyidejű adásával
- ▶ anyagok beépítésével a liposzóma-falba

- ▶ polioxietilén
- ▶ koleszterin
- ▶ PVP
- ▶ poliakrilamid



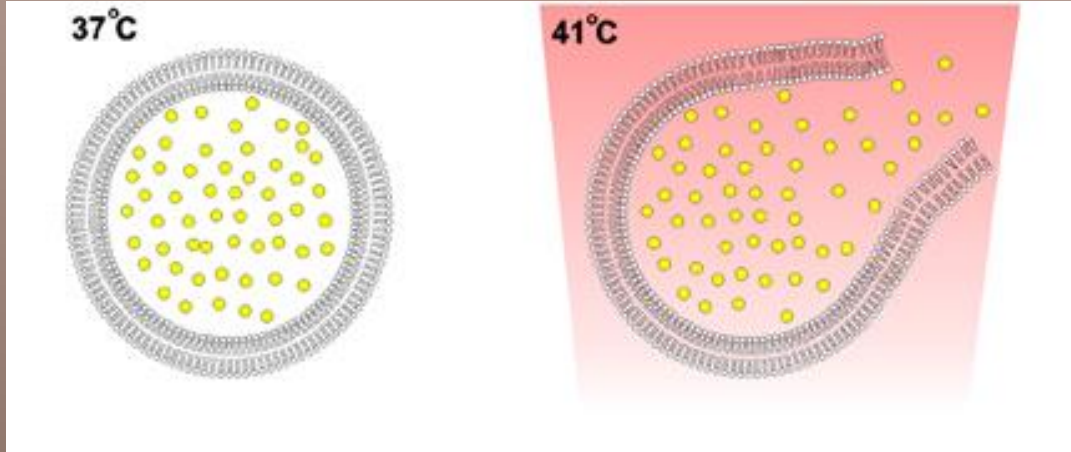
foszfolipid

hatóanyag

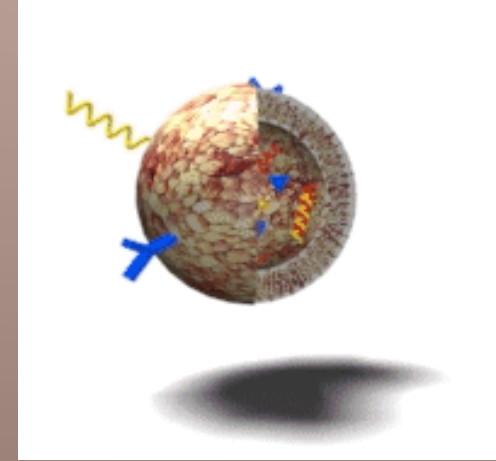
polioxi-etilén

LIPOSZÓMÁK ALKALMAZÁSA CÉLZOTT TERÁPIÁBAN

Passzív targeting
Hőzékeny lipszómák



Aktív targeting
Célzott hatás elérése



LIPOSZÓMÁK ALKALMAZÁSA CÉLZOTT TERÁPIÁBAN

Doxorubicin liposzóma AIDS betegséget kísérő Kaposi sarcoma kezelésére:

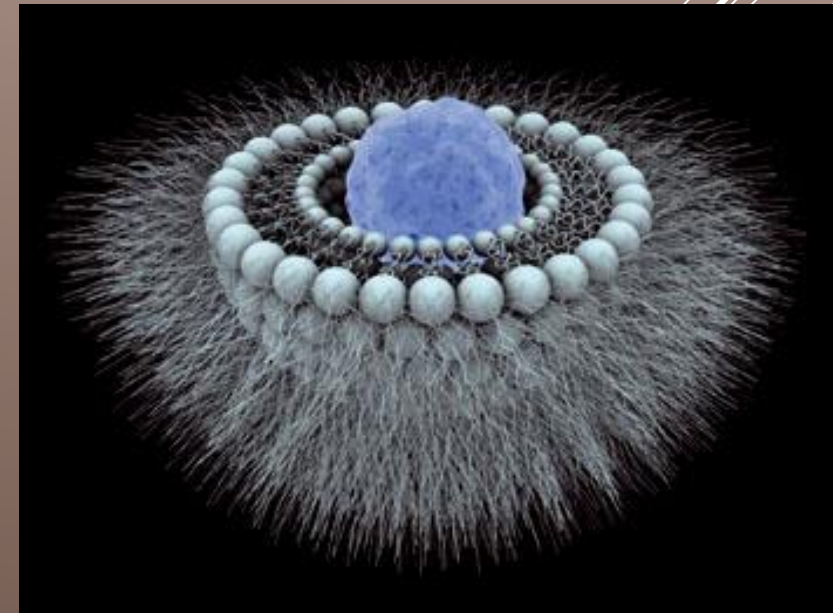
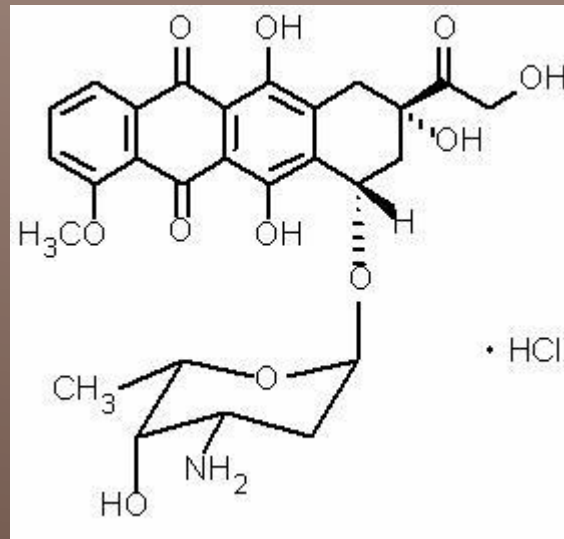
A hatóanyag védelem nélkül gyorsan eliminálódik, de a PEG-ilálás segítségével növelhető a liposzóma permeabilitása és a vérplazmában való tartózkodási ideje.

Doxil®, Caelyx® pegilált doxorubicin hidroklorid (PLDH).

Ovárium- és tüdőrák, AIDS fertőzéshez kapcsolódó Kaposi szarkóma, myeloma kezelése.

Myocet®, tüdőrák metasztázisban ciklofoszfamiddal kombinálva.

Liposzómában lényegesen csökken a mellékhatás, gyors sejt penetrációt biztosít, javul a biológiai felhasználhatóság.



FORGALOMBAN LÉVŐ LIPOSZÓMÁLIS GYÓGYSZEREK

NÉV	HATÓANYAG	ALKALMAZÁS	ENGEDÉLY
Doxil, Caelyx	Doxorubicin	Ovárium- és tüdőrák, Kaposi karconinóma	1995
Abelcet	Amphotericin B	Szisztémás gombás fertőzések	1995
DaunoXome	Daunorubicin	Tumorok	1996
Ambisome	Amphotericin B	Gombás fertőzések	1997
Epaxal-Berna	Hepatitis A antigen	Hepatitis vakcina	1997
DepoCyt	Cytarabin	Tumorok	1999
Amphotec	Amphotericin B	Szisztémás gombás fertőzések	2000
Myocet	Doxorubicin	Gombás fertőzések	2000
Visudyne	Verteporfin	Makula degeneráció	2000

