

ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΒΙΟΜΟΡΙΩΝ ΑΠΟ ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΟΥΣ ΝΑΝΟΦΟΡΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΟΥ ΣΤΟΝ ΕΓΚΕΦΑΛΟ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΟΣΦΡΗΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ

Α. Βασιλειάδου^{1,2}, Μ. Στουκίδης^{1,2}, Κ. Κυπαρισσίδης^{1,2,*}

¹Τμήμα Χημικών Μηχανικών, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

²Ινστιτούτο Χημικών Διεργασιών και Ενεργειακών Πόρων, ΙΔΕΠ/ΕΚΕΤΑ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

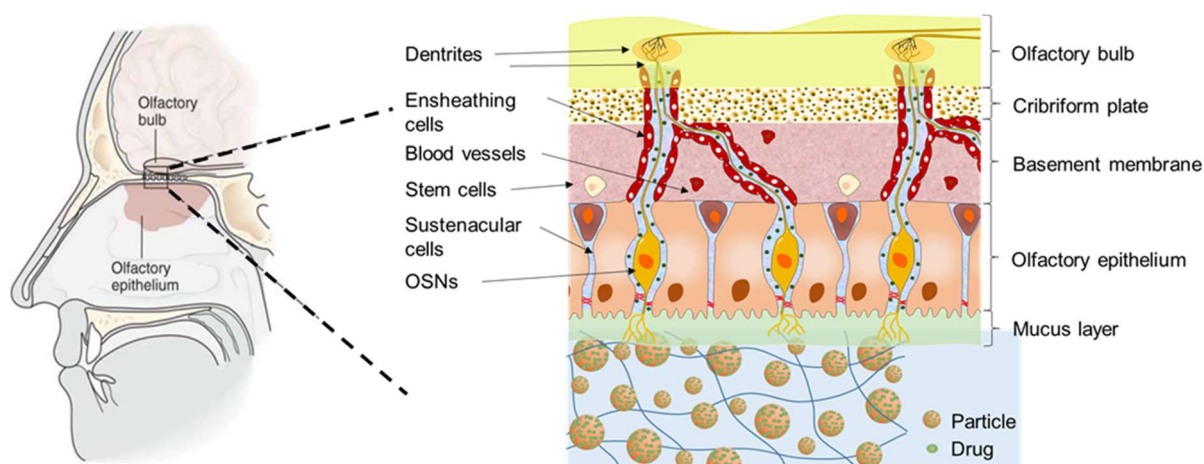
(*costas.kiparissides@cperi.certh.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα εργασία επικεντρώνεται στην μελέτη της αποδέσμευσης φαρμάκων από βιοδιασπώμενα πολυμερικά σωματίδια. Η μελέτη πραγματοποιείται αρχικά για πληθυσμό ισομεγθών σωματιδίων τα οποία βρίσκονται σε υδατικό μέσο και επεκτείνεται για ένα πληθυσμό σωματιδίων δεδομένης κατανομής μεγέθους. Επιπλέον μελετάται το φαινόμενο της αποικοδόμησης των σωματιδίων και η επίδρασή του στην απελευθέρωση του φαρμάκου από τα σωματίδια.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια, η θεραπεία των διαταραχών του κεντρικού νευρικού συστήματος (π.χ. σκλήρυνση κατά πλάκας, νόσος Alzheimer, νόσος Πάρκινσον, κλπ.) αποτελεί μείζον πρόβλημα στην ιατρική. Η μέχρι τώρα θεραπεία των ασθενειών αυτών είναι σε μεγάλο βαθμό ανεπαρκής καθώς η μεταφορά των φαρμακευτικών ουσιών στον εγκέφαλο μέσω της συστημικής κυκλοφορίας καθίσταται δύσκολη ως και αδύνατη, λόγω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, ο οποίος προστατεύει τον εγκέφαλο από επιβλαβείς για αυτόν ουσίες. Έχει αποδειχθεί, από πειραματικές μελέτες των τελευταίων ετών, πως ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός μπορεί να παρακαμφθεί αποτελεσματικά με στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων μέσω της οσφρητικής περιοχής. Μια πολλά υποσχόμενη τεχνολογία βασίζεται σε βιοδιασπώμενα πολυμερικά σωματίδια τα οποία φέρουν την φαρμακευτική ουσία και είναι ενσωματωμένα σε υδροπηκτική. Το σύστημα αυτό τοποθετείται υπό μορφή επιθέματος στην επιθυμητή περιοχή με τη βοήθεια ενδοσκοπίου (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Σχηματική απεικόνιση της οσφρητικής περιοχής της ρινικής κοιλότητας με το τοποθετημένο σε αυτή σύστημα υδροπηκτικής-σωματιδίων.

