

სამედიცინო დანიშნულების ნანო- და მიკრონაწილაკები ბიოდეგრადირებადი
ამინომჟავური პოლიმერების საფუძველზე: მიღება და კვლევა

თემურ ქანთარია

*სადისერტაციო ნაშრომი წარდგენილია
საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის
და თბილისის თავისუფალი უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებების საბჭოზე
ქიმიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად*

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: რამაზ ქაცარავა, ქიმ. მეცნ. დოქტორი, პროფესორი

საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი
&
თბილისის თავისუფალი უნივერსიტეტი

თბილისი, 2018

დისერტანტი: თემურ ქანთარია

დისერტაციის სათაური: სამედიცინო დანიშნულების ნანო- და მიკრონაწილაკები
ბიოდეგრადირებადი ამინომჟავური პოლიმერების
საფუძველზე: მიღება და კვლევა

დისერტაციის დაცვის თარიღი:

რეკომენდებულია დაცვისათვის საბუნებისმეტყველო სამეცნიერო მიმართულების
კომისიის მიერ.

თავჯდომარე, გიორგი ტიტვინიძე : _____
(ხელმოწერა)

წევრი, ელიზბარ ელიზბარაშვილი: _____
(ხელმოწერა)

წევრი, რევაზ კორაშვილი: _____
(ხელმოწერა)

სადოქტორო სკოლის კოორდინატორი: _____ ნატო კობახიძე
(ხელმოწერა)

თარიღი:

ავტორის დეკლარაცია

"როგორც წარმოდგენილი სადოქტორო დისერტაციის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ჩემი დისერტაცია წარმოადგენს ორიგინალურ ნაშრომს და მასში სხვა ავტორების აქამდე გამოქვეყნებული, გამოსაქვეყნებლად მიღებული ან დასაცავად წარდგენილი მასალები გამოყენებულია ციტირების სათანადო წესების დაცვით."

თემურ ქანთარია

(ხელმოწერა)

თარიღი:

აბსტრაქტი

წინამდებარე ნაშრომი ეძღვნება სამედიცინო დანიშნულების ნანო- და მიკრომასშტაბური ნაწილაკების შემუშავებას ბუნებრივი ამინომჟავების შემცველი ბიოდეგრადირებადი პოლიმერების (Amino Acid Based Biodegradable Polymers – **AABBP**) – პოლიესტერამიდებისა და პოლიესტერშარდოვანების საფუძველზე და მიღებული ნაწილაკების კვლევას.

წამლის გადამტანი ნანო- და მიკრომასშტაბური კონტეინერების შემუშავება დღეისათვის მეტად აქტუალურია, ვინაიდან თანამედროვე მედიკამენტოზური თერაპიის ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს პრობლემას წარმოადგენს წამლის მიზანმიმართული მოწოდება. წამლების გადამტანი კონტეინერების დასამზადებლად დღეისათვის გამოიყენება სხვადასხვა წარმოშობის დეგრადირებადი თუ არადეგრადირებადი პოლიმერები. ამ პოლიმერებს შორის ყველაზე პერსპექტიულად განიხილებოდა პოლიესტერების კლასის სინთეზური ბიოდეგრადირებადი პოლიმერები, როგორებიცაა პოლიკაპროლაქტონი, პოლირძის მჟავა, პოლიგლიკოლის მჟავა და სხვ. მაგრამ გაირკვა, რომ პოლიესტერების კლასის პოლიმერები დეგრადაციის შედეგად გამოყოფენ ტოქსიკურ მჟავა პროდუქტებს, რომლებიც იწვევენ არასასურველ ფენოტიპურ ცვლილებებს უჯრედებში. აღნიშნულის გამო ყურადღებას იქცევს ჰეტეროჯაჭვური ბიოდეგრადირებადი პოლიმერების სხვა კლასები - პოლიესტერამიდები და პოლიესტერშარდოვანები, რომლებსაც პოლიესტერებთან შედარებით ახასიათებთ უკეთესი ბიოშეთავსებადობა და სამასალე თვისებების უფრო ფართო სპექტრი.

სადისერტაციო კვლევის ფარგლებში მივიღეთ **AABBP**-ის ნანონაწილაკები ე. წ. პოლიმერის გამოლექვის/გამხსნელის გამოდევნის (ნანოპრეციპიტაციის) მეთოდის გამოყენებით და შევისწავლეთ მიღების პროცესში სხვადასხვა ფაქტორების, მათ შორის სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების, გავლენა ნანონაწილაკების ფორმირებაზე (მათ ძირითად პარამეტრებზე - საშუალო დიამეტრსა და პოლიდისპერსიულობაზე) და დავადგინეთ ნანონაწილაკების მიღების ოპტიმალური პირობები. შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ნანონაწილაკების მიღების პროცესში სხვადასხვა

ფაქტორებისა და ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების ცვლილებით შესაძლოა ნაწილაკების ძირითადი მახასიათებლების კონტროლირებადი ვარირება ფართო ზღვრებში. კვლევის ფარგლებში ასევე მივიღეთ **8L6** პოლიესტერამიდის (კვლევების საფუძველზე შერჩეული ოპტიმალური **AABBP**) მიკრონაწილაკები (მიკროკაფსულები), ე. წ. წყალი/ცხიმი/წყალი ორმაგი ემულსიის-გამხსნელის აორთქლების მეთოდით. მიკრონაწილაკების შემთხვევაშიც ჩავატარეთ სხვადასხვა ფაქტორების გავლენისა და მიღების ოპტიმალური პირობების დადგენის ანალოგიური სისტემატური კვლევა.

კვლევების საფუძველზე შევარჩიეთ ნანო- და მიკრონაწილაკების კონსტრუირებისათვის ოპტიმალური **AABBP** – პოლიესტერამიდი **8L6**, რომელიც მიღებულია ამინომჟავა L-ლეიცინის, სეზცინის მჟავასა და 1,6-ჰექსანდიოლის საფუძველზე. აღნიშნული პოლიმერი წარმოქმნის ოპტიმალური პარამეტრების მქონე სტაბილურ და ბიოშეთავსებად ნანო- და მიკრონაწილაკებს. დავადგინეთ მიღებული ნანო- და მიკრონაწილაკების ძირითადი პარამეტრები (საშუალო დიამეტრი, პოლიდისპერსიულობა და ა. შ.) შესაბამისი ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდების გამოყენებით და შევისწავლეთ მათი მორფოლოგია. კვლევის ფარგლებში ასევე შესწავლილია ნანო- და მიკრონაწილაკების სტაბილურობა სხვადასხვა პირობებში შენახვისას და დადგენილია მათი შენახვის ოპტიმალური პირობები. მივიღეთ ასევე PEG-ილირებული და დადებითად დამუხტული **8L6**-ის და **8L6/8R6**-ის ნანონაწილაკები. PEG-ილირება განვახორციელეთ ჩვენ მიერ შემუშავებული PEG-ილირების ახალი აგენტის – ბიოდეგრადირებადი PEG-ილირებული თანა-პოლიესტერამიდის ($[(8L6)_{0.5}-[tES-L6]_{0.5}]$) გამოყენებით. შედეგებმა გვიჩვენა, რომ PEG-ილირების ახალ აგენტს გააჩნია ზან-ის თვისებები – წარმოქმნის მიცელებს და ასტაბილიზირებს ნანონაწილაკებს. შესწავლილია ასევე **AABBP**-ს ნანონაწილაკების in vitro ბიოშეთავსებადობა სტაბილურ უჯრედულ ხაზებზე (HeLa, A549, RAW264.7 და Hepa 1-6 ხაზები).

საძიებო სიტყვები: 1. ბიოდეგრადირებადი პოლიმერები, 2. ნანონაწილაკები, 3. მიკროკაფსულები, 4. სისტემატური კვლევა, 5. ბიოშეთავსებადობა.

Abstract

The present work is dedicated to the elaboration and research of nano- and microparticles for medical applications made of amino acid based biodegradable polymers (**AABBP**) – *poly(ester amide)s* (**PEAs**), and *poly(ester urea)s* (**PEUs**).

The elaboration of nano- and microscale drug delivery vehicles is very actual nowadays since targeting drug delivery is one of the most important problems of the state-of-the-art drug therapy. Various degradable and non-degradable polymers of both natural and synthetic origin were used for constructing drug delivery containers. The most promising are synthetic biodegradable polymers such as poly(epsilon-caprolactone), poly(lactic acid) and poly(lactic-co-glycolic acid), etc. These polyester class of biomaterials, however, produce acidic products during degradation that are considered to be toxic and induce undesired phenotype modulation in cells. Hence, other classes of hetero-chain biodegradable polymers – **PEAs** and **PEUs**, which showed better biocompatibility compared to polyesters along with wider range of material properties, look more promising.

Within the framework of this study we have obtained biodegradable nanoparticles (NPs) of **AABBP** using nanoprecipitation method and studied the influence of various physical-chemical parameters on the formation of NPs. The optimal conditions for NPs' preparation have been established and it has been shown that sizes of the NPs could be tuned within a wide range depending on the fabrication conditions. Microparticles (microcapsules) on the basis of **PEA 8L6** (selected optimal **AABBP**) have also been fabricated using water-in-oil-in-water (W/O/W) double emulsion-solvent evaporation method and a systematic study of the microparticles' formation process has been performed as well.

PEA 8L6 composed of L-leucine, 1,6-hexanediol and sebacic acid has been selected as the most suitable for fabricating nano- and microparticles. The morphology of the obtained particles has been studied, their stability upon storage has been tested, and the optimal storage conditions have also been established. Furthermore, positively charged polyethylene

glycol-coated (PEGylated) NPs based on **8L6** and **8R6** polymeric blends have been fabricated using originally developed PEGylating agent – biodegradable PEGylated co-**PEA** (**[8L6]_{0,5}-[8R6]_{0,5}**). Finally, the *in vitro* biocompatibility study of the fabricated **AABBP** NPs has been carried out using four established cell lines – HeLa, A549, RAW264.7 and Hepa 1-6.

Key Words: 1. biodegradable polymers, 2. nanoparticles, 3. microcapsules, 4. systematic study, 5. biocompatibility.

მადლობა

უპირველესად, უდიდესი მადლობა მსურს გადავუხადო თემის ხელმძღვანელს, ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორს, პროფ. რ. ქაცარავას მუშაობის სწორად წარმართვის, სამუშაო პირობების უზრუნველყოფის, სასარგებლო რჩევა-დარიგებების, შეუფასებელი მითითებების, ზრუნვისა და მხარდაჭერისათვის.

მადლიერება მინდა გამოვხატო საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის ქიმიისა და მოლეკულური ინჟინერიის ინსტიტუტის თითოეული თანამშრომლის მიმართ სამუშაოს შესრულების პერიოდში თანადგომისა და ხელშეწყობისათვის. ასევე მსურს მადლიერება გამოვხატო საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის უჩრედული იმუნოლოგიის ლაბორატორიის უფროსის პროფ. ნ. კულიკოვას მიმართ ნაწილობრივ ბიოლოგიური კვლევების ჩატარებისათვის.

დიდ მადლობას ვუძღვნი ჩემს მშობლებს, დას და ძმას — უდიდესი ამაგის, თანადგომისა და მზრუნველობისათვის.

სარჩევი

დარგობრივი კომისიის რეკომენდაცია	ii
ავტორის დეკლარაცია	iii
აბსტრაქტი	iv
მადლობა.....	viii
სარჩევი.....	ix
ცხრილების სია.....	xi
ნახაზების სია.....	xiii
სქემების სია	xiv
სურათების სია	xv
აბრევიატურა	xvi
1. შესავალი.....	1
2. სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა	8
2.1. წამლის მიმწოდებელი სისტემები	8
2.1.1. პოლიმერული ნანონაწილაკები	8
2.1.2. პოლიმერული მიკრონაწილაკები	15
2.1.3. პოლიმერული მიცელები	25
2.1.4. ლიპოსომები	27
2.2. ნანო- და მიკრონაწილაკების მიღების მეთოდები სინთეზური პოლიმერების საფუძველზე.....	30
2.2.1. პოლიმერის გამოლექვის/გამხსნელის გამოდევნის მეთოდი (ნანოპრეციპიტაციის მეთოდი).....	31
2.2.2. ემულსიფიკაციის/გამხსნელის აორთქლების მეთოდი.....	32
2.2.3. ემულსიფიკაციის/გამხსნელის დიფუზიის მეთოდი	34
2.2.4. გამომარილების მეთოდი	35
2.2.5. გაფრქვევის მეთოდი	36
2.2.6. ნანონაწილაკების მიღება მონომერების პოლიმერიზაციით	38
2.2.7. ნანონაწილაკების მიღება ზეკრიტიკული სითხეების გამოყენებით	41
2.3. ნანო- და მიკრონაწილაკების ურთიერთქმედება სისხლის პლაზმის ცილებთან	42
3. მასალები და მეთოდები	48
3.1. ნანონაწილაკების მისაღებად გამოყენებული მასალები	48
3.2. ნანონაწილაკების მიღების ზოგადი მეთოდიკა	50
3.3. ნანონაწილაკების ზომების, პეტა-პოტენციალის, პოლიდისპერსიულობის ინდექსისა და მორფოლოგიის შესწავლა.....	51
3.4. ციტოტოქსიკურობის შესწავლის მეთოდიკა (MTT-ანალიზი).....	52
3.5. ნანონაწილაკების ქსოვილებში შეღწევადობის შესწავლის მეთოდიკა	53
3.6. პოლიმერების მოლეკულური მასების განსაზღვრის მეთოდიკა.....	54
3.7. მიკროკაფსულების მისაღებად გამოყენებული მასალები	55
3.8. მიკროკაფსულების მიღების ზოგადი მეთოდიკა	55
3.9. მიკროკაფსულების ზომების, ზომების განაწილების და მორფოლოგიის შესწავლა	56
3.10. სუსპენზიის მოცულობის ერთეულში მიკროკაფსულების რაოდენობისა და თავისუფალი მოცულობის გაანგარიშების მეთოდიკა	57
4. შედეგები და მათი განსჯა.....	58

4.1. ნანონაწილაკების მისაღებად პოლიმერების შერჩევა	58
4.2. ნანონაწილაკების მისაღებად ორგანული გამხსნელის შერჩევა	59
4.3. სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების გავლენა ნანონაწილაკების ფორმირებაზე.....	60
4.3.1. ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა	60
4.3.2. ორგანულ ფაზაში პოლიმერის ბუნების გავლენა	62
4.3.3. წყლის ფაზაში ზან-ების კონცენტრაციის გავლენა	63
4.3.4. ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენა	64
4.3.5. ორგანული/არაორგანული ფაზების თანაფარდობის გავლენა	66
4.3.6. წყლის ფაზაში ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარის გავლენა.....	67
4.3.7. წყლის ფაზის მორევის სიჩქარის გავლენა.....	68
4.4. ნანონაწილაკების მიღება ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით	69
4.5. ნანონაწილაკების ძეტა-პოტენციალი.....	71
4.6. ნანონაწილაკების სტაბილურობა შენახვისას.....	72
4.7. დადებითად დამუხტული ნანონაწილაკების მიღება.....	75
4.8. ნანონაწილაკების მორფოლოგია.....	76
4.9. ნანონაწილაკების უჯრედებთან შეთავსებადობის შესწავლა	77
4.10. ნანონაწილაკების ქსოვილებში შეღწევადობის შესწავლა.....	80
4.11. ნანონაწილაკების PEG-ილირება.....	81
4.12. მიკროკაფსულების მისაღებად პოლიმერის შერჩევა	85
4.13. სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების გავლენა მიკროკაფსულების ფორმირებაზე.....	85
4.13.1. ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა	85
4.13.2. მეორად წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაციის გავლენა	86
4.13.3. ზან-ების ბუნების გავლენა	89
4.13.4. ჰომოგენიზაციის სიჩქარის გავლენა.....	90
4.13.5. მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარის გავლენა	91
4.14. მიკროკაფსულების რესუსპენდირებადობა დაყოვნების/დალექვის შემდეგ....	92
4.15. მიკროკაფსულების რესუსპენდირებადობა ლიოფილიზაციის შემდეგ	93
4.16. მიკროკაფსულების სტაბილურობა შენახვისას.....	95
4.17. მიკროკაფსულების მორფოლოგია.....	98
4.18. სუსპენზიის მოცულობის ერთეულში მიკროკაფსულების რაოდენობისა და თავისუფალი მოცულობის გაანგარიშება შიდა დიამეტრსა და კედლის სისქეზე დამოკიდებულებით	99
5. დასკვნები	106
ბიბლიოგრაფია.....	108

ცხრილების სია

1: ნნ-ის მისაღებად გამოყენებული AABB პოლიმერების მოლეკულური მასები.....	58
2: AABB პოლიმერების ხსნადობა ორგანულ გამხსნელებში.....	59
3: 1F6 და 4F4 პოლიმერების გამოლექვა წყალში (ზან-ების გარეშე).....	61
4: AABB პოლიმერების ბუნების გავლენა ნნ-ის ფორმირებაზე.....	62
5: ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენა 1F6 ნნ-ის ფორმირებაზე.....	65
6: ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენა 1L6 ნნ-ის ფორმირებაზე.....	65
7: ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენა 4F4 ნნ-ის ფორმირებაზე.....	66
8: ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენა 8L6 ნნ-ის ფორმირებაზე.....	66
9: ორგანული და წყლის ფაზების მოცულობითი თანაფარდობის (O/W) გავლენა 1F6 ნნ-ის და 4F4 ნნ-ის ფორმირებაზე.....	67
10: ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით (NM) და ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (MNM) მიღებული 1F6 ნნ-ის შედარება.....	70
11: ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით (NM) და ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (MNM) მიღებული 1L6 ნნ-ის შედარება.....	71
12: ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით (NM) და ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (MNM) მიღებული 4F4 ნნ-ის შედარება.....	71
13: ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით (NM) და ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (MNM) მიღებული 8L6 ნნ-ის შედარება.....	71
14: AABB პოლიმერებისგან მიღებული ნნ-ის ძეტა-პოტენციალი.....	72
15: 1F6 ნნ-ის სტაბილურობა შენახვისას.....	73
16: 1L6 ნნ-ის სტაბილურობა შენახვისას.....	73
17: 4F4 ნნ-ის სტაბილურობა შენახვისას.....	74
18: 8L6 ნნ-ის სტაბილურობა შენახვისას.....	74
19: 8L6/8R6 პოლიმერების ნარევისგან მიღებული ნნ-ის ძეტა-პოტენციალი.....	76
20: კვლევაში გამოყენებული სტანდარტული ზან-ებისა და ახალი ბიოდეგრადირებადი ზან-ის მიცელების მახასიათებლები.....	83
21: ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით (NM) და ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (MNM) მიღებული 8L6-ისა და 8L6/8R6-ის PEG-ილირებული ნნ.....	84
22: PEG-ილირებული ნნ-ის სტაბილურობა შენახვისას.....	84
23: ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა მცირე ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.....	86
24: ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა დიდი ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.....	86
25: წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაციის გავლენა მცირე ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.....	88
26: წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაციის გავლენა დიდი ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.....	88
27: ზან-ების ბუნების გავლენა პირველად და მეორეულ წყლის ფაზაში მცირე ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.....	89

28: ჰომოგენიზაციის სიჩქარის გავლენა მცირე ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.....	91
29: მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარის გავლენა დიდი ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.....	92
30: მცირე ზომის მკ-ის რესუსპენდირებადობა 48 სთ დაყოვნების/დალექვის შემდეგ.....	93
31: მკ-ის რესუსპენდირებადობა დიალიზისა და ლიოფილიზაციის შემდეგ.....	95
32: 10°C-ზე შენახული 8L6 მკხვილი მკ-ის სტაბილურობა.....	96
33: -18°C-ზე შენახული 8L6 მკხვილი მკ-ის სტაბილურობა.....	97
34: 10°C-ზე შენახული ლიოფილურად გაშრობილი 8L6 მკხვილი მკ-ის სტაბილურობა.....	97
35: თეორიული გათვლების შედეგები მკ-ისთვის, რომელთა კედლის სისქე შიდა დიამეტრის 5%-ს შეადგენს ($k = 0,05$), ხოლო მკ-ის კონცენტრაცია (ანუ გამოყენებული პოლიმერის მასა) $Q_{MS} = 20$ მგ/მლ.....	104
36: თეორიული გათვლების შედეგები მკ-ისთვის, რომელთა კედლის სისქე შიდა დიამეტრის 10%-ს შეადგენს ($k = 0,10$), ხოლო მკ-ის კონცენტრაცია (ანუ გამოყენებული პოლიმერის მასა) $Q_{MS} = 20$ მგ/მლ.....	104
37: თეორიული გათვლების შედეგები მკ-ისთვის, რომელთა კედლის სისქე შიდა დიამეტრის 5%-ს შეადგენს ($k = 0,05$), ხოლო მკ-ის კონცენტრაცია (ანუ გამოყენებული პოლიმერის მასა) $Q_{MS} = 50$ მგ/მლ.....	104
38: თეორიული გათვლების შედეგები მკ-ისთვის, რომელთა კედლის სისქე შიდა დიამეტრის 10%-ს შეადგენს ($k = 0,10$), ხოლო მკ-ის კონცენტრაცია (ანუ გამოყენებული პოლიმერის მასა) $Q_{MS} = 50$ მგ/მლ.....	105

ნახაზების სია

1: გამხსნელის გამოდევნის (ნანოპრეციპიტაციის) მეთოდი.....	31
2: ემულსიფიკაციის/გამხსნელის აორთქლების მეთოდი.....	33
3: გამომარილების მეთოდი.....	35
4: მნ-ის ფორმირება ხსნარიდან (A) და დისპერსიიდან (B) გაფრქვევის მეთოდით.....	37
5: ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა 1F6 ნნ-ის ფორმირებაზე სხვადასხვა ზან-ის თანაობისას.....	61
6: ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა 4F4 ნნ-ის ფორმირებაზე სხვადასხვა ზან-ის თანაობისას.....	61
7: წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაციის გავლენა 1F6 ნნ-ის (A) და 4F4 ნნ-ის (B) ფორმირებაზე.....	63
8: წყლის ფაზაში ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარის გავლენა 1F6 ნნ-ის (A) და 4F4 ნნ-ის (B) საშუალო დიამეტრზე.....	68
9: წყლის ფაზის მორევის სიჩქარის გავლენა 1F6 ნნ-ის (A) და 4F4 ნნ-ის (B) ფორმირებაზე.....	69
10: სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა (%) სხვადასხვა ტიპის ზან-ების თანაობისას (2,5 მკგ/მლ) 24 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ: (A) HeLa უჯრედული ხაზი; (B) Hepa 1-6 უჯრედული ხაზი; (C) A549 უჯრედული ხაზი; (D) RAW264.7 უჯრედული ხაზი.....	78
11: სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა (%) სხვადასხვა ტიპის ნნ-ებთან (5,0 მკგ/მლ) 24 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ: (A) HeLa უჯრედული ხაზი; (B) Hepa 1-6 უჯრედული ხაზი; (C) A549 უჯრედული ხაზი; (D) RAW264.7 უჯრედული ხაზი.....	79
12: სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა (%) 8L6 ნნ-ებთან (5,0 მკგ/მლ) 96 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ: (A) A549 უჯრედული ხაზი; (B) Hepa 1-6 უჯრედული ხაზი; (C) RAW264.7 უჯრედული ხაზი.....	80
13: მკ-ის სქემატური გამოსახულება.....	100

სქემების სია

1: ნნ-ის მისაღებად ფართოდ გამოყენებადი ბიოდეგრადირებადი პოლიმერები: ალიფატური პოლიესრერები.....	11
2: PEA თანაპოლიმერის სტრუქტურა.....	22
3: ნნ-ის მისაღებად გამოყენებული ზან-ები.....	49
4: ნნ-ის მისაღებად გამოყენებული AABB პოლიმერების სტრუქტურები.....	49
5: დადებითად დამუხტული ნნ-ის მისაღებად გამოყენებული კატიონური AABB პოლიმერის (8R6) სტრუქტურა.....	49
6: ახალი ბიოდეგრადირებადი ზან-ის PEG-coPEA-ს სინთეზი.....	82

სურათების სია

- 1: მასკანირებული ელექტრონული მიკროსკოპით მიღებული PLGA-ს მიკროსფეროების მიკროფოტოგრაფიები: A - 1%-იანი პოლივინილის სპირტის წყალხსნარში დამზადებული (გადიდება 2000x); B - ბაქტერიოფაგების კონცენტრატში დამზადებული (გადიდება 3000x); C და D - ბაქტერიოფაგების კონცენტრატში დამზადებული (გადიდება 3500x).....19
- 2: მასკანირებული ელექტრონული მიკროსკოპით მიღებული PEA-ს მს-ის მიკროფოტოგრაფიები და ნაწილაკების ზომების განაწილება.....23
- 3: ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით მიღებული 8L6 ნნ-ის (A) და 1L6 ნნ-ის (B) მიკროფოტოგრაფიები.....76
- 4: Hepa 1-6 უჯრედული ხაზისგან მიღებული 5 დღის სფეროიდები, Phase-Contrast Microscopy, Nikon TMS: (A) X10; (B) X40; (C) ღვიძლის უჯრედების სფეროიდის ულტრათხელი ანათლების ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპით მიღებული მიკროფოტოგრაფია. სფეროიდები 24 სთ-ის განმავლობაში ინკუბირებული იქნა 8L6 ნნ-ებთან კონცენტრაციით 5,0 მკგ/მლ.....81
- 5: დიდი ზომის მკ-ის მიკროფოტოგრაფიები (გადიდება X 200); A, B - გორიაევის ბადეზე; C, D - სასაგნე მინაზე; მკ-ის საშუალო დიამეტრი (საიზერით დადგენილი) – 66 მკმ.....98

აბრევიატურა

- ნნ - ნანონაწილაკები
- მნ - მიკრონაწილაკები
- მს - მიკროსფეროები
- მკ - მიკროკაფსულები
- მკლ - მიკროლიტრი
- მვ - მილივოლტი
- ნმ - ნანომეტრი
- მკმ - მიკრომეტრი
- ზან - ზედაპირულად აქტიური ნივთიერება
- AABBP - Amino Acid Based Biodegradable Polymers, ბიოდეგრადირებადი პოლიმერები ამინომჟავების საფუძველზე
- PEAs - Poly(ester amides), პოლიესტერამიდები
- PEUs - Poly(ester ureas), პოლიესტერშარდოვანები
- PEURs - Poly(ester urethanes), პოლიესტერურეთანები
- PLA - Poly(lactic acid), პოლირძემჟავა
- PLGA - Poly(lactic-co-glycolic acid), პოლი-რძე-თანა-გლიკოლის მჟავა
- PGA - Poly(glycolic acid), პოლიგლიკოლის მჟავა
- PCL - Polycaprolactone, პოლი(ε-კაპროლაქტონი)
- PEG - Polyethylene glycol, პოლიეთილენგლიკოლი
- PMMA - Poly(methyl methacrylate), პოლიმეთილმეთაკრილატი
- PACA - Poly(alcyl cyanoacrylate), პოლიალკილციანოაკრილატი
- PECA - Poly(ethyl cyanoacrylate), პოლიეთილციანოაკრილატი
- PVA - Polyvinyl alcohol, პოლივინილის სპირტი
- O - Oil, ცხიმი
- W - Water, წყალი
- O/W - Oil-in-water, ცხიმი/წყალი
- W/O/W - Water-in-oil-in-water, წყალი/ცხიმი/წყალი
- ICH - International Conference on Harmonization
- GRFs - Growth Hormone -Releasing Factor, ზრდის ჰორმონი - რელიზინგ ფაქტორი
- TEM - Transmission Electron Microscopy, ტრანსმისიური ელექტრონული მიკროსკოპია
- DLS - Dynamic Light Scattering, დინამიკური შუქგაბნევა
- PDI - Polydispersity Index, პოლიდისპერსიულობის ინდექსი
- DMF - N,N-dimethylformamide, N,N-დიმეთილფორმამიდი
- DMSO - Dimethyl sulfoxide, დიმეთილსულფოქსიდი
- F - ამინომჟავა L-ფენილალანინი
- L - ამინომჟავა L-ლეიცინი
- R - ამინომჟავა L-არგინინი
- SD - Standard Deviation, სტანდარტული გადახრა

- **MTT** - (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), (3-(4, 5-დიმეთილთიაზოლილ-2)-2,5-დიფენილტეტრაზოლიუმის ბრომიდი
- **OD** - Optical Density, ოპტიკური სიმკვრივე
- **DMEM** - Dulbecco's Modified Eagle Medium, დიულბეკოს მოდიფიცირებული საკულტივაციო არე
- **PBS** – Phosphate Buffer Solution, ფოსფატის ბუფერი
- **MWD** – Molecular Weight Distribution, მოლეკულური მასების განაწილება
- **DCM** – Dichloromethane, დიქლორმეთანი
- **DSPE-MPEG** – 1,2-diester oil-phosphatidylethanolamine-methoxiglycolcarbamate, 1,2-დიესტერილ-ფოსფატიდილეთანოლამინის მეთოქსიგლიკოლკარბამატი
- **NM** – Nanoprecipitation Method, ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით
- **MNM** – Modified Nanoprecipitation Method, ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდი
- **CREKA** – Cysteine-Arginine-Glutamic acid-Alanine Peptide, ცისტეინი-არგინინი-გლუტამინის მჟავა-ალანინი პეპტიდი
- **DX** – Dexamethasone, დექსამეტაზონი
- **NGF** – Nerve Growth Factor, ნერვის ზრდის ფაქტორი
- **BBB** – Blood Brain Barrier, ჰემატოენცეფალური ბარიერი.

1. შესავალი

მედიკამენტოზური თერაპიის ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი პრობლემაა ორგანიზმისთვის წამლების სელექციური (მიზანმიმართული) მიწოდების საკითხი, ვინაიდან ტრადიციული პრეპარატების უმეტესობა მოქმედებს სამიზნეზე და იძლევა სასურველ ეფექტს, მაგრამ, ამავე დროს მოქმედებს ორგანიზმის სხვა სისტემებზე და იწვევს არასასურველ გართულებებს. თეორიულად სელექციური მიწოდება შეიძლება მიღწეულ იქნეს ორი სხვადასხვა გზით: პრეპარატისადმი ორგანოების განსხვავებული მგრძნობელობის ან პრეპარატის განსხვავებული (მიზანმიმართული) მიწოდების გზით. სხვა სიტყვებით რომ ვთქვათ, შეიძლება გამოვიყენოთ წამლები, რომლებიც ვრცელდება მთელ ორგანიზმში, მაგრამ აქტიურ ზემოქმედებას ახდენენ მხოლოდ სამიზნეზე, ან ისეთები, რომლებსაც პოტენციურად უნარი შესწევთ იმოქმედონ მრავალ ორგანოზე, მაგრამ მოწყობილნი არიან ისე, რომ აღწევენ მხოლოდ სამიზნეს (ქაცარავა და სხვები 2009, 117).

ტრადიციულად, თერაპიაში უმეტესწილად გამოიყენება პირველი ტიპის წამლები. ასეთებია, მაგალითად, ანტიბაქტერიული პროპარატები, რომლებიც მოქმედებენ პროკარიოტულ (ბაქტერიულ) უჯრედებზე და ნაკლებად ვნებენ ეუკარიოტულ (ადამიანისა თუ ცხოველის) უჯრედებს. ცხადია რომ მედიკამენტოზური თერაპიის ეფექტურობა მნიშვნელოვნად გაიზრდება, თუ წამლებს ექნებათ მიზანმიმართული მიწოდების მექანიზმი. წამლებისთვის ასეთი „მაგიური ტყვიის“ თვისებების მინიჭებაზე ოცნება სათავეს იღებს Ehrlich¹-ის დროიდან, მაგრამ ამ იდეის რეალიზაცია მხოლოდ ბოლო წლებში დაიწყო. გადაუჭარბებლად შეიძლება ითქვას, რომ მიზანმიმართული მოქმედების პრეპარატების შექმნა თერაპიაში რევოლუციის ტოლფასია (ქაცარავა და სხვები 2009, 117-18). ცნობილია, რომ წამლის ფარმაკოლოგიური ეფექტი განისაზღვრება წამლის დოზირებით (ჭუმბურიძე 1992; Харкевич 1999). დადგენილია, რომ თერაპევტული ეფექტი ვლინდება წამლის გარკვეულ კონცენტრაციულ ზღვრებში ($C_{min} - C_{max}$) (Thomson et al. 2000, 251-65). როდესაც

¹ P. Erlich (1854-1915) - გერმანელი ბაქტერიოლოგი და ქიმიოთერაპევტი, ნობელის პრემიის ლაურეატი ფიზიოლოგიასა და მედიცინაში (1908 წ). მისი ძირითადი ნაშრომები ეძღვნება იმუნიტეტის პრობლემების შესწავლას, ინფექციური დაავადებების მკურნალობის მეთოდების შემუშავებას. იგი ითვლება ქიმიოთერაპიის ფუძემდებლად.

წამლის კონცენტრაცია C არის $C_{\min} < C < C_{\max}$ ზღვრებში, ვლინდება ფარმაკოლოგიური ეფექტი (თერაპევტული კონცენტრაცია). თუ $C > C_{\max}$ შესაძლოა ორგანიზმის ინტოქსიკაცია, ხოლო თუ $C < C_{\min}$ ფარმაკოლოგიური მოქმედება არ აღინიშნება. აქედან გამომდინარე, დღის წესრიგში დგას ისეთი სამკურნალწამლო ფორმების შექმნის აუცილებლობა, რომლებიც იმოქმედებენ ხანგრძლივად და უზრუნველყოფენ სისხლში წამლის თერაპევტული კონცენტრაციის შენარჩუნებას სასურველი დროის განმავლობაში (ქებაძე და ქაცარავა 2013, 3).

წამლების მიზანმიმართული მიწოდების ერთ-ერთი ეფექტური გზაა სხვადასხვა სახის მატარებლების გამოყენება, რომლებსაც წამლის მიმწოდებელი სისტემები ეწოდება. დღეისათვის შემუშავებულია წამლის მიწოდების სხვადასხვა სისტემები, რომლებიც მიღებულია როგორც სინთეზური, ასევე ბუნებრივი წარმოშობის მასალებისგან: ცხრიმოვანი ლიპოსომები, პოლიმერული დენდრიმერები, სხვადასხვა ემულსიები, პოლიმერული ნანონაწილაკები (ნნ) (ნანოსფეროები/ნანოკაფსულები) (Sahoo, Dilnawaz, and Krishnakumar 2008), პოლიმერული მიკრონაწილაკები (მნ) – მიკროსფეროები (მს)/მიკროკაფსულები (მკ), ლითონების ნნ და სხვ. (ქაცარავა და სხვები 2009, 118). ლიპოსომები და ლიპოსომების ემულსიები ნაკლებად პოპულარულია მათი ხანმოკლე სიცოცხლისუნარიანობის, წამლით შეზღუდული დატვირთვის უნარის და სტერილიზაციასთან დაკავშირებული პრობლემების გამო (Bochet et al. 2002).

წამლის მიწოდებასთან დაკავშირებული პრობლემები განსაკუთრებით მტკივნეულად დგას მედიცინის ისეთ დარგში, როგორიცაა ოფთალმოლოგია. როგორც ცნობილია, თვალი საკმაოდ კარგადაა დაცული უცხო სხეულებისა და წამლებისაგან ისეთი ეფექტური მექანიზმებით, როგორებიცაა თვალის ხამხამი, გამოწვეული ცრემლდენა, ცრემლის ბრუნვა და ნაზოლაკრიმალური დრენაჟი. აღნიშნული მექანიზმები სწრაფად აცილებს ნივთიერებებს თვალის ზედაპირიდან. ისინი რჩოვანა გარსთან ერთად ქმნიან ფიზიკურ-ბიოლოგიურ ბარიერს. ამის გამო, თვალში ჩაწვეთების გზით მიწოდებული პრეპარატების მოქმედება ნაკლებ ეფექტურია, ზოგიერთი მათგანი კი საერთოდ ვერ იძლევა შედეგს, რის გამოც აუცილებელი ხდება საკმაოდ რთული და რისკის შემცველი პროცედურის - ინტრავიტრეალური ინექციის

გამოყენება. თუმცა, ამ გზით პრეპარატის ხშირმა ინექციამ შეიძლება გამოიწვიოს ბადურის ატკეჩა, ენდოფთალმიტი - თვალის შიდა საფარის ანთება, თვალისშიდა წნევის გაზრდა და სხვა გართულებები. ამიტომ, თვალისშიდა ინექციების რიცხვის შემცირება, ანდა სულაც გაუქმება, ოფტალმოლოგიის ერთ-ერთ მნიშვნელოვანი პრობლემაა. ამ პრობლემის გადაწყვეტის ერთ-ერთი ეფექტური გზაა წამლის თვალში შეყვანა „ნანოკონტეინერების“ მეშვეობით. მსგავსი ნანოკონტეინერების კონსტრუირებისათვის გამოიყენება სხვადასხვა ბუნების პოლიმერები.

ზოგადად, პოლიმერების თერაპიაში გამოყენების არცთუ დიდი ხნის გამოცდილებამ აჩვენა ამ მიდგომის პერსპექტიულობა როგორც მეცნიერული, ასევე პრაქტიკული თვალსაზრისით. განსაკუთრებით ღირებული გახდა ასეთი კვლევები ნანოტექნოლოგიური მეთოდების დანერგვამ, კერძოდ წამლის გადამტანი ნანოკონტეინერების, იგივე **55**-ის მიღების მეთოდების შემუშავებამ. წამლების გადამტანი **55**-ის დასამზადებლად გამოიყენეს სხვადასხვა წარმოშობის დეგრადირებადი თუ არადეგრადირებადი პოლიმერები, როგორც ბუნებრივი, ასევე სინთეზური: ალბუმინი (Irache et al. 2005; Jani et al. 2007), აკრილური პოლიმერები (Pignatello et al. 2002; Kawashima et al. 1989; Bucolo et al. 2004), პოლისტიროლი (Sakurai et al. 2001), პოლიციანაკრილატები (Li et al. 1986), პოლი-ε-კაპროლაქტონი (Calvo, Vila-Jato, and Alonso 1997; De Campos et al. 2003), პოლირმის მჟავა და სხვ. (Giannavola et al. 2003; Vidmar, Pepelnjak, and Jalseniak 1985; Zimmer and Kreuter 1995).

ჩამოთვლილ პოლიმერებს შორის ყველაზე პერსპექტიულად განიხილებოდა პოლიესტერების კლასის სინთეზური ბიოდეგრადირებადი პოლიმერები, როგორებიცაა პოლიკაპროლაქტონი, პოლირმის მჟავა (**PLA**), პოლიგლიკოლის მჟავა (**PGA**), პოლირმის-თანა-გლიკოლის მჟავა (**PLGA**) (თანაპოლიმერი) და სხვ. მაგრამ გაირკვა, რომ პოლიესტერების კლასის პოლიმერები დეგრადაციის შედეგად გამოყოფენ ტოქსიკურ მჟავა პროდუქტებს, რომლებიც იწვევენ არასასურველ ფენოტიპურ ცვლილებებს უჯრედებში (Knight, Gillies, and Mequanint 2011). გარდა ამისა, მათ გააჩნიათ რიგი უარყოფითი მხარეები (Shalaby and Johnson 1994): 1) პოლიმერების სინთეზი - დილაქტონების პოლიმერიზაცია ნალღობში კალაორგანული კატალიზატორის თანაობისას - მოითხოვს აბსოლუტურად მშრალ პირობებს, რაც ტექნოლოგიურად

რთული და ძვირადღირებულია; 2) პოლიმერში რჩება ტოქსიკური კატალიზატორი, რომლის ბოლომდე მოცილება შეუძლებელია; 3) ციკლური მონომერები - დილაქტორები, რომლებიც ან რჩება პოლიმერში სინთეზის შემდეგ, ან წარმოიქმნება შენახვისას თვით პოლიმერიდან ნარჩენი კატალიზატორის ზემოქმედებით, იწვევენ ალიფატური პოლიესტერების არასასურველ, ნაადრევ ჰიდროლიზს; 4) პოლიესტერების შენახვის ვადა ("shelf life") საკმაოდ მოკლეა; 5) პოლიესტერები სასარგებლო სამასალე თვისებებს ამჟღავნებენ ძალიან მაღალი მოლეკულური მასებისას ($M_w \geq 100$ KDa), რაც აიხსნება მაკრომოლეკულებს შორის სუსტი ურთიერთქმედებით; 6) ხასიათდებიან დაბალი აფინურობით (ვინაიდან ძირითად ჯაჭვში არ შეიცავენ ჰიდროფილურ CO-NH ბმებს) ცილებთან და, შესაბამისად, დაბალი ბიოშეთავსებადობით.

აქედან გამომდინარე სამედიცინო და ფარმაცოლოგიური გამოყენებისათვის უფრო პერსპექტიულია ბიოდეგრადირებადი პოლიმერები, რომლებიც შეიცავენ ჰიდროფილურ CO-NH ბმებს (პეპტიდების მსგავსად), რაც ზრდის პოლიმერის შეთავსებადობას ორგანიზმის ქსოვილებთან. აღნიშნულის გამო ყურადღებას იქცევენ ჰეტეროჯაჭვური პოლიმერების ჰიბრიდული კლასები - *პოლიესტერამიდები (PEAs)* და *პოლიესტერშარდოვანები (PEUs)*, რომლებიც აერთიანებენ „მშობლიური პოლიმერების“ - პოლიესტერების და CO-NH ბმის შემცველი პოლიმერების (პოლიამიდებისა და პოლიშარდოვანების), დადებით თვისებებს. განსაკუთრებით მიმზიდველია პოლიმერები ბუნებრივი ამინომჟავების და სხვა ისეთი არატოქსიკური და ადვილად მეტაბოლიზებადი საშენი ბლოკების საფუძველზე, როგორებიცაა ალიფატური დიოლები და დიკარბომჟავები (Katsarava 2003; Katsarava and Gomurashvili 2011; Defife et al. 2009; Sun et al. 2011; Katsarava, Kulikova, and Puiggali 2016; Ghaffar et al. 2011; Trollsas et al. 2011) (სამეცნიერო ლიტერატურაში ამ პოლიმერებს მოიხსენიებენ როგორც Amino Acid Based Biodegradable Polymers - **AABBP**) (Katsarava 2003; Katsarava and Gomurashvili 2011; Ghaffar et al. 2011). ამინომჟავურ **AABBP**-ებს, რომლებსაც ზოგჯერ „ფსევდოპროტეინებსაც“ უწოდებენ (რამეთუ იმდენივე ამინომჟავების გამოყოფით), პოლიესტერებთან შედარებით ახასიათებთ სამასალე თვისებების უფრო ფართო სპექტრი, უკეთესი ქსოვილური შეთავსებადობა და ნაკლებად აგრესიული ან სულაც ინერტული დეგრადაციის პროდუქტები (Knight,

Gillies, and Mequanint 2011; Katsarava and Gomurashvili 2011; Trollsas et al. 2011). ქვემოთ მოკლედ არის ჩამოთვლილი **AABBP**-ის ზოგიერთი უპირატესობა ალიფატურ პოლიესტერებთან (**PLA, PGA, PLGA** და ა.შ.) შედარებით (Katsarava and Gomurashvili 2011; Katsarava, Kulikova, and Puiggalí 2016):

- სინთეზი პოლიკონდენსაციით, ტოქსიკური კატალიზატორების გარეშე;
- მაღალი ჰიდროფილურობა და აქედან გამომდინარე ქსოვილებთან უკეთესი ბიოშეთავსებადობა;
- მდგრადობა შენახვისას;
- სასურველი მექანიკური თვისებები შედარებით დაბალი მოლეკულური მასებისას;
- ვარირებადი ჰიდროფობურ/ჰიდროფილური ბალანსი, სასურველი წამლის გამოყოფის/მიწოდების ისეთი სისტემებისათვის, როგორებიცაა მიკროსფეროები და ნანონაწილაკები;
- დეგრადაციის ეროზიული მექანიზმი და ცვლადი სიჩქარე (10^{-3} - 10^{-1} მგ/სმ².სთ), რომელიც შეიძლება დარეგულირდეს იმპრეგნირებული ფერმენტებით;
- ხსნადობა ჩვეულებრივ ორგანულ გამხსნელებში, როგორებიცაა: ეთანოლი, ტეტრაჰიდროფურანი, ქლოროფორმი, მეთილენქლორიდი და დიმეთილფორმამიდი, რაც ხელს უწყობს მათ გადამუშავებას სასურველ ფორმებად.

შესაბამისად, **AABBP** დღეს განიხილება როგორც უფრო პერსპექტიული მასალები ბიოსამედიცინო გამოყენებისათვის (Knight, Gillies, and Mequanint 2011; Katsarava 2003; Katsarava and Gomurashvili 2011; Defife et al. 2009; Sun et al. 2011; Katsarava, Kulikova, and Puiggalí 2016; Ghaffar et al. 2011; Trollsas et al. 2011).

სადისერტაციო კვლევის მიზნები და ამოცანები. წინამდებარე სადისერტაციო ნაშრომის მთავარი მიზანია ზემოაღნიშნული **AABBP**-ის საფუძველზე ბიოსამედიცინო მიზნებისათვის პერსპექტიული ბიოდეგრადირებადი ნანო- და მიკრომასშტაბური ნაწილაკების მიღება, მიღების პროცესში სხვადასხვა ფაქტორების გავლენის სისტემატური შესწავლა და მიღებული ნანო- და მიკრონაწილაკების ძირითადი პარამეტრების დადგენა.

სადისერტაციო ნაშრომი, მისი მიზნებიდან გამომდინარე, მოიცავს შემდეგ ძირითად ამოცანებს:

- სამედიცინო დანიშნულების ნანო- და მიკრონაწილაკების მისაღებად ოპტიმალური **AABBP**-ის შერჩევა;
- ნანო- და მიკრონაწილაკების მიღებისას მათ ფორმირებაზე სხვადასხვა ფაქტორების, მათ შორის სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების გავლენის სისტემატური შესწავლა და მიღების ოპტიმალური პირობების დადგენა;
- მიღებული ნანო- და მიკრონაწილაკების ძირითადი მახასიათებლების (ნაწილაკების ზომა, პოლიდისპერსიულობა, ძეტა-პოტენციალი) დადგენა შესაბამისი ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდების გამოყენებით;
- მიღებული ნანო- და მიკრონაწილაკების მორფოლოგიური კვლევა;
- ნანო- და მიკრონაწილაკების სტაბილურობის შესწავლა და მათი შენახვის ოპტიმალური პირობების დადგენა;
- მიღებული ნანონაწილაკების უჯრედებთან ბიოშეთავსებადობის (ციტოტოქსიკურობის) და ბიოლოგიურ ბარიერებში განვლადობის *in vitro* შესწავლა;
- ექსპერიმენტულად შერჩეული ოპტიმალური **AABBP**-ის საფუძველზე მიღებული ნანონაწილაკების PEG-ილირება (ნაწილაკის ზედაპირის პოლიეთილენგლიკოლით დაფარვა) და მათთვის დადებითი მუხტის მინიჭება მათი ბიოშეთავსებადობისა და ბიოლოგიურ ბარიერებში განვლადობის გაუმჯობესების მიზნით.

სადისერტაციო ნაშრომი შედგება ხუთი თავისგან: 1. შესავალი, 2. სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა, 3. მასალები და მეთოდები, 4. შედეგები და მათი განსჯა, 5. დასკვნები. შესავალ ნაწილში განხილულია თემის აქტუალობა, სამეცნიერო სიახლე, წარმოდგენილია ნაშრომის მიზანი და ძირითადი ამოცანები. სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვაში ვრცლად არის აღწერილი ბიოსამედიცო მიზნებისათვის პერსპექტიული წამლის მიმწოდებელი სისტემები პოლიმერების საფუძველზე, აღწერილია პოლიმერული ნანო- და მიკრონაწილაკების მიღების ძირითადი მეთოდები და განხილულია მათი გამოყენების სფეროები. მესამე თავი - მასალები და მეთოდები, მოიცავს კვლევაში გამოყენებული მასალებისა და მეთოდების დეტალურ აღწერას. მეოთხე თავში (შედეგები და მათი განსჯა) წარმოდგენილია კვლევის შედეგად მიღებული მონაცემები და მათი ინტერპრეტაცია. დისერტაციის ბოლო

თავში (დასკვნები) შეჯამებულია სადისერტაციო კვლევის შედეგები და მკაფიოდ ჩამოყალიბებულია ძირითადი დასკვნები. სადისერტაციო ნაშრომის ბოლოს წარმოდგენილია ბიბლიოგრაფია, რომელიც მოიცავს 190 ციტირებულ წყაროს.

2. სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1. წამლის მიმწოდებელი სისტემები

წამლის კონტროლირებადი/მდგრადი მიწოდების სისტემებს, სხვადასხვა სახის მატრიქსებისა და გადამტანების (მატარებლების) გამოყენებით, უდიდესი როლი ენიჭებათ თანამედროვე თერაპიაში. კონტროლირებადი/მდგრადი მიწოდების სისტემებს, ტრადიციულ ფორმებთან შედარებით, გააჩნიათ მთელი რიგი უპირატესობებისა, როგორებიცაა: დამიზნული ტრანსპორტი, პროლონგირებული მოქმედება, გაზრდილი ეფექტურობა, ნაკლები ტოქსიკურობა და მდგრადობა, მეტი კომფორტი პაციენტებისათვის. ასეთ სისტემებში მატრიქსებად/მატარებლებად ხშირად გამოიყენებენ მაღალმოლეკულურ ნაეთებს - პოლიმერებს. უპირატესობა ენიჭებათ ბიოდეგრადირებად პოლიმერებს, რომლებიც დაკისრებული ფუნქციის (წამლის ლოკალური მიწოდება ან ტრანსპორტი) შესრულების შემდეგ იშლებიან და უკვალოდ გამოიდევენებიან ორგანიზმიდან, ან ასიმილირდებიან ორგანიზმში მეტაბოლიზმის მეშვეობით. პოლიმერებზე დაფუძნებული წამლის გადამტან სისტემებს შორის გამორჩეული ადგილი უკავიათ ნანო- და მიკრონაწილაკებს მათი უნარის გამო განახორციელონ წამლების დამიზნული ტრანსპორტი და გარკვეული (სასურველი) დროის განმავლობაში აკუმულირდნენ ორგანიზმის დაზიანებულ კერაში. ძირითადი წამლის მიმწოდებელი სისტემები ქვემოთ მოცემულ პუნქტებშია განხილულია დეტალურად.

2.1.1. პოლიმერული ნანონაწილაკები

თეორიული და გამოყენებითი ქიმიის საერთაშორისო კავშირის (IUPAC) მიერ გასულ წლებში განხილულ იქნა ნანომეცნიერებაში გამოყენებული ტერმინებისა და დეფინიციების სრულყოფის და ერთიანი სამეცნიერო „ნანოლექსიკის“ შექმნის საკითხი, გამოქვეყნებულ იქნა შესაბამისი რეკომენდაციები. IUPAC-ის თანახმად ნანონაწილაკი (ნნ) ისეთი ნაწილაკი, რომლის ერთი გვერდის განზომილება მაინც ნაკლებია 100 ნმ-ზე. ამის მიუხედავად, ნანომეცნიერებაში მოღვაწე ბევრი აღიარე-

ბული მეცნიერი (უფრო ხშირად ქიმიკოსები), თავიანთ შრომებში იყენებენ განსხვავებულ ტერმინოლოგიას (სიდამონიძე 2014, 11-18).

პოლიმერულ **ნნ**-ებს უწოდებენ ისეთ ნაწილაკებს, რომელთა დიამეტრი 10 – 1000 ნმ ფარგლებში მერყეობს (Bonifácio et al. 2014). **ნნ** აღნაგობისა და შედგენილობის მიხედვით იყოფა ორ ჯგუფად: ნანოსფეროებად და ნანოკაფსულებად. ნანოსფეროები შედგება მხოლოდ პოლიმერული მასალისგან, მათ სფეროსებური ფორმა გააჩნიათ. ნანოსფეროების შემთხვევაში წამლის ჩართვა ხორციელდება პოლიმერულ მატრიქსში. ნანოკაფსულები კი შეიცავენ ჰიდროფობურ ორგანულ ბირთვს (oil), რომელიც გარშემორტყმულია პოლიმერული მემბრანით. ამ შემთხვევაში წამალი შეიძლება ინკაფსულირებული იქნეს როგორც პოლიმერულ მემბრანაში, ისე ნანოკაფსულების ბირთვშიც (Bonifácio et al. 2014).

