

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი ფიზიკის
მიმართულება

ნანონაწილაკები და PLGA ნანონაწილაკების თერმოდინამიკური
თვისებები

ნაშრომი შესრულებულია ფიზიკის ბაკალავრის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად
ანა კაკაბაძე

ხელმძღვანელი:

ფიზ.მათ მეცნიერებათა დოქტორი პროფესორი თამაზ მძინარაშვილი

ანოტაცია

ფართოდ გამოკვლეული ბიოდეგრადირებადი ნანონაწილაკები , ფორმულირებული პოლი (D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA) გამოიყენება განსხვავებული აგენტების(რომელშიც შედის დნმ , ცილები პეპტიდები და დაბალმოლეკულური მასის ნაერთები) გამძლე და მიზანმიმართული გადატანისთვის.

ნანონაწილაკების უჯრედული (intracellular) შთანთქმის მექანიზმის კვლევა , მათი კლასიფიცირება და მოძრაობა განსხვავებულ უჯრედულ უბნებში , ნანონაწილაკში კაფსულირებული აგენტის თერაპევტული ეფექტურობის ამაღლების მექანიზმი უჯრედულ დონეზე არის მეტად ახალი და ძირითადი განხილვის ფოკუსში . უახლესმა ლაბორატორიულმა კვლევებმა აჩვენეს PLGA ნანონაწილაკების სწრაფი გამოსვლა ენდო-ლიზოსომური უბნიდან ციტოზოლში მათი შთანთქმის შედეგად. ზემოაღნიშნული მექანიზმის საფუძველზე , ნანონაწილაკების თერაპევტული აგენტების უჯრედებსა და ქსოვილებში მიწოდების მრავალი პოტენციური გამოყენება არის განხილული . გამოკვლეული იქნა PLGA ნანონაწილაკების დამზადებისას გარემოებების გავლენა თერმულ სტაბილურობაზე. ჰერმეტიკული დაშლის ტემპერატურა დამოკიდებულია PLA/PGA ის თანაფარდობაზე . ნანონაწილაკის მაქსიმალური დეკაფსულაციის ტემპერატურა ხდება თანაფარდობისას PLA/PGA 85/15. ჰერმეტიზაციის ნგრევის ტემპერატურა არ არის დამოკიდებული PVA და PLGA ხსნარების შერევის ტემპერატურაზე მომზადების პროცესისას ასევე არც ჰომოგენიზაციის ტემპერატურაზე.

Abstract

Biodegradable nanoparticles formulated from poly (D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA) have been extensively investigated for sustained and targeted / localized delivery of different agents including plasmid DNA, proteins and peptides and low molecular weight compounds. Research about the mechanism of intracellular uptake of nanoparticles, their trafficking and sorting into different intracellular compartments, and the mechanism of enhanced therapeutic efficacy of nanoparticle-encapsulated agent at cellular level is more recent and is the primary focus of the review. Recent studies in laboratory demonstrated rapid escape of PLGA nanoparticles from the endo-lysosomal compartment into cytosol following their uptake. Based on the above mechanism, various potential applications of nanoparticles for delivery of therapeutic agents to the cells and tissue are discussed. The influence of conditions of preparation on the thermal stability of hermetic poly (lactic-coglycolic) acid (PLGA) nanoparticles was investigated using calorimetry. The hermetic destruction temperature depends on the PLA/PGA ratio. The maximum temperature of decapsulation of the nanoparticles occurs at a PLA/PGA ratio of 85/15. The temperature of hermetic destruction does not depend on the PVA and PLGA solutions' mixing temperature during preparation, nor on the homogenization temperature.

სარჩევი:

შესავალი-----	4
თავი I. წამლის გადამტანი ნანონაწილაკები მათი ზომები და სტრუქტურა	
1.1 ნანოგადამტანები-----	5
1.2 ნანოგადამტანის ტიპები-----	7
1.3 ნანოგადამტანების კლასიფიკაცია-----	9
1.4 ნანონაწილაკების ზომის მნიშვნელობა-----	10
თავი II. ბიოდეგრადირებადი PLGA ნანონაწილაკების გამოყენება წამლის და გენების გადასატანად უჯრედებში და ქსოვილებში	
2.1 ნანოტექნოლოგიის მნიშვნელობა მედიკამენტოზურ თერაპიაში-----	11
2.2 ბიოდეგრადირებადი პოლიმერები PLGA და PLA-----	12
2.3 ნანონაწილაკების უჯრედში შეღწევადობა -----	14
2.4 ნანონაწილაკების უჯრედებთან და ქსოვილებთან მიტანის მექანიზმები-----	18
თავი III. კვლევის მეთოდები	
3.1 კვლევის კალორიმეტრიული მეთოდი-----	19
თავი IV. ექსპერიმენტული ნაწილი	
4.1 PLGA ნანონაწილაკების თერმოდინამიკური თვისებები-----	29
4.2 შედეგები და განხილვები-----	30
დასკვნა-----	33
გამოყენებული ლიტერატურის ბიბლიოგრაფიული ნუსხა-----	34

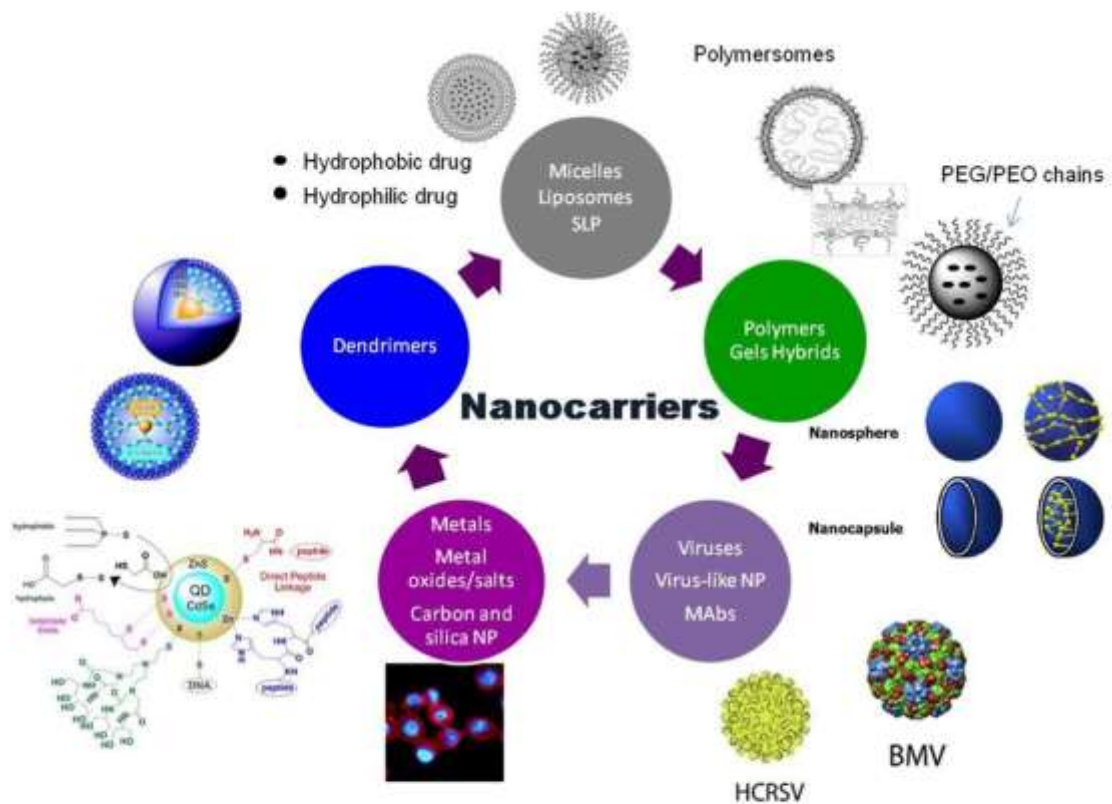
შესავალი

სხვადასხვა დაავადებების მკურნალობის დროს, მიუხედავად იმისა, რომ დაავადების კერები კონკრეტულ ორგანოებზე და ქსოვილებზეა განლაგებული (მაგალითად ციროზის დროს ღვიძლში), წამალი მთელს სხეულში მეტ-ნაკლებად თანაბრად ნაწილდება სისხლძარღვთა ცირკულაციური სისტემის გამო, ამის გამო საჭიროა დოზის გაზრდა, რაც თავის მხრივ გვერდით ეფექტებსა და უკუჩვენებებს იწვევს. მეორეს მხრივ სისხლის იმუნური სისტემის შემადგენელ კომპონენტებს ახასიათებს გარკვეულ ნაერთთა დაშლის თვისება. ამიტომ ზოგიერთი პრეპარატის სისხლში შეყვანა არ არის პერსპექტიული, ვინაიდან პრეპარატი დაიშლება მანამ, სანამ ის მიაღწევს დანიშნულების ადგილს. ამიტომ მკურნალობის ეფექტურად წარმართვისთვის, განსაკუთრებით ისეთი ტოქსიკური წამლების გამოყენებისას, რომლებიც კურნავენ თვით დაავადებას, მაგრამ აზიანებენ სხვა ქსოვილებს, საჭირო გახდა მეცნიერებს შეექმნათ წამლის გადამტანი საშუალებები, რომლებიც დანიშნულების ადგილზე მიიტანდა წამალს საჭირო კონცენტრაციით ისე, რომ არ შეეხოდა სხვა ორგანოებს და დაიცავდა გადასატან ნივთიერებას (წამალს) ფერმენტული ცილების დამანგრეველი მოქმედებისაგან. ცხადია რომ ამგვარი გადამტანები რამდენიმე კრიტერიუმს უნდა აკმაყოფილებდნენ, უნდა იყვნენ მცირე (ნაწილი = 1×10^{-9} მ) ზომის, სატაბილურები, არატოქსიკური და ბიოდეგრადირებადი. გავრცელებულია სხვადასხვა სახის ბიონანოტრანსპორტერები, როგორცაა დენდრიმერები, ლიპოსომები, PLGA . ჩვენ ექსპერიმენტში სწორედ ამ უკანასკნელს - PLGA -ს ვიყენებთ. წამლების მიწოდება სამიზნე ქსოვილებთან/ორგანოებთან წამლის გადამტანი სხვადასხვა ნანოსისტემების საშუალებით, ფართოდ არის გავრცელებული ახლანდელ დროში. ისინი საშუალებას იძლევიან, რომ გავზარდოთ წამლების სელექტიურობა და ეფექტურობა. ასევე, შევამციროთ გვერდითი ეფექტების გამოვლინება და მინიმუმამდე დავიყვანოთ ან სრულად აღმოვფხვრათ წამლებისგან გამოწვეული ტოქსიურობა. წამლის გადამტანი ნანოსისტემების საშუალებით შესაძლებელია თერაპიული აგენტების მიწოდება დაზიანებულ ქსოვილებთან უცვლელი სახით. მათ მიერ გადაიტანება: ანტისიმსივნური პრეპარატები, ანტიჰიპერტენზიული აგენტები, იმუნომოდულატორები, ჰორმონები,

პროტეინები, დნმ, ანტისხეულები და სხვა. წამლების ენკაპსულირებით ზემოაღნიშნულ სუპრამოლეკულურ გადამტანებში, სამიზნე ადგილებში მიწოდებული წამლის კონცენტრაცია იზრდება, ხოლო სხვა ადგილებში, სადაც არაა გათვალისწინებული წამლის მიწოდება, – მცირდება ან საერთოდ არარსებულია.