Νάνο- και μικρο-σωματίδια επιλέγονται ως φορείς φαρμάκων, με στόχο την ελεγχόμενη αποδέσμευση βιομορίων για μια πιο αποτελεσματική θεραπεία. Μερικές από τις μεταβλητές που επηρεάζουν τη διάχυση της φαρμακευτικής ουσίας είναι η κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων, η αρχική κατανομή του φαρμάκου σε αυτά, ο συντελεστής διάχυσης, το μέσο στο

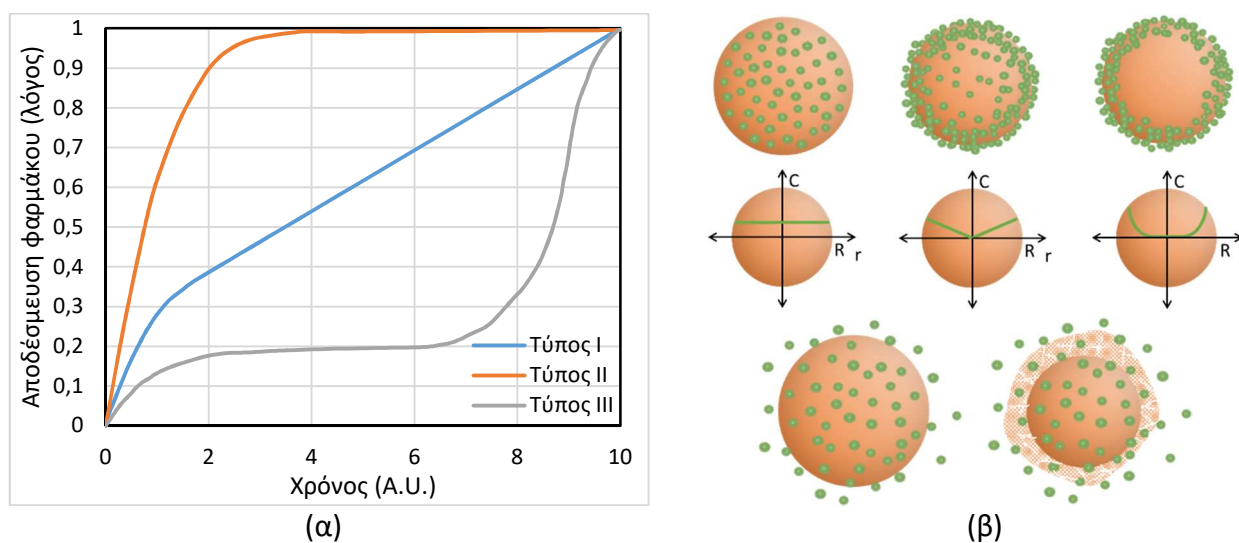
οποίο απελευθερώνεται το φάρμακο, ο βαθμός αποικοδόμησης των σωματιδίων αλλά και η μορφολογία τους.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανάπτυξη ενός μαθηματικού μοντέλου που θα συμπεριλαμβάνει τις παραπάνω μεταβλητές και θα περιγράψει την αποδέσμευση βιομορίων από πολυμερικά σωματίδια (PLGA). Αρχικά, αναπτύχθηκε ένα μαθηματικό μοντέλο που περιγράφει τη διάχυση φαρμάκου από πληθυσμό ισομεγεθών σωματιδίων με ομοιόμορφη κατανομή φαρμάκου σε υδατικό μέσο. Το μοντέλο επιλύθηκε για διάφορες αρχικές κατανομές φαρμάκου, ενώ παράλληλα μελετήθηκε η επίδραση της αποικοδόμησης του πολυμερικού σωματιδίου στο φαινόμενο της αποδέσμευσης. Στη συνέχεια μελετήθηκε το φαινόμενο της διάχυσης από έναν πληθυσμό σωματιδίων δεδομένης κατανομής μεγέθους.

