

## ЦУСНЫ УЛААН ЭСЭД СУУРИЛСАН ЭМ ЗӨӨВӨРЛӨХ БҮРДЛЭЭР ЦУСНЫ ИЙЛДСЭНДЭХ АМОКСИЦИЛЛИНИЙ ТУНГ ТОГТВОРТОЙ БАРИХ НЬ

Ц.Алтансүх<sup>1</sup>, Б.Цэрэндолгор<sup>2</sup>

1-Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургууль

2-Эмзүйн Шинжлэх Ухааны Их Сургууль

Утас: 88781357

e-mail: [altansukh.ts@mnums.edu.mn](mailto:altansukh.ts@mnums.edu.mn)

## STABILIZATION OF AMOXICILLIN SERUM CONCENTRATION BY DEVELOPING RED BLOOD CELL-BASED DRUG DELIVERY SYSTEM

Altansukh Ts<sup>1</sup>, Tserendolgor B<sup>2</sup>

1-Mongolian National University of Medical Sciences

2-Mongolian University of Pharmaceutical Sciences

e-mail: [altansukh.ts@mnums.edu.mn](mailto:altansukh.ts@mnums.edu.mn)

### Abstract

**Introduction:** Many studies have been intensively conducted in the field of pharmaceutical engineering to improve the drug efficiency by developing effective drug delivery systems. In recent years, it has been reported that the concentration of amoxicillin in blood and stomach after administration is not stable thereby decreasing its therapeutic efficacy. In the current, we aimed to develop a red blood cell-based drug delivery system to maintain the amoxicillin serum concentration.

**Method:** Erythrocyte swelling technology was used to prepare amoxicillin-loaded red blood cells. After that, the shape, drug content, entrapment efficiency, hemolysis, drug release rate and antibacterial effect were thoroughly investigated.

**Results:** Developed drug delivery system was round in shape. The drug content and entrapment efficiency were 33% and 62%, respectively. The drug release rate was evaluated around 2.03%. Furthermore, the amoxicillin-loaded red blood cells were an effective agent against E.coli while it wasn't effective against S.aureus.

**Conclusion:** The results indicated that the red blood cell-based technology could stabilize the amoxicillin serum concentration.

**Keywords:** Drug delivery system, red blood cell, antibiotic

### Үндэслэл

Сүүлийн жилүүдэд нанотехнологийн ололт амжилтуудыг анагаах ухааны салбарт ихээр судлах болсон. Үүний үр дүнд эмчилгээний үр нөлөө өндөртэй эмийн

бодис гарган авах, өндөр мэдрэг оношлуур гарган авах, бие махбодид хор нөлөөгүй биологийн идэвхт бодисуудаар эрхтэн орлуулах нийлэг бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэх зэргээр нанотехнологийн ололт амжилтуудыг

ашигласаар байна. Эмийн инженерчлэлийн салбарт ч нанотехнологийн ололт амжилтыг ашиглаж эмийн бодисын үйлчилгээг нэмэгдүүлэх, тухайлсан бай эрхтэн, эд, эсэд үйлчлэх шинж чанартай эмийн бодис гарган авах, эмийн бодистой холбоотой үүсч буй гаж нөлөөг бууруулах чиглэлээр өргөн судалгааны ажлуудыг хийсээр байна.<sup>1-3</sup>

Эм зөөвөрлөх бүрдэл нь эмийн задрал, шимэгдэлт, тархалтгэхмэт фармакокинетикийн хэд хэдэн үзүүлэлтийг өөрчлөх, сайжруулах нөлөө үзүүлдэг. Иймэрхүү байдлаар амьд эс, полимер, липосом, уураг, органик бус бодисуудыг эмийн зөөвөрлөгч бүрдэл болгон өргөнөөр ашигласаар байгаа юм.<sup>4</sup>

Цусны улаан эсийг эмийн зөөвөрлөх бүрдэл болгон түгээмэл ашигладаг. Улаан эс нь 100-120 хоног амьдрах чадвартай учраас эмийн биед эргэлдэх хугацааг нэмэгдүүлэх чадвартай.<sup>4</sup>

