

УДК 66-936.3

Долинский А.А.¹, Шаркова Н.А.¹, Терлецкая Я.Т.¹,
Авдеева Л.Ю.¹, Жукотский Э.К.¹, Грищенко А.В.¹, Горчев В.Ф.²¹Институт технической теплофизики НАН Украины²Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИПОСОМНЫХ НАНОСИСТЕМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭФФЕКТА ДИСКРЕТНО- ИМПУЛЬСНОГО ВВОДА ЭНЕРГИИ

В статті приведені результати досліджень отримання ліпосомних наносистем в залежності від тепломасообмінних параметрів. Визначені розміри ліпосом і внутрішньоліпосомний водний об'єм. Розроблено спосіб отримання ліпосомних наносистем на обладнанні з використанням ефекту дискретно-імпульсного вводу енергії. Спосіб може бути використаний для введення як біологічно активних речовин, так і лікарських препаратів в ліпосомній формі в харчовій і фармацевтичній промисловостях.

В статье представлены результаты исследований получения липосомных наносистем в зависимости от тепломассообменных параметров. Определены размеры липосом и внутрелипосомный водный объем. Разработан способ получения липосомных наносистем на оборудовании с использованием эффекта дискретно-импульсного ввода энергии. Способ может быть использован для введения как биологически активных веществ, так и лекарственных препаратов в липосомной форме в пищевой и фармацевтической промышленности.

Given in this paper are the results of experimental investigations of liposomal nanosystems obtaining at different heat-mass exchange parameters. Liposom's sizes and their encapsulated volumes are established. A method of obtaining of liposomal nanosystems at the equipment with an effect of discrete and pulse energy input are worked out. The method can be applied for input as biologically active substances so medical products in liposomal form in food and pharmaceutical industries.

C – концентрация;
 d – диаметр липосом;

n – частота оборотов мешалки;
 t – температура.

Развитие науки все больше базируется на закономерностях, касающихся объектов наноуровня. В соответствии с прогнозами ученых создание современных нанотехнологий должно привести к прорыву в самых разных отраслях промышленности: энергетике, биотехнологии, медицине, пищевой промышленности и т.д.

Одним из эффективных и экономически обоснованных путей решения проблемы повышения пищевой и биологической ценности продуктов питания населения является использование лецитиновых липосомных наносистем в качестве переносчиков необходимых питательных веществ.

Липосомы представляют собой контейнеры – везикулы, состоящие из природного биологического материала – фосфолипидов. Преимущества использования фосфолипидных везикул как микрокапсул для лекарств привлекли внимание

многих исследователей, так как липосомы имеют уникальное свойство проникать через мембрану клетки тканей и доставлять непосредственно в клетку заключенные в них вещества. Многочисленные эксперименты показали, что в липосомы можно включать целый ряд лекарственных и биологически активных веществ [1-4]. Определено, что оболочка липосом предотвращает быструю инактивацию заключенных в них веществ и, таким образом, пролонгирует их эффект [5-6]. Доказано также, что фосфолипиды липосом не накапливаются в органах и тканях, а включаются в обменные процессы в организме и используются для обновления мембран клеток [7].

Структура и состав молекул фосфолипидов в значительной мере обуславливают ряд их наиболее важных свойств. Наличие неполярных (гидрофобных) и полярных (гидрофильных) участков определяют поведение фосфолипидов в водных

растворах. При попадании в воду молекулы фосфолипидов ориентируются таким образом, что их полярные головки находятся в контакте с водной фазой, а гидрофобные углеводородные цепи ориентируются в направлении друг к другу и защищены от воды полярными головками, образуя стабильные замкнутые образования. Если при этом углеводородные цепи образуют сплошную гидрофобную сердцевину (ядро), то такие структуры называют мицеллами. Если же внутри липидного агрегата есть внутреннее водное пространство, то говорят о липидных везикулах или липосомах [8].

К липосомам, которые используются для доставки питательных веществ в клетки органов, предъявляется ряд требований: простота приготовления, стабильность при хранении, возможность обеспечения высокого процента захвата необходимых веществ внутрь липосом, при этом инкапсуляция в липосомы не должна менять природные свойства включенных в них веществ.