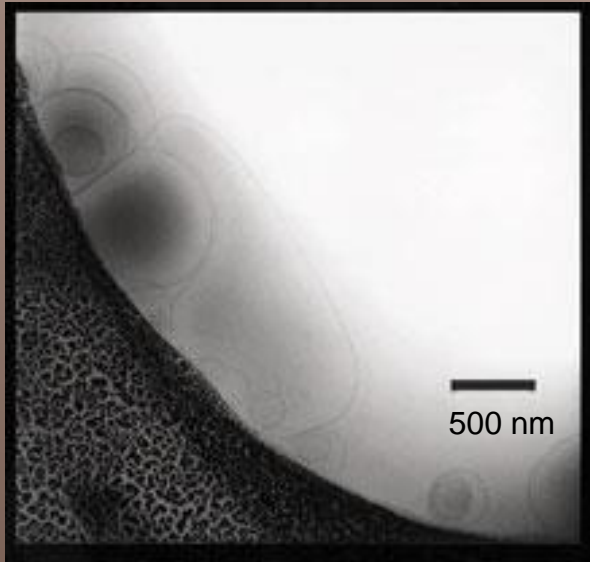
FEJLESZTÉS ALATT ÁLLÓ LIPOSZÓMÁLIS GYÓGYSZEREK

Hatóanyag	Indikáció
Transz-retinol-sav	T sejt lipfóma
Amikacin	Bakteriális fertőzések
ampillicin	listeria infection
annamicin	Leukémia, mellrák
camptosar	Vastagbél rák
ciklosporin	immunszuppresszió
doxorubicin	mellrák
interleukin-2	immunstimuláció
lipid A	immunstimuláció
metotextrát	Karcinómák
mitoxantron	Prosztata rák

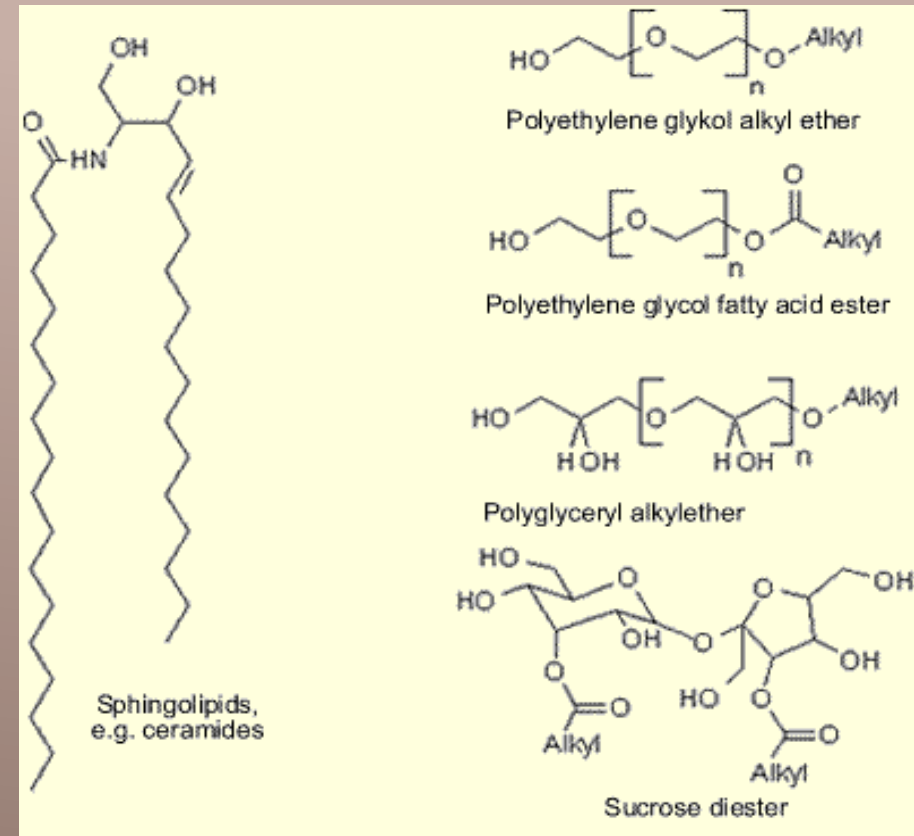
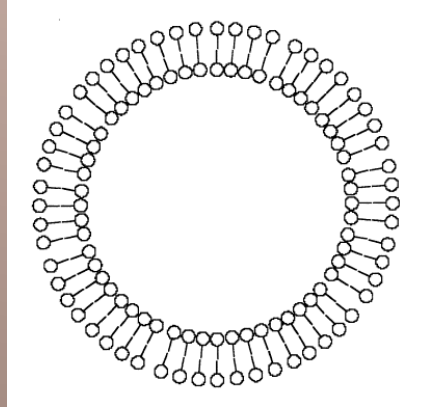
NIOSZÓMÁK

Definíció: A nioszómák nem ionos felület aktív anyagokból (poliglicerin alkil éterekből, vagy sphingolipidekből) felépülő vezikulumok.

Számos felületaktív anyag képes kettősfalú vezikulumok képzésére.



Span 20 alapú nioszóma elektronmikroszkópos képe



A nioszómák a liposzómákhoz hasonlóan különösen a rákterápiában jelentősek.

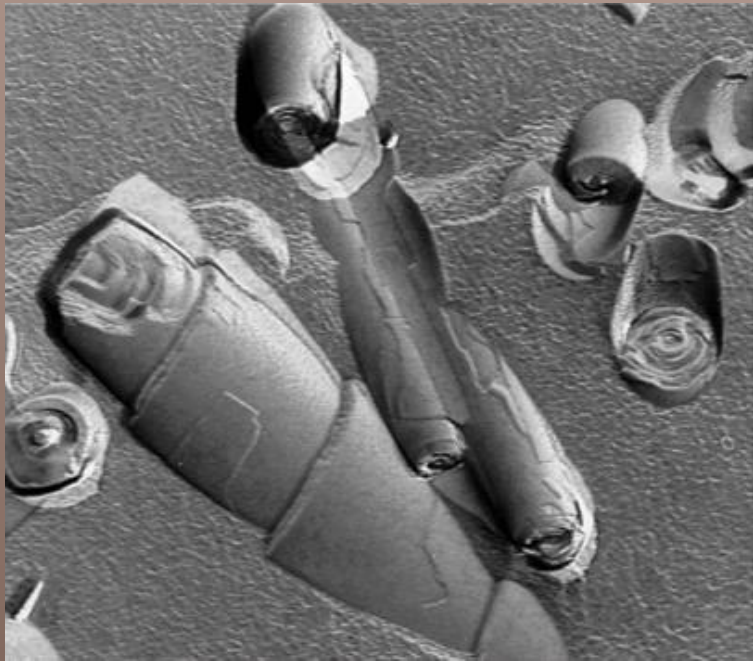
A keringési idő meghosszabbítására ebben az esetben is előnyös a PEG-ek alkalmazása.

Különösen hajlamosak a májban és a lépben felhalmozódni, ezért ezeknek a szerveknek a célzott kezelésére is alkalmazhatók.

KOHLÉÁTOK

A kohleátok fogalma a görög kochlea (kagyló) elnevezésből ered. A kohleátok többrétegűek, lipidekből és kétértékű ionokból (pl. foszfatidilszerin és kalciumból) álló, vezikuláris szerkezetű nanoméretű gyógyszerformák.