Сүүлийн жилүүдэд хийгдсэн судалгаагаар цусны улаан эсийг эм зөөвөрлөгч бүрдэл болгон ашиглаж бактерийн эсрэг антибиотикүүд, азидотимидин зэрэг вирүсийн эсрэг эм, дексаметазон зэрэг үрэвслийн эсрэг үйлдэлтэй бэлдмэлүүд, хавдрын эсрэг эмүүдийн эмчилгээний идэвхийг сайжруулах зорилгоор судалгаа эрчимтэй хийгдэж байна.

Амоксициллин нь хагас нийлэг, бактерийг үхүүлэх үйлдэлтэй бэлдмэл бөгөөд бактерийн эсийн ханын нийлэгжилтийг дарангуйлах замаар үйлчилдэг. Амоксициллиныг чих, хамар, хоолойн хүнд хэлбэрийн халдварууд, архаг бронхит, хатгаа, хурц хэлбэрийн цистит, хурц пиелонефрит, бактерийн менингит, ходоодны үрэвсэл зэрэг халдварын үед гол антибиотик болгон хэрэглэдэг. Сүүлийн үеийн судалгаагаар ходоод болон цусны ийлдсэнд амоксициллин тогтвортой байх хугацаа богино байдаг болохыг тогтоогоод байна. Үүнд үндэслэн амоксициллин агуулсан микрокапсул, нано-зөөгч молекулуудын

судалгааг эрчимтэй хийж байна.<sup>5</sup>

Энэхүү судалгаагаар бид цусны улаан эсийн бие махбодид удаан хугацаагаар амьдрах чадварыг нь ашиглан цусны ийлдсэнд амоксициллин байх хугацааг уртасгах, улмаар уг антибиотикийн үйлчилгээг нэмэгдүүлэх боломжийг хайлаа.

### Судалгааны ажлын зорилго

Цусны улаан эсийн тусламжтайгаар амоксициллин цусны ийлдсэнд тогтвортой байх хугацааг уртасгах боломжийг судлах.

### Судалгааны ажлын зорилт

1. Амоксициллин-агуулсан цусны улаан эс бэлтгэх, түүний хэлбэр, эм ачаалсны дараах задралыг үнэлэх
2. Амоксициллин-агуулсан цусны улаан эсээс гемоглобин болон эм чөлөөлөгдөх хурдыг тодорхойлох
3. Амоксициллин-агуулсан улаан эсийн бактерийн эсрэг идэвхийг үнэлэх

### Арга, аргачлал

#### Судалгааны хэрэглэгдэхүүн

*Урвалж:* Амоксициллин, натрийн хлорид, калийн хлорид, гимзийн будаг, мюллер хинтоны тэжээлт орчин, антибиотикийн диск

*Биологийн хэрэглэгдэхүүн:* Хулганы цус, *S.aureus*, *E.coli* бактерийн өсгөвөр

#### Цусны улаан эс бэлтгэх аргагүй

Цусны дээжийг эрүүл C57BL6 үүлдрийн хулганаас гепаринжуулсан хуруу шилэнд авлаа. Цусны улаан эсийг ялгахын тулд Мухамед нарынаргагүйндагуутодорхойллоо.<sup>6</sup> Эхлээд цусны ийлдэс болон эсүүдийг 1600 эргэлттэйгээр 15 минут центрифугдэн ялгав. Тунасан эсүүдийн доод хэсгээс цусны улаан эсийг соруулж авав. Эцэст нь цусны улаан эсийг хүйтэн фосфатын буферээр 3 удаа угааж, центрифугдсэний дараа шингэн хэсгийг асгаж, цусны улаан эсийг бэлтгэлээ.