При клинических исследованиях липосомы широко используются для введения лекарственных препаратов, однако актуальными остаются проблемы, связанные с разработкой технологии их промышленного получения для использования в пищевой промышленности и лечебно-профилактическом питании.

В настоящее время для получения дисперсии из фосфолипидов, которые плохо диспергируются в воде, используют органические растворители или энергоемкие процессы с эксплуатацией дорогостоящего оборудования. Распространенными способами получения липосомных наносистем являются использование ультразвуковой обработки, методы инъекции, “замораживания-оттаивания” и др. [9]. Несмотря на эффективность, эти методики пригодны в основном для лабораторных условий. Целью исследований является определение рациональных технологических параметров для промышленного способа получения липосомных наносистем.

Повышенный интерес к потенциальным возможностям использования липосом в качестве транспортных и протекторных структур для разных веществ требует разработки оборудования и технологии получения липосом в промышленном масштабе.

Анализ процессов, протекающих при диспергировании фосфолипидов в растворителях, пока-

зал необходимость осуществления эффективного развития и обновления контактирующих фаз в сочетании с интенсивным колебанием обрабатываемой среды и с одновременным воздействием на нее разнонаправленных ускорений, вызывающих явление разрыва, диспергирования частиц и т.д. Для создания таких условий образования липосом нами предложено использовать эффект дискретно-импульсного ввода энергии. Суть метода заключается в создании условий, обеспечивающих при локальном вводе энергии в технологическую систему ее дискретное распределение по пространству и импульсное воздействие по времени. В смысле дискретности технология дискретно-импульсного ввода энергии состоит в распределении сжимаемой фазы по счетному числу точек технологического объема, в смысле импульсности — в реализации условий, при которых в окрестности этих точек возникают существенные градиенты или разрывы технологических параметров (давления, скорости, температуры, концентрации и т.п.) [10]. Для реализации эффекта дискретно-импульсного ввода энергии был использован аппарат роторно-пульсационного типа.

Основными характеристиками липосом являются их размер и объем захвата. Известно, что липосомы размерами 150...500 нм обеспечивают наибольшую устойчивость и максимальный объем захвата питательных веществ [8]. Размер липосом зависит не только от метода их получения, но также от состава липидов, температуры приготовления эмульсии и ряда др. факторов. Причина этих отличий в том, что размеры липосом контролируются термодинамическими факторами, то есть определяются минимумом кривой зависимости свободной энергии от радиуса везикул.

Нами были проведены экспериментальные исследования по изучению влияния эффекта дискретно-импульсного ввода энергии при разных технологических режимах с целью определения оптимальных условий получения липосомных наносистем.

Исследования проводили на экспериментальном стенде (рис.1) следующим образом. Предварительно взвешенные на весах 1 лецитин и воду в необходимом количестве подают в емкость 2 для термостатирования смеси, в которой поддержи-