თავი I. წამლის გადამტანი ნანონაწილაკები მათი ზომები და სტრუქტურები

1.1 ნანოგადამტანები



სურ: 1.1 ნანოგადამტანები

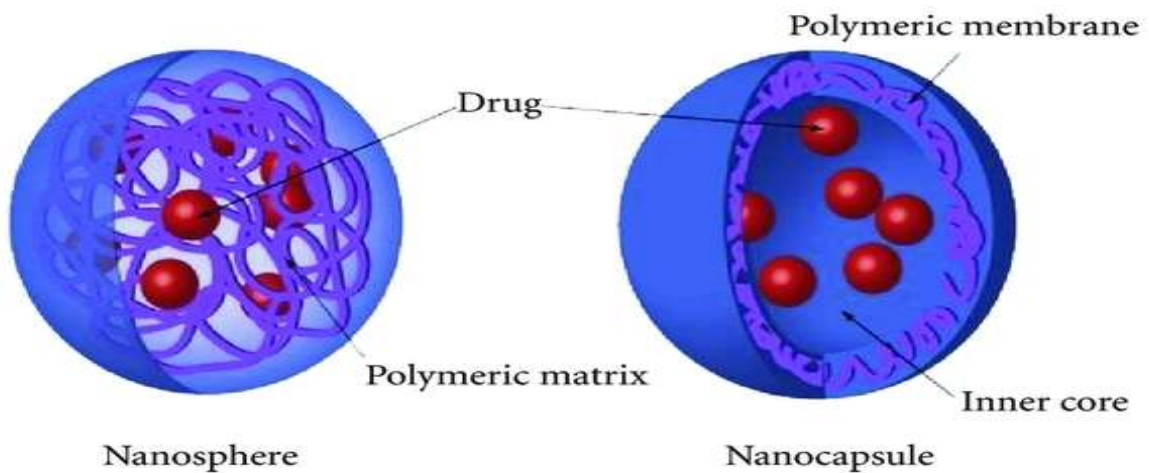
ნანონაწილაკები როგორც წამლის გადამტანი საშუალება პირველად გამოყენებული იქნა სპიესერის მიერ 1960 წელს. ხოლო 1970 წელს, ჯვარედინად დაკავშირებული პოლიკარილამიდური ნანონაწილაკი იქნა წარმოებული.შელფ ეტ ალ-მა განავითარა პროცესი და შექმნა ალბუმინის ნაწილაკი,რომელიც გამოიყენეს ბირთვულ მედიცინაში.ვიდერ ეტ ალ-იმ კი გააერთიანა მაგნიტური ნაწილაკები ნანონაწილაკებში რათა მათი გამოყენება შესაძლებელი ყოფილიყო მაგნიტურ ველში.მოგვიანებით კი აქტიურად დაიწყო მათი გამოყენება მედიცინაში.მიუხედავად დიდი პროგრესისა ანტიმიკრობების განვითარებაში, ბევრი ინფექციური დაავადება, განსაკუთრებით კი უჯრედშიდა ინფექციები, რთულად განკურნებადია. მთავარი მიზეზი არის ის რომ ბევრი მიკრობსაწინააღმდეგო საშუალება რთულად აღწევს უჯრედის მემბრანის შიგნით და აქვს დაბალი მოქმედება ინფექციის გამომწვევ ბაქტერიაზე. ასევე ანტიმიკრობებს აქვთ მომწამვლელი მოქმედება ჯანმრთელ ქსოვილზე. აღნიშნული, მიზეზების გამო საჭირო გახდა შემუშავებულიყო ანტიმიკრობული წამლების გადამტანების ახალი ტექნოლოგია. ამისათვის აქტიურად დაიწყო ნანოტექნოლოგიის გამოყენება მედიცინის მრავალ სფეროში,განსაკუთრებით კი წამლის გადატანაში.ნანოტექნოლოგიის საშუალებით მივიღეთ ნანოგადამტანები,რომლებიც გამოიყენებიან ნივთიერების სატრანსპორტო საშუალებად,მათი ზომაა 1–100ნმ. აქვთ უნიკალური ფიზიკო-ქიმიური შესაძლებლობები: ძალიან მცირე ზომა, ფართო ზედაპირი მასასთან შეფარდებით, მაღალი რეაქტიულობა და უნიკალური შეღწევადობა ბიოლოგიურ სისტემებში. ნანოგადამტანები თავიანთი ოპტიმალური ფიზიკო-ქიმიური და ბიოლოგიური შესაძლებლობებით ბევრად ადვილად აღწევენ უჯრედში ვიდრე სხვა დიდი მოლეკულები, ამიტომ წარმატებით გამოიყენებიან წამლის გადამტან საშუალებებად. ლიპოსომები, მყარი ლიპიდური ნანონაწილაკები, დენდრიმერები, პოლიმერები, სილიკონის ან კარბონის ნაწილაკები, მაგნიტური ნანონაწილაკები არიან მაგალითები ნანოგადამტანებისა, რომლებიც გამოიცდება როგორც წამლის გადამტანი სისტემები. წამლისა და ნანონაწილაკის დაკავშირების გზა მიზნობრივად ძალიან მნიშვნელოვანია. შესაძლებელია წამალი განთავსდეს ან კოვალენტურად მიემაგროს ნანონაწილაკის ზედაპირს, ასევე ხდება წამლის მოთავსება ნანონაწილაკში, ანუ , ენკაფსულირება. წამლის გადატანის აღნიშნული გზები ნიშანდობლივად განსხვავდება ერთმანეთისაგან და თითოეული უკეთესად მოქმედებს ვიდრე თავისუფლი წამლის ნაწილაკები. ამავდროულად, ნანონაწილაკებზე დაფუძნებული წამლის გადამტანთა უპირატესობების განვითარება ხდება, როგორცაა შრატში წამლის ხსნადობა, გახანგრძლივება სიცოცხლის უნარიანობის, უპირატესად წამლის მიწოდება ქსოვილებსა და საყურადღებო უჯრედებში. ამასთანავე, წამლის გადამტანი ნანონაწილაკები მასპინძელ უჯრედში აღწევენ ენდოციტოზით და შემდეგ ხდება წამლის მარაგის გამონთავისუფლება უჯრედშიდა ინფექციის განსაკურნად. ასეთი მექანიზმის შედეგად

ნანოგადამტანთა გამოყენება უფრო და უფრო აქტიურად ხდება კლინიკურ კვლევებში მრავალი დაავადების წინააღმდეგ.

1.2 ნანოგადამტანების ტიპები

ძირითადად არსებობს ნანოგადამტანთა ორი ტიპის ნანონაწილაკები:

1. **ნანოსფეროები** - ისინი დაფარულები არიან მყარი სფერული ნაწილებით, რომლებიც შეიცავენ წამალს ჩადგმულს შიდა მატრიცაში ანდა განლაგებულს (მიერთებულს) სფეროს ზედაპირზე.
2. **ნანოკაფსულები** – ვეზიკულარული სისტემაა, რომელშიც მოთავსებულია წამალი, როგორც ცენტრალური ბირთვი და შემოსაზღვრულია პოლიმერული გარსით.



სურ: 1.2ა ნანოსფერო და ნანოკაფსულა

ნანონაწილაკები კი თავის მხრივ იყოფიან სხვადასხვა ტიპებად:

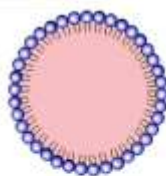
1. **პოლიმერული ნანონაწილაკები**: მყარი კოლოიდური ნაწილაკია, 10 ნმ – 1000 ნმ ზომა. ნანოკაფსულაში წამალი შემოსაზღვრულია უნიკალური პოლიმერული მემბრანით, ხოლო ნანოსფეროში : მატრიცული სისტემა განლაგებულია მის ზედაპირზე.

2. **მყარი ლიპიდური ნანონაწილაკი:** კოლოიდური გადამტანი სისტემა, ზომით: 200 – 600 ნმ. წამლის ფხვნილი ემატება ზედაპირულ აქტიური ნივთიერება მაღალი წნევის ქვეშ ჰომოგენიზირებული და თავსდება ნანონაწილაკში.
3. **პოლიმერული მიცელები:** მიცელური სისტემა არის სისტემური მიმწოდებელი წყალში უხსნადი წამლებისთვის. მცირე ზომის <100 ნმ არის მისი დიამეტრი, მას მცირე ზომა ხელს უწყობს შესანიშნავად აკუმულირდეს კიბოს უჯრედებში.
4. **კერამიკული ნანონაწილაკები:** ზომით < 50 ნმ კერამიკული ნაწილაკები დაკავშირებული ბიომოლეკულებთან.
5. **ლიპოსომები:** მცირე ხელოვნური სფეროს ფორმის ვეზიკულები. შედგებიან ბუნებრივი არატოქსიკური ფოსფოლიპიდებისა და ქოლესტეროლისგან.
6. **დენდრიმერები:** დენდრიმერები დატოტვილი მოკლეკულები არიან ღრმულებით.
7. **მაგნიტური ნანონაწილაკები:** ისინი ძალიან მრავალმხრივი დიაგნოსტიკური საშუალებები არიან მედიცინაში. როგორც წამლის გადამტანები საშუალო მაგნიტური იმუნოანალიზატორები: მაგნიტური ველი გამოიმუშავდება მაგნიტური ნიშნით დაფიქსირებულ სამიზნეზე მგრძნობიარე მაგნეტომეტრით.
8. **რკინის ოქსიდი :** დაფარულია პოლიმერით, როგორცაა დექსიტრანი, კომერციული პროდუქტებია: ლუმირენი (სილიკონით დაფარული რკინის ოქსიდი) დიამეტრით : 300 ნმ. და ენდორემი (დექსიტრანით დაფარული მაგნეტიტი) დიამეტრი : 150 ნმ.
9. **ნანოჩარჩოები დაფარული ოქროთი:** დაიმზირება ოპტიკურ საქმიანობაში. კომბინირებულნი არიან ოქროს კოლოიდური შემადგენლობის შესაძლებლობებთან: დიელექტრიკული გული (ოქროს სულფიდი ან კვარცი) მეტალის ჩარჩოში (ოქრო). მისი დიამეტრის ზომა არის < 75 ნმ.
10. **ნანომაკროტულები და კარბონის ნანოტუბები:** ხაზოვანი ნანოსტრუქტურებია, მეტალური შემადგენლობის, ნახევარგამტარული ან ნახშირბადოვანი. განარჩევენ ერთ და მრავალ კედლიან, შიდა და ზედაპირულ სტრუქტურებს. შიდა სტრუქტურული ნანონარევი არის სპ შესაძლებლობების ნივთიერებებისათვის.
11. **ნანოფორები:** აეროგელისაგან წარმოიშობა. ასტიმულირებს თერმულ იზოლაციას ელექტროდის შემადგენელი ნივთიერებისთვის და აკონტროლებს წამლის გადამტანის გამომშვებ ფილტრს.
12. **კვანტური ხვრელები:** მაღალი სინათლის მშთანთქმელი ლუმინესცენცირებადი ნახევრადგამტაროვანი ნანონაწილაკებია. დიამეტრის ზომა : 2–8 ნმ. ლიმინესცენციის უნარი ნახევრადგამტარული მგრძნობელობა ხდება ადგილობრივ გარემოში და ნანოკრისტალის ზედაპირზე მზადდება.
13. **ფეროფლუიდები:** კოლოიდური გადაწყვეტაა რკინის ოქსიდის მაგნიტური ნანონაწილაკისა, რომელიც დაფარულია პოლიმერული ფენით. რადიუსის ზომაა 25–100 ნმ.

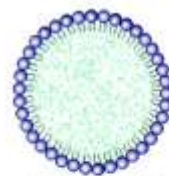
A Lipid-based Carriers



Liposome



Microemulsion



Solid-Lipid Nanoparticle

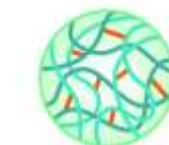
B Polymeric Carriers



Linear chain



Solid Micro/ Nanoparticle



Micro/Nanogel



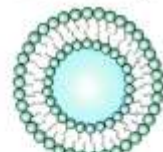
Micelle



Layer-by-Layer



Dendrimer



Polymersome

C Inorganic Carriers



Gold Nanoparticle



Mesoporous Silica Nanoparticle



Magnetic Particle



Carbon Spheres

სურ: 1.2 ბ ნანოგადამტანთა ტიპები

1.3 ნანოგადამტანების კლასიფიკაცია.

Inorganic NPs



Gold NPs



Qdots



Superparamagnetic Iron Oxide NPs



Paramagnetic Lanthanide Ions

Organic NPs



Dendrimers



Micelles



Liposomes



Ferritin

სურ: 1.3 არაორგანული და ორგანული ნანოგადამტანები

წამლის გადამტანი ნანონაწილაკები კლასიფიცირდებიან ორ ძირითად ჯგუფად არაორგანული და ორგანული ნანოგადამტანები.

არაორგანულ ნანოგადამტანებს შეეძინა აქვთ მახასიათებელი უნიკალური შემადგენლობა და ზომა. ორივე პარამეტრი დამოკიდებულია ფიზიკოქიმიურ შესაძლებლობებზე, რომელიც არ შეიძლება იყოს ლიპიდური ანდა პოლიმერული. ფაქტიურად, თვისობრიობის მიხედვით როგორც არის ქიმიური უმოქმედობა, მაღალი სტაბილურობა და ადვილი ფუნქციონალური ასახვა როგორც მაგნიტურ რეზონანსზე ასევე ოპტიკურ სურათზე, შესაფერისს ხდის არაორგანულ ნანონაწილაკებს ინფექციურ დაავადებებთან საბრძოლველად.

არაორგანულ ნანოგადამტანებში ერთიანდებიან: ოქროს ნანონაწილაკები, კვანტური წერტილები, რკინის ოქსიდის ნანონაწილაკები, კვარცის ნანონაწილაკები და პარამაგნეტური ლანთანიდური იონები.

ხოლო ორგანული ნანონაწილაკებში კი ერთიანდებიან : დენდრიმერები, პოლიმერული მიცელები, ლიპოსომები და ფერიტინი.