წამლების პოლიმერული ფორმების შექმნის იდეა პირველად გერმანელმა მეცნიერმა Ringsdorf-მა წამოაყენა 1975 წელს და საფუძველი ჩაუყარა პოლიმერული წამლების დიზაინსა და მათი თვისებების კვლევებს (Bader, Ringsdorf, and Schmit 1984). მაღალმოლეკულური წამლების გამოყენებით სავარაუდო იყო მიზანმიმართული მოქმედების პრეპარატების მიღება, ორგანიზმის დაცვა ტოქსიკური წამლების ზემოქმედებისაგან, განუწყვეტელი/კონტროლირებადი გამოყოფის მექანიზმით მოქმედი პრეპარატების შექმნა და სხვ. (Bader, Ringsdorf, and Schmit 1984; Hoes and Feijen 1989). **ნნ** შეიძლება გამოყენებულ იქნას როგორც მედიკამენტების მატარებლები წამლების პირდაპირ სისხლში (სისხლძარღვებში) შესაყვანად, ისე კანქვეშ ან კუნთში ადმინისტრირებისათვის (ინექციისათვის) (Mishra and Sharmistha 2013). ჩვეულებრივ პარენტერულ ტექნოლოგიებთან შედარებით ბიოდეგრადირებად **ნნ**-ებს (ისევე როგორც **მნ**-ებს) გააჩნიათ რიგი უპირატესობებისა, როგორიცაა:

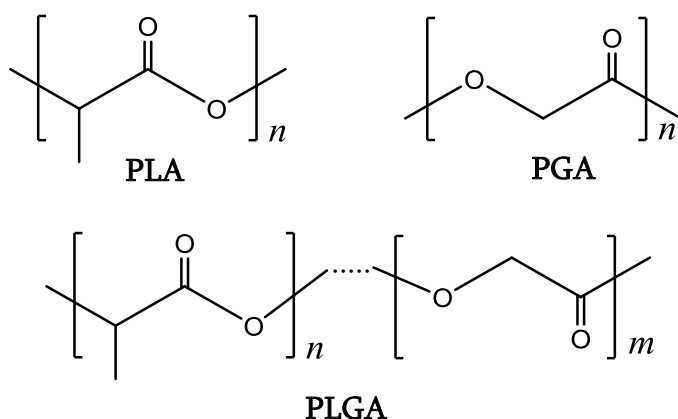
- განუწყვეტელი მიწოდება: წამლის კაფსულირება პოლიმერულ მატრიქსში ზღუდავს ბიოლოგიური სითხის შეღწევას პრეპარატში დეგრადაციის დაწყებამდე და ხელს უშლის წამლის არაკონტროლირებად, დიფუზიურ გამოთავისუფლებას. **ნნ** ინარჩუნებენ სისხლში პრეპარატის თერაპიულ კონცენტრაციას ხანგრძლივი დროის განმავლობაში. მინიმუმამდე მცირდება

როგორც ტოქსიური და გვერდითი მოვლენები, ასევე პაციენტთა დისკომფორტი.

- ლოკალური მიწოდება: კანქვეშ ან კუნთში ნანო- და მიკრომასშტაბური ნაწილაკების მიწოდებას შეუძლია მიწოდების ადგილას (ლოკალურად) წამლის მაღალი და ეფექტური კონცენტრაციის შენარჩუნება სასურველი ხანგრძლივობით, დაბალი ინტეგრალური რაოდენობის ფონზე. ეს საშუალებას იძლევა თავიდან ავიცილოთ წამლების სისტემური მიწოდებით გამოწვეული თანამდე მოვლენები.
- პულსირებული გამოყოფა: პულსირებული გამოყოფის სისტემები პერსპექტიულია ანტიბიოტიკებისა და ვაქცინების მიწოდებისათვის. ანტიბიოტიკის პულსირებულმა გამოყოფამ შესაძლოა შეამციროს ბაქტერიული რეზისტენტულობის განვითარება (Lakkaluka and Krause 2013).

წამლის თერაპიული კონცენტრაციის მისაღწევად და შესანარჩუნებლად ხშირად საჭირო ხდება წამლის დღეში რამდენჯერმე მიწოდება, რაც იძლევა ორგანიზმში წამლის არასასურველ დონეს. ნანო- და მიკრომატარებლებზე (კაფსულებზე) დაფუძნებულ ახალ მეთოდებს შეუძლიათ არეგულირონ წამლის მიწოდების სიჩქარე, თერაპიული ეფექტის ხანგრძლივობა და/ან წამლის მიზანმიმართული მიწოდება სპეციფიკურ ქსოვილში (Fery and Weinkamer 2007). ბოლო წლებში ინტენსიურად მიმდინარეობს ფუნქციური პოლიმერებით მოდიფიცირებული პარამაგნიტური **55**-ის შესწავლა მიზანმიმართული (მაგნიტის მეშვეობით) მოქმედების წამლების, მაგალითად, სიმსივნეების საწინააღმდეგო პრეპარატების, ბიოჩიპების, სენსორების და სხვ მისაღებად. მაგალითად, მიღებულია 10 ნმ დიამეტრის პოლიმერ-მოდიფიცირებული მაგნიტური ნანონაწილაკები და შესწავლილია მათი გამოყენების პერსპექტივა მედიცინაში (Mishra and Sharmistha 2013). პოლიმერ-მოდიფიკატორად გამოიყენეს ფუნქციური ტრიბლოკთანაპოლიმერები პოლიმჟავური ბუნების ცენტრალური ბლოკით და ჰიდროფილური, პოლიესტერული განაპირა ბლოკებით. ასეთ **55**-ებთან შესაძლებელია სხვადასხვა წამლის მიერთება და ინექციის შემდეგ მათი დანიშნულების ადგილზე მიტანა/ლოკალიზაცია მაგნიტური ველის მეშვეობით.

55 ალიფატური პოლიესტერებისა და მათი თანაპოლიმერების საფუძველზე. ბიოდეგრადირებადი პოლიმერული 55-ის მისაღებად, მიუხედავად აღნიშნული პრობლემებისა (იხ. „შესავალი“), დღეისათვის ყველაზე ფართოდ გამოიყენება პოლიესტერების კლასის სინთეზური პოლიმერები, როგორებიცაა, პოლირმდის მჟავა (PLA), პოლიგლიკოლის მჟავა (PGA), პოლირმდის-თანა-გლიკოლის მჟავა (PLGA) (თანაპოლიმერი) და სხვ. PLA-ს ფართო გამოყენება ბიოსამედიცინო მიზნებისათვის (55-ის, 56-ის, ბიონანოკომპოზიტების და ა. შ. მისაღებად) განპირობებულია შემდეგი ფაქტორებით: ა) პოლიმერის სინთეზისთვის გამოყენებადი მონომერების მიღება შესაძლოა განახლებადი რესურსებიდან, მაგალითად, სიმინდის, ხორბლისა და ბრინჯისგან (Puiggali and Katsarava 2017); ბ) პოლიმერის სინთეზი მიმდინარეობს მაღალი გამოსავლიანობით; გ) შესაძლოა პოლიმერის მოლეკულური მასისა და განაწილების კონტროლირებადი ვარირება ფართო ზღვრებში; დ) მიღებული პოლიმერი ბიოშეთავსებადია და ახასიათებს შედარებით კარგი მექანიკური და თერმული თვისებები (Puiggali and Katsarava 2017).



სქემა 1. 55-ის მისაღებად ფართოდ გამოყენებადი ბიოდეგრადირებადი პოლიმერები: ალიფატური პოლიესტერები.

Wu და თანამშ. მიიღეს პოლიეთილენგლიკოლით (PEG) დაფარული (PEG-ილირებული) მოდიფიცირებული PLA-ს 55 და აჩვენეს, რომ ეს ნანომატარებლები პერსპექტიულია თავის ტვინის სიმსივნის (გლიომლასტომა) მკურნალობისათვის (Wu et al. 2014). 55 მიიღეს ე. წ. ემულსიფიკაციის/გამხსნელის აორთქლების მეთოდით: PEG და PLA გახსნეს ჰიდროფობურ ორგანულ გამხსნელში (დიქლორმეთანი) და მიღებულ ხსნარს დაამატეს ნატრიუმის ქლორატის განზავებული წყალხსნარი. შემდეგ მოახდინეს მიღებული ნარევის ინტენსიური ემულგირება სონიკატორის გამოყენე-

ბით 100 წმ-ის განმავლობაში. გამხსნელის სრული მოშორების (როტაციული ამორთქლებლით, 37°C-ზე) შემდეგ მიღებული **55** დააკონცენტრირეს ცენტრიფუგირებით 21 000 ბრუნი/წთ-ზე 40 წთ-ის განმავლობაში. მიღებული დალექილი **55**-ის რესუსპენდირება მოახდინეს მცირე რაოდენობის დეიონიზირებულ წყალში. მოდიფიცირებული **PEG**-ილირებული **55**-ის მისაღებად გამოიყენეს ცისტეინი-არგინინი-გლუტამინის მჟავა-ალანინი (**CREKA**) პეპტიდი. **55**-ის **CREKA** პეპტიდთან კონიუგაციისათვის **55**-ის სუსპენციას დაუმატეს მცირე რაოდენობის **CREKA** პეპტიდი და მოურიეს 4 სთ-ის განმავლობაში 50 ბრუნი/წთ-ზე. **55**-ის **CREKA** პეპტიდთან დაკავშირებით ავტორები ცდილობდნენ გაეზარდათ **55**-ისა და ფიბრინის აფინურობა, ვინაიდან ფიბრინთან დაკავშირება განაპირობებს პოლიმერული **55**-ის შეკავებას გლიობლასტომის პარენქიმაში. ცნობილია, რომ გლიობლასტომის მკურნალობისათვის პოლიმერული ნანომატარებლების გამოყენების მთავარი პრობლემაა **55**-ის დაბალი განვლადობა და სუსტი შეკავება გლიობლასტომის პარენქიმულ ქსოვილში. ცნობილია ასევე, რომ გლიობლასტომის უჯრედების დიფერენციაციასა და პროლიფერაციაზე გადამწყვეტ როლს ასრულებს ფიბრინი. ავტორებმა აჩვენეს, რომ მიღებულ მოდიფიცირებულ **CREKA-PEG-PLA 55**-ებს *in vitro* კვლევებში გააჩნიათ მაღალი აფინურობა ფიბრინთან არამოდიფიცირებულ **PEG-PLA 55**-ებთან შედარებით. თავგებზე ჩატარებულმა *in vivo* კვლევებმა აჩვენა, რომ მოდიფიცირებულ **CREKA-PEG-PLA 55**-ებს გააჩნიათ გლიობლასტომის პარენქიმულ ქსოვილში შეღწევადობისა და სიმსივნურ ქსოვილში შეკავების მაღალი უნარი. გარდა ამისა, ფარმაკოდინამიკის შესწავლამ აჩვენა, რომ პაქლიტაქსელით დატვირთული მოდიფიცირებული **CREKA-PEG-PLA 55** მნიშვნელოვნად ახანგრძლივენ ინტრაკრანიალური (U87 გლიობლასტომით დაავადებული) თავგების ე. წ. გადარჩენის საშუალო დროს კონტროლთან შედარებით. ავტორები ასკვნია, რომ მიღებული მოდიფიცირებული ახალი ნანომატარებლები პერსპექტიულია, როგორც წამლის მიმწოდებელი სისტემები თავის ტვინის ონკოლოგიური დაავადებების მკურნალობისათვის.

Yao და თანამშ. მიერ ნაჩვენებია, რომ **PEG-PLA 55** პერსპექტიულია წამლის გადამტანი ნანოკონტეინერების სახით ქრონიკული პაროდონტიტის სამკურნალოდ (Yao et al. 2014). ავტორებმა ცხოველურ მოდელზე (ძაღვები) შეისწავლეს მონო-

ციკლინით დატვირთული **PEG-PLA 55**-ის ფარმაცოლოგიური მოქმედება და დაადგინეს, რომ წამლის ტრადიციულ ფორმასთან (პრეპარატი Periocline®) შედარებით. წამლის მიღებულ ნაწილს გააჩნია უფრო ხანგრძლივი და ეფექტური მოქმედება: წამლით დატვირთული 100 ნმ ზომის **PEG-PLA 55**-ის ადგილობრივად (ღრმად) შეყვანისას მონოციკლინის კონცენტრაცია ღრმად სითხეში ნელა მცირდებოდა და უზრუნველყოფდა წამლის ეფექტური (სამკურნალო) დოზის შენარჩუნებას უფრო დიდი ხნის განმავლობაში (12 დღე), ვიდრე პრეპარატი Periocline®. შესაბამისად, მიღებული სისტემები პერსპექტიულია წამლის ლოკალური მოწოდებისათვის პაროდონტიტის მკურნალობის დროს.

Shi და თანამშ. დაამზადეს 65 ნმ ზომის სფერული **PLGA 55**, რომლებიც დატვირთეს სამკურნალო პრეპარატით – 5-ამინოლევინინის მჟავით (Shi et al. 2013). აღნიშნული მჟავა, რომელიც ფოტოდინამიკურ თერაპიაში გამოიყენება, ხასიათდება დაბალი ბიოშელწევადობით, რაც წარმოადგენს მისი გამოყენების მთავარ მალიმიტირებელ ფაქტორს. ავტორებმა შეისწავლეს აღნიშნული პრეპარატით დატვირთული **PLGA 55**-ის ციტოტოქსიკურობა ადამიანის კანის კარცინომის უჯრედული ხაზის მიმართ. შეისწავლეს ასევე წამლის გამოთავისუფლების კინეტიკა, წამლით დატვირთვის (ინკაფსულირების) ეფექტურობა და **55**-ის მორფოლოგია/ნაწილაკების ზომების განაწილება მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპიის გამოყენებით. ნაშრომში ნაჩვენებია, რომ წამლის ინკაფსულირების ეფექტურობა შეადგენს 65,8 %-ს, ხოლო წამლის გამოთავისუფლების კინეტიკა უფრო ოპტიმალურია პრეპარატის ტრადიციულ ფორმასთან შედარებით. ავტორები ასკვნიან, რომ მიღებული **PLGA 55** პერსპექტიულია ფოტოდინამიკურ თერაპიაში კანის კარცინომის მკურნალობისათვის.

Bonelli და თანამშ. მიერ ნაჩვენებია, რომ პრეპარატი იბუპროფენით (არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო საშუალება) დატვირთული **PLGA 55** პერსპექტიულია ადამიანის კუჭის კიბოს მკურნალობისათვის (Bonelli et al. 2012). იბუპროფენით დატვირთული **PLGA 55** მიიღეს ე. წ. პოლიმერის გამოლექვის (ნანოპრეციპიტაციის) მეთოდით. ავტორებმა შეისწავლეს იბუპროფენის *in vitro* გამოთავისუფლების კინეტიკა **55**-ებიდან ადამიანის კუჭის კიბოს უჯრედულ ხაზზე (MKN-45

უჯრედული ხაზი). ნაშრომში ნაჩვენებია, რომ **PLGA 55** იბუპროფენის დაბალ კონცენტრაციაზე კი ავლენენ ანტიპროლიფერაციულ აქტივობას MKN-45 უჯრედული ხაზის მიმართ. Wen-ისა და თანამშ. მიერ ნაჩვენებია, რომ ჰიდროფილური მოლეკულებით დაფარული **PLGA 55** პერსპექტიულია წამლის გადამტანი ნანომატარებლების სახით შიგა ყურის (კოხლეარული ქსოვილების) დაავადებების სამკურნალოდ (Wen et al. 2016). ნაშრომში ნაჩვენებია, რომ კონტროლთან (არამოდიფიცირებული **PLGA 55**) შედარებით ზედაპირულად მოდიფიცირებული (Poloxamer 407-ით, ქიტინით და PEG-ით დაფარული) **PLGA 55** უფრო ღრმად აღწევნ კოხლეარულ ქსოვილში და, გარდა ამისა, ნაწილობრივ აღწევნ ნახევრადრკალოვანი არხების შიგნითაც, თვით „კორტის ორგანოში“ – სმენითი ანალიზატორის რეცეპტორულ ნაწილში. აღსანიშნავია, რომ ყველა ტიპის ზედაპირულად მოდიფიცირებულ **55**-ებს შორის საუკეთესო ბიოგანვლადობა აღმოაჩნდა Ploxamer 407-ით დაფარულ **PLGA 55**-ებს.

საინტერესო სამუშაო არის ჩატარებული Gonnissen-ის და თანამშ. მიერ **PLGA 55**-ისა და სუპერპარამაგნიტური რკინის ოქსიდის **55**-ის ზემოქმედების შესწავლაზე ადამიანის მონოციტების მიმართ (Gonnissen et al. 2016). ავტორებმა შეისწავლეს აღნიშნული **55**-ის არა მარტო ბიოშეთავსებადობა მონოციტებთან, არამედ **PLGA 55**-ის ზემოქმედება ინტერლეიკინების (IL1 β , IL-10, IL-6) სეკრეციაზე და უჯრედის ციტოჩონჩხზე (აქტინის უჯრედული ჩონჩხი). ნაშრომში ნაჩვენებია, რომ სუპერპარამაგნიტური რკინის ოქსიდის **55** იწვევენ მონოციტების ციტოჩონჩხის სტრუქტურის დარღვევას, იმ დროს როდესაც **PLGA 55** უჯრედის ციტოჩონჩხზე ზემოქმედებას არ ახდენენ. ავტორების მიერ მიღებული ახალი მონაცემების გათვალისწინება აუცილებელია ნანომასალების ბიოუსაფრთხოების შეფასების თვალსაზრისით.

ლიტერატურის მიმოხილვის შედეგად შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ნანონასალებს მათი ახალი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების გამო გააჩნიათ დიდი პოტენციალი ფარმაცევტული და ბიოსამედიცინო გამოყენებისათვის (Manaia et al. 2017; Mallakpour et al. 2016). ძალზე პერსპექტიულია ნანომასშტაბური წამლის გადამტანი სისტემების გამოყენება ოფთალმოლოგიაში წამლის თვალისშიდა მიწოდებისათვის (Bisht et al. 2017). ბოლო წლებში ინტენსიურად მიმდინარეობს წამლების ახალი ნანომატა-

რებლების შემუშავება სამკურნალო პრეპარატების გვერდითი მოვლენების შემცირებისა და მათი მიზანმიმართული და ეფექტური მიწოდებისათვის (Manaia et al. 2017; Bonifacio et al. 2014).

2.1.2. პოლიმერული მიკრონაწილაკები

ტერმინით „მიკრონაწილაკები“ (მწ) ახასიათებენ დისპერსულ ფაზას (ნაწილაკებს), რომლის დიამეტრი 1-1000 მიკრომეტრის ფარგლებშია. მწ-ის ფართო მრავალფეროვნებაში გამოარჩევენ „მიკროსფეროებს“ (მს), ამათგან კი გამოარჩევენ ქვესახეობას „მიკროკაფსულებს“ (მკ), რომელთაც აქვთ შიგთავსისგან („გულასგან“ - core) განსხვავებული მასალისგან წარმოქმნილი „ქერქი“ (shell). ხშირ შემთხვევებში ქერქს წარმოადგენს პოლიმერული მასალა, ხოლო გულა კი შეიძლება იყოს მყარი, თხიერი ან გაზისებრიც კი (Singh et al. 2010). მკ-ის მისაღებად (ქერქად), ზემოთ აღნიშნულ თვისებათა გამო, უპირატესობას ანიჭებენ ბიოდეგრადირებად პოლიმერებს. მრავალი სხვადასხვა კლასის ბიოდეგრადირებად პოლიმერებს შორის, ერთ-ერთი წამყვანი ადგილი უკავია ე.წ. ამინომჟავურ ბიოდეგრადირებად პოლიმერებს (Díaz, Katsarava, and Puiggalí 2014; Katsarava, Kulikova, and Puiggalí 2016). ამგვარად, მკ არის კონტეინერი, რომლის ინტერიერი (გულა) შეიძლება დაიტვირთოს სხვადასხვა ნივთიერებებით (წამლებით, ფიზიოლოგიურად აქტიური ნაერთებით, მიკროორგანიზმებით). მკ-ის ზომების შერჩევა ხდება ამოცანაზე დამოკიდებულებით. მაგალითად, თუ მკ უნდა დაიტვირთოს ისეთი პრეპარატების ხსნარებით, რომელთა ზომები არ აღემატება რამდენიმე ათეულ ანგსტრემს, მისაღებია მცირე ზომის (რამდენიმე მიკრომეტრი დიამეტრის მქონე) მკ-ები ამასთან, თუ მკ-ები უნდა მოხვდნენ სისხლის მიმოქცევის სიტემაში, მათი დიამეტრი არ უნდა აღემატებოდეს 1-2 მკმ-ს, რათა არ მოხდეს მკ-ის გაჭედვა კაპილარებში. უფრო მკვილი წარმონაქმნებისთვის, რომელთა დიამეტრი აღწევს რამდენიმე ასეულ ნანომეტრს (ნანოსუსპენზიები, ბაქტერიოფაგები და სხვ.) აუცილებელია უფრო დიდი ზომის მკ-ს გამოყენება, რათა მოხდეს ამ შედარებით მსხვილ წარმონაქმნთა სათანადო ჩატვირთვა მკ-ს ინტერიერში (გულაში).

მნ კარბოჰაქცური პოლიმერების/თანაპოლიმერების საფუძველზე პოლი(მეთილმეტაკრილატის) ჰიდროფობურ მს-ში ჩართეს წყალში კარგად ხსნადი წამალი - ფსევდოფედრინ ჰიდროქლორიდი. ამ მიზნით მიიღეს წამლის წყალხსნარი ემულსია პოლიმერის მეთილენქლორიდის ხსნარში. მს ფორმირდება გამხსნელის აორთქლებისა და პოლიმერის გამოლექვის შემდგომ. წამლის შემცველობა მს-ში იზრდებოდა ორგანული გამხსნელის რაოდენობის, პოლიმერისა და სტაბილიზატორის კონცენტრაციის გაზრდით, ხოლო მცირდებოდა მორევის ხანგრძლივობის და წყლის ფაზის მოცულობის გაზრდით (Rainer and Bodmeier 1990).

აღწერილია პოლი(N,N-დიმეთილამინო) ეთილმეტაკრილატისა და პოლიეთილმეტაკრილამიდის ნარევის საფუძველზე მიღებული pH/ტემპერატურის მიმართ მგრძნობიარე პოლიმერული სისტემები, რომლისგანაც დაამზადეს მს (Jung, Hang, and Hong 2001). ასეთი მს საშუალებას იძლევა გაკონტროლდეს ჰიდროკორტიზონის გამოყოფა მნიშვნელოვანი დაყოვნების (ლაგ-პერიოდის) გარეშე. მიკროსფეროები გამოიყენება თერაპიაში, მედიცინაში დიაგნოსტიკისათვის და როგორც სკაფოლდები ფერმენტებისა და ცილების ბიოტექნოლოგიაში. ქიმიურად აქტიური პოლიაკროლეინის, ასევე პოლიაკროლეინის სეგმენტების შემცველი თანაპოლიმერების მს (Slomkowski 1998) მიიღეს სხვადასხვა მეთოდებით (რადიკალური, ანიონური, ჟანგვა-აღდგენითი პოლიმერიზაციით), ზომით 50 ნმ-დან რამდენიმე მკმ-ამდე და ვიწრო განაწილებით. ნაშრომში გამოკვლეულია ცილის იმობილიზაცია პოლიაკროლეინის მს-ში, მათ შორის დამოკიდებულება ცილის მიერთების ხასიათსა (კოვალენტური იმობილიზაცია თუ ფიზიკური ადსორბცია) და მს-ს ზედაპირის შრეში პოლიაკროლეინის ფრაქციის (ანუ აღდეჰიდური ჯგუფების) შემცველობას შორის. პოლიაკროლეინის შემცველი მიკროსფეროები შერჩეული ანტისხეულების მიერთების შემდეგ, შესაძლოა გამოყენებულ იქნან რეაგენტებად სადიაგნოსტიკო ტესტებში.

მს მიიღეს ასევე ზედაპირულად აქტიური ნაერთების (ზან) შემცველი პოლიმერის ხსნარის წვეთწვეთობით დამატებით სტაბილიზატორის შემცველი დამლექავში (Chai, Zheng, and Sun 2002). მიღებული მს-ის ზომას და ზომათა ერთგვაროვნებას განსაზღვრავს პოლიმერისა და სტაბილიზატორის კონცენტრაცია, მორევის სიჩქარე და დალექვის ტემპერატურა. ამ მეთოდით მს მიიღეს პოლიესტერამიდის, პოლი-

ესტერკეტონის, პოლიფენილენოქსიდის, პოლისულფონის, პოლივინილიდენ-ფთორიდის და ცელულოზას დიაცეტატის საფუძველზე. გამხსნელად გამოიყენეს დიმეთილაცეტამიდი, დამლექავად წყალი, სტაბილიზატორად კი პოლივინილის სპირტი. მოწოდებულია მოდელები ფორიანი ბიოდეგრადირებადი მს-დან წამლის გამოყოფის კინეტიკის შესასწავლად, პოლიმერული მატრიქსის როგორც ზედაპირული ეროზიისას, ასევე მასაში დეგრადაციისას. ნაჩვენებია, რომ წამლის გამოყოფის სამი შესაძლო მექანიზმი – წამლის დიფუზია, წამლის გახსნა და პოლიმერის ეროზია ერთდროულად მართავს გამოთავისუფლების პროცესს. მოწოდებულია დიფერენციალურ განტოლებათა სისტემა, რომელთა ამოხსნით დაადგინეს, რომ ერთი მხრივ, ეროზიის სიჩქარის, დიფუზიის კოეფიციენტისა და ხსნადობის გაზრდით, მეორე მხრივ კი ნაწილაკების რადიუსის შემცირებით, იზრდება წამლის გამოყოფის სიჩქარე (Zhang et al. 2003).

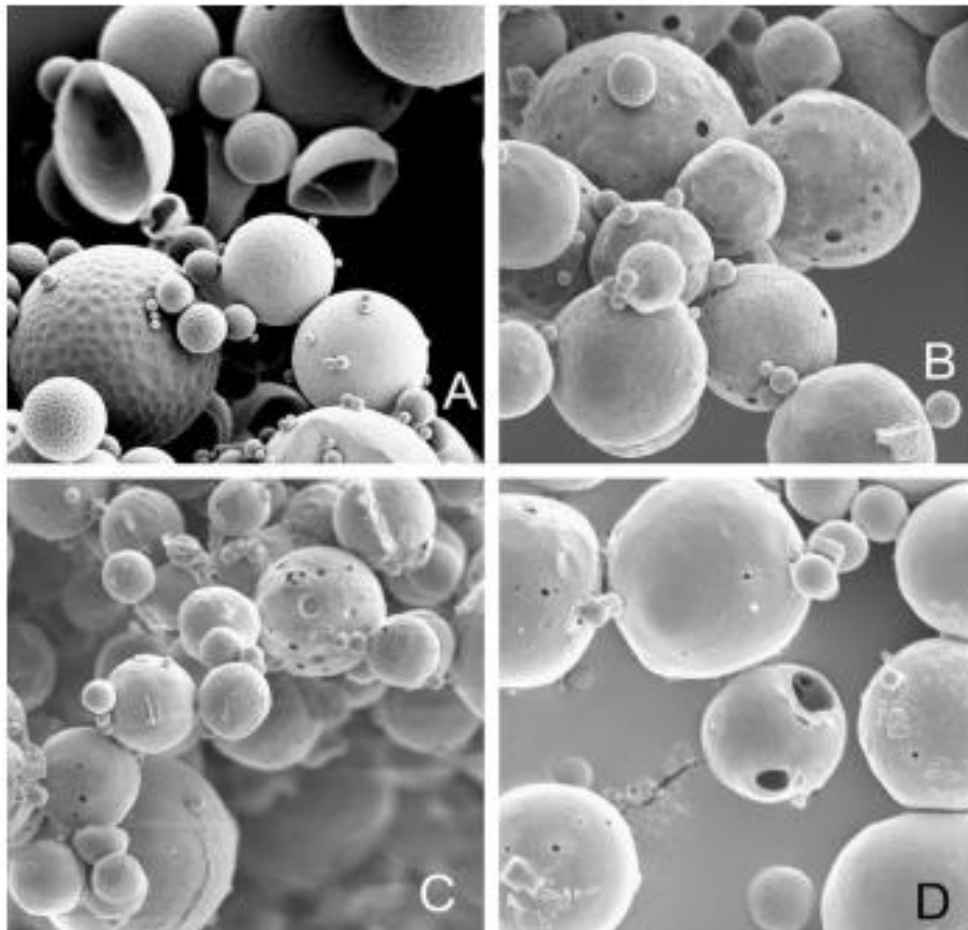
მნ ალიფატური პოლიესტერებისა და მათი თანაპოლიმერების საფუძველზე.

Bodmeier-ისა და თანამშ. (Bodmeier and McGinity 1987; Bodmeier and McGinity 1998) მიერ მიღებულია 45-75 მკმ ზომის PLA მს, რომლებიც დატვირთულია ქინიდინით ან ქინიდინიდ სულფატით. ავტორებმა გამოიყენეს ე. წ. გამხსნელის აორთქლების მეთოდი: პოლიმერი გახსნელს ორგანულ გამხსნელში, გადაიტანეს წყლის ფაზაში, რომელიც შეიცავდა ზან-ს და მიღებულ ემულსიას ურევდნენ ოთახის ტემპერატურაზე 3 სთ-ის განმავლობაში. დადგინდა, რომ მიკროსფეროებში წამლის წარმატებულ ჩართვას განაპირობებს: (i) პოლიმერის გამოლექვის მაღალი სიჩქარე ორგანული ფაზიდან (გამხსნელის აორთქლების შედეგად); (ii) წამლის დაბალი ხსნადობა წყალში; (iii) პოლიმერის მაღალი კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში. პოლიმერის გამოლექვის სიჩქარე დამოკიდებულია ორგანული გამხსნელის დიფუზიის სიჩქარეზე, წყლის ფაზაში. ორგანული გამხსნელის წყალში დაბალი ხსნადობა იწვევს პოლიმერის ნელ დალექვას და წამლის დიდი რაოდენობა გადადის წყლის ფაზაში. ავტორებმა მიიღეს არააგრეგირებადი მს მაღალი გამოსავლით. დაადგინეს, რომ ქინიდინის დატვირთვის ხარისხი მნიშვნელოვნადაა დამოკიდებული წამლის წყალში ხსნადობაზე.

შესწავლილია ასევე წყლის ფაზაში მიმდინარე პროცესების გავლენა **PLA-ს მს-ის** მიღებასა და თვისებებზე (Bodmeier and McGinity 1987). დაადგინეს, რომ წამლის ინკაფსულირება დამოკიდებულია უპირველეს ყოვლისა, წყალში მის ხსნადობაზე და პოლიმერის გამოლექვის სიჩქარეზე. დაადგინეს ასევე, რომ წამლის შემცველობაზე **მს-ში** გავლენას ახდენს ორგანული ფაზისა და წყლის ფაზის თანაფარდობა, წყლის ფაზის ტემპერატურა და **ზან-ის** რაოდენობა. **მს-ის** მაქსიმალური დატვირთვისათვის შემუშავებულია ახალი მეთოდი, რომელიც გულისხმობს წამლის ჩართვას როგორც წყლის ფაზაში, ისე ორგანულ ფაზაშიც. ამ მეთოდის გამოყენებით შესაძლებელია წამლის მაქსიმალურად ჩართვა **მს-ში** და ეს პროცესი არაა დამოკიდებული წყლის ფაზის pH-ზე. ეს მეთოდი პერსპექტიულია წყალში ხსნადი წამლების **მს-ში** დეპონირებისათვის. შესწავლილია ასევე სხვადასხვა ნაერთების - კოფეინის, დიაზე-პანის, ჰიდროკორტიზონის, პროგესტერონის, თეოფილინის ინკაფსულირების შესა-ძლებლობა **PLA-ს მს-ში** ზემოაღნიშნული მეთოდით (Bodmeier and McGinity 1987).

სამკურნალო პრეპარატებისა და ანტიგენების მიწოდების სისტემებისათვის მიმდინარეობს ბიოდეგრადირებადი **PLA-ს მს-ის** ფართო შესწავლა. Jovanovic და თანამშ. ნაშრომის (Jovanovic et al. 2007) მიზანს წარმოადგენდა დალექვის მოდიფი-ცირებული მეთოდით გაუმჯობესებული თვისებების მქონე წამლის კონტრო-ლირებადი და უწყვეტი გამოყოფის სისტემებისათვის **PLA-ს მს-ის** მიღების ოპტიმალური პირობების დადგენა. ამ მიზნით ავტორებმა მოახდინეს გამხსნელის, პოლივინილის სპირტის კონცენტრაციის, ქლოროფორმ-წყლის თანაფარდობის, ჰომოგენიზაციის დროისა და სიჩქარის ვარირება. შედეგებმა აჩვენა, რომ **მს-ის** საშუალო ზომები პირობების მიხედვით ვარირებს და მერყეობს ზღვრებში 1,25 – 8,44 მკმ. ნაჩენებია, რომ ყველაზე მცირე ზომის ნაწილაკები მიიღება 1% პოლივინილის სპირტის და 10 წუთიანი ჰომოგენიზაციის (21 000 ბრუნი/წთ) პირობებში. განხორ-ციელებულია მულტიბლოკ-თანაპოლიმერის - პოლი(ეთილენგლიკოლ-თანა-D,L-ლაქტიდის) მონოლითისა და **მს-ის** ბიოდეგრადაციის შედარებითი კვლევა წყლის ფაზაში (Dorati et al. 2007). ავტორებმა **მს** მიიღეს ორმაგი ემულსიიდან გამხსნელის აორთქლების მეთოდით. დადგენილია, რომ პოლიეთილენგლიკოლის სეგმენტის ჩართვა პოლი-D,L-ლაქტიდის ჯაჭვში **მს-ებს** ანიჭებს ფორიან სტრუქტურას.

Puapermpoonsiri-ს და თანამშ. მიერ მიღებულია ბაქტერიოფაგებით დატვირთული 10 მკმ ზომის **PLGA-ს მს** (იხ. სურათი 1) (Puapermpoonsiri et al. 2009). მს-ის მისაღებად ავტორებმა გამოიყენეს ე. წ. წყალი/ცხიმი/წყალი ორმაგი ემულსიის - გამხსნელის აორთქლების მეთოდი (water-in-oil-in-water (w/o/w) double emulsion - solvent evaporation method). მს-ში ბაქტერიოფაგების ინკაფსულირებისათვის მეორეული ემულსიის დამზადებისას წყლის ფაზის სახით გამოიყენეს ფაგების კონცენტრატი (ფაგების ტიტრი 10^9 ლაქაწარმომქმნელი ერთეული/მლ, pfu/მლ). ავტორებმა შეისწავლეს მიღებული ბაქტერიოფაგებით დატვირთული **PLGA-ს მს**-ის მორფოლოგია, ლიტიური აქტივობა და სტაბილურობა დაბალ ტემპერატურაზე შენახვისას. მს-ში ჩართული იქნა ფაგები *Staphylococcus aureus*-ის და *Pseudomonas aeruginosa*-ის მიმართ.



სურათი 1. მასკანირებული ელექტრონული მიკროსკოპით მიღებული **PLGA-ს** მიკროსფეროების მიკროფოტოგრაფიები: A - 1%-იანი პოლივინილის სპირტის წყალხსნარში დამზადებული (გადიდება 2000x); B - ბაქტერიოფაგების კონცენტრატში დამზადებული (გადიდება 3000); C და D - ბაქტერიოფაგების კონცენტრატში დამზადებული (გადიდება 3500) (Puapermpoonsiri et al. 2009).

მიუხედავად ლიტიური აქტივობის დაკარგვისა, ჩატარებული კვლევები მნიშვნელოვანია, ვინაიდან პირველადაა გაკეთებული მიზანმიმართული მოქმედების ბაქტერიოფაგების შემცველი სისტემების შემუშავების მცდელობა. ფაგების შემცველი მსგავსი სისტემები პერსპექტიულია ლოკალური ინფექციების სამკურნალოდ, და ასევე, მაგალითად, ფილტვების ანთების მკურნალობისათვის მშრალი ფაგებით დატვირთული მს-ის ინჰალაციის გზით (Puapermpoonsiri et al. 2009).

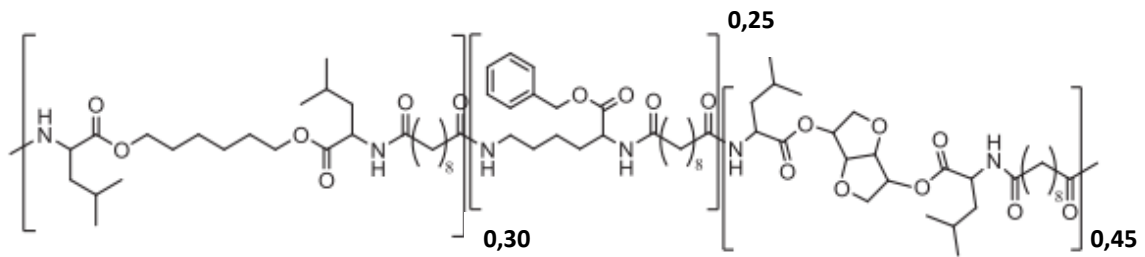
მე ბიოდეგრადირებადი **PEA**-ს საფუძველზე Vera-სა და თანამშ. მიერ მიღებულია ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერამიდის (**PEA**) მს და შეფასებულია მათი გამოყენების პოტენციური შესაძლებლობები წამლის გადამტანი მიკროკონტეინერების (მიკრომატრიქსების) სახით (Vera, Puiggali, and Coudane 2006). ბიოდეგრადირებადი **PEA** სახელწოდებით PADAS მიიღეს ფაზათაშორისი საფეხურებრივი ზრდის პოლიმერიზაციის მეთოდით ქვემოთ წარმოდგენილი სქემის მიხედვით:



ავტორებმა მიიღეს სამი ტიპის PADAS პოლიმერი ბუნებრივი ამინომჟავა ალანინის სტერეოიზომერების (L- და D-ალანინი) სხვადასხვა თანაფარდობით და შეაფასეს სტერეოიზომერების თანაფარდობის გავლენა მს-ის ბიოდეგრადაციის სიჩქარეზე. 45-80 მკმ ზომის PEA-ს მს მიიღეს ემულსიის/გამხსნელის აორთქლების მეთოდით. გამხსნელად გამოიყენეს ტრიქლორმეთანი, ხოლო ხოლო ზან-ის სახით დაბალ-მოლეკულური პოლივინილის სპირტი (PVA MW 13-23 KDa). მს დატვირთეს სამი განსხვავებული წამლით: ქლოფაზიმინით, დიქლოფენაკის ნატრიუმის მარილით და ტრიქლოზანით. ავტორებმა შეისწავლეს მიღებული სხვადასხვა ტიპის PADAS პოლიმერის მოლეკულური მასები, დამზადებული მს-ის მორფოლოგია (მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპიით), მს-ის ზომები გრანულომეტრიული მეთოდით, მს-ის ჰიდროლიზური დეგრადაცია, წამლის ინკაფსულირების ეფექტურობა და წამლის გამოთავისუფლების კინეტიკა ცდებში *in vitro*. ნაშრომში ნაჩვენებია, რომ PADAS PEA-ში ალანინის სტერეოიზომერების თანაფარდობის ვარირებით შესაძლებელია პოლიმერის დეგრადაციის სიჩქარის კონტროლი. ავტორებმა აჩვენეს, რომ წამლის ინკაფსულირების ეფექტურობა მაქსიმალურია ტრიქლოზანისა და ქლოფაზიმინის შემთხვევაში (90,3 და 80,5 % შესაბამისად). ავტორები ასკვნია, რომ მიღებული მიკროკონტეინერები პერსპექტიულია წამლის მიზანმიმართული მიწოდებისათვის მედიკამენტების პერორალური ადმინისტრირებისათვის.

ძალიან მნიშვნელოვანი სამუშაო არის ჩატარებული Andres-Guerrero-სა და თანამშ. მიერ PEA-ს მს-ის შემუშავებაზე წამლის ინტრაოკულარული (თვალისშიდა) მიწოდებისათვის (Andres-Guerrero et al. 2015). როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ (იხ. „შესავალი“) თვალში წამლის შეყვანა დიდ სირთულეებთან არის დაკავშირებული და ტრადიციული მეთოდებით (ჩაწვეთების გზით და ხშირი ინტრავიტრეალური ინექციებით) მედიკამენტების შეყვანა ნაკლებად ეფექტურია. ჩაწვეთების გზით წამლის შეყვანისას მისი ძირითადი ნაწილი ვერ აღწევს თვალის ინტრავიტრეალურ (შიგა) ქსოვილებში, არამედ გამოირეცხება თვალის ზედაპირიდან მხედველობითი ანალიზატორის ფიზიკურ-ბიოლოგიური ბარიერების (გამოწვეული ცრემლდენა, თვალის ხამხამი, ნაზოლაკრიმალური დრენაჟი და ა. შ.) გამო. თვალში წამლის ინექციის გზით შეყვანა იწვევს სხვადასხვა გართულებებს (ანთება, ბადურის ატკეზა, სისხლდენა და ა. შ.), რადგან წამლის ეფექტური კონცენტრაციის შესანარჩუნებლად

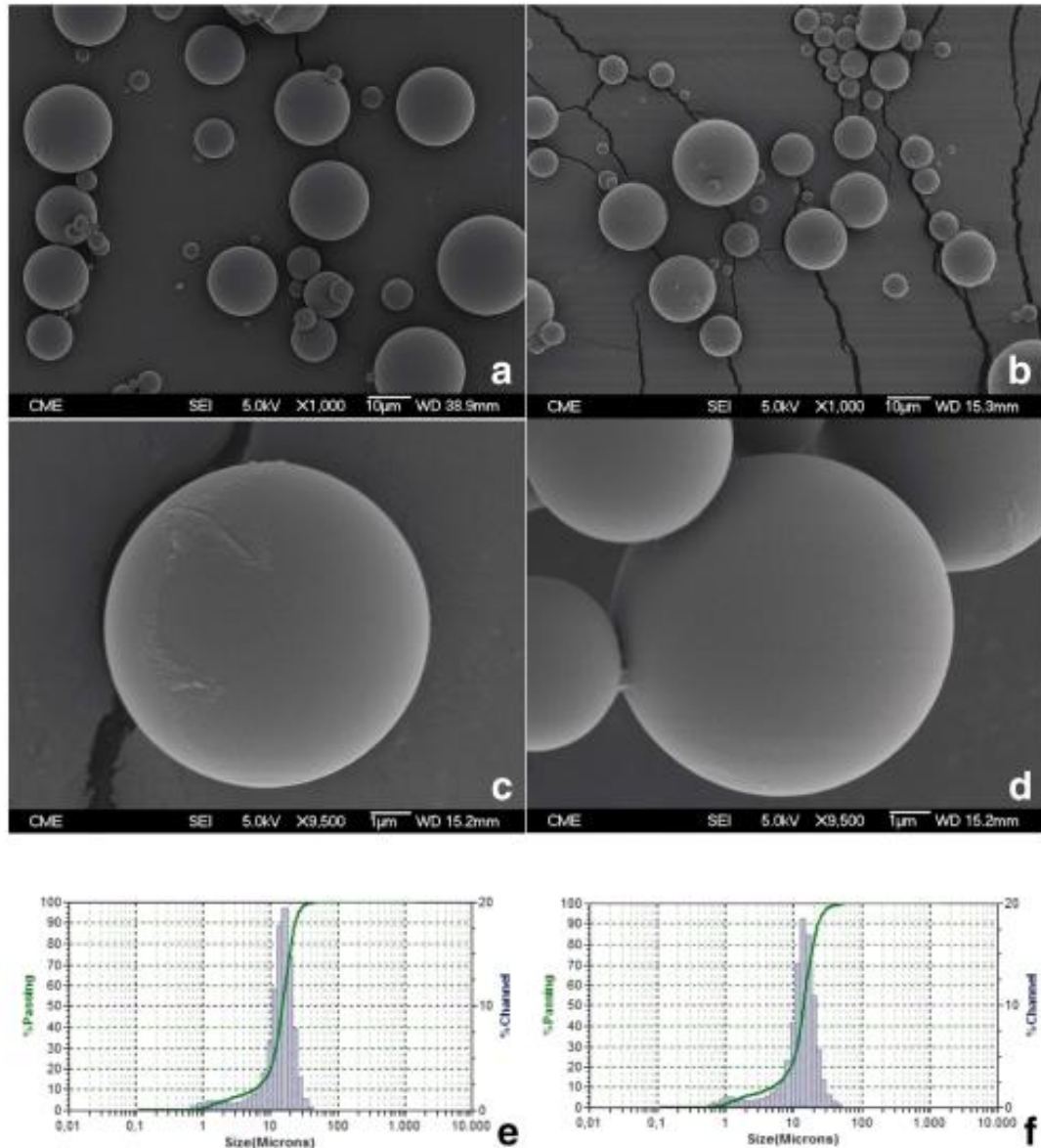
აუცილებელი ხდება ინექციების ხშირი გამოყენება (კვირაში რამდენიმეჯერ), რაც იწვევს გვერდით მოვლენებს. Andres-Guerrero-მ და თანამშ. შეიმუშავეს წამლის პროლონგირებადი მოქმედების ახალი სისტემები ბიოდეგრადირებადი ამინომჟავური PEA-ს საფუძველზე – წამლით დატვირთული PEA-ს თანაპოლიმერის (იხ. სქემა 2) მს და აჩვენეს, რომ მიღებული სისტემები პერსპექტიულია ოფთალმოლოგიაში წამლის ინტრაოკულარული მიწოდებისათვის ერთჯერადი (ან იშვიათი) ინტრავიტრეალური ინექციის გზით.



სქემა 2. PEA თანაპოლიმერის სტრუქტურა.

PEA-ს თანაპოლიმერი მიიღეს Katsarava-სა და თანამშ. მიერ შემუშავებული ე. წ. ხსნარში გააქტივირებული პოლიკონდენსაციის მეთოდით (Katsarava et al. 1999). 15 მკმ ზომის PEA-ს მს (იხ. სურათი 2) მიიღეს ემულსიის - გამხსნელის აორთქლების მეთოდით. მს-ის სუსპენზიის მიღების შემდეგ მს გაფილტრეს და გარეცხეს გამოხდილი წყლით 3 ჯერ. ამის შემდეგ მს-ის რესუსპენდირება მოახდინეს მცირე რაოდენობის მანიტოლის (კრიოპროტექტანტი) 2%-იან წყალხსნარში და შემდეგ მიღებული სუსპენზია ლიოფილურად გააშრეს. მიღებულ მშრალ მს-ებს ინახავდნენ დაბალ ტემპერატურაზე (4°C) დესიკატორებში. ავტორებმა მს-ში ჩართეს ლიპოფილური წამალი – დექსამეტაზონი (DX). წამლით დატვირთული მს-ის მისაღებად (DX-PEA მს) 60 მგ DX დაამატეს 2 მლ ორგანულ ფაზაში (PEA-ს ხსნარი დიქლორმეთანში) და 3 წთ-ის განმავლობაში მოახდინეს წამლის დისპერგირება სონიკატორის გამოყენებით. შემდეგ კი DX-PEA მს მიიღეს იგივე მეთოდით, რაც წამლით დაუტვირთავი („ცარიელი“) მს. მიღებული მშრალი DX-PEA მს გაასტერილეს γ-დასხივებით კობალტის რადიოაქტიური იზოტოპის – ⁶⁰Co-ის გამოყენებით. ნაშრომში ავტორებმა შეისწავლეს DX-PEA მს-ის მორფოლოგია და ნაწილაკების ზომების განაწილება მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპიის გამოყენებით (იხ. სურათი 2), მს-ში წამლის ინკაფსულირების ეფექტურობა, *in vitro* წამლის გამოთავისუფლება DX-PEA მს-იდან. ნაშრომში ასევე შესწავლილია მს-ის ციტო-

ტოქსიკურობა ორ უჯრედულ ხაზზე - თავგების მაკროფაგებზე (RAW 264.7) და ბადურის ეპითელურ უჯრედებზე (ARPE-19) ტეტრაზოლიუმის ტესტით და DX-PEA მს-ის თვალისშიდა განაწილების/წამლის გამოთავისუფლების *in vivo* კვლევა.

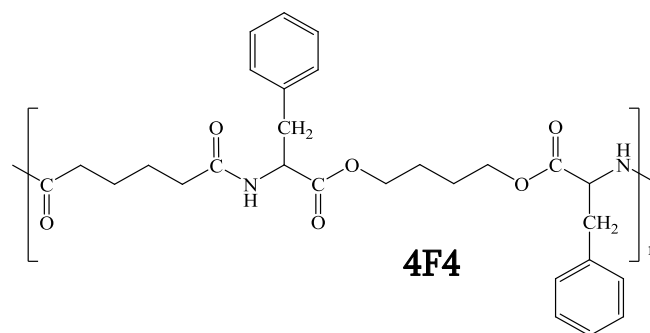


სურათი 2. მასკანირებული ელექტრონული მიკროსკოპით მიღებული PEA-ს მს-ის მიკროფოროგრაფიები და ნაწილაკების ზომების განაწილება (Andres-Guerrero et al. 2015).

ცხოველურ მოდელზე (Sprague-Sawley-ის მამრი ვირთხები) ჩატარებულია PEA მს-ის თვალისშიდა განაწილების/მოდელური წამლის გამოთავისუფლების *in vivo* კვლევა. ნაშრომში ნაჩვენებია, რომ წამლის სტაბილურ გამოთავისუფლებას *in vivo* ცდებში ადგილი აქვს როგორც მინიმუმ 90 დღის განმავლობაში. ნაჩვენებია ასევე, რომ

მიღებულ **DX-PEA** მს-ებს გააჩნიათ კარგი ბიოშეთავსებადობა მაკროფაგებთან და ბადურის ეპითელურ უჯრედებთან. ავტორები ასკვნიან, რომ მიღებული **PEA** მს წარმოადგენენ თვალისშიდა წამლის მიწოდების ალტერნატიულ სისტემებს, რომლებსაც უნარი შესწევთ უზრუნველყონ წამლის ეფექტური და გახანგრძლივებული მოქმედება.

საინტერესო სამუშაო არის ჩატარებული ახლახანს Memanishvili-სა და თანამშ. მიერ უჯრედების დიფერენციაციის ფაქტორებით დატვირთული **PEA** მს-ის გამოყენებაზე კორტიკალური ნეირონების გენერაციისათვის (Memanishvili et al. 2016). ახლახანს *in vitro* კვლევებში გაირკვა, რომ პლურიპოტენტული ღეროვანი უჯრედები შესაძლოა გამოყენებული იქნას სხვადასხვა ტიპის ნეირონების რეგენერაციისათვის. Memanishvili-სა და თანამშ. მიერ ჩატარებული კვლევის მიზანი იყო ბიოდეგრადირებადი **PEA** მს-ის პოტენციური გამოყენების შესაძლებლობების შეფასება უჯრედების დიფერენციაციის ფაქტორების მატარებლების (მიკროკონტეინერების) სახით. **PEA** ადიპინის მჟავას, ამინომჟავა ფენილალანინისა და 1,4-ბუტანდიოლის საფუძველზე (**PEA 4F4**) მიიღეს ხსნარში გააქტივირებული პოლიკონდენსაციით, როგორც აღწერილია Tsitlanadze და თანამშ. მიერ (Tsitlanadze et al. 2004) და Katsarava და Gomurashvili-ს მიერ (Katsarava and Gomurashvili 2011).

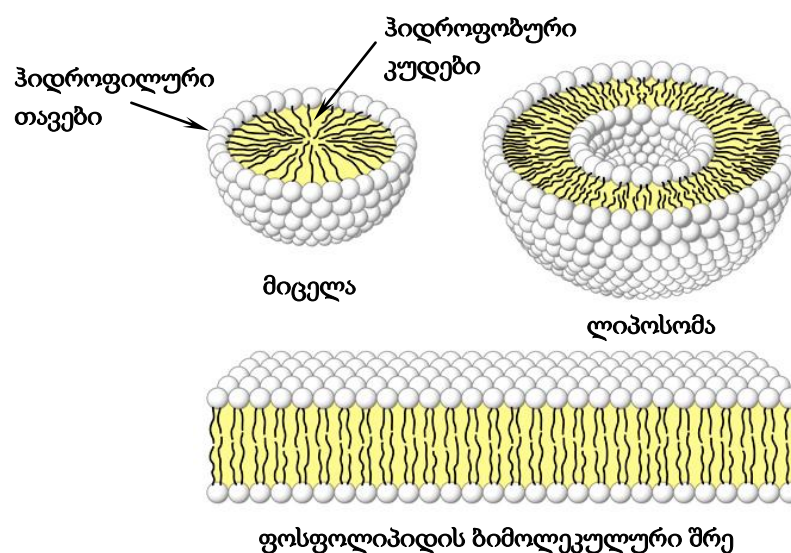


უჯრედების დიფერენციაციის ფაქტორებით დატვირთული **PEA 4F4** მს (ზომებით 5-50 მკმ) მიიღეს ორმაგი ემულსიის - გამხსნელის აორთქლების მეთოდით. ავტორებმა **PEA 4F4** მს-ში შეიყვანეს სამი დიფერენციაციის ფაქტორი: Wnt3A, BMP4 და ციკლოპამინი. ავტორებმა შეისწავლეს მიღებული მს-ის მორფოლოგია, მს-ში დიფერენციაციის ფაქტორების ინკაფსულირების ეფექტურობა, *in vitro* ციტოტოქსიკურობა თგვის კორტიკალური ნეირონების უჯრედულ ხაზზე. ნაშრომში ჩატარებულია ასევე *in vivo* ინტაქტურ თაგვებზე: დიფერენციაციის ფაქტორებით დატვირთული **PEA 4F4**

მს შეიყვანეს (იმპლანტაციის გზით) თავის ტვინში და აკვირდებოდნენ მს-ის განაწილებას და ბიოდეგრადაციის ფაქტორების გამოთავისუფლებას. ნაშრომში ნაჩვენებია, რომ **4F4 მს** არ იწვევენ მნიშვნელოვან ანთებით პროცესებს ინტაქტური თავების თავის ტვინში იმპლანტაციის შემდეგ. გარდა ამისა, *in vitro* ცდებში ნაჩვენებია, რომ სამივე ტიპის უჯრედების დიფერენციაციის ფაქტორების გამოთავისუფლებას ადგილი აქვს როგორც მინიმუმ ერთი თვის განმავლობაში. ავტორების მიერ ნაჩვენებია ბიოდეგრადირებადი **PEA-ს მს-ის** პოტენციური გამოყენების პერსპექტივა ღეროვანი უჯრედების დიფერენციაციის მასტიმულირებელი სისტემების სახით. ნეირონების რეგენერაციის ეფექტური ინოვაციური მეთოდების შემუშავება განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია თავის ტვინის ისეთი სერიოზული დაზიანებების მკურნალობისათვის, როგორებიცაა იშემიური და ჰემორაგიული ინსულტი.