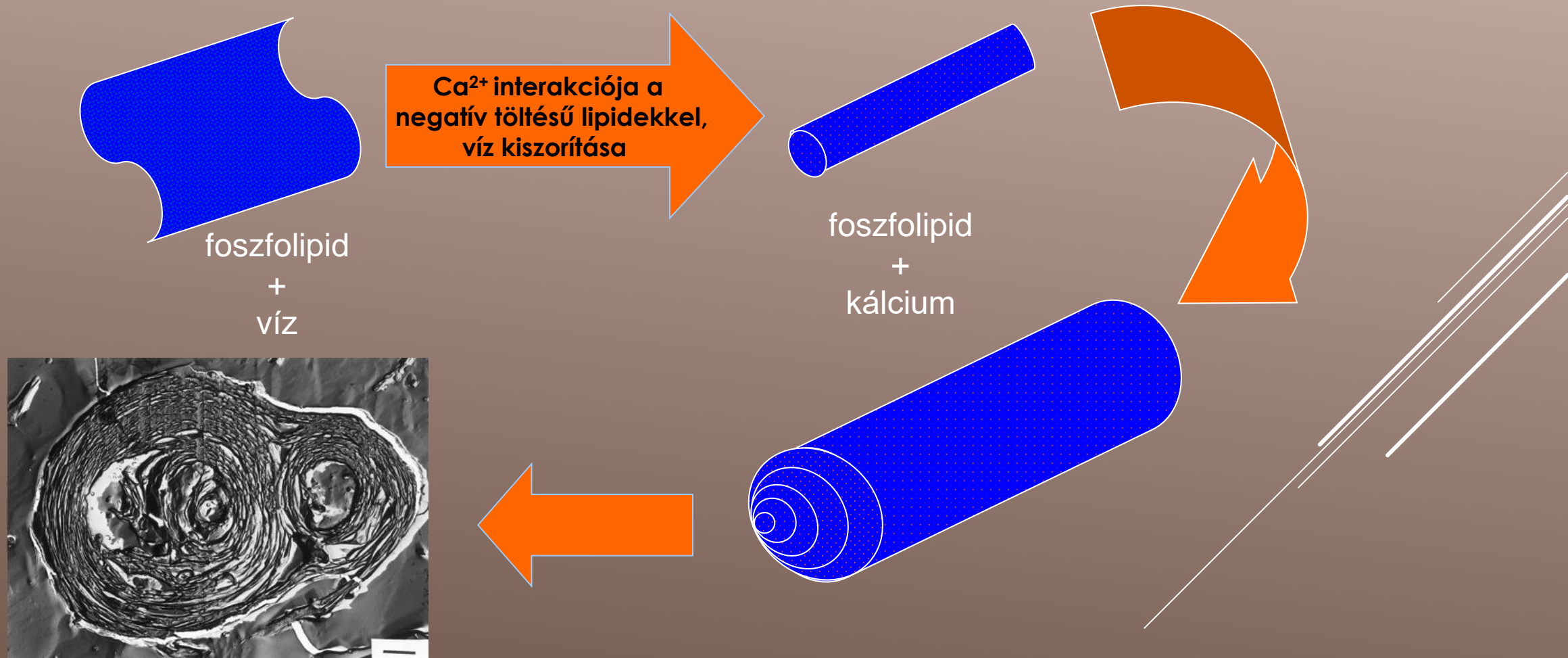
Orális és szisztémás gyógyszeradagolásban is használhatók.



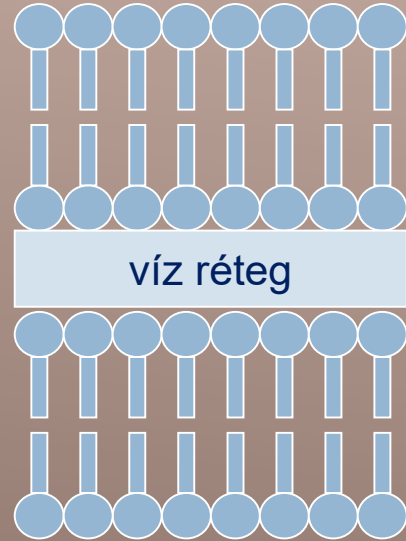
Multilamelláris szerkezet, amelyben fosfolipid és kalcium rétegek váltják egymást.



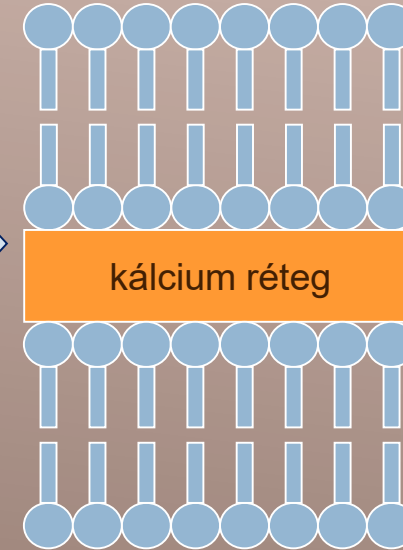
KOHLEÁTOK ELŐÁLLÍTÁSA



KOHLÉÁTOK



Ca²⁺ interakciója a negatív töltésű lipidekkel, víz kiszorítása

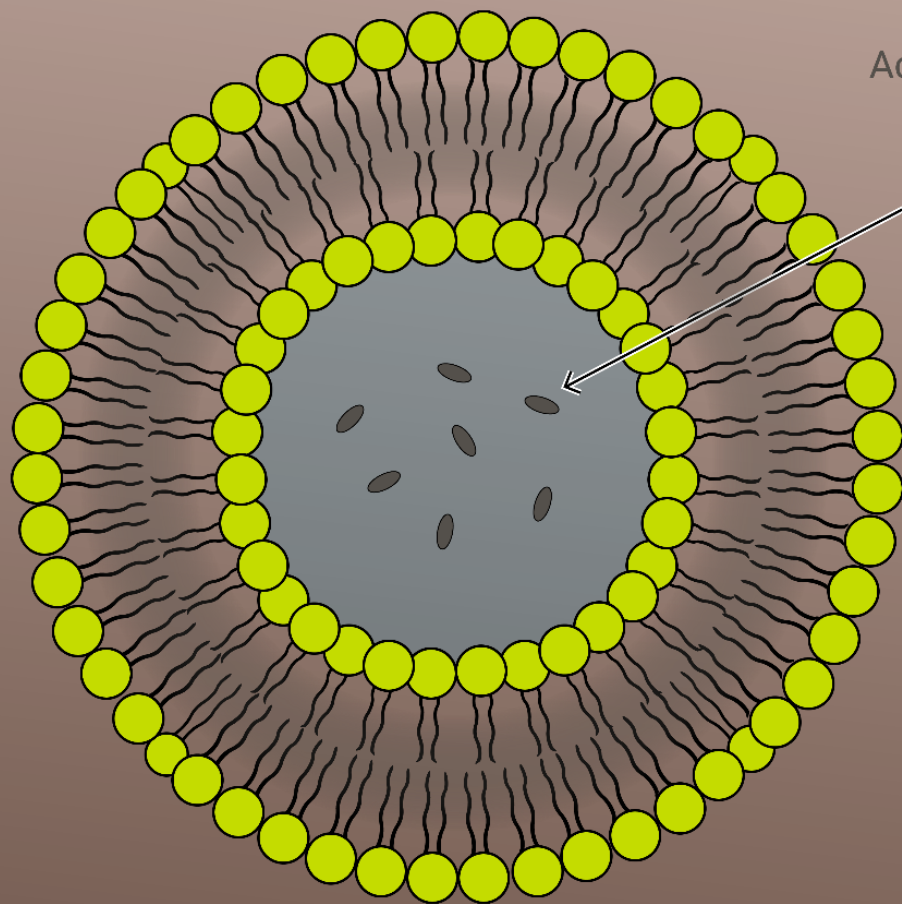


- A kohleátok a liposzómáktól abban is különböznek, hogy alig, vagy egyáltalán nem tartalmaznak lamellák közti vízrétegeket.
- Szerkezetük révén képesek védelmet nyújtani a hatóanyagoknak, amelyek a belső védett rétegekben helyezkednek el.
- A kohleátoknak különösen a belső rétegei védettek. Nem tartalmaznak vizet, rezisztensek a penetrációval szemben, megvédi a HA-ot a fénytől, oxigéntől, ezáltal jelentősen növelhető a hatóanyag bomlásának felezési ideje.
- Méretük a mikrométeres nagyságrendtől a 100 nm-es méretig terjed.
- Alkalmasak gyógyszermolekulák, vakcinák, fehérjék, antigének, gének célzott szállítására.