1.4 ნანონაწილაკების ზომის მნიშვნელობა

ნანონაწილაკების სუბმიკრონული ზომა გვთავაზობს რიგ აშკარა უპირატესობებს მიკრონაწილაკებთან შედარებით . ნანონაწილაკები გამოირჩევიან შედარებით მაღალი შიდაუჯრედული შთანთქმით მიკრონაწილაკებთან შედარებით . ეს იქნა დემონტრირებული კვლევებში , სადაც ნანონაწილაკებმა ზომით 100ნმ აჩვენეს შთანთქმის ზრდა 2.5 ჯერ მეტი ვიდრე 1მკმ და 6 ჯერ მაღალი შთანთქმა შედარებით 10მკმ მიკრონაწილაკებთან CaCo2 უჯრედის ხაზში . მსგავსი შედეგები იქნა მიღებული , როდესაც ეს ნანო და მიკრონაწილაკები იყვნენ დატესტილი ვირთხაზე in situ ნაწლავური მარყუჟის მოდელში . იმ ნანონაწილაკების ეფექტურობა რომელთა ზომაც 100ნმ წარმოადგენდა 15-250 ჯერ მეტი იყო , ვიდრე მიკრონაწილაკები ზომით 1 დან 10მკმ-მდე. ზემოთმოყვანილი კვლევიდან გაირკვა რომ , ნანონაწილაკებს შეეძლოთ შეეღწიათ ლორწოვანქვეშა ფენაში , როცა მიკრონაწილაკები მეტი ზომებით ძირითადად ლოკალიზირებულნი იყვნენ ეპითელურ ფენაში . სხვა ჩვენებებებით კი ნანონაწილაკებს შეუძლიათ გადაკვეთონ გემატოენცეფალური ბარიერი . ასეთ სტრატეგიას შეუძლია უზრუნველყოს თერაპევტული აგენტების მდგრადი გადატანა რთულად განკურნებადი დაავადებებისთვის, როგორცაა მაგალითად ტვინის სიმსივნე. ამდენად, კვლევებმა აჩვენეს რომ ნაწილაკის ზომა არსებითად გავლენას ახდენს უჯრედების და ქსოვილების მიერ წამლის ათვისების უნარიანობაზე, და ზოგ უჯრედულ ხაზში (lines) -ში მხოლოდ სუბმიკრონულ ნაწილაკებს შეუძლია შეღწევა და არა უფრო მეტის ზომის მიკრონაწილაკებს (მაგალითად Hepa 1-6, HepG2, და KLN 205). ახლანდელმა in vitro კვლევებმა აჩვენეს , რომ შრატის არ მოქმედებს PLGA ნანონაწილაკების უჯრედულ მიღებაზე . ამ გზით , ეს ნანონაწილაკები შეიძლება შეყვანილ იქნას ცირკულაციის

სისტემაში ნაწილაკების აგრეგაციის ანაც წვრილი სისხლის კაპილარების მიერ მათი დაბლოკვის პროცესების თავიდან აცილებით.

თავი II. ბიოდეგრადირებადი PLGA ნანონაწილაკების გამოყენება წამლის და გენების გადასატანად უჯრედებში და ქსოვილებში

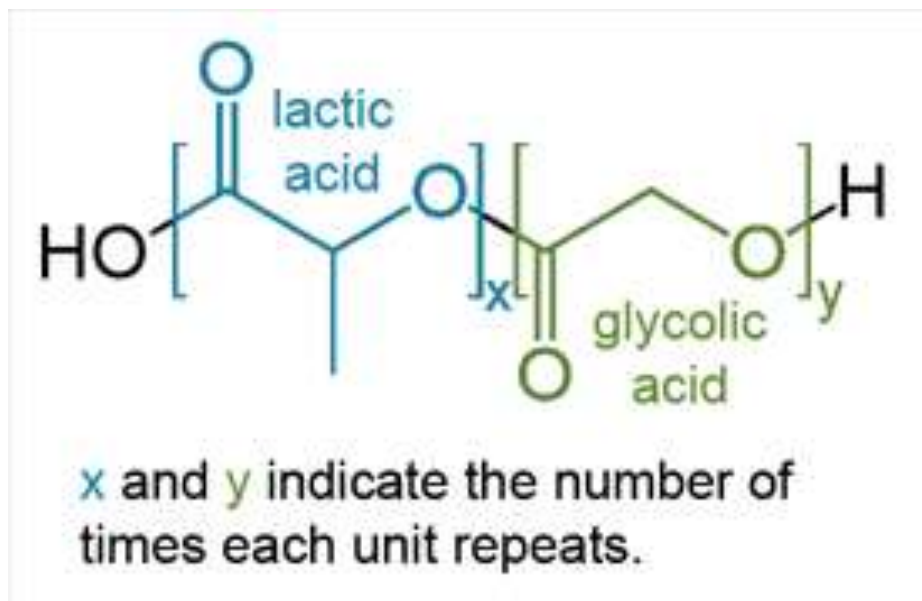
2.1 ნანოტექნოლოგიის მნიშვნელობა მედიკამენტოზურ თერაპიაში

უკანასკნელ წლებში მნიშველოვანი ძალისხმევა იქნა მიმართული იმ ნანოტექნოლოგიის განსავითარებლად, რომელიც გამოდგებოდა წამლის გადამტანად, ვინაიდან, ის გვთავაზობს მორგებულ (შესაფერის) მეთოდებს პრეპარატების მიწოდებისათვის რომლებსაც აქვთ მცირე მოლეკულური მასა, ანუ, მაკრომოლეკულებისთვის როგორებიცაა ცილები, პეპტიდები ან გენები - ლოკალიზირებული გზით ან მიზანმიმართული მიტანით საინტერესო ქსოვილში.

ნანოტექნოლოგია ფოკუსირდება თერაპევტული აგენტების - ბიოშესაფერის ნანოკომპოზიტების შემუშავებაზე, როგორცაა ნანონაწილაკები, ნანოკაფსულები, მიცერალური სისტემები და კონიუგატები (conjugates). ვინაიდან ეს სისტემები ხშირ შემთხვევაში წარმოადგენენ პოლიმერულ და ზომით სუბმიკრონულებს, მათ გააჩნიათ მრავალმხრივი უპირატესობა წამლის მიწოდებაში. ეს სისტემები ზოგადად შეიძლება გამოყენებული იქნას, რომ უზრუნველყონ მიზანმიმართული (უჯრედული/ქსოვილური) წამლის მიწოდება, რომ გააუმჯობესონ პრეროლარული ბიოშეღწევადობა, გაახანგრძლივონ პრეპარატის /გენის მოქმედების ეფექტი სამიზნე ქსოვილში იმისთვის რომ გაიხსნას წამალი სისხლძარღვში და მიწოდებისათვის და რომ გაუმჯობესდეს თერაპევტული აგენტების სტაბილურობა ფერმენტული დეგრადაციის (ნუკლეაზების და პროტეაზების) წინააღმდეგ, განსაკუთრებით ცილის, პეპტიდის და ნუკლეინის მჟავებისთვის. მიწოდების სისტემის ნანომეტრული ზომის დიაპაზონი გვაძლევს განსაზღვრულ განსაკუთრებულ უპირატესობებს წამლის მიწოდებაში. მათი სუბუჯრედული და სუბმიკრონული ზომის გამო, ნანონაწილაკებს შეუძლიათ ღრმად შეაღწიონ ქსოვილში პატარა კაპილიარებით, გადაკვეთონ უჯრედული სტრუქტურა და ეფექტურად შთაინთქნან უჯრედებისგან. ეს საშუალებას იძლევა თერაპევტული აგენტები ეფექტურად მეწოდოს სამიზნე უბანს. ასევე პოლიმერის მახასიათებლების მოდულირებით, შესაძლებელია გაკონტროლდეს თერაპევტული აგენტის გამონთავისუფლება ნანონაწილაკიდან, რომ მიღწეული იქნას სასურველი თერაპევტული დონე სამიზნე-ქსოვილში საჭირო ხანგრძლივობის განმავლობაში ოპტიმალური ეფექტურობისთვის. გარდა ამისა, ნანონაწილაკები შეიძლება მიწოდებულნი იყვნენ მოშორებულ სამიზნე უბნებს ან ლოკალიზირებული მიწოდებით კათეტერ-დაფუძნებული მიდგომის გამოყენებით მინიმალური ინვაზიური პროცედურით ან ისინი შეიძლება იყვნენ კონიუგირებული ბიოსპეციფიკური

ლიგანდებით , რომელსაც შეუძლია მიმართოს ის უჯრედში ან ორგანოში . იმ დროს როცა ნანონაწილაკების და მიკრონაწილაკების განსხვავებული ასპექტები იყო დეტალურად განხილული სხვაგან , ინფორმაცია მათ უჯრედულ შთანთქმაზე , მათი შთანთქმის განსხვავებული გზებზე, შიდაუჯრედული მოძრაობაზე (ტრაფიკინგი) და კლასიფიკაცია განსხვავებულ შიდაუჯრედულ უბანში , ასევე თერაპევტული ეფექტურობის ამაღლების მექანიზმი ნანონაწილაკებში კაფსულირებული აგენტით როგორც in vitro ასევე in vivo გარემოში წარმოადგენენ შედარებით გვიანდელ და ძირითად განხილვის მიმართულებას. ამ მოხსენებაში ასევე განხილულია ნანონაწილაკების ახალი პოტენციური თერაპევტული გამოყენება დაფუძნებული მათი მოქმედების მექანიზმზე . უკანასკნელი წლების მანძილზე მიცერალური სისტემები და გელური სისტემები (მაგალითად Nanogels) ასევე იყვნენ ჩართულები ტერმინში „ნანონაწილაკები“ . ამ მოხსენებაში ტერმინი „ნანონაწილაკები“ შემოისაზღვრება პოლიმერული მატრიცული ნაწილაკების სისტემებით.

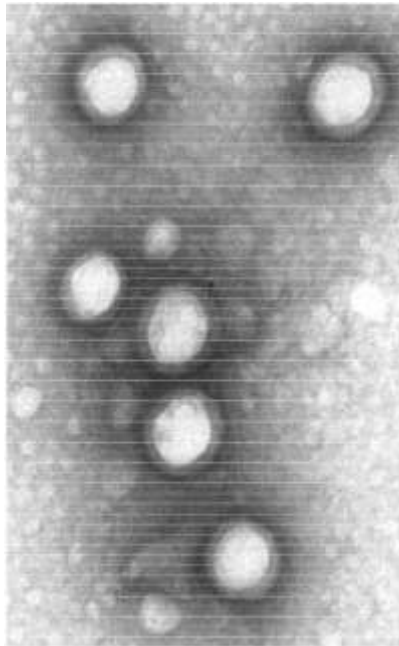
2.2 ბიოდეგრადირებადი პოლიმერები PLGA და PLA



სურ: 2.2ა პოლი ლაქტიდ-კო-გლიკოლიდი . აქ x = რქმეჟავას ერთეულის რაოდენობა , y=გლიკოლიდის ერთეულის რაოდენობა

ნანონაწილაკები წარმოადგენენ პოლიმერულ კოლოიდურ ნაწილაკებს სუბმიკრონული ზომით საინტერესო თერაპევტული აგენტით , რომელიც ინკაფსულირებულია მათ პოლიმერულ მატრიცაში ან ადსორბირებული ანაც კონიუგირებული ზედაპირიდან . ჩვენ შევისწავლით ნანონაწილაკებს ფორმულირებულს FDA -ის დადგენილებით ბიოდეგრადირებულ და ბიოშეთავსებად პოლიმერს , პოლი(D,L-lactide-co-glycolide)

(PLGA) თერაპევტული აგენტით რომელიც კაფსულირებულია პოლიმერში ლოკალიზირებული და გამძლე წამლის და მაკრომოლეკულის გადატანისთვის.