Τελικός στόχος είναι η μελέτη της διάχυσης βιομορίων από σωματίδια ενσωματωμένα σε υδροπηκτή. Συνεπώς, το τελικό μοντέλο απαιτεί κατάλληλη τροποποίηση ώστε να ληφθεί υπόψη η επίδραση της υδροπηκτής στο φαινόμενο της διάχυσης και στο προφίλ της συσώρευσης του φαρμάκου στην υδροπηκτή.

ΣΤΟΧΟΙ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το PLGA είναι ένα πολυμερές που χρησιμοποιείται ευρέως σε βιοϊατρικές εφαρμογές, όπως για παράδειγμα η ελεγχόμενη μεταφορά φαρμάκων. Το προφίλ της απελευθέρωσης του φαρμάκου από PLGA δύναται να έχει διάφορες μορφές. Συνήθως εμφανίζονται τρία είδη καμπυλών τα οποία παρουσιάζουν μια έως τρεις φάσεις. Στο Σχήμα 2α απεικονίζεται η καμπύλη τύπου I η οποία αντιπροσωπεύει αποδέσμευση από μια ομογενή φάση, η καμπύλη τύπου II η οποία αποτελείται από μια αρχική απότομη απελευθέρωση φαρμάκου η οποία ακολουθείται από κορεσμό και η καμπύλη τύπου III η οποία αποτελείται από τρεις διαφορετικές φάσεις. Στην καμπύλη τύπου III, η πρώτη φάση αναφέρεται σε μια απότομη αρχική απελευθέρωση η οποία μπορεί να οφείλεται στη δημιουργία ρωγμών στο σωματίδιο, στην ύπαρξη φαρμάκου στην επιφάνεια του σωματιδίου κ.α. Η δεύτερη φάση είναι μια περίοδος αργής αποδέσμευσης η οποία οφείλεται στη διάχυση διαμέσου ενός πυκνού πολυμερούς με ελάχιστους πόρους και τέλος η τρίτη φάση περιγράφεται ως περίοδος γρήγορης αποδέσμευσης που συνήθως οφείλεται στη διάβρωση του πολυμερούς^[1]. Στο Σχήμα 2β δίνεται μια σχηματική απεικόνιση τριών ενδεικτικών κατανομών φαρμάκου σε πολυμερικά σωματίδια καθώς και της απελευθέρωσης του φαρμάκου από αυτά.



Σχήμα 2. α) Χαρακτηριστικά προφίλ αποδέσμευσης φαρμάκου από πολυμερικά σωματίδια^[1], β) σχηματική απεικόνιση ενδεικτικών κατανομών φαρμάκου στα σωματίδια.