2.1.3. პოლიმერული მიცელები

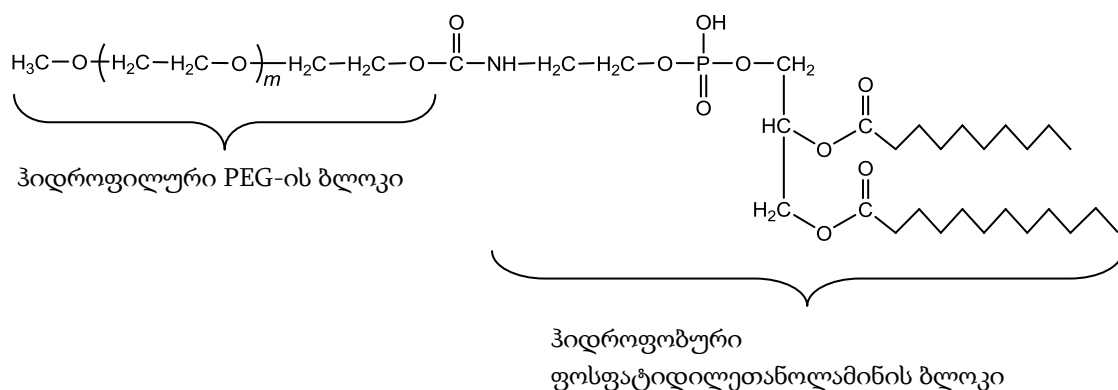
ჰიდროფობური პოლიმერების გამოყენება საშუალებას იძლევა წყალში უხსნად წამლებს მივანიჭოთ სხვადასხვა ბიოლოგიურ სისტემაში ხსნადობა (სისხლში, ლიმფაში), რაც აიოლებს მათ შემდგომ ტრანსპორტირებას ორგანიზმში. უკანასკნელი წლების მანძილზე ინტენსიურად იკვლევენ კოლოიდური ან ნანომასშტაბური ნაწილაკური ტიპის მატარებლებს მათი ინტრავენური ინექციის შესაძლებლობის გამო (Davis et al. 1993). განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობა ბირთვ-გარსის (shell-core) ნნ-ებს ან პოლიმერულ მიცელებს წყლის სისტემებში. ეს უკანასკნელნი წარმოადგენენ წამლის მიმწოდებელ სისტემებს 60-100 ნმ დიამეტრით (კობაური 2011, 50):



წყლის ფაზაში მიცელების ჰიდროფობური ნაწილი მის ბირთვში განლაგდება, ხოლო ჰიდროფილური გარსი წყლის ფენისკენ იქნება მიმართული.

Kataoka-მ და თანამშრომლებმა (Yokoyama et al. 1990) შეისწავლეს პოლიმერული მიცელები, როგორც ჰიდროფობური წამლების (მაგ. ანტისიმსივნური პრეპარატის ადრიამიცინის) მატარებლები. მათ დაადგინეს, რომ პოლი-β-ბენზილ-L-ასპარტატისა და პოლიეთილენოქსიდის დიბლოკთანაპოლიმერები წარმოქმნიან მიცელებს წყალში თვითასოციაციის შედეგად და აქვთ რამდენიმე ათეული ნმ ზომა, რაც ვირუსების ზომის რიგისაა. ნაწილაკებს ახასიათებთ სიმსივნეში ლოკალიზაციის უნარი, ხოლო მათში ჩართული ადრიამიცინი ეფექტურად მოქმედებს სიმსივნეზე (Yokoyama et al. 1990; Yokoyama et al. 1991). მიღებულია ასევე პოლი-γ-ბენზილ-L-გლუტამატის (PBLG) და პოლიეთილენოქსიდის (PEO) ბირთვ-გარსის ტიპის ბიოდეგრადირებადი ჰექსაბლოკ-თანაპოლიმერი (Nah et al. 2000), რომელიც წყალში წარმოქმნის მიცელებს – პერსპექტიულ კონტეინერებს წამლების ტრანსპორტირებისათვის.

ტორჩილინმა და თანამშრომლებმა (Trubetskoy and Torchilin 1995) მიიღეს ბირთვ-გარსის ტიპის მიცელები. ჰიდროფობური ბირთვის ფორმირებისათვის გამოიყენეს ფოსფოლიპიდი, რომელსაც, ეფექტური ჰიდროფილური გარსის მისაღებად, მიუერთეს პოლიეთილენგლიკოლი (PEG):

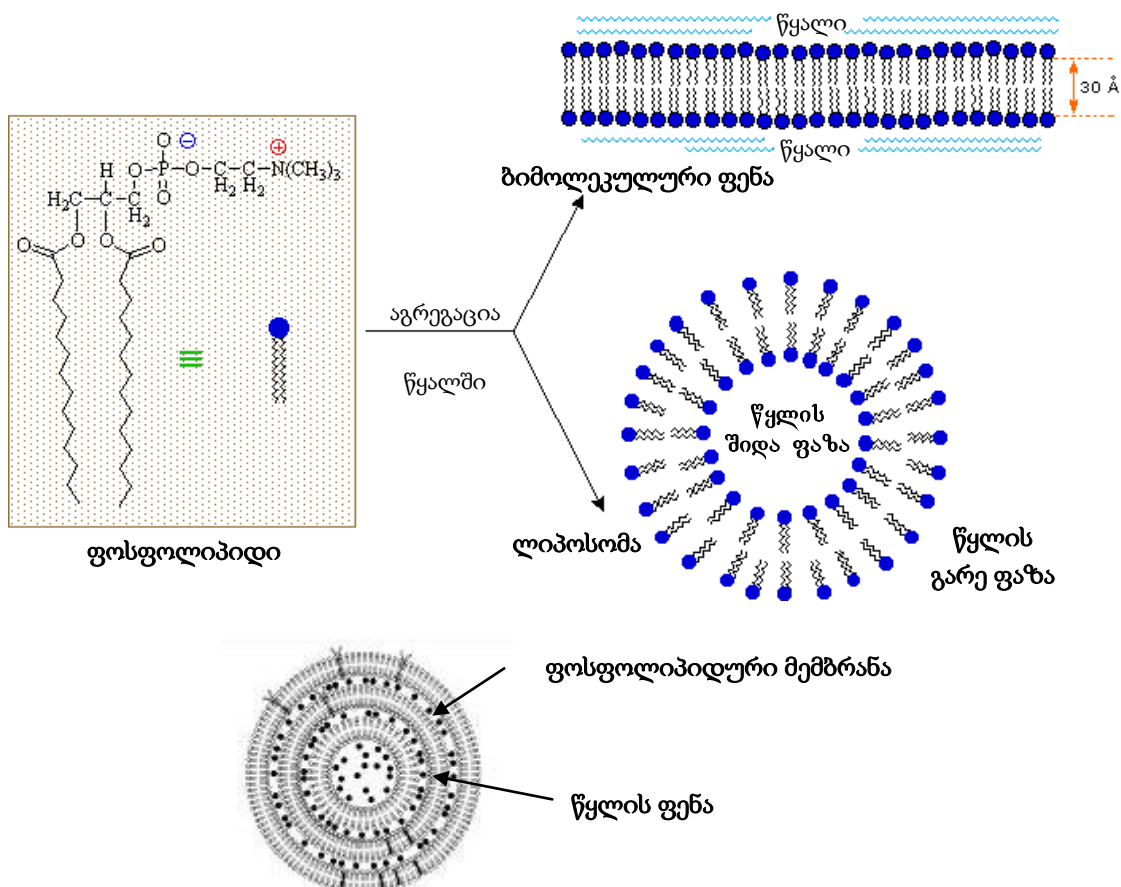


ავტორებმა დაადგინეს, რომ ასეთი მიცელები ძირითადად აკუმულურდებიან ინფარქტით დაზიანებულ ქსოვილებში (Lukyanov, Hartner, and Torchilin 2004) და პერსპექტიულია წამლების მიზანმიმართული მიწოდებისათვის აღნიშნული დაავადებების სამკურნალოდ. აღწერილია ახალი, pH მგრძნობიარე მიცელები ამფიფილური (Hruby, Konak, and Ulbrich 2005), თვითორგანიზებადი დიბლოკთანა-

პოლიმერის საფუძველზე. ეს თანაპოლიმერი შედგება ჰიდროფილური პოლიეთილენოქსიდისა და ჰიდროფობური ბლოკებისაგან, რომლებიც დაასინთეზეს ალილგლიციდილ ეთერის ანიონური (ციკლის გახსნით) პოლიმერიზაციით პოლიეთილენოქსიდის მონომეთილის ეთერის, როგორც მაკროინიციატორის თანაობისას. თანაპოლიმერი გამოიყენეს ანტიბიოტიკ დოქსორუბიცინის პოლიმერმატარებლად. წამლების მატარებლებად ასევე აღწერილია ამფიფილური ბლოკ-თანაპოლიმერები პოლიეთილენგლიკოლისა და ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერების, ან პოლიკარბონატების საფუძველზე (Meng, Engbers, and Feijin 2005). დასინთეზებულია აგრეთვე ამფიფილური დიბლოკთანაპოლიმერი პოლი-2-მეტაკრილოილ-ოქსიეთილ-ფოსფორილქოლინის (ჰიდროფილური სეგმენტი) და ქოლესტერინის (ჰიდროფობური სეგმენტი) საფუძველზე, რომელიც წყალში წარმოქმნის მიცელებს. პრაქტიკულად მონოდისპერსულ მიცელებში (200 ნმ-ზე ნაკლები ზომის) ჩართეს ანტისიმსივნური ადრიამიცინი და შეისწავლეს მისი გამოყოფის კინეტიკა. მიღებული შედეგების საფუძველზე ავტორები ასკვნია, რომ 55 პერსპექტიულია წამლების ტრანსპორტისათვის (Xu et al. 2005).

2.1.4. ლიპოსომები

სამკურნალო პრეპარატების მოქმედების შემზღუდავი ფაქტორია მათი მიზანთან მიღწევის სირთულე. ამ პრობლემის გადასაწყვეტად წარმატებით იყენებენ ლიპოსომებს, რომლებიც ასევე უნდა განვიხილოთ როგორც წამლების მიკრო- და ნანომატარებლები (კონტეინერები). ლიპოსომები ხელს უწყობენ აგრეთვე ფარმაკოლოგიური აგენტების უჯრედშიდა ტრანსპორტს. წყალში უხსნადი პოლარული ლიპიდები, ე.წ. ფოსფოლიპიდები წყლის არეში წარმოქმნიან მაღალორგანიზებულ ანსამბლებს – კონცენტრირებულ მემბრანებს, ანუ ე.წ. ლიპოსომებს (კობაური 2011, 47). ყოველი ასეთი მემბრანა წარმოადგენს ლიპიდური მოლეკულების ბიმოლეკულურ ფენას, რომელიც მეზობელი მემბრანისაგან წყლითაა გამოყოფილი. ჩამოყალიბების პროცესში ლიპოსომებს შეუძლიათ წყლის ფენაში ჩართონ წყალში გახსნილი ნივთიერებები და შემდეგ გამოათავისუფლონ ისინი (ანუ შეასრულონ ამ ნივთიერებების მიკროკონტეინერების როლი), როგორც ქვემოთ მოცემულ ნახაზზეა წარმოდგენილი:



მიღების პროცედურაზე დამოკიდებულებით ლიპოსომები შედგება ერთი, ან რამდენიმე ლიპიდური ლამელისაგან. ერთლამელური ლიპოსომის მინიმალური ზომაა 25 ნმ, მულტილამელური ლიპოსომების ზომები შეიძლება მიკრომეტრამდეც კი გაიზარდოს. ლიპოსომების გეომეტრია და თერმოდინამიკა შესწავლილია Israelashvili-სა და თანამშ. მიერ (Israelachvili, Mitchell, and Ninham 1976). კლასიკური მეთოდით ლიპოსომები მიიღება გარკვეული კონცენტრაციის ფოსფოლიპიდების ხსნარის მომზადებით ორგანულ გამხსნელში, შემდეგ ხსნარის აორთქლებით და მშრალი ფენის გადატანით წყალში ან ბუფერში. ამ მეთოდით მიიღება მულტილამელური ლიპოსომები. ჰიდროფობური ნაერთები ლიპიდებს ერევა საწყის ეტაპზე, ჰიდროფილური ნაერთების ჩართვა კი ხდება წყლის ფენიდან. შემდგომში ახდენენ მულტილამელური ლიპოსომების ულტრაბგერით დეზინტეგრაციას და იღებენ შედარებით პატარა ზომის ლიპოსომების ნარევს. ნარევების დაყოფა შესაძლებელია ქრომატოგრაფიით (Huang 1969), ან ულტრა-ცენტრიფუგირებით (Barenholz et al. 1977).

ლიპოსომების წამლების მატარებლების სახით გამოყენების მცდელობა სათავეს იღებს გასული საუკუნის 70-იანი წლების დასაწყისიდან. Gregoriadis-მა აჩვენა (Gregoriadis and Buckland 1973), რომ ლიპოსომებს შეუძლიათ გარკვეულ პირობებში მიმართონ მათში ჩართული ფერმენტები სპეციფიკურ უჯრედშიგა ცენტრებისაკენ, ასევე შეიყვანონ წამლები უჯრედებში და ზეგავლენა იქონიონ მათ მეტაბოლიზმზე. ლიპოსომები ეფექტური აღმოჩნდა ანტიმიკრობული პრეპარატების მატარებლების სახით. მაგალითად, ნაჩვენებია, რომ პენიცილინის შემცველი ლიპოსომები ახანგრძლივებდნენ წამლის ცირკულაციას სისხლში და ცვლიდნენ მის განაწილებას ქსოვილებში. ეს მეთოდი საშუალებას იძლევა წამალი შევიყვანოთ იმ ქსოვილებშიც კი, რომლებშიც ჩვეულებრივ პენიცილინი ვერ აღწევს. Gregoriadis-ის და თანამშ. მიერ (Gregoriadis 1979) ნაჩვენებია, რომ დეჰიდროსტრეპტომიცინი, რომელსაც ზოგადად არ შეუძლია გაანადგუროს ლიპოსომებში ლოკალიზებული ბაქტერია შტაპკლოცოცვუს აურეუს, ეფექტურად ასრულებს ამ ფუნქციას ლიპოსომებში მოთავსების შემდეგ. გარდა სატ-რანსპორტო ფუნქციებისა, ლიპოსომები ეფექტურად იცავენ ანტიბიოტიკს ფერმენტული ინაქტივაციისაგან (როგორც ცნობილია, გარკვეული ჯგუფის ფერმენტები, რომლებსაც თავდაცვის მიზნით გამოიმუშავენ ბაქტერიები, შლიან ანტიბიოტიკებს).

ლიპოსომების უარყოფით ეფექტების გამომწვევ ფაქტორებს შორის ყველაზე მნიშვნელოვანი ფაქტორია მათი ზომა. Bonventre და თანამშრომლებმა (Bonventre, Gregoriadis, and Iling 1978) აჩვენეს, რომ პატარა ზომის ლიპოსომები სისხლში ცირკულირებენ დიდი ხნის განმავლობაში, გადიან კაპილარებში და აღწევენ მრავალ უბანს. დიდი ზომის ლიპოსომები კი ეჭვდებიან კაპილარებში და იწვევენ მათ ბლოკირებას. სინთეზურ ლიპოსომებს გააჩნიათ ბუნებრივი ლიპოსომებისათვის დამახასიათებელი თვისებები, მაგრამ გამოირჩევიან მაღალი მდგრადობით, მათ შორის ისეთი ძლიერი დეტერგენტის მოქმედების მიმართაც კი, როგორიცაა ნატრიუმის დოდეცილსულფატი.

საინტერესო სამუშაოებია ჩატარებული ნერვის ზრდის ფაქტორის (NGF) ტვინის ქსოვილებში ტრანსპორტირების მიზნით. NGF ჩართეს ლიპოსომში, რათა დაეცვათ იგი ფერმენტული დეგრადაციისაგან და მიენიჭებინათ ჰემატოენცეფალურ ბარიერში

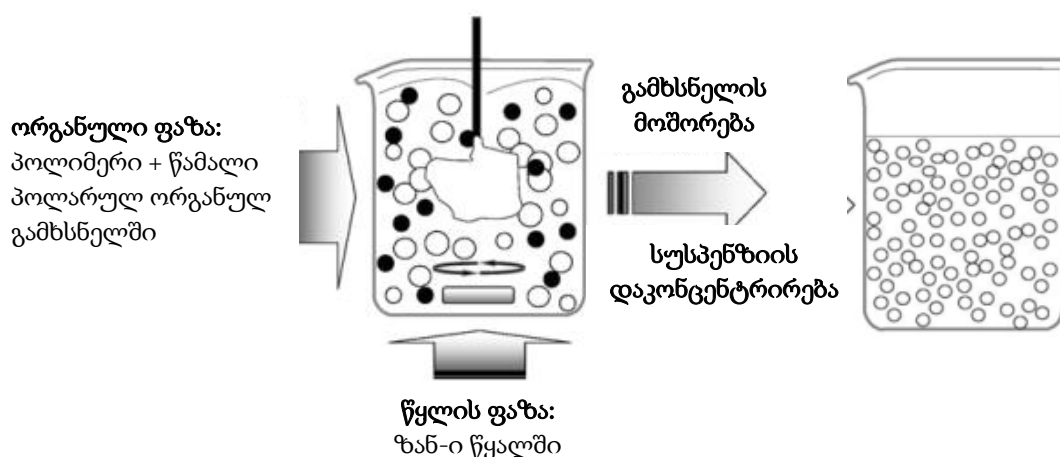
(BBB) შეღწევის უნარი. საშუალო ზომის, 100 ნმ-ზე ნაკლები ლიპოსომები მიიღეს სინთეზური პოლიმერის - დიოლეილგლიცერო-3-ფოსფოეთანოლ-ამინ-[პოლი-(ეთილენგლიკოლ)]-ჰიდროქსისუქცინამიდის საფუძველზე. ლიპოსომაში NGF-ის ჩართვის ხარისხი აჭარბებს 34%-ს. *In vivo* ცდებში მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ ლიპოსომებში ჩართული NGF გადიოდა ჰემატოენცეფალურ ბარიერს და კონცენტრაციის მაქსიმუმი ტვინში მიიღწეოდა ინტრავენური ინექციიდან 30 წუთის შემდეგ (Xie et al. 2005). წინასწარი მონაცემებით, პოლიმერულ ლიპოსომებს ახასიათებთ დაბალი ტოქსიკურობა, რაც ფართო პერსპექტივებს შლის მათი როგორც წამლების, განსაკუთრებით კი ანტისიმსივნური აგენტების, მიმწოდებელი სისტემების კონსტრუირებისათვის.

2.2. ნანო- და მიკრონაწილაკების მიღების მეთოდები სინთეზური პოლიმერების საფუძველზე

დღეისათვის აღწერილია ნნ-ის და მნ-ის მიღების სხვადასხვა მეთოდები. წამლის ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების გათვალისწინებით შესაძლებელია შერჩეულ იქნეს შესაბამისი ხელსაყრელი მეთოდი წამლის უფრო ეფექტური ინკაფსულირებისათვის. პოლიმერული ნაწილაკების მიღების ყველა ამჟამად არსებული მეთოდები შესაძლოა დავყოთ ორ დიდ ჯგუფებად: 1) მეთოდები, რომლებიც ითვალისწინებს პოლიმერიზაციის რეაქციას; 2) მეთოდები, სადაც ნანონაწილაკებს იღებენ უშუალოდ მაკრომოლეკულების ან პრეფორმირებული პოლიმერებისგან. წვრილდისპერსული სისტემების მიღებისას დიდი მნიშვნელობა აქვს პოლიმერების ორგანული გამხსნელების ბუნებას. ორგანული გამხსნელები ICH (International Conference on Harmonization)-ის მიხედვით იყოფა სამ კლასად იმის მიხედვით თუ რამდენად საფრთხეა იგი ადამიანის ჯანმრთელობისათვის: კლასი 1 (გამხსნელები, რომელთა გამოყენებას უნდა მოვერიდოთ, ძლიერ ტოქსიკური), კლასი 2 (გამხსნელები, რომელთა გამოყენება მეტნაკლებად შეზღუდულია, საშუალო ტოქსიკურობის), კლასი 3 (გამხსნელები, რომლებსაც გააჩნიათ დაბალი ტოქსიკურობა) (სიდამონიძე 2014, 11-18). დღეისათვის ფართოდ გამოყენებადი ნანო- და მიკრომასშტაბური ნაწილაკების მიღების მეთოდები დეტალურად ქვემოთ წარმოდგენილ პუნქტებშია განხილული.

2.2.1. პოლიმერის გამოლექვის/გამხსნელის გამოდევნის მეთოდი (ნანოპრეციპიტაციის მეთოდი)

პოლიმერის გამოლექვის (ნანოპრეციპიტაციის) მეთოდი წარმოადგენს ნნ-ის მიღების ერთ-ერთ მარტივ და ეკონომიურად ხელსაყრელ მეთოდს. მეთოდი ეყრდნობა ორგანული ფაზის სპონტანურ ემულგირებას გარე წყლის ფაზაში. გამხსნელის გამოდევნის მეთოდი გვამლევს საშუალებას მივიღოთ როგორც ნანოსფეროები, ისე ნანოკაფსულებიც (Reis et al. 2006). მეთოდი გულისხმობს პრეფორმირებული პოლიმერის გამოლექვას ორგანული ხსნარიდან და ორგანული გამხსნელის დიფუზიას წყლის ფაზაში ზან-ების თანაობისას ან მათი არყოფნის პირობებში (Fessi et al. 1989; Barichello et al. 1999; Galindo-Rodriguez et al. 2004; Ganachaud and Kats 2005). პოლიმერი იხსნება წყალში ხსნად ორგანულ გამხსნელში (საშუალო პოლარობის გამხსნელებში, მაგალითად, სპირტში, აცეტონში, დიმეთილსულფოქსიდში (DMSO), N,N-დიმეთილფორმამიდში (DMFA) და ა. შ.). ორგანული ფაზა წვეთწვეთობით ემატება ზან-ების შემცველ წყალში მუდმივი მორევის პირობებში (იხ. ნახაზი 1). პოლიმერის გამოლექვა წყლისა და ორგანულ ფაზებს შორის ხდება იმ მიზეზით, რომ ორგანული გამხსნელი სწრაფად დიფუნდირებს წყლის ფაზაში, რაც კოლოიდური სუსპენზიის მყისიერ წარმოქმნას იწვევს (Quintanar-Guerrero et al. 1998).



ნახაზი 1. გამხსნელის გამოდევნის (ნანოპრეციპიტაციის) მეთოდი (Reis et al. 2006).

გამხსნელის გამოდევნის მეთოდით ნანოკაფსულების მისაღებად ორგანულ ფაზას უმატებენ მცირე რაოდენობით რომელიმე არატოქსიკურ ორგანულ ნივთიერებას (oil), რომელიც ნანოკაფსულების ბირთვს წარმოქმნის (Quintanar-Guerrero et al. 1998). ეს

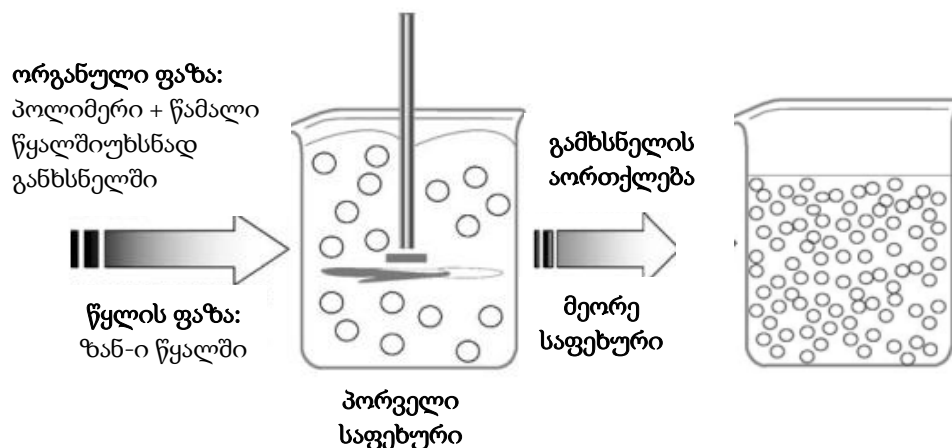
განაპირობებს ლიპოფილური წამლების ინკაფსულირების მაღალ ეფექტურობას. ეს მეთოდი ნნ-ის მიღების საკმაოდ იოლი ხერხია, მაგრამ მისი დანაკლისი იმაშია, რომ მეთოდი ითვალისწინებს წყალში კარგად ხსნადი ორგანული გამხსნელის გამოყენებას (Quintanar-Guerrero et al. 1998). ამ უკანასკნელის სახით ფართოდ გამოიყენება აცეტონი. სინამდვილეში საკმაოდ რთულია პოლიმერის გამხსნელის/წამლის/წყლის ფაზის სწორი შერჩევა, რადგან ორგანული გამხსნელი და არაგამხსნელი უნდა იყვნენ ურთიერთხსნადი (Reis et al. 2006). გამხსნელის გამოდევნის მეთოდი გამოყენებული იქნა სხვადასხვა პოლიმერული მასალებისათვის: PLA (Némati et al. 1996), PLGA (Barichello et al. 1999), PCL (Molpeceres et al. 1996). აღნიშნული მეთოდი წარმატებულად იქნა გამოყენებული ციკლოსპორინ-A-ს ინკაფსულირებისათვის. ნაშრომში ნაჩვენებია, რომ ციკლოსპორინის ინკაფსულირების ეფექტურობა 98% აღწევს (Alléman, Leroux, and Gurny 1998).

2.2.2. ემულსიფიკაციის/გამხსნელის აორთქლების მეთოდი

გამხსნელის აორთქლების მეთოდი ზოგადად ორი საფეხურისგან შედგება. პირველ საფეხურზე პოლიმერის ხსნარი ემულგირდება წყლის ფაზაში, ხოლო მეორე ეტაპზე ხორციელდება პოლიმერის გამხსნელის აორთქლება, რაც იწვევს ნანონაწილაკების წარმოქმნას (Reis et al. 2006). ამ მეთოდის თანახმად პოლიმერი იხსნება წყალში-უხსნად ორგანულ გამხსნელში, ისეთებში როგორებიცაა დიქლორმეთანი, ქლოროფორმი და ეთილაცეტატი (Kenneth et al. 2008). წამალი ასევე იხსნება ან დისპერგირდება პოლიმერის ხსნარში. ამ შემთხვევაში წამალი წყალში უხსნადი უნდა იყოს. როდესაც მიღებულ ხსნარს (ორგანულ ფაზას) ამატებენ ზან-ის შემცველ წყალხსნარს, წარმოიქმნება მცირე ზომის ორგანული ფაზის წვეთები (იხ. ნახაზი 2). ასეთ სისტემას უწოდებენ ორგანული ცხიმი/წყალი (oil-in-water ან O/W) (Kenneth et al. 2008). ზან-ის სახით უფრო ხშირად გამოიყენება ჟელატინი, Polysorbate-80, Poloxamer-181, პოლივინილალკოჰოლი (Soppimath et al. 2001). O/W ემულსიის მისაღებად იყენებენ ჰომოგენიზაციას (ჰომოგენიზების სიჩქარის ვარირებით შესაძლოა ნაწილაკების ზომების ვარირება. გამხსნელის აორთქლების მეთოდით შესაძლოა როგორც ნნ-ის, ასევე დიდი ზომის მნ-ის მიღებაც. მეარი ნნ-ის მიღება ხდება მეორე საფეხურზე, როდესაც ტემპერატურის აწევით ან ხანგრძლივი მორევით

ხდება ორგანული გამხსნელის სრული აორთქლება. ამ მეთოდის გამოყენების დროს უპირატესად წარმოიქმნება ნანოსფეროები /მიკროსფეროები, რომლებშიც წამალი დისპერგირებულია პოლიმერულ მატრიქსში (Reis et al. 2006). ნნ-ის/მნ-ის ზომის კონტროლირება შესაძლებელია მორევის სიჩქარის, ორგანული გამხსნელის სიბლანტის, წყლის ფაზის სიბლანტისა და ტემპერატურის რეგულაციით (Tice and Gilley 1985).

ზემოაღნიშნული მეთოდი შეიძლება იყოს გამოყენებული ჰიდროფობური წამლები-სათვის (Lenaerts et al. 1995), თუმცა სადღეისოდ არსებობს ამ მეთოდის მოდიფიცირებული ვარიანტი, რომლის მიხედვით ნაწილაკებში შესაძლებელია წყალშიხსნადი წამლების ინკაფსულირებაც (Soppimath et al. 2001). ამ შემთხვევაში წამლის ჩართვა ხდება წყლის ფაზაში და შემდეგ ხორციელდება მისი ემულგირება ორგანულ ფაზაში, რის შედეგად ვიღებთ ემულსიას წყალი/ცხიმი (W/O). შემდგომ, მიღებული W/O ემულსიას ხელმეორედ ემულგირებენ წყალში და იღებენ წყალი/ცხიმი/წყალი ემულსიას (W/O/W) (Zambaux et al. 1998). ნანომასშტაბური ემულსიის მისაღებად იყენებენ ულტრაბგერას ან მაღალი სიჩქარის ჰომოგენიზაციას (Kenneth et al. 2008). ამ მეთოდით მიღებულ ნნ-ებში ინკაფსულირებული იქნა ზოგიერთი წამალი, მათ შორის ალბუმინი, ლოპერამიდი და ტესტოსტერონი (Landry et al. 1996).



ნახაზი 2. ემულსიფიკაციის/გამხსნელის აორთქლების მეთოდი (Reis et al. 2006).

გამხსნელის აორთქლების მეთოდის მთავარი დანაკლისი მაღალი სიჩქარის ჰომოგენიზაციის ან ულტრაბგერის გამოყენებაა. ეს პროცედურები შეიძლება გამოყენებულ იქნეს ლაბორატორიულ კვლევებში, მაგრამ მსხვილმასშტაბური

წარმოებისათვის მისი გამოყენება მიზანშეუწონელია. საწარმოო მასშტაბებით 55-ის/მ5-ის მიღებისათვის გამოყენებული უნდა იქნეს უფრო დაბალენერგეტიკული ემულსიფიკაციის მეთოდები (Soppimath et al. 2001).

2.2.3. ემულსიფიკაციის/გამხსნელის დიფუზიის მეთოდი

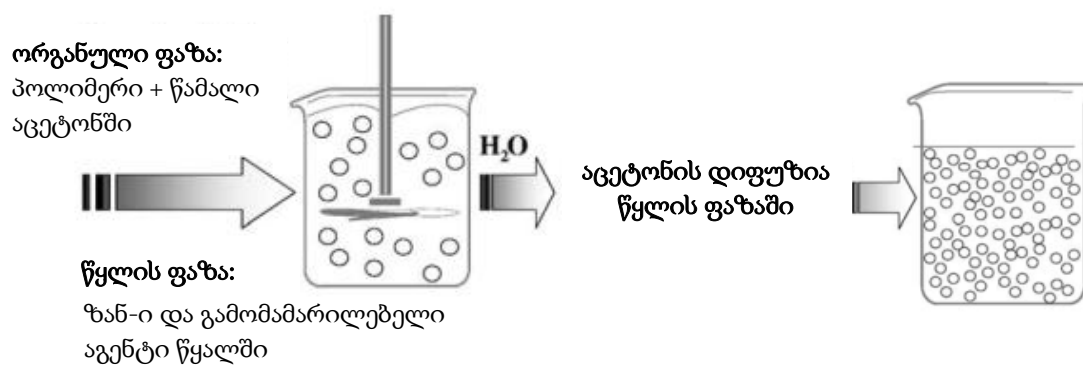
ემულსიფიკაციის/გამხსნელის დიფუზიის მეთოდის თანახმად პოლიმერი იხსნება ნაწილობრივ წყალშიხსნად გამხსნელში, ისეთში როგორიცაა პროპილენ კარბონატი (ICH-ს მონაცემები არ არის ცნობილი) (Reis et al. 2006). იმისათვის, რომ განხორციელდეს პოლიმერის გამოლექვა და 55-ის ფორმირება აუცილებელია ორგანული გამხსნელის დიფუზიის გააქტივირება, რომელსაც აწარმოებენ წყლის ჭარბი რაოდენობის დამატებით. დიფუზიის აქტივაცია წყლის მეშვეობით გამოიყენება იმ დროს, როდესაც იყენებენ ნაწილობრივად წყალშიხსნად გამხსნელს, ხოლო წიმააღმდეგ შემთხვევაში გამოიყენება განსაზღვრული ორგანული გამხსნელი (Reis et al. 2006). ამ მეთოდის თანახმად, ორგანული ფაზა (ანუ სისტემა პოლიმერი-ნაწილობრივ წყალშიხსნადი გამხსნელი) ემულგირდება ზან-ების შემცველ წყალხსნარში. ეს იწვევს პოლიმერის გამხსნელის დიფუზიას გარე ფაზაში და ნანოსფეროების ან ნანოკაფსულების ფორმირებას. 55-ის ტიპის ფორმირება დამოკიდებულია პოლიმერისა და გამხსნელის თანაფარდობაზე. პროცესის ბოლოს გამხსნელს ამორებენ აორთქლებით ან ფილტრაციით მისი დუდილის ტემპერატურის შესაბამისად (Reis et al. 2006).

გამხსნელის დიფუზიის მეთოდს გააჩნია რამდენიმე უპირატესობა: ინკაფსულაციის მაღალი ეფექტურობა (ჩვეულებრივ >70%), მასშტაბური გადასვლის სიადვილე, თვით პროცედურის ჩატარების სიადვილე, ზომების განაწილების საკმაოდ ვიწრო დიაპაზონი და, ასევე ის გარემოება, რომ ჰომოგენიზაციის გამოყენება არ არის აუცილებელი. ამ მეთოდის ნაკლი იმაში მდგომარეობს, რომ სუსპენზიის გასუფთავებისას ხდება მისგან წყლის დიდი რაოდენობით მოშორება, რაც წამლის განსაზღვრული რაოდენობის დაკარგვას იწვევს. როგორც ზოგიერთი სხვა მეთოდი, გამხსნელის დიფუზიის მეთოდი წარმოადგენს ერთ-ერთ ეფექტურ ხერხს ლიპო-ფილური წამლების ინკაფსულირებისათვის (Quintanar-Guerrero et al. 1998). აღწერი-

ლი მეთოდის გამოყენებით მიღებულია PLA და PLGA **55**, რომლებშიც ინკაფსულირებულ იქნა ზოგიერთი სამკურნალო პრეპარატი: დოქსორუბიცინი (Yoo et al. 1999) კუმარინი (Lu et al. 2005), ინდოპიანინი (Saxena, Sadogi, and Shao 2004).

2.2.4. გამომარილების მეთოდი

გამომარილების მეთოდი ეყრდნობა წყალში ხსნადი ორგანული გამხსნელის განცალკევებას წყლის ხსნარისგან გამოკრისტალების ეფექტის მეშვეობით. ეს მეთოდი შეიძლება იყოს განხილული, როგორც მოდიფიცირებული გამხსნელის დიფუზიის მეთოდი (Reis et al. 2006). დასაწყისში წამალი და პოლიმერი იხსნება ორგანულ გამხსნელში, მაგალითად, აცეტონში. შემდგომ, ეს ორგანული ფაზა ემულგირდება წყლის გელში, რომელიც შეიცავს გამომამარილებელს (ელექტროლიტები, როგორიცაა $MgCl_2$, $CaCl_2$, $(CH_3COO)_2Mg$ ან არაელექტროლიტები, მაგალითად, საქაროზა) და კოლოიდურ სტაბილიზატორს. ამ უკანასკნელის სახით შეიძლება გამოყენებული იქნეს პოლივინილპიროლიდონი ან ჰიდროქსიეთილცელულოზა. შემდეგ, ახდენენ O/W ემულსიის განზავებას გამოხდილი წყლით (იხ. ნახაზი 3), რათა მოხდეს აცეტონის დიფუზიის გაადვილება და, შესაბამისად, **55**-ის ფორმირების ინდუცირება (Reis et al. 2006). გამომამარილებლის შერჩევას დიდი მნიშვნელობა აქვს, ვინაიდან ეს ერთ-ერთი ის ფაქტორია, რომელიც განაპირობებს წამლის ინკაფსულირების ეფექტურობას (Reis et al. 2006) როგორც ორგანული გამხსნელის, ისე გამომამარილებლის მოშორება შესაძლოა ფილტრაციით (cross-flow filtration) (Quintanar-Guerrero et al. 1998).



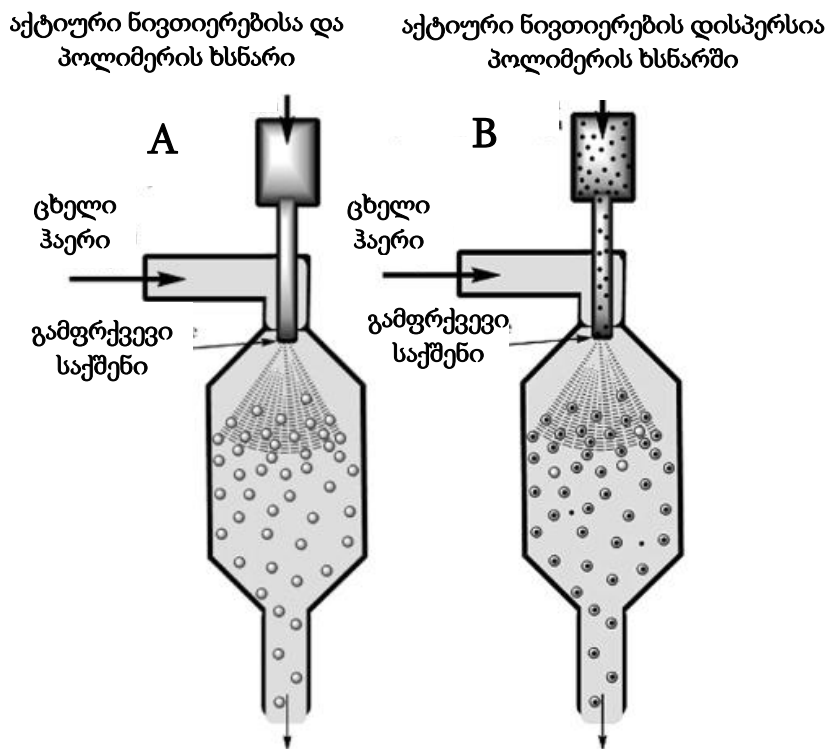
ნახაზი 3. გამომარილების მეთოდი (Reis et al. 2006).

გამომარილების მეთოდის ერთ-ერთი უპირატესობა იმაში მდგომარეობს, რომ ეს მეთოდი არ მოითხოვს მაღალი ტემპერატურის გამოყენებას და ამ თვალსაზრისით ეს ხერხი შეიძლება იყოს სასარგებლო სითბოსადმი მგრძნობიარე ნივთიერებებთან მუშაობისას (Lambert, Fattal, and Couvreur 2001). მეთოდის უარყოფითი მხარე იმაში მდგომარეობს, რომ ის გამოსადეგია მარტო ჰიდროფობური წამლების ინკაფსულირებისათვის და, გარდა ამისა, მნ-ის გასუფთავების ეტაპი საკმაოდ ხანგრძლივია (Couvreur, Dubernet, and Puisieux 1995).

2.2.5. გაფრქვევის მეთოდი

გაფრქვევის მეთოდი წარმოადგენს საწარმოო მასშტაბებით მნ-ის მიღების ერთ-ერთ ყველაზე ფართოდ გამოყენებად ხერხს (Кедик и др. 2014). გაფრქვევის მეთოდი შედარებით მარტივი, იაფი და პროდუქტიული მეთოდია, რომლის გამოყენებით იღებენ წამლებით დატვირთულ პოლიმერულ მნ-ებს (Wright 2012). ჩვეულებრივ, გაფრქვევის მეთოდის არსი მდგომარეობს პოლიმერისა და აქტიური ნივთიერების ხსნარის/დისპერსიის გაფრქვევაში გახურებულ მშრალ არეში, მაგალითად, გახურებულ ჰაერში (ნახაზი 4). გამფრქვევი საქშენის გასასვლელში ხსნარის/დისპერსიის ნაკადი ქუცმაცდება მცირე ზომის წვეთებად, რომლებიც სწრაფი აორთქლების შედეგად გადადიან მყარ (მშრალ) მდგომარეობაში. ამ ხერხით იღებენ მნ-ებს როგორც აქტიური ნივთიერების შედარებით თანაბარი განაწილებით ნაწილაკების მთელ მოცულობაში (სიზრქეში), ასევე „ბირთვი-გარსი“-ს ტიპის მნ-ებსაც. პირველ შემთხვევაში ახდენენ პოლიმერისა და აქტიური ნივთიერების ერთობლივი ხსნარის (ორგანულ გამხსნელში) გაფრქვევას გახურებულ ჰაერში (Reis et al. 2006), ხოლო მეორე შემთხვევაში აფრქვევენ დისპერსიას, რომელიც შეიცავს მნ-ის ბირთვის წარმომქმნელ ნაერთს (სადაც ხდება წამლის ჩართვაც) (Jyothi et al. 2012; Mok et al. 2008; Quaglia et al. 2003). ისევე როგორც სხვა მეთოდებში, გაფრქვევის მეთოდშიც აგლომერაციის თავიდან აცილების მიზნით ხსნარში/დისპერსიაში შეჰყავთ სტაბილიზატორები (PEG, პოლიეთილენიმინი და ა. შ.) (Takashima et al. 2006). გაფრქვევის მეთოდის ერთ-ერთი მოდიფიცირებული ვარიანტია ე. წ. „გაფრქვევა-გამოყინვის“ მეთოდი. ტრადიციულ მეთოდთან შედარებით ამ შემთხვევაში

აფრქვევენ არა ხსნარს/დისპერსიას, არამედ ნაღვს. უკანასკნელის გაფრქვევა ხორციელდება გაცივებული ჰაერის ნაკადში.



ნახაზი 4. მნ-ის ფორმირება ხსნარიდან (A) და დისპერსიიდან (B) გაფრქვევის მეთოდით.

გაფრქვევის მეთოდს გააჩნია რიგი უპირატესობა, როგორცაა, პირველ რიგში, პროცესის რეგულირების სიმარტივე და სისწრაფე, ასევე ის გარემოება, რომ მიღებული მნ არ საჭიროებს დამატებით გასუფთავებასა და დამუშავებას (Лыков и Леончик 1966). მიუხედავად ამისა, გაფრქვევის მეთოდის გამოყენება გარკვეულწილად შეზღუდულია ზოგიერთი აქტიური ნივთიერების (პირველ რიგში წამლების) მგრძნობელობის გამო მაღალი ტემპერატურების მიმართ. ამ მეთოდის კიდევ ერთი ნაკლი მდგომარეობს იმაში, რომ ხშირ შემთხვევაში ადგილი აქვს პოლიმერული ბოჭკოების წარმოქმნას (Jalil and Nixon 1990). განსაკუთრებით ეს დამახასიათებელია იმ პოლიმერებისათვის, რომლებიც წარმოქმნიან ძლიერ მოლეკულათაშორის ბმებს ან გააჩნიათ მაღალი მოლეკულური მასა და სიბლანტე (Prior et al. 2000; Jalil and Nixon 1990; Schwach et al. 2003). აგლომერაციის, ბოჭკოების წარმოქმნისა და ხელსაწყო კედლებზე მიწებების გამო შესაძლოა პროდუქტის გამოსავლიანობის საგრძნობი შემცირება, თუმცა აღნიშნული პროცესების თავიდან აცილება შესაძლებელია

თანამედროვე მოდიფიცირებული ხელსაწყოების გამოყენებით – მაგალითად, ორმაგი საქმენით აღჭურვილი ხელსაწყოების გამოყენებით (Takada et al. 1995).

მიუხედავად ზემოაღნიშნული პრობლემებისა, გაფრქვევის მეთოდი წარმატებულად გამოიყენება პეპტიდების (Prior et al. 2000), ცილებისა (Wischke and Schwendeman 2008) და ჰიდროფობური წამლების მიკროინკაფსულირებისათვის, განსაკუთრებით მსხვილმასშტაბურ წარმოებაში. ზოგიერთ ნაშრომში (Prior et al. 2000; Jalil and Nixon 1990; Schwach et al. 2003) ნაჩვენებია, რომ გაფრქვევის მეთოდის გამოყენების შემთხვევაში მიკროინკაფსულირების ეფექტურობა საკმაოდ მაღალია და აღემატება ეფექტურობას ემულსიფიკაციის/გამხსნელი აორთქლების მეთოდის შემთხვევაში. ასე, PLA მნ-ებში გენტამიცინის ინკაფსულირების ეფექტურობა გაფრქვევის მეთოდის შემთხვევაში შეადგენს 44,5 %-ს და თითქმის 3,5 ჯერ აღემატება ეფექტურობას გამხსნელის აორთქლების მეთოდთან შედარებით (13,3 %) (Prior et al. 2000).

2.2.6. ნანონაწილაკების მიღება მონომერების პოლიმერიზაციით

ემულსიური პოლიმერიზაცია. ემულსიური პოლიმერიზაცია წარმოადგენს 55-ის მიღების ერთ-ერთ სწრაფ მეთოდს (Kreuter 1990, 257-266). ეს მეთოდი შეიძლება იყოს დაყოფილი ორ კატეგორიებად იმის მიხედვით თუ რა ტიპის უწყვეტი ფაზა გამოიყენება მეთოდში (ორგანული თუ წყალი) (Reis et al. 2006). მეთოდი, რომელშიც დისპერსიული არის სახით გამოიყენება ორგანული უწყვეტი ფაზა, ითვალისწინებს მონომერების დისპერგირებას ემულსიის წარმოქმნით. ამ მეთოდით მიღებულია პოლიაკრილამიდის ნანოსფეროები (Ekman and Sjoholm 1978; Lowe and Temple 1994). სადღეისოდ ეს მეთოდი მეტნაკლებად მნიშვნელოვანია ვინაიდან ის ითვალისწინებს სხვადასხვა ტოქსიკური ორგანული გამხსნელებისა და ზედაპირულად აქტიური ნივთიერებების გამოყენებას. შესაბამისად, უფრო მიზანშეწონილია სხვა ალტერნატიული მეთოდების გამოყენება (Reis et al. 2006). ამ მეთოდით მიღებულია პოლიმეთილმეტაკრილატის (PMMA), პოლიეთილციანოაკრილატის (PECA) და პოლიბუტილციანოაკრილარის 55, სადაც ორგანული გამხსნელის სახით გამოყენებული იყო ციკლოჰექსანი (ICH class 2), ნ-პენტანი (ICH class 3) და ტოლუოლი (ICH class 2). ამ მეთოდის გამოყენებით მიღებულ ნანონაწილაკებში ჩართული იქნა

შემდეგი წამლები: ტრიამცინოლონი (Krause, Schwarz, and Rohdewald 1986), ფლუორესცინი (El-Samalg, Rohdewald, and Mahmoud 1986), პოლიკარპინი (Harmia-pulkkinen, Tuomi, and Kristoffersson 1989), თიმოლოლი (Harmia-pulkkinen, Tuomi, and Kristoffersson 1989).

იმ შემთხვევაში, როდესაც უწყვეტი ფაზის სახით გამოიყენება წყალი, არ არის აუცილებელი ემულგატორებისა და ზან-ების გამოყენება. დისპერსიული არის სახით წყალხსნარის გამოყენებისას მასში ხსნიან მონომერებს, რომელთა პოლიმერიზაცია ინიციატორების მეშვეობით ხორციელდება. პროცესის ინიცირება ხდება, როდესაც წყალში გახსნილი მონომერების მოლეკულები ეჯახება ინიციატორების მოლეკულებს, რომლებიც წარმოადგენენ იონებს ან თავისუფალ რადიკალებს. გარდა ამისა, თვით მონომერების მოლეკულებიც კი შეიძლება იქცეს ინიციატორულ რადიკალებად მაღალი ენერგიის რადიაციის ზემოქმედების ქვეშ. ჯაჭვის ზრდა ხორციელდება როდესაც გააქტივირებული მონომერების იონები ან რადიკალები ეჯახება სხვა მონომერულ მოლეკულებს და ხდება პოლიმერიზაცია ანიონური მექანიზმით (Vauthier et al. 2003). მყარი 55-ის ფორმირება ხდება ან პოლიმერიზაციის რეაქციის დამთავრებამდე ან რეაქციის დასრულების შემდეგ (Kreuter 1982).

ემულსიური პოლიმერიზაციით მიღებული 55-ის მაგალითს წარმოადგენ PMMA ნაწილაკები, რომლებიც მნიშვნელოვანი დამხმარე ნივთიერებებია ვაქცინების წარმოებისას. PMMA ნაწილაკების მიღება ხდება რადიკალური პოლიმერიზაციის მექანიზმით (Kreuter and Speiser 1976), ჩვეულებრივ ემულგატორების გარეშე (Kreuter 1983). მეთილმეტაკრილატის მონომერები PMMA 55-ის მისაღებად გამოიყენებოდა 1989 წლამდე, შემდგომ კი იყენებდნენ მეთილმეტაკრილატის თანაპოლიმერიზაციას სხვადასხვა ნაერთებთან: მეტაკრილის მჟავასთან, ჰიდროქსიპროპილენტან, ეთილენგლიკოლთან. თანაპოლიმერიზაციის შედეგად იზრდებოდა ნაწილაკების ჰიდროფილურობა (Allémann, Gurny, and Doekler 1993). PMMA 55-ის მიღება საკმაოდ იოლი პროცესია, მაგრამ გასათვალისწინებელია ის გარემოება, რომ მას გააჩნია ორი დანაკლისი. ჯერ ერთი, პოლიმერიზაციის რეაქცია ითვალისწინებს ფიზიკური და ქიმიური ინიციატორების გამოყენებას, მეორეც და PMMA 55 არ არის ბიოდეგრადირებადი (Kreuter, Täuber, and Illi 1979).

ფაზათაშორისი პოლიმერიზაცია. ფაზათაშორისი პოლიმერიზაციით მიღებულია ზოგიერთი პოლიმერული **55**. ასეთი პოლიმერის მაგალითია პოლიაკრილციანო-აკრილატი (PACA). ამ პოლიმერის ერთ-ერთი უპირატესობა არის მისი სწრაფი პოლიმერიზაცია, რომელიც რამოდენიმე წამის განმავლობაში ხორციელდება იონების ზემოქმედებით სარეაქციო არეში (Couvreur et al. 2002). ამ მეთოდის თანახმად ციანოაკრილატის მონომერები და წამალი იხსნება განსაზღვრული ჰიდროფობური ორგანული ნაერთისა და სუფთა ეთანოლის ნარევეში (Al Khouri et al. 1986). ამ მიღებულ ნარევს შემდეგ ნელა უმატებენ კარგად შერეულ წყალხსნარს, სადაც გახსნილია ეთანოლი (ICH კლასი 3) ან აცეტონი (ICH კლასი 3), რომელიც შეიცავს დეტერგენტებს. ნანოკაფსულები წარმოიქმნება ციანოაკრილატის პოლიმერიზაციისას სპონტანურად ინიციატორულ იონებთან კონტაქტის შემდეგ. კოლოიდური სუსპენზია შეიძლება იყოს კონცენტრირებული ვაკუუმში აორთქლებით (Reis et al. 2006). ფაზათაშორისი პოლიმერიზაციის მეთოდით მიღებულია PACA-ს გარდა სხვა პოლიმერული **55** – პოლიიზობუტილციანოაკრილატისა (Aprahamian 1987; Lambert et al. 2000), და პოლიიზოპექსილციანოაკრილატის (Lenaerts et al. 1995). ამ მეთოდით მიღებულ **55**-ში ინკაფსულირებული იქნა შემდეგი წამლები: ინსულინი (Watnasirichaikul et al. 2000; Damgé et al. 1988), კალციტონინი (Lowe and Temple 1994), ოქტრეოტიდი (octreotide) (Damgé et al. 1997), დაროპდინი (Hubert et al. 1991), ინდომეტაცინი (Gürsoy et al. 1989; Ammoury et al. 1991).