სურ: 2.2ბ ტრანსმისიულ ელექტრონულ მიკროსკოპიული სურათი პლაზმიდური დნმ-ით დატვირთული PLGA ნანონაწილაკისა

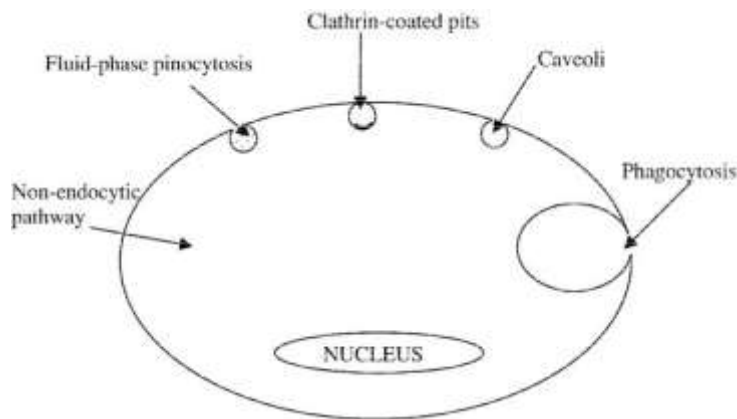
რიგი განსხვავებული პოლიმერებისა , როგორც სინთეზირებული , ასევე ბუნებრივი იყვნენ გამოყენებული ბიოდეგრადირებული ნანონაწილაკების შემუშავებაში. მაგრამ სინთეზირებულ პოლიმერებს ბუნებრივ პოლიმერებთან შედარებით აქვს უპირატესობები როგორცაა ინკაფსულირებული თერაპევტული აგენტების გამონთავისუფლების ხანგრძლივი პერიოდი (რამოდენიმე დღის ან კვირის განმავლობაში) . ბუნებრივ პოლიმერებში წამლის გამონთავისუფლების პროცესი შედარებით მოკლე ხანგრძლივობისაა , ასევე, ისინი შეზღუდულნი არიან ორგანული გამხსენებლებით და მკაცრი ფორმულირების პირობებით . პოლიმერები , რომლებიც გამოიყენებიან ნანონაწილაკების ფორმირებაში , მოიცავს სინთეზურ პოლიმერებს , როგორცაა პოლილაქტიდ-პოლიგლიკოლიდ კოპოლიმერები , პოლიაკრილატები და პოლიკაპროლაქტონები ან ბუნებრივი პოლიმერები , როგორებიცაა ალბუმინი , ჟელატინი , ალგინატი და ციტოზანი . ამ პოლიმერებიდან წამლის გადასატანად ყველაზე მეტად იქნა გამოკვლეული პოლილაქტიდები (PLA) და პოლი (პოლილაქტიდ-კო-გლიკოლიდი)PLGA . როგორც პოლიესტერები ბუნებრივად ეს პოლიმერები ექვემდებარებიან ჰიდროლიზს ორგანიზმში იმპლანტირებისას და ფორმირდებიან ბიოლოგიურად შეთავსებად და მეტაბოლიზირებულ ნარჩენებად (lactic acid რემეჟავა და glycolic acid გლიკოლის მჟავა) რომლებიც საბოლოოდ გამოდიან ორგანიზმიდან ლიმონ მჟავის ციკლით. პოლიმერის ბიოდეგრადირების პროდუქტები ფორმირდებიან ძალიან დაბალი სიჩქარით და შესაბამისად არ ახდენენ გავლენას ნორმალური უჯრედის ფუნქციონირებაზე. ეს პოლიმერები გამოცდილი იყვნენ ტოქსიკურობაზე და

უსაფრთხოებაზე ცხოველებში და დღეს გამოიყენებიან ადამიანზე გამწოვ ნაკერებში, ძვლების იმპლანტებისში და ხრახნებად, ასევე კონტრაცეპტული იმპლანტებისთვის. ეს პოლიმერები ასევე გამოიყენებიან ტრანსპლანტაციის მატერიალებად ხელოვნური ორგანოებისთვის, და უკანასკნელ დროში როგორც ქოვილურ ინჟინერიაშიც. პრეპარატი, რომელიც მოთავსებულია PLGA მატრიცაში, თავისუფლდება ხანგრძლივი ტემპით წამლის დიფუზიის წყალობით პოლიმერულ მატრიცაში და ასევე მისი დეგრადაციით. პოლიმერის დეგრადაცია შეიძლება დარეგულირდეს ბლოკ კოპოლიმერის შემადგენლობის და მოლეკულური მასის ცვლილებით და აქედან გამომდინარე ტერაპევტული აგენტის გამონთავისუფლების ხანგრძლივობა შეიძლება იცვლებოდეს დღეებიდან თვეებამდე. ასევე, ვინაიდან მიკრონაწილაკები ფორმულირებულნი PLGA-დან, შემცველი LHRH-agonist, leuprolide, უკვე გაყიდვაშია, PLGA ნანონაწილაკების ფორმულირება ანალოგიურად შეიძლება იყოს მასშტაბირებული სამრეწველო წარმოებაში. უკანასკნელ დროში იყო შემუშავებული რამოდენიმე ექსტრუზიის მეთოდი პატარა ზომის ნაწილაკების ფორმირებისთვის დიდ მასშტაბებზე. PLGA ნანონაწილაკები ჩვეულებრივ არიან ფორმულირებული ემულსიური ხსნარის აორთქლებით ან გამხსნელების შერევის/ჩანაცვლების მეთოდით. მრავალი თერაპევტული აგენტი მათ შორის დაბალმოლეკულური ლიპოფილური და ჰიდროფობული წამლები და მაღალმოლეკულური დნმ ან antisense * შეიძლება კაფსულირებული იქნას ნანონაწილაკებში ემულსიური ხსნარის აორთქლების მეთოდით. პოლივინილ ალკოჰოლი (PVA) იყო ყველაზე ხშირად იყო გამოყენებული ემულგატორად PLGA ნანონაწილაკების შექმნისას, ვინაიდან ნაწილაკები მიღებული ზემოხსენებული ემულგატორის გამოყენებით, იყვენენ შედარებით ერთგვაროვანი და ნაკლები ზომაში ასევე მარტივად რედისპერსირებადნი წყლიან გარემოში. ახლახანს იქნა ჩვენებული რომ PVA -ს ფრაქციის ნაწილი რჩება მიბმული ნანონაწილაკის ზედაპირზე და გავლენას ახდენს ნანონაწილაკის ფიზიკური და უჯრედული მიღების თვისებებზე. ნანონაწილაკებს რომლებსაც დიდი რაოდენობით ჰყავს დაკავშირებული PVA, წარმოადგენენ შედარებით უფრო ჰიდროფილურებს და ხასიათდებიან დაბალი შთანქმის მაჩვენებელით უჯრედებში ვიდრე ის ნაწილაკები რომლებსაც აქვთ PVA -ს მცირე შემცველობა. ასე რომ, ნანონაწილაკების ფიზიკური და უჯრედული შთანქმის თვისებები შეიძლება რეგულირდეს PVA -ის რაოდენობის ცვლილებით, რომელიც რჩება ნანონაწილაკთან მიბმული.

2.3 ნანონაწილაკების უჯრედში შეღწევადობა

შიდაუჯრედული ტარგეტირება ეხება თერაპევტული აგენტის მიტანას უჯრედში კონკრეტულ უბნამდე ან ორგანოებამდე. თერაპევტული აგენტი შეიძლება იყოს მცირე მოლეკულური წონის წამალი ან მაკრომოლეკულა როგორცაა მაგალითად ცილა ან დნმ. თერაპევტული აგენტის მიზანმიმართული მიწოდება ზრდის ბიოშეღწევადობას (bioavailability) მისი მოქმედების არეში, იმდენად რომ ერთდროულად მცირდება მთლიანი დოზა და ასევე მასთან დაკავშირებული გვერდითი ეფექტები. თუმცა, რიგი

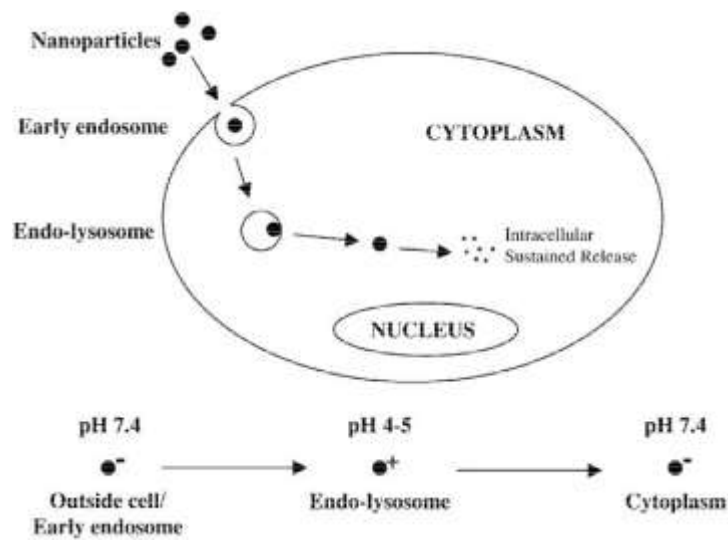
გამოყენებისთვის მნიშვნელოვანია არა მარტო თერაპევტული აგენტის ქსოვილამდე მიტანა , ასევე მისი მიტანა სპეციფიკურ უჯრედულ უბნებამდე. პრეპარატის ცუდი გამტარიანობა უჯრედულ მემბრანაში , პრეპარატის სუსტი წვდომა მის სამოქმედო უჯრედზე , აგენტის დეგრადაცია უჯრედის სპეციფიკურ განყოფილებებში(უბნებში) ან ტოქსიკურობა წამლის ექსპოზიციის წყალობით და/ან მიწოდების სისტემა განსხვავებულ უჯრედულ ორგანელებზე ყოველი ჩამოთვლილი მოითხოვს ინოვაციურ გადაწყვეტილებებს. გამომდინარე (efflux *) გადამტანების არსებობა როგორცაა მულტი წამალ რეზისტენტული პროტეინები (MRP) ან მემბრანასთან დაკავშირებული პ-გლიკოპროტეინები(პ-გპ) კიბოს უჯრედში მოითხოვენ , რომ დოზირებული საკმურნალო საშუალება იყოს ოპტიმალურად ლოკალიზებული უჯრედის სასურველ უბანში ამ ტრანსპორტერებზე ზემოქმედების გარეშე . ჩვენ შევისწავლეთ ნანონაწილაკების შთანთქმა და მიწოდება ვასკულარულ გლუვკუნთოვან და ვასკულარულ ენდოთელიურ უჯრედებში. შედეგებმა აჩვენეს რომ ნანონაწილაკები ეფექტურად შეთავსდებიან ენდოციტური პროცესისას და ეს შეთავსება დამოკიდებულია კონცენტრაციაზე და დროზე . ნანონაწილაკების შთანთქმის ეფექტურობა შემცირდა მაღალი დოზებისთვის , რაც მიუთითებს რომ შეთავსების პროცესი(გზა) არის გაჯერებული . ნაწილაკების სისტემების შთანთქმა შეიძლება ხდებოდეს განსხვავებული პროცესების შედეგად , როგორცაა ფაგოციტოზი , პინოციტოზი ან რეცეპტორ შუამავალი ენდოციტოზი .



სურ: 2.3ა უჯრედული შთანთქმის განსხვავებული გზების სქემატური გამოსახულება

ჩვენ ვაჩვენებთ რომ სისხლძარღვოვან რბილკუნთოვან უჯრედებში ნანონაწილაკების ინტერნალიზაცია ნაწილობრივ ხდება სითხის თხევადფაზური პინოციტოზით და ნაწილობრივ კლატრინით დაფარული ღრუებით . ჩვენ ასევე ავლნიშნებთ რომ ქავეოლი* და ფაგოციტოზი არ მონაწილეობენ ნანონაწილაკების შეთავსებაში ამ უჯრედულ ხაზში . მათი შეთავსების მერე ნანონაწილაკები გადაადგილდებიან მთავარ პირველად ენდოსომებზე და მერე სავარაუდოდ სორტირებულ ენდოსომებზე. სორტირებული ენდოსომებიდან ნანონაწილაკების ფრაქცია უკან სორტირდება უჯრედის ექსტერიერში რეციკულირებადი ენდოსომების საშუალებით სანამ დანარჩენი ფრაქცია

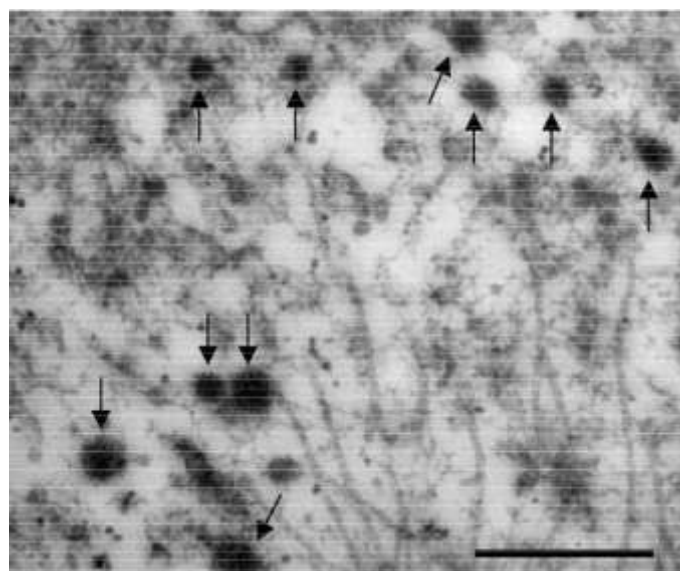
ტრანსპორტირდება მეორეულ ენდოსომებთან , რომლებიც შემდგომში უერთდებიან ლიზოსომებს . ასევე ჩვენებული იყო რომ ნანონაწილაკები გამოდიან ენდო-ლიზოსომებიდან და ხვდებიან ციტოზოლურ განყოფილებაში . კვლევებმა აჩვენეს რომ ნანონაწილაკები გამოთავისუფლდნენ ენდო-ლიზოსომებიდან , ინკუბაციიდან 10წუთში და მოხვდნენ ციტოპლაზმურ განყოფილებაში . ნანონაწილაკების ზედაპირის მუხტის ცვლილება (reversal) ენდოლიზოსომების pH მჟავიანობის ცვლილებისას , შემოთავაზებულია როგორც მექანიზმი რომელიც პასუხს აგებს ნანონაწილაკების ენდოლიზოსომურ გამონთავისუფლებაზე** . ზედაპირული მუხტის ცვლილება /რევერსირება (reversal) შედეგია პროტონების / წყალბადის იონების ტრანსპორტირების მოცულობითი ხსნარიდან ნანონაწილაკის ზედაპირზე მჟავურ გარემოში .



