

Μελέτη της Αλληλεπίδρασης Διλιπιδικής Μembrάνης με Φορεά Φαρμακευτικών Ουσιών σε Υδατικό Περιβάλλον με την Μέθοδο της Μοριακής Δυναμικής

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της εμβάθυνσης και κατανόησης των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πολυμερικών νανοφορέων φαρμάκων και λιπιδικών μεμβράνων σε υδατικό περιβάλλον. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκε, μέσω της Μοριακής Δυναμικής (πλήρης ατομιστική προσέγγιση), η στατική και δυναμική συμπεριφορά ενός συμπλέγματος- πολυμερικός νανοφορέας (υπερδιακλαδισμένος πολυεστέρας με πολυαιθυλενογλυκόλη)/ αντικαρκινικό φάρμακο Δοξορουβικίνη με λιπιδική μεμβράνη (DPPG- διπαλμιτοϋλοφωσφατιδυλογλυκερόλη) σε πειραματικές συνθήκες ιοντικής ισχύς ώστε να προσεγγιστεί καλύτερα η ρεαλιστική συμπεριφορά του εν λόγω συστήματος. Ο κύριος στόχος της εργασίας είναι να αντιληφθούμε καλύτερα τις διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την γειτνίαση- προσέγγιση του νανοφορέα με τη μεμβράνη και έτσι να εξαχθούν συμπεράσματα που θα μπορούσαν να ληφθούν υπόψη για τη βελτιστοποίηση των ιδιοτήτων του συμπλέγματος για περισσότερο στοχευμένη και πιο αποτελεσματική μεταφορά φαρμακευτικών ουσιών που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του καρκίνου. Η συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί συνέχεια μιας προηγούμενης, κατά την οποία εξετάστηκε ένα σύστημα παρόμοιο, με εκείνο που εξετάζεται εδώ, αλλά χωρίς την παρουσία της συγκεκριμένης μεμβράνης. Εξετάζοντας τις στατικές και δυναμικές ιδιότητες του συγκεκριμένου συστήματος, αντιλαμβανόμαστε τις διαφορές όσον αφορά στη χωρική διάταξη και στη δυναμική συμπεριφορά όλων των μοριακών δομών (που προηγουμένως είχαν εξετασθεί) λόγω της παρουσίας μεμβράνης.

Η νανοϊατρική είναι ένας αναδυόμενος κλάδος της επιστήμης της ιατρικής ο οποίος συνδυάζει τις κλασικές αρχές της ιατρικής με την επιστήμη της νανοτεχνολογίας. Η μελέτη της ύλης σε μοριακό επίπεδο σε συνδυασμό με τη διεπιστημονική και τη νανο-βιομηχανική προσέγγιση της νανοϊατρικής, οδηγούν στη δημιουργία μιας μεγάλης γκάμας υλικών και διατάξεων με βελτιωμένες ή εντελώς νέες ιδιότητες. Η βέλτιστη χορήγηση φαρμάκων αποτελεί ίσως τον πιο σημαντικό τομέα της νανοϊατρικής, μεταξύ άλλων εφαρμογών (in vitro διαγνωστική, in vivo απεικόνιση, μηχανική ιστών κλπ), και αυτή τη περίοδο υπάρχει έντονη ερευνητική δραστηριότητα γύρω από το συγκεκριμένο πεδίο. Ο οργανισμός τροφίμων και φαρμάκων έχει εγκρίνει ένα σημαντικό αριθμό συστημάτων μεταφοράς φαρμάκων για κλινική

χρήση, όπου οι περισσότεροι από αυτούς έχουν αναπτυχθεί ως σύμπλοκα νανοφορέων (π.χ. πολυμερικοί) και θεραπευτικών ουσιών (π.χ. δοξορουβικίνη). Μεγάλη επιστημονική προσπάθεια που αφιερώνεται στις μέρες μας για την αξιοποίηση της νανοτεχνολογίας όσον αφορά στη παράδοση φαρμάκων, προκειμένου να αντιμετωπίσει ένα από τα πιο σοβαρά προβλήματα των ημερών μας, τον καρκίνο.