LIPOZÓMA VS. LIPID NANORÉSZECSKÉK

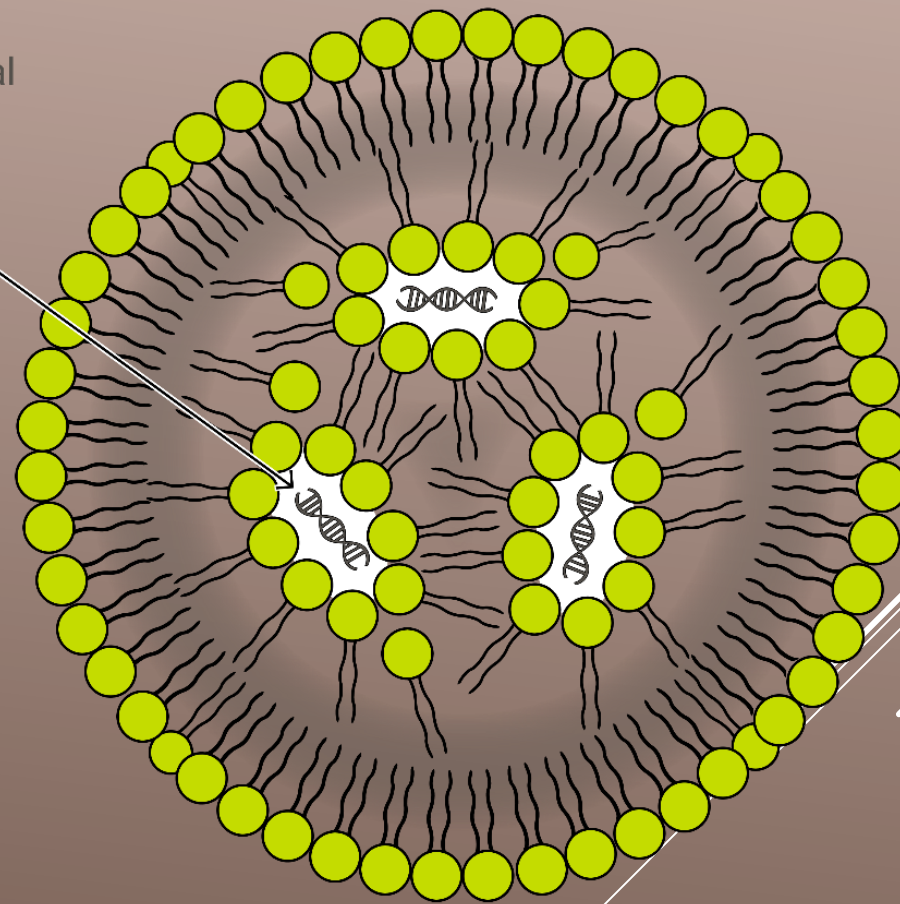
Liposzóma

Lipid nanorészecske



Active Pharmaceutical
Ingredient

└



SZILÁRD LIPID NANORÉSZECSKÉK

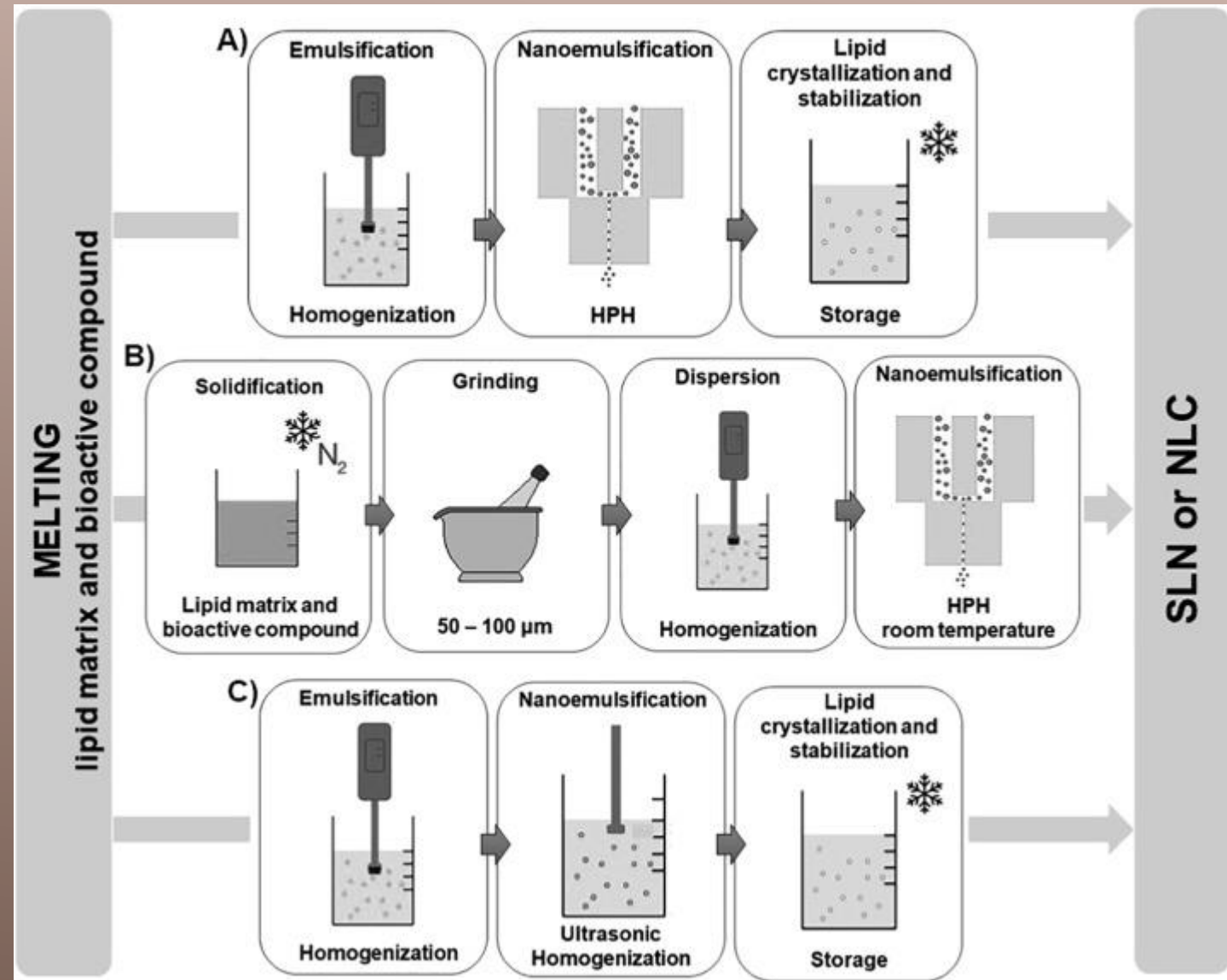
- ▶ **Fő szerkezeti elemek:** szilárd lipidek, emulgeálószer, koszolvensek, víz
- ▶ **Lipidek:** a trigliceridek, parciális gliceridek, zsírsavak, kemény zsírok, szteroidok, waxok
- ▶ **Emulgeálószer:** bármely típusú felületaktív anyag (kationos, anionos, nemionos). Cél a szilárd diszperzió stabilizálása, a részecskék aggregációjának megelőzésére.

Magasabb olvadáspontú lipidek felhasználásával a diszpergált fázis viszkozitása is nagyobb lesz ezáltal a homogenizálás során többnyire magasabb olvadáspontú lipidek keletkeznek.