სურ: 2.3ბ ნანონაწილაკის უჯრედში შეღწევადობა

უჯრედების ტრანსმისიულმა ელექტრონულმა მიკროსკოპიამ გამოავლინა ნანონაწილაკების ურთიერთქმედება ვეზიკულარულ მემბრანებთან უჯრედის შიგნით , სავარაუდოდ მათი კათიონირება* ვეზიკულებში . ამას შეუძლია გამოიწვიოს მემბრანის ლოკალური დესტაბილიზაცია და ნანონაწილაკების გასვლა ციტოპლაზმურ უბანში . **ფიგურა 4** ახდენს ნანონაწილაკების ციტოპლაზმაში ლოკალიზების დემონსტრირებას. ნანონაწილაკების გამონთავისუფლების შემოთხსენებული მექანიზმი დამატებით იყო დამტკიცებული პოლი-სტირინის(poly-sterene) ნანონაწილაკების კვლევითაც , რომლებიც არ აჩვენებდნენ ზედაპირული მუხტის ცვლილებას pH - ის ცვლილებისას და არ იყვნენ დამზერილი გამოსულნი ენდო-ლიზოსომური უბნიდან . ნანონაწილაკების რაოდენობა უჯრედის შიგნით ინახება მანამდე სანამ, ნანონაწილაკები არსებობენ გარეთ გარემოში (medium) თანაბრად . როგორც კი კონცენტრაციის გარეგანი გრადიენტი ქრება , ნანონაწილაკების ეგზოციტოზი იწყება და შედეგად იძლევა დაცემას საწყისი დონის დაახლოებით 65% -ით , დაახლოებით 30 წუთში . ამრიგად , ნანონაწილაკების საწყისი დონის 15% შენარჩუნდა 6 საათის ბოლომდე .საინტერესოა , რომ ჩვენ ვაკვირდებოდით

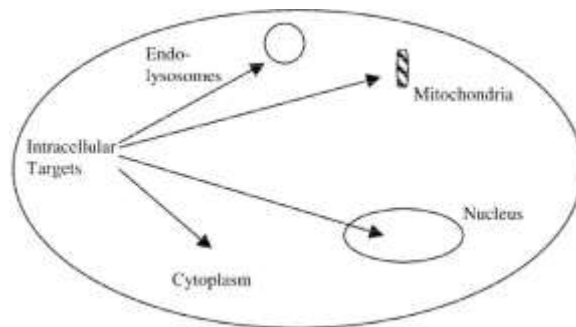
ნანონაწილაკების ეგზოციტოზს რომელიც ინჰიბირდა უშრატო გარემოში . აღმოჩენილი იყო რომ ცილა ალბუმინი მონაწილე შრატში აღმოჩნდა პასუხისმგებელი ნანონაწილაკების ეგზოციტოზის ინდუცირებაში . ალბუმინი სავარაუდოდ ადსორბირდება ნანონაწილაკებზე და / ან გადაიტანება ნანონაწილაკებთან ერთად , რომელსაც თავის მხრივ შეუძლია ურთიერთქედება ეგზოციტური გზით რასაც მივყავართ ნანონაწილაკების გაზრდილ ეგზოციტოზთან. ახლანდელი კვლევებით ჩვენებული იქნა გამძლე , ჰკვირიანი და მეტი ნანონაწილაკების ანტიპროლიფერატური ეფექტი , დექამეტაზონით დატვირთული ნანონაწილაკების რბილ კუნთოვანი უჯრედებში . ეფექტი იყო მცირე დროითი(3დღე) წამლის არსებობით ხსნარში და გაგრძელდა მანამ სანამ წამალი იმყოფებოდა გარემოში-ში . როგორც კი გარემო იქნა შეცვლილი ანტიპროლიფერალური ეფექტი წამლის ხსნარში არ იყო დამზერილი, მაშინ როდესაც ნანონაწილაკების შემთხვევაში , დატვირთული წამლის საშუალებით , ანტიპროლიფერალური ეფექტი წამლის შეინახა მაშინაც კი როდესაც გარემო (მედიუმი) იქნა შეცვლილი . ამ კვლევის შედეგმა მოახდინეს დემონსტრირება რომ წილი ნანონაწილაკების შენარჩუნდა შიდაუჯრედულად არის ეფექტური იმის სადემონსტრირებლად ანტიპროლიფერალური ეფექტისა კაფსულირებული წამლისთვის. იმ დროს როდესაც უჯრედშიდა ნანონაწილაკების დონის დაცემამ შეიძლება გამოიწვიოს ნანონაწილაკში ენკაფსულირებული თერაპევტული აგენტის ეფექტურობის დაწევა , აუცილებელია გავიაზროთ რომ ნანონაწილაკის კონცენტრაცია უჯრედის გარეთ შეიძლება არ დავარდეს ისე მალე როგორც *in vivo*. ადრე იქნა დემონსტრირებული რომ როდესაც ნანონაწილაკი ლოკალურად მიეწოდება ვასკულარულ სისხლძარღვის ქსოვილს , წამლის დონე ქსოვილში ნარჩუნდება მინიმუმ 7-14 დღემდე . ასე რომ , იქ შეიძლება იყოს ნანონაწილაკების მუდმივი არსებობა უჯრედის გვერდით ან მის სიახლოვეში , რამაც შესაძლოა მიგვიყვანოს მასიური ტრანსპორტის ბალანსის მიღწევამდე , რასაც მივყავართ უფრო მაღალი უჯრედშიდა ნანონაწილაკების დონემდე. მიუხედავად იმისა, ენდოციტოზის და ეგზოციტოზის დინამიკა *in vivo* შეიძლება განსხვავდებოდეს დაკვირვებულის *in vitro* , მნიშვნელოვანია გავიგოთ ფაქტორები რომლებიც გავლენას ახდენენ ნანონაწილაკების უჯრედულ შთანთქმისას , და ასევე მათი უჯრედულ ტრაფიკინგის და სორტირების მექანიზმის სამომავლო კვლევების წამლის გადამტანი ნანონაწილაკების მიღებისთვის.



სურ: 2.3გ ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპის ფოტო PLGA ნანონაწილაკების ვასკულარულ გლუვ კუნთოვან უჯრედის ციტოპლაზმაში . – 2506მ

2.4 ნანონაწილაკების უჯრედებთან და ქსოვილებთან მიტანის მექანიზმები

ნანონაწილაკები შეიძლება გამოყენებული იქნას როგორც ეფექტური მიტანის საშუალება შიდაუჯრედული ტარგეტებისას . ჩვენ ვაჩვენებთ რომ ნანონაწილაკის შესაძლებლობა გამოვიდეს ენდოლიზოსომიდან იყო დამოკიდებული ნანონაწილაკის ზედაპირის მუხტზე. აღმოჩენილი იყო რომ , ნანონაწილაკები , რომლებიც აჩვენებენ ზედაპირული მუხტის გადასვლას ანიონური(pH 7 ზე) დან კათიონურურზე მყავური ენდოზომული pH(pH 4-5) აღმოჩენილი იყო რომ გამოდიან ენდოსომული უბნიდან ,მაშინ როდესაც ნანონაწილაკები რომლებიც რჩებიან უარყოფითად დამუხტულები pH 4 ზე , რჩებოდნენ ძირითად ენდოსომურ უბანში . ამ გზით , ზედაპირული მუხტის ცვლილებით , შესაძლებელია პოტენციალურად მიემართოს ნანონაწილაკები ლიზოსომებზე , ან ციტოპლაზმაში. შემდეგ შესაძლებელი ჩანს რომ მოვახდინოთ ნანონაწილაკების ლოკალიზირება მიტოქონდრიაში , ნანონაწილაკების ზედაპირის მოდიფიცირებით რომ მივიღოთ სუფთა დადებითი მუხტი .



სურ: 2.4 განსხვავებული უჯრედული სამიზნეები ნანონაწილაკებისთვის

სხვა მნიშვნელოვანი განსხვავებულობა ნანონაწილაკისა წარმოადგენს იმას რომ , ფიზიკური თვისებები ოროგრებიცაა ზომა, ზედაპირული მუხტი, ჰიდროფობულობა და გამონთავისუფლების მახასიათებლები , შეიძლება იქნას შეცვლილი მარტივად, კომპოზიციის შემადგენლობის ცვლილებით ან მისი ფორმულირების მეთოდით. გარდა ამისა , ნანონაწილაკის ზედაპირზე შეიძლება მომაგრდნენ სპეციფიკური ლოკალიზაციის სიგნალები , როგორც ბირთვული ლოკალიზაციის სიგნალია(NLS) რომლებიც მისცემენ ნანონაწილაკს საშუალებას დაუმიზნონ ბირთვს.

თერაპევტული აგენტების მიზანმიმართული მიტანა კონკრეტულ ქსოვილებამდე განხორციელდა რიგი შემუშავებების შემდეგ, როგორც არის მონოკლონალური (monoclonal) ანტისხეულები , სპეციფიკური რეცეპტორები , რომლებიც ან ექსპრესირდებიან ან ექსპრესირდებიან მხოლოდ განსაზღვრულ ქსოვილებში , ასევე განვითარდა კონიუგაციის მეთოდები ანტისხეულის მიმარგების ან ლიგანდის წამლის გადამტანი სისტემებისთვის . მიზანმიმართული მიწოდება იძლევა თერაპევტული

აგენტის მაღალ ბიოხელმისაწვდომობას მისი მოქმედების ადგილზე და ამავედროულად მივყავართ შემცირებულ გვერდით მოვლენებამდე. მიზამიმართული მიწოდება შეიძლება განხორციელდეს აქტიური და პასიური ტარგეტირების გზით. თერაპევტული აგენტის აქტიური მიზანშეამოლება მიიღწევა ტერაპევტული აგენტის ან მატარებლის კონუგირებით ქსოვილურ ან უჯრედულ- ქსოვილურ სპეციფიკურ ლიგანდასთან . პასიური მიზანშეამოლება ანუ პასიური ტარგეტირება მიიღწევა თერაპევტული აგენტის მიზმასთან მაკრომოლეკულაზე ან მატარებელზე , რომელიც პასიურად აღწევს სამიზნე ორგანოს.

თავი III. კვლევის მეთოდები

3.1 კვლევის კალორიმეტრიული მეთოდი

დიფერენციალური სკანირებადი მიკროკალორიმეტრია გამოიყენება სხვადასხვა ტიპის ბიოპოლიმერთა შესწავლისათვის, ისეთები როგორებიცაა: გლობულური და ფიბრილარული ცილები, ნუკლეინის მჟავები, ფოსფოლიპიდები, ბიოლოგიური მემბრანები და სხვა.

სხვადასხვა ფაქტორების (ტემპერატურა, PH, იონური ძალა და ა.შ) მოქმედების შედეგად ბიოლოგიური სტრუქტურების დაშლის პროცესის კალორიმეტრიული კვლევა განპირობებულია იმით, რომ ეს ერთადერთი პირდაპირი მეთოდია ამ პროცესების ენერგეტიკული პარამეტრების განსასაზღვრავად. ტემპერატურა როგორც, ბიომოლეკულურ სტრუქტურაზე ზემოქმედების ფაქტორი გასხვავდება სხვა ფაქტორებისაგან იმით, რომ ის წარმოადგენს ინტენსიურ პარამეტრს, რომელიც თერმოდინამიკურად შეუღლებულია ენთალპიასთან, რომელიც წარმოადგენს სისტემის ექსტენსიურ პარამეტრს. ეს ნიშნავს, რომ სისტემის მდგომარეობის ყველა ცვლილებას, რომელიც განპირობებულია ტემპერატურის ცვლილებით, თან უნდა ახლდეს ენთალპიის ცვლილება. ასე რომ, სისტემის ენთალპიასა და ტემპერატურას შორის ფუნქციონალური დამოკიდებულება გულისხმობს თერმოდინამიკურ ინფორმაციას იმ მდგომარეობებზე, რომლებიც დასაშვებია სისტემისათვის ტემპერატურათა განხილულ უბანში.