Αρχικά αναπτύχθηκε ένα μοντέλο που περιγράφει την αποδέσμευση φαρμάκου από σφαιρικά σωματίδια κατά την οποία λαμβάνεται υπόψη μόνο το φαινόμενο της διάχυσης και θεωρείται

σταθερός ο συντελεστής διάχυσης. Επιπλέον μελετήθηκε η επίδραση της διαφορετικής αρχικής κατανομής φαρμάκου στο σωματίδιο στο τελικό προφίλ αποδέσμευσης. Ενδεικτικά χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις αρχικές κατανομές (ομοιόμορφη, γραμμική, τετραγωνική και σιγμοειδής). Το σύστημα των εξισώσεων παρουσιάζεται ακολούθως:

$$\frac{\partial C(r,t)}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial t} \left(r^2 D \frac{\partial C(r,t)}{\partial r} \right) \quad (1)$$

$$C(r,0) = f(r) \quad (2)$$

$$\left. \frac{\partial C(r,t)}{\partial t} \right|_{r=0} = 0 \quad (3)$$

$$\left. \frac{\partial C(r,t)}{\partial t} \right|_{r=R} = k_m (C_{r=R} - C_{out}) \quad (4)$$

$$V_{sol} \frac{\partial C_{out}}{\partial t} = k_m A_p N (C_{r=R} - C_{out}) \quad (5)$$

$$Sh = \frac{2k_m R_p}{D} \quad (6)$$

Η αποικοδόμηση του PLGA περιγράφεται με το μηχανισμό της όξινης υδρόλυσης των εστερικών δεσμών του σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση^[2]:



Όπου P_{n+m} , P_n , P_m είναι οι πολυμερικές αλυσίδες μήκους $n+m$, n , m αντίστοιχα, W το νερό και H^+ το οξύ.

Με βάση την παραπάνω αντίδραση το μοντέλο που περιγράφει την αποικοδόμηση του πολυμερούς δίνεται ως ακολούθως και είναι ικανό να προσεγγίσει την χρονική μεταβολή του μοριακού βάρους του πολυμερούς.

$$\frac{\partial \mu_0}{\partial t} = k_d C_w (\mu_1 - \mu_0) \mu_0 \quad (8)$$

$$\frac{\partial \mu_1}{\partial t} = 0 \quad (9)$$

$$\frac{\partial \mu_2}{\partial t} = \frac{k_d C_w \mu_0}{3} \left(\mu_1 - 2 \frac{\mu_2^2}{\mu_1} + \frac{\mu_2 \mu_1}{\mu_0} \right) \quad (10)$$

$$MW_w = MW_{mon} \frac{\mu_2}{\mu_1} \quad (11)$$

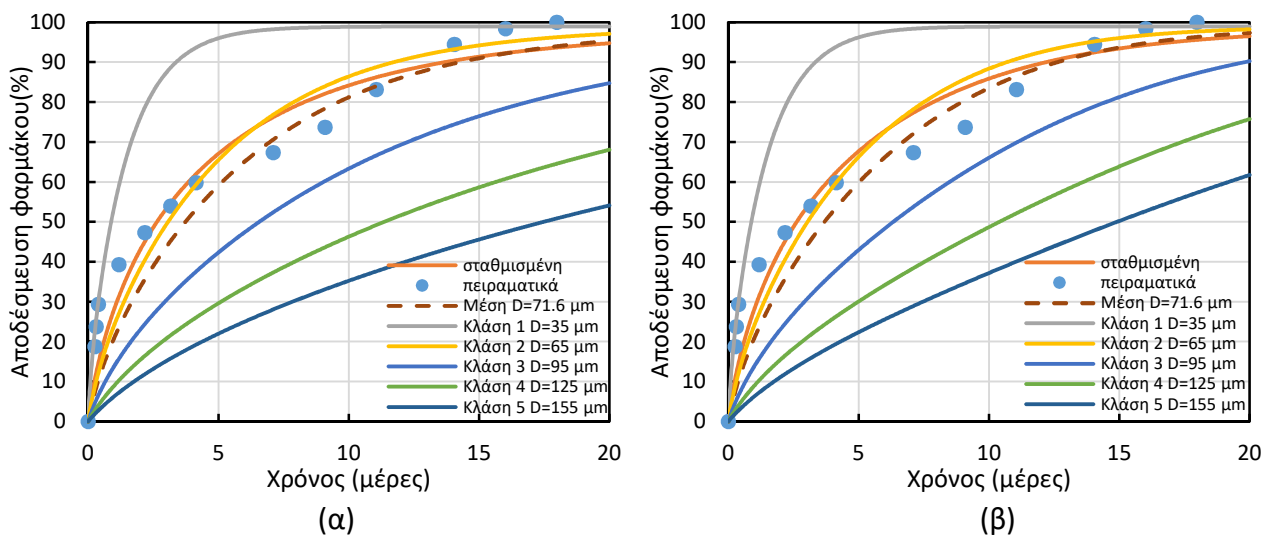
Για να ληφθεί υπόψη η επίδραση της μεταβολής του μοριακού βάρους του πολυμερούς στο συντελεστή διάχυσης εφαρμόζεται η ακόλουθη σχέση:

$$D(MW_w) = D_0 \left[1 + \left(1 - \frac{MW_w(t)}{MW_w(t=0)} \right) (k-1) \right] \quad (12)$$

Το μέγεθος των σωματιδίων είναι μια από τις παραμέτρους που επηρεάζουν σημαντικά το ρυθμό αποδέσμευσης του φαρμάκου και η κατανομή μεγέθους των σωματιδίων πρέπει να ληφθεί υπόψη κατά την επίλυση των παραπάνω μοντέλων.

Σε ένα πληθυσμό σωματιδίων δεδομένης κατανομής μεγέθους το φάρμακο μπορεί να καταταχθεί συναρτήσει του όγκου, της επιφάνειας και της διαμέτρου των σωματιδίων ενώ ταυτόχρονα η κατανομή του φαρμάκου στο εσωτερικό των σωματιδίων δύναται να παρουσιάζει διαφορετικές κατανομές (όπως αναφέρθηκε παραπάνω).

Εξετάστηκαν όλες οι πιθανές περιπτώσεις κατανομής του φαρμάκου σε πολυμερικά σωματίδια, και στο Σχήμα 3 φαίνονται ενδεικτικά τα αποτελέσματα της προσομοίωσης βιβλιογραφικών πειραματικών δεδομένων θεωρώντας κατανομή φαρμάκου συναρτήσει της επιφάνειας των σωματιδίων καθώς και σιγμοειδή κατανομή φαρμάκου στο εσωτερικό των σωματιδίων. Το πρόβλημα επιλύθηκε με το μοντέλο της απλής διάχυσης (Σχήμα 3α) αλλά και με το μοντέλο που περιλαμβάνει το μηχανισμό της αποικοδόμησης του πολυμερούς (Σχήμα 3β). Επιπλέον στο Σχήμα 3 εμφανίζονται τα αποτελέσματα που προκύπτουν για πληθυσμό σωματιδίων μεγέθους ίσου με τη μέση τιμή της κατανομής.



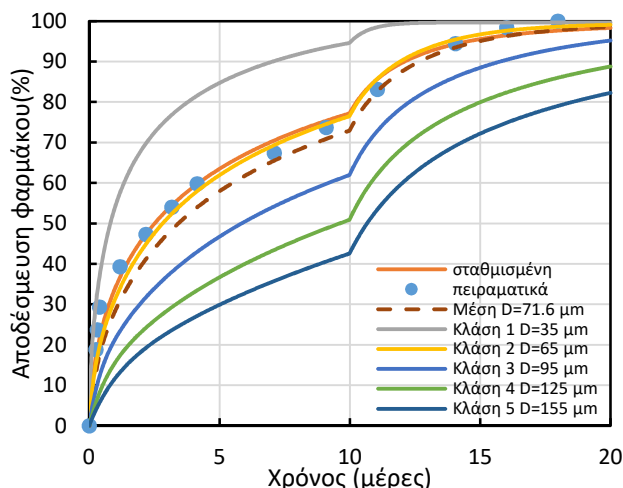
Σχήμα 3