ფაზათაშორისი პოლიმერიზაციის მეთოდის უპირატესობა იმაში მდგომარეობს, რომ წამლის ინკაფსულაციის ეფექტურობა მაღალია (მაგალითად, ინსულინისათვის 95%) (Couvreur et al. 2002). გარდა ამისა, ამ მეთოდის უპირატესობა იმაშიც მდგომარეობს, რომ პოლიმერული **55** წარმოიქმნება *in situ* (Couvreur et al. 2002). ამ მეთოდის მთავარი ნაკლი რეაქციის დროს ორგანული გამხსნელის გამოყენებაა გარე ფაზის სახით, ვინაიდან გამხსნელის მოშორება საკმაოდ შრომატევადი პროცესია (Allémann, Gurny, and Doekler 1993).

2.2.7. ნანონაწილაკების მიღება ზეკრიტიკული სითხეების გამოყენებით

თანამედროვე ფარმაცევტულ ინდუსტრიაში დიდ ინტერესს წარმოადგენს სასურველი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების მქონე **55**-ის მიღება, რომელთა გამოყენება მიზანშეწონილი იქნება წამლის მიზანმიმართული მიწოდებისათვის (Soppimath et al. 2001). ტრადიციული მეთოდები, როგორებიცაა მაგალითად, გამხსნელის გამოდევნის ან გამხსნელის დიფუზიის მეთოდი, ხშირად ითხოვს ტოქსიკური ორგანული გამხსნელების/**ზან**-ების გამოყენებას. ამ გარემოების გათვალისწინებით, მეცნიერთა ძალისხმევა არის მიმართული ახალი, ეკოლოგიურად უსაფრთხო მეთოდების შემუშავებისაკენ. თუ **55**-ის მიღების დროს მათში დარჩება გამხსნელის ნარჩენები, უკანასკნელი შეიძლება ურთიერთქმედებაში შევიდეს ინკაფსულირებულ წამალთან და მოახდინოს მისი ფიზიოლოგიური აქტივობის დაკარგვა. ტრადიციული მეთოდების ზემოაღნიშნული ნაკლის გათვალისწინებით მიზანშეწონილია სხვა ალტერნატიული მეთოდების შემუშავება. ამ თვალსაზრისით პერსპექტიულია ზეკრიტიკული სითხეების გამოყენება, ვინაიდან ისინი ეკოლოგიურად უსაფრთხო გამხსნელებს წარმოადგენენ (Soppimath et al. 2001). ზეკრიტიკული სითხეების გამოყენებით შესაძლოა მიღებულ იქნას სუფთა **55** ორგანული მინარევების გარეშე (Soppimath et al. 2001). ზეკრიტიკული სითხეების (ჩვეულებრივ ზეკრიტიკული CO₂) გამოყენებაზე დაფუძნებული მეთოდების ზოგადი არსი იმაში მდგომარეობს, რომ პოლიმერი და წამალი იხსნება ზეკრიტიკულ სითხეში, შემდგომ ახდენენ ზეკრიტიკული სითხის აორთქლებას და ამის შედეგად თანდათან ხდება პოლიმერის გამოლექვა და **55**-ის ფორმირება. ამ მეთოდის გამოყენებით მიღებულია, მაგალითად, ინსულინით დატვირთული PEG/PLA **55** (Elvassore, Bertuccio, and Caliceti 2001).

ზემოაღნიშნული მეთოდის ნაკლი იმაში მდგომარეობს, რომ პოლიმერების უმეტესობა ზეკრიტიკულ სითხეებში ცუდან იხსნება ან საერთოდ არ იხსნება. ამ მიზეზის გამო პოლიმერების უმეტესობისათვის ეს მეთოდი პრაქტიკულად არ გამოიყენება (Lambert et al. 2000). გარდა ამისა, ეს ახალი მეთოდი მოითხოვს ძვირადღირებულ აპარატურას და, შესაბამისად, პროცედურების ჩატარება დიდ ხარჯებთან არის დაკავშირებული.

2.3. ნანო- და მიკრონაწილაკების ურთიერთქმედება სისხლის პლაზმის ცილებთან

სამედიცინო მიზნებისათვის ნნ-ის/მნ-ის გამოყენების აუცილებელი წინაპირობაა მათი ბიოშეთავსებადობისა და იმუნოგენურობის შესწავლა, პირველ რიგში ნაწილაკების ციტოტოქსიკურობისა და სისხლის პლაზმის ცილებთან ურთიერთქმედების საკითხების შესწავლა. ნანოკონტეინერები ხშირ შემთხვევაში ორგანიზმში შეჰყავთ პარენტერალური გზით. უცხო სხეულების, მათ შორის ნანო- და მიკრომასშტაბური სისტემების (მატარებლების) მიმართ, ორგანიზმს გააჩნია ბიოლოგიური (იმუნური) პასუხი. უცხო სხეულების უმეტესობა ორგანიზმში მოხვედრისთანავე დაუყოვნებლივ „იფუთება“ ცილებით და წარმოიქმნება ე. წ. „კორონა“ (corona) (Cedervall et al. 2007; Sahoo et al. 2007; Lynch and Dawson 2008). პროტეინული, ანუ ცილოვანი კორონა რთული აგებულებისაა და მრავალფეროვანია. ადამიანის სისხლის პლაზმაში შედის დაახლოებით 3700 სხვადასხვა ცილა, რომელთაგან დაახლოებით 50-მდე ნაპოვნია კორონას შემადგენლობაში (Aggarwal et al. 2009; Thode et al. 1997; Patel 1992). კორონას განსაზღვრული კომპონენტები, როგორებიცაა ოპსონინები, აძლიერებენ უჯრედების მიერ ნაწილაკების შთანთქმას (ფაგოციტოზს). ოპსონინების შემცველობა ნაწილაკების ზედაპირზე ქმნის თავისებურ „მოლეკულურ ხელმოწერას“, რომელიც გამოიცნობა იმუნური სისტემის უჯრედების მიერ და განსაზღვრავს ნაწილაკების ინტერნალიზაციის გზას (Kiwada, Miyajima, and Kato 1987; Tyrrell, Richardson, and Ryman 1977). ეს უკანასკნელი კი მოქმედებს ნაწილაკების გამოდევნის სიჩქარეზე ორგანიზმიდან, ასევე მათ ბიოგანაწილებაზე და ელიმინირების მექანიზმზე (Goppert and Muller 2005; Muller and Heinemann 1989).

ცნობილია, რომ ნაწილაკის ზომის შემცირებისას მისი ზედაპირის ფართობის შემცირება ნაწილაკის მოცულობის შემცირებასთან შედარებით ნაკლებად საგრძნობია. ამის გამო ნანომასშტაბურ სისტემებს გააჩნიათ დიდი ზედაპირის ფართობი, რის გამოც ნნ-ის ცილებით „შეფუთვა“ ბევრად უფრო ინტენსიურად ხდება ვიდრე მნ-ის. თუმცა, მიუხედავად ამისა, მნ-ისთვისაც პროტეინებთან დაკავშირება ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი ფაქტორია, რომელიც განსაზღვრავს ნაწილაკების ბიოგანაწილებას ორგანიზმში (Tran et al. 2000; Dutta et al. 2007; Gessner et al. 2002;

Goppert and Muller 2005; Luck et al. 1998). **55**–ის პროტეინებთან ურთიერთქმედების შესწავლა მეტად მნიშვნელოვანია ვინაიდან ის განსაზღვრავს შემდგომში მასში ჩართული წამლის მოქმედების ეფექტურობას (Musteata et al. 2006; Olson and Christ 1996). რა თქმა უნდა არსებობს კიდევ ბევრი ფაქტორი, რომლებსაც მნიშვნელობა აქვს ნაწილაკების ორგანიზმში განაწილებაზე. მათ შორის შეგვიძლია აღვნიშნოთ ნაწილაკების ზომა, მათი ფორმა, ზედაპირული მუხტი (ძეტა-პოტენციალი), ხსნადობა და, ასევე, ორგანიზმში ადმინისტრირების გზა (Chithrani, Ghazani, and Chan 2006; McNeil 2005; Moghimi and Davis 1994; Moghimi, Hunter, and Murray 2001; Poznansky and Juliano 1984; Jong et al. 2008; Dobrovolskaia et al. 2008; Tomalia, Reyna, and Svenson 2007). მიუხედავად ინტენსიური კვლევებისა ამ მიმართულებით დღეისათვის არაა საკმარისად შესწავლილი ისეთი ფუნდამენტური საკითხები, თუ როგორ მოქმედებენ ეს ზემოაღნიშნული ფაქტორები პლაზმის პროტეინების ურთიერთქმედებაზე **55**–ებთან, ასევე ბოლომდე არაა გარკვეული თუ როგორ მოქმედებს პროტეინ-ნაწილაკის კავშირი მათ ბიოგანაწილებაზე და ნაწილაკების ბიოშეთავსებადობაზე. ჯერჯერობით სრულად არაა შესწავლილი ასევე ნაწილაკების ცილებთან დაკავშირების მექანიზმები, თუმცა, ცხადია, რომ ცილების ბუნებასა და რაოდენობას აქვს გადამწყვეტი მნიშვნელობა ამ პროცესებში (Cedervall et al. 2007).

ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ფაქტორი, რომელიც მოქმედებს ცილების დაკავშირებაზე არის ნაწილაკების ძეტა-პოტენციალი. პოლიმერული ნაწილაკების მაგალითზე შესწავლილია ნაწილაკების ზედაპირული მუხტის გავლენა პლაზმის ცილების ადსორბციაზე. ექსპერიმენტებში ცვლიდნენ მხოლოდ **55**–ის ძეტა-პოტენციალს, ხოლო დანარჩენი მახასიათებლები კი (**55**–ის ზომა, ჰიდროფობურობა, ბუნება) უცვლელი იყო. კვლევებმა აჩვენა, რომ რაც უფრო მეტი იყო უარყოფითი მუხტის მნიშვნელობა, მით უფრო აქტიურად ხდებოდა ცილების ადსორბირება მათ ზედაპირზე (Gessner et al. 2002). სხვა ნაშრომში ასევე ნაჩვენებია, რომ ნეიტრალურ **55**–ებს გააჩნიათ მკვეთრად უფრო დაბალი ოპსონიზაციის სიჩქარე ვიდრე დამუხტულ ნაწილაკებს (Owens and Peppas 2006; Roser, Fischer, and Kissel 1998). პოლისტირენის **55**–ზე ნაჩვენებია, რომ დადებითად დამუხტული ნაწილაკები უპირატესად იკავშირებენ ცილებს, რომელთა იზოელექტრული წერტილი ნაკლებია 5,5-ზე (მაგალითად, ალბუმინს), იმ დროს, როდესაც უარყოფითად დამუხტული

ნაწილაკები ძირითადად იკავშირებდნენ 5,5-ზე უფრო მაღალი იზოელექტრული წერტილის მქონე ცილებს (როგორიცაა IgG) (Gessner et al. 2003). რაც შეეხება 55-ის ჰიდროფობურობას, იგი მოქმედებს არა მარტო მათ დაკავშირებაზე ცილებთან, არამედ იმუნური სისტემის უჯრედების მიერ მათ ამოცნობაზეც (Cedervall et al. 2007; Goppert and Muller 2005; Luck et al. 1998; Goppert and Muller 2003; Labarre et al. 2005). დადგენილია, რომ ჰიდროფობური 55 უფრო ჩქარა ოპსონიზდება ვიდრე ჰიდროფილური ნაწილაკები.

55-ის ცილებთან დაკავშირება იწვევს მათი ზომებისა და ზედაპირული მუხტის ცვლილებას (Moghimi, Hunter, and Murray 2001; Tomalia, Reyna, and Svenson 2007). ეს ცვლილებები კი მოქმედებს 55-ის ინტერნალიზაციაზე (ჩართვაზე) მაკროფაგებში და ასევე მათ განაწილებაზე ორგანიზმში (Dutta et al. 2007; Gessner et al. 2002; Goppert and Muller 2005; Luck et al. 1998). დაკავშირებული ცილები ეხმარება მაკროფაგებს 55-ის ამოცნობაში (Owens and Peppas 2006). ისეთი ოპსონინების დაკავშირება, როგორებიცაა IgG, კომპლემენტის ფაქტორი და ფიბრინოგენი, ხელს უწყობენ ფაგოციტოზს და ნაწილაკების ელიმინირებას ორგანიზმიდან რეტიკოლოენდოტელიალური სისტემის უჯრედების მეშვეობით (Camner et al. 2002; Leroux et al. 1995). ამ ნაწილაკებს გააჩნიათ ღვიძლსა და ელენთაში დეპონირების (აკუმულირების) ტენდენცია (Gref et al. 1995; Illum et al. 1987; Panagi et al. 2001). მეორეს მხრივ, შეგვიძლია ვთქვათ, რომ დისოპსონინები, მაგალითად, ალბუმინი, პირიქით ხელს უწყობს 55-ის ცირკულაციის პროლონგირებას სისხლში (Moghimi et al. 1993; Ogawara et al. 2004). პოლისტირენის 55-ის სისხლთან ურთიერთქმედების შესწავლამ აჩვენა, რომ ის ხელს უწყობს ღვიძლის მაკროფაგების (კუპფერის უჯრედების) მიერ ნაწილაკების შთანთქმას უჯრედების ზედაპირზე არსებული ე. წ. სკავენჯერ-რეცეპტორების მეშვეობით (Nagayama et al. 2007). მსგავსი თვისება აღმოაჩნდა ზოგიერთ სხვა პლაზმის ცილებსაც. სხვა ნაშრომში, სადაც ასევე პოლისტირენის 55-ის ბიოგანაწილებას სწავლობდნენ, აღწერილია, რომ 55-ებთან დაკავშირებული ფიბრონექტინი ასევე ხელს უწყობს კუპფერის უჯრედების მიერ ნაწილაკების შთანთქმას (Moghimi et al. 1993). გარდა ამისა, ნაჩვენებია, რომ პოლიბუტილციანო-აკრილატის ნაწილაკების სხვადასხვა აპოლიპოპროტეინების (Apo E, Apo A-I, Apo B-

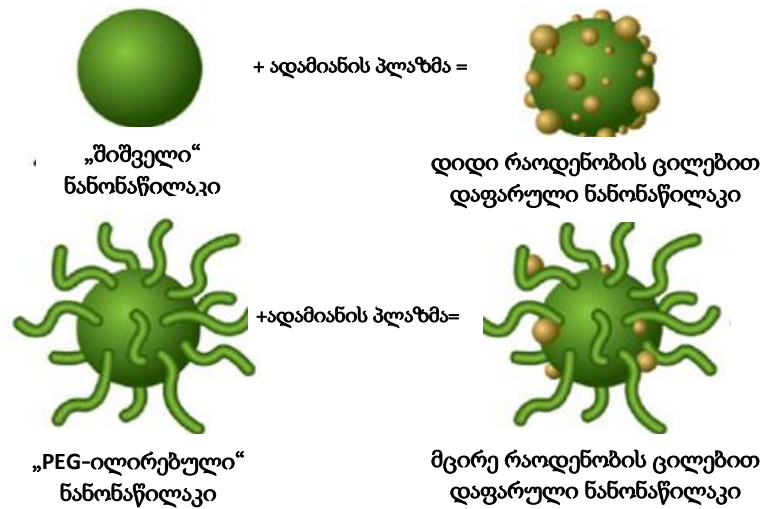
100) დაკავშირებისას პროტეინები ხელს უწყობენ წამლის ტრანსპორტირებას ტვინში (Kreuter et al. 2007; Kreuter et al. 2002; Michaelis et al. 2006).

მეცნიერებს შორის ჯერ-ჯერობით არის დავი იმასთან დაკავშირებით არის თუ არა ცილების **55**-ებთან დაკავშირება სასურველი. ერთის მხრივ, ზოგიერთ შემთხვევაში ცილების დაკავშირება სასურველია იმ თვალსაზრისით, რომ ისინი ხელს უწყობენ **55**-ის დეპონირებას სხეულის განსაზღვრულ ადგილას. მაგალითად, აპოლიპოპროტეინებთან დაკავშირება სასურველია იმისათვის, რომ ნაწილაკებმა გადალახონ ჰემატოენცეფალური ბარიერი და ტვინში შეაღწიონ (Olivier 2005), მაგრამ არასასურველია იმ მოსაზრებით, რომ ეს ცილები ხელს უწყობენ ნაწილაკების შთანთქმას ღვიძლისა და ელენთას უჯრედების მიერ და ორგანიზმიდან სწრაფ ელიმინირებას (Owens and Peppas 2006).

ცილების ნანონაწილაკებთან დაკავშირების თავიდან აცილების მიზნით ფართოდ გამოიყენება **55**-ის სხვადასხვა პოლიმერებით დაფარვა. პოლისტირენის **55**-ებზე ნაჩვენებია, რომ Poloxamine 908-ით დაფარვისას მცირდება დაკავშირებული ფიბრონექტინის რაოდენობა „დაუფარავ“ ნაწილაკებთან შედარებით და ასევე მცირდება ღვიძლში აკუმულირებული ნაწილაკების რაოდენობაც (Moghimi et al. 1993). ნახშირბადის ნანოღეროებისა და კვარცის ამორფული **55**-ის მაგალითზე ნაჩვენებია, რომ მათი ზედაპირის დაფარვა Pluronic F127-ით იწვევს ნაწილაკების ორგანიზმში გაბნევის გაძლიერებას და ასევე ადსორბირებული პლაზმის ცილების რაოდენობის საგრძნობ შემცირებას (Dutta et al. 2007).

ნანონაწილაკების „შენიღბვის“ ყველაზე უფრო ფართოდ გავრცელებული და მარტივი მეთოდია მათი ზედაპირის დაფარვა პოლიეთილენგლიკოლით (PEG), ანუ **55**-ის „PEG-ილირება“ (Gref et al. 2000; Peracchia et al. 1999). სხვადასხვა **55**-ის მაგალითზე ნაჩვენებია, რომ PEG-ილირება ხელს უწყობს პლაზმის ცილების ადსორბირების საგრძნობ შემცირებას და სისხლში ნაწილაკების ცირკულაციის პროლონგირებას (Gref et al. 2000; Peracchia et al. 1999; Gref et al. 1994; Paciotti et al. 2004). პოლიეთილენგლიკოლის გრძელი მოლეკულების ქაოტური „ღრუბელი“ **55**-ის ზედაპირზე ხელს

უშლის ცილების ადსორბციას, როგორც ეს გამოსახულია ქვემოთ წარმოდგენილ ნახაზზე:



PEG-ილირება შესაძლოა განხორციელებული იქნეს PEG-ის **55**-ებთან კოვალენტურად დაკავშირებით ან მათი ადსორბირებით ნაწილაკების ზედაპირზე არაკოვალენტური ურთიერთქმედების ძალებით. შესწავლილია ასევე თუ როგორ მოქმედებს PEG-ის მოლეკულური მასა და **55**-ის ზედაპირზე მათი სიმკვრივე (შემცველობა) ცილებისა და **55**-ის ურთიერთქმედებაზე. ერთ-ერთ ნაშრომში (Gref et al. 2000) შესწავლილია PLA-ს **55**-ის PEG-ილირება სხვადასხვა მოლეკულური მასის PEG-ით (2000-დან 20 000-მდე დალტონი) და ასევე PEG-ის კონცენტრაციის გავლენა ოპსონიზაციასა და ბიოგანაწილებაზე. ამ ნაშრომში ნაჩვენებია, რომ მოლეკულური მასების ზრდასთან ერთად მცირდება პლაზმის ცილების ადსორბცია **55**-ის ზედაპირზე და რაც უფრო მეტია PEG-ის სიმკვრივე ნაწილაკების ზედაპირის ფართობის ერთეულზე მით უფრო ნაკლებია ადსორბირებული ცილების რაოდენობა. აღსანიშნავია, რომ PEG-ილირებისას ყველა შემთხვევაში ცილების ადსორბირების სრული თავიდან აცილებას ადგილი არა აქვს, თუმცა ადსორბირების ხარისხი ბევრად უფრო ნაკლებია ვიდრე დაუფარავი ნაწილაკების შემთხვევაში (Gref et al. 2000).

Paciotti და თანამშრომლებმა (Paciotti et al. 2004) ცხოველურ მოდელებზე (თაგვებზე) შეისწავლეს სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორთან დაკავშირებული ოქროს **55**-ის ბიოგანაწილება ორგანიზმში. კვლევებმა აჩვენა, რომ დაუფარავი 30 ნმ-იანი ოქროს **55** საკმაოდ ჩქარა აკუმულირდება ღვიძლსა და ელენთაში და ადგილი არა აქვს ნაწილაკების ბიოგანაწილებას ორგანიზმის სხვა ორგანოებში ერთი თვის შემდეგაც კი

(Paciotti et al. 2004). მაგრამ ამ ნაწილაკების PEG-ილირებისას რეტიკულოენდო-ტელეალური სისტემის უჯრედები ნაკლებად შთანთქავენ **55**-ებს, ვინაიდან მათი ზედაპირი უმნიშვნელოდ არის დაფარული პლაზმის ცილებით, რომლებიც ხელს უწყობენ უჯრედებს უცხო სხეულების ამოცნობაში. ამის გამო ნანონაწილაკების ჩქარ ელიმინირებას ადგილია არა აქვს და ისინი ძირითადად აკუმულირდებიან სიმსივნურ ქსოვილში. მიუხედავად PEG-ილირების ფართო გავრცელებისა PEG არ არის ერთადერთი პოლიმერი, რომელსაც **55**-ის შენიღბვისთვის იყენებენ. ამ მიზნით ასევე გამოიყენება სხვადასხვა პოლიმერები, მათ შორის პოლისაქარიდებიც (Aggarwal et al. 2009). ასევე ცნობილია, რომ **55**-ის დაკავშირება სპეციფიურ აპოლიპო-პროტეინებთან (Apo E-სთან) ხელს უწყობს **55**-ის მიერ ჰემატოენცეფალური ბარიერის გაღალახვას და ტვინში შეღწევადობას (Goppert and Muller 2005), თუმცა ამ პროცესის მექანიზმი ბოლომდე არაა შესწავლილი. ნაჩვენებია ასევე, რომ **55**-ის ზედაპირის დაფარვა პოლისორბატებით (მაგალითად Tween 80-ით) ხელს უწყობს Apo E-ს შეკავშირებას და, შესაბამისად, **55**-ის მიერ ჰემატოენცეფალური ბარიერის გაღალახვას.

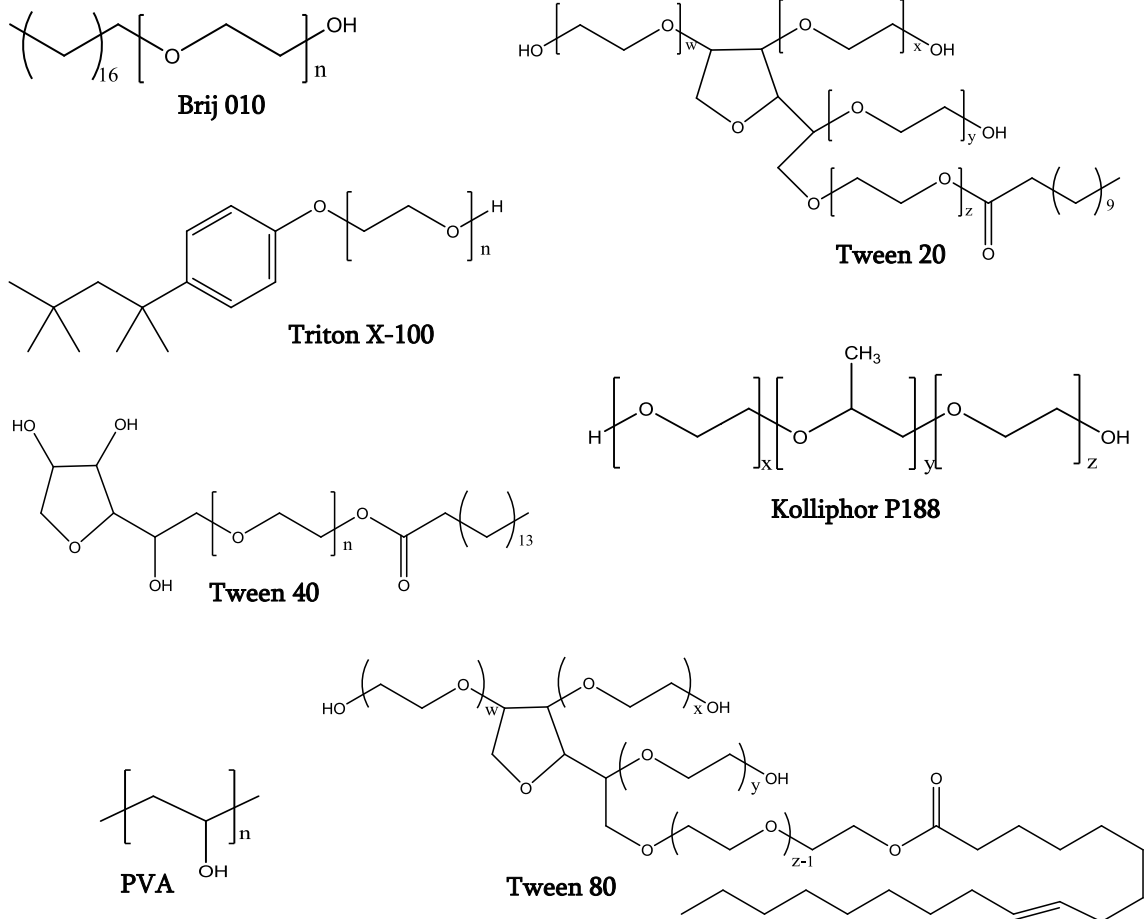
მსგავსი მიგნებები მეტად მნიშვნელოვანია, ვინაიდან აღნიშნული პროცესების დეტალური შესწავლა, მათ მექანიზმებში გარკვევა უსათუოდ იქნება მიზანმიმარ-თული პრეპარატების კონსტრუირების კარგი საწინდარი (Aggarwal et al. 2009).

3. მასალები და მეთოდები

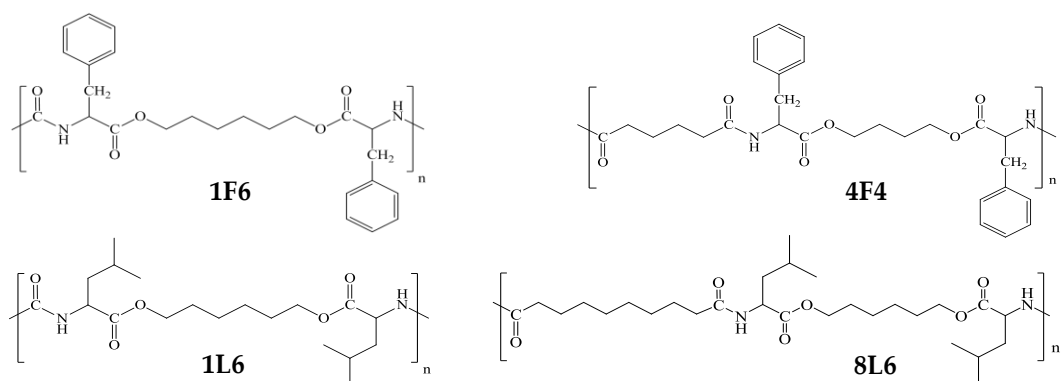
3.1. ნაწონაწილაკების მისაღებად გამოყენებული მასალები

რვა ზან-ი – Tween 20 (პოლიოქსიეთილენის სორბიტანმონოლაურატი, MW 1228 Da), Tween 40 (პოლიოქსიეთილენის სორბიტანმონოპალმიტატი, MW 1277), Tween 80 (პოლიოქსიეთილენის სორბიტანმონოოლეატი, MW 1310), Kolliphor P188 (Poloxamer 188) - პოლიეთილენგლიკოლი-ბლოკ-პოლიპროპილენგლიკოლი-ბლოკ-პოლიეთილენგლიკოლი (PEG-PPG-PEG) ტრიბლოკ-თანაპოლიმერი (MW 7680–9510 Da), Brij 010 (პოლიოქსიეთილენის ოლეილეთერი, MW 709), პოლივინილის სპირტები (PVAs), როგორებიცაა Mowiol 4-88 (MW 31 000, ჰიდროლიზის ხარისხით (3.ხ.) 86,7%–88,7%) და Mowiol 8-88 (MW 67 000, 3.ხ. 86,7–88,7%), შეძენილია Sigma-Aldrich (*St. Louis*, MO, USA)-დან და Triton X100 (პოლიეთილენგლიკოლის p-(1,1,3,3-ტეტრამეთილ-ბუთილ)-ფენილეთერი, MW 647) შეძენილია Ferak Berlin GmbH კომპანიიდან. გამოყენებული ზან-ების სტრუქტურები იხ. სქემა 3-ზე. ორგანული გამხსნელები – 1,3-დიმეთილ-2-იმიდაზოლიდინონი (DMI), *N,N*-დიმეთილფორმამიდი (DMF), აცეტონი და 1,1,1,3,3,3-ჰექსაფტორიზოპროპანოლი (HFIP) შეძენილია Sigma-Aldrich-დან, ხოლო დიმეთილსულფოქსიდი (DMSO) შეძენილია Carl Roth (Karlsruhe, Germany) კომპანიიდან. სადიალიზე პარკები (MWCO 25 kDa) შეძენილია Spectrum Laboratories-დან (Inc., Rancho Dominguez, CA, USA).

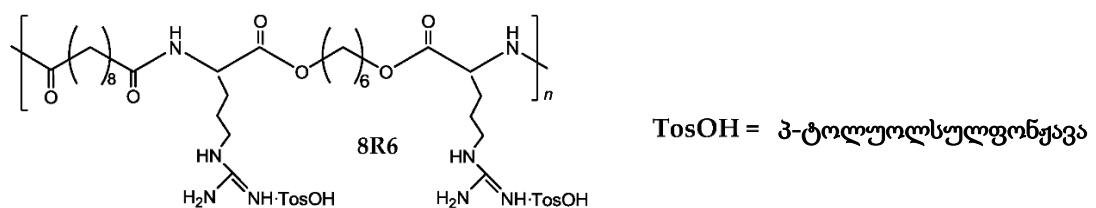
კვლევებში გამოყენებული **AABB** პოლიმერები (იხ. სქემა 4) დასინთეზებულია იგივე მეთოდით, რაც ჩვენ მიერ იქნა გამოყენებული წინა ნაშრომებში (Katsarava and Gomurashvili 2011). **PEUs 1F6** და **1L6** და ასევე **PEA 8L6** დასინთეზებულია ფაზათაშორისი პოლიკონდენსაციით (IP), ხოლო **PEA 4F4** მივიღეთ ხსნარში გააქტივირებული პოლიკონდენსაციით (SAP). ამინომჟავა L-არგინინის საფუძველზე მიღებული ბიოდეგრადირებადი კატიონური პოლიმერი - **PEA 8R6** (იხ. სქემა 5) დავასინთეზეთ წინა ნაშრომის მიხედვით (Memanishvili et al. 2014).



სქემა 3. 55-ის მისაღებად გამოყენებული ზან-ები.



სქემა 4. 55-ის მისაღებად გამოყენებული AABB პოლიმერების სტრუქტურები.



სქემა 5. დადებითად დამუხტული 55-ის მისაღებად გამოყენებული კატიონური ABB პოლიმერის (8R6) სტრუქტურა.

3.2. ნანონაწილაკების მიღების ზოგადი მეთოდика

ნნ მივიღეთ ე. წ. პოლიმერის გამოლექვის/გამხსნელის გამოდევნის (ნანოპრეციპიტაციის) მეთოდის თანახმად (polymer deposition/solvent displacement (nanoprecipitation) method), რომელიც გამოყენებულია Fessi და თანამშ. მიერ (Fessi et al. 1989). **ნნ**-ის მისაღებად ექსპერიმენტები ჩავატარეთ ოთახის ტემპერატურაზე. მოცემული მეთოდის თანახმად განსაზღვრული (ვარირებადი) რაოდენობის **AABB** პოლიმერს ვხსნიდით 1,0 მლ ორგანულ გამხსნელში (წყალთან შერევადი გამხსნელი) (DMI, DMF, DMSO ან აცეტონი). მიღებულ ორგანულ ფაზას შემდეგ წვეთწვეთობით ვამატებდით (დამატების სიჩქარეს ვცვლიდით ექსპერიმენტიდან ექსპერიმენტში) განსაზღვრული მოცულობის წყლის ფაზაში (არაორგანული ფაზა), რომელიც შეიცავდა განსაზღვრული (მაგრამ ექსპერიმენტიდან ექსპერიმენტში ვარირებადი) რაოდენობის **ზან**-ს. წყლის ფაზაში ორგანული ფაზის წვეთწვეთობით დამატებისას წყლის, ანუ არაორგანული ფაზა მუდმივი მორევის პირობებში იმყოფებოდა (მაგნიტურ სარეველაზე). წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე ექსპერიმენტიდან ექსპერიმენტში იცვლებოდა. კვლევის ფარგლებში შესწავლილია სხვადასხვა ფაქტორების, მათ შორის სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების გავლენა **ნნ**-ის ფორმირებაზე. ეს ფაქტორებია: **AABB** პოლიმერის ბუნება, ორგანული გამხსნელის ბუნება, გამოყენებული **ზან**-ების ბუნება, პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში, **ზან**-ის კონცენტრაცია წყლის ფაზაში, ორგანული/წყლის ფაზების მოცულობითი თანაფარდობა (O/W), ორგანული ფაზის დამატების (ჩაწვეთების) სიჩქარე და წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე.

ნნ ასევე მივიღეთ ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით. ამ მეთოდის თანახმად, **ზან**-ი (50,0 მგ) გავხსენით 1,0 მლ ორგანულ გამხსნელში (DMI) პოლიმერთან ერთად (6,0 მგ) და მიღებული ორგანული ფაზა წვეთწვეთობით დავამატეთ მუდმივი მორევის პირობებში მყოფ 10,0 მლ სუფთა წყალში (**ზან**-ების გარეშე). ორივე მეთოდის შემთხვევაში **ნნ**-ის წარმოქმნა ხდებოდა თანდათან, ორგანული ფაზის დამატებისას წყლის ფაზაში, რასაც ვიზუალურადაც ვამჩნევდით წყლის ფაზის შემღვრევით და რძისმაგვარი მასის წარმოქმნით. ორგანული ფაზის სრული დამატების შემდეგ, მიღებულ სუსპენზიას ვურევდით მაგნიტურ სარეველაზე 2-3 წთ-ის

განმავლობაში და შემდეგ ვინახავდით დაბალ ტემპერატურაზე ჰერმეტიკულად დახშულ ფლაკონებში. ბიოლოგიური კვლევებისათვის დამზადებულ **ნნ**-ებს ვადიალიზებდით გამოხდილი წყლის მიმართ 72 სთ განმავლობაში ორგანული გამხსნელისა და ზედმეტი რაოდენობის **ზან**-ის მოსაშორებლად. დიალიზის შემდეგ ვახდენდით სუსპენციის დაკონცენტრირებას 10,0 მლ-მდე როტაციული ამორთქლებლის გამოყენებით დაბალი წნევის პირობებში. TEM (ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპია) ანალიზისათვის **ნნ**-ის სუსპენზიებს ვაკონცენტრირებდით 1,0 მლ-მდე (ე. ი. **ნნ**-ის კონცენტრაცია დაკონცენტრირებულ სუსპენზიაში შეადგენდა 6,0 მგ/მლ). **ნნ**-ის აგრეგაციას (ასეთის არსებობის შემთხვევაში) ვაფასებდით ვიზუალურად სუსპენზიაში პოლიმერული აგრეგატების თვალისათვის ხილული ნაწილაკების წარმოქმნით.

3.3. ნაწილაკების ზომების, ძეტა-პოტენციალის, პოლიდისპერსიულობის ინდექსისა და მორფოლოგიის შესწავლა

მიღებულ **ნნ**-ებს ვახასიათებდით ზომებით (**ნნ**-ის საშუალო დიამეტრი), ნაწილაკების ზომების განაწილებით (პოლიდისპერსიულობის ინდექსი, PDI) და ზედაპირული მუხტით (ძეტა-პოტენციალი), რომლებსაც ვსაზღვრავდით დინამიკური შუქგაბნევის მეთოდით სპეციალური ხელსაწყო - ძეტასაიზერის (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments, Malvern, UK) გამოყენებით 25° C ტემპერატურაზე. **ნნ**-ის საშუალო დიამეტრი, PDI და ძეტა-პოტენციალი წარმოდგენილია როგორც სამი პარალელური გაზომვის საშუალო $\pm$ სტანდარტული გადახრა (Standard deviation, SD). **ნნ**-ის ზომების განაწილებაზე (პოლიდისპერსიულობაზე) ვმსჯელობდით PDI-ს მათემატიკური მნიშვნელობებიდან გამომდინარე: $PDI < 0,04$ ნიშნავს ვიწრო განაწილებას, $0,04 \leq PDI \leq 0,16$ ნიშნავს საშუალო განაწილებას, ხოლო $PDI > 0,16$ ნიშნავს ფართო განაწილებას.

ნნ-ის მორფოლოგიური კვლევა ჩავატარეთ ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპის (TEM, model BS-500, TESLA, Brno, Czechoslovakia) გამოყენებით. **ნნ**-ის ნეგატიური შედეგისათვის გამოვიყენეთ 1%-იანი ურანილაცეტატის ხსნარი. TEM-ანალიზისათვის **ნნ**-ის დანონცენტრირებული სუსპენზია დავიტანეთ სპეციალურ ბადეზე (TEM grid) და დავამატეთ ურანილაცეტატის ხსნარის რამოდენიმე წვეთი. 1 წთ-ის

განმავლობაში ინკუბირების შემდეგ სითხის ჭარბი რაოდენობა მოვაშორეთ ზადეს და შემდეგ გავაშრეთ ოთახის ტემპერატურაზე.

3.4. ციტოტოქსიკურობის შესწავლის მეთოდика (MTT-ანალიზი)

ნ5-ის in vitro ციტოტოქსიკურობა შევისწავლეთ სტანდარტული ტეტრაზოლიუმის ტესტის გამოყენებით ოთხ სტაბილურ უჯრედულ ხაზზე: (i) HeLa – ადამიანის ეპითელური უჯრედები (საშვილოსნოს ყელის კიბოს უჯრედები), (ii) A549 – ადამიანის II ტიპის ალვეოლური უჯრედები (ფილტვების კიბოს ეპითელური უჯრედები), (iii) Hepa 1-6 – თაგვის ღვიძლის კიბოს უჯრედები და (iv) RAW264.7 – თაგვის ლეიკემიური მაკროფაგები. უჯრედების კულტივირებას ვახდენდით 37°C-ზე, დიულბეკოს მიერ მოდიფიცირებულ საკულტივაციო არეში (DMEM), ხბოს ემბრიონალური შრატის 10%-ის, 2 mM L-გლუტამინის და ანტიბიოტიკების (პენიცილინ/სტრეპტომიცინის) სტანდარტული კონცენტრაციით დამატებით. უჯრედების შეგროვებისთვის ვახდენდით მათ დამუშავებას 0,25% ტრიპსინის ხსნარით. 24-28 სთ-იანი ინკუბირების შემდეგ უჯრედებს ვამატებდით ნ5-ებს, კონცენტრაციით 5,0 მკგ/მლ.

როგორც აღვნიშნეთ, უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შეფასება ხდებოდა სტანდარტული ტეტრაზოლიუმის ტესტით (MTT-ანალიზი), რომლის არსი მდგომარეობს შემდეგში: ყვითელი ტეტრაზოლიუმის მარილი - MTT (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), რომელიც წყალში ხსნადია, მიტოქონდრიების ფერმენტების (დეჰიდროგენაზების) ზემოქმედებით გარდაიქმნება ფორმაზანის მუქ იისფერ წყალში-უხსნად კრისტალებად. ამ კრისტალების შესაბამისი ორგანული გამხსნელით გახსნის გზით ვღებულობთ ფერად რეაქციას. ყვითელი მარილის გარდაქმნა იისფერ ფორმაზანად მხოლოდ მეტაბოლურად აქტიურ უჯრედებში ხდება. მეთოდი გამოიყენება, როგორც უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის და პროლიფერაციის შეფასების სტანდარტული ტესტი (Mosmann 1983).

ნ5-ით მოქმედების 24 სთ შემდეგ, კულტურაში ვამატებდით MTT-ს ხსნარის 10 მკლ, ვაინკუბირებდით 4 სთ-ის განმავლობაში, 37 °C-ზე. . ინკუბაციის შემდგომ თითოეულ ფოსოში ვამატებდით 10 წუთით 100 მკლ ორგანულ გამხსნელს - DMSO-ს, ფორმაზა-

ნის კრისტალების გასახსნელად. შემდეგ კი სპექტროფოტომეტრის (ELx800 Absorbance Reader, Biotek, Inc., Winooski, VT, USA) საშუალებით ვსაზღვრავდით ოპტიკურ სიმკვრივეს (OD) 570 ნმ ტალღის სიგრძეზე. საკონტროლო ნიმუშებში უჯრედების ინკუბაცია ხდებოდა მხოლოდ შესაბამის არეში, (55-ის გარეშე). უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას (%-ებში) ვითვლიდით შემდეგი ფორმულის გამოყენებით:

$$\text{უჯრედის სიცოცხლისუნარიანობა (\%)} = \frac{([OD]_{\text{test}} - [OD]_{\text{blank}})}{([OD]_{\text{control}} - [OD]_{\text{blank}})} \times 100\%$$

სადაც [OD]test, [OD]control, [OD]blank არის ტესტის (უჯრედები 55-ებთან ერთად), კონტროლის (უჯრედები 55-ების გარეშე) და ბლანკის (არე უჯრედებისა და 55-ის გარეშე) შთანთქმის მაჩვენებლები (ოპტიკური სიმკვრივეები), შესაბამისად. თითოეული ექსპერიმენტისათვის ოპტიკური სიმკვრივე წარმოდგენილია, როგორც 12 პარალელური გაზომვის (12 ცალკეული ფოსოს შთანთქმის) საშუალო. თითოეული უჯრედული ხაზისათვის ჩატარებულია 4 პარალელური ექსპერიმენტი.

3.5. ნანონაწილაკების ქსოვილებში შეღწევადობის შესწავლის მეთოდика

ღვიძლის უჯრედების სფეროიდებს (3D უჯრედული კულტურა) ვამზადებდით შემდეგი მეთოდის თანახმად: Hepa 1-6 უჯრედებს სტანდარტულ DMEM არეში (10%-იანი FBS) ვთესავდით 96 ფოსოიან ფირფიტებზე კონცენტრაციით $0,2 \times 10^6$ უჯრედი/მლ და შემდეგ ვამატებდით არაადჰეზიურ გელს (1% აგაროზა). შემდეგ ვახდენდით ფირფიტების ინკუბირებას როტაციულ შეიკერზე (ბრუნვის დაბალ სიჩქარეზე) 24 სთ განმავლობაში. ამის შემდეგ სფეროიდების წარმოქმნის პროცესის დასრულებისათვის მიღებულ უჯრედულ კულტურას დამატებით ვაინკუბირებდით 96 სთ განმავლობაში.

55-ებს კონცენტრაციით 5,0 მკგ/მლ, ვამატებდით 5 დღის სფეროიდებში და ვაინკუბირებდით 24 სთ განმავლობაში. შემდგომ, 55-ის შეღწევადობას სფეროიდის შიგა ქსოვილებში ვაანალიზებდით TEM-ის გამოყენებით. TEM ანალიზისთვის მიღებული სფეროიდები გადაგვქონდა 1,5 მლ-იან ეპენდორფის სინჯარებში, ვაცენტრიფუგირებდით 1500 ბრუნი/წთ-ზე და შემდეგ ვრეცხავდით 0,1 M ფოსფატის ბუფერში (PBS).

სფეროიდების ფიქსაციას ვახდენდით 4%-იანი პარაფორმალდეჰიდით და 2,5%-იანი გლუტარალდეჰიდის ხსნარით 0,1 M ფოსფატურ ბუფერში (pH = 7,4) 24 სთ განმავლობაში. ამის შემდეგ, ნიმუშებს ვრეცხავდით ისევ 0,1 M ფოსფატური ბუფერით და ვაფიქსირებდით 1%-იანი ოსმიუმის ტეტროქსიდის (OsO_4) ხსნარით ყინულებიან PBS ბუფერში 1 სთ განმავლობაში. აღნიშნული პროცესების შემდეგ სფეროიდებს ვრეცხავდით გამოხდილი წყლით და ვახდენდით სფეროიდების დეჰიდრირებას სპირტისა და აცეტონის გამოყენებით. მიღებული „მშრალი“ სფეროიდებიდან შემდეგ ულტრა-მიკროტომის გამოყენებით გამოყენებით ვიღებდით სფეროიდის ულტრათხელ ანათლებს, რომლებსაც ვღებავდით ურანილაცეტატის ხსნარის გამოყენებით. დამზადებულ ანათლებს ვიყენებდით TEM ანალიზისათვის.

3.6. პოლიმერების მოლეკულური მასების განსაზღვრის მეთოდика

პოლიმერების საშუალო რიცხვით მოლეკულურ მასებს (M_n), საშუალო წონით მოლეკულურ მასებსა (M_w) და მოლეკულური მასების განაწილებას (MWD) ვსაზღვრავდით GPC-ქრომატოგრაფით. ნეიტრალური პოლიმერების **1F6**, **1L6**, **4F4** და **8L6** მოლეკულურ მასებს ვსაზღვრავდით GPC-ქრომატოგრაფზე „WATERS“ (Waters Associates, Inc., Milford, US); GPC-ში ვიყენებდით სტირაგელის სვეტებს HR4, HR3, HR0.5 ზომით 7.8 mm $\times$ 300 mm, მაღალი წნევის თხევად-ქრომატოგრაფიულ ტუმბოს (Waters 1525 Binary HPLC) და გარდატეხის მაჩვენებლისა (Waters refractive index detector 2414) და ულტრაიისფერ (Waters 2487 dual absorbance UV-detector, $\lambda = 240$ nm) დეტექტორებს. ელუენტის სახით ვიყენებდით LiBr-ს ხსნარს (0,1 M) დიმეთილ-ფორმამიდში (DMF). საკვლევი ნიმუშის მოცულობა იყო 100 μL , პოლიმერის კონცენტრაცია ხსნარში - 5,0 მგ/მლ, ელუციის სიჩქარე - 1,0 მლ/წთ, სტანდარტი -პოლიმეთილმეთაკრილატი (PMMA). კატიონური პოლიმერის **8R6** მოლეკულურ მასებს ვსაზღვრავდით "Shimadzu“ GPC-ქრომატოგრაფით (Shimadzu GPC machine, model LC-8A) გარდატეხის მაჩვენებლის დეტექტორის (Shimadzu RID-10A) გამოყენებით. ელუენტის სახით ვიყენებდით CF_3COONa -ს ხსნარს (0,05 M) ჰექსაფტორიზო-პროპანოლში (HFIP). ნიმუშის მოცულობა იყო 100 μL , პოლიმერის კონცენტრაცია ხსნარში - 2,0 მგ/მლ, ელუციის სიჩქარე - 0,5 მლ/წთ, სტანდარტი -პოლიმეთილმეთაკრილატი (PMMA).

3.7. მიკროკაფსულების მისაღებად გამოყენებული მასალები

კვლევაში გამოვიყენეთ შემდეგი ზან-ები (ყველა Sigma-Aldrich-დან): (i) Kolliphor P188 (Poloxamer 188) – პოლიეთილენგლიკოლი-ბლოკ-პოლიპროპილენგლიკოლი-ბლოკ-პოლიეთილენგლიკოლი (PEG-PPG-PEG) ტრიბლოკ-თანაპოლიმერი მოლეკულური წონით (MW) 7680–9510 Da, (ii) Poloxamer 407 – PEG-PPG-PEG ტრიბლოკ-თანაპოლიმერი მოლეკულური წონით (MW) 9840–14600 Da, (iii) პოლივინილის სპირტი, PVA, მოლეკულური წონით (MW) 13 000 – 23 000 Da და ჰიდროლიზის ხარისხით (3.ხ.) 86,6%-88%, (iv) PVA მოლეკულური წონით (MW) 31 000 Da და 3.ხ.-ით 86,7%–88,7%, (v) PVA მოლეკულური წონით (MW) 84 000 – 89 000 Da და 3.ხ.-ით 86%–89%.

3.8. მიკროკაფსულების მიღების ზოგადი მეთოდიკა

მკ-ის ფორმირებისათვის გამოვიყენეთ წყალი/ცხიმი/წყალი ორმაგი ემულსიის-გამხსნელის აორთქლების მეთოდი (water-in-oil-in-water (W/O/W) double emulsion-solvent evaporation method) (Puapermpoonsiri, Spencer, and Walle 2009). მკ-ის მისაღებად ექსპერიმენტები ჩავატარეთ ოთახის ტემპერატურაზე. მოცემული მეთოდის თანახმად, პირველადი W/O ემულსიის მისაღებად 0,4 მლ 1%-იანი (წონა/მოცულობა, წ/მ) ზედაპირულად აქტიური ნაერთის (ზან) წყალხსნარს ვამატებდით 4,0 მლ დიქლორმეთანს (DCM), რომელშიც გახსნილი იყო განსაზღვრული რაოდენობის (5 ან 13 % წ/მ) პოლიესტერამიდი **8L6**, და ვურევდით მაღალბრუნვადი ჰომოგენიზატორის (High shear strength disperse homogenizing emulsification machine C25, Shanghai HC Mechanical Equipment Co., LTD, Shanghai, China) მეშვეობით 15 წმ განმავლობაში 10 000 ბრუნი/წთ-ზე (პირველადი ემულსიის დამზადებისას ჰომოგენიზაციის სიჩქარე უცვლადი იყო - 10 000 ბრუნი/წთ). მეორადი ემულსიის მისაღებად, პირველად W/O ემულსია (რძისმაგვარი მასა) სწრაფად გადაგვქონდა 10,0 მლ ვარირებადი კონცენტრაციის ზან-ის შემცველ წყლის ფაზაში და კვლავ ვურევდით მაღალბრუნვადი ჰომოგენიზატორის მეშვეობით 3 წთ განმავლობაში მუდმივი (მაგრამ ექსპერიმენტიდან ექსპერიმენტში ვარირებადი) სიჩქარით მორევის პირობებში. ვიღებდით რძის-მაგვარ მეორად W/O/W ემულსიას. ამ მეთოდიკას ვიყენებდით მცირე ზომის (<10 მკმ)

მკ-ის ფორმირებისათვის. დიდი ზომის (>10 მკმ) მკ-ის ფორმირებისათვის მეორად W/O/W ემულსიას ვიღებდით მაღალბრუნვადი ჰომოგენიზატორის გამოყენების გარეშე, პირველადი W/O ემულსიის წვეთწვეთობით (1-2 წვეთი/წმ) დამატებით 10,0 მლ ვარირებადი კონცენტრაციის ზან-ის შემცველ წყლის ფაზაში, მაგნიტური სარეველით მუდმივი (მაგრამ ექსპერიმენტიდან ექსპერიმენტში ვარირებადი) სიჩქარით მორევის პირობებში.

ამგვარად, მეორადი W/O/W ემულსიის დამზადების პირობების ვარირებით შესაძლებელია მკ-ის ზომების ვარირება სასურველ ზღვრებში. საბოლოოდ მკ-ს სუსპენზიას ვიღებდით მეორადი W/O/W ემულსიის (ნებისმიერის) მორევით მაგნიტურ სარეველაზე შერჩეული სიჩქარით (400 ბრ/წთ) 8 სთ განმავლობაში. ამ დროს ხდება ორგანული გამხსნელის (DCM) სრული აორთქლება და რჩება წყალში შეტივტივებული მიკროსფეროები (მიკროსუსპენზია), რომელსაც ვინახავდით მაცივარში. ცვლადი პარამეტრების გავლენა მიკროემულსიების ფორმირებაზე განხილულია ქვემოთ (იხ. „შედეგები და მათი განსჯა“). ლიოფილიზირებული მკ-ის მისაღებად მიკროსუსპენზია დამზადებისთანავე გამოვყინეთ თხევად აზოტში და შემდგომ გავაშრეთ სუბლიმაციურად ლიოფილიზატორის (TOPT-10C Freezing dryer, Toption Group Co., Shanghai, China) მეშვეობით 1 პა წნევისა და -60°C ტემპერატურის პირობებში.