Οι κυτταρικές μεμβράνες αποτελούν τα βασικά όρια μεταξύ των κυττάρων και του εξωτερικού τους περιβάλλοντος, παίζοντας σημαντικό ρόλο στον κύκλο ζωής των πρώτων. Η διπλή φύση τους (υδρόφοβο τμήμα ουράς και υδρόφιλο τμήμα κεφαλής) και η «ρευστότητα» τους, προσδίδει σε αυτές μοναδικά χαρακτηριστικά, όσον αφορά στον έλεγχο της διαπερατότητας και στις ειδικές αλληλεπιδράσεις με τα υπόλοιπα μόρια- επισκέπτες. Για να κατανοήσουμε πιο αποτελεσματικά το βιολογικό ρόλο των λιπιδικών μεμβρανών των, είναι πολύ σημαντικό να κατανοήσουμε βαθύτερα τις δομικές και φυσικές τους ιδιότητες. Η «Μαλακή Ύλη», ασχολείται με τη δομή, τη θερμοδυναμική σταθερότητα και τη δυναμική των διλιπιδικών μεμβρανών και η Μοριακή Δυναμική (σε ατομιστικό επίπεδο) αποτελεί ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο. Από την άλλη πλευρά, τα υπερδιακλαδισμένα πολυμερή παρουσιάζουν μοναδικές ιδιότητες, όσον αφορά στη πολυλειτουργικότητα τους, στην αυτό- οργάνωση τους, και στη δομή τους με αποτέλεσμα να αποτελούν ιδανικούς υποψήφιους για την χρήση τους ως συστήματα μεταφοράς βιοδραστικών ενώσεων (κατά του καρκίνου). Η εφαρμογή των προσομοιώσεων Μοριακής Δυναμικής στα συμπλέγματα διλιπιδικών μεμβρανών/ φορέων φαρμάκων, για τη διερεύνηση των διεργασιών και των φυσικοχημικών φαινομένων που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της αλληλεπίδρασής τους (κοντά στην κυτταρική επιφάνεια), αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη οδό για την βελτιστοποίηση των ιδιοτήτων των παραπάνω συμπλεγμάτων με σκοπό την αποτελεσματικότερη μεταφορά των φαρμάκων. Μια λεπτομερής περιγραφή της συσχέτισης των συμπλεγμάτων νανοφορέων φαρμάκου και λιπιδικών μεμβρανών μπορεί να οδηγήσει σε στοχευμένες πειραματικές δοκιμές με σκοπό τα αντίστοιχα αποτελέσματα, που θα προκύψουν, να αξιοποιηθούν για τον σχεδιασμό νέων αποτελεσματικών συστημάτων μεταφοράς φαρμάκων.

Αναφορικά με την τις στατικές ιδιότητες (συναρτήσεις ακτινικής κατανομής) και τη χωρική διάταξη των μοριακών ειδών μεταξύ τους (στο παράθυρο προσομοίωσης): δεν υπάρχει καμία συσχέτιση μεταξύ του πολυμερικού νανοφορέα και της

μεμβράνης. Σημαντικά ποσοστά των δύο φαρμάκων (ουδέτερο φάρμακο/ 42%, φορτισμένο φάρμακο/ 35%) παρέμειναν εντός του πολυμερικού φορέα. Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι τα φορτισμένα φάρμακα κατά προτίμηση βρίσκονται κοντά στην περιφέρεια του πολυμερούς, ενώ τα ουδέτερα φάρμακα βρίσκονται στο εσωτερικό του. Το χαμηλό ποσοστό Cl^- ιόντων (3%) που βρίσκονται εντός του πολυμερούς, σχετίζεται με την παρουσία των φορτισμένων φαρμάκων στο στην περιφέρεια του. Όσον αφορά στην περίπτωση της μεμβράνης, διαπιστώθηκε ότι ένα σημαντικό ποσοστό των δύο φαρμάκων (ουδέτερο/ 19%, φορτισμένο/ 30%) και των ιόντων Na^+ (52%), έχει διεισδύσει σε αυτή. Η κατάσταση αυτή αποδίδεται στην ανάπτυξη των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, προκειμένου να εξουδετερωθεί η αρνητικά φορτισμένη μεμβράνη. Από την άλλη πλευρά η παρουσία των ουδέτερων φαρμάκων εντός της μεμβράνης πιθανόν να οφείλεται σε υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις.

