

MİKROFLUIDİZASYON: LİPOZOMLAR, MİKROEMÜLSİYONLAR ve DİSPERSİYONLARIN ELDESİNDE YENİ BİR YÖNTEM

Manijeh Farivar (*)

A.Yekta Özer (*)

ÖZET

Yeni bir teknik olan mikrofluidizasyon tekniği son beş yıldan bu yana geliştirilmiş yüksek basınçlı homojenizasyon tekniği olup mikrokanallar içindeki çok yüksek hızda iki sıvının dinamik etkileşmesi prensibine dayanır.

Mikrofluidizasyon tekniği eczacılık alanında: İnce emülsiyonların, dispersiyonların ve lipozomların hazırlanmasında kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalar 1 mm'den küçük boyutta büyüklük dağılımı veren, viskoz sıvılarla çalışmaya ve büyük ölçekte üretime olanak veren tekrarlanabilir, güvenilir bir yöntem olduğunu göstermiştir.

MICROFLUIDIZATION: A NOVEL TECHNIQUE for PREPARATION of LIPOSOMES, MICROEMULSIONS and DISPERSIONS

SUMMARY

Microfluidization is a new technique improved in recent five years. The main principle of this high pressure homogenization technique is dynamic interaction of two liquids having very high speed in microchannels.

Microfluidization technique has been used for the preparation of liposomes, fine emulsions and dispersions in pharmacy. The studies showed that this technique facilitates working with viscous liquids with a size lower than 1 μ m and narrow size distribution and large scale-up production. Additionally, it gave reliable and reproducible results.

Key Words: *Microfluidization, High-pressure homogenization, Liposomes, microemulsions scale-up production.*

(*) Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06100, Sıhhiye-Ankara

Mikrofluidizasyon tekniği, yeni bir teknik olup son 5 yıldan bu yana geliştirilmiş yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemidir ve mikrokanallar içinde bulunan çok yüksek hızdaki iki sıvının dinamik etkileşmesi esasına dayanır (Şekil: 1,2)(1,2).

Mikrofluidizasyonda geçerli olan mekanizmalar:

Laminar akış (shear), türbülans (inertial force) ve kavitasyon (vapor bubble implosion) dur. Düşük deformasyon değışme oranlarında, her bir agregat tek bir küre şeklinde hareket eder. Damlacıklar Vander Waals-London çekme kuvvetleriyle agregatlar arasında tutulurlar. Yüksek kayma gerilimi damlacıkların daha iyi parçalanmasına neden olur. Bu da iki fazın hız farkı büyük olunca görülür. Büyük yoğunluk farkı iki sıvı arasında hız farkına yolaçar. Yüzlerarası gerilim azaldıkça, spesifik yüzey artar. Yani yeni arayüzeyler ouşturmak için, iş azalır.

Diğer taraftan, az yoğun olan bir sıvı, çok yoğun olan bir sıvıyla bir araya gelince ara fazda "KICKING" adı verilen salınım hareketleri başlar. Sık sık parmak şekilli ince uzantılar bir fazdan çıkıp diğer faza difüze olur. Diğer fazın içlerine kadar giren damlacıklar stabilize olarak emülsiyon damlacıkları oluşturur. Bu durum "Yüzeylerarası Türbülans" adını alır. Kavitasyon (oyukluk) ise oyukların oluşumu ve hızla kollapsıdır. Bu bir hidrolik olaydır. Basınç sıvının herhangi bir yerinde negatif olunca, sıvı o noktada parçalanır, buharla dolu boşluklar verir. Bu boşlukların kollapsı mikroboutta, kuvvetli şok dalgaları oluşturur. Bir başka değışle sıvı içinde oluşan büyük hava kabarcığı (OYUKLUK) yavaş yavaş küçülmeye başlar. Bu hava kabarcığının yakınındaki sıvı, bu kabarcığın merkezine doğru hızlanır.