3.9. მიკროკაფსულების ზომების, ზომების განაწილების და მორფოლოგიის შესწავლა

მიღებულ მკ-ებს ვახასიათებდით ნაწილაკების საშუალო დიამეტრით, დიამეტრის ქვედა ზღვარით, დიამეტრის ზედა ზღვარით და ნაწილაკების ზომების განაწილებით, ლაზერული მიკროსაიზერის (Laser particle sizer LS-C(III); Omec Instruments Co., LTD, Guangdong, China) გამოყენებით. ნაწილაკების ზომების განაწილებას ვადგენდით R კოეფიციენტის მნიშვნელობის მიხედვით, რომელიც განისაზღვრებოდა შემდეგი ფორმულით:

$$R = \frac{\text{დიამეტრის ზედა ზღვარი} - \text{დიამეტრის ქვედა ზღვარი}}{\text{საშუალო დიამეტრი}}$$

ითვლება, რომ როდესაც $R < 1,5$ ნაწილაკების ზომების განაწილება ვიწყო, ხოლო როდესაც $R > 1,5$ ზომების განაწილება ფართოა. კვლევის შედეგებში ნაწილაკების

საშუალო დიამეტრი, დიამეტრის ქვედა ზღვარი და დიამეტრის ზედა ზღვარი მოცემულია, როგორც ხუთი პარალელური გაზომვის საშუალო $\pm$ სტანდარტული გადახრა (SD). დიდი ზომის მკ-ის მორფოლოგიური კვლევა ჩატარებულია ოპტიკური მიკროსკოპის (Biological microscope XSG series) გამოყენებით. მკ-ის ზომების შესაფასებლად ნიმუშები (მიკროსუსპენზია) დაგვქონდა გორიაევის ბადეზე, გადიდება 200x.

3.10. სუსპენზიის მოცულობის ერთეულში მიკროკაფსულების რაოდენობისა და თავისუფალი მოცულობის გაანგარიშების მეთოდика

ლიტერატურაში არ მოიპოვება მონაცემები მიკროსუსპენზიის მოცულობის ერთეულში მიკროკონტეინერების ჯამური მოცულობის დამოკიდებულებისა მათ მასას, კედლის სისქესა და შიდა დიამეტრთან დაკავშირებით. აქედან გამომდინარე ჩავატარეთ თეორიული გათვლები მიკროსუსპენზიის მოცულობის ერთეულში (1 მლ) მიკროსფეროების ინტერიერის ჯამური მოცულობის (ტევადობის) დამოკიდებულებისა აღებული პოლიმერის მასაზე, მიკროკონტეინერის კედლის სისქესა და შიდა დიამეტრზე. გაანგარიშება ჩავატარეთ სფერული ფორმის მიკროკონტეინერის გამოყენებით.

4. შედეგები და მათი განსჯა

4.1. ნანონაწილაკების მისაღებად პოლიმერების შერჩევა

55-ის ფორმირების პროცესის სისტემატური შესწავლისათვის შევარჩიეთ **AABB** პოლიმერების ორი კლასი – **PEAs** და **PEUs**. ამ კლასის პოლიმერები შევარჩიეთ შემდეგი მიზეზების გამო: **PEUs 1F6** და **1L6** და ასევე **PEA 8L6** მიიღება ადვილად ხელმისაწვდომი და იაფი ბის-ელექტროფილური მონომერებისგან – ტრიფოსგენისა და სეზაციოლქლორისგან, ხოლო **PEA 4F4**-ის სინთეზისათვის გამოიყენება ადიპინის მჟავას აქტივირებული დი-*კ*-ნიტროფენილის ესტერი, რომელიც თავის მხრივ მიღებულია ასევე ადვილად ხელმისაწვდომი ადიპოილქლორიდისგან. გარდა ხელმისაწვდომობისა **PEAs** და **PEUs** კლასის პოლიმერები შევარჩიეთ ასევე მათი ოპტიმალური (55-ის მიღების თვალსაზრისით) გამინების ტემპერატურების გამო (20-40° C). **AABB** პოლიმერების კიდევ ერთი კლასი – პოლიესტერურეთანები (**PEURs**) ნაკლებად პერსპექტიულია ნანო- და მიკრონაწილაკების კონსტრუირებისათვის შემდეგი მიზეზების გამო: **PEUR**-ს კლასის პოლიმერების სინთეზისათვის გამოიყენება დიოლ-ბის-ქლოროფორმიატები (Kartvelishvili et al. 1997), რომლებიც არ არის ხელმისაწვდომი და საჭირო ხდება მათი ცალკე დასინთეზება; გარდა ამისა, **PEURs** გააჩნიათ დაბალი გამინების ტემპერატურა და ძლიერი „წებვადი“ (განსაკუთრებით სველ მდგომარეობაში) ბუნება, რაც 55-ის მიღების თვალსაზრისით არ არის სასურველი.

ნეიტრალური **AABB** პოლიმერებიდან 55-ის მისაღებად შერჩეულ იქნა შემდეგი ოთხი პოლიმერი: **1F6**, **1L6**, **4F4** და **8L6**. შერჩეული პოლიმერების სტრუქტურები წარმოდგენილია სქემა 4-ზე (იხ. „მასალები და მეთოდები“), მათი მოლეკულური მასები (MW მახასიათებლები) მოცემულია ცხრილ 1-ში.

ცხრილი 1. 55-ის მისაღებად გამოყენებული **AABB** პოლიმერების მოლეკულური მასები.

პოლიმერი	პოლიმერის კლასი	M _w	M _n	M _w /M _n
1F6	PEU	35 400	20 500	1,73
1L6	PEU	90 400	54 100	1,67
4F4	PEA	66 400	47 400	1,43
8L6	PEA	46 500	23 400	1,98
8R6	PEA	17 500	7 200	2,43

კვლევებში გარდა ნეიტრალური პოლიმერებისა გამოვიყენეთ ასევე L-არგინინის საფუძველზე მიღებული კატიონური **PEA**, რომელიც აღნიშნული გვაქვს, როგორც **8R6**. კატიონური **PEA 8R6** გამოვიყენეთ **55**-ისთვის დადებითი მუხტის მისანიჭებლად. აღნიშნული კატიონური პოლიმერის სტრუქტურა წარმოდგენილია სქემა 4-ზე (იხ. „მასალები და მეთოდები“), მოლეკულური მასები კი ნაჩვენებია ცხრილ 1-ში.

4.2. ნანონაწილაკების მისაღებად ორგანული გამხსნელის შერჩევა

ნანოპრეციპიტაციის მეთოდის გამოყენებით **55**-ის მიღებისას ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ფაქტორია ორგანული ფაზის დასამზადებლად გამოყენებული ორგანული გამხსნელის ბუნება. ნანოპრეციპიტაციის მეთოდში გამოყენებული უნდა იყოს მხოლოდ წყალში ხსნადი ორგანული გამხსნელები. ჩვენ მიერ შემოწმებულ იქნა კვლევებში გამოყენებული ოთხივე პოლიმერის (**1F6**, **1L6**, **4F4**, **8L6**) ხსნადობა ოთხ ჰიდროფილურ გამხსნელში (იხ. ცხრილი 2).

ცხრილი 2. AABB პოლიმერების ხსნადობა ორგანულ გამხსნელებში.

პოლიმერი	10 მგ პოლიმერის ხსნადობა 1 მლ გამხსნელში *			
	DMI	DMSO	DMF	აცეტონი
1F6	+t	+t	+t	-
1L6	+	+	+	+
4F4	+	+	+	-
8L6	+	+	+	+

* + იხსნება ოთახის ტემპერატურაზე; - არ იხსნება ოთახის ტემპერატურაზე; +t იხსნება 50 °C-მდე გაცხელებისას.

ოთხივე აღნიშნული პოლიმერი კარგად იხსნება ძლიერ პოლარულ ორგანულ გამხსნელებში, როგორებიცაა DMI, DMSO და DMF, ხოლო გამოყენებული პოლიმერებიდან ორი - L-ლეიცილის საფუძველზე მიღებული **1L6** და **8L6**, ასევე იხსნება აცეტონში. ზემოაღნიშნული ოთხივე ორგანული გამხსნელი გამოყენებულ იქნა კვლევებში **55**-ის მისაღებად. დამზადებული ნანოსუსპენზიიდან ორგანული გამხსნელის მოსაშორებლად ვიყენებდით ან აორთქლების მეთოდს დაბალი წნევის პირობებში (აცეტონის შემთხვევაში), ან დიალიზს (დანარჩენი გამხსნელების შემთხვევაში).

4.3. სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების გავლენა ნანონაწილაკების ფორმირებაზე

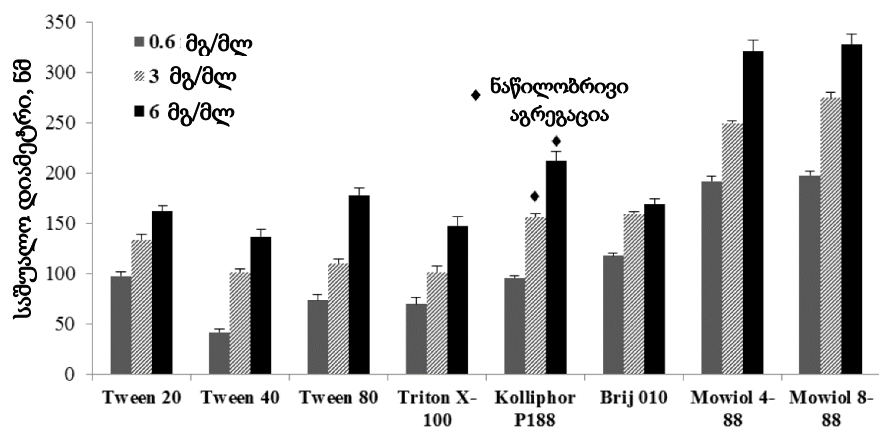
შესწავლილია სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური ფაქტორების გავლენა **55**-ის ფორმირებაზე. **55**-ებს ვამზადებდით ნანოპრეციპიტაციის ზემოაღწერილი ზოგადი მეთოდის თანახმად (იხ. „მასალები და მეთოდები“). სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური ფაქტორების გავლენა **55**-ის ფორმირებაზე დეტალურად განხილულია ქვემოთ მოცემულ პუნქტებში.

4.3.1. ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა

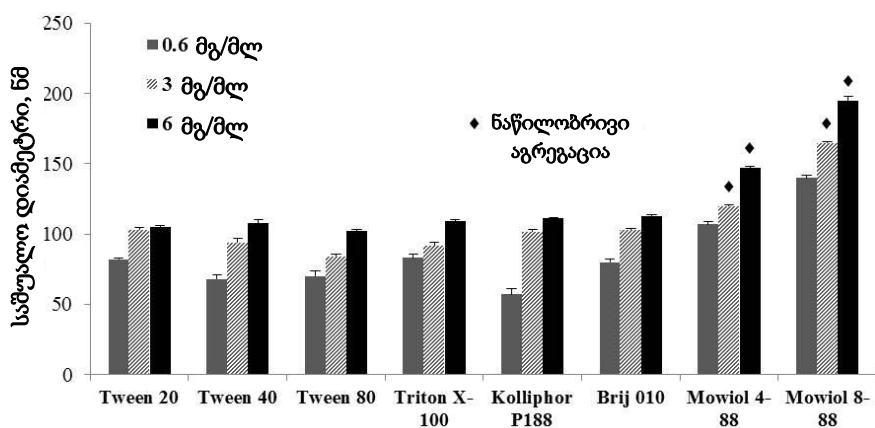
ამ ექსპერიმენტებში გამოვიყენეთ ორი ნეიტრალური **AABB** პოლიმერი (**1F6**, **4F4**) და ყველა რვა **ზან**-ი. **55**-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- გამხსნელი - DMI - წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაცია - 5 მგ/მლ - O/W თანაფარდობა - 1:10 - ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე - 12 წვეთი/წთ - წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე - 700 ბრუნ/წთ	- პოლიმერები (ორი) – 1F6 და 4F4 - პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 0,6; 3,0 და 6,0 მგ/მლ ზან-ები (რვა) – Tween 20, Tween 40, Tween 80, Triton X-100, Kolliphor P188, Brij010, Mowiol 4-88, Mowiol 8-88

ექსპერიმენტების შედეგები წარმოდგენილია ნახაზ 5 და 6-ზე. მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გაზრდა 0,6-დან 6,0 მგ/მლ-მდე იწვევს **55**-ის საშუალო დიამეტრის გაზრდას 42-დან 398 ნმ-მდე **1F6**-ის შემთხვევაში, და 52-დან 206 ნმ-მდე **4F4**-ის შემთხვევაში. **ზან**-ის სახით Tween 20-ის, Tween 40-ის, Tween 80-ის, Brij 010-ისა და Triton X-100-ის გამოყენებისას ორივე პოლიმერის ფარგლებში მიიღება შედარებით მცირე ზომის **55**: საშუალო დიამეტრი ვარირებს 89 – 178 ნმ-ს ფარგლებში. რაც შეეხება დანარჩენ **ზან**-ებს ზოგიერთი მათგანის გამოყენებისას ადგილი აქვს **55**-ის ნაწილობრივ აგრეგაციას. ასე, Kolliphor P188-ის თანაობისას აღინიშნება **1F6 55**-ის ნაწილობრივი აგრეგაცია (ნახაზი 5), ხოლო Mowiol 4-88-ისა და Mowiol 8-88-ის თანაობისას კი ადგილი აქვს **4F4 55**-ის აგრეგაციას (ნახაზი 6).



ნახაზი 5. ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა 1F6 55-ის ფორმირებაზე სხვადასხვა ზან-ის თანაობისას.



ნახაზი 6. ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა 4F4 55-ის ფორმირებაზე სხვადასხვა ზან-ის თანაობისას.

1F6-ის და 4F4-ის ნანოპრეციპიტაცია მოვახდინეთ ასევე სუფთა წყალში (ზან-ების გარეშე). ამ ექსპერიმენტების შედეგები წარმოდგენილია ცხრილ 3-ში. როგორც შედეგებიდან ჩანს, ზან-ების არყოფნის შემთხვევაში ადგილი აქვს 55-ის სრულ აგრეგაციას. მაშასადამე, ოპტიმალური ზან-ის შერჩევა მეტად მნიშვნელოვანია ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით AABB პოლიმერის 55-ის მიღებისას. პოლიმერის კონცენტრაციის გამოყენებული სამი მნიშვნელობიდან.

ცხრილი 3. 1F6 და 4F4 პოლიმერების გამოლექვა წყალში (ზან-ების გარეშე).

C _{pol} (მგ/მლ)	პოლიმერი	
	1F6	4F4
0,6	სრული აგრეგაცია	სრული აგრეგაცია
3,0	სრული აგრეგაცია	სრული აგრეგაცია
6,0	სრული აგრეგაცია	სრული აგრეგაცია

4.3.2. ორგანულ ფაზაში პოლიმერის ბუნების გავლენა

ამ კვლევაში გამოვიყენეთ ოთხივე პოლიმერი – **1F6**, **1L6**, **4F4**, **8L6** და ხუთი სხვადასხვა ზან-ი. **55**-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- გამხსნელი - DMI - პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 6,0 მგ/მლ - წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაცია - 5 მგ/მლ - O/W თანაფარდობა - 1:10 - ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე - 12 წვეთი/წთ - წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე - 700 ბრუნ/წთ	- პოლიმერები (ოთხი) – 1F6, 1L6, 4F4 და 8L6 - ზან-ები (ხუთი) – Tween 20, Triton X-100, Brij010, Mowiol 4-88, Mowiol 8-88

კვლევის შედეგები წარმოდგენილია ცხრილ 4-ში. ექსპერიმენტების შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ოთხივე **AABB** პოლიმერი წარმოქმნის ნანომასშტაბურ ნაწილაკებს. **55**-ის ზომებს განსაზღვრავს ძირითადად გამოყენებული ზან-ის ბუნება. მცირე ზომის **55** მიიღება ზან-ის სახით Tween 20-ის, Brij 010-ის და Triton X-100-ის გამოყენებისას – **55**-ის საშუალო დიამეტრი ვარირებს 132-დან 166 ნმ-მდე. ექსპერიმენტებში სურფაქტანტის სახით პოლივინილის სპირტების (Mowiol 4-88, Mowiol 8-88) გამოყენებისას აღინიშნება **55**-ის საშუალო დიამეტრის გაზრდა და, ზოგიერთ შემთხვევაში, მათი ნაწილობრივი აგრეგაცია. რაც შეეხება **55**-ის PDI-ს, მიღებულ **AABB** პოლიმერულ **55**-ებს ახასიათებთ ნაწილაკების ზომების საშუალო ($0,04 \leq PDI \leq 0,16$) და ფართო ($PDI > 0,16$) განაწილება.

ცხილი 4. **AABB** პოლიმერების ბუნების გავლენა **55**-ის ფორმირებაზე.

პოლიმერი	ზან-ი				
	Tween 20	Triton X-100	Brij 010	Mowiol 4-88	Mowiol 8-88
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) $\pm$ SD [PDI $\pm$ SD]				
1F6	143 $\pm$ 6 [0,123 $\pm$ 0,019]	148 $\pm$ 6 [0,116 $\pm$ 0,004]	160 $\pm$ 10 [0,268 $\pm$ 0,009]	321 $\pm$ 4 [0,053 $\pm$ 0,015]	328 $\pm$ 2 [0,075 $\pm$ 0,019]
1L6	132 $\pm$ 7 [0,152 $\pm$ 0,032]	140 $\pm$ 8 [0,172 $\pm$ 0,091]	136 $\pm$ 1 [0,145 $\pm$ 0,098]	218 $\pm$ 6 [0,102 $\pm$ 0,056]	260 $\pm$ 10 [0,192 $\pm$ 0,086]
4F4	158 $\pm$ 7 [0,111 $\pm$ 0,006]	139 $\pm$ 7 [0,121 $\pm$ 0,009]	163 $\pm$ 10 [0,299 $\pm$ 0,013]	173 $\pm$ 9 ♦ [0,117 $\pm$ 0,009]	240 $\pm$ 10 ♦ [0,224 $\pm$ 0,008]
8L6	159 $\pm$ 3 [0,131 $\pm$ 0,003]	154 $\pm$ 9 [0,090 $\pm$ 0,003]	166 $\pm$ 5 [0,088 $\pm$ 0,001]	144 $\pm$ 3 [0,076 $\pm$ 0,006]	181 $\pm$ 6 [0,095 $\pm$ 0,003]

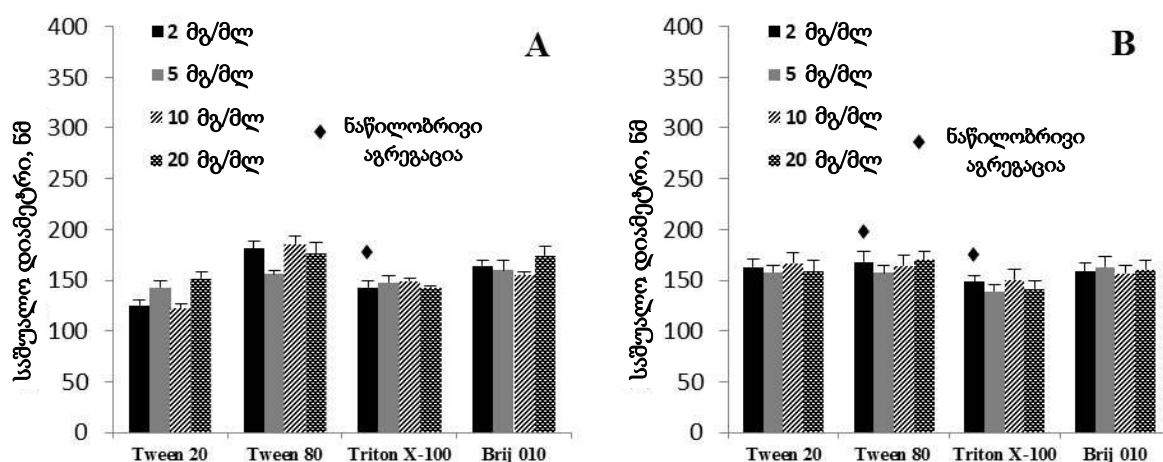
♦ ნაწილობრივი აგრეგაცია

4.3.3. წყლის ფაზაში ზან-ების კონცენტრაციის გავლენა

ამ ექსპერიმენტებში გამოვიყენეთ ორი AABB პოლიმერი (1F6, 4F4) და ოთხი ზან-ი. 55-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- გამხსნელი - DMI - პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 6,0 მგ/მლ - O/W თანაფარდობა - 1:10 - ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე - 12 წვეთი/წთ - წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე - 700 ბრუნი/წთ	- პოლიმერები (ორი) – 1F6 და 4F4 - ზან-ები (ოთხი) – Tween 20, Tween 80, Triton X-100, Brij010 - წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაცია - 2,0; 5,0; 10,0 და 20,0 მგ/მლ

ექსპერიმენტების შედეგები წარმოდგენილია ნახაზ 7-ზე. შედეგებიდან ჩანს, რომ ზან-ის კონცენტრაციის ცვლილება ზღვრებში 2,0 – 20,0 მგ/მლ არ იწვევს 55-ის საშუალო დიამეტრისა და PDI-ის მნიშვნელობების რადიკალურ ცვლილებებს, თუმცა, ზან-ის უმცირეს კონცენტრაციაზე (2,0 მგ/მლ) ადგილი აქვს 55-ის ნაწილობრივ აგრეგაციას. 55-ის საშუალო დიამეტრისა და PDI-ის მნიშვნელობების თვალსაზრისით ზან-ის ყველა კონცენტრაციაზე მიიღება ოპტიმალური ზომის (≤ 186 ნმ) 55 ზომების საშუალო ($0,04 \leq PDI \leq 0,16$) და ფართო ($PDI > 0,16$) განაწილებით.



ნახაზი 7. წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაციის გავლენა 1F6 55-ის (A) და 4F4 55-ის (B) ფორმირებაზე.

მიღებულ შედეგებზე დაყრდნობით, ოპტიმალურ კონცენტრაციად შევარჩიეთ 5,0 მგ/მლ, ვინაიდან სურფაქტანტის კონცენტრაციის გაზრდა 5,0 მგ/მლ-დან 20,0 მგ/მლ-

მდე არ მოქმედებს **ნნ**-ის საშუალო დიამეტრზე. შესაბამისად, შემდეგ ექსპერიმენტებში გამოვიყენეთ **ზან**-ის კონცენტრაციის ოპტიმალური მნიშვნელობა - 5,0 მგ/მლ.

4.3.4. ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენა

ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენის შესასწავლად კვლევებში გამოვიყენეთ ოთხივე პოლიმერი (**1F6**, **1L6**, **4F4**, **8L6**), ხუთი სხვადასხვა **ზან**-ი და ოთხი ორგანული გამხსნელი – DMI, DMSO, DMF და აცეტონი. ყველა აღნიშნული პოლიმერი იხსნება შერჩეულ პოლარულ ორგანულ გამხსნელებში, როგორებიცაა DMI, DMSO და DMF, ხოლო **PEA 8L6** და **PEU 1L6** ასევე იხსნება აცეტონში. **ნნ**-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 6,0 მგ/მლ - წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაცია - 5,0 მგ/მლ - O/W თანაფარდობა - 1:10 - ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე - 12 წვეთი/წთ - წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე - 700 ბრუნი/წთ	- გამხსნელები (ოთხი) – DMI, DMF, DMSO და აცეტონი - პოლიმერები (ორი) – 1F6 და 4F4 ზან-ები (ხუთი) – Tween 20, Tween 80, Brij010, Kolliphor P188, Mowiol 4-88

ცდების შედეგები წარმოდგენილია ცხრილების სახით (იხ. ცხრილები 5-8). როგორც შედეგებიდან ჩანს, ორგანული გამხსნელის ბუნება მოქმედებს როგორც **ნნ**-ის საშუალო დიამეტრზე, ისე მათი ზომების განაწილებაზეც. ოთხივე პოლიმერის ფარგლებში **ნნ**-ის ზომების თვალსაზრისით საუკეთესო გამხსნელი აღმოჩნდა DMSO. **ნნ**-ის საშუალო დიამეტრი DMSO-ს გამოყენებისას ყველა პოლიმერის **ნნ**-ის ფარგლებში ვარირებს ზღვრებში 56 – 249 ნმ. ამ მიზეზის გამო, და ასევე იმის გათვალისწინებით, რომ DMSO არ არის ტოქსიკური გამხსნელი და მას აქტიურად იყენებენ სამედიცინო მიზნებისათვის, ოპტიმალურ გამხსნელად ჩვენ მიერ შერჩეულ იქნა DMSO. ყველაზე მცირე ზომის **ნნ** გამხსნელად DMSO-ს გამოყენებისას მიიღება Tween 20-ის, Tween 80-ის, Kolliphor P188-ისა და Brij 010-ის თანაობისას, ხოლო **ზან**-ის სახით Mowiol 4-88-ის გამოყენებისას ადგილი აქვს შედარებით დიდი ზომის **ნნ**-ის წარმოქმნას ოთხივე გამოყენებული პოლიმერის შემთხვევაში.

ცხრილი 5. ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენა **1F6 55**-ის ფორმირებაზე.

ორგანული გამხსნელი	ზან-ი				
	Tween 20	Tween 80	Kolliphor P188	Brij 010	Mowiol 4-88
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD [PDI ± SD]				
DMI	143 ± 6 [0,123 ± 0,019]	156 ± 4 [0,218 ± 0,063]	191 ± 6 [0,112 ± 0,018]	160 ± 10 [0,268 ± 0,009]	321 ± 4 [0,053 ± 0,015]
DMF	338 ± 9 [0,136 ± 0,012]	311 ± 12 [0,147 ± 0,019]	302 ± 11 [0,214 ± 0,019]	255 ± 12 [0,213 ± 0,011]	398 ± 10 [0,135 ± 0,013]
DMSO	122 ± 6 [0,098 ± 0,005]	115 ± 3 [0,112 ± 0,006]	134 ± 7 [0,215 ± 0,012]	124 ± 7 [0,219 ± 0,030]	249 ± 11 [0,247 ± 0,017]

ცხრილი 6. ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენა **1L6 55**-ის ფორმირებაზე.

ორგანული გამხსნელი	ზან-ი				
	Tween 20	Tween 80	Kolliphor P188	Brij 010	Mowiol 4-88
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD [PDI ± SD]				
DMI	132 ± 7 [0,152 ± 0,032]	168 ± 5 [0,104 ± 0,010]	155 ± 3 [0,219 ± 0,019]	136 ± 1 [0,145 ± 0,098]	218 ± 6 [0,102 ± 0,056]
DMF	215 ± 9 [0,139 ± 0,010]	193 ± 7 [0,103 ± 0,030]	194 ± 10 [0,213 ± 0,010]	213 ± 10 [0,219 ± 0,012]	288 ± 10 [0,135 ± 0,017]
DMSO	123 ± 9 [0,223 ± 0,011]	144 ± 8 [0,212 ± 0,013]	101 ± 4 [0,229 ± 0,011]	112 ± 4 [0,203 ± 0,010]	164 ± 9 [0,219 ± 0,010]
აცეტონი	252 ± 12 [0,216 ± 0,017]	280 ± 14 [0,239 ± 0,019]	278 ± 11 [0,293 ± 0,021]	293 ± 11 [0,311 ± 0,016]	323 ± 13 [0,245 ± 0,031]

DMSO-ს ხსნარიდან მიღებული **55**-ის ზომების განაწილება მერყეობს საშუალოდან ფართომდე. PDI-ის მნიშვნელობების თვალსაზრისით ოპტიმალურად შეიძლება მივიჩნიოთ ასევე DMI. ძლიერ პოლარულ ორგანულ გამხსნელებს შორის ყველაზე ცუდი მახასიათებლების **55** მიიღება DMF-ს გამოყენების შემთხვევაში, ზოგიერთ შემთხვევაში კი DMF -ს თანაობისას ხდება **55**-ის ნაწილობრივი აგრეგაცია (ცხრილები 7-8). რაც შეეხება აცეტონს, როგორც ცხრილებიდან (ცხრილი 6 და 8) ჩანს, ორივე პოლიმერის შემთხვევაში მიუხედავად გამოყენებული **ზან**-ებისა მიიღება მხოლოდ დიდი ზომის (172-323 ნმ) **55**. თუმცა, აცეტონი ადვილად აქროლადი გამხსნელია და ძალიან მოხერხებულია მისი მოშორება ნანოსუსპენზიიდან აორთქლების გზით. ეს გამხსნელი შესაძლოა რეკომენდირებული იქნას **8L6 55**-ის მისაღებად Kolliphor P188-ის, Tween 20-ისა და Brij 010-ის თანაობისას. ამ **ზან**-ების გამოყენების შემთხვევაში მიღებული **55**-ის საშუალო დიამეტრი შეადგენს 172, 192 და 203 ნმ-ს, შესაბამისად. აღსანიშნავია, რომ Fessi და თანამშ. მიერ აცეტონის ხსნარიდან მიღებული **PLA 55**-ის საშუალო დიამეტრი შეადგენს 229 ნმ (Fessi et al. 1989).

ცხრილი 7. ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენა 4F4 55-ის ფორმირებაზე.

ორგანული გამხსნელი	ზან-ი				
	Tween 20	Tween 80	Kolliphor P188	Brij 010	Mowiol 4-88
	საშუალო დიამეტრი (50) ± SD [PDI ± SD]				
DMI	158 ± 7 [0,111 ± 0,006]	157 ± 7 [0,091 ± 0,003]	111 ± 1 [0,054 ± 0,012]	163 ± 10 [0,299 ± 0,013]	173 ± 9 ♦ [0,117 ± 0,009]
DMF	138 ± 3 [0,116 ± 0,011]	124 ± 2 [0,126 ± 0,004]	135 ± 3 ♦ [0,132 ± 0,004]	123 ± 2 [0,119 ± 0,032]	204 ± 2 ♦ [0,103 ± 0,008]
DMSO	93 ± 4 [0,302 ± 0,023]	60 ± 1 [0,240 ± 0,001]	100 ± 3 ♦ [0,260 ± 0,001]	56 ± 2 [0,132 ± 0,078]	98 ± 1 ♦ [0,110 ± 0,010]

♦ ნაწილობრივი აგრეგაცია.

ცხრილი 8. ორგანული გამხსნელის ბუნების გავლენა 8L6 55-ის ფორმირებაზე.

ორგანული გამხსნელი	ზან-ი				
	Tween 20	Tween 80	Kolliphor P188	Brij 010	Mowiol 4-88
	საშუალო დიამეტრი (50) ± SD [PDI ± SD]				
DMI	159 ± 3 [0,131 ± 0,003]	162 ± 15 [0,101 ± 0,002]	98 ± 2 [0,116 ± 0,009]	166 ± 5 [0,088 ± 0,001]	144 ± 3 [0,076 ± 0,006]
DMF	187 ± 4 [0,180 ± 0,006]	176 ± 10 [0,231 ± 0,013]	186 ± 8 (P-I) 56% ♦ 575 ± 24 (P-II) 44% [0,456 ± 0,018]	170 ± 10 [0,193 ± 0,011]	169 ± 8 [0,131 ± 0,012]
DMSO	70 ± 5 [0,115 ± 0,008]	135 ± 8 [0,171 ± 0,011]	85 ± 3 [0,150 ± 0,006]	73 ± 6 [0,273 ± 0,016]	96 ± 9 [0,214 ± 0,018]
აცეტონი	192 ± 5 [0,105 ± 0,003]	235 ± 10 [0,112 ± 0,008]	172 ± 3 [0,113 ± 0,006]	203 ± 9 [0,254 ± 0,016]	283 ± 11 [0,183 ± 0,012]

P - 55-ის პოპულაცია, ♦ ნაწილობრივი აგრეგაცია.

4.3.5. ორგანული/არაორგანული ფაზების თანაფარდობის გავლენა

ამ ექსპერიმენტებში გამოვიყენეთ 1F6 და 4F4 პოლიმერები და ორი სურფაქტანტი – Tween 20 და Brij 010. 55-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- გამხსნელი - DMI - პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 6,0 მგ/მლ - წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაცია - 5,0 მგ/მლ - ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე - 12 წვეთი/წთ - წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე - 700 ბრუნ/წთ	- O/W თანაფარდობა - 1:2, 1:5, 1:10, 1:20 - პოლიმერები (ორი) – 1F6 და 4F4 - ზან-ები (ორი) – Tween 20 და Brij 010

ექსპერიმენტების შედეგები წარმოდგენილია ცხრილ 9-ში.

ცხრილი 9. ორგანული და წყლის ფაზების მოცულობითი თანაფარდობის (O/W) გავლენა **1F6 55**-ის და **4F4 55**-ის ფორმირებაზე.

O:W	ზან-ი			
	Tween 20	Brij 010	Tween 20	Brij 010
	პოლიმერი			
	1F6		4F4	
საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD [PDI ± SD]				
1:2	449 ± 23 (P-I) 68% ♦ 2569 ± 286 s(P-II) 32% [0,468 ± 0,053]	322 ± 9 [0,258 ± 0,007]	483 ± 19 (P-I) 73% ♦ 3534 ± 218 (P-II) 27% [0,468 ± 0,059]	213 ± 8 [0,246 ± 0,009]
1:5	177 ± 5 [0,118 ± 0,014]	237 ± 6 [0,225 ± 0,009]	166 ± 6 [0,128 ± 0,012]	153 ± 5 [0,218 ± 0,007]
1:10	143 ± 6 [0,123 ± 0,019]	160 ± 10 [0,210 ± 0,005]	158 ± 7 [0,111 ± 0,006]	163 ± 10 [0,299 ± 0,013]
1:20	138 ± 6 [0,102 ± 0,020]	159 ± 9 [0,259 ± 0,012]	165 ± 5 [0,158 ± 0,008]	169 ± 8 [0,241 ± 0,015]

P - 55-ის პოპულაცია, ♦ ნაწილობრივი აგრეგაცია.

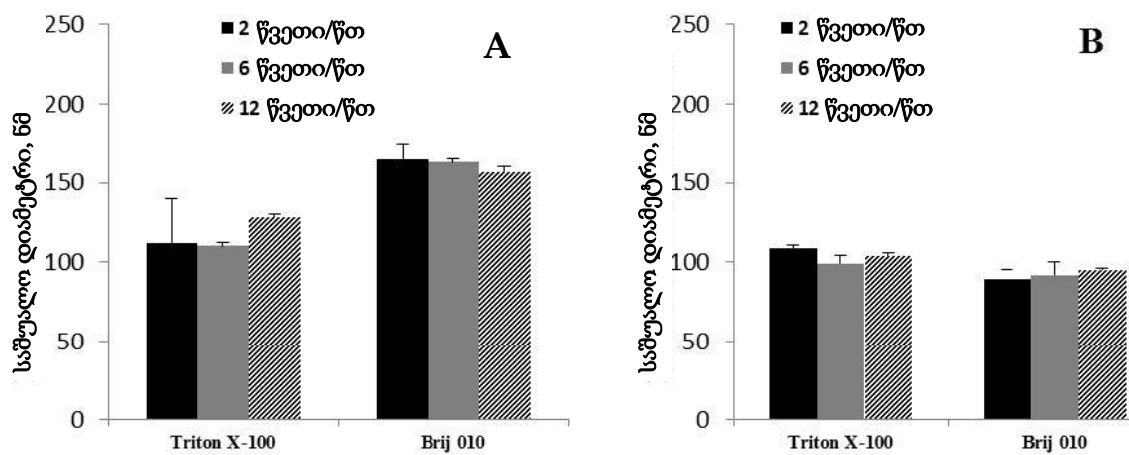
ორგანული/წყლის (არაორგანული) ფაზების (O/W) მოცულობითი თანაფარდობის ვარირებას ვახდენდით შემდეგ ზღვრებში: O/W = 1:2; 1:5; 1:10; 1:20. მიღებულმა შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ორგანული/არაორგანული ფაზების ოპტიმალური თანაფარდობაა 1:10, შესაბამისად. წყლის ფაზის მოცულობის შემცირება (1:2; 1:5) იწვევს 55-ის საშუალო დიამეტრის გაზრდას და ოპტიმალურ პირობებში მიღებულ (O/W = 1:10) 55-ებთან შედარებით ყფრო დიდი ზომის 55-ის წარმოქმნას, ხოლო წყლის ფაზის უმცირეს მნიშვნელობაზე (O/W = 1:2) ადგილი აქვს მიკრომასშტაბური ნაწილაკების წარმოქმნას და, ზოგიერთ შემთხვევაში, 55-ის ნაწილობრივ აგრეგაციას (ცხრილი 9). წყლის ფაზის მოცულობის გაზრდა 1:10-დან 1:20-მდე არსებითად არ ცვლის არც 55-ის საშუალო დიამეტრს და არც პოლიდისპერსიულობას. მაშასადამე, ორგანული/წყლის ფაზების ოპტიმალური მოცულობითი თანაფარდობაა 1:10, რაც შემდგომ კვლევებში ჩვენ მიერ იყო გამოყენებული.

4.3.6. წყლის ფაზაში ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარის გავლენა

ორგანული ფაზის დამატების (ჩაწვეთების) სიჩქარის გავლენის შესასწავლად ჩვენ მიერ გამოყენებულ იქნა **1F6** და **4F4** პოლიმერები და ორი სურფაქტანტი – Tween 20 და Brij 010. 55-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- გამხსნელი - DMI - პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 6,0 მგ/მლ - წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაცია - 5,0 მგ/მლ - O/W თანაფარდობა - 1:10 - წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე - 700 ბრუნი/წთ	- ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე - 2, 6 და 12 წვეთი/წთ - პოლიმერები (ორი) – 1F6 და 4F4 - ზან-ები (ორი) – Triton X-100, Brij010

ექსპერიმენტების შედეგები წარმოდგენილია ნახაზ 8-ზე. შედეგებიდან ჩანს, რომ ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე შესწავლის ზღვრებში (2-12 წვეთი/წთ) არსებითად არ ცვლის **55**-ის ზომებს. მაშასადამე, ორგანული ფაზის ჩაწვეთების ოპტიმალურ სიჩქარედ შევარჩიეთ მისი უმაღლესი მნიშვნელობა – 12 წვეთი/წთ.



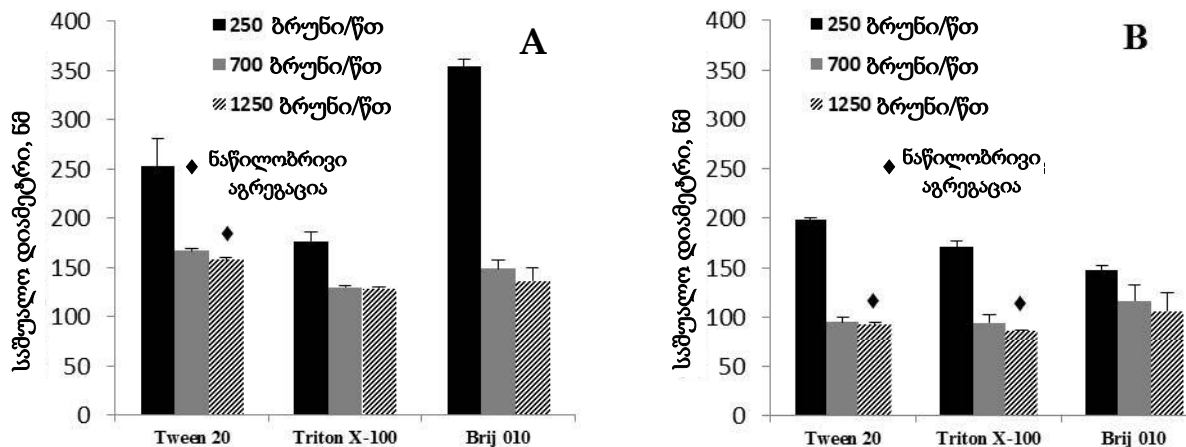
ნახაზი 8. წყლის ფაზაში ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარის გავლენა **1F6 55**-ის (A) და **4F4 55**-ის (B) საშუალო დიამეტრზე.

4.3.7. წყლის ფაზის მორევის სიჩქარის გავლენა

ამ ექსპერიმენტებში გამოვიყენეთ **1F6** და **4F4** პოლიმერები და სამი ზან-ი – Tween 20, Triton X-100 და Brij 010. **55**-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- გამხსნელი - DMI - პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 6,0 მგ/მლ - წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაცია - 5,0 მგ/მლ - O/W თანაფარდობა - 1:10 - ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე - 12 წვეთი/წთ	- წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე - 250, 700 და 1250 ბრუნი/წთ - პოლიმერები (ორი) – 1F6 და 4F4 - ზან-ები (სამი) – Tween 20, Triton X-100 და Brij010

ექსპერიმენტების შედეგები წარმოდგენილია ნახაზ 9-ზე.



ნახაზი 9. წყლის ფაზის მორევის სიჩქარის გავლენა **1F6 55**-ის (A) და **4F4 55**-ის (B) ფორმირებაზე.

55 მივიღეთ წყლის ფაზის მორევის სიჩქარის სამ მნიშვნელობაზე – 250, 700 და 1250 ბრუნი/წთ-ზე. როგორც ნახაზ 9-დან ჩანს, მორევის ოპტიმალური სიჩქარეა 700 ბრუნი/წთ. მორევის სიჩქარის დაწევა იწვევს **55**-ის ზომების საგრძნობ ზრდას, ხოლო სიჩქარის გაზრდა კი (1250 ბრუნი/წთ) პრაქტიკულად არ ცვლის **55**-ის საშუალო დიამეტრს, მაგრამ, ზოგიერთ შემთხვევაში, იწვევს **55**-ის ნაწილობრივ აგრეგაციას (თვალისათვის ხილული აგრეგატების წარმოქმნას) სავარაუდოდ სუსპენზიის ძლიერი აქაფების გამო. აქედან გამომდინარე შემდეგ ექსპერიმენტებში ვიყენებდით მორევის სიჩქარის საშუალო (ოპტიმალურ) მნიშვნელობას – 700 ბრუნი/წთ.

4.4. ნანონაწილაკების მიღება ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით

სადისერტაციო კვლევის ფარგლებში ჩვენ მიერ მიღებულია **AABBP**-ს **55** ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (modified nanoprecipitation method, MNM). ამ მეთოდის თანახმად ზან-ი (50 მგ) გავხსენით არა წყლის, არამედ ორგანულ ფაზაში (1 მლ), სადაც პოლიმერი იყო გახსნილი (6 მგ). ორგანულ ფაზაში 50 მგ სურფაქტანტის დამატების შემთხვევაში მიღებულ ნანოსუსპენზიაში ზან-ის კონცენტრაცია რჩება, რაც ნანოპრეციპიტაციის ტრადიციული მეთოდის (nanoprecipitation method, NM) გამოყენებისას - 5 მგ/მლ. მოდიფიცირებული მეთოდის თანახმად ორგანულ ფაზას (ორგანული გამხსნელი + პოლიმერი + ზან-ი) წვეთწვეთობით ვამატებდით სუფთა

წყალში (ზან-ების გარეშე). ამ კვლევებში გამოვიყენეთ ოთხივე **AABB** პოლიმერი და ხუთი სხვადასხვა **ზან**-ი: Tween 20, Triton X-100, Brij 010, Mowiol 4-88 და Mowiol 8-88. **55**-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- გამხსნელი - DMI - პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 6,0 მგ/მლ - ორგანულ ფაზაში ზან-ის კონცენტრაცია - 5 მგ/მლ - O/W თანაფარდობა - 1:10 - ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე - 12 წვეთი/წთ - წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე - 700 ბრუნ/წთ	- პოლიმერები (ოთხი) – 1F6, 1L6, 4F4 და 8L6 ზან-ები (ხუთი) – Tween 20, Triton X-100, Brij010, Mowiol 4-88, Mowiol 8-88

ექსპერიმენტების შედეგები წარმოდგენილია ცხრილების სახით (იხ. ცხრილები 10-13). როგორც შედეგებიდან ჩანს, ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდი უფრო ეფექტურია ფენილალანინის საფუძველზე მიღებული პოლიმერების (**1F6, 4F4**) გამოყენების შემთხვევაში. აღნიშნული პოლიმერების **55**-ებს გააჩნიათ შედარებით მცირე ზომები MNM-ის გამოყენებისას. ასე, MNM-ით მიღებული **1F6 55**-ის საშუალო დიამეტრი ვარირებს ზღვრებში 108-222 ნმ, მაშინ როდესაც NM-ით მიღებულ **55**-ის ზომები იცვლება 143-328 ნმ-ს ფარგლებში. **4F4**-ის შემთხვევაში **55**-ის საშუალო დიამეტრი MNM-ის გამოყენების შემთხვევაში შეადგენს 79-211 ნმ-ს, ხოლო NM-ის გამოყენებისას ზომები ვარირებს ზღვრებში 139-240 ნმ. ლეიცინის საფუძველზე მიღებული პოლიმერების შემთხვევაში (**1L6, 8L6**) MNM იძლევა ასევე უფრო მცირე ზომის **55**-ებს (იხ. ცხრილები 11 და 13), მაგრამ, ადგილი აქვს ნაწილაკების მეორე პოპულაციის - მიკრომასშტაბური ნაწილაკების წარმოქმნას.

ცხრილი 10. ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით (NM) და ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (MNM) მიღებული **1F6 55**-ის შედარება.

მეთოდი	ზან-ი				
	Tween 20	Triton X-100	Brij 010	Mowiol 4-88	Mowiol 8-88
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD [PDI ± SD]				
NM	143 ± 6 [0,123 ± 0,019]	148 ± 6 [0,116 ± 0,004]	160 ± 10 [0,268 ± 0,009]	321 ± 4 [0,053 ± 0,015]	328 ± 2 [0,075 ± 0,019]
MNM	121 ± 4 [0,230 ± 0,024]	113 ± 5 [0,180 ± 0,011]	108 ± 3 [0,213 ± 0,006]	222 ± 7 [0,092 ± 0,020]	199 ± 4 [0,087 ± 0,014]

ცხრილი 11. ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით (NM) და ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (MNM) მიღებული **1L6 55**-ის შედარება.

მეთოდი	ზან-ი				
	Tween 20	Triton X-100	Brij 010	Mowiol 4-88	Mowiol 8-88
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD [PDI ± SD]				
NM	132 ± 7 [0,152 ± 0,032]	140 ± 8 [0,172 ± 0,091]	136 ± 1 [0,145 ± 0,098]	218 ± 6 [0,102 ± 0,056]	260 ± 10 [0,192 ± 0,086]
MNM	112 ± 5 [0,102 ± 0,016]	118 ± 2 (P-I) 70% 4093 ± 684 (P-II) 20% [0,602 ± 0,016]	111 ± 6 (P-I) 52% 2726 ± 265 (P-II) 48% [0,807 ± 0,023]	143 ± 2 (P-I) 70% 3250 ± 182 (P-II) 30% [0,563 ± 0,005]	212 ± 5 [0,293 ± 0,033]

P - 55-ის პოპულაცია.

ცხრილი 12. ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით (NM) და ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (MNM) მიღებული **4F4 55**-ის შედარება.

მეთოდი	ზან-ი				
	Tween 20	Triton X-100	Brij 010	Mowiol 4-88	Mowiol 8-88
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD [PDI ± SD]				
NM	158 ± 7 [0,111 ± 0,006]	139 ± 7 [0,121 ± 0,009]	163 ± 10 [0,299 ± 0,013]	173 ± 9 ♦ [0,117 ± 0,009]	240 ± 10 ♦ [0,224 ± 0,008]
MNM	85 ± 2 [0,125 ± 0,002]	85 ± 6 [0,231 ± 0,014]	79 ± 4 [0,157 ± 0,006]	129 ± 8 ♦ [0,212 ± 0,006]	211 ± 12 ♦ [0,214 ± 0,016]

♦ ნაწილობრივი აგრეგაცია.

ცხრილი 13. ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით (NM) და ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (MNM) მიღებული **8L6 55**-ის შედარება.

მეთოდი	ზან-ი				
	Tween 20	Triton X-100	Brij 010	Mowiol 4-88	Mowiol 8-88
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD [PDI ± SD]				
NM	159 ± 3 [0,131 ± 0,003]	154 ± 9 [0,090 ± 0,003]	166 ± 5 [0,088 ± 0,001]	144 ± 3 [0,076 ± 0,006]	181 ± 6 [0,095 ± 0,003]
MNM	111 ± 9 [0,222 ± 0,005]	132 ± 4 [0,089 ± 0,006]	93 ± 6 (P-I) 51% 2329 ± 225 (P-II) 49% [0,331 ± 0,082]	143 ± 3 (P-I) 65% 3364 ± 272 (P-II) 35% [0,413 ± 0,020]	311 ± 10 (P-I) 67% 3189 ± 195 (P-II) 33% [0,412 ± 0,052]

P - 55-ის პოპულაცია.

4.5. ნანონაწილაკების ძეტა-პოტენციალი

მიღებული 55-ის საშუალო დიამეტრებისა და პოლიდისპერსიულობის განსაზღვრის გარდა, ჩვენ მიერ დადგენილ იქნა მათი ზედაპირული მუხტების - ძეტა-პოტენციალების მნიშვნელობებიც. 55-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- გამხსნელი - DMI - პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 6,0 მგ/მლ - წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაცია - 5 მგ/მლ - O/W თანაფარდობა - 1:10 - ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე - 12 წვეთი/წთ - წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე - 700 ბრუნი/წთ	- პოლიმერები (ოთხი) – 1F6, 1L6, 4F4 და 8L6 - ზან-ები (ხუთი) – Tween 20, Tween 80 და Brij010

ოთხივე პოლიმერის 55-ის ძეტა-პოტენციალები წარმოდგენილია ცხრილ 14-ში. მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ ყველა პოლიმერი წარმოქმნის 55-ებს სუსტი უარყოფითი ძეტა-პოტენციალით. ჩვენ შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ სუსტი უარყოფითი მუხტის წარმოქმნა AABB პოლიმერების ესტერული ბმების ნაწილობრივი ჰიდროლიზის შედეგია, რადგან ჰიდროლიზის დროს ხდება თავისუფალი კარბოქსილის ჯგუფების (კარბოქსილატ-ანიონები -COO^-) წარმოქმნა. როგორც ცხრილი 14-დან ჩანს, მიღებული 55-ის ძეტა-პოტენციალები ვარირებს ზღვრებში $-1,58 \div -12,50$ მვ-ის ფარგლებში.

ცხრილი 14. AABB პოლიმერებისგან მიღებული 55-ის ძეტა-პოტენციალი.

პოლიმერი	ზან-ი		
	Tween 20	Tween 80	Brij 010
ძეტა-პოტენციალი (მვ) $\pm$ SD			
1F6	$-2,47 \pm 2,25$	$-1,58 \pm 1,39$	$-7,08 \pm 2,55$
1L6	$-2,97 \pm 1,64$	$-2,89 \pm 2,78$	$-5,15 \pm 1,62$
4F4	$-2,44 \pm 1,16$	$-2,49 \pm 1,07$	$-9,14 \pm 1,51$
8L6	$-12,50 \pm 1,99$	$-8,50 \pm 2,68$	$-7,70 \pm 2,29$

4.6. ნანონაწილაკების სტაბილურობა შენახვისას

კვლევის ფარგლებში ჩვენ მიერ შესწავლილ იქნა მიღებული 55-ის სტაბილურობა შენახვისას. ამისათვის გამოვიყენეთ უარყოფითად დამუხტული AABB პოლიმერების 55, რომლებიც წარმოდგენილია ცხრილ 14-ში. სტაბილურობის შესწავლა განვახორციელეთ შემდეგნაირად: 55-ის საშუალო დიამეტრები და PDI-ის მნიშვნელობები განვსაზღვრეთ დამზადებისთანავე და შემდეგ, დამზადებული სუსპენციები დავყავთ ორ ნაწილად. ნაწილს ვინახავდით ოთახის ტემპერატურაზე ($23-25^\circ \text{C}$), ნაწილს კი -

მაცივარში, დაბალ ტემპერატურაზე, (4-5° C). შემდეგ, განსაზღვრული პერიოდულობით ვზომავდით შენახული 55-ის პარამეტრებს. კვლევის შედეგები წარმოდგენილია ცხრილების სახით (იხ. ცხრილები 15-18).

ცხრილი 15. 1F6 55-ის სტაბილურობა შენახვისას.

გაზომვის დრო	ზან-ი					
	Tween 20	Tween 80	Brij 010	Tween 20	Tween 80	Brij 010
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD					
	ოთახის ტემპერატურაზე (23–25 °C)			მაცივარში (4–5 °C)		
დამზადებისთანავე	143 ± 6	156 ± 4	160 ± 10	143 ± 6	156 ± 4	160 ± 10
ერთი კვირის შემდეგ	1688 ± 628	1390 ± 190	1586 ± 42	138 ± 7	160 ± 6	168 ± 29
	(P-I) 55%	(P-I) 75%	(P-I) 88%			
	238 ± 75	262 ± 67	288 ± 84			
ერთი თვის შემდეგ	(P-II) 45%	(P-II) 25%	(P-II) 12%	153 ± 9	179 ± 5	162 ± 7
	587 ± 293	1482 ± 149	2110 ± 592			
	(P-I) 70%	(P-I) 60%	(P-I) 89%			
სამი თვის შემდეგ	3105 ± 622	5329 ± 275	162 ± 7	152 ± 7	191 ± 74	1607 ± 32
	(P-II) 30%	(P-II) 40%	(P-II) 11%			
	2030 ± 704	1353 ± 253	1965 ± 408			
ერთი თვის შემდეგ	(P-I) 83%	(P-I) 64%	(P-I) 81%	989 ± 156	2984 ± 198	208 ± 11
	5288 ± 118	5876 ± 261	270 ± 50			
	(P-II) 17%	(P-II) 36%	(P-II) 19%			
ერთი თვის შემდეგ	(P-I) 83%	(P-I) 64%	(P-I) 81%	989 ± 156	2984 ± 198	2146 ± 385
	5288 ± 118	5876 ± 261	270 ± 50			
	(P-II) 17%	(P-II) 36%	(P-II) 19%			

P - 55-ის პოპულაცია.