**Цусны улаан эсэд эм ачаалах аргачлал**

Цусны улаан эсэд амоксициллинийг ачааллаж өгөхдөө эсийг хөөлгөх буюу hypotonic preswelling аргыг ашиглалаа. Эхлээд эритроцит болон натрийн хлоридын 0.6% уусмалыг 1:4 харьцаатайгаар хольж 0°C-д 5 минут байлгав. Ингээд холимогийг центрифугдэнэ. Дараа нь амоксициллиний тунг 1-10 мг/мл тунгаар бодож цусны ийлдсэнд уусган улаан эсийн холимогруу 1:1 харьцаатай байхаар нэмж 0°C-д 10 минут байлгав. Эцэст нь хөөлгөсөн улаан эсийг агшаах зорилгоор 1.5М калийн хлорид (KCl)-ын уусмалыг 0.06:1 харьцаагаар нэмж 37°C-д 30 минут байлгана.

Эм ачаалсан улаан эсийг туршилт явуулах хүртэл 4°C-д хадгалав.

**Эмийн агууламж болон эм ачаалах чадамжийг үнэлэх**

Цусны улаан эс дэх амоксициллиний агууламж болон эм ачаалах чадамжийг дараах томъёогоор бодов.

$$\text{Эмийн агууламж} = \frac{\text{Цусны улаан эс дэх эмийн хэмжээ}}{\text{Цусны улаан эсийн хэмжээ}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Эм ачаалах чадамж} = \frac{\text{Цусны улаан эс дэх эмийн хэмжээ}}{\text{Эмийн эхний нийт хэмжээ}} \times 100\% \quad (2)$$

**Эм ачаалсан улаан эсийн задралыг үнэлэх аргачлал**

Амоксициллин ачаалсан цусны улаан эсийн задралыг гемоглобины ялгаралтаар үнэлэв. Гемоглобины агууламжийг UV-Vis спектрофотометрээр 540 нм долгионы уртад тодорхойлов.

**Осмос тэсвэржилтийг үнэлэх аргачлал**

Осмос тэсвэржилтийг гемоглобины агууламжаар (540 нм UV-Vis спектрофотометр) үнэлэв.

**Амоксициллиний чөлөөлөгдөлтийг үнэлэх аргачлал**

0 болон 30 секунд, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 цагуудад цусны улаан эсээс чөлөөлөгдөж буй амоксициллиний хэмжээгээр үнэлэв.

**Бактерийн эсрэг идэвхийг үнэлэх аргачлал**

Амоксициллин-ачаалсан цусны улаан эсийн бактерийн эсрэг идэвхийг S.aureus болон E.coli бактерийн цэвэр өсгөвөрүүдийг ашиглан дискийн аргаар тодорхойлов.

**Статистик боловсруулалт**

Бүх үзүүлэлтийг графпад призм 5-ийг ашиглан дундаж±стандарт хазайлт тодорхойлж, дунджийн ялгааг тодорхойлохдоо стьюдентийн t тестийг үнэллээ. p утга 0.05-аас (p < 0.05) бага тохиолдолд статистикийн ач холбогдолтой гэж тодорхойлов.

**Үр дүн**

**Амоксициллин-ачаалсан цусны улаан эсийн хэлбэр**

Эм ачаалсан цусны улаан эсийг гэрлийн микроскопоор ажиглахад хэмжээний хувьд харилцан адилгүй, харин хэлбэрийн хувьд дугуй бөөрөнхий харагдаж байна.

Эмийн агууламж болон эм ачаалах чадамж

Амоксициллинийг улаан эсэд ачааллах тохиромжтой тунг тодорхойлохын тулд 1-10 мг/мл тунгаар ачааллаж эмийн агууламж болон эм ачаалах чадамжийг тус тусад нь үнэлэж, үр дүнг харьцууллаа (Хүснэгт 1).

Table 1.