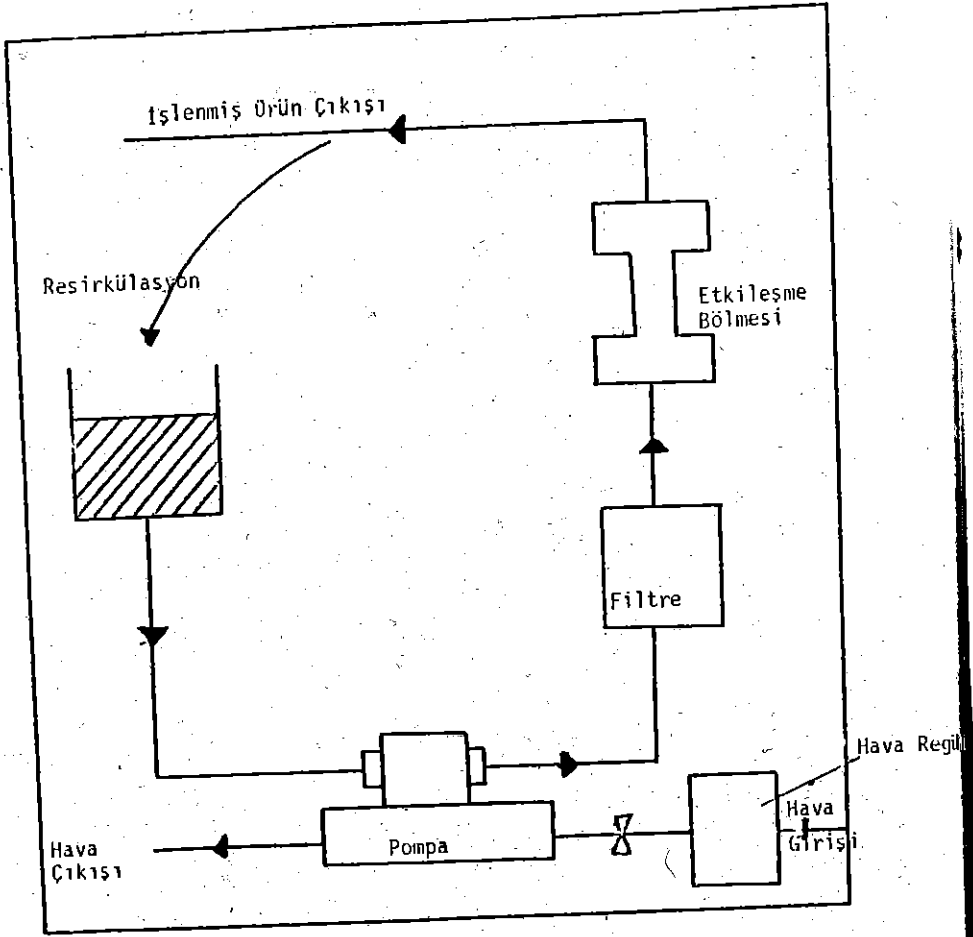
Küçülen hava kabarcığından artan yeri doldurmak için alt sıvı jeti küçük damlacıklara ayırır. Böylece sıvı jeti oluşumu sağlanır. Ekipmanla ilgili esas değışen parametreler ise: işlem sırasındaki basınç (Δp), etkileşme bölgesinin tasarımı ve resirkulasyon sıklığıdır(1).

Bu teknolojiye, işlemin gerçekleştiği bölmede 10.000 psi'ye varan basınçla yaratılan ultra hızdaki (1700 ft/sn) jet etkisinden yararlanır (1,3). İnce sıvı tabakalarının çarpışması oluşan jet boyunca gerçekleşir ve sisteme sağlanan enerjinin ürün oluşma alanı içinde kalacak şekilde olmasına dikkat edilir. Bu amaçla boyutları küçük, çok üniform ve tekrarlanabilir sonuç veren ve ticari üretimin de yapılabileceği aygıtlar tasarlanmıştır. Bu prensipleri birleştiren alet olarak Mikrofluidizer™ geliştirilmiştir.

Mikrofluidizasyon Sisteminin Farmasötik Uygulamaları

Microfluidizasyonla çeşitli farmasötik preparatları homojen ve küçük boyutta hazırlamak mümkündür:

1) İnce (Fine) Emülsiyonlar ve Dispersiyonların Hazırlanmasında:

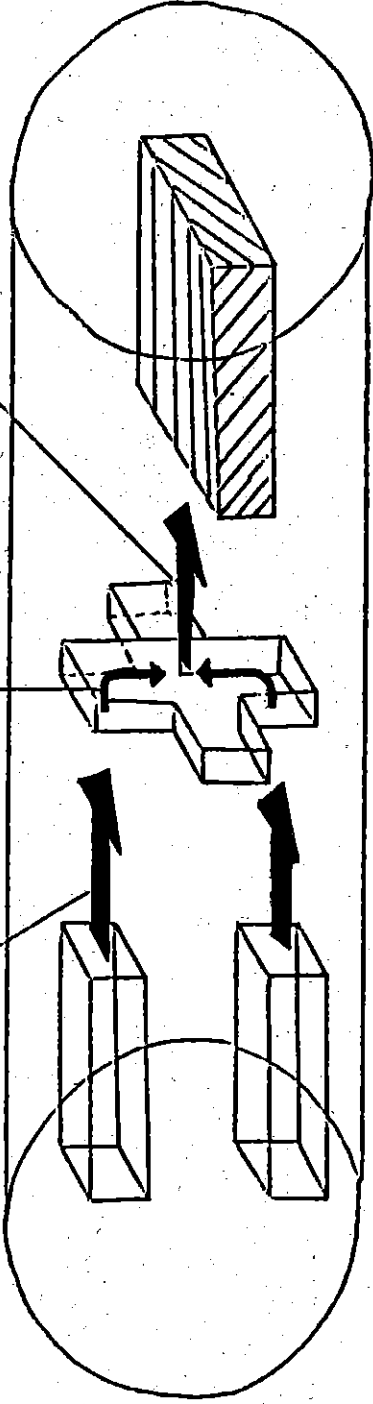


Şekil 1: Mikrofluidizer Sistemi

ETKİLEŞME İŞLEMİNDE AKIŞ

ÖNİŞLEM AKIŞ YARIĞI

İŞLENMİŞ ÜRÜN AKIŞI



Şekil 2: Mikrofluidizer M-110: Aletin Etkileşme Bölümünün Kesiti ve Akış Diyagramı

Emülsiyon teorisine göre dayanıklı emülsiyonların oluşmasında iki temel teknik geçerlidir(1):

- A) Mümkün olduğunca en küçük damlacık boyutunun elde edilmesi,
- B) Kaolesansı önleyecek emülsifiyanların kullanılması.

Kaba emülsiyonlar 5-10 μm büyüklüğe sahipken, ince emülsiyonların damlacık büyüklüğü 1 μm 'nin altındadır. Stokes kanununa göre, sistemde çökme hızı damlacık büyüklüğünün karesiyle orantılıdır. Kısacası sonuçları değerlendirilmede emülsiyon/dispersiyon stabilitesi, damlacık boyutu/dalışımı ve ürünün performansı en önemli parametrelerdir(1).

Yapılan çalışmalarda çeşitli emülsiyonlar ve dispersiyonlar denenmiştir. Polimerizasyon için hazırlanan emülsiyonda partikül büyüklüğü baştaki büyüklüğün % 30 μm 'den çok azaltılmış ve polimerizasyon % 100 gerçekleşmiştir. Silikon emülsiyonunda ise 0,12 μm damlacık büyüklüğüne sahip homojen bir sistem elde etmek mümkün olmuştur. Hidrokarbon emülsiyon hazırlamada pervane tipi karıştırıcı kullanılması halinde faz ayrımı gözlenirken, Microfluidizer ile hazırlanan emülsiyonun berrak ve stabil olduğu saptanmıştır. Mineral yağ emülsiyonu hazırlamada homojenizatör kullanıldığında 1 saat içinde faz ayrımı gözlenmiş ve büyüklüğü 2 μm olan yağ globülleri gözlenmiştir. Oysa bu yeni teknik ile hazırlanan aynı emülsiyonun stabil ve 0,47 μm damlacık büyüklüğüne sahip olduğu bulunmuştur.

Aynı alet silika süspansiyonunun da hazırlanmasında denenmiş ve aggregatsız, partikülleri 0.02 μm büyüklükte olan transparan bir süspansiyon elde edilmiştir. Halbuki aynı süspansiyonun pervaneye karıştırma sonrası eldesinde homojen olmayan 0,4 μm boyutlu bir dispersiyon oluştuğu gözlenmiştir.

2) Lipozomların Hazırlanmasında:

Lipozomların belirli büyüklükte hazırlanması için çeşitli lab-ölçekli teknikler geliştirilmiştir (4,5).

Ancak bunların çoğu, çok miktarda üretim için uygun değildir. Lipozom dispersiyonlarının dar bir partikül büyüklüğü dağılımında ve endüstriyel ölçekte üretimini sağlayacak, güvenilir bir tekniğe gereksinim vardır. Bu amaçla yüksek basınçlı homojenizatör olan Mikrofluidizer değişik çalışmalarda denenmiştir. Talsma ve ark (6)nın doymuş ve doymamış fosfatidil kolin içeren lipozomları mikrofluidizasyon, sonikasyon ve basınçla süzme (EXTRUSION) teknikleri ile elde ettikleri çalışmalarında, 40 μm fosfolipit/ml lipozom dispersiyonlarında sonikasyon ve yüksek basınç homojenizasyonunun aynı ortalama partikül büyüklüğünü verdiğini bulmuşlardır ve lipozomların hazırlanmasında etkili bir teknik olduğunu rapor etmişlerdir.

Basıncılı süzme (Extrusion) ise daha büyük partikül vermiştir. Mikrofluidizer ile 0,05-0,25 µm aralığında ortalama partikül büyüklüğü ve dar bir büyüklük dağılımı 200 µm fosfolipid/ml dispersiyon konsantrasyonuna kadar elde edilmiştir. Ancak miktarı 50 ml'yi aşan serilerde belirgin bir lipit kaybı ve dispersiyon içinde ufak metal partikülleri görülmüştür.