ცხრილი 16. 1L6 55-ის სტაბილურობა შენახვისას.

გაზომვის დრო	ზან-ი					
	Tween 20	Tween 80	Brij 010	Tween 20	Tween 80	Brij 010
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD					
	ოთახის ტემპერატურაზე (23–25 °C)			მაცივარში (4–5 °C)		
დამზადებისთანავე	132 ± 7	168 ± 5	136 ± 1	132 ± 7	168 ± 5	136 ± 1
ერთი კვირის შემდეგ	154 ± 5	166 ± 3	160 ± 5	154 ± 1	169 ± 8	162 ± 6
		(P-I) 71%				
		4063 ± 295				
ერთი თვის შემდეგ	4782 ± 192	163 ± 10	155 ± 5	157 ± 3	164 ± 6	167 ± 5
		(P-I) 70%	(P-I) 70%			
		3892 ± 428	4670 ± 433			
სამი თვის შემდეგ	4765 ± 705	(P-II) 10%	(P-II) 30%	4959 ± 617	4781 ± 309	168 ± 1
		(P-I) 70%	(P-I) 88%			
		(P-II) 30%	(P-II) 12%			

P - 55-ის პოპულაცია.

ცხრილი 17. 4F4 55-ის სტაბილურობა შენახვისას.

გაზომვის დრო	ზან-ი					
	Tween 20	Tween 80	Brij 010	Tween 20	Tween 80	Brij 010
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD					
	ოთახის ტემპერატურაზე (23–25 °C)			მაცივარში (4–5 °C)		
დამზადებისთანავე	158 ± 7	157 ± 7	163 ± 10	158 ± 7	157 ± 7	163 ± 10
ერთი კვირის შემდეგ	133 ± 3 (I p) 83% 1575 ± 150 (II p) 17%	162 ± 8	171 ± 6	161 ± 4	155 ± 9	169 ± 7
ერთი თვის შემდეგ	სრული აგრეგაცია	სრული აგრეგაცია	სრული აგრეგაცია	166 ± 6	161 ± 5	171 ± 8
სამი თვის შემდეგ	-	-	-	169 ± 8	164 ± 8	173 ± 9

P - 55-ის პოპულაცია.

ცხრილი 18. 8L6 55-ის სტაბილურობა შენახვისას.

გაზომვის დრო	ზან-ი					
	Tween 20	Tween 80	Brij 010	Tween 20	Tween 80	Brij 010
	საშუალო დიამეტრი (ნმ) ± SD [PDI ± SD]					
	ოთახის ტემპერატურაზე (23–25 °C)			მაცივარში (4–5 °C)		
დამზადებისთანავე	159 ± 3 [0,131 ± 0,003]	162 ± 15 [0,107 ± 0,015]	166 ± 5 [0,088 ± 0,001]	159 ± 3 [0,131 ± 0,003]	162 ± 15 [107 ± 0,012]	166 ± 5 [0,088 ± 0,001]
ერთი კვირის შემდეგ	179 ± 2 [0,123 ± 0,007]	169 ± 10 [0,114 ± 0,005]	186 ± 5 [0,102 ± 0,011]	183 ± 8 [0,135 ± 0,005]	167 ± 8 [0,112 ± 0,015]	187 ± 5 [0,095 ± 0,004]
ერთი თვის შემდეგ	186 ± 7 [0,129 ± 0,012]	165 ± 11 [0,103 ± 0,009]	180 ± 3 [0,094 ± 0,013]	189 ± 2 [0,149 ± 0,008]	188 ± 6 [0,121 ± 0,005]	184 ± 9 [0,109 ± 0,011]
სამი თვის შემდეგ	195 ± 10 [0,145 ± 0,015]	200 ± 15 [0,121 ± 0,004]	181 ± 3 [0,113 ± 0,009]	200 ± 8 [0,138 ± 0,005]	200 ± 8 [0,115 ± 0,010]	189 ± 2 [0,118 ± 0,015]

55-ის სამთვიანი სტაბილურობა შევისწავლეთ დადგენილი ყველაზე ოპტიმალური ზან-ების გამოყენებით. ცხრილები 15–17-დან ჩანს, რომ უფრო სტაბილურია დაბალ ტემპერატურაზე შენახული სუსპენზიები. ნაკლებად სტაბილური აღმოჩნდა PEUs-ს 55, რომლებიც მიუხედავად მათი შენახვის პირობებისა, წარმოქმნიან დიდი (მიკრო-მასშტაბური) ზომის ნაწილაკებს. გამონაკლისს წარმოადგენს მხოლოდ დაბალ ტემპერატურაზე შენახული 1L6-ის 55 Brij 010-ის თანაობისას. ამ შემთხვევაში 55-ის საშუალო დიამეტრის არსებითი ცვლილება არ აღინიშნება: დამზადებისთანავე საშუალო დიამეტრი შეადგენს 136 ნმ-ს, ერთი კვირის შემდეგ – 162 ნმ-ს, ერთი თვის შემდეგ – 167 ნმ-ს, სამი თვის შემდეგ კი – 168 ნმ-ს. PEAs 55-ებმა აჩვენა უკეთესი სტაბილურობა. 4F4-ის 55 (იხ. ცხრილი 17) მიუხედავად სრული აგრეგაციისა ოთახის ტემპერატურაზე შენახვისას (1 თვის განმავლობაში), დაბალ ტემპერატურაზე ინარჩუნებენ

თავიანთ ზომებს სამი თვის განმავლობაში. კვლევებმა გვიჩვენა, რომ საუკეთესო სტაბილურობა ახასიათებს **PEA 8L6**-ის **55**-ებს, რომელიც წარმოქმნის ძლიერ სტაბილურ სუსპენზიებს სამივე გამოყენებული ზან-ების თანაობისას. სამი თვის განმავლობაში შენახვისას **8L6**-ის **55** სტაბილურია როგორც დაბალ, ასევე ოთახის ტემპერატურაზე.

4.7. დადებითად დამუხტული ნანონაწილაკების მიღება

დადებითად დამუხტული **55**-ის მისაღებად საბაზო **AABB** პოლიმერის სახით შევარჩიეთ **PEA 8L6**, რომელიც წარმოქმნის ყველაზე სტაბილურ **55**-ებს (იხ. პუნქტი 4.6). დადებითი მუხტის მისანიჭებლად **8L6 PEA**-ს შევურიეთ კატიონური **AABB** პოლიმერი **8R6**, რომელიც ჩვენ მიერ მიღებულია ამინომჟავა არგინინის საფუძველზე (Memanishvili et al. 2014). **55**-ისთვის დადებითი მუხტის მისანიჭებლად ორგანულ გამხსნელში (DMSO) მოცულობით 1 მლ, გავხსენით 6,0 მგ **8L6** და 5,0; 10,0; 20,0; 30,0 ან 50,0 % (**8L6** პოლიმერის მასის) კატიონური პოლიმერი **8R6**. პოლიმერების (**8L6/8R6**) ნარევის შემცველ ორგანულ ფაზას შემდეგ წვეთწვეთობით ვამატებდით წყლის ფაზაში, ისევე როგორც ნანოპრეციპიტაციის ზოგად მეთოდის მიხედვით აღწერილი. ამ ექსპერიმენტებში ზან-ის სახით გამოვიყენეთ Tween 20. **55**-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
• პოლიმერი - 8L6 • გამხსნელი - DMSO • პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 6,0 მგ/მლ • წყლის ფაზაში ზან-ი Tween 20-ს კონცენტრაცია - 5 მგ/მლ • O/W თანაფარდობა - 1:10 • ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე - 12 წვეთი/წთ • წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე - 700 ბრუნი/წთ	• კატიონური პოლიმერი 8R6 – 5,0; 10,0; 20,0; 30,0; 50,0 წონა% 8L6-ის მასიდან

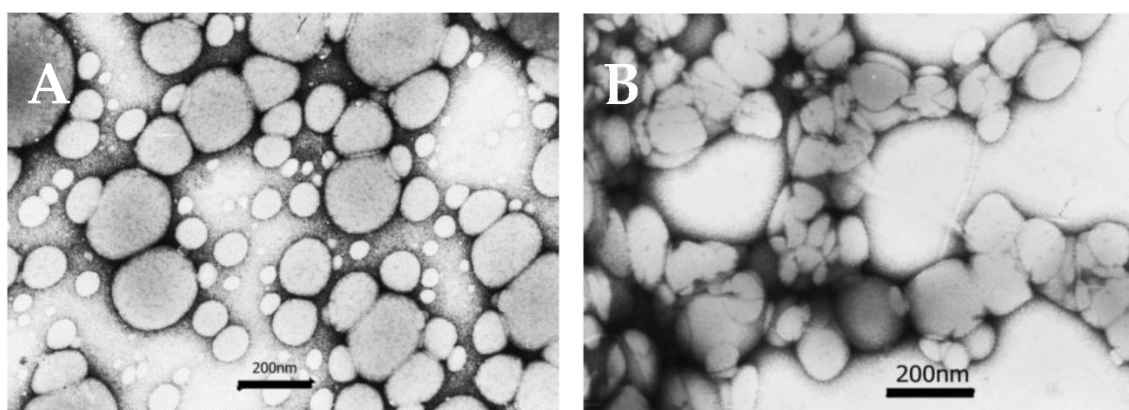
მიღებული კატიონური **55**-ის ძეტა-პოტენციალები ნაჩვენებია ცხრილ 19-ში. ექსპერიმენტების შედეგებიდან ჩანს, რომ რაც უფრო მეტია კატიონური პოლიმერის შემცველობა ორგანულ ფაზაში, მით უფრო მაღალია მიღებული **55**-ის დადებითი მუხტი და 50,0 %-ის შემთხვევაში შეადგენს +28,0 მგ-ს.

ცხრილი 19. 8L6/8R6 პოლიმერების ნარევისგან მიღებული 55-ის ძეტა-პოტენციალი.

პოლიმერი	8R6-ის შემცველობა (%, წ/წ)	ძეტა-პოტენციალი (მვ) $\pm$ SD
8L6	0	$-1,73 \pm 0,6$
8L6/8R6	5	$+19,6 \pm 3,6$
	10	$+23,2 \pm 4,7$
	20	$+25,8 \pm 2,7$
	30	$+27,2 \pm 3,2$
	50	$+28,0 \pm 4,9$

4.8. ნანონაწილაკების მორფოლოგია

55-ის მორფოლოგიის შესასწავლად შევარჩიეთ ორი პოლიმერის – 8L6-ის და 1L6-ის 55. 55 მივიღეთ ოთახის ტემპერატურაზე შემდეგ პირობებში: ორგანული გამხსნელი – DMSO; პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში – 6,0 მგ/მლ; სურფაქტანტი – Tween 20, ზან-ის კონცენტრაცია წყლის ფაზაში – 5,0 მგ/მლ; O/W თანაფარდობა – 1:10; ორგანული ფაზის დამატების სიჩქარე – 12 წვეთი/წთ; წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე – 700 ბრუნი/წთ. ორგანული გამხსნელისა და ზან-ის მოსაშორებლად მიღებული სუსპენცია გავადიალიზეთ გამოხდილი წყლის მიმართ 72 სთ-ის განმავლობაში და შემდეგ დავაკონცენტრირეთ წყლის აორთქლებით დაბალი წნევის პირობებში როტაციულ ამორთქლებელზე. 55-ის მორფოლოგია (TEM-ის მიკროფოტოგრაფიები) წარმოდგენილია სურათ 3-ზე.



სურათი 3. ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით მიღებული 8L6 55-ის (A) და 1L6 55-ის (B) მიკროფოტოგრაფიები.

TEM ანალიზისათვის მიღებული 8L6 55-ის პარამეტრები, რომლებიც DLS მეთოდით იქნა დადგენილი, შემდეგია: 55-ის საშუალო დიამეტრი – 70 ნმ, PDI – 0,115 (საშუალო

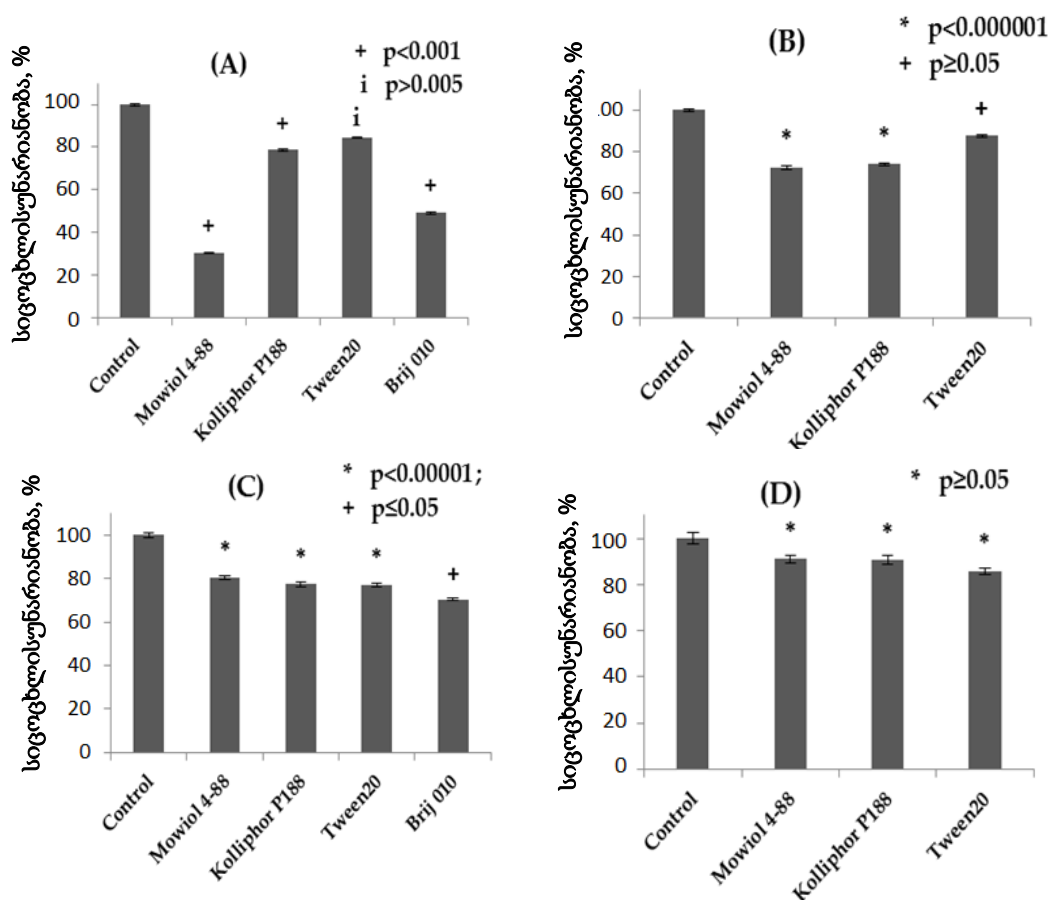
განაწილება), ხოლო **1L6 55**-ის იგივე მახასიათებლები შეადგენს 123 ნმ-ს და 0,223-ს (ფართო განაწილება), შესაბამისად.

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, TEM ანალიზისათვის მიღებული სუსპენზია დაკონცენტრირებული იქნა წყლის აორთქლებით. სუსპენზიის დაკონცენტრირებამ შესაძლოა იმოქმედოს მასში არსებული **55**-ის პარამეტრებზე - გამოიწვიოს საშუალო ზომებისა და პოლიდისპერსიულობის ცვლილება. ამ გარემოების შესამოწმებლად დაკონცენტრირებული სუსპენზია კვლავ განვაზავეთ გამოხდილი წყლით საწყის კონცენტრაციამდე და შემდეგ შევამოწმეთ **55**-ის ძირითადი პარამეტრები DLS მეთოდით. აღმოჩნდა, რომ **8L6**-ის **55** მდგრადია დაკონცენტრირების მიმართ და განსაზღვრული პარამეტრები პრაქტიკულად არ განხვავდება დაკონცენტრირებამდე მიღებული შედეგებისგან. რაც შეეხება **1L6**-ის **55**-ებს, მათი სუსტი სტაბილურობის გამო, ადგილი ჰქონდა **55**-ის პარამეტრების მცირეოდენ ცვლილებებს. ასე, **1L6 55**-ის საშუალო დიამეტრი და PDI დაკონცენტრირებამდე შეადგენდა 123 ნმ-ს და 0,223-ს, შესაბამისად, ხოლო დაკონცენტრირების (და შემდგომი განზავების) შემდეგ კი - 133 ნმ და 0,246-ს. ეს ცვლილებები ასევე აღინიშნება TEM-ის მიკროფოტოგრაფიაში.

4.9. ნანონაწილაკების უჯრედებთან შეთავსებადობის შესწავლა

ბიოსამედიცინო მიზნებისათვის **55**-ის გამოყენების თვალსაზრისით მეტად მნიშვნელოვანია მათი შეთავსებადობა ორგანიზმის უჯრედებსა და ქსოვილებთან, ანუ მათი ბიოშეთავსებადობა. **55**-ის უჯრედებთან შეთავსებადობის შესწავლამდე ჩვენ მიერ შემოწმებული იქნა **55**-ის მისაღებად გამოყენებული **ზან**-ების ბიოშეთავსებადობა (ციტოტოქსიკურობა) (ნახაზი 10). შევისწავლეთ სამი საუკეთესო **ზან**-ის – Tween 20-ის, Kolliphor P188-ის და Brij 010-ის ბიოშეთავსებადობა უჯრედებზე. შედარებისათვის ასევე შევისწავლეთ პოლივინილის სპირტის (Mowiol 4-88) ბიოშეთავსებადობა, ვინაიდან ცნობილია, რომ მას გააჩნია დაბალი ტოქსიკურობა. ექსპერიმენტებში გამოვიყენეთ ოთხი სტაბილური უჯრედული ხაზი (ორი თაგვის, ორი ადამიანის): (i) HeLa – ადამიანის ეპითელიური უჯრედები (საშვილოსნოს ყელის კიბოს უჯრედები), (ii) A549 - ადამიანის II ტიპის ალვეოლური უჯრედები (ფილტვე-

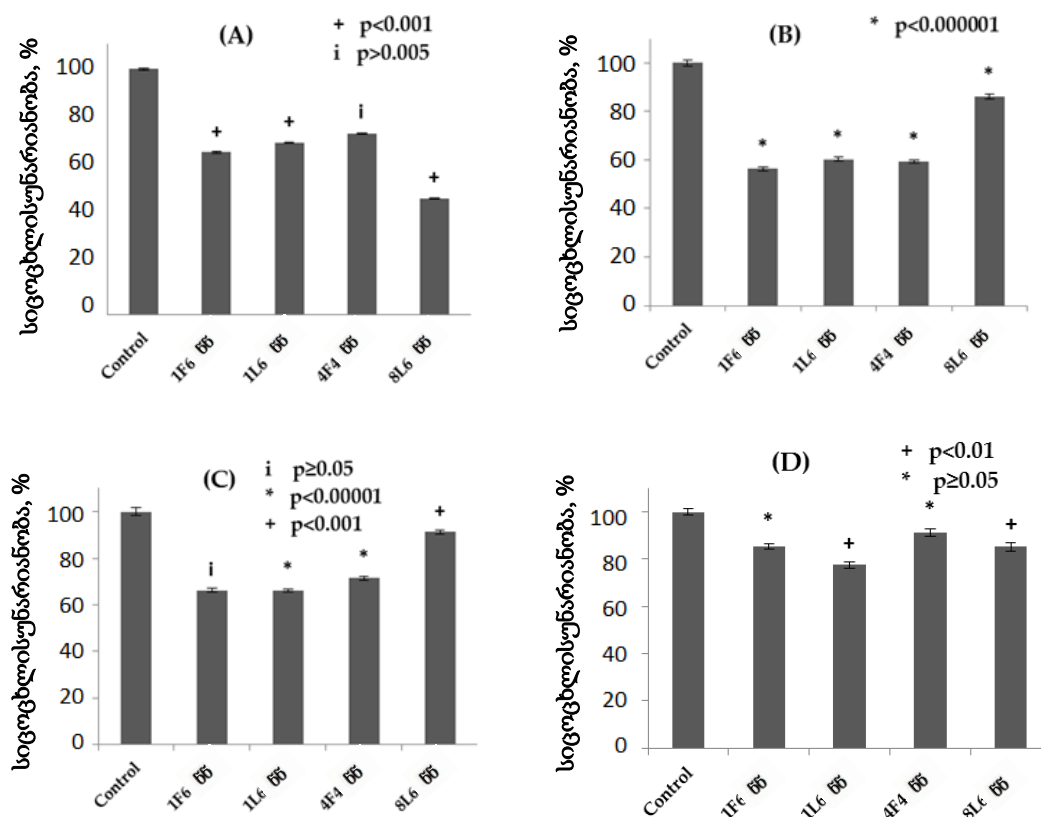
ბის კიბოს ეპითელიური უჯრედები), (iii) Hepa 1-6 – თავის ღვიძლის კიბოს უჯრედები და (iv) RAW264.7 – თავის ლეიკემიური მაკროფაგები.



ნახაზი 10. სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა (%) სხვადასხვა ტიპის ზან-ების თანაობისას (2,5 მკგ/მლ) 24 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ: (A) HeLa უჯრედული ხაზი; (B) Hepa 1-6 უჯრედული ხაზი; (C) A549 უჯრედული ხაზი; (D) RAW264.7 უჯრედული ხაზი.

უჯრედებთან შეთავსებადობის და 55-ის წარმოქმნისუნარიანობის ეფექტურობის გათვალისწინებით შესაძლოა დავასკვნათ, რომ AABBP-ს 55-ის მისაღებად ყველაზე ოპტიმალური ზან-ია Tween 20. ამგვარად, ბიოშეთავსებადობის შესასწავლად 55 მივიღეთ Tween 20-ის გამოყენებით. ორგანული გამხსნელის სახით ამ კვლევებში გამოვიყენეთ DMSO. ოთხივე პოლიმერის 55-ის ციტოტოქსიკურობის შესწავლის შედეგები წარმოდგენილია ნახაზ 11-ზე. წინასწარი (საპილოტო) კვლევების ფარგლებში 55-ის ბიოშეთავსებადობა შევისწავლეთ A549 უჯრედულ ხაზზე 55-ის კონცენტრაციის სამ სხვადასხვა მნიშვნელობაზე – 1,0; 2,5 და 5,0 მკგ/მლ. ყველა პოლიმერის 55 აღმოჩნდა ბიოშეთავსებადი (არატოქსიკური) დაბალ კონცენტრაციებზე (1,0 და 2,5 მკგ/მლ) 24 სთ-იანი ინკუბირებისას. მაღალი ბიოშეთავსებადობის 55-ის

დადგენის მიზნით შემდეგ ექსპერიმენტებში გამოვიყენეთ **55**-ის უმაღლესი კონცენტრაცია - 5,0 მკგ/მლ.

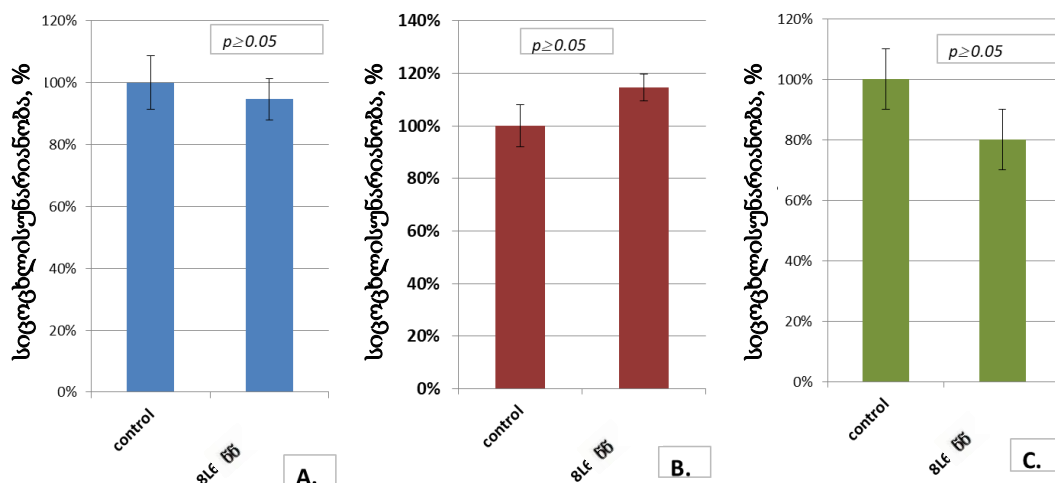


ნახაზი 11. სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა (%) სხვადასხვა ტიპის **55**-ებთან (5,0 მკგ/მლ) 24 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ: (A) HeLa უჯრედული ხაზი; (B) Hepa 1-6 უჯრედული ხაზი; (C) A549 უჯრედული ხაზი; (D) RAW264.7 უჯრედული ხაზი.

მიღებული შედეგების თანახმად (ნახაზი 11), ბიოშეთავსებადობის თვალსაზრისით საუკეთესო **55**-ებს წარმოქმნის **PEA 8L6**. უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შემცირება **8L6 55**-ის შემთხვევაში სამი უჯრედული ხაზისათვის (A549, Hepa 1-6 და RAW264.7) მინიმალურია და არ აღემატება 15 %-ს. **8L6 55** მაღალი კონცენტრაციით (5,0 მკგ/მლ) ციტოტოქსიკური აღმოჩნდა მხოლოდ ერთი უჯრედული ხაზის - HeLa-ს მიმართ: უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა შეადგენს $47,32\% \pm 0,002\%$ -ს. HeLa უჯრედების მიმართ დანარჩენი პოლიმერები ნაკლებად ტოქსიკური აღმოჩნდა. ჩვენ შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ HeLa უჯრედების მიმართ **55**-ის ციტოტოქსიკურობა აიხსნება ამ ხაზის უჯრედებში ჰიდროლაზების აქტივობის შემცირებით (სხვა უჯრედულ ხაზებთან შედარებით). ახლახანს გაირკვა, რომ HeLa უჯრედების მეტაბოლიზმში არის გარკვეული თავისებურებები (Diener et al. 2016; Drozd et al. 2016). HeLa

უჯრედებში ჰიდროლაზების დაქვეითებულ აქტივობას შესაძლოა გამოეწვია **8L6 55-**ის დეგრადაციის სიჩქარის შემცირება, რასაც თავის მხრივ შესაძლოა გამოეწვია **55-**ის ციტოტოქსიკურობის გაზრდა. ზემოაღნიშნული თავისებურებების გამო, HeLa უჯრედული ხაზი შემდეგ კვლევებში არ გამოგვიყენებია.

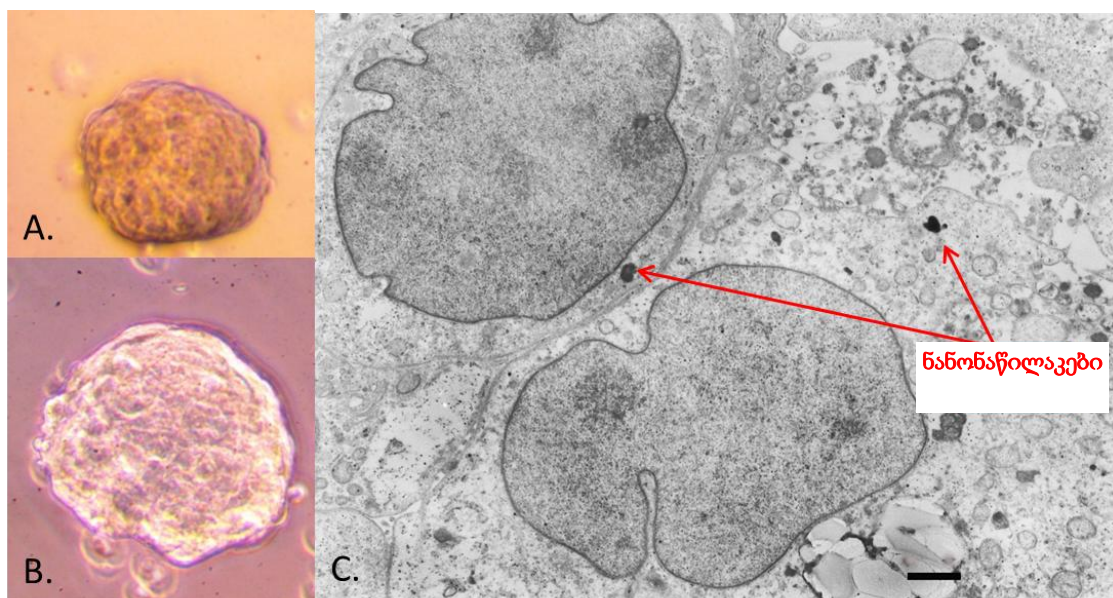
ჩვენ მიერ შესწავლილია ასევე **8L6 55-**ის ციტოტოქსიკურობა დანარჩენ სამ უჯრედულ ხაზზე **55-**ის უფრო ხანგრძლივი დროით (96 სთ) ზემოქმედებისას. აღნიშნული ექსპერიმენტების შედეგები ნაჩვენებია ნახაზ 12-ზე. როგორც შედეგებიდან ჩანს, სამივე უჯრედული ხაზის შემთხვევაში სიცოცხლისუნარიანობის სტატისტიკურად მნიშვნელოვან შემცირებას (კონტროლთან შედარებით) ადგილი არ აქვს, რაც მიუთითებს **8L6 55-**ის მაღალ ბიოშეთავსებადობაზე.



ნახაზი 12. სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობა (%) **8L6 55-**ებთან (5,0 მკგ/მლ) 96 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ: (A) A549 უჯრედული ხაზი; (B) Hepa 1-6 უჯრედული ხაზი; (C) RAW264.7 უჯრედული ხაზი.

4.10. ნანონაწილაკების ქსოვილებში შეღწევადობის შესწავლა

ბიოსამედიცინო მიზნებისათვის **55-**ის გამოყენების თვალსაზრისით მეტად მნიშვნელოვანია მათი ბიოლოგიურ ბარიერებში (უჯრედები, ქსოვილები) შეღწევადობა. ჩვენ მიერ შემოწმებულ იქნა **8L6 55-**ის შეღწევადობა ღვიძლის უჯრედებისგან შემდგარ სფეროიდში, რომელიც მიღებულ იქნა Hepa 1-6 უჯრედებისგან (ღვიძლის ქსოვილის მოდელი) (სურათი 4; A, B). **55-**ის სფეროიდში შეღწევადობას ვაფასებდით TEM-ის გამოყენებით.



სურათი 4. (A, B) Hepa 1-6 უჯრედული ხაზისგან მიღებული 5 დღის სფეროიდები, Phase-Contrast Microscopy, Nikon TMS: (A) X10; (B) X40; (C) ღვიძლის უჯრედების სფეროიდის ულტრათხელი ანათლების ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპით მიღებული მიკროფოტოგრაფია. სფეროიდები 24 სთ-ის განმავლობაში ინკუბირებული იქნა **8L6 55**-ებთან კონცენტრაციით 5,0 მკგ/მლ.

როგორც სურათი 4-დან ჩანს, TEM-ის საშუალებით მიღებულ მიკროფოტოგრაფიებში **55** აღინიშნება სფეროიდის შიგა ქსოვილურ შრეებში როგორც დისკრეტული ნაწილაკები (სურათი 4; C). ჩატარებული საპილოტო ექსპერიმენტების საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ **8L6**-ის **55**-ებს გააჩნიათ ქსოვილებში შეღწევადობის უნარი.

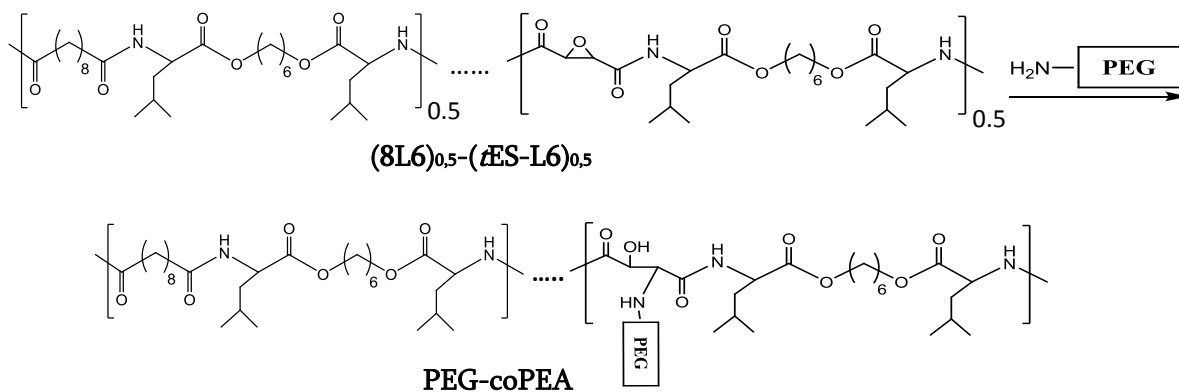
4.11. ნანონაწილაკების PEG-ილირება

პოლიმერული **55**-ის პრაქტიკული გამოყენების (წამლის მიმწოდებელი სისტემების სახით) თვალსაზრისით, როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული (იხ. „სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა“, პუნქტი 2.3.), ძალზე მნიშვნელოვანია მათი „შენილბვა“ ორგანიზმის იმუნური სისტემის შეტევისაგან დასაცავად. **55**-ის შენილბვის ყველაზე გავრცელებული მეთოდია მათი ზედაპირის დაფარვა პოლიეთილენგლიკოლით (PEG), ანუ **55**-ის „PEG-ილირება“ (Gref et al. 2000; Peracchia et al. 1999).

სადისერტაციო კვლევის ფარგლებში ჩვენ მიერ შემუშავებულია PEG-ილირების ახალი მეთოდი. PEG-ილირების ახალი მეთოდის შემუშავების მიზანშეწონილობა

მდგომარეობს შემდეგში: დღემდე ლიტერატურაში აღწერილი PEG-ლირების პროცესი (Dandagi et al. 2009; Giannavola et al. 2003) ეფუძნება ძვირადღირებული რეაგენტის – 1,2-დიესტეროილ-ფოსფატიდილეთანოლამინის მეთოქსიგლიკოლკარბამატის (DSPE-MPEG) ფიზიკურ ურთიერთქმედებას (ადსორბციას ჰიდროფობური ძალებით) **5s**-ის (მაგალითად, PLGA-ს **5s**) ზედაპირთან. ამასთან, DSPE-MPEG-ის ადსორბცია PLGA-ს **5s**-ზე ამცირებს ძეკა პოტენციალის მნიშვნელობას $-31,1$ mV-დან $-14,7$ mV-მდე, რაც არასასურველია ნაწილაკების სტაბილურობისათვის. გარდა ამისა, PEG-ის „ქურქი“ DSPE-MPEG-ის საფუძველზე წარმოიქმნება ჰიდროფობური ურთიერთქმედებით და შესაძლოა დესორბირდეს („დაიკარგოს“) *in vivo* პირობებში (Dandagi et al. 2009; Giannavola et al. 2003).

PEG-ილირების ჩვენ მიერ გამოყენებული მეთოდის არსი მდგომარეობს შემდეგში: შევიმუშავეთ PEG-ილირების ახალი აგენტი – ბიოდეგრადირებადი PEG-ილირებული თანა-პოლიესტერამიდი **8L6**-სა და **PLGA-L6**-ის (ეპოქსი-ჯგუფების შემცველი **PEA**) საფუძველზე (აღვნიშნავთ, როგორც **PEG-coPEA**), რომელიც გამოვიყენეთ როგორც **ზან**-ი. **PEG-coPEA** მივიღეთ $(8L6)_{0.5}-(PLGA-L6)_{0.5}$ თანაპოლიმერის ურთიერთქმედებით ამინო-PEG (MW 2000)-თან სქემა 6-ის შესაბამისად. აღნიშნული **PEG-coPEA** დავასინთეზეთ 1 მოლი NH_2 -PEG-ის ურთიერთქმედებით 1 მოლ $(8L6)_{0.5}-(PLGA-L6)_{0.5}$ -თან 24 სთ-ის განმავლობაში $60^{\circ}C$ -ზე DMAA-ს არეში. მიღებული პროდუქტი წყალში ხსნადია (საწყისი „არა-PEG-ილირებული“ $(8L6)_{0.5}-(PLGA-L6)_{0.5}$ თანაპოლიმერისგან განსხვავებით, რომელიც ჰიდროფობურია) და გააჩნია **ზან**-ის თვისებები – წარმოქმნის მიცელებს (ისევე როგორც კვლევაში გამოყენებული სხვა სტანდარტული **ზან**-ები) და ასტაბილიზებს **55**-ებს (იხ. ქვემოთ).



სქემა 6. ახალი ბიოდეგრადირებადი **ზან**-ის **PEG-coPEA**-ს სინთეზი.

სადისერტაციო კვლევაში გამოყენებული სტანდარტული ზან-ების და, ასევე შემუშავებული ახალი ბიოდეგრადირებადი ზან-ის PEG-coPEA-ს მიცელების მახასიათებლები იხ. ცხრილ 20-ში. აღნიშნული ცხრილიდან ჩანს, რომ PEG-coPEA-ს მიცელების მახასიათებლები იგივე რიგისაა, რაც სტანდარტული ზან-ების: მიცელების საშუალო დიამეტრი უდრის 16,2 ნმ-ს, ძეტა-პოტენციალი კი -13,1 მვ-ის ტოლია.

ცხრილი 20. კვლევაში გამოყენებული სტანდარტული ზან-ებისა და ახალი ბიოდეგრადირებადი ზან-ის მიცელების მახასიათებლები.

ზან-ი	საშუალო დიამეტრი (ნმ) $\pm$ SD	PDI $\pm$ SD	ძეტა-პოტენციალი (მვ) $\pm$ SD
Tween 20	11,3 $\pm$ 0,3	0,244 $\pm$ 0,029	-9,5 $\pm$ 0,8
Tween 40	11,1 $\pm$ 0,8	0,231 $\pm$ 0,023	-10,5 $\pm$ 0,4
Tween 80	10,8 $\pm$ 0,7	0,263 $\pm$ 0,018	-13,3 $\pm$ 0,7
Brij010	19,2 $\pm$ 0,3	0,173 $\pm$ 0,016	-11,1 $\pm$ 0,5
Kolliphor P188	9,2 $\pm$ 0,4	0,373 $\pm$ 0,031	-13,9 $\pm$ 1,5
Triton X-100	10,4 $\pm$ 0,7	0,254 $\pm$ 0,021	-6,5 $\pm$ 0,5
Mowiol 4-88	20,0 $\pm$ 1,3	0,463 $\pm$ 0,039	-13,0 $\pm$ 1,9
Mowiol 8-88	23,4 $\pm$ 1,5	0,479 $\pm$ 0,041	-13,2 $\pm$ 0,8
PEG-coPEA	16,2 $\pm$ 1,0	0,174 $\pm$ 0,012	-13,1 $\pm$ 1,8

შევნიშნავთ, რომ PEG-coPEA-ს (ანუ PEG-ილირებული თანა-პოლიესტერამიდის) ძირითადი ჯაჭვი იგივე ბუნებისაა, რაც ძირითადი პოლიესტერამიდების 8L6 და 8R6, რაც განაპირობებს 55-ისა და PEG-coPEA-ს მაღალ აფინურობას და უკანასკნელის ძლიერ შეკავშირებას 55-ის ზედაპირთან, ანუ 55-ის PEG-ილირებას. ამგვარად, მიღებული ჰიდროფილური პროდუქტი PEG-coPEA გამოვიყენეთ, როგორც ახალი ბიოდეგრადირებადი ზან-ი (ამავდროულად PEG-ილირების აგენტი).

PEG-ილირებისათვის შევარჩიეთ სტაბილურობისა და ბიოშეთავსებადობის თვალსაზრისით ყველაზე ოპტიმალური პოლიმერის - 8L6-ის 55. PEG-ილირებისათვის გამოვიყენეთ ორი ტიპის 55: (i) 8L6-ის 55 – უარყოფითად დამუხტული 55, და (ii) 8L6/8R6-ის ნარევის 55 – დადებითად დამუხტული 55. აღნიშნული ტიპის 55 მივიღეთ როგორც ნანოპრეციპიტაციის ტრადიციული, ასევე მისი მოდიფიცირებული მეთოდის გამოყენებით. 55 დავამზადეთ ჩვენ მიერ დადგენილ ოპტიმალურ პირობებში. ორგანული გამხსნელის სახით გამოვიყენეთ DMSO, ზან-ის სახით კი - ახალი ბიოდე-

გრადირებადი თანაპოლიმერი PEG-coPEA. 55-ის მიღების ოპტიმალური პარამეტრები იყო შემდეგი: პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში - 6,0 მგ/მლ, ზან-ის კონცენტრაცია წყლის ფაზაში -5,0 მგ/მლ, ორგანული/წყლის ფაზების თანაფარდობა - 1/10, ორგანული ფაზის ჩაწვეთების სიჩქარე -12 წვეთი/წთ, წყლის ფაზის მორევის სიჩქარე -700 ბრუნნი/წთ. PEG-ილირებული 55-ის პარამეტრები ნაჩვენებია ცხრილ 21-ში.

ცხრილი 21. ნანოპრეციპიტაციის მეთოდით (NM) და ნანოპრეციპიტაციის მოდიფიცირებული მეთოდით (MNM) მიღებული 8L6-ისა და 8L6/8R6-ის PEG-ილირებული 55.

მეთოდი	საშუალო დიამეტრი (ნმ) $\pm$ SD	PDI $\pm$ SD	ძეგ-პოტენციალი (მე) $\pm$ SD
8L6-ის 55			
NM	70,1 $\pm$ 2,3	0,188 $\pm$ 0,002	-14,5 $\pm$ 1,2
MNM	97,6 $\pm$ 2,6	0,112 $\pm$ 0,008	-14,7 $\pm$ 1,1
8L6/8R6-ის 55			
NM	125,7 $\pm$ 4,3	0,221 $\pm$ 0,014	+6,9 $\pm$ 1,2
MNM	130,2 $\pm$ 3,8	0,143 $\pm$ 0,011	+7,5 $\pm$ 0,4

შედეგებიდან ჩანს, რომ ახალი ბიოდეგრადირებადი ზან-ის გამოყენებისას მიიღება ოპტიმალური ზომის 55: 8L6-ისა და 8L6/8R6-ის ნარევის 55-ის ზომები ვარირებს ზღვრებში 70,1-130,2 ნმ. მიღებული შედეგები 55-ის პარამეტრების თვალსაზრისით მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება სტანდარტული (AABB პოლიმერებისთვის ოპტიმალური) ზან-ის - Tween 20-ის გამოყენებისას მიღებული შედეგებისაგან. მიუხედავად PEG-ილირებული 8L6/8R6 55-ის სუსტი დადებითი მუხტისა, მათ გააჩნიათ სასურველი სტაბილურობა (იხ. ცხრილი 22) სამი თვის განმავლობაში შენახვისას (დაბალ ტემპერატურაზე). ასევე სტაბილური აღმოჩნდა PEG-ილირებული 8L6-ის 55.

ცხრილი 22. PEG-ილირებული 55-ის სტაბილურობა შენახვისას.

55-ის ტიპი	მეთოდი	გაზომვის დრო			
		დამზადებისთანავე	ერთი თვის შემდეგ	ორი თვის შემდეგ	სამი თვის შემდეგ
		MPD (nm) ± SD		[PDI ± SD]	
8L6-ის 55	NM	70,1 ± 2,3 [0,188 ± 0,002]	72,2 ± 1,3 [0,181 ± 0,006]	70,4 ± 1,9 [0,179 ± 0,005]	71,8 ± 2,3 [0,178 ± 0,009]
	MNM	97,6 ± 2,6 [0,112 ± 0,008]	99,2 ± 3,2 [0,119 ± 0,006]	95,8 ± 3,4 [0,129 ± 0,012]	98,3 ± 2,8 [0,121 ± 0,011]
8L6/8R6-ის 55	NM	125,7 ± 4,3 [0,221 ± 0,014]	118,4 ± 5,1 [0,229 ± 0,012]	121,9 ± 3,8 [0,219 ± 0,009]	119,2 ± 4,1 [0,218 ± 0,006]
	MNM	130,2 ± 3,8 [0,143 ± 0,011]	131,4 ± 3,1 [0,151 ± 0,016]	128,7 ± 4,2 [0,140 ± 0,009]	129,3± 4,4 [0,136 ± 0,010]

4.12. მიკროკაფსულების მისაღებად პოლიმერის შერჩევა

მკ-ის მისაღებად შევარჩიეთ პოლიესტერამიდი სებაცინის მჟავას (8), ამინომჟავა L-ლეიცინის (L) და 1,6-ჰექსანდიოლს (6) საფუძველზე – **8L6**, რომელიც ოპტიმალური აღმოჩნდა **55**-ის კონსტრუირებისათვის. როგორც კვლევებმა გვიჩვენა, **55**-ის მისაღებად გამოყენებული **AABBP**-დან, აღნიშნული პოლიესტერამიდი წარმოქმნის ყველაზე სტაბილურ და ბიოშეთავსებად ნაწილაკებს. გარდა ამისა, **8L6** პოლიესტერამიდის გამოყენება მიზანშეწონილია იმით, რომ მისი სინთეზისათვის გამოიყენება ეკონომიურად ხელსაყრელი და ხელმისაწვდომი ნივთიერებები.

4.13. სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების გავლენა მიკროკაფსულების ფორმირებაზე

4.13.1. ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა

მკ-ის ფორმირებაზე პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენის შესასწავლად გამოვიყენეთ ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის ორი მნიშვნელობა – 5 და 13% წ/მ. ამ კონცენტრაციების გამოყენებისას დამზადებულ სუსპენზიებში მკ-ის კონცენტრაცია შეადგენდა შესაბამისად 20 და 50 მგ/მლ. პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა შევისწავლეთ როგორც მცირე, ისე დიდი ზომის მკ-ის ფორმირებაზე. მკ-ის მიღების პროცესის პარამეტრები წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
• ზან-ი პირველად წყლის ფაზაში – Kolliphor P188 • ზან-ი მეორად წყლის ფაზაში – PVA (MW84-89KDa) • ზან-ის კონცენტრაცია პირველად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) • ზან-ის კონცენტრაცია მეორეულ წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) • პირველადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ • პირველადი ემულსიის დამატება მეორად წყლის ფაზაში - მყისიერი (მცირე ზომის მკ მიღება) • მეორადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ (მცირე ზომის მკ მიღება) • პირველადი ემულსიის დამატება მეორად წყლის ფაზაში სიჩქარით 1-2 წვეთი/წმ (დიდი ზომის მკ მიღება) • მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარე – 400 ბრუნი/წთ (დიდი ზომის მკ მიღება)	• პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში – 5 და 13 % (წ/მ)

კვლევის შედეგები წარმოდგენილია ცხრილ 23 და 24-ში. შედეგებიდან ჩანს, რომ ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გაზრდა 5-დან 13 %-მდე (წ/მ) იწვევს მკ-ის საშუალო დიამეტრის ზრდას 3,83-დან 5,30 მკმ-მდე მცირე ზომის მკ-ის შემთხვევაში (ცხრილი 23), და 66,28-დან 81,36 მკმ-მდე დიდი ზომის მკ-ის შემთხვევაში (ცხრილი 24). როგორც მცირე, ასევე დიდი ზომის მკ ხასიათდება ვიწრო განაწილებით ($R < 1,5$).

ცხრილი 23. ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა მცირე ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.

პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში (% წ/მ)	მკ-ის კონცენტრაცია დამზადებულ სუსპენზიაში (მგ/მლ)	საშუალო დიამეტრი (მკმ) $\pm$ SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ) $\pm$ SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ) $\pm$ SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
5	20	3,83 $\pm$ 0,014	1,57 $\pm$ 0,004	5,18 $\pm$ 0,030	0,94	ვიწრო
13	50	5,30 $\pm$ 0,016	1,99 $\pm$ 0,003	8,39 $\pm$ 0,012	1,20	ვიწრო

ცხრილი 24. ორგანულ ფაზაში პოლიმერის კონცენტრაციის გავლენა დიდი ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.

პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში (% წ/მ)	მკ-ის კონცენტრაცია დამზადებულ ნიმუშში (მგ/მლ)	საშუალო დიამეტრი (მკმ) $\pm$ SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ) $\pm$ SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ) $\pm$ SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
5	20	66,28 $\pm$ 0,231	31,56 $\pm$ 0,074	105,53 $\pm$ 1,614	1,12	ვიწრო
13	50	81,36 $\pm$ 0,135	36,85 $\pm$ 0,273	127,71 $\pm$ 2,242	1,10	ვიწრო

4.13.2. მეორად წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაციის გავლენა

მკ-ის ფორმირებაზე ზან-ის კონცენტრაციის (მეორეულ წყლის ფაზაში) გავლენის შესწავლის მიზნით შევარჩიეთ კონცენტრაციების ხუთი სხვადასხვა მნიშვნელობა – 0,1; 0,5; 1,0; 2,5 და 5,0 % (წ/მ). ზან-ის კონცენტრაციის გავლენა შევისწავლეთ როგორც მცირე, ისე დიდი ზომის მკ-ის ფორმირებაზე. მკ-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში – 5% (წ/მ) ზან-ი პირველად წყლის ფაზაში – Kolliphor P188 ზან-ი მეორად წყლის ფაზაში – PVA (MW84-89KDa) ზან-ის კონცენტრაცია პირველად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) - პირველადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ - პირველადი ემულსიის დამატება მეორად წყლის ფაზაში - მყისიერი (მცირე ზომის მკ მიღება) - მეორადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ (მცირე ზომის მკ მიღება) - პირველადი ემულსიის დამატება მეორად წყლის ფაზაში სიჩქარით 1-2 წვეთი/წმ (დიდი ზომის მკ მიღება) - მეორადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 400 ბრუნი/წთ (დიდი ზომის მკ მიღება)	ზან-ის (PVA (MW84-89KDa) კონცენტრაცია მეორად წყლის ფაზაში – 0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 % (წ/მ)

ცდების შედეგები წარმოდგენილია ცხრილების სახით (ცხრილი 25 და 26). მიღებულმა შედეგებმა გვიჩვენა, რომ მცირე ზომის მკ-ის შემთხვევაში (ცხრილი 25) მეორეულ წყლის ფაზაში **ზან**-ის – პოლივინილის სპირტის (PVA) კონცენტრაციის გაზრდა 0,1-დან 5,0 %-მდე (წ/მ) იწვევს მკ-ის საშუალო დიამეტრის შემცირებას 4,02-დან 1,74 მკმ-მდე. აღსანიშნავია აგრეთვე, რომ PVA-ს დაბალ კონცენტრაციებზე (0,1 და 0,5 % წ/მ) ადგილი ჰქონდა მკ-ის ნაწილობრივ აგრეგაციას და თვალთ ხილული პოლიმერული აგრეგატების წარმოქმნას. PVA-ს 0,1 და 0,5 % წ/მ კონცენტრაციებზე მკ-ის ფარდობითი გამოსავალი შეადგენდა 69 და 86 %-ს შესაბამისად. PVA-ს დანარჩენ კონცენტრაციებზე (1,0; 2,5 და 5,0 % წ/მ) მკ-ის აგრეგაცია არ აღინიშნებოდა, და შესაბამისად, მკ-ის ფარდობითი გამოსავალიც 100 %-ს შეადგენდა. აქედან შესაძლოა დავასკვნათ, რომ მკ-ის მისაღებად PVA-ს ოპტიმალური კონცენტრაციებია 1,0; 2,5 და 5,0 % წ/მ. ამ ოპტიმალურ კონცენტრაციებზე მიღებულ იქნა დიდი ზომის მკ-იც. შედეგები წარმოდგენილია ცხრილ 26-ში. დიდი ზომის მკ-ის შემთხვევაში PVA-ს კონცენტრაციის გაზრდა 1,0-დან 5,0 %-მდე (წ/მ) იწვევს მკ-ის საშუალო დიამეტრის შემცირებას 67,63-დან 10,01 მკმ-მდე. აღსანიშნავია ასევე, რომ ამ შემთხვევაში PVA-ს კონცენტრაციის გაზრდა უფრო მნიშვნელოვნად ამცირებს (6,7 ჯერ) ნაწილაკების საშუალო ზომებს, ვიდრე მცირე ზომის მკ-ის შემთხვევაში (2,2 ჯერ).

ცხრილი 25. წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაციის გავლენა მცირე ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.