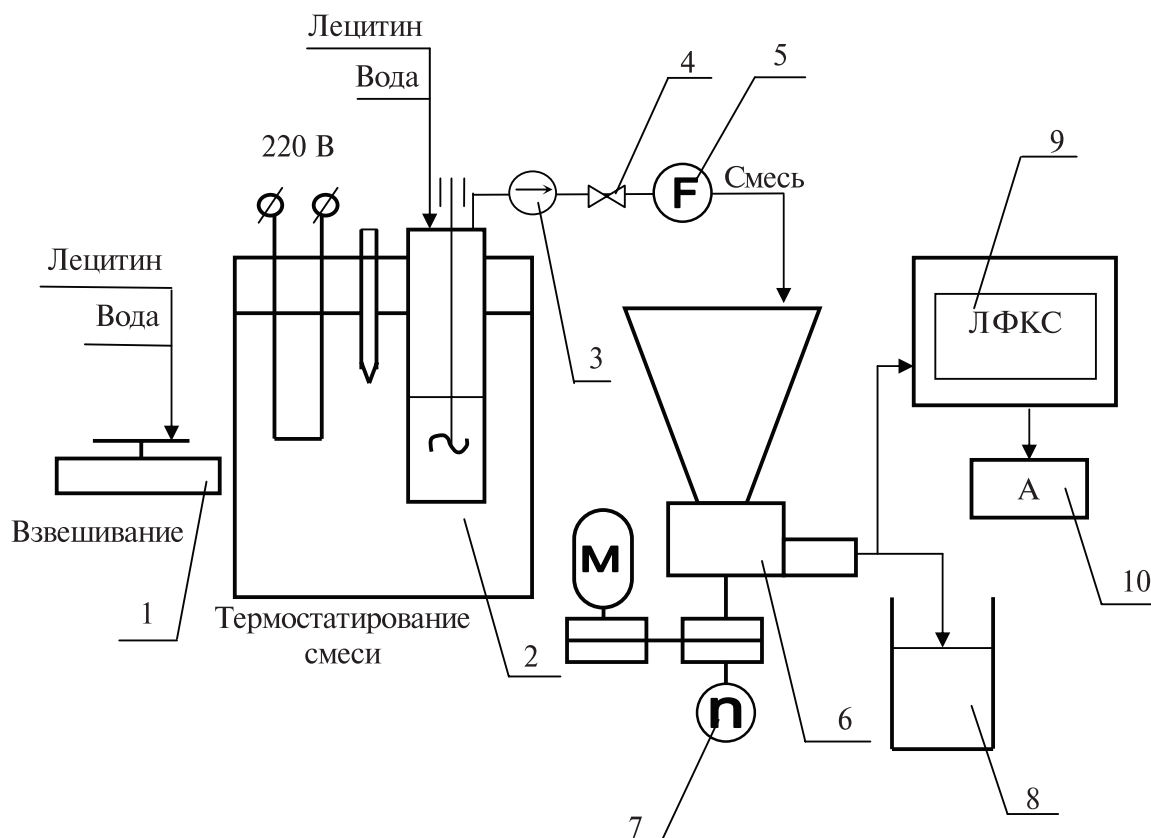


Рис. 1. Схема экспериментального стенда получения и исследования липосомных наносистем.

вается температура в диапазоне 10...100 °С, при постоянном перемешивании с частотой оборотов мешалки $n = 50 \text{ с}^{-1}$. При достижении заданной температуры смесь подается насосом 3 в роторно-пульсационный аппарат. Расход жидкости регулируется вентилем 4 в широком диапазоне и контролируется расходомером 5. Число оборотов ротора роторно-пульсационного аппарата 6 определяли с помощью тахометра 7. После обработки готовая липосомная эмульсия поступает в приёмную ёмкость 8, с которой проводится отбор образцов. Распределение липосомных наносистем по размерам исследовали при помощи лазерного фотон-корреляционного спектрометра Zetasizer 3 (Malvern Instruments) 9 и электронного анализатора 10.

Получение липосом исследовали в зависимости от изменения следующих параметров: температуры приготовления эмульсии, концентрации лецитина, частоты генерирующих пульсаций и числа оборотов роторно-пульсационного аппарата.

Исследования зависимости размера липосом от температуры водной дисперсии лецитина про-

водили при температурах $t = 20...80 \text{ °С}$. При этом концентрация лецитина составляла 1 и 5 %. При заданной температуре и определенной концентрации лецитина водную дисперсию пропускали через роторно-пульсационный аппарат. Результаты исследований представлены на рис. 2. Определено, что при увеличении температуры водной дисперсии от 20 до 80 °С диаметр липосом уменьшается. Причем для образцов с концентрацией лецитина $C = 1 \text{ %}$ при температурах от 20 до 80 °С средний диаметр липосом уменьшался от 838 до 391 нм соответственно, то есть почти в 2 раза. С увеличением концентрации лецитина до $C = 5 \text{ %}$ при температуре водной дисперсии $t = 20 \text{ °С}$ размер липосом уменьшался от 838 до 531 нм, а при температуре $t = 80 \text{ °С}$ средний диаметр полученных липосом составлял уже 312 нм.