Όσον αφορά την δομική οργάνωση του πολυμερικού ξενιστή, έχει αλλάξει και έχει γίνει πιο συμπαγής (σε σύγκριση με την δομή του πολυμερικού νανοφορέα της προηγούμενης μελέτης) και αυτό οφείλεται στη μετανάστευση σημαντικού ποσοστού πρωτονιομένων φαρμακευτικών μορίων από το πολυμερές στη μεμβράνη. Η παραπάνω κατάσταση έχει ως αποτέλεσμα τα φάρμακα να μην είναι ομοιογενώς καταναμημένα σε όλη την πολυμερική δομή, όπως είχε παρατηρηθεί σύστημα χωρίς την μεμβράνη.

Επίσης διαπιστώθηκε ότι το σύμπλοκο πολυμερούς/ φαρμάκου χαρακτηρίζεται από ένα συνολικό θετικό φορτίο (8.5e), όπου αναμένεται να το οδηγήσει σταδιακά προς την αρνητικά φορτισμένη μεμβράνη, αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα για αποτελεσματικότερη μεταφορά του φαρμάκου προς τον επιθυμητό στόχο με ευνοϊκότερο προφίλ απελευθέρωσης. Αντίθετα, το συνολικό φορτίο της μεμβράνης έχει μειωθεί (22%) λόγω της παρουσίας των πρωτονιομένων φαρμάκων και των αντίθετα φορτισμένων ιόντων Na^+ εντός της λιπιδικής μεμβράνης.

Όσον αφορά στους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ του φαρμάκου και της μεμβράνης είναι ισχυρότεροι στα πρωτονιομένα και αυτό οφείλεται κυρίως στα υδρογόνα της φορτισμένης αμινομάδας και στα άτομα φωσφόρου των λιπιδίων. Οι δεσμοί υδρογόνου δεν ενεργούν ως κινητήριοι δύναμη προς σχηματισμό του συμπλέγματος

πολυμερούς / φαρμάκου, σε σύγκριση με το σύστημα απουσία μεμβράνης που είχαν αυτό το ρόλο.

Από δυναμική άποψη, στο συγκεκριμένο σύστημα η διάχυση (μέση τετραγωνική μετατόπιση) των ουδέτερων φαρμάκων είναι πιο αργή (σε σύγκριση με την προηγούμενη μελέτη- απουσία μεμβράνης), και αυτή επηρεάζεται από τη συσχέτιση τους με το πολυμερικό ξενιστή αλλά και από την υψηλότερη συγκέντρωση των φαρμάκων στο παρόν σύστημα. Από την άλλη πλευρά, οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της μεμβράνης και των πρωτονιομένων φαρμάκων έχει ως αποτέλεσμα μια χαρακτηριστική επιτάχυνση στην κίνησή των τελευταίων σε σχέση με την περίπτωση χωρίς τη μεμβράνη. Σε μεγαλύτερες χρονικές κλίμακες, τα φορτισμένα και ουδέτερα φάρμακα τείνουν να ακολουθήσουν μια κοινή συμπεριφορά. Σύμφωνα με τις συναρτήσεις αυτοσυσχέτισης χώρου χρόνου Van Hove των ουδέτερων φαρμάκων, διαπιστώθηκε ότι ο κλωβός των πρώτων γειτόνων είναι περισσότερο σταθερός σε σύγκριση με τα αντίστοιχη περίπτωση της προηγούμενης μελέτης, το οποίο δείχνει μια πιο σταθερή δομή. Από την άλλη πλευρά, όσον αφορά τα φορτισμένα φάρμακα, παρατηρείται επίσης μια σταθερή δομή σε σύγκριση με το σύστημα απουσία μεμβράνης. Τέλος, όλα τα μοριακά είδη παρουσιάζουν ένα ενιαίο μοτίβο κινητικότητας εντός του εξεταζόμενου παράθυρου προσομοίωσης, εκτός από τα αντίθετα φορτισμένα ιόντα Na^+ , τα οποία διακρίνονται σε δύο πληθυσμούς με διαφορετικές κινητικότητες, γεγονός που οφείλεται στην αλληλεπίδραση με την μεμβράνη.