PVA-ს (Mw=84-89KDa) კონცენტრაცია მეორად წყლის ფაზაში (% წ/მ)	საშუალო დიამეტრი (მკმ)±SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ)±SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ)±SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება	*მკ-ის ფარდობითი გამოსავალი (%)
0,1	4,02±0,018	1,31±0,001	10,11±0,054	2,18	ფართო	69
0,5	3,90±0,009	1,41±0,001	5,46±0,048	1,03	ვიწრო	86
1,0	3,83±0,012	1,57±0,004	5,18±0,030	0,94	ვიწრო	100
2,5	3,47±0,023	1,53±0,002	4,99±0,007	0,99	ვიწრო	100
5,0	1,74±0,002	1,23±0,003	2,60±0,018	0,78	ვიწრო	100

$$*\text{მკ-ის ფარდობითი გამოსავალი (\%)} = \frac{\text{პოლიმერის საერთო მასა} - \text{აგრეგირებული პოლიმერის მასა}}{\text{პოლიმერის საერთო მასა}} \times 100\%$$

ცხრილი 26. წყლის ფაზაში ზან-ის კონცენტრაციის გავლენა დიდი ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.

PVA-ს (Mw 84-89KDa) კონცენტრაცია მეორად წყლის ფაზაში (% წ/მ)	საშუალო დიამეტრი (მკმ)±SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ)±SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ)±SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
1,0	67,63±0,149	34,94±0,368	101,44±1,365	0,98	ვიწრო
2,5	44,62±0,518	23,74±0,281	69,30±1,236	1,02	ვიწრო
5,0	10,01±0,456	4,87±0,092	66,49±6,375	6,15	ფართო

რაც შეეხება ნაწილაკების ზომების განაწილებას, მცირე ზომის მკ-ის შემთხვევაში PVA-ს ოპტიმალურ კონცენტრაციებზე (1,0; 2,5 და 5,0 % წ/მ) განაწილება ვიწროა ($R < 1,5$), ხოლო დიდი ზომის მკ-ის შემთხვევაში PVA-ს მაღალ კონცენტრაციაზე (5,0 % წ/მ) აღინიშნება ნაწილაკების ზომების ფართო განაწილება ($R > 1,5$). მიღებული შედეგებიდან შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ზან-ის კონცენტრაცია მეორად წყლის ფაზაში მნიშვნელოვანი ფაქტორია, რომელიც განაპირობებს როგორც მკ-ის ზომებს, ასევე მათ გამოსავალსაც.

4.13.3. ზან-ების ბუნების გავლენა

მკ-ის ფორმირებაზე სურფაქტანტების ბუნების გავლენის შესასწავლად შევარჩიეთ შემდეგი ზან-ები: Kolliphor P188, Poloxamer 407, PVA (31KDa) და PVA (84-89KDa). მკ-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში – 5% (წ/მ) - ზან-ის კონცენტრაცია პირველად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) - ზან-ის კონცენტრაცია მეორად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) - პირველადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ - პირველადი ემულსიის დამატება მეორად წყლის ფაზაში - მყისიერი (მცირე ზომის მკ მიღება) - მეორადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ	- ზან-ი პირველად წყლის ფაზაში – Kolliphor P188, Poloxamer 407, PVA (MW 31KDa), PVA (MW 84-89KDa) - ზან-ი მეორად წყლის ფაზაში – Poloxamer 407, PVA (MW 31KDa), PVA (MW 84-89KDa)

ექსპერიმენტების შედეგები წარმოდგენილია ცხრილ 27-ში.

ცხრილი 27. ზან-ების ბუნების გავლენა პირველად და მეორეულ წყლის ფაზაში მცირე ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.

ზან-ი პირველად წყლის ფაზაში	ზან-ი მეორად წყლის ფაზაში	საშუალო დიამეტრი (მკმ)±SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ)±SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ)±SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
Kolliphor P188	PVA (MW 31KDa)	2,16±0,001	1,53±0,001	4,61±0,002	1,42	ვიწრო
Kolliphor P188	PVA (MW 84-89KDa)	3,83±0,014	1,57±0,004	5,18±0,030	0,94	ვიწრო
Poloxamer 407	PVA (MW 31KDa)	2,04±0,001	1,51±0,002	4,33±0,056	1,38	ვიწრო
PVA (MW 31KDa)	PVA (MW 31KDa)	2,19±0,002	1,55±0,001	4,46±0,004	1,33	ვიწრო
Poloxamer 407	PVA (MW 84-89KDa)	4,18±0,008	1,58±0,003	6,28±0,015	1,12	ვიწრო
PVA (MW 84-89KDa)	PVA (MW 84-89KDa)	4,60±0,007	1,68±0,002	7,02±0,012	1,16	ვიწრო
Kolliphor P188	Poloxamer 407	პოლიმერის სრული აგრეგაცია, მიკროსფეროები არ მიიღება				
Poloxamer 407	Poloxamer 407	პოლიმერის სრული აგრეგაცია, მიკროსფეროები არ მიიღება				

შედეგებიდან ჩანს, რომ ზან-ის ბუნება წყლის ფაზაში მნიშვნელოვნად მოქმედებს მცირე ზომის მკ-ის ფორმირებაზე. როგორც ცხრილ 27-ში ნაჩვენებია, სხვადასხვა ზან-ების თანაობისას მიღებული მცირე ზომის მკ-ის საშუალო დიამეტრი მერყეობს 2,04 – 4,60 მკმ ფარგლებში, ხოლო ნაწილაკების ზომების განაწილება ვიწროა ($R < 1,5$). პირველად წყლის ფაზაში ზან-ის ბუნება მნიშვნელოვნად არ მოქმედებს არც მკ-ის საშუალო დიამეტრზე და არც მკ-ის წარმოქმნის უნარიანობაზე. კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ზან-ის ბუნების გავლენა მნიშვნელოვანია მხოლოდ მეორად წყლის ფაზაში (სადაც წყლის ფაზის მოცულობა, და შესაბამისად, ზან-ის რაოდენობაც მეტია). ასე, როდესაც ზან-ის სახით მეორად წყლის ფაზაში გამოყენებული გვაქვს სხვადასხვა მოლეკულური მასის PVA, აღინიშნება მკ-ის საშუალო დიამეტრის ცვლილება, ხოლო Poloxamer 407-ის გამოყენების შემთხვევაში კი ადგილი აქვს პოლიმერის სრულ აგრეგაციას და, შესაბამისად, მკ არ წარმოიქმნება.

4.13.4. ჰომოგენიზაციის სიჩქარის გავლენა

მცირე ზომის მკ-ის ფორმირებაზე მეორადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარის გავლენის შესწავლის მიზნით გამოვიყენეთ ჰომოგენიზაციის სიჩქარის სამი სხვადასხვა მნიშვნელობა – 10 000, 18 000 და 22 000 ბრუნი/წთ. მკ-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში – 5% (წ/მ) - ზან-ი პირველად წყლის ფაზაში – Kolliphor P188 - ზან-ი მეორად წყლის ფაზაში – PVA (MW84-89KDa) - ზან-ის კონცენტრაცია პირველად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) - ზან-ის კონცენტრაცია მეორად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) - პირველადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ - პირველადი ემულსიის დამატება მეორად წყლის ფაზაში - მცირე ზომის მკ მიღება)	მეორადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000, 18 000, 22 000 ბრუნი/წთ

კვლევის შედეგები წარმოდგენილია ცხრილ 28-ში.

ექსპერიმენტების შედეგებიდან ჩანს, რომ მეორადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარის გაზრდა 10000-დან 22000 ბრუნი/წთ-მდე იწვევს მკ-ის საშუალო დიამეტრის შემცირებას 3,83-დან 1,97 მკმ-მდე. ჰომოგენიზაციის სიჩქარის სამივე მნიშვნელობაზე ნაწილაკების ზომების განაწილება ვიწროა ($R < 1,5$). პირველადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე ცდებში უცვლადი იყო, ვინაიდან ის განსაზღვრავს მხოლოდ წყლის წვეთების დისპერგირების ხარისხს პირველად W/O ემულსიაში და არ არის დაკავშირებული მკ-ის ზომებთან (ანუ არ განსაზღვრავს მეორად W/O/W ემულსიაში ორგანიზებული ფაზის წვეთების ზომებს).

ცხრილი 28. ჰომოგენიზაციის სიჩქარის გავლენა მცირე ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.

პირველადი ემულსიის მორევის სიჩქარე, ბრუნი/წთ	მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარე, ბრუნი/წთ	საშუალო დიამეტრი (მკმ)±SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ)±SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ)±SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
10 000	10 000	3,83±0,014	1,57±0,004	5,18±0,030	0,94	ვიწრო
10 000	18 000	2,17±0,004	1,50±0,003	4,54±0,003	1,40	ვიწრო
10 000	22 000	1,97±0,001	1,42±0,001	4,11±0,012	1,36	ვიწრო

4.13.5. მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარის გავლენა

დიდი ზომის მკ-ის ფორმირებაზე მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარის გავლენა შევისწავლეთ მაგნიტური სარეველის მორევის სიჩქარის სამ სხვადასხვა მნიშვნელობაზე – 200, 400 და 700 ბრუნი/წთ-ზე. მკ-ის მიღების პროცესის პარამეტრები (უცვლადი და ცვლადი) წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
უცვლადი	ცვლადი
- პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში – 5% (წ/მ) - ზან-ი პირველად წყლის ფაზაში – Kolliphor P188 - ზან-ი მეორად წყლის ფაზაში – PVA (MW84-89KDa) - ზან-ის კონცენტრაცია პირველად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) - ზან-ის კონცენტრაცია მეორად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) - პირველადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ - პირველადი ემულსიის დამატება მეორად წყლის ფაზაში სიჩქარით 1-2 წვეთი/წმ (დიდი ზომის მკ მიღება)	მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარე – 200, 400, 700 ბრუნი/წთ

ექსპერიმენტების შედეგები წარმოდგენილია ცხრილ 29-ში. შედეგებიდან ჩანს, რომ დიდი ზომის მკ-ის ფორმირებისას მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარის (მაგნიტური სარეველის ბრუნთა რიცხვის ვარირებით) გაზრდა 200-დან 700 ბრუნი/წთ-მდე იწვევს მკ-ის საშუალო დიამეტრის შემცირებას 75,05-დან 44,62 მკმ-მდე. დიდი ზომის მკ-ისათვის მეორადი W/O/W ემულსიის მორევის სიჩქარეს ისეთივე მნიშვნელობა აქვს, როგორც ჰომოგენიზაციის სიჩქარეს მცირე ზომის მკ-ის შემთხვევაში. W/O/W ემულსიის მორევის სიჩქარე (ისევე როგორც ჰომოგენიზაციის სიჩქარე) განსაზღვრავს ემულსიაში დისპერსული ფაზის (ორგანული ფაზის წვეთები) ზომებს, რაც განაპირობებს თვით მკ-ის ზომებს (ორგანული გამხსნელის აორთქლების შემდეგ) მიღებულ სუსპენზიაში. აღსანიშნავია აგრეთვე, რომ მეორადი ემულსიის მორევის დაბალ სიჩქარეზე (200 ბრუნი/წთ) ადგილი ჰქონდა ნაწილაკების ნაწილობრივ აგრეგაციას. აქედან გამომდინარე, დიდი ზომის მკ-ის მიღებისას მიზანშეწონილი არ არის W/O/W ემულსიის მორევის დაბალი სიჩქარის გამოყენება.

ცხრილი 29. მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარის გავლენა დიდი ზომის მკ-ის ფორმირებაზე.

მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარე (ბრუნი/წთ)	საშუალო დიამეტრი (მკმ)±SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ)±SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ)±SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
200	75,05±0,508 ♦	37,06±0,376 ♦	118,44±0,738 ♦	1,08	ვიწრო
400	50,57±0,305	20,34±0,130	86,18±0,531	1,30	ვიწრო
700	44,62±0,518	23,74±0,281	69,30±1,236	1,02	ვიწრო

♦ - ნაწილობრივი აგრეგაცია

დაბოლოს, შესაძლოა დავასკვნათ, რომ სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების გავლენის შესწავლამ მკ-ის ფორმირებაზე გვიჩვენა, რომ პარამეტრების ცვლილებით და, ასევე მიღების მეთოდის მცირეოდენი მოდიფიცირებით შესაძლოა მკ-ის ზომების კონტროლირებადი ვარირება ფართო ზღვრებში.

4.14. მიკროკაფსულების რესუსპენდირებადობა დაყოვნების/დალექვის შემდეგ

ჩვენ მიერ შესწავლილ იქნა მცირე ზომის მკ-ის რესუსპენდირების უნარი 48 სთ-იანი დაყოვნების/დალექვის შემდეგ. ამისათვის, დამზადებისთანავე განვსაზღვრეთ მკ-ის მახასიათებლები (ზომები და ნაწილაკების ზომების განაწილება) და შემდეგ სუსპენ-

ზია შევინახეთ დაბალ ტემპერატურაზე (მაცივარში). 48 სთ-ის შემდეგ მკ-ის რესუსპენდირებას ვახდენდით ენერგიული შენჯღრევით 3-5 წთ განმავლობაში. რესუსპენდირების შემდეგ განმეორებით ვსაზღვრავდით მკ-ის მახასიათებლებს. მკ-ის მიღების პროცესის პარამეტრები წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები	
• პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში – 5% (წ/მ)	
• ზან-ი პირველად წყლის ფაზაში – Kolliphor P188	
• ზან-ი მეორად წყლის ფაზაში – PVA (MW84-89KDa)	
• ზან-ის კონცენტრაცია პირველად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ)	
• ზან-ის კონცენტრაცია მეორად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ)	
• პირველადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ	
• მეორადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ	
• პირველადი ემულსიის დამატება მეორად წყლის ფაზაში – მყისიერი (მცირე ზომის მკ მიღება)	

ექსპერიმენტების შედეგები წარმოდგენილია ცხრილ 30-ში. შედეგებიდან ჩანს, რომ მკ-ის მახასიათებლები დამზადებისთანავე და დალექვის/შემდგომი რესუსპენდირების შემდეგ პრაქტიკულად არ განსხვავდება ერთმანეთისგან, რაც მეტყველებს მიღებული მკ-ის მდგრადობაზე. გაზომვების შედეგებს შორის განსხვავება ცდომილების ფარგლებშია.

ცხრილი 30. მცირე ზომის მკ-ის რესუსპენდირებადობა 48 სთ დაყოვნების/ დალექვის შემდეგ.

გაზომვა	საშუალო დიამეტრი (მკმ)±SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ)±SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ)±SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
დამზადებისთანავე	3,70±0,007	1,63±0,003	4,76±0,005	0,84	ვიწრო
რესუსპენდირების (შენჯღრევის) შემდეგ	3,77±0,069	1,67±0,025	5,06±0,883	0,89	ვიწრო

4.15. მიკროკაფსულების რესუსპენდირებადობა ლიოფილიზაციის შემდეგ

კვლევის ფარგლებში მიღებულია ლიოფილურად გაშრობილი (ლიოფილიზირებული) მკ და შესწავლილია მათი რესუსპენდირების უნარი (იხ. ცხრილი 31). შემოწმებულია როგორც გაუსუფთავებელი (დიალიზის გარეშე), ასევე გასუფთავებული (დიალიზის მეშვეობით) მკ-ის რესუსპენდირებადობა გამოხდით წყალში. გასუფთა-

ვებულის მკ-ის მისაღებად დამზადებულ მიკროსუსპენზიას ვადიალიზებდით სადიალიზე პარკების მეშვეობით (MWCO 25KDa) გამოხდილი წყლის წინააღმდეგ გარკვეული დროის (ვარიერებადი) განმავლობაში. ამის შემდეგ, ლიოფილიზირებული მკ-ის მისაღებად მიკროსუსპენზიას ცვინავდით თხევად აზოტში და შემდეგ სუბლიმაციურად ვაშრობდით ლიოფილიზატორის (TOPT-10C Freezing dryer, Toption Group Co., Shanghai, China) მეშვეობით 1 პა წნევისა და -60°C ტემპერატურის პირობებში.

აღვნიშნავთ, რომ ამ კვლევებში გამოვიყენეთ დამალმოლეკულური PVA (MW 13-23 KDa), რათა შესაძლო ყოფილიყო დიალიზის საშუალებით ზან-ის მოშორება. PVA-სგან გასუფთავების აუცილებლობა წინასწარი კვლევებით დადგინდა, სადაც ექსპერიმენტების შედეგებმა გვიჩვენა, რომ გაუსუფთავებელი მკ-ის პირდაპირი გამოყენების/ლიოფილიზაციის შემდეგ ისინი ნაწილობრივ კარგავენ რესუსპენდირების უნარს (ადგილი აქვს ნაწილაკების დამკვხვილუბასა და ნაწილობრივ აგრეგაციას). მკ-ის მიღების პროცესის პარამეტრები წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები
• პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში – 5% (წ/მ) • ზან-ი პირველად წყლის ფაზაში – Kolliphor P188 • ზან-ი მეორად წყლის ფაზაში – PVA (MW13-23KDa) • ზან-ის კონცენტრაცია პირველად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) • ზან-ის კონცენტრაცია მეორად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) • პირველადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ • მეორადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ • პირველადი ემულსიის დამატება მეორად წყლის ფაზაში – მცირე ზომის მკ მიღება)

კვლევის შედეგებიდან (ცხრილ 31) ჩანს, რომ გასუფთავებულ (გადიალიზებულ) მკ-ებს გააჩნიათ რესუსპენდირების მაღალი უნარი. ამასთან, 24 საათიანი დიალიზის შედეგად კი მკ-ის საშუალო ზომები ლიოფილიზაციამდე (დამზადებისთანავე) და ლიოფილიზაციის/რესუსპენდირების შემდეგ პრაქტიკულად არ განსხვავდება ერთმანეთისგან. რაც შეეხება გაუსუფთავებელ მკ-ებს, შედეგებიდან ჩანს, რომ მათი საშუალო დიამეტრი ლიოფილიზაციის/რესუსპენდირების შემდეგ იზრდება დაახლოებით 2,5 ჯერ (2,15-დან 5,60 მკმ-მდე), და გარდა ამისა, ნაწილაკების ზომების განაწილება ფართოა: დიამეტრის ქვედა ზღვარი უდრის 1,98 მკმ, დიამეტრის ზედა

ზღვარი – 13,20 მკმ, R-კოეფიციენტი კი 2,00-ის ტოლია. შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ პოლივინილის სპირტი, თავისი „წებვადი“ ბუნების გამო (იგულისხმება ხსნარში) ხელს უშლის ნაწილაკების განცალკევებას და, შესაბამისად, ამცირებს რესუსპენდირების ხარისხს.

ცხრილი 31. მკ-ის რესუსპენდირებადობა დიალიზისა და ლიოფილიზაციის შემდეგ.

გაზომვა	საშუალო დიამეტრი (მკმ)±SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ)±SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ)±SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
დამზადებისთანავე	2,15 ± 0,002	1,37 ± 0,001	3,98± 0,019	1,20	ვიწრო
ლიოფილიზაციის/წყალში რესუსპენდირების შემდეგ (დიალიზის გარეშე)	5,60 ± 0,012	1,98 ± 0,002	13,20 ± 0,031	2,00	ფართო
ლიოფილიზაციის/წყალში რესუსპენდირების შემდეგ (დიალიზის ხანგრძლივობა 24 სთ)	2,52 ± 0,134	1,48 ± 0,020	4,53 ± 0,326	1,21	ვიწრო
ლიოფილიზაციის/წყალში რესუსპენდირების შემდეგ (დიალიზის ხანგრძლივობა 48 სთ)	2,20 ± 0,026	1,45 ± 0,003	4,56 ± 0,103	1,41	ვიწრო
ლიოფილიზაციის/წყალში რესუსპენდირების შემდეგ (დიალიზის ხანგრძლივობა 72 სთ)	2,08 ± 0,008	1,43 ± 0,002	4,29 ± 0,021	1,37	ვიწრო

4.16. მიკროკაფსულების სტაბილურობა შენახვისას

მკ-ის პრაქტიკული გამოყენების თვალსაზრისით ძალზე მნიშვნელოვანია მათი სტაბილურობა (რესუსპენდირებადობა დალექვის/ლიოფილიზაციის შემდეგ) შენახვისას. დიდი ზომის მკ-ის სტაბილურობის შესწავლის მიზნით მიკროსუსპენცია მივიღეთ დიდი რაოდენობით (200 მლ). დამზადებისთანავე მიკროსუსპენზია დავყავით სამ ნაწილად; ერთი ნაწილი შევინახეთ მაცივარში (10°C-ზე), მეორე ნაწილი შევინახეთ საყინულეში (-18°C-ზე), მესამე ნაწილი კი ლიოფილურად გავაშრეთ (იგივე მეთოდით, როგორც ზემოთაა აღწერილი) და მშრალ ფორმაში (დახშულ ფლაკონებში) შევინახეთ მაცივარში (10°C-ზე). შემდეგ, 2 თვის განმავლობაში პერიოდულად ვსაზღვრავდით მკ-ის მახასიათებლებს ანალიზატორის (მიკროსაიზერი) საშუალებით. უშუალო გაზომვამდე ვახდენდით დალექილი მშრალი მკ-ის რესუსპენდირებას გამოხდილ წყალში ენერგიული შენჯღრევით 5-10 წთ განმავლობაში.

მკ-ის მიღების პროცესის პარამეტრები წარმოდგენილია ქვემოთ მოცემულ ცხრილში:

პროცესის პარამეტრები
• პოლიმერის კონცენტრაცია ორგანულ ფაზაში – 5% (წ/მ) • ზან-ი პირველად წყლის ფაზაში – Kolliphor P188 • ზან-ი მეორად წყლის ფაზაში – PVA (MW13-23KDa) • ზან-ის კონცენტრაცია პირველად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) • ზან-ის კონცენტრაცია მეორად წყლის ფაზაში – 1% (წ/მ) • პირველადი ემულსიის ჰომოგენიზაციის სიჩქარე – 10 000 ბრუნი/წთ • მეორადი ემულსიის მორევის სიჩქარე – 400 ბრუნი/წთ • პირველადი ემულსიის დამატება მეორად წყლის ფაზაში სიჩქარით 1-2 წვეთი/წმ

კვლევის შედეგები ნაჩვენებია ცხრილების სახით (ცხრილები 32-34). როგორც შედეგებიდან ჩანს, მიღებულ მკ-ებს ახასიათებს მაღალი სტაბილურობა როგორც სუსპენზიის სახით შენახვისას (სხვადასხვა ტემპერატურულ პირობებში), ასევე მშრალ მდგომარეობაშიც. შედეგებიდან ჩანს, რომ მკ-ის საშუალო ზომები 2 თვის განმავლობაში პრაქტიკულად არ იცვლება და იგივე რიგისაა, რაც დამზადებისთანავე მიღებული შედეგები.

ცხრილი 32. 10°C-ზე შენახული 8L6 მკხვილი მკ-ის სტაბილურობა.

გაზომვა	საშუალო დიამეტრი (მკმ)±SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ)±SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ)±SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
დამზადებისთანავე	67,34±0,290	22,10±0,114	150,08±1,435	1,8	ფართო
ერთი კვირის შემდეგ	70,99±0,383	23,40±0,086	162,04±1,130	1,9	ფართო
ორი კვირის შემდეგ	71,74±0,430	22,39±0,125	165,52±1,615	2,0	ფართო
სამი კვირის შემდეგ	72,98±0,494	23,47±0,099	167,93±1,950	1,9	ფართო
ოთხი კვირის შემდეგ	72,05±0,761	22,74±0,093	168,87±2,203	2,0	ფართო
ექვსი კვირის შემდეგ	72,03±0,459	24,47±0,112	171,37±3,141	2,0	ფართო
რვა კვირის შემდეგ	71,49±0,469	22,39±0,156	170,17±4,151	2,0	ფართო

რაც შეეხება ნაწილაკების ზომების განაწილებას, მიღებული მკ-ის R-კოეფიციენტის მნიშვნელობა, როგორც დამზადებისთანავე, ასევე შემდგომი გაზომვების შემთხვევაში, მეტია 1,5-ზე ($R > 1,5$), რაც მეტყველებს ზომების ფართო განაწილებაზე. ვინაიდან იგივე პირობებში დიდი ზომის მკ-ის მიღებისას ადგილი ჰქონდა ნაწილაკების

ზომების ვიწრო განაწილებას (იხ. ზემოთ აღწერილი პუნქტები), ჩვენ შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ნაწილაკების ზომების ფართო განაწილება ამ ცდებში დაკავშირებულია მასშტაბურ გადასვლასთან.

ცხრილი 33. -18°C-ზე შენახული 8L6 მკხვილი მკ-ის სტაბილურობა.

გაზომვა	საშუალო დიამეტრი (მკმ) $\pm$ SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ) $\pm$ SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ) $\pm$ SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
დამზადებისთანავე	67,34 $\pm$ 0,290	22,10 $\pm$ 0,114	150,08 $\pm$ 1,435	1,8	ფართო
ერთი კვირის შემდეგ	75,78 $\pm$ 0,562	24,12 $\pm$ 0,171	176,93 $\pm$ 4,158	2,0	ფართო
ორი კვირის შემდეგ	72,86 $\pm$ 0,494	23,96 $\pm$ 0,244	164,47 $\pm$ 2,204	1,9	ფართო
სამი კვირის შემდეგ	77,79 $\pm$ 0,443	23,97 $\pm$ 0,233	169,33 $\pm$ 3,144	1,9	ფართო
ოთხი კვირის შემდეგ	71,84 $\pm$ 0,348	23,73 $\pm$ 0,198	154,54 $\pm$ 2,180	1,8	ფართო
ექვსი კვირის შემდეგ	72,91 $\pm$ 0,563	24,07 $\pm$ 0,183	163,65 $\pm$ 3,514	1,9	ფართო
რვა კვირის შემდეგ	76,06 $\pm$ 0,445	24,37 $\pm$ 0,183	169,13 $\pm$ 0,134	1,9	ფართო

ცხრილი 34. 10°C-ზე შენახული ლიოფილურად გამრობილი 8L6 მკხვილი მკ-ის სტაბილურობა.

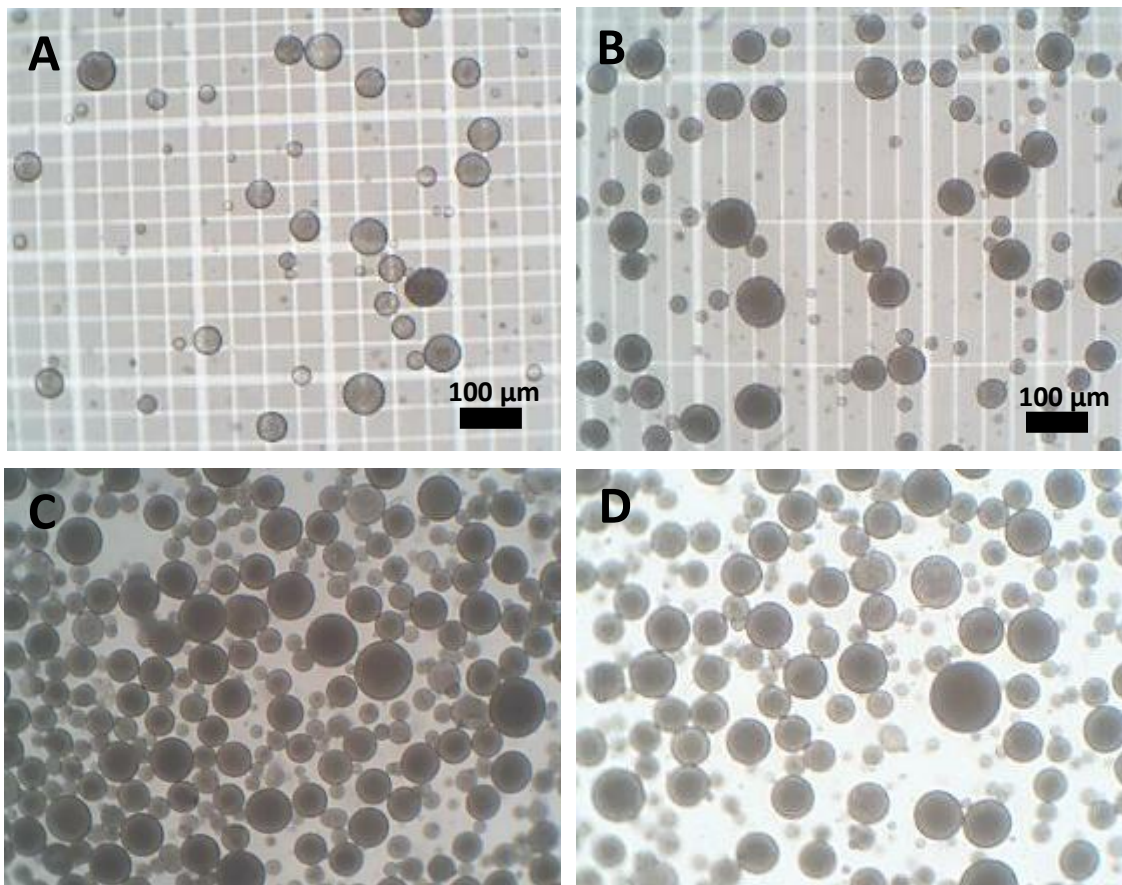
გაზომვა		საშუალო დიამეტრი (მკმ)±SD	დიამეტრის ქვედა ზღვარი (მკმ)±SD	დიამეტრის ზედა ზღვარი (მკმ)±SD	R	ნაწილაკების ზომების განაწილება
დამზადების- თანავე	ლიოფილი- ზაციამდე	67,34±0,290	22,10±0,114	150,08±1,435	1,8	ფართო
	ლიოფილიზა- ციის შემდეგ	72,59±0,924	24,10±0,016	170,16±1,464	2,0	ფართო
ერთი კვირის შემდეგ		74,39±0,502	22,81±0,125	178,27±4,092	2,0	ფართო
ორი კვირის შემდეგ		76,18±0,423	24,60±0,234	187,30±3,193	2,1	ფართო
სამი კვირის შემდეგ		69,92±0,314	22,96±0,315	171,52±3,290	2,1	ფართო
ოთხი კვირის შემდეგ		73,11±0,411	21,62±0,235	178,92±3,193	2,1	ფართო
ექვსი კვირის შემდეგ		70,38±0,316	24,42±0,195	170,47±3,345	2,0	ფართო
რვა კვირის შემდეგ		61,67±0,416	28,34±0,186	142,38±4,167	1,8	ფართო

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, მიკროსუსპენზია 200 მლ მოცულობით იყო მიღებული (დანარჩენ ექსპერიმენტებში 10 მლ მოცულობით ხდებოდა სუსპენზიების მიღება), რათა შემდეგ დაგვეყო სამ ნაწილად და შეგვესწავლა სხვადასხვა პირობებში მათი

მდგრადობა შენახვისას. აღსანიშნავია ისიც, რომ დიდი მოცულობით სუსპენზიის მიღება განპირობებული იყო თვით ზომების განმსაზღვრელი ანალიზატორის თავისებურებებით: ერთ გაზომვაზე იხარჯება დაახლოებით 10 მლ მიკროსუსპენზია, რომელიც იხმევა აპარატის სპეციალურ განყოფილებაში არსებულ 0,5 ლ დისტილირებულ წყალში, და, შესაბამისად, ნიმუშის ხელმეორედ გაზომვა შეუძლებელია. ამის გათვალისწინებით, ვინაიდან მიზნად გვქონდა დასახული 2 თვიანი სტაბილურობის შესწავლა (გარკვეული პერიოდულობით გაზომვის საშუალებით), მოგვიწია მიკროსუსპენზიის დიდი რაოდენობით მიღება.

4.17. მიკროკაფსულების მორფოლოგია

კვლევის ფარგლებში ჩატარებულია დიდი ზომის მკ-ის მორფოლოგიური კვლევა ოპტიკური მიკროსკოპის გამოყენებით 200 X გადიდებაზე. მკ-ის მიკროფოტოგრაფიები წარმოდგენილია სურათ 5-ზე.



სურათი 5. დიდი ზომის მკ-ის მიკროფოტოგრაფიები (გადიდება X 200); A, B - გორიანის ბადეზე; C, D - სასაგნე მინაზე; მკ-ის საშუალო დიამეტრი (საიზერით დადგენილი) – 66 მკმ.

როგორც მიკროფოტოგრაფიებიდან ჩანს, მიღებული დიდი ზომის მკ სფერული ფორმისაა. საიზერის მონაცემების თანახმად მორფოლოგიური კვლევებისთვის გამოყენებული მკ-ის საშუალო დიამეტრი შეადგენდა 66,28 მკმ, დიამეტრის ქვედა ზღვარი – 31,56 მკმ, ხოლო დიამეტრის ზედა ზღვარი – 105,53 მკმ. ხელსაწყოს მონაცემები კარგ თანხვედრაშია გორიაევის ბადეზე (სურ. 5, A, B) ოპტიკური მიკროსკოპის საშუალებით დადგენილ მიახლოებით ზომებთან: მკ-ის უმრავლესობისთვის დიამეტრი მერყეობს 50-60 მკმ-ის ფარგლებში, მკ-ის ნაწილისთვის დიამეტრი მერყეობს 20-30 მკმ-ის ფარგლებში, დანარჩენი ნაწილისთვის კი – 80-100 მკმ-ის ფარგლებში.

4.18. სუსპენზიის მოცულობის ერთეულში მიკროკაფსულების რაოდენობისა და თავისუფალი მოცულობის გაანგარიშება შიდა დიამეტრსა და კედლის სისქეზე დამოკიდებულებით

წამლის კონტროლირებადი მიწოდების ერთ-ერთი მოხერხებული და პერსპექტიული ხერხია წამლების (პრეპარატების) ჩართვა პოლიმერების საფუძველზე მიღებულ მკ-ებში (წამლების გადამტან მიკროკონტეინერებში). წამლით დატვირთული მიკროკონტეინერებს მიიღებენ და გამოიყენებენ თხევად ფაზაში (ძირითადად წყალში) სუსპენზიების სახით. მიღების პროცესში ხდება წყლის ფაზის ჩართვა მიკროკონტეინერში მასში გახსნილ პრეპარატთან ერთად. მიკროკონტეინერების ჯამური ტევადობა დამოკიდებული უნდა იყოს მათ რიცხვსა და ცალკეული მიკროსფეროს ინტერიერის მოცულობაზე, რომლებიც თავის მხრივ დამოკიდებული უნდა იყოს სუსპენზიის მოცულობის ერთეულში მიკროკონტეინერების დასამზადებლად გამოყენებული პოლიმერის მასაზე, მიკროსფეროს შიდა დიამეტრსა და კედლის სისქეზე. ჩვენი კვლევის მიზანია მიკროკონტეინერების ტევადობის გაანგარიშება სუსპენზიის მოცულობის ერთეულში აღნიშნულ პარამეტრებზე დამოკიდებულებით. მკ-ის თეორიული გაანგარიშებისთვის გაკეთდა შემდეგი დაშვებები:

- მკ-ის სუსპენზია მონოდისპერსიულია;
- მკ-ის კედლების სისქე შეადგენს მისი შიდა დიამეტრის (D_{inn}) 5% ან 10% (გათვლები გაკეთდა ცალ-ცალკე ამ ცვლადი პარამეტრებისათვის).

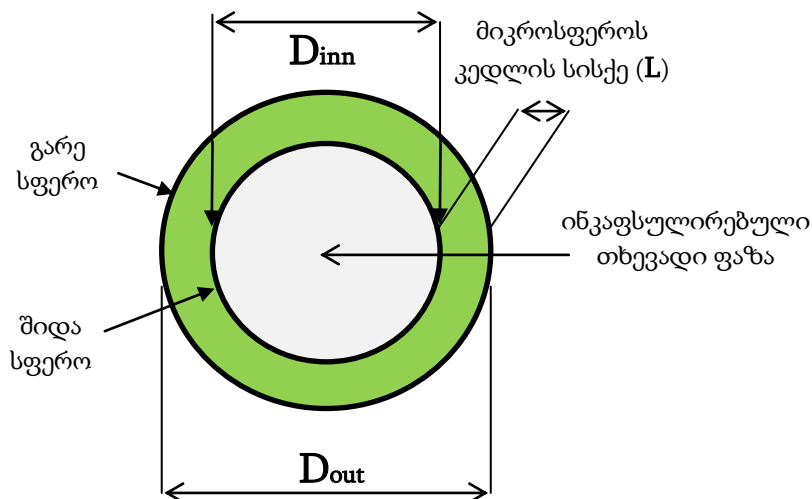
გაანგარიშება გაკეთდა 1 მლ სუსპენზიაზე. ამ გაანგარიშების ძირითად მიზანს წარმოადგენდა შეგვეფასებინა:

1) მკ-ის რაოდენობა 1 მლ სუსპენზიაში (N_{ms} , ცალი/მლ-ში) სხვადასხვა შიდა დიამეტრისა (D_{inn}) და კედლის სხვადასხვა სისქისას (L) სუსპენზიაში პოლიმერის გარკვეული (Q_{ms} , მგ/მლ) მასისას;

2) თითოეულ მკ-ში ინკაფსულირებული თხიერი ფაზის წილი ($PP\%$ -ში) საერთო რაოდენობიდან მკ-ის სხვადასხვა პარამეტრებისას.

სასურველი პარამეტრები გამოვთვალეთ როგორც სხვადასხვა გეომეტრიული მახასიათებლების ფუნქცია. მკ-ის ძირითად მახასიათებლებად შევარჩიეთ მისი შიდა დიამეტრის (D_{inn}) და კედლის სისქე (L). გათვლებისათვის საჭირო მკ-ის გარე დიამეტრი ტოლია: $D_{out} = D_{inn} + 2L$

მკ სქემატურად გამოსახულია ნახაზ 13-ზე. ჩვენი გაანგარიშების მთავარი მიზანია სუსპენზიის მოცულობის ერთეულში (1,0 მლ) პოლიმერის მოცემული მასისას (რაც წარმოადგენს მკ-ის ჯამურ მასას - Q_{ms}) ფორმირებული მკ-ის რაოდენობის (N_{ms}), ასევე მკ-ში (ყველა ანუ N_{ms} მიკროსფეროში, რასაც 1,0 მლ სუსპენზია შეიცავს) საწყისი თხევადი ფაზის ინკაფსულირებული წილის ($Vep\%$), შეფასება.



ნახაზი 13. მკ-ის სქემატური გამოსახულება.

ერთი მკ-ს მასა გამოითვლება:

$$\Delta m = m_{out} - m_{inn}$$

სადაც: m_{out} არის გარე სფეროს მასა, m_{inn} არის შიდა სფეროს მასა.

გარე და შიდა სფეროს მოცულობები და, შესაბამისად, მათი მასები გამოითვლება შემდეგი განტოლებებით:

$$m_{out} = V_{out} \times \rho$$

$$m_{inn} = V_{inn} \times \rho$$

სადაც:

$$V_{out} = \frac{4}{3} \pi (R_{out})^3 \quad V_{inn} = \frac{4}{3} \pi (R_{inn})^3$$

სადაც: V_{out} და V_{inn} წარმოადგენს გარე და შიდა სფეროების მოცულობებს (სმ³-ში), შესაბამისად; ρ არის მიკრო სფეროების მოსამზადებლად გამოყენებული პოლიმერის სიმკვრივე.

სინთეზური პოლიმერების უმრავლესობისთვის ρ ახლოა 1,0 გ/სმ³-თან. ამგვარად, თუ მივიღებთ, რომ $\rho = 1$, გარე და შიდა სფეროების მასა მათი მოცულობის ტოლია, ანუ:

$$m_{out} = V_{out} \times \rho = \frac{4}{3} \pi (R_{out})^3 \quad m_{inn} = V_{inn} \times \rho = \frac{4}{3} \pi (R_{inn})^3$$

მკ-ს მასა (Δm) გარე და შიდა სფეროების მასების (მათემატიკურად, როცა $\rho = 1$ გ/სმ³, მათი მოცულობების სხვაობის) ტოლია:

$$\Delta m = \frac{4}{3} \pi [(R_{out})^3 - (R_{inn})^3]$$

სადაც: R_{out} არის გარე სფეროს რადიუსი და ტოლია $D_{out}/2$,

R_{inn} არის შიდა სფეროს რადიუსი და ტოლია: $D_{inn}/2$

1,0 მლ სუსპენზიაში მკ-ის რაოდენობა გამოიანგარიშება 1,0 მლ სუსპენზიაში პოლიმერის მასის (Q_{MS} მგ/მლ) ერთი მკ-ს მასაზე (Δm -ზე) გაყოფით:

$$N_{MS} = Q_{MS} / \Delta m = Q_{MS} / \frac{4}{3} \pi [(R_{out})^3 - (R_{inn})^3]$$

სადაც: Q_{MS} წარმოადგენს პოლიმერის მასას (გრამებში) 1,0 მლ სუსპენზიაში. გათვალისწინებით იმისა, რომ

$$R_{out} = R_{inn} + L, \quad \text{და} \quad L = kD_{inn} = k2R_{inn}$$

ვიღებთ:

$$R_{out} = R_{inn} + L = R_{inn} + 2k R_{inn} = (1+2k) R_{inn}$$

სადაც: k არის შიდა დიამეტრის D_{inn} წილი, ჩვენს შემთხვევაში $k = 0,05$ (ანუ შიდა დიამეტრის 5%) და $k = 0,1$ (ანუ შიდა დიამეტრის 10%),

მარტივი გარდაქმნების შედეგად ვიღებთ:

$$N_{MS} = Q_{MS} / \frac{4}{3} \pi (R_{inn})^3 [(1+2k)^3 - 1]$$

ანუ შიდა დიამეტრით გამოსახული:

$$N_{MS} = Q_{MS} / \frac{4}{3} \pi (D_{inn}/2)^3 [(1+2k)^3 - 1] \quad (1)$$

მკ-ს მთლიანი/საერთო შიდა მოცულობა (ΣV_{inn}), გამოანგარიშებული, როგორც $V_{inn} \times N_{MS}$, განსაზღვრავს 1,0 მლ სუსპენზიაში ინკაფსულირებული თხევადი ფაზის (ზოგადად სითხის) მოცულობას (V_{EP}), რომელსაც შეიცავს მკ-ის ჯამური (N_{MS}) რაოდენობა (სხვა სიტყვებით, თხევადი ფაზის რა მოცულობაა ინკაფსულირებული მკ-ებში, რომელსაც შეიცავს 1,0 მლ სუსპენზია):

$$\begin{aligned} \Sigma V_{inn} &= V_{inn} \times N_{MS} = \frac{4}{3} \pi (R_{inn})^3 \times Q_{MS} / \frac{4}{3} \pi [(R_{out})^3 - (R_{inn})^3] = \\ &= (R_{inn})^3 Q_{MS} / (R_{out})^3 - (R_{inn})^3 \end{aligned}$$

ვინაიდან $\Sigma V_{inn} = V_{EP}$, 1,0 მლ სუსპენზიაში ინკაფსულირებული თხევადი ფაზის მოცულობა გამოითვლება:

$$V_{EP} = (R_{inn})^3 Q_{MS} / (R_{out})^3 - (R_{inn})^3 \text{ mL}$$

სადაც: V_{inn} არის ერთი მკ-ს შიდა მოცულობა; N_{MS} არის მკ-ის რაოდენობა 1,0 მლ სუსპენზიაში; V_{EP} არის ყველა მკ-ში ინკაფსულირებული თხევადი ფაზის მთლიანი მოცულობა (ანუ ინკაფსულირებული წილი); R_{out} არის გარე სფეროს რადიუსი; R_{inn} არის შიდა სფეროს რადიუსი.

1,0 მლ სუსპენზიაში (რომელიც შეიცავს მკ-ის N_{MS} რაოდენობას) ინკაფსულირებული თხევადი ფაზის წილი პროცენტში ($V_{EP}\%$) ტოლია:

$$V_{EP}\% = (V_{EP} / 1) \cdot 100 = [(R_{inn})^3 Q_{MS} / (R_{out})^3 - (R_{inn})^3] \cdot 100 \%$$

თუ გავითვალისწინებთ, რომ

$$R_{out} = (1+2k) R_{inn}$$

და ჩავსვამთ ზედა განტოლებაში, მარტივი გარდაქმნის შემდეგ მივიღებთ:

$$V_{EP\%} = Q_{MS} / (1+2k)^3 - 1 \quad (2)$$

ანუ, ფორმულა (2)-ის შესაბამისად, 1,0 მლ სუსპენზიაში მოთავსებული მკ-ის შიდა მოცულობა და, შესაბამისად, იქ მოთავსებული თხევადი ფაზის წილი $V_{EP\%}$, დამოკიდებულია მხოლოდ ორ პარამეტრზე - პირდაპირპროპორციულად გამოყენებული პოლიმერის მასაზე (Q_{MS}) და უკუპროპორციულად მკ-ს კედლის სისქეზე როგორც შიდა დიამეტრის წილზე (k) რომელიც გაანგარიშებისას შეირჩევა დაშვებით (ჩვენს შემთხვევაში $k = 0,05$ (5%) ან $0,1$ (10%) და არ არის დამოკიდებული მკ-ის ზომებზე). თუ დავუშვებთ, რომ რეალურ სიტუაციაში წარმოქმნილი სხვადასხვა ზომის მკ-ის კედლის სისქის და შიდა დიამეტრის თანაფარდობა არ იცვლება, მოცულობის ერთეულში წარმოქმნილი მკ-ის ჯამური ტევადობა დამოკიდებულია მხოლოდ მათ დასამზადებლად გამოყენებული პოლიმერის მასაზე მოცულობის იგივე ერთეულზე გადაანგარიშებით. სხვა სიტყვებით, რამდენჯერაც მეტი იქნება აღებული პოლიმერის მასა, ფორმულა (2)-ის შესაბამისად, იმდენჯერ მეტი იქნება ინკაფსულირებული სითხის წილი, მაგრამ ჩვენი დაშვების პირობებში, ეს წილი არ იქნება დამოკიდებული მკ-ის ზომებზე - ანუ წარმოიქმნება მცირე (დავუშვათ, შიდა დიამეტრით 5 მკმ) თუ დიდი ზომის (დავუშვათ, შიდა დიამეტრით 100 მკმ) მკ-ში, მათში მოთავსებული სითხის ჯამური მოცულობა იქნება ერთი და იგივე. ეს აზრი კარგად დასტურდება ცხრილების მონაცემებით (ცხრილები 35-38): თუ გამოყენებული პოლიმერის მასაა 20 მგ/მლ და მკ-ს კედლის სისქეა შიდა დიამეტრის (D_{inn}) 5% ($k = 0,05$), მაშინ მკ-ს სხვადასხვა შიდა დიამეტრისას (5, 10, 20, 50 და 100 მკმ) მკ-ის სუსპენზიაში ინკაფსულირებული თხევადი ფაზის წილი ($V_{EP\%}$) უცვლელია და შეადგენს 6,04 % (ცხრილი 35); მკ-ს კედლის სისქის გაზრდისას შიდა დიამეტრის 10%-მდე ($k = 0,10$), ინკაფსულირებული თხევადი ფაზის წილი მცირდება 2,74%-მდე (ცხრილი 36). ვარირებადი შიდა დიამეტრისა და კედლის სისქისას, იგივე დამოკიდებულება რჩება პოლიმერის მასის გაზრდისას. მაგალითად, თუ პოლიმერის მასას გავზრდით 2,5-ჯერ. ანუ 50 მგ/მლ-მდე (ცხრილები 37 და 38), ინკაფსულირე-

ბული თხევადი ფაზის წილები, როგორც მოსალოდნელი იყო, გაიზრდება 2,5-ჯერ, ამასთან უფრო მაღალი იქნება მკ-ს კედლის ნაკლები სისქისას - შესაბამისად 15,1 % როცა $k = 0,05$ და 6,85 % როცა $k = 0,10$.

ცხრილი 35. თეორიული გათვლების შედეგები მკ-ისთვის, რომელთა კედლის სისქე შიდა დიამეტრის 5%-ს შეადგენს ($k = 0,05$), ხოლო მკ-ის კონცენტრაცია (ანუ გამოყენებული პოლიმერის მასა) $Q_{MS} = 20$ მგ/მლ.

მკ-ს შიგა დიამეტრი, მკმ	მკ-ს კედლის სისქე, მკმ	1 მლ სუსპენზიაში მკ-ის რაოდენობა	1 მლ სუსპენზიაში ინკაფსულირებული თხევადი ფაზის წილი, $V_{EF}\%$
5,0	0,25	$9,2 \times 10^8$	6,04
10,0	0,5	$1,2 \times 10^8$	6,04
20,0	1,0	$1,5 \times 10^7$	6,04
50,0	2,5	$8,8 \times 10^5$	6,04
100,0	5,0	$1,16 \times 10^5$	6,04

ცხრილი 36. თეორიული გათვლების შედეგები მკ-ისთვის, რომელთა კედლის სისქე შიდა დიამეტრის 10%-ს შეადგენს ($k = 0,10$), ხოლო მკ-ის კონცენტრაცია (ანუ გამოყენებული პოლიმერის მასა) $Q_{MS} = 20$ მგ/მლ.

მკ-ს შიგა დიამეტრი, მკმ	მკ-ს კედლის სისქე, მკმ	1 მლ სუსპენზიაში მკ-ის რაოდენობა	1 მლ სუსპენზიაში ინკაფსულირებული თხევადი ფაზის წილი, $V_{EF}\%$
5,0	0,5	$4,0 \times 10^8$	2,72
10,0	1,0	$5,2 \times 10^7$	2,72
20,0	2,0	$6,0 \times 10^6$	2,74
50,0	5,0	$4,0 \times 10^5$	2,74
100,0	10,0	$5,2 \times 10^4$	2,74

ცხრილი 37. თეორიული გათვლების შედეგები მკ-ისთვის, რომელთა კედლის სისქე შიდა დიამეტრის 5%-ს შეადგენს ($k = 0,05$), ხოლო მკ-ის კონცენტრაცია (ანუ გამოყენებული პოლიმერის მასა) $Q_{MS} = 50$ მგ/მლ.

მკ-ს შიგა დიამეტრი, მკმ	მკ-ს კედლის სისქე, მკმ	1 მლ სუსპენზიაში მკ-ის რაოდენობა	1 მლ სუსპენზიაში ინკაფსულირებული თხევადი ფაზის წილი, $V_{EF}\%$
5,0	0,25	$2,3 \times 10^9$	15,1
10,0	0,5	$2,9 \times 10^8$	15,1
20,0	1,0	$3,8 \times 10^7$	15,1
50,0	2,5	$2,2 \times 10^6$	15,1
100,0	5,0	$2,9 \times 10^5$	15,1

ცხრილი 38. თეორიული გათვლების შედეგები მკ-ისთვის, რომელთა კედლის სისქე შიდა დიამეტრის 10%-ს შეადგენს ($k = 0,10$), ხოლო მკ-ის კონცენტრაცია (ანუ გამოყენებული პოლიმერის მასა) $Q_{Ms} = 50$ მგ/მლ.

მკ-ს შიგა დიამეტრი, მკმ	მკ-ს კედლის სისქე, მკმ	1 მლ სუსპენზიაში მკ-ის რაოდენობა	1 მლ სუსპენზიაში ინკაფსულირებული თხევადი ფაზის წილი, $V_{EF}\%$
5,0	0,5	$1,0 \times 10^9$	6,86
10,0	1,0	$1,3 \times 10^8$	6,86
20,0	2,0	$1,5 \times 10^7$	6,86
50,0	5,0	$1,0 \times 10^6$	6,86
100,0	10,0	$1,3 \times 10^5$	6,86

რაც შეეხება მკ-ის რიცხვს (N_{Ms}) 1,0 მლ მიკროსუსპენზიაში, როგორც გამომდინარეობს ფორმულა (1)-იდან, იგი მცირდება მკ-ის ზომის (შიდა დიამეტრის D_{inn}) და კედლის სისქის (კოეფიციენტ k -ს) ზრდით. მაგალითად, თუ $Q_{Ms} = 20$ მგ/მლ და $k = 0,05$, მაშინ 1,0 მლ მიკროსუსპენზიაში მიიღება $9,2 \times 10^8$ ცალი 5 მკმ შიდა დიამეტრის მქონე მიკროსფერო; თუ მკ-ის დიამეტრი გაიზრდება, მაგალითად, 100 მკმ-მდე, მაშინ 1,0 მლ სუსპენზიაში მკ-ის რიცხვი შემცირდება $1,1 \times 10^5$ -მდე (ცხრილი 35). ამ დროს მკ-ის ჯამური ტევადობა, როგორც უკვე ვთქვით, არ იცვლება (ამ პარამეტრებისათვის $V_{EF}\% = 6,04$ %, ცხრილი 35); ხოლო თუ $Q_{Ms} = 20$ მგ/მლ და $k = 0,10$, 1 მლ სუსპენზიაში მიიღება $4,2 \times 10^8$ ცალი 5 მკმ შიდა დიამეტრის მქონე მკ და $5,2 \times 10^4$ ცალი 100 მკმ შიდა დიამეტრის მქონე მკ (ცხრილი 36). მკ-ის ჯამური ტევადობა ამ შემთხვევაში მცირდება 2,74 %-მდე. პოლიმერის მასის გაზრდა $Q_{Ms} = 50$ მგ/მლ-მდე (ანუ 2,5-ჯერ) ასევე ზრდის ნებისმიერი ზომის მკ-ის რაოდენობას 2,5-ჯერ; ამდენჯერვე იზრდება მკ-ის ჯამური ტევადობა.