## Drug content and drug entrapment efficiency

Dosage mg/mL	Absorbance (239 нм)	$C_{am}$	Drug concentration in RBC, mg	Drug content, %	Entrapment efficiency %
1	1.507	3.19	0.64	31.91	63.83
2	1.337	2.95	0.59	29.51	29.51
3	0.467	1.72	0.34	17.21	11.48
4	0.963	2.42	0.48	24.23	12.12
5	0.659	1.99	0.40	19.98	7.97
6	0.678	2.02	0.40	20.20	6.73
7	0.679	2.02	0.40	20.21	5.77
8	0.705	2.05	0.41	20.59	5.15
9	0.584	1.89	0.38	18.87	4.19
10	0.675	2.02	0.40	20.16	4.03

Эмийн агууламжийн хувьд 1 мг/мл-ээр цусны улаан эсэд ачааллахад эм хамгийн өндөр агууламжтай буюу эмийн агууламж 33%-тай тодорхойлогдлоо.

Харин 2-10 мк/мл тунгаар эм ачааллахад эмийн агууламж 17-28% хүртэл тодорхойлогдлоо. Амоксициллин ачаалсан улаан эсийн эм ачааллах чадамжийг үнэлэхэд эм ачааллах чадамж 1 мг/мл тунгаар ачааллах үед хамгийн өндөр буюу 62% тодорхойлогджээ.

Харин эмийг 2-10 мг/мл тунгаар ачааллахад эм ачааллах чадамж 5-27% хүртэл тодорхойлогдсон нь амоксициллинийг улаан эсэд өндөр тунгаар ачааллахад тохиромжгүй болохыг харуулж байна.

*Эм-ачаалсан цусны улаан эсийн задралыг үнэлсэн дүн*

Бид амоксициллинийг улаан эсэд ачааллах тохиромжтой тунг тодорхойлохын тулд 1-10 мг/мл тунгаар ачаалсан. Уг ачаалсан тун тус бүрт цусны улаан эсийн задралыг тодорхойллов.

Амоксициллин ачаалсаны дараах улаан эсийн задралыг үнэлэхэд 1 мг/мл тунгаар ачааллахад гемоглобины агууламж хамгийн бага, харин 2-10 мг/мл тунгуудад гемоглобины агууламж харилцан адилгүй боловч өндөр байгаа нь тогтоогдлоо.

*Амоксициллин-ачаалсан цусны улаан эсийн осмос тэсвэржилт*

Үр дүнгээс харахад натрийн хлоридын тунг

**Судалгаа, шинжилгээ**

нэмэгдүүлэх тусам цусны улаан эсийн задрал нэмэгдэж байгаа нь ажиглагдаж байна. Энэ нь амоксициллин ачаалсан эс нь гипертоник уусмалд амархан задардаг буюу осмос тэсвэржилт муу болохыг харуулж байгаа юм.

**Амоксициллин-ачаалсан цусны улаан эсээс эм чөлөөлөгдөлтийг үнэлэх**

Эмийн чөлөөлөгдөлтийг ажиглахад амоксициллин агуулсан улаан эсээс эм чөлөөлөгдөлт аажим буюу 24 цагийн дараах байдлаар амоксициллин чөлөөлөгдөлт

2.03% тодорхойлогдов.

**Бактерийн эсрэг идэвхийг тодорхойлсон**

Амоксициллин-агуулсан цусны улаан эсийн бактерийн эсрэг идэвхийг *S.aureus* болон *E.coli* бактериудад дискийн нэвчүүлэх аргаар үнэллээ. Судалгааны үр дүнд амоксициллин-агуулсан цусны улаан эс нь *E.coli*-ийн эсрэг идэвхтэй болох нь тодорхойлогдлоо. Харин *S.aureus*-ийн эсрэг идэвх ажиглагдсангүй (Хүснэгт 2).

**Table 2.**

**Antibacterial property of Amoxicillin-loaded RBC**

	Drug dose	<i>S.aureus</i>	<i>E-Coli</i>
Amoxicillin	25 µg	12 mm	35 mm
	1 mg	0 mm	32 mm
Drug-loaded RBC	0.5 mg	0 mm	20 mm
	0.1 mg	0 mm	0 mm

**Хэлцэмж**

Бид энэхүү судалгаагаар амоксициллин ачаалсан-цусны улаан эсийг бэлтгэн, түүний шинж чанаруудыг тодорхойллоо.