Исследования зависимости размера липосом от концентрации лецитина в водной дисперсии проводили при $C = 0,1...10 \text{ %}$ при температурах 40 и 80 °С. Приготовленные образцы пропускали

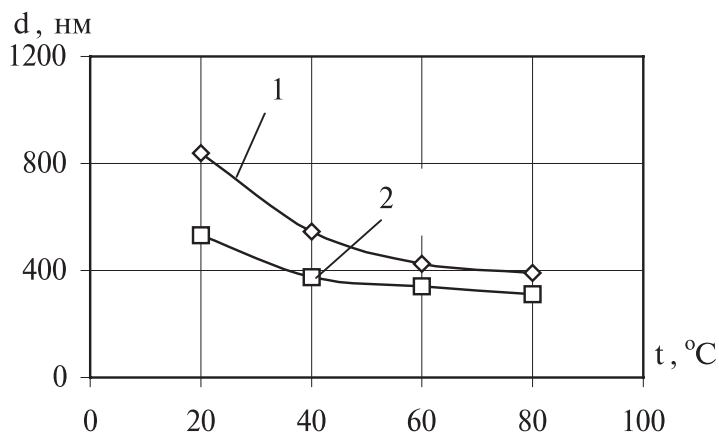


Рис. 2. Зависимость среднего размера липосом от температуры при концентрациях лецитина: 1 – 1 %, 2 – 5 %.

через роторно-пульсационный аппарат. Результаты, приведенные на рис. 3 свидетельствуют, что при концентрации лецитина $C = 0,1...0,5\%$ и температуре $t = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ образовались большие липосомные везикулы с размерами 768...1200 нм, а при температуре $t = 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ размеры липосом составляли 550...1000 нм. С увеличением концентрации лецитина до $C = 1...5\%$ размеры липосом уменьшались и при температуре $t = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ находились в области 550...374 нм, при температуре $t = 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ – от 391 до 312 нм. Последующее увеличение концентрации лецитина до $C = 10\%$ опять привело к образованию больших липосом размерами 1031 и 900 нм при температурах 40 и 80 °C соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют, что для получения липосом со средним диаметром 300...500 нм оптимальная температура приготовления эмульсии лецитина составляет $t = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, концентрация лецитина $C = 1...5\%$.

Определение объема водного раствора биологически активных веществ, который заключен в липосомы, проводили методом флуоресцентной спектроскопии [11] на спектрофлуориметре Hitachi 10-S (Япония). В качестве маркера использовали флуоресцентный комплекс – тербий-дипиколиновую кислоту. В результате проведенных исследований было установлено, что внутри липосом находится 63 % водного раствора биологически активных веществ, то есть объем захвата раствора липосомами составляет 12 мл на 1 г фосфолипида.

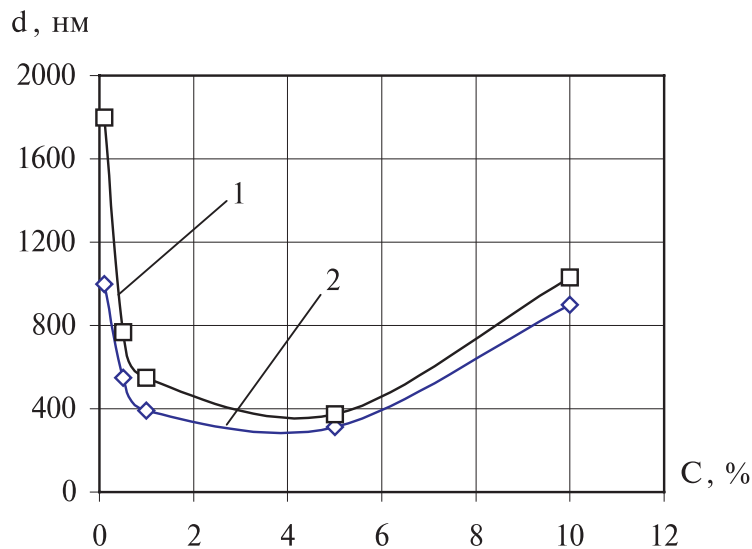


Рис. 3. Зависимость среднего размера липосом от концентрации лецитина при температурах: 1 – 40 °C, 2 – 80 °C.

Выводы

Предложен промышленный способ получения липосомных наносистем с использованием эффекта дискретно-импульсного ввода энергии на аппаратах роторно-пульсационного типа.