მაკრომოლეკულური და პოლიმოლეკულური სტრუქტურები ნატიურ მდგომარეობაში დაფიქსირებულია უამრავი სუსტი კავშირებით, რომლებიც გაცხელებისას და გაციებისას დაახლოებით $-20^{\circ}-130^{\circ}\text{C}$ ინტერვალში განიცდიან კონფორმაციულ და/ან ფაზურ გადასვლებს. შესაბამისად, სითბოტევადობის ცვლილების მიხედვით შეიძლება ვიმსჯელოთ მოლეკულის სტრუქტურულ და კონფორმაციულ ცვლილებებზე. ამიტომ, ჩვენს ექსპერიმენტებში სითხეების გამოსაკვლევად ვიყენებთ კალორიმეტრულ მეთოდს, კერძოდ მაღალ მგრძნობიარე დიფერენციალურ სკანირებად მიკროკალორიმეტრს.

ეს მეთოდი საშუალებას გვაძლევს მივიღოთ განსაკუთრებულად მნიშვნელოვანი ინფორმაცია მოდეულური და ბიოლოგიური მემბრანების თერმოდინამიკაზე. მისი დახმარებით არეგისტრირებენ და იკვლევენ ლიპიდების ფაზური მდგომარეობის ცვლილებას და ასევე ახასიათებენ ამ მდგომარეობის დარღვევას ლიპიდების ურთიერთქმედებისას სხვა ნივთიერებებთან (ცილებთან, იონებთან ან პატარა ჰიდროფობურ მოლეკულებთან). დსკ-ს დროს ნიმუშს და ინერტულ სტანდარტს ათბობენ დამოუკიდებლად, ისე რომ მათი ტემპერატურა იყოს ერთიდაიგივე. ამასთან სითბოს რაოდენობა რომელიც საჭიროა ბიშრის ენდოთერმული გადასვლისათვის გელის მდგომარეობიდან თხევადკრისტალურ მდგომარეობაში, აღემატება იმ სითბოს რაოდენობას, რომელიც საჭიროა სტანდარტის შენარჩუნებისათვის იგივე ტემპერატურაზე. შემდგომ აგებენ სითბოს ნაკადების სხვაობის დამოკიდებულებას ტემპერატურაზე. მაღალმგრძნობიარე კალორიმეტრების საშუალებით შეიძლება ჩავატაროთ გაზომვები ლიპიდების განზავებულ წყლიან სუსპენზიებში (1მგ/მლ ნიმუშის სრულ მოცულობაში 1 მლ). ამ მეთოდით განისაზღვრება ჩვეულებრივ შემდეგი პარამეტრები:

1. ფაზური გადასვლის ტემპერატურა T_{fg} (გადასვლის საშუალო წერტილი, რომელსაც ლიტერატურაში ასევე აღნიშნავენ როგორც T_m), შეესაბამება გადასვლის შუა წერტილს. ორ მდგომარეობას შორის გადასვლისას T_m განისაზღვრება, როგორც წერტილი სადაც $\Delta G^0 = 0$:

$$\Delta G^0 = 0 = \Delta H - T_m \Delta S$$

$$T_m = \Delta H / \Delta S$$

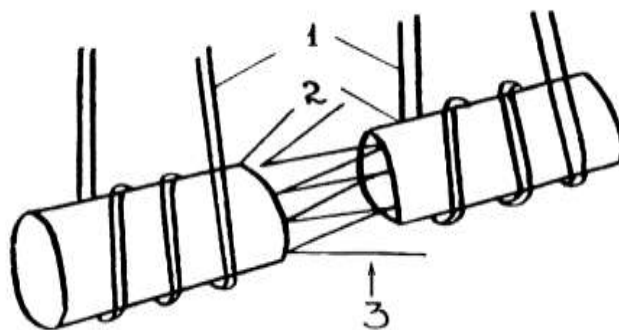
ეს თანაფარდობა შეიძლება გამოვიყენოთ გადასვლის ენტროპიის ΔS -ის მოსაძებნად, T_m -ის და ΔH -ის გაზომვის შემდეგ [23].

გადასვლის T_c ტემპერატურა, რომელიც შეესაბამება გადასვლის დასაწყისს.

3. გადასვლის ენტალპია ΔH - სითბოს რაოდენობა, რომელიც საჭიროა გადასვლის განსახორციელებლად გათვლილი ნივთიერების ერთ მოლზე ან ერთეულ მასაზე.

4. სითბოტევადობა C_p - სითბოს რაოდენობა (გადათვლილი ერთ გრამზე ან მოლზე), რომელიც აუცილებელია ნიმუშის ტემპერატურის მოსამატებლად ერთი გრადუსით.

განვიხილოთ მისი მოქმედების პრინციპი უფრო დაწვრილებით. დიფერენციალური სკანირებადი კალორიმეტრი შედგება ორი კამერისაგან: (სურ:3.1ა) მათგან ერთში თავსდება გამხსნელი, მეორეში – გამხსნელისა და გამოსაკვლევი ნივთიერების ნარევი. ვინაიდან კალორიმეტრის კამერები აბსოლუტურად იდენტური ვერ იქნება, გაზომვის სიზუსტისათვის თავდაპირველად კამერებს ავსებენ ერთი და იგივე სტანდარტული სითხით (გამხსნელით) და იწერენ ე.წ. ბაზისურ ხაზს ტემპერატურის საჭირო ინტერვალში. გასაგებია, რომ ბაზისიური ხაზი გამოდის სწორხაზოვანი.



სურ. 3.1ა DASM 4A კალორიმეტრის კამერა

1. პლატინის კაპილარები

2. უჟანგავი ფოლადის თხელი მილები

3. თერმოზატარეას

როდესაც იწყება კამერებისათვის სითბოს გადაცემა (ტემპერატურის გაზრდისას), კალორიმეტრის კამერებს შორის ტემპერატურული წონასწორობის შესანარჩუნებლად, ნიმუშის კამერას მიეწოდება ნაკლები ან მეტი სიმძლავრე, იმის და მიხედვით პროცესი ენდოთერმულია, თუ ეგზოთერმული, ანუ პროცესი სითბოს შთანთქმით მიმდინარეობს თუ გამოყოფით – ამ პრინციპით კალორიმეტრი ათანაბრებს ტემპერატურებს კამერებში. კალორიმეტრი იწერს იმ ელექტრული სიმძლავრის სიდიდეს, რომელიც მას დასჭირდა გადაეცა ნიმუშის კამერისათვის ტემპერატურული ბალანსის დასამყარებლად. ეს სიდიდე პროპორციულია სითბოტევადობების სხვაობისა კამერებში მოთავსებულ ხსნარებს შორის და წარმოადგენს ტემპერატურის ფუნქციას.

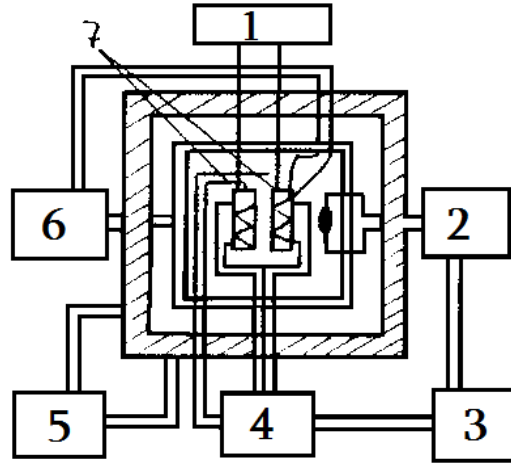
ამ ზოგად პრინციპზე დაყრდნობით არსებობს სხვადასხვა ტიპის კალორიმეტრები. ჩვენ ვიყენებთ DASM 4A (ცხრილი.2) ტიპის მიკროკალორიმეტრს. გარემოსთან სითბოცვლის გამოსარიცხად მისი ორივე კამერა გარშემორტყმულია ადიაბატური გარსით, რომლის ტემპერატურაც კამერების ტემპერატურის ტოლია (სურ:3.1ბ, 3.1გ). ტემპერატურათა თუნდაც მცირე სხვაობას კალორიმეტრი აღმოაჩენს არა მარტო კამერებს შორის, არამედ გარსსა და კამერას შორისაც, ეს კი ააქტივებს გაცხელების მექანიზმს და აღადგენს ტემპერატურულ ბალანსს ზემოთ აღწერილი პრინციპით. ასეთი სისტემა კიდევ უფრო ზუსტად იცავს ტემპერატურული წონასწორობას.

ხმაურის დონე	$5 \times 10^{-7} \text{ W}$
ბაზისური ხაზის განმეორებადობა	$3 \times 10^{-6} \text{ W}$
ბაზისური ხაზის გადახრა სწორი ხაზიდან	$15 \times 10^{-6} \text{ W}$
საშუალო ტემპერატურული ინტერვალი	$0-150^{\circ}\text{C}$
ტემპერატურის გაზომვის აბსოლუტური ცდომილება	$\pm 0.1^{\circ}\text{C}$
კალორიმეტრული უჯრების გაცხელების სიჩქარე	0.125; 0.25; 0.5; 1.0; 2.0; $4.0^{\circ}/\text{min}$
სკანირების სიჩქარის ფარდობითი ცდომილება	$\pm 2\%$
წნევა ამპილის თავზე	500-600 კპა
თითოეული კამერის მიცულობა	0.8 ml
სასუალო მოცულობა	0.46 ml
კალიბრების სიმპლავრე	25; 50; $100\mu\text{W}$

ცხრილი2 , DASM4 კალორიმეტრის ტექნიკური მონაცემები

კალიბრებისთვის ერთ-ერთი კამერა აღჭურვილია დამატებითი ელექტრული გამაცხელებლით. ასეთი კალორიმეტრის სიზუსტე საკმაოდ მაღალია (ცდომილება <0.1%). ეს ნიშნავს, რომ ის შეიძლება გამოვიყენოთ განზავებული ხსნარებისთვის, (<10⁻⁴ M ნიმუში), სადაც საჭიროა ჰომოგენურ მაკრომოლეკულებს შორის ურთიერთქმედებების თავიდან აცილება. ასეთი კალორიმეტრი ასახავს მხოლოდ

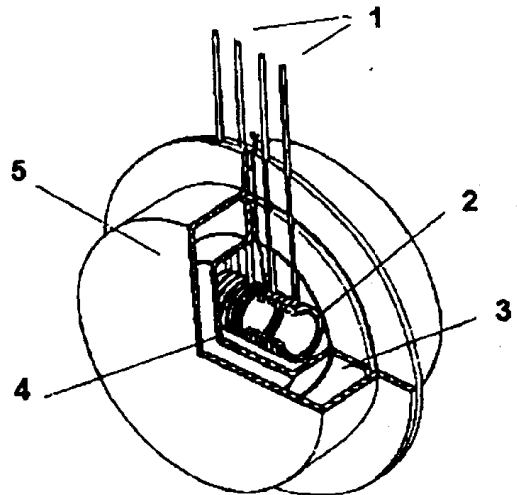
თერმულად ინდუცირებულ მოვლენებს, რომლებსაც ადგილი აქვს ნიმუშში, და არა სხვა პარამეტრებს, მაგ; კამერების არაიდენტური გათბობა და სხვა. ყველა ზემოთჩამოთვლილი თვისებების გამო საბაზისო ხაზი გამოდის მდგრადი.



სურ. 3.18 DASM 4A კალორიმეტრის ბლოკ-სქემა

1. მონოსტატი
2. თერმომეტრი
3. თვითმწერი
4. სითბური ეფექტის გამზომი
5. თერმოსტატის თერმორეგულატორი
6. ადიაბატიზირებული გარსის თერმორეგულატორი
7. მიკროკალორიმეტრის გამზომი კამერები

სურ. 3.1გ DASM 4A -ს კალორიმეტრული ბლოკი



- 1- ჩატვირთვის კაპილარები.
- 2- სპირალური კალორიმეტრული კამერა გამახურებლით.
- 3- შიდა ადიაბატური გარსი.
- 4- კამერებს შორის ტემპერატურათა სხვაობის მზომი.
- 5- გარე სითბური ეკრანი (რომელიც აღკვეთს მილის გარე ნაწილის გავლენას კამერაზე).