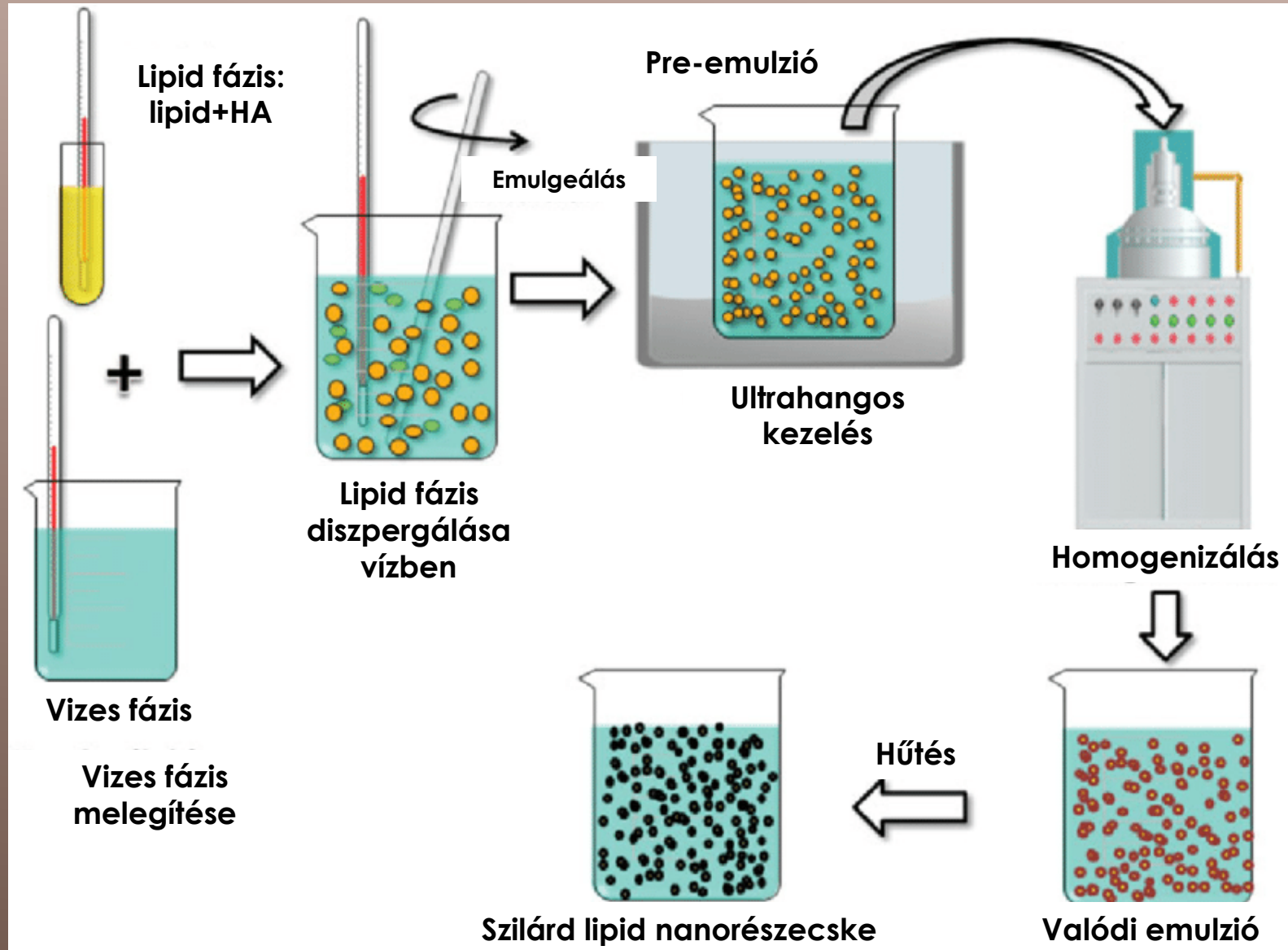
	Vegyület típusa	Triviális név	Gyári név
Lipid komponens	triglicerid	trimirisztin	Daynasan® 11
	kemény zsír	szilárd zsír	Witepsol® W35
	parciális gliceridek	glicerin-behenát	Compritol 888 ATO
	waxok	sztearinsav	
Emulgeálószer	foszfolipid	szója lecitin	Lipoid S 75
	elítén-oxid kopolimerek	etilén-oxid	Poloxamer
	szorbitánsav észterek	poliszorbát 80	Polysorbate 80/ Tween®80
	epesók	nátrium-taurokolát	
	alkoholok	etanol	

SZILÁRD LIPID NANORÉSZECSKÉK ELŐÁLLÍTÁSA

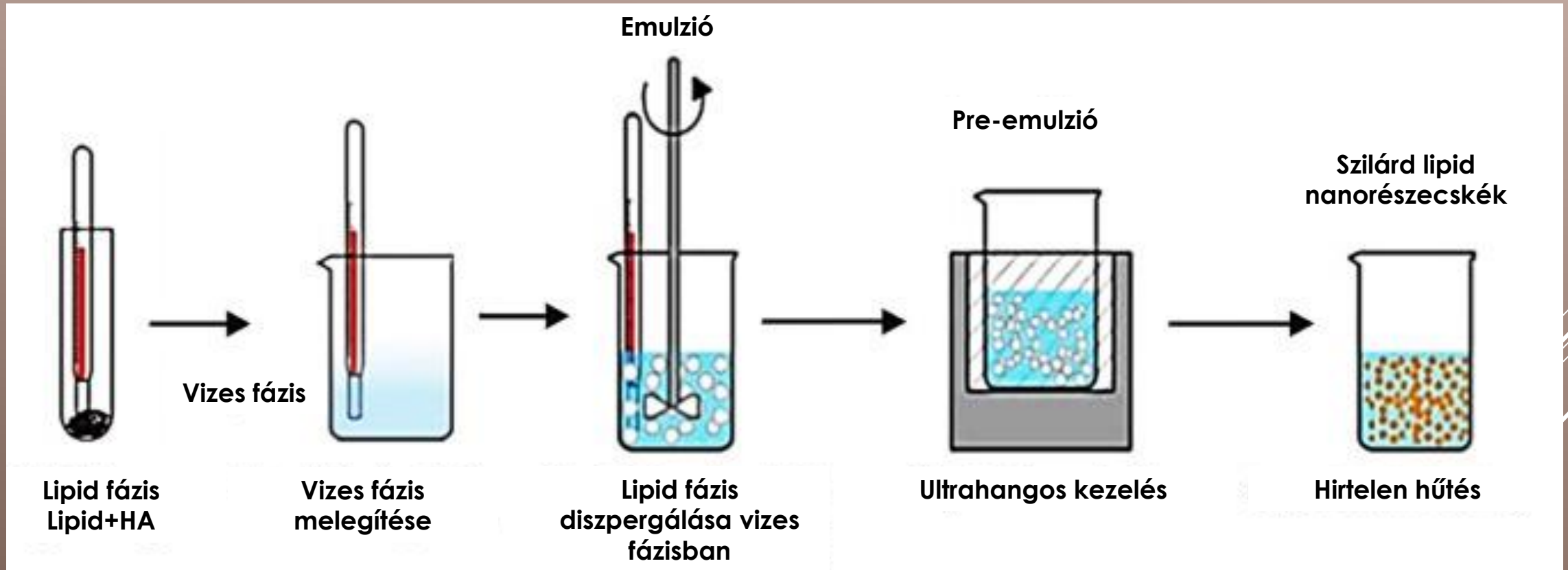
- Nagy nyomású homogenizálás (HPH), ami lehet hideg vagy meleg
- Ultrasonikálás, ami lehet szondás vagy kádás
- Oldószer elpárologtatás
- Oldószer emulziós-diffúziós módszer
- Szuperkritikus folyadék módszer
- Mikroemulziós módszer
- Dupla emulziós módszer
- Csapadékképződésen alapuló technika
- Film-ultrahang diszperziós módszer
- Oldószer injekciós technika
- Membrán érintkeztetésen alapuló technika