Установлены оптимальные параметры технологических режимов получения липосомных наносистем заданного размера с высоким процентом захвата и стабильных при хранении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грегориадис Г. Последние достижения в изучении липосом. – В кн. Липосомы в биологических системах. – М. – Медицина, 1983. – С. 366–384.
2. Торчилин В.П., Клибанов А.Л. Способ улучшения связывания гидрофильного белка с липосомами. – Биоорганическая химия. – 1980. – 6, № 5. – С. 791–794.
3. Belchetz P.E., Braidman I.P., Crawley J.C., Gregoriadis G. Treatment of gaucher's disease with liposome-entrapped glucocerebroside: в-glucosidase // Lancet. – 1977. - №1. – P. 116-117.
4. Россельс А.Н., Бухман А.А., Вахрушева Л.Л. и др. Возможность использования липосом для перорального введения инсулина при сахарном диабете, Химико-фармацевтический журнал. – 1983. – №1. – С. 52–53.

5. Krupp Z., Chobanian A.V., Brecher P.I. The in vivo transformation of phospholipids vesicles to a particle resembling HDL in the rat // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* – 1976. – 72, № 4. – P. 1251–1258.

6. Martin F.J., McDonald R.C. Lipid vesicle-cell interactions // *J. Cell. Biol.* – 1976. – 70, № 4. – P. 515–526.

7. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Липидный бислои биологических мембран. М.: Наука, 1982, 224 с.

8. Красильников В.Н., Несмелов А.И. Липосомы: структура, свойства, производство. – “Масло-жировая промышленность”. № 2, 1999.

9. Марголис Л.Б., Бергельсон Л.Д. Липосомы и их взаимодействие с клетками. – М.: Наука, 1986, 240 с.

10. Дискретно-импульсный ввод энергии в теплотехнологиях / А.А. Долинский, Б.И. Басок, С.И. Гулый, А.И. Накорчевский, Ю.А. Шурчкова – К.: Институт технической теплофизики Национальной Академии Наук Украины, 1996. – 204 с.

11. Wilschut J., Düzgünes N., Fraley R., and Papahadjopoulos D. Studies on the mechanism of membrane fusion: kinetics of calcium ion induced fusion of phosphatidylserine vesicles followed by a new assay for mixing of aqueous vesicle contents // *Biochemistry* 1980, 19, P. 6011–6021.

Получено 14.02.2006 г.

УДК 621.783.2:669.95

СИБИРЬ А.В., РЕШЕТНЯК С.И., ГУБИНСКИЙ В.Й.

Национальная металлургическая академия Украины

МОДЕЛИРОВАНИЕ ТЕПЛООБМЕНА В КАМЕРЕ, ОТАПЛИВАЕМОЙ РЕГЕНЕРАТИВНЫМИ ГОРЕЛКАМИ

Виконано чисельне моделювання розігріву футерованої камери регенеративними пальниками. Спільно вирішувалися задачі турбулентного руху газу, променево-конвективного теплообміну і нестационарної теплопровідності кладки камери. Розглянуто варіанти розташування пальників у нижній частині камери і на бокових поверхнях камери. Показано переваги нижнього розташування регенеративних пальників.

Выполнено численное моделирование разогрева футерованной камеры регенеративными горелками. Совместно решались задачи турбулентного движения газа, лучисто-конвективного теплообмена и нестационарной теплопроводности кладки камеры. Рассмотрены варианты расположения горелок в нижней части камеры и на боковых стенах. Показано преимущество нижнего расположения регенеративных горелок.

The numerical simulation of lined chamber heating by regenerative burners was carried out. The problems of turbulent gaseous flow, radiant-convective heat-transfer and transient heat-conduction of chamber's wall were solved jointly. The variants of burners arrangement in the lower part of the chamber and on its profile planes were studied. The advantage of lower arrangement of regenerative burners was shown.

a – степень черноты;

C_p – теплоемкость при постоянном давлении;

E_p – эмпирическая константа;

G – производство турбулентной кинетической энергии;

I – интенсивность излучения;

k – кинетическая энергия турбулентности;

k_2 – коэффициент поглощения газа;

L – характерный размер входного сечения, м;

n – направление по нормали;

P – давление;

Pr – число Прандтля;

q_p – радиационный тепловой поток;

r – радиус-вектор;

T^+ – нормированная температура;

T_i – интенсивность турбулентности;

U, V – составляющие скорости;

$U^+ = U_p / u_\tau$ – нормированная скорость;

$u_\tau = \sqrt{\tau / \rho}$ – динамическая скорость;

x, y – координаты;

$y^+ = \frac{y_p u_\tau}{\nu}$ – нормированное расстояние;

y_p – расстояние от стенки по нормали;