დაბოლოს, თეორიული გათვლებით დადგინდა, რომ მკ-ის საერთო ჯამური ტევადობა მიკროსუსპენზიის მოცულობის ერთეულში და შესაბამისად, მასში ინკაფსულირებული თხიერი პრეპარატის წილი, მკ-ის კედლის მოცემული სისქისა და პოლიმერის მოცემული მასის პირობებში არ არის დამოკიდებული მკ-ის შიდა დიამეტრზე. გამოყენებული პოლიმერის მუდმივი მასისას მკ-ის რაოდენობა სუსპენზიის ერთეულში (1 მლ) იზრდება მათი შიდა დიამეტრის და კედლის სისქის შემცირებისას.

5. დასკვნები

1. მიღებულია **AABBP**-ის ნანონაწილაკები ე. წ. პოლიმერის გამოლექვის/გამხსნელის გამოდევნის (ნანოპრეციპიტაციის) მეთოდის გამოყენებით და შესწავლილია მიღების პროცესში სხვადასხვა ფაქტორების, მათ შორის სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების, გავლენა ნანონაწილაკების ფორმირებაზე (მათ ძირითად პარამეტრებზე - საშუალო დიამეტრსა და პოლიდისპერსიულობაზე) და დადგენილია ნანონაწილაკების მიღების ოპტიმალური პირობები. ნაჩვენებია, რომ ნანონაწილაკების მიღების პროცესში სხვადასხვა ფაქტორებისა და ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების ცვლილებით შესაძლოა ნაწილაკების ძირითადი მახასიათებლების (საშუალო დიამეტრი, ძეტა-პოტენციალი, პოლიდისპერსიულობა) კონტროლირებადი ვარირება ფართო ზღვრებში.
2. კვლევების საფუძველზე შერჩეულია სამედიცინო დანიშნულების ნანო- და მიკრონაწილაკების კონსტრუირებისათვის ოპტიმალური **AABBP** - პოლიესტერამიდი **8L6**, რომელიც მიღებულია ამინომჟავა L-ლეიცინის, სებაცინის მჟავასა და 1,6-ჰექსანდიოლის საფუძველზე. ნაჩვენებია, რომ აღნიშნული პოლიმერი წარმოქმნის ოპტიმალური პარამეტრების მქონე სტაბილურ და ბიოშეთავსებად ნანო- და მიკრონაწილაკებს.
3. მიღებულია **8L6** პოლიესტერამიდის (კვლევების საფუძველზე შერჩეული ოპტიმალური **AABBP**) მიკრონაწილაკები, კერძოდ კი მიკროკაფსულები, ე. წ. წყალი/ცხიმი/წყალი ორმაგი ემულსიის-გამხსნელის აორთქლების მეთოდით და შესწავლილია მიკრონაწილაკების ფორმირების პროცესში სხვადასხვა ფაქტორების, მათ შორის სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების, გავლენა მიკრონაწილაკების ძირითად პარამეტრებზე - საშუალო დიამეტრსა და პოლიდისპერსიულობაზე, და დადგენილია მიკრონაწილაკების მიღების ოპტიმალური პირობები. ნაჩვენებია, რომ მიკროკაფსულების ფორმირების პროცესში სხვადასხვა ფაქტორებისა და ფიზიკურ-ქიმიური პარამეტრების ცვლილებით შესაძლოა მიკროკაფსულების საშუალო დიამეტრის კონტროლირებადი ვარირება ფართო ზღვრებში.
4. დადგენილია მიღებული ნანო- და მიკრონაწილაკების ძირითადი პარამეტრები: საშუალო დიამეტრი, პოლიდისპერსიულობა, ძეტა-პოტენციალი (ნანონა-

- წილაკებისთვის) და საშუალო დიამეტრი, დიამეტრის ქვედა ზღვარი, დიამეტრის ზედა ზღვარი, პოლიდისპერსიულობა (მიკრონაწილაკებისთვის) კვლევის შესაბამისი ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდების გამოყენებით;
5. ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპისა და ოპტიკური მიკროსკოპის გამოყენებით შესწავლილია ნანო- და მიკრონაწილაკების მორფოლოგია;
 6. შესწავლილია მიღებული ნანო- და მიკრონაწილაკების სტაბილურობა სხვადასხვა პირობებში შენახვისას და დადგენილია მათი შენახვის ოპტიმალური პირობები; ნაჩვენებია, რომ მიღებული ნაწილაკების (სუსპენზიების სახით) შენახვა მიზანშეწონილია დაბალ ტემპერატურაზე (4-5° C).
 7. **8L6** პოლიესტერამიდის საფუძველზე მიღებულია ლიოფილურად მშრალი (ლიოფილიზირებული) მიკროკაფსულები. ნაჩვენებია, რომ ლიოფილიზირებულ მიკროკაფსულებს გააჩნიათ წყალში რესუსპენდირების უნარი და ახასიათებთ სასურველი სტაბილურობა დაბალ ტემპერატურაზე შენახვისას.
 8. შესწავლილია **AABBP**-ს ნანონაწილაკების in vitro ბიომეთავსებადობა სტაბილურ უჯრედულ ხაზებზე (HeLa, A549, RAW264.7 და Hepa 1-6 ხაზები) და **8L6** პოლიესტერამიდის ნანონაწილაკების ბიოლოგიურ ბარიერებში (მოდელოვანი ქსოვილში - Hepa 1-6 უჯრედების სფეროიდში) შეღწევადობა. ნაჩვენებია, რომ **AABBP**-ს ნანონაწილაკებს ახასიათებთ მაღალი მეთავსებადობა აღნიშნულ უჯრედულ ხაზებთან.
 9. მიღებულია PEG-ილირებული და დადებითად დამუხტული **8L6** პოლიესტერამიდის და **8L6/8R6** პოლიესტერამიდების ნარევის ნანონაწილაკები. PEG-ილირება განხორციელებულია ჩვენ მიერ შემუშავებული PEG-ილირების ახალი აგენტის – ბიოდეგრადირებადი PEG-ილირებული თანა-პოლიესტერამიდის (მიღებულია **8L6**-სა და ეპოქსი-ჯგუფების შემცველი პოლიესტერამიდის **ES-L6**-ის საფუძველზე) გამოყენებით. ნაჩვენებია, რომ PEG-ილირების ახალ აგენტს გააჩნია ზან-ის თვისებები – სტანდარტული ზან-ების მსგავსად წარმოქმნის მიცელებს და ასტაბილიზირებს ნანონაწილაკებს.
 10. **AABBP**-ს საფუძველზე მიღებული ბიოდეგრადირებადი ნანო- და მიკრონაწილაკები პერსპექტიულია ბიომედიცინაში გამოყენებისათვის წამლის გადამტანი ნანო- და მიკროკონტეინერების სახით.

ბიბლიოგრაფია

- კობაური, სოფიო. ახალი, ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერამიდები და პოლი(ამიდ-ესტერამიდები) ბის-აზლაქტონების საფუძველზე. სადოქტორო დისერტაცია, საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი, 2011.
- სიღამონიძე, შ. *ნანოქიმია*. თბილისი: საქართველოს საპატრიარქოს წმინდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტი, 2014.
- ქაცარავა, რ., დ. ხარაძე, გ. ჯოხაძე და ნ. ნეფარიძე. *ფუნქციური პოლიმერები და მათი გამოყენება სამეცნიერო კვლევებში, ტექნოლოგიებსა და ბიომედიცინაში*. თბილისი: ტექნიკური უნივერსიტეტი, 2009.
- ქებაძე, ნ. და რ. ქაცარავა. *სამედიცინო დანიშნულების დისპერსიული სისტემები ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერამიდების საფუძველზე*. თბილისი: ტექნიკური უნივერსიტეტი, 2013.
- ჭუმბურიძე, ბ. *ფარმაცევტული ქიმია*. თბილისი: განათლება, 1992.
- Кедик С. А., М. Д. Сапельников, А. В. Панов, В. В. Суслов, и Е. С. Жаворонок. 2014. Полусение полимерных микрочастиц с биологически активными веществами методом распылительной сушки (обзор литературы). *Вестник ВГУ, Серия: Химия, Биология, Фармация* 2:28-32.
- Лыков, М.В., и Б. И. Леончик. *Распылительные сушилки*. Москва: Машиностроение, 1966.
- Харкевич, Д. А. *Фармакология*. Москва: Медицина, 1999.
- Aggarwal, P., J. B. Hall, C. B. McLeland, M. A. Dobrovolskaia, and S. E. McNeil. 2009. Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy. *Advanced Drug Delivery Reviews* 61 (April): 428-37.
- Al Khouri N., L. Roblot-Treupel, H. Fessi, J. P. Devissaguet, and F. Puisieux. 1986. Development of a new process for the manufacture of polyisobutylcyanoacrylate nanocapsules. *International Journal of Pharmaceutics* 28:125-32.
- Allémann, E., R. Gurny and E. Doekler. 1993. Drug-loaded nanoparticles – preparation methods and drug targeting issues. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 39, No. 5:173-91.
- Alléman, E., J. C. Leroux, and R. Gurny. 1998. Polymeric nano-microparticles for the oral delivery of peptides and peptidomimetics. *Advanced Drug Delivery Reviews* 34:171-89.
- Ammoury, N., H. Fessi, J-P. Devissaguet, M. Dubrasquet, and S. Benita. 1991. Jejunal absorption, pharmacological activity and pharmacokinetic evaluation of indomethacin-loaded poly(D,L-Lactide) and poly(isobutylcyanoacrylate) nanocapsules in rats. *Pharmaceutical Research* 8:101-05.

- Andres-Guerrero, V., M. Zong, E. Ramsay, B. Rojas, S. Sarkhel, B. Gallego, R. Hoz, A. I. Ramiresz, J. J. Salazar, A. Trivino, J. M. Ramirez, E. M. Amo, N. Cameron, B. de-las Heras, A. Urtti, G. Mihov, A. Dias, and R. Herrero-Vanrell. 2015. Novel biodegradable polyesteramide microspheres for controlled drug delivery in Ophthalmology. *Journal of Controlled Release* 211 (May): 105-17.
- Aprahamian, M., C. Michel, W. Humbert, J. P. Devissaguet, and C. Damgé. 1987. Transmucosal passage of polyalcylycyanoacrylate nanocapsules as a new drug carrier in the small intestine. *Biology of the Cell* 61:69-76.
- Bader, H., H. Ringsdorf, and B. Schmit. 1984. Watersoluble polymers in medicine. *Makromolecular Materials and Engineering* 123, No. 1 (August): 457-85.
- Barenholz, Y., D. Gibbes, B. J. Litman, J. Goll, T. E. Thompson, and F. D. Carlson. 1977. A simple method for the preparation of homogeneous phospholipid vesicles. *Biochemistry* 16, No. 12 (June): 2806-10.
- Barichello, J. M., M. Maroshita, K. Takayama, and T. Nagai. 1999. Encapsulation of hydrophilic and lipophilic drugs in PLGA nanoparticles by the nanoprecipitation method. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 25, No. 4 (April): 471-76.
- Bisht, R., A. Mandal, J. K. Jaisval, and I. D. Rupenthal. 2017. Nanocarrier mediated retinal drug delivery: overcoming ocular barriers to treat posterior eye diseases. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology* e1473. doi: 10.1002/wnan.1473.
- Bochot, A, E. Fattal, V. Boutet, J. R. Deverre, J. C. Jeanny, H. Chacun, and P. Couvreur. 2002. Intravitreal delivery of oligonucleotides by sterically stabilized liposomes. *Investigative Ophthalmology& Visual Science* 43 (January): 253-59.
- Bodmeier, R., and J. W. McGinity. 1987. Polylactic acid microspheres containing quinidine base and quinidine sulphate prepared by the solvent evaporation technique. 1. Methods and morphology. *Journal of microencapsulation* 4, No. 4:279-88.
- , 1987. Polylactic acid microspheres containing quinidine base and quinidine sulphate prepared by the solvent evaporation technique. 2. Some process parametes influencing the preparation and properties of microspheres. *Journal of Microencapsulation* 4, No. 4:289-97.
- , 1998. Solvent selection in the preparation of poly(D,L-lactide) microspheres prepared by the solvent evaporation method. *International Journal of Pharmaceutics* 43:179-86.
- , 1987. The preparation and evaluation of drug-containing poly(D,L-lactide) microspheres formed by the solvent evaporation method. *Pharmaceutical research* 4, No. 6:465-71.
- Bonelli, P., F. M. Tuccillo, A. Federico, M. Napolitano, A. Borrelli, D. Melisi, M. G. Rimoli, R. palaia, C. Arra, and F. Carinci. 2012. Ibuprofen deliverd by poly(lactice-co-glycolic acid) (PLGA) nanoarticles to human gastric cancer cells exerts antiproliferative activity at very low concentrations. *International Journal of Nanomedicine* 7 (November): 5683-91.

- Bonifácio, B. V., P. Bento da Silva, M. Aparecido dos, S. Ramos, K. Silveria Negri, T. M. Bauab and M. Chorilli. 2014. Nanotechnology-based drug delivery system and herbal medicines: a review. *International Journal of Nanomedicine* 9, No. 1:1-15.
- Bonventre, P., and G. Gregoriadis. 1978. Killing of Intraphagocytic *Staphylococcus aureus* by Dihydrostreptomycin Entrapped Within Liposomes. *Antimicrobial Agents and chemotherapy* 13, No. 6 (June): 1049-51.
- Bucolo, C., A. Maltese, F. Maugeri, B. Busa, G. Puglisi, and R. Pignatello. 2004. Eudragit RL100 nanoparticle system for the ophthalmic delivery of cloricromene. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 56, No. 7 (July): 841-46.
- Camner, P., M. Lundborg, L. Lastbom, P. Gerde, N. Gross, and C. Jarstrand. 2002. Experimental and calculated parameters on particle phagocytosis by alveolar macrophages. *Journal of Applied Physiology* 92, No. 6 (June): 2608-16.
- Campos, A. M., A. Sánchez, R. Gref, P. Calvo, and M. J. Alonso. 2003. The effect of a PEG versus a chitosan coating on the interaction of drug colloidal carriers with the ocular mucosa. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 20, No. 1 (September): 73-81.
- Calvo, P., J. L. Vila-Jato, and M. J. Alonso. 1997. Evaluation of cationic polymer-coated nanocapsules as ocular drug carriers. *International Journal of Pharmaceutics* 153, No. 1 (July): 41-50.
- Cedervall, T., I. Lynch, M. Foy, T. Berggard, S. C. Donnelly, G. Cagney, S. Linse, and K. A. Dawson. 2007. Detailed identification of plasma proteins adsorbed on copolymer nanoparticles. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)* 46, No. 30:5754-56.
- Cedervall, T., I. Lynch, S. Lindman, T. Berggard, E. Thulin, H. Nilsson, K. A. Dawson, and S. Linse. 2007. Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 104, No. 7:2050-55.
- Chai, Z., X. Zheng, and X. Sun. 2002. Preparation of polymer microspheres from solutions. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics* 41, No. 2 (January): 159-65.
- Chithrani, B. D., A. A. Ghazani, and W. C. Chan. 2006. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano Letters* 6, No. 4 (April): 662-68.
- Couvreur, P., C. Dubernet, and F. Puisieux. 1995. Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 41:2-13.
- Couvreur, P., G. Barrat, E. Fattal, P. Legrand, and C. Vauthier. 2002. Nanocapsule technology. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 19, No. 2:99-134.
- Damgé, C., C. Michel, M. Aprahamian, and P. Couvreur. 1988. New approach for oral administration of insulin with polyalicylcyanoacrylate nanocapsules as drug carrier. *Diabetes* 37, No. 2 (February): 246-51.

- Damgé, C., J. Vonderscher, P. Marbach, and M. Pinget. 1997. Poly(alcylcyanoacrylate) nanocapsules as a delivery system in the rat for octreotide, a long-acting somatostatin analogue. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 49:949-54.
- Dandagi, P., S. Kerur, V. Mastiholimath, A. Gadad, and A. Kulkarni. 2009. Polymeric ocular nanosuspension for controlled release of acyclovir: in vitro release and ocular distribution. *Iranianational Journal of Pharmaceuticsal Research* 8, No. 2:79-86.
- Davis, S. S., L. Illum, S. M. Moghimi, M. C. Davies, C. J. H. Porter, I. S. Muir, A. Brindley, N. M. Christy, and M. E. Norman, P. Williams, S. E. Dunn. 1993. Microspheres for targeting drugs to specific body sites. *Journal of Controlled Release* 24:157-63.
- Defife, K., K. Grako, G. Cruz-Aranda, S. Price, R. Chantung, K. Macpherson, R. Khoshabeh, S. Gopalan, and W.G. Turnell. 2009. Poly(ester amide) Co-polymers Promote Blood and Tissue Compatibility. *Journal of Biomaterials Science* 20, No. 11:1495-511.
- De Jong, V. H., W. I. Hagens, P. Krystek, M. C. Burger, A. J. Sips, and R. E. Geertsma. 2008. Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Biomaterials* 29, No. 12 (April): 1912-19.
- Diaz, A., R. Katsarava, and J. Puiggalí. 2014. Synthesis, properties and applications of biodegradable polymers derived from diols and dicarboxylic acids: from polyesters to poly(ester amide)s. *International Journal of Molecular Sciences* 15, No. 5: 7064-123.
- Diener, C., F. Muñoz-Gonzalez, S. Encarnación, and O. Resendis-Antonio. 2016. The space of enzyme regulation in HeLa cells can be inferred from its intracellular metabolome. *Scientific Reports* 6 (June): 28415. doi: 10.1038/srep28415.
- Dobrovolskaia, M. A., P. Aggarwal, J. B. Hall, and S. E. McNeil. 2008. Preclinical studies to understand nanoparticle interaction with the immune system and its potential effects on nanoparticle biodistribution. *Molecular Pharmaceutics* 5, No. 4 (July): 487-95.
- Dorati, R., I. Genta, C. Colonna, T. Modena. F. Pavanetto, P. Perugini, and B. Conti. 2007. Investigation of the degradation behavior of poly(ethylene glycol-co-D, L-lactide) copolymer. *Polymer degradation and stability* 92, No. 9:1660-68.
- Drozd, E., J. Krzysztoń-Russjan, J. Marczevskaet, J. Drozd, I. Bubko, M. Beilak, K. Lubelska, K. Wiktorska, Z. Chilmonczuk, E. Anuszewvska, and B. Gruber-Bruza. 2016. Up-regulation of glutathione-related genes, enzyme activities and transport proteins in human cervical cancer cells treated with doxorubicin. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 83 (July): 397-406.
- Dutta, D., S. K. Sundaram, J. G. Teegarden, B. J. Riley, L. S. Fifield, J. M. Jacobs, S. R. Addleman, G. A. Kaysen, B. M. Moudgil, and T. J. Weber. 2007. Adsorbed proteins influence the biological activity and molecular targeting of nanomaterials. *Toxicological Sciences* 100, No. 1 (November): 303-15.
- Ekman, B., and I. Sjöholm. 1978. Improved stability of proteins immobilized in microparticles prepared by modified emulsion polymerization technique. *Journal of Pharmaceutical Science* 67, No. 5 (May): 693-96.

- El-Samaligy, M. S., P. Rohdewald, and H. A. Mahmoud. 1986. Polyalkylcyanoacrylate nanocapsules. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 38, No. 3 (March): 216-18.
- Elvassore, N., A. Bertucco, and P. Caliceti. 2001. Production of insulin-loaded poly(ethylene glycol)/poly(L-Lactide) (PEG/PLA) nanoparticles by gas antisolvent techniques. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 90, No. 10 (October): 1628-36.
- Fery, A., and R. Weinkamer. 2007. Mechanical properties of micro and nanocapsules: Single-capsule measurements. *Polymer* 48, No. 25 (November): 7221-35.
- Fessi, H., F. Puisieux, J-P. Devissaguet, N. Ammoury, and S. Benita. 1989. Nanocapsule formation by interfacial deposition following solvent displacement. *International Journal of Pharmaceutics* 55, No. 1 (October): R1-R4.
- Galindo-Rodriguez, S, E. Alléman, H. Fessi, and E. Doelker. 2004. Physico-chemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification diffusion, and nanoprecipitation methods. *Pharmaceutical Research* 21, No. 8 (August): 1428-39.
- Ganachaud, F., and J. L. Kats. 2005. Nanoparticles and nanocapsules created using the ouzo effect: Spontaneous smulsification as an alternative to ultrasonic and high-shear devices. *European Journal of Chemical Physics and Physical Chemistry* 6, No. 2 (February): 209-16.
- Gessner, A., A. Lieske, B. R. Paulke, and R. H. Muller. 2003. Functional groups on polystyrene model nanoparticles: influence on protein adsorption. *Journal of Biomedical Material Research, Part A* 65, No. 3 (June): 319-26.
- , 2002. Influence of surface charge density on protein adsorption on polymeric nanoparticles: analysis by two-dimensional electrophoresis. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 54, No. 2 (September): 165-70.
- Ghaffar, A., G. J. Draaisma, G. Mihov, A. A. Dias, P.J. Schoenmakers, and Van der Wal Sj. 2011. Monitoring the in vitro Enzyme-Mediated Degradation of Degradable Poly(ester amide) for Controlled Drug Delivery by LC-ToF-MS. *Biomacromolecules* 12, No. 9:3243-51.
- Giannavola, C., C. Bucolo, A. Maltese, D. Paolino, G. Puglisi, V. H. Lee, and M. Fresta. 2003. Influence of Preparation Conditions on Acyclovir-Loaded Poly-d,l-Lactic Acid Nanospheres and Effect of PEG Coating on Ocular Drug Bioavailability. *Pharmaceutical Research* 20, No. 4 (April): 584-90.
- Gonnissen, D., Y. Qu, K. Langer, C. Öztürk, Y. Zhao, C. Chen, G. Seeböhm, M. Düfer, H. Fuchs, H. J. Galla, and K. Riehemann. 2016. Comparison of cellular effects of starch-coated SPIONs and poly(lactide-co-glycolic acid) matrix nanoparticles on human monocytes. *International Journal of Nanomedicine* 11 (October): 5221-36.
- Goppert, T. M., and R. H. Muller. 2005. Adsorption kinetics of plasma proteins on solid lipid nanoparticles for drug targeting. *International Journal of Pharmaceutics* 302, No. 1-2 (September): 172-86.

- . 2003. Plasma protein adsorption of Tween 80- and poloxamer 188-stabilized solid lipid nanoparticles. *Journal of Drug Targeting* 11:225–31.
- Goppert, T. M., and R. H. Muller. 2005. Polysorbate-stabilized solid lipid nanoparticles as colloidal carriers for intravenous targeting of drugs to the brain: comparison of plasma protein adsorption patterns. *Journal of Drug Targeting* 13, No. 3 (April): 179–87.
- Gref, R., A. Domb, P. Quellec, T. Blunk, R. H. Muller, J. M. Verbavatz, and R. Langer. 1995. The controlled intravenous delivery of drugs using peg-coated sterically stabilized nanospheres. *Advanced Drug Delivery Reviews* 16:215–33.
- Gref, R., M. Luck, P. Quellec, M. Marchand, E. Dellacherie, S. Harnisch, T. Blunk, and R.H. Muller. 2000. 'Stealth' corona-core nanoparticles surface modified by polyethylene glycol (PEG): influences of the corona (PEG chain length and surface density) and of the core composition on phagocytic uptake and plasma protein adsorption. *Colloids and Surfaces, B Biointerfaces* 18, No. 3-4 (October): 301–13.
- Gref, R., Y. Minamitake, M. T. Peracchia, V. Trubetskoy, V. Torchilin, and R. Langer. 1994. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science* 263 (March):1600–03.
- Gregoriadis, G. A . *Drug carriers in biology and medicine*. London: Academic Press, 1979.
- Gregoriadis, G., and R. A. Buckland. 1973. Enzyme-containing Liposomes alleviate a Model for Storage Disease. *Nature* 244:170-72.
- Gürsoy, A., L. Eroglu, S. Ulutin, M. Tasyürek, H. Fessi, and F. Puisieux. 1989. Evaluation of indomethacin nanocapsules for their physical stability and inhibitory activity on inflammation and platelet aggregation. *International Journal of Pharmacy* 52:101-08.
- Harmia-pulkkinen, T., A. Tuomi, and E. Kristoffersson. 1989. Manufacture of polyalkylcyanoacrylate nanoparticles with pilocarpine and timolol by micelle polymerization: factors influencing particle formation. *Journal of Microencapsulation* 6, No. 1: 87-93.
- Hruby, M., C. Konak, and K. Ulbrich. 2005. Polymeric micellar pH-sensitive drug delivery system for doxorubicin. *Journal of Controlled Release* 103, No. 1:137-48.
- Huang, C. 1969. Phosphatidylcholine vesicles. Formation and physical characteristics. *Biochemistry* 8, No. 1 (January): 344-52.
- Hubert, B., J. Atkinson, M. Guerret, M. Hoffman, J-P. Devissaguet, and P. Maincent. 1991. The preparation and acute antihypertensive effects of a nanocapsular form of daropidine, a dihydropyridine calcium entry blocker. *Pharmaceutical Research* 8:734-38.
- Illum, L., S. S. Davis, R. H. Muller, E. Mak, and P. West. 1987. The organ distribution and circulation time of intravenously injected colloidal carriers sterically stabilized with a block copolymer-poloxamine 908. *Life Sciences* 40, No. 4 (January): 367–74.
- Irache, J. M., M. Merodio, A. Arnedo, M. A. Camapanero, M. Mirshahi, and S. Espuelas. 2005. Albumin nanoparticles for the intravitreal delivery of anticytomegaloviral drugs. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 5 (March): 293–305.

- Israelachvili, J. N., D. J. Mitchell, and B. W. Ninham. 1976. Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics* 72:1525-68.
- Jalil, R., and J. R. Nixon. 1990. Biodegradable poly(lactic acid) and poly(lactide-co-glycolide) microcapsules: problems associated with preparative techniques and release properties. *Journal of Microencapsulation* 7, No. 3:297-325.
- Jani, P. D., N. Singh, C. Jenkins, S. Raghava, and Y. Mo. 2007. Nanoparticles Sustain Expression of Flt Intracaptors in the Cornea and Inhibit Injury-Induced Corneal Angiogenesis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 48 No. 5:2030-36.
- Jovanovic, I., B. Jordovic, M. Petkovic, N. Ignjatovic, and D. Uskokovic. 2007. Preparation of smallest microparticles of poly-D,L-lactide by modified precipitation method: Influence of the process parameters. *Microscopy Research and Technique* 71, No. 2 (February): 86-92.
- Jung, K. E., Ch. S. Hang, and Y. S. Hong. 2001. Polymeric microspheres composed of pH/temperature-sensitive polymer complex. *Biomaterials* 22, No. 18: 2495-99.
- Jyothi, S. S., A. Seethadevi, K. Suria, P. Rabha, P. Muthurpasanna, and P. Pavitra. 2012. Microencapsulation: a review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 3, No. 1 (January): 509-31.
- Kartvelishvili, T., G. Tsitlanadze, L. Edilashvili, N. Japaridze, and R. Katsarava. 1997. Amino acid based bioanalogous polymers. Regular poly(ester urethane)s and poly(ester urea)s based on bis(phenylalanine)- α , ω -alkylene diesters. *Macromolecular Chemistry and Physics* 198, No. 6 (June): 1921-32.
- Katsarava, R. 2003. Active Polycondensation: From Peptide Chemistry to Amino Acid Based Biodegradable Polymers. *Macromolecular Symposia* 199 (September): 419-29.
- Katsarava, R., Z. Beridze, N. Arabuli, D. Kharadze, C. C. Chu, and C. Y. Won. 1999. Amino acid-based bioanalogues polymers. Synthesis, and study of regular poly(ester amide)s based on bis(α -amino acid) α , ω -alkyne diesters, and aliphatic dicarboxylic acid. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 37:391-407.
- Katsarava, R., and Z. Gomurashvili. 2011. Biodegradable Polymers Composed of Naturally Occurring α -Amino Acids. In *Handbook of Biodegradable Polymers - Isolation, Synthesis, Characterization and Applications*, Ed. A. Lendlein and A. Sisson, 107-31. Weinheim, Germany: Wiley-VCH: Verlag GmbH & Co. KgaA.
- Katsarava, R., N. Kulikova, and J. Puiggali. 2016. Amino Acid Based Biodegradable Polymers - Promising materials for the applications in regenerative medicine. *Jacobs Journal of Regenerative Medicine* 1, No. 3:012.
- Kawashima, Y., T. Niwa, T. Handa, H. Taceuchi, T. Iwamoto, and K. Itoh. 1989. Preparation of controlled-release microspheres of ibuprofen with acrylic polymers by a novel quasi-emulsion solvent diffusion method. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 78, No. 1 (January): 68-72.

- Kiwada, H., T. Miyajima, and Y. Kato. 1987. Studies on the uptake of mechanism of liposomes by perfused rat liver. II. An indispensable factor for liver uptake in serum. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 35, No. 3 (July): 1189–95.
- Knight, D. K., E. R. Gillies, and K. Mequanint. 2011. Strategies in Functional Poly(ester amide) Syntheses to Study Human Coronary Artery Smooth Muscle Cell Interactions. *Biomacromolecules* 12:2475–87.
- Krause, H. J., A. Schwarz, and P. Rohdewald. 1986. Interfacial polymerization, an useful method for the preparation of polymethylcyanoacrylate nanoparticles. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 12, No. 10:527–52.
- Kreuter, J., D. Shamenkov, V. Petrov, P. Ramge, K. Cychutek, C. Koch-Brandt, and R. Alyautdin. 2002. Apolipoprotein-mediated transport of nanoparticle-bound drugs across the blood-brain barrier. *Journal of Drug Targeting* 10, No. 4 (June): 317–25.
- Kreuter, J. 1983. Evaluation of nanoparticles as drug-delivery system: I. Preparation methods. *Pharmaceutica Acta Helveticae* 58:196–209.
- , 1990. Large-scale production problems and manufacturing of nanoparticles. In: *editor. Specialized drug delivery system*, Ed. P. Tyle, 257–66. New York: Marcell Dekker.
- Kreuter, J., T. Hekmatara, S. Dreis, T. Vogel, S. Gelperina, and K. Langer. 2007. Covalent attachment of apolipoprotein A-I and apolipoprotein B-100 to albumin nanoparticles enables drug transport into the brain. *Journal of Controlled Release* 118:54–8.
- Kreuter, J. 1982. The mechanism of termination in heterogeneous polymerization. *Journal of Polymer Science* 20:543–45.
- Kreuter, J., and P. Speiser. 1976. New adjuvant on a polymethyl(methacrylate) base. *Infection and Immunity* 13:204–10.
- Kreuter, J., U. Täuber, and V. Illi. 1979. Distribution and elimination of poly(methyl-2-C¹⁴-metacrylate) nanoparticle radioactivity after injection in rats and mice. *Journal of Pharmaceutical Science* 68:1443–47.
- Labarre, D., C. Vauthier, C. Chauvierre, B. Petri, R. Muller, and M. M. Chehimi. 2005. Interactions of blood proteins with poly(isobutylcyanoacrylate) nanoparticles decorated with a polysaccharidic brush. *Biomaterials* 26:5075–84.
- Lakkakula, J., and R. W. Krause. 2013. Cyclodextrin-based Nanoengineered Drug Delivery System. In *Nanomedicine for Drug Delivery and Therapeutics*, Ed. A. K. Mishra, 311–36. USA: Scrivener Publishing.
- Lambert, G., E. Fattal, and P. Couvreur. 2001. Nanoparticulate system for the delivery of antisense oligonucleotides. *Advanced Drug Delivery Reviews* 47, No. 1: 99–112.
- Lambert, G., E. Fattal, H. Pinto-Alphandary, A. Gulic, and P. Couvreur. 2000. Polyisobutylcyanoacrylate nanocapsules containing an aqueous core as a novel colloidal carrier for the delivery of oligonucleotides. *Pharmaceutical Research* 17, No. 6 (June): 707–14.

- Landry, F. B., D. V. Balize, G. Spenlehauer, M. Veillard, and J. Kreuter. 1996. Influence of coating agents on the degradation of poly(d,l-lactic acid) nanoparticles in model digestive fluids (USP XXII). *STP Pharmaceutical Sciences* 6:195-202.
- Lenaerts, V., A. Labib, F. Choinard, J. Rousseau, H. Ali and J. Lier. 1995. Nanocapsules with a reduced liver uptake: targeting of phthalocyanines to EMT-6 mouse mammary tumour in vivo. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 41, No. 1:38-43.
- Leroux, C., F. De Jaeghere, B. Anner, E. Doelker, and R. Gurny. 1995. An investigation on the role of plasma and serum opsonins on the internalization of biodegradable poly (D,L-lactic acid) nanoparticles by human monocytes. *Life Sciences* 57, No. 7:695–703.
- Li, V.H., R.W. Wood, J. Kreuter, T. Harmia, and J. R. Robinson. 1986. Ocular drug delivery of progesterone using nanoparticles. *Journal of Microencapsulation* 3, No. 3:213–18.
- Lowe, P. J., and C. S. Temple. 1994. Calcitonin and insulin in isobutylcyanoacrylate nanocapsules: protection against proteases and effect on intestinal absorption in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 46, No. 7 (July): 547-52.
- Luck, M., B. R. Paulke, W. Schroder, T. Blunk, and R. H. Muller. 1998. Analysis of plasma protein adsorption on polymeric nanoparticles with different surface characteristics. *Journal of Biomedical Material Research* 39, No. 3 (March): 478–85.
- Lukyanov, A. N., W. C. Hartner, and V. P. Torchilin. 2004. Increased accumulation of PEG-PE micelles in the area of experimental myocardial infarction in rabbits. *Journal of Controlled Release* 94, No. 1:187-93.
- Lu, W., Y. Zhang, Y. Z. Tan, K. L. Hu, X. G. Jiang, and S. K. Fu. 2005. Cationic albumin – conjugated pegulated nanoparticles as novel drug carrier for brain delivery. *Journal of Controlled Release* 107, No. 3 (October): 428-48.
- Lynch, I., and K. A. Dawson. 2008. Protein–nanoparticle interactions. *NanoToday* 3, No. 1-2:40–47.
- Mallakpour, S., and V. Behranvand. 2016. Polymeric nanoparticles: Recent development in synthesis and application (Review). *eXPRESS Polymer Letters* 10, No. 11: 895-913.
- Manaia, E. B., M. P. Abuçafy, B. G. Chiari-Andréo, B. L. Silva, J. A. O. Junior, and L. A. Chiavacci. 2017. Physicochemical characterization of drug nanocarriers (Review). *International Journal of Nanomedicine* 12 (July): 4991-5011.
- McNeil, S. E. 2005. Nanotechnology for the biologist. *Journal of Leukocyte Biology* 78, No. 3 (September): 585–94.
- Memanishvili, T., N. Kupatadze, D. Tugushi, R. Katsarava, S. Wattananit, N. Hara, D. Tornero, and Z. Kokaia. 2016. Generation of cortical neurons from human induced-pluripotent stem cells by biodegradable polymeric microspheres loaded with priming factors. *Biomedical Materials* 11 (March):025011. doi:10.1088/1748-6041/11/2/025011.
- Memanishvili, T., N. Zavrashvili, N. Kupatadze, D. Tugushi, M. Gverdtsiteli, V. P. Torchilin, C. Wandrey, L. Baldi, S. S. Manoli, and R. Katsarava. 2014. Arginine-based

- biodegradable ether-ester polymers of low cytotoxicity as potential gene carriers. *Biomacromolecules* 15, No. 8 (June): 2839–48.
- Meng, F., G. H. M. Engbers, and J. Feijin. 2005. Biodegradable polymersomes as basis for artificial cells: encapsulation, release and targeting. *Journal of Controlled Release* 101, No. 1:187–98.
- Michaelis, K., M. M. Hoffmann, S. Dreis, E. Herbert, R. N. Alyautdin, M. Michaelis J. Kreuter, and K. Langer. 2006. Covalent linkage of apolipoprotein e to albumin nanoparticles strongly enhances drug transport into the brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 317, No. 3 (June): 1246–53.
- Mishra, N. C., and S. Mitra. 2013. Polymeric Nanofibers in Regenerative Medicine. In *Nanomedicine for Drug Delivery and Therapeutics*, Ed. A. K. Mishra, 311–36. USA: Scrivener Publishing.
- Moghimi, S. M., A. C. Hunter, and J. C. Murray. 2001. Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. *Pharmacological Reviews* 53, No. 2 (June): 283–318.
- Moghimi, S. M., and A. C. Hunter. 2001. Capture of stealth nanoparticles by the body's defences. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 18, No. 6:527–50.
- Moghimi, S. M., I. S. Muir, L. Illum, S. S. Davis, and V. Kolb-Bachofen. 1993. Coating particles with a block co-polymer (poloxamine-908) suppresses opsonization but permits the activity of dysopsonins in the serum. *Biochimica et Biophysica Acta* 1179, No. 2 (November): 157–65.
- Moghimi, S. M., and S. S. Davis. 1994. Innovations in avoiding particle clearance from blood by Kupffer cells: cause for reflection. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 11, No. 1:31–59.
- Mok, H., and T. G. Park. 2008. Water-free microencapsulation of proteins within PLGA microparticles by spray drying using PEG-assisted protein solubilization technique in organic solvent. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 70, No. 1 (September): 137–44.
- Molpeceres, J., M. Guzman, M. R. Aberturas, M. Chacon, and L. Berges. 1996. Application of central composite designs to the preparation of polycaprolactone nanoparticles by solvent displacement. *Journal of Pharmaceutical Science* 85:206–13.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* 65 (December): 55–63.
- Muller, R. H., and S. Heinemann. 1989. Surface modelling of microparticles as parenteral systems with high tissue affinity. In *Bioadhesion- Possibilities and Future Trends*, Eds. R. Gurny, and H. E. Junginger, 202–13. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
- Musteata, F. M., J. Pawliszyn, M. G. Qian, J. T. Wu, and G. T. Miwa. 2006. Determination of drug plasma protein binding by solid phase microextraction. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 95, No. 8 (August): 712–22.

- Nagayama, S., K. Ogawara, K. Minato, Y. Fukuoka, Y. Takakura, M. Hashida, K. Higaki, and T. Kimura. 2007. Fetuin mediates hepatic uptake of negatively charged nanoparticles via scavenger receptor. *International Journal of Pharmaceutics* 329, No. 1-2 (February): 192–98.
- Nah, J. W., Y. I. Jeong, C. S. Cho, and S. I. Kim. 2000. Drug-Delivery System Based on Core-Shell-Type Nanoparticles Composed of Poly(γ -benzyl-L-glytamate) and Poly(ethylene oxide). *Journal of Applied Polymer Science* 75, No. 9 (February): 1115–26.
- Némati, F., C. Dubernet, H. Fessi, A. C. Verdiere, M. F. Poupon, and F. Puisieux. 1996. Reversion of multidrug resistance using nanoparticles in vitro: influence of the nature of the polymer. *International Journal of Pharmaceutics* 138:237–46.
- Ogawara, K., K. Furumoto, S. Nagayama, K. Minato, K. Higaki, T. Kai, and T. Kimura. 2004. Pre-coating with serum albumin reduces receptor-mediated hepatic disposition of polystyrene nanosphere: implications for rational design of nanoparticles. *Journal of Controlled Release* 100, No. 3 (December): 451–55.
- Olivier, J. C. 2005. Drug transport to brain with targeted nanoparticles. *NeuroRx (The Journal of The American Society for experimental Neuro Therapeutics)* 2, No. 1 (January): 108–19.
- Olson, R. E., and D. D. Christ. 1996. Plasma protein binding of drugs. *Annual Reports in Medicinal Chemistry* 31:327–36.
- Owens, D. E., and N. A. Peppas. 2006. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 307, No. 1 (January): 93–102.
- Paciotti, G. F., L. Myer, D. Weinreich, D. Goia, N. Pavel, R. E. McLaughlin, and L. Tamarkin. 2004. Colloidal gold: a novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery. *Drug Delivery* 11, No. 3 (May): 169–83.
- Panagi, Z., A. Beletsi, G. Evangelatos, E. Livaniou, D. S. Ithakissios, and K. Avgoustakis. 2001. Effect of dose on the biodistribution and pharmacokinetics of PLGA and PLGA-mPEG nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 221, No. 1-2 (June): 143–52.
- Patel, H. M. 1992. Serum opsonins and liposomes: their interaction and opsonophagocytosis. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 9:39–90.
- Peracchia, M. T., E. Fattal, D. Desmaele, M. Besnard, J. P. Noel, J. M. Gomis, M. Appel, J. d'Angelo, and P. Couvreur. 1999. Stealth PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles for intravenous administration and splenic targeting. *Journal of Controlled Release* 60:121–28.
- Peracchia, M. T., S. Harnisch, H. Pinto-Alphandary, A. Gulik, J. C. Dedieu, D. Desmaele, J. d'Angelo, R. H. Muller, and P. Couvreur. 1999. Visualization of in vitro protein-rejecting properties of PEGylated stealth polycyanoacrylate nanoparticles. *Biomaterials* 20, No. 14 (July): 1269–75.

- Pignatello, R., C. Bucolo, G. Spedalieri, A. Maltese, and G. Puqlesi. 2002. Flurbiprofen-loaded acrylate polymer nanosuspensions for ophthalmic application. *Biomaterials* 23, No. 15 (August): 3247–55.
- Poznansky, M. J., and R. L. Juliano. 1984. Biological approaches to the controlled delivery of drugs: a critical review. *Pharmacological Reviews* 36:277–336.
- Prior S., C. Gamazo, J. M. Irache, H. P. Merkle, and B. Gander. 2000. Gentamicin encapsulation in PLA: PLGA microspheres in view of treating Brucella infections. *International Journal of Pharmaceutics* 196, (November): 115–25.
- Puapermpoonsiri, U., J. Spencer, and C. F. Van der Walle. 2009. A freeze-dried formulation of bacteriophage encapsulated in biodegradable microspheres. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 72, No. 1 (May): 26–33.
- Puiggali, J., and R. Katsarava. 2017. Bionanocomposites. In *Clay-Polymer Nanocomposites*, Ed. K. Jlassi, M. M. Chehimi, and S. Thomas, 239–73. USA: Elsevier.
- Quaglia, F., G. De Rosa, E. Granata, F. Unqaro, E. Fattal, and M. Immacolata La Rotonda. 2003. Feeding liquid, non-ionic surfactant and cyclodextrin affect the properties of insulin-loaded poly(lactide-co-glycolide) microspheres prepared by spray-drying. *Journal of Controlled Release* 86, No. 2–3 (January): 267–78.
- Quintanar-Guerrero, D., E. Alléman, H. Fessi, and E. Doelker. 1998. Preparation technique and mechanism of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 24:1113–28.
- Rainer, A., and R. Bodmeier. 1990. Encapsulation of water-soluble drugs by a modified solvent evaporation method. 1. Effect of process and formulation variables on drug entrapment. *J. Microencapsulations* 7, No. 3:347–55.
- Reis, C. P., J. R. Neufeld, A. J. Ribeiro, and F. Veiga. 2006. Nanoencapsulation I: Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 2, No. 1 (March): 8–21.
- Rivera, P. A., M. C. Martinez-Oharriz, M. Rubio, J. M. Irache, and S. Espuelas. 2004. Fluconazole encapsulation in PLGA microspheres by spray-drying. *Journal of Microencapsulation* 21, No. 2 (March): 203–11.
- Roser, M., D. Fischer, and T. Kissel. 1998. Surface-modified biodegradable albumin nano- and microspheres. II: Effect of surface charges on in vitro phagocytosis and biodistribution in rats. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 46, No. 3 (November): 255–63.
- Sahoo, B., M. Goswami, S. Nag, and S. Maiti. 2007. Spontaneous formation of a protein corona prevents the loss of quantum dot fluorescence in physiological buffers. *Chemical Physics Letters* 445, No. 4:217–20.
- Sahoo, S. K., F. Dilnawaz, and S. Krishnakumar. 2008. Nanotechnology in ocular drug delivery. *Drug Discovery Today* 13 (February): 144–51.

- Sakurai, E., H. Ozeki, N. Kunou, Y. Ogura. 2001. Effect of particle size of polymeric nanospheres on intravitreal kinetics. *Ophthalmic Research* 33, No. 1:31–36.
- Saxena, V., M. Sadogi, and J. Shao. 2004. Indocyanine green-loaded biodegradable nanoparticles: preparation, physicochemical characterization and in vitro release. *International Journal of Pharmaceutics* 278, No. 2 (July): 293–301.
- Schwach, G., N. Oudry, S. Delfomme, M. Luck, H. Linder, and R. Gurny. 2003. Biodegradable microparticles for sustained release of a new GnRH antagonist – part I: screening commercial PLGA and formulation technologies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 56, No. 3:327–36.
- Shalaby, S. W., and R. A. Johnson. 1994. Synthetic absorbable polyesters. In *Biomedical Polymers: Designed-to Degrade Systems*, Ed. S.W. Shalaby, 1–34. New York, USA: Hanser Publishers.
- Shi, L., X. Wang, F. Zhao, H. Luan, Q. Tu, Z. Huang, Hao. Wang, and Hon. Wang. 2013. In vitro evaluation of 5-aminolevulinic acid (ALA) loaded PLGA nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine* 8 (July): 2669–76.
- Sight, M. N., Y. Hemart, M. Ram, and H. G. Shivakumar. 2010. Microencapsulation: A promising technique for controlled drug delivery. *Research in Pharmaceutical Sciences* 5, No. 2 (October): 65–77.
- Slomkowski, S. 1998. Polyacrolein containing microspheres: Synthesis, properties and possible medical applications. *Progress in Polymer Science* 23, No. 5:815–74.
- Soppimath, K. S., T. M. Aminabbavi, A. R. Kulkarni, and W. E. Rudzinski. 2001. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release* 70, No. 1 (January): 1–20.
- Sun, H., F. Meng, A. A. Dias, M. Hendriks, J. Feijen, and Z. Zhong. 2011. α -Amino Acid Containing Degradable Polymers as Functional Biomaterials: Rational Design, Synthetic Pathway, and Biomedical Applications. *Biomacromolecules* 12 (April): 1937–55.
- Takada S. Y. Uda, H. Toquchi, and Y. Okawa. 1995. Application of a spray drying technique in the production of TRH-containing injectable sustained-release microparticles of biodegradable polymers PDA. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 49, No. 4:180–84.
- Takashima, Y., R. Saito, A. Nakajima, M. Oda, A. Kimura, T. Kanazawa, and H. Okada. 2007. Spray-drying preparation of microparticles containing cationic PLGA nanospheres as gene carriers for avoiding aggregation of nanospheres. *International Journal of Pharmaceutics* 343, No. 1–2 (October): 262–69.
- Thode, K., M. Luck, W. Semmler, R. H. Muller, and M. Kresse. 1997. Determination of plasma protein adsorption on magnetic iron oxides: sample preparation. *Pharmaceutical Research* 14:905–10.
- Thomson, C. R., A. K. Shung, M. J. Yaszemski, and A. G. Mikos. 2000. Polymer scaffold processing. In *Principles of Tissue Engineering*, 251–65. San Diego: Academic Press.

- Tice, T. R., and R. M. Gilley. 1985. Preparation of injectable controlled-release microcapsules by solvent-evaporation process. *Journal of Controlled Release* 2:343-52.
- Tomalia, D. A., L. A. Reyna, and S. Svenson. 2007. Dendrimers as multi-purpose nanodevices for oncology drug delivery and diagnostic imaging. *Biochemical Society Transactions* 35, No. 1 (February): 61-7.
- Tran, C. L., D. Buchanan, R. T. Cullen, A. Searl, A. D. Jones, and K. Donaldson. 2000. Inhalation of poorly soluble particles: II. Influence of particle surface area on inflammation and clearance. *Inhalation Toxicology* 12, No. 12 (December): 1113-26.
- Trollsas, M., B. Maslanka, N. Pham, Q. Lin, S. Hossainy, S. L. Hsu, and M. H. Ngo. 2011. Polyesteramide Coatings for Drug Eluting Stents: Controlling Drug Release by Polymer Engineering. *Studies in Mechanobiology, Tissue Engineering and Biomaterials* 8 (February): 127-43.
- Trubetskoy, V. S., and V. P. Torchilin. 1995. Use of polyoxyethylene-lipid conjugates as long circulating carriers for delivery of therapeutic and diagnostic agents. *Advanced Drug Delivery Reviews* 16, No. 2:311-20.
- Tyrrell, D. A., V. J. Richardson, and B. E. Ryman. 1977. The effect of serum protein fractions on liposome-cell interactions in cultured cells and the perfused rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta* 497 469-80.
- Vauthier, C., C. Dubernet, E. Fattal, H. Pinto-Alphandary, and P. Couvreur. 2003. Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 55, No. 4 (April): 519-48.
- Vera, M., J. Puiggali, and J. Coudane. 2006. Microspheres from new biodegradable poly(ester amide)s with different ratios of L- and D-alanine for controlled drug delivery. *Journal of microencapsulation* 23, No. 6 (September): 683-97.
- Vidmar, V., S. Pepelnjak, and J. Jalseniak. 1985. The in vivo evaluation of poly(lactic acid) microcapsules of pilocarpine hydrochloride. *Journal of Microencapsulation* 2, No. 4 (September): 289-92.
- Xie, Y., L. Ye, X. Zhang, W. Cui, J. Lou, T. Naqai, and X. Hou. 2005. Transport of nerve growth factor encapsulated into liposomes across the blood-brain barrier: In vitro and in vivo studies. *Journal of Controlled Release* 105, No. 1-2 (June): 106-19.
- Xu, J. P., J. Ji, W. D. Chen, and J. C. Shen. 2005. Novel biomimetic polymersomes as polymer therapeutics for drug delivery. *Journal of Controlled Release* 103, No. 2:369-80.
- Yao, W., P. Xu, Z. Pang, J. Zhao, Z. Chai, X. Li, H. Li, M. Jiang, H. Cheng, B. Zhang, and N. Cheng. 2014. Local delivery of minocycline-loaded PEG-PLA nanoparticles for the enhanced treatment of periodontitis in dogs. *International Journal of Nanomedicine* 9 (August): 3963-70.
- Yokoyama, M., M. Miyauchi, N. Yamada, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, and S. Inoue. 1990. Characterization and anticancer activity of the micelle-forming polymeric anticancer drug adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. *Cancer Research* 50, No. 6 (March): 1693-700.

- Yokoyama, M., M. Miyauchi, N. Yamada, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, and S. Inoue. 1990. Polymer micelles as novel drug carrier: Adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. *Journal of Controlled Release* 11:269-78.
- Yokoyama, M., T. Okano, Y. Sakurai, H. Ekimoto, C. Shibasaki, and T. Kataoka. 1991. Toxicity and antitumor activity against solid tumors of micelle-forming polymeric anticancer drug and its extremely long circulation in blood. *Cancer Research* 51, No. 12 (June): 3229-36.
- Yoo, H. S., J. E. Oh, K. H. Lee, and T. G. Park. 1999. Biodegradable nanoparticles containing PLGA conjugate for sustained release. *Pharmaceutical Research* 16:1114-18.
- Watnasirichaikul, S., N. M. Davies, T. Rades, and I. G. Tuvker. 2000. Preparation of biodegradable insulin nanocapsules from biocompatible microemulsions. *Pharmaceutical Research* 17, No. 6 (June): 684-89.
- Wehrle, P., B. Magenheimer, and S. Benita. 1995. Influence of process parameters on the PLA nanoparticles size distribution, evaluated by means of factorial design. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 41:19-26.
- Wen, X., S. Ding, H. Cai, J. Wang, L. Wen, F. Yang, and G. Chen. 2016. Nanomedicine strategy for optimizing delivery to outer hair cells by surface-modified poly(lactic/glycolic acid) nanoparticles with hydrophilic molecules. *International Journal of Nanomedicine* 11 (November): 5959-69.
- Wischke C., and S. P. Schwendeman. 2008. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 364, No. 2 (December): 298-327.
- Wu, J., J. Zhao, B. Zhang, Y. Qian, H. Gao, Y. Yu, Y. Wei, Z. Yang, X. Jiang, and Z. Pang. 2014. Polyethylene glycol-poly(lactic acid) nanoparticles modified with cysteine-arginine-glutamic acid-lysine-alanine fibrin-homing peptide for glioblastoma therapy by enhanced retention effect. *International Journal of Nanomedicine* 9 (November): 5261-71.
- Zambaux, M. F., F. Bonneaux, R. Gref, P. Maincent, E. Dellacherie, M. J. Alonso, P. Labrude, and C. Vigneron. 1998. Influence of experimental parameters on the characteristics of poly(lactic acid) nanoparticles prepared by a double emulsion method. *Journal of Controlled Release* 50, No. 1-3 (January): 31-40.
- Zhang, M., Z. Yang, L. L. Chow, and C. H. Wang. 2003. Simulation of drug release from biodegradable polymeric microspheres with bulk and surface erosions. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 92, No. 10:2040-56.
- Zimmer, A., and J. Kreuter. 1995. Microspheres and nanoparticles used in ocular delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* 16 (March): 61-73.