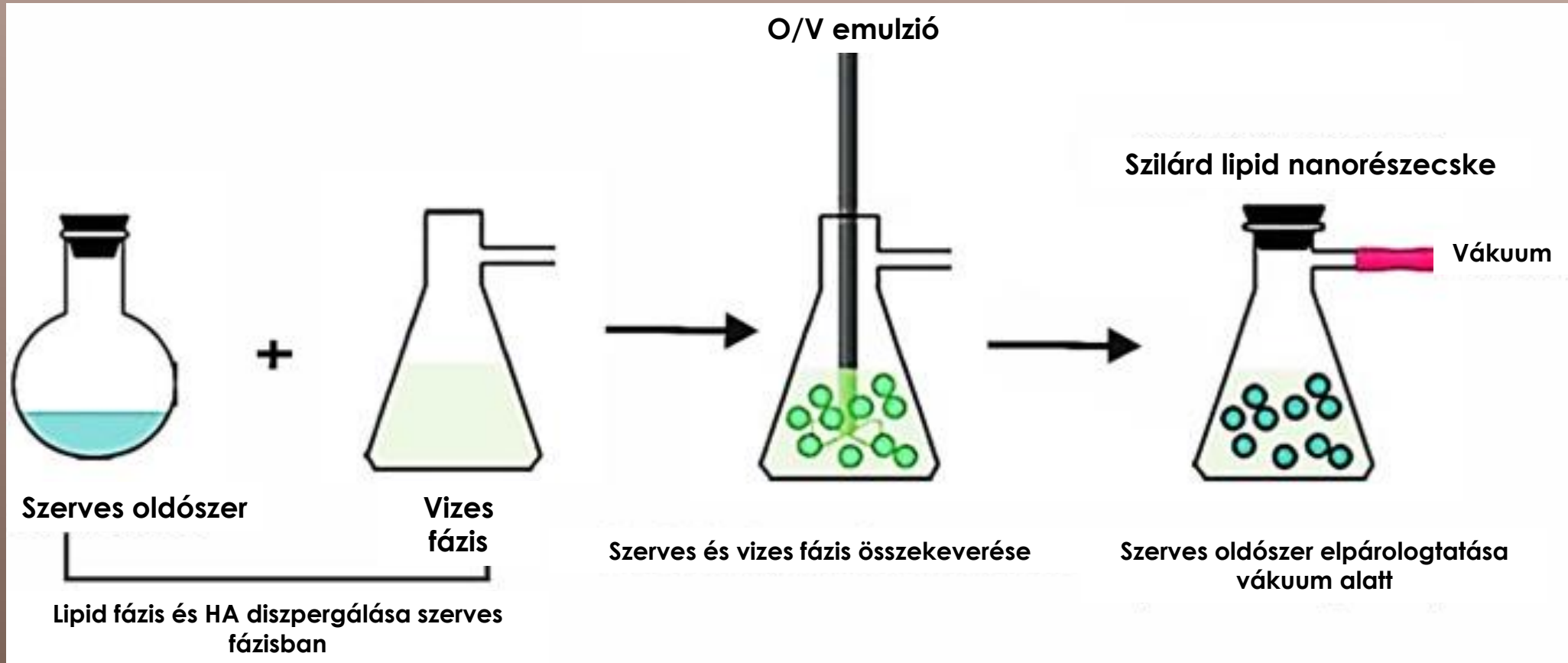
SZILÁRD LIPID NANORÉSZECSKÉK ELŐÁLLÍTÁSA - HPH



SZILÁRD LIPID NANORÉSZECSKÉK ELŐÁLLÍTÁSA – MIKROEMULZIÓS MÓDSZER

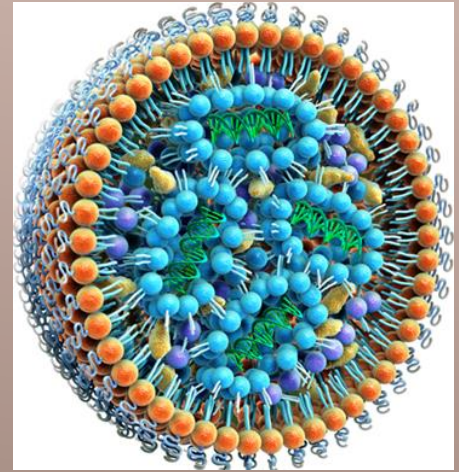
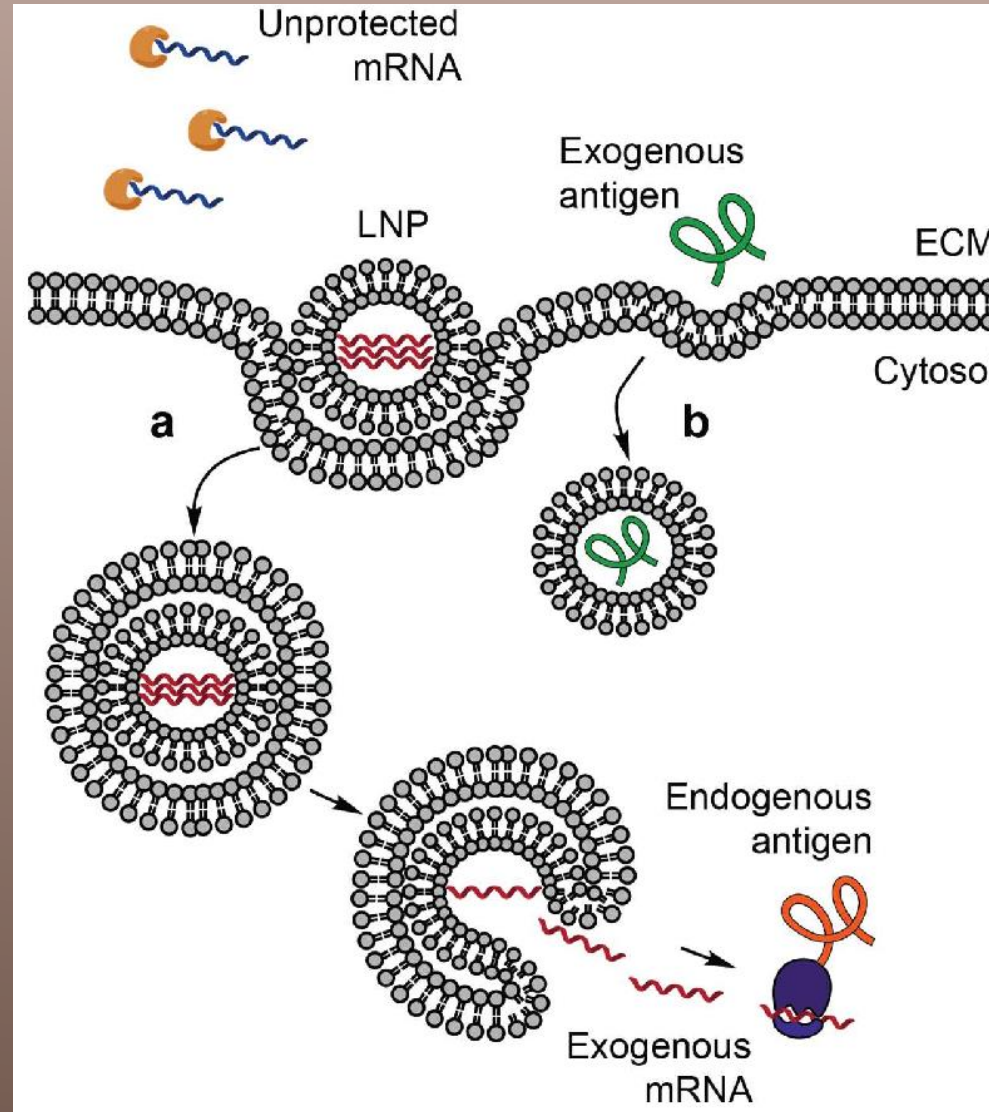