დიფერენციალურ კალორიმეტრთან მუშაობის ერთ-ერთი ყველაზე რთული პრობლემაა კამერების ჩატვირთვა განსაზღვრული, თანაბარი რაოდენობით: კამერებში ნიმუშის რაოდენობის ჩატვირთვის სიზუსტე არ უნდა აღემატებოდეს 10⁻⁵-ს. ცხადია, ასეთი სიზუსტის დაცვა ნიმუშების აწონვით შეუძლებელია. გარდა ამისა, არ შეიძლება კამერის ბოლომდე გავსება, რადგან სითხისა და კამერის სითბური გაფართოების კოეფიციენტი სხვადასხვაა. მეორეს მხრივ, თუ კამერაში თავისუფალ მოცულობას დავტოვებთ, მაშინ სითხის გახურებისას ხდება დამატებით ორთქლწარმოქმნა, რაზეც დამატებითი ენერგია იხარჯება. არსებობს კიდევ ერთი პრობლემა: მიუხედავად იმისა, რომ გამხსნელსა და ხსნარის ზევით ორთქლის დრეკადობა მცირედ განსხვავდება,

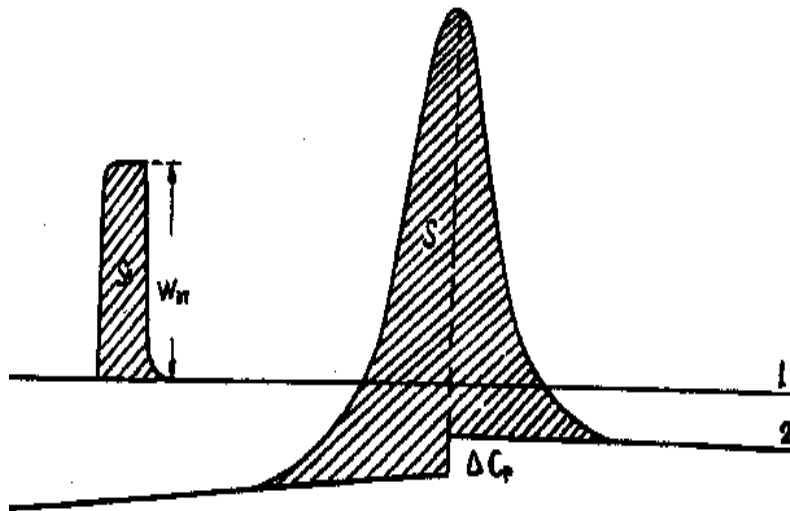
ორთქლის წარმოქმნის დიდი კუთრი სითბოს გამო, სხვაობრივი სითბური ეფექტი შესაძლებელი ხდება. ამიტომ კამერაში არ უნდა დარჩეს ჰაერის ბუშტუკები.

ამ უზუსტობების თავიდან ასაცილებლად, კამერაში ნიმუში შეჰყავთ კაპილარული მილის საშუალებით ისე, რომ ის ავსებს კამერას. გახურების პროცესში კამერაში ბუშტუკების გამოსარიცხად კაპილარული მილების გარე გამოსასვლელებს მოდებული აქვთ ჭარბი წნევა (რამდენიმე ატმ.). რადგან მოდებული წნევა არც ისე დიდია, იგი არ მოქმედებს ხსნარის სითბურ თვისებებზე. სითხეში არსებული აირის წნევასა და ჭარბ წნევას შორის სხვაობას მონოსტატი არეგულირებს. ასე რომ, ხსნარის შესაძლო გაფართოება, აორთქლება კონდენსაცია გაზომვის პროცესში გავლენას არ ახდენს კუთრი სითბოტევადობის განსაზღვრაზე (ΔC_p).

როგორც ავლინებთ, DASM 4A კალორიმეტრი დიფერენცირებული ტიპის ხელსაწყოა, ანუ ის ზომავს არა აბსოლუტურ სითბოტევადობებს, არამედ კამერებში მოთავსებულ ხსნარებს შორის სითბოტევადობების სხვაობას. თუ კამერებში მოთავსებული სითხეების სითბური თვისებები განსხვავებულია, მათი ერთნაირი სიჩქრით გაცხელებისას წარმოიშვება კამერათა შორის ტემპერატურული სხვაობა. ეს სხვაობა კამერებს შორის.

არსებული თერმოწყვილების მიერ გარდაიქმნება ელექტრულ სიგნალად. მას აძლიერებს გამაძლიერებელი და ხვდება გამახურებლის სქემაში. გამახურებლის სქემა ისე არეგულირებს გახურების დენებს, რომ კამერებს შორის ტემპერატურათა სხვაობა იყოს მინიმალური. მაკომპენსირებელი სიმძლავრის პროპორციული ძაბვა რეგისტრირდება ორკოორდინატული თვითჩამწერის ორდინატაზე, ხოლო აბსცისაზე ფიქსირდება ტემპერატურა ტემპერატურის ინდიკაციის ბლოკიდან.

სურ:3.1დ-ზე გამოსახულია ტიპური კალორიმეტრული მრუდი, რომელიც მიიღება ბიოპოლიმერების (ცილების, ნუკლეინის მჟავების და ა.შ) ხსნარების გაცხელებისას. პიკი ქვემოდან შემოსაზღვრულია ნატიური და დენატურირებული ბიოლოგიური სტრუქტურის სითბოტევადობების ექსტრაპოლაციური მნიშვნელობებით.



სურ:3.1დ ტიპური მაკროკალორიმეტრული ჩანაწერი სითბოშთანთქმის პიკით.

1-საბაზისო ხაზი.

2 -ჩანაწერის მრუდი ნიმუშისათვის.

პიკის ქვეშ მოხვედრილი ფართობის მიხედვით შეგვიძლია დავთვალოთ სითბო, რომელიც გამოიყოფა ან შთაინთქმება მაკრომოლეკულების სტრუქტურული დენატურაციის დროს: $Q=K_1S$, სადაც Q არის სითბოს რაოდენობა (დენატურაციის სითბო), S - პიკის ფართობი, K_1 - ჩანაწერის ერთეულოვანი ფართობის ფასი ენერგეტიკულ ერთეულებში. $K_1=W_{et} \cdot t/S_{et}$, W --ეტალონური სიმძლავრე, რომელიც t დროში გადაეცემა ერთერთ კამერას. მრუდის მიხედვით შეგვიძლია დავითვალოთ გახსნილი ნივთიერების პარციალური სითბოტევადობა ნებისმიერ ტემპერატურაზე შემდეგი ფორმულის მიხედვით:

$$-\Delta C = [C]_p^p \cdot m_p - [C]_p^s \cdot \Delta m_s,$$

სადაც $[C]_p^p$ და $[C]_p^s$ გახსნილი ნივთიერების და გამხსნელი ნივთიერებების პარციალური სითბოტევადობებია შესაბამისად. m_p - გახსნილი ნივთიერების მასა კამერის სამუშაო მოცულობაში, ხოლო Δm_s - მის მიერ გამოდევნილი გამხსნელის მასა. ცხადია, $m_s = m_p \frac{[V]^p}{[V]^s}$, აქ $[V]^p$ და $[V]^s$ ნიმუშის და ხსნარის პარციალური მოცულობებია შესაბამისად.

ბოლო ფორმულის გათვალისწინებით,

$$[C]_p^p = [C]_p^s \frac{[V]^p}{[V]^s} - \frac{\Delta C}{m_p}$$

სადაც, $\Delta C = k_2 h$ არის გამხსნელსა და ხსნარს შორის სითბოტევადობების სხვაობა, h -წერტილის გადახრა ბაზისური ხაზიდან ნებისმიერ ტემპერატურაზე, ხოლო k_2 – წრფიდან გადახრის ერთეულის ფასი ჯ/კსმ-ებში.

რადგან, $k_2 = W_{et}/V_{let}$ სადაც W - კალიბრული სიმძლავრეა, V – გაცხელების სიჩქარე და l_{et} – საკალიბრო ნიშნის გადახრა, საბოლოოდ მივიღებთ:

$$[C]_p^p = [C]_p^s \frac{[V]^p}{[V]^s} - \frac{W_{et} \cdot h}{V_{let} \cdot m_p}$$

კალორიმეტრულ გაზომვებში ბიოპოლიმერების ტემპერატურული გადასვლის სითბურ ეფექტებს განსაზღვრავს ენტალპიის ცვლილება (ΔH), რომელიც თან ახლავს ამ გადასვლებს

$$\Delta H = \int_{T_1}^{T_2} C_p(T) dT$$

სადაც, $C_p(T)$ –სითბოტევადობა მუდმივი წნევის დროს, იგი ტემპერატურის ფუნქციაა, ხოლო T_1, T_2 –ტემპერატურის შუალედი, რომელშიც ტარდება გაზომვები. სითბური დენატურაციის დროს ნატიურიდან დენატურირებულ მდგომარეობაში გადასვლისას ბიოპოლიმერების სითბოტევადობა იცვლება. ამ გადასვლის ენტალპიის ცვლილება გამოითვლება შემდეგი ფორმულით

$$\Delta H_{den} = \int_{T_1}^{T_2} C_p^d dT - \int_{T_1}^{T_d} C_p^n dT - \int_{T_d}^{T_2} C_p^d dT = \Delta H_d - \int_{T_1}^{T_d} \Delta C_p dT$$

სადაც, ΔH_d – გადასვლის მოლარული ენტალპია; T_d – გადასვლის ტემპერატურა (ლღობის პიკის მაქსიმუმი); C_p^n და C_p^d – ბიოპოლიმერების პარციალური სითბოტევადობებია შესაბამისად ნატიურ და დენატურირებულ მდგომარეობებში. $\Delta C_p = C_p^d - C_p^n$ არის პარციალური სითბოტევადობების სხვაობა გადასვლის T_d ტემპერატურაზე. ამავე პროცესში ენტროპიის ცვლილება შემდეგი ფორმულით გამოითვლება:

$$\Delta S_{den} = \int_{T_1}^{T_d} \frac{C_p^n}{T} dT + \frac{\Delta H_d}{T_d} + \int_{T_d}^{T_2} \frac{C_p^d}{T} dT = \frac{\Delta H_d}{T_d} - \int_{T_1}^{T_d} \frac{\Delta C_p}{T} dT$$

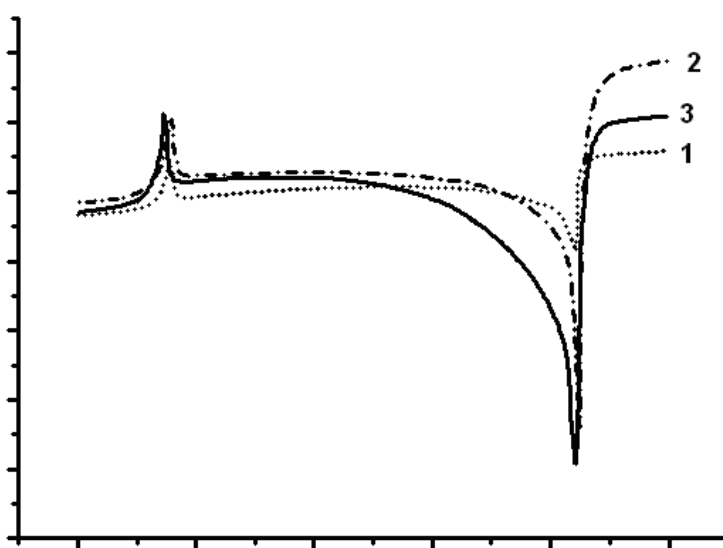
თავი IV. ექსპერიმენტული ნაწილი

4.1 PLGA ნანონაწილაკების თერმოდინამიკური თვისებები

PLGA ნანონაწილაკები მიღებული იქნა გამხსნელების აორთქლების მეთოდით. PLGA იხსნება მხოლოდ რამოდენიმე ორგანულ გამხსნელში. PLGA და PLA/PGA პროპორციებით 70/30, 50/50 და 85/15 ხსნიდნენ 5მლ ეთილ აცეტატ, ქლოროფორმ ან დიქლორმეთანში განხვავებულ პირობებში. შემდგომ წვეთ-წვეთად უმატებენ სტაბილიზირებელ პოლივინილურ სპირტს (PVA 2,5% w/v) და ირევა მაგნიტური სარევით 1000ბრ/წთ სიჩქარით - 1 საათის განმავლობაში განსხვავებულ ტემპერატურებზე. შემდეგ ხდება ემულსიის ჰომოგენიზირება (Ultra-Turrax T25, Janke & Kunkel, Germany) 13 5000 ბრ/წუთში სიჩქარით - 10 წუთის განმავლობაში. ნანოპრეციპიტაციას ამთავრებენ წყლის MiliQ დამატებით წვეთ-წვეთობით, ფრთხილი მორევის პროცესში რომ მივიღოთ საბოლოო მოცულობა 50მლ. მორევა გრძელდება ოთახის ტემპერატურე ორგანული გამხსნელების თავის არიდების მიზეზით. ნაწილაკების ზომების მიხედვით და ელექტროფორეზული მუხტით განაწილება განისაზღვრება ZetaSizer NanoZS -ის გამოყენებით, Malvern Instruments - იდან. PLGA ნანონაწილაკების თერმოდინამიკური განსხვავებულობების შესწავლისთვის, ჩატარდა ზუსტი მაღალმგრძობიარე სითბური ველის კალორიმეტრით DASM-4A.