Эм зөөвөрлөгч бүрдэл нь эмээ өгөгдсөн нөхцөлд нэгж хугацаанд нэгж эзлэхүүнээр чөлөөлөхөөр зохион бүтээгддэг. Цусны улаан эс нь ийлдсэнд 100-120 хоног амьдрах чадвартай, энэхүү чадварт тулгуурлаад орчин үед эмийн инженерчлэлийн салбарт эм зөөгч бүрдэл гарган авах судалгаануудыг өргөн хүрээтэй хийх болжээ.<sup>3</sup>

Судалгаагаар цусны улаан эсийг эмийн бүрдэл болгон ашиглахад эмийн чөлөөлөгдөлт удаан, харьцангуй тогтвортой байдгийг дурьджээ. Энэ нь зарим эмийн бодисуудын хувьд тохиромжтой эм зөөвөрлөгч бүрдэл болж болохыг харуулж байгаа юм.

Амоксициллин-ачаалсан цусны улаан эсдэх эмийн агууламжийг үнэлэхэд ачаалсан тун бүрт харилцан адилгүй үр дүн буюу тун ахих тусам эмийн агууламж буурч буй зүй тогтол ажиглагдаж байв. Бид энэхүү зүй тогтолыг амоксициллин тун ихсэх нь цусны улаан эсийн задралд хүргэж байна хэмээн үзэж байна.

Судалгаанаас харахад амоксициллин удаан хугацаагаар судсаар тарьж хэрэглэхэд хүндэвтэр хэлбэрийн цус хайлах хам шинж илэрч байсныг тэмдэглэжээ.<sup>7</sup>

**Дүгнэлт**

1. Амоксициллин-агуулсан цусны улаан эс нь бөөрөнхий хэлбэртэй, эмийн агууламж 33%, эм ачааллах чадамж нь 62%, осмос тэсвэржилт сул, турбулент тэсвэржилт сайн байна.

2. Амоксициллин-агуулсан улаан эсээс эм чөлөөлөгдөх нь удаан буюу 24 цагийн дараах байдлаар нийт амоксициллиний 2.03% нь чөлөөлөгджээ. Энэ нь амоксициллиний тунг ийлдсэнд урт хугацаанд, тогтвортой барих боломжтой болохыг харуулж байна.
3. Амоксициллин агуулсан улаан эс нь E.coli-ийн эсрэг идэвхтэй болох нь тодорхойлогдлоо. Харин S.aureus-ийн эсрэг идэвх ажиглагдсангүй.
4. Ashok Kumar, Mansi Verma, K.K.Jha. Re-sealed erythrocytes as a Carrier for drug Targeting: A Review. 7725. 2012;1(2):08-16.
5. Fontana G, Licciardi M, Mansueto S, Schil-laci D, Giammona G. Amoxicillin-loaded polyethylcyanoacrylate nanoparticles: influence of PEG coating on the particle size, drug release rate and phagocytic up-take. Biomaterials. 2001;22 (21):2857-65.
6. Muhammad I, Hafiz Sh, Mubashir Reh-man, Umar F, Syed A. Study of eryth-rocytes as a novel drug carrier for the delivery of artemether. Braz. J. Pharm. Sci. 2019; 55: 1-7
7. Salama A. Drug-induced immune hemo-lytic anemia. Expert opinion on drug safe-ty. 2009;8(1):73-9.

### Номзүй

1. Pierigè F, Serafini S, Rossi L, Magnani M. Cell-based drug delivery. Advanced drug delivery reviews. 2008;60(2):286-95.
2. Daniel Bobo, Kye J.Robinson, Jiaul Is-lam, Kristofer J. Thurecht, Corrie SR. Nanoparticle-Based Medicines: A Review od FDA-Approved Materials and Clinical Trials to Date. 2016;33:2373-87.
3. Srinu Ravilla, Babu Rao Chandu, Sreekanth Nama, Nagaveni.B. Erythro-cytes as Carrier for Drugs, Enzymes and Peptides. 2012;02(04):166-76.

*Уншин танилцаж, нийтлэх санал өгсөн:  
БУ-ы доктор, дэд профессор А.Баянмөнх*