LIPID NANORÉSZECSKÉK ELŐÁLLÍTÁSA – OLDÓSZER PÁROLOGTATÁS

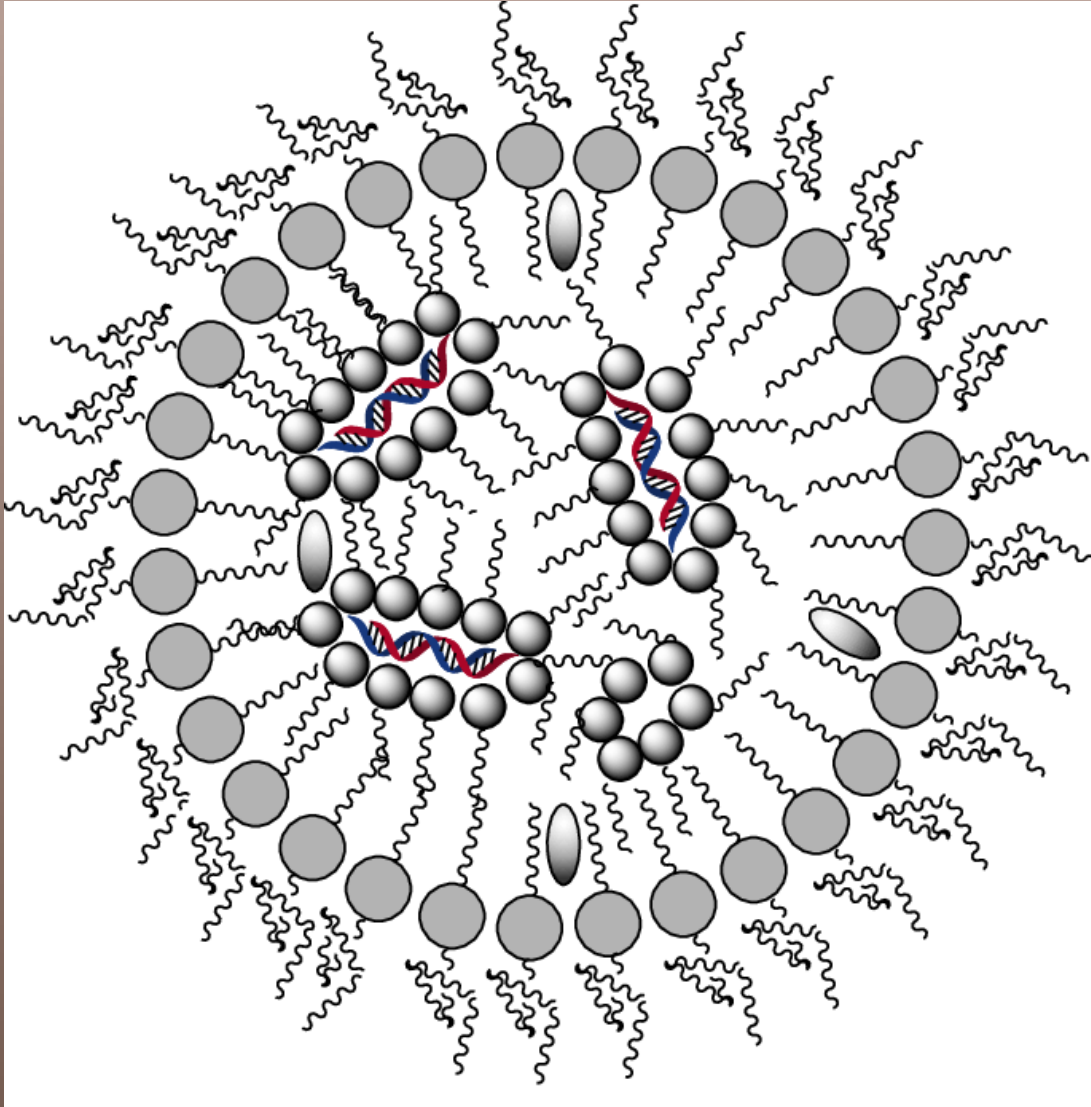


LIPID NANORÉSZECSKÉK SZEREPE AZ mRNA VAKCINÁKBAN

- Lehetővé teszi az mRNA **sejtbe való bejuttatását**
- Növeli az **intracelluláris stabilitást**
- Növeli a **biológiai hatást**
- Nem jut el a sejtmagig



LIPID NANORÉSZECSKÉK SZEREPE AZ mRNA VAKCINÁKBAN



	Koleszterin
	Kationos lipid
	PEGilált lipid
	RNS lánc

PFIZER-BIONTECH COMIRNATY SEGÉDANYAGAI

BIONTECH



COMIRNATY = COVID-19 + COMMUNITY + IMMUNITY + MRNA

- ▶ ((4-hidroxibutil)azanediil)bisz(hexán-6,1-diil)bisz(2-hexildekanoát) (ALC-0315)
- ▶ 2-[(polietilénglikol)-2000]-N,N-ditetradekilacetamid (ALC-0159)
- ▶ 1,2-disztearoil-sn-glicero-3-foszfokolin (DSPC)
- ▶ Koleszterin
- ▶ Kálium-klorid
- ▶ Kálium-dihidrogén-foszfát
- ▶ Dinátrium-hidrogén-foszfát-dihidrát
- ▶ Nátrium-klorid
- ▶ Szacharóz
- ▶ injekcióhoz való víz



PFIZER- BIONTECH COMIRNATY SEGÉDANYAGAI

BIONTECH



Lipid komponens

- ((4-hidroxibutil)azanediil)bisz(hexán-6,1-diil)bisz(2-hexildekanoát) (ALC-0315) – kationaktív lipid
- Disztearoil-sn-glicero-3 foszfokolin (DSPC)

Stabilizálás

- 2-[(polietilénglikol)-2000]-N,N-ditetradekilacetamid ("lopakodó" részecske)
- Koleszterin (lipid nanorészecske fala)
- Szacharóz (krioprotektív)

Puffer

- Nátrium-klorid
- Kálium-klorid
- Dinátrium-hidrogén-foszfát-dihidrát
- Kálium-dihidrogén-foszfát

Diszpergálószer

- Injekcióhoz való víz

MODERNA COVID-19 VAKCINA SEGÉDANYAGAI

MODERNA = MODIFIED MRNA

- ▶ SM-102 lipid
- ▶ 1,2-disztearoil-sn-glicero-3-foszfokolin (DSPC)
- ▶ 1,2-dimiriztoil-rac-glicero-3-metoxi-polietilén-glikol-2000 (PEG2000 DMG)
- ▶ Trometamol
- ▶ Trometamol-hidroklorid
- ▶ Ecetsav
- ▶ Nátrium-acetát-trihidrát
- ▶ Szacharóz
- ▶ Injekcióhoz való víz

moderna®



MODERNA SEGÉDANYAGAI



Lipid komponens

- SM-102 lipid
- 1,2-disztearoil-sn-glicero-3-foszfokolin (DSPC)

Stabilizálás

- 1,2-dimiriztoil-rac-glicero-3-metoxi-polietilén-glikol-2000 (PEG2000 DMG) ("lopakodó" részecske)
- Trometamol / trometamol-hidroklorid (tenzid, aggregálódást csökkentő)
- Szacharóz (krioprotektív)