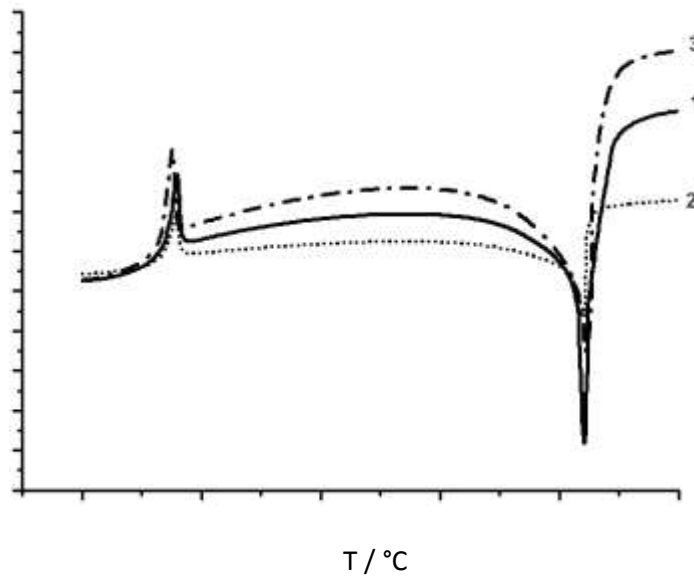
4.2 შედეგები და განხილვები

გრაფიკი 1 . აჩვენებს PLGA ნანონაწილაკების თერმულ გადნობას PLA/PGA პროპორციით 50/50 , სხვადასხვა PVA და PLGA ხსნარის ტემპერატურის შერევისას. მართალია მრუდები განსხვავდებიან მაღალი ტემპერატურის უბნებში (80-100°C) , კალორიმეტრიული მრუდებიდან ჩანს რომ , შერევის ტემპერატურები მომზადების პროცესში არ ახდენს გავლენას ნაწილაკების სტაბილურობაზე. ჰერმეტიკულობის დანგრევის ტემპერატურა ნებისმიერ შემთხვევაში არის დაახლოებით 35°C .



გრაფიკი 1 . PLGA (PLA/PGA კონცენტრაცია 50/50) ნანონაწილაკების კალორიმეტრიული მრუდები განსხვავებულ PVA და PLGA ტემპერატურის ხსნარების შერევისას : მრუდი 1, 25°C; მრუდი 2, 45°C; მრუდი 3, 1°C. გამხსნელი ეთილაცეტატი; ზომოგენიზაციის ტემპერატურა: 27°C

გრაფიკ 2 -ში კი ნაჩვენებია PLGA ნანონაწილაკების თერმული დნობა მიღებული განსხვავებულ ჰომოგენიზაციის ტემპერატურაზეა ნაჩვენები. აშკარაა, რომ ჰომოგენიზაციის ტემპერატურა არ მოქმედებს ნანონაწილაკების PLGA თერმოსტაბილურობაზე . როგორც ვახსენეთ ჰერმეტიკული ნგრევის ტემპერატურა ყველა შემთხვევაში იყო დაახლოებით 35°C

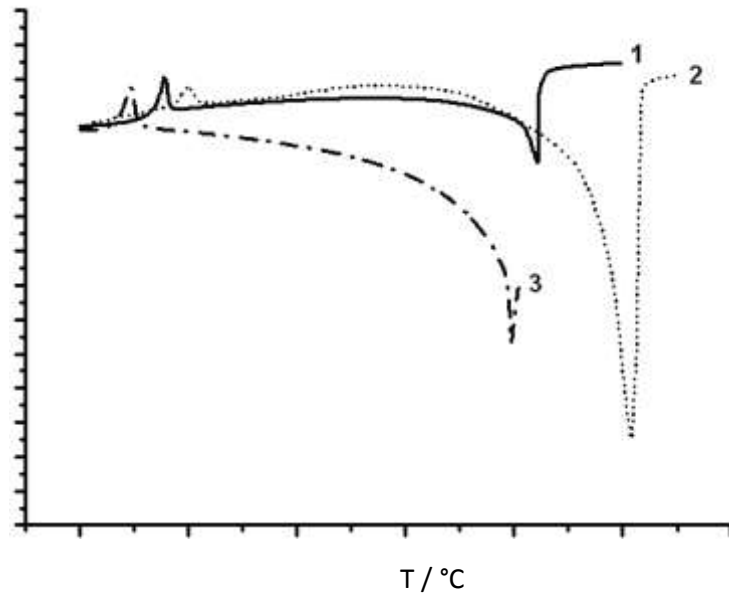


გრაფიკი 2. PLGA ნანონაწილაკები (PLA/PGA პროპორციებით 50/50) კალორიმეტრიული მრუდები (მრუდი 1, 20 °C; მრუდი 2, 27 °C; მრუდი 3, 36 °C) ჰომოგენიზაციის ტემპერატურისა. გამხსნელი:ეთილაცეტატი; შერევის ტემპერატურა:25 °C.

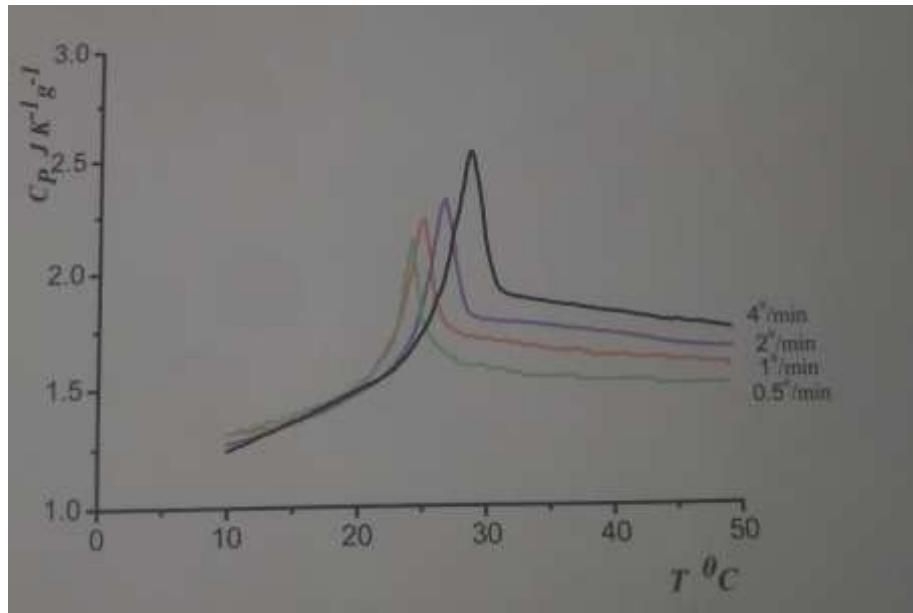
იგივე შედეგი იქნა მიღებული , როდესაც დიქლორმეტანი იყო გამოყენებული გამხსნელად მომზადების პროცესში (PLA/PGA პროპორციით 50/50). როგორც ჩანს PVA-ს და PLGA-ს ხსნარების განსხვავებული შერევის ტემპერატურა არ ახდენს გავლენას სტაბილურობაზე. ასევე ნაწილაკის თერმული სტაბილურობა ძლიერ არ არის დამოკიდებული ჰომოგენიზაციის ტემპერატურის მნიშვნელობაზე საკვლევი დიაპაზონის საზღვრებში .

რომ განვსაზღვროთ თუ როგორ არის დამოკიდებული PLGA ნანონაწილაკების თერმოდინამიკური თვისებები PLA -ის და PGA -ის პროპორციებზე , ექსპერიმენტები ტარდებოდა განსხვავებული მათი პროპორციების შემთხვევებში (85/15 , 70/30 და 50/50) , რომელთაგან ყველა იყო მიღებული ერთი და იგივე ორგანული ხსნარიდან (ეთილაცეტატი) ჰომოგენიზაციის ტემპერატურა იყო 27°C . უმაღლესი ტემპერატურული სტაბილურობა მოხდა 85/15 პროპორციისას , ჰერმეტიული დანგრევის ტემპერატურა (HDT) იყო 40.5°C. ნანონაწილაკები პროპორციით 50/50 იყვნენ ნაკლებად სტაბილურნი

(HDT იყო 35.6°C) და ყველაზე ცუდად სტაბილური იყვნენ ნანონაწილაკები პროპორციით 70/30(HTD იყო 29.2C).



გრაფიკი3. PLGA ნანონაწილაკების კალორიმეტრიული მრუდები განსხვავებული PLA/PGA პროპორციებისას: მრუდი1, 50/50; მრუდი 2, 85/15; მრუდი 3, 70/30.
გამხსნელი: ეთილაცეტატი; ჰომოგენიზაციის ტემპერატურა:27°C



გრაფიკი: 4 PLGA ნანონაწილაკების კონკრეტული თბოტევადობის ტემპერატურაზე დამოკიდებულების გრაფიკი განსხვავებული სიჩქარეებით გათბობისას

ციტოზანით დაფარული და არ დაფარული PLGA ნანონაწილაკების კალორიმეტრიულმა კვლევებმა აჩვენეს რომ გაცხელების საწყის ტემპერატურებზე ნაწილაკები იბერებიან რაც იწვევს შიდა არქიტექტურულ ცვლილებას უფრო დაბალ ტემპერატურაზე ვიდრე ფიზიოლოგიურია . არსებულ კავშირების გაწყვეტა ნანონაწილაკის კორპუსში , თანსდევს თერმოშთანთქმის პიკი , რომელიც განიცდის მნიშვნელოვან ცვლილებებს დამოკიდებულს გაცხელების სიჩქარეზე.

დასკვნა

ჩვენი კვლევის შედეგებმა აჩვენეს რომ ნანონაწილაკები წარმოადგენენ პოტენციურად სასარგებლო წამლის მიწოდების სისტემებს , რომლებსაც შეუძლიათ მიიტანონ მრავალი თერაპევტული აგენტი მიზანმიმართულად ან მაღალი გამძლეობით . კითხვები , წამლის გადამტანებზე , დღით დღე მეტ მნიშვნელობას იძენენ , ვინაიდან ხელმისაწვდომი ხდება ბევრად ეფექტური და სპეციფიკური წამლები , დაავადებებზე ინფორმაციით ხელმისაწვდომი ადამიანის გენომის პროექტიდან . ყველა თერაპევტული აგენტები ოპტიმალურად საჭიროებენ მექანიზმებს რომლებიც მიიტანენ ამ აგენტებს სამიზნე ქსოვილამდე მათი თერაპევტული ეფექტურობის შემცირების გარეშე. ამ ექსპერიმენტებიდან შეიძლება გამოვიტანოთ დასკვნა , რომ ნანონაწილაკების ჰერმეტიკული დაშლის ტემპერატურა დამოკიდებულია გარკვეულ პარამეტრებზე რომლებიც აკონტროლებენ ნანონაწილაკების მომზადების ტექნოლოგიას . ხშირ შემთხვევაში , ნანონაწილაკის სტაბილურობა არამონოტურად დამოკიდებულია PLA / PGA -ის თანაფარდობაზე . ჰერმეტიკული ნგრევის ტემპერატურა არაა დამოკიდებული ჰომოგენიზაციის ტემპერატურაზე მომზადების პროცესში , არც ხსნარის შერევისას PVA და PLGA ტემპერატურებზე. სხვა მხრივ კი ჰერმეტიკული ნგრევის შემდგომ ნანონაწილაკები განიცდიან აგრეგაციას , რომლის საწყისი ტემპერატურა დამოკიდებულია ორგანული გამხსნელის ტიპზე.

გამოყენებული ლიტერატურის ბიბლიოგრაფიული ნუსხა

- 1.M. Khvedelidze , T. Mdzinarashvili, E. Sarukhanyan, T. Partskhaladze,N. Nafee, U.F. Schaefer and M. Schneider - Influence of conditions of preparation on the thermal stability of PLGA nanoparticles Tbilisi.
- 2.Jayanth Panyam , Vinod Labhasetwar - Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue 2002.
- 3.CLAUDIO THOMASIN, HO[^] NAM-TRA[^]N, † HANS P. MERKLE, AND BRUNO GANDER* - Drug Microencapsulation by PLA/PLGA Coacervation in the Light of Thermodynamics. 1. Overview and Theoretical Considerations.
- 4.Swayam Prabha† and Vinod Labhasetwar - Nanoparticle-Mediated Wild-Type p53 Gene Delivery Results in Sustained Antiproliferative Activity in Breast Cancer Cells.
5. Sinjan De and Dennis H. Robinson - Particle Size and Temperature Effect on the Physical Stability of PLGA Nanospheres and Microspheres Containing Bodipy .
6. Jacob D. Gibson, Bishnu P. Khanal, and Eugene R. Zubarev - Paclitaxel-Functionalized Gold Nanoparticles.
7. Wim H De Jong , Paul Ja Borm – Drug delivery and nanoparticles : Applications
8. <https://en.wikipedia.org/wiki/PLGA>