Yapılan bir başka çalışmada (2) yumurta fosfatidilkolini içeren lipozomlar akış hızı 90 ml/dk, bölme işlem basıncı 8000 psi, hava girişi 80 psi olan 10 ml'lik lipozom dispersiyonlarını Mikrofluidizasyon tekniği ile elde etmişlerdir.

Alette lipozom dispersiyonunun ortalama partikül büyüklüğüne resirkülasyon sayısının etkisi araştırılmıştır ve sonikasyon yöntemiyle sonuçlar karşılaştırılmıştır. Diğer metotlara göre Mikrofluidizer ile elde edilen lipozomlar 40 nm büyüklükte, homojen dağılım gösteren ve tekrarlanabilir sonuçlar vermişlerdir. Etken madde kapasitesi ise %75 bulunmuştur. Ayrıca 20 gal/dk ölçekte pilot çalışma yapmak mümkün olmuştur(2).

Aynı araştırmacılar bir başka çalışmalarında etken madde olarak hidrofilik karakterdeki Cytosine Arabinoside lipozomlarını 0,1 µm'den küçük hazırlayabilmişler ve etken madde kaybının 48 saat'lik sürede 4 °C'de % 1'den az, 37 °C ve serumda % 10'dan az olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bu teknolojinin yüksek lipit konsantrasyonu ile (300 µm/ml) çalışmaya olana verdiğine işaret etmişlerdir(7).

Koenzim Q içeren lesitin lipozomlarının hazırlandığı bir çalışmada ise Mikrofluidizasyon tekniğinin çok miktarda üretim için iyi sonuç verdiği ancak yük içermeyen lipozomlarda partikül büyüklüğü dağılımının saklamanın ilk haftalarında arttığı daha sonraki 2 ay içinde önemli bir değişikliğe uğramadığı (110 nm) bulunmuştur(8).

SONUÇ

Mikrofluidizasyon, araştırmalarda ve ticari ölçekli üretimlerde güvenilir ve tekrarlanabilir miktarda lipozom, mikro ve ince emülsiyon ve süspanسیونların eldesinde kullanılacak uygun bir metot olarak gözlenmiştir. 1 µm'den küçük boyutta, dar bir büyüklük dağılımı sağlanması ve viskoz sıvılarla çalışmanın mümkün olması, çok miktarda örnekle çalışmaya olanak vermesi gibi üstünlükleri vardır.

KAYNAKLAR

1. Korstvedt, H., Nikolopoulos, G., Chandonnet, S., Siciliano, A.A., (1985): Mikrofluidization: for Making Fine Emulsions and Dispersions, Am. Paint and Coat. J., (1/28), 38-40.

2. Mayhew, E., Nikolopoulos, G.T., King, J.J., Siciliano, A.A., (1985): A. Practical Method for the Large-Scale Manufacture of Liposomes, *Pharm. Manuf.*, 2, 18-22.
3. Siciliano, A.A., (1985)% Topical Liposomes-An Update and Review of Uses and Production Methods, *Cosmet and Toilet* 100, 43-46.
4. Crommelin, D.J.A., Storm, G., (1988): *Comprehensive Medicinal Chemistry*, Cilt: 5, (Ed: J.B. Taylor), Pergamon Press Ltd., Oxford.
5. Szoka, F., Papahadjopoulos, D., (1980): Comparative Properties and Methods of Preparation of Lipid Vesicles (Liposomes), *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 9, 467-508.
6. Talsma, H., Özer, A.Y., Bloois, L.V., Crommelin, D.J.A., (1989): A size Reduction of Liposomes with a High Pressure Homogenizer (Mikrofluidizer TM). Characterization of Prepared Dispersions and Comparison with Conventional Methods, *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 15, 197-207.
7. Mayhew, E., Lazo, R., Vail, W.J., King, J., Green, A.M., (1984): Characterization of Liposomes Prepared Using a Microemulsifier, *Biochim. Biophys. Acta*, 775, 169-174.
8. Thoma, K., Schmid, A., 30-31. june. (1989) Paris: Influence of Composition and Manufacturing Technique on Size and Homogeneity of Small Unilamellar Liposomes, 5th Int. Conf. Pharm. Techn. p: 15-23.

DÜZELTMELER

Pharmacia-JTPA'nın 29:63 (1.2.3) 1989 sayısında yayınlanan "Inhibitor faktör" ve "Epitel Kökenli Gevşetici Faktör" isimli makalelerde basım ve redaksiyona bağlı bir takım hatalar bulunması nedeniyle düzeltilmiş metinlerin yazarların isteği doğrultusunda, tekrar basılması uygun görülmüştür.

TEB 25. Dönem Bilim Komisyonu