Puffer

- Ecetsav
- Nátrium-acetát-trihidrát

Diszpergálószer

- Injekcióhoz való víz

MODERNA

Mennyiség: 100 µg

Hatékonyság: 94,1%

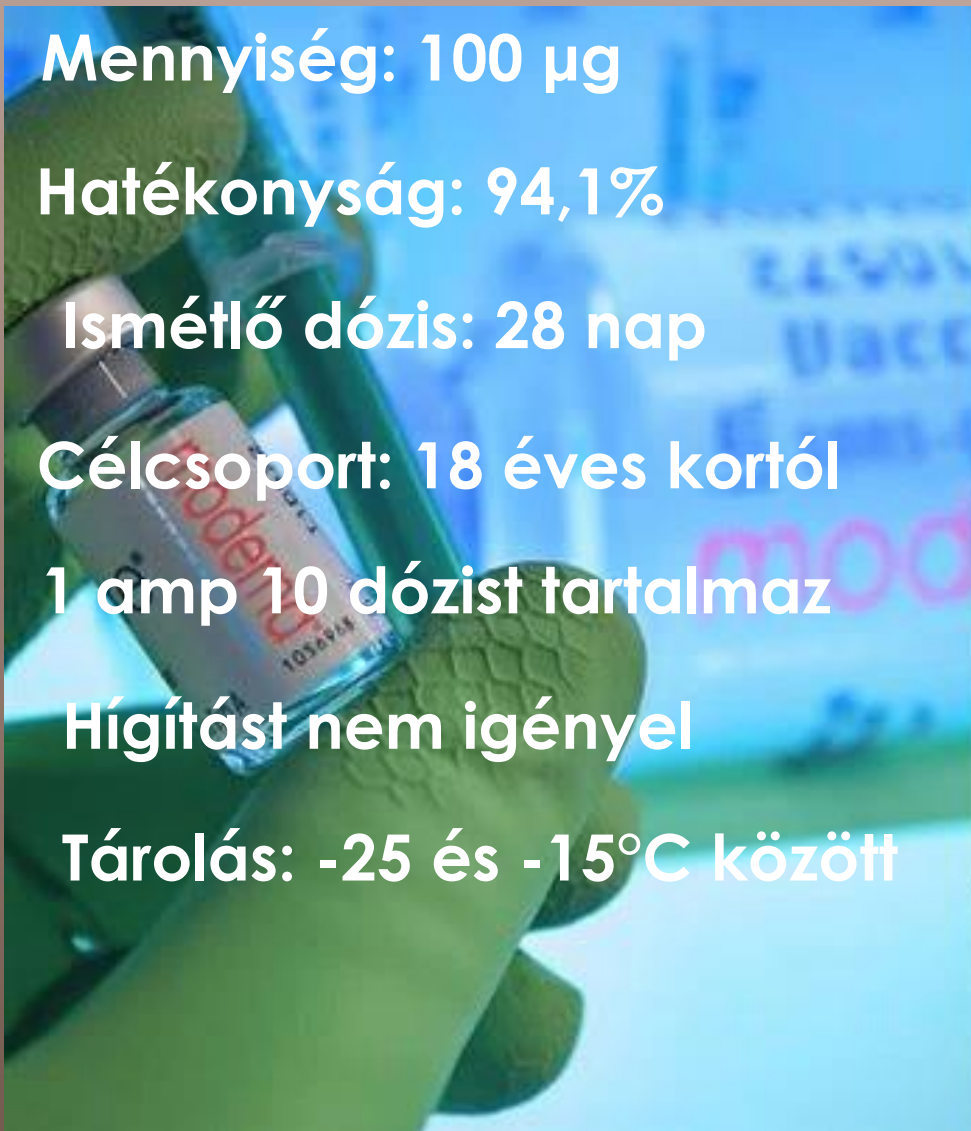
Ismétlő dózis: 28 nap

Célcsoport: 18 éves kortól

1 amp 10 dózist tartalmaz

Hígítást nem igényel

Tárolás: -25 és -15°C között



COMIRNATY

Mennyiség: 30 µg

Hatékonyság: 95%

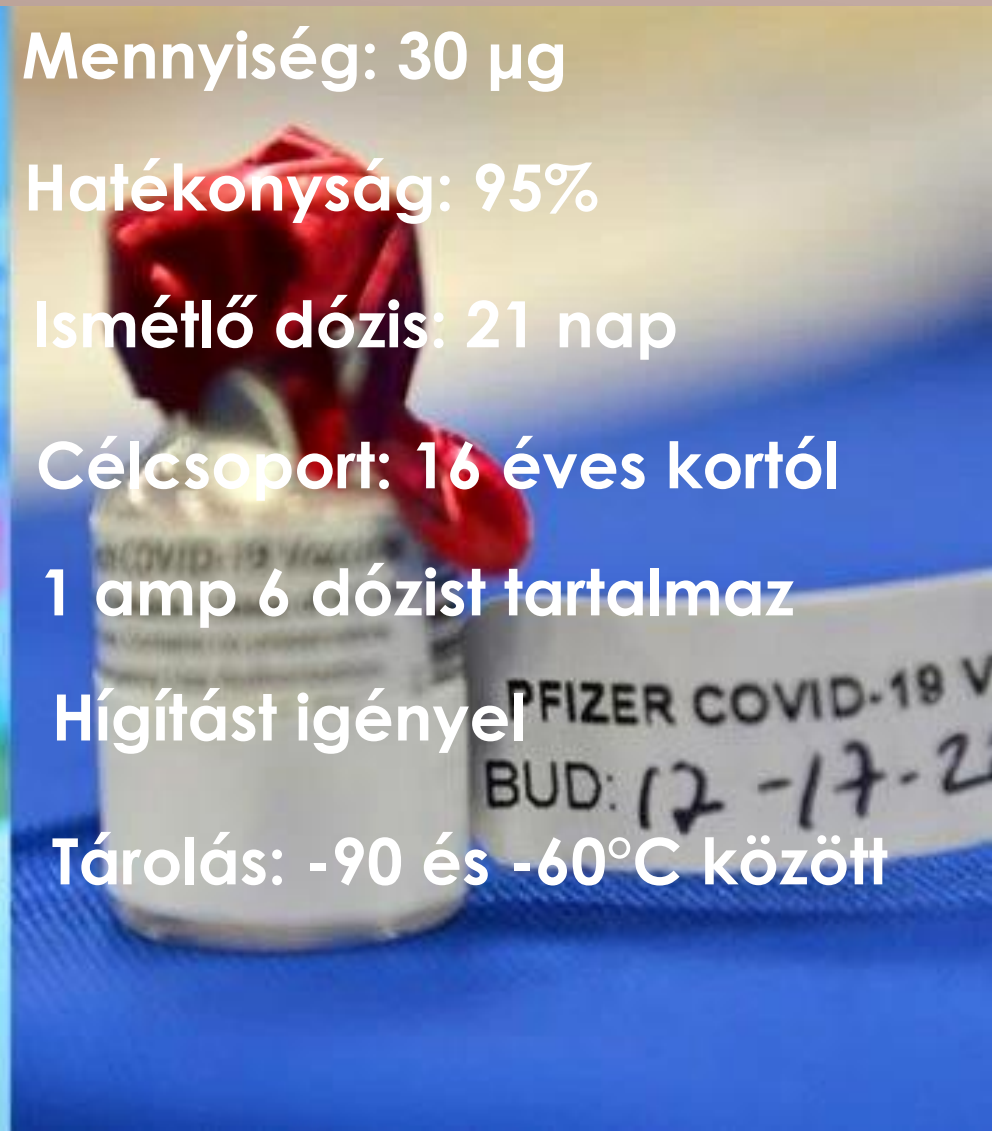
Ismétlő dózis: 21 nap

Célcsoport: 16 éves kortól

1 amp 6 dózist tartalmaz

Hígítást igényel

Tárolás: -90 és -60°C között



Köszönöm a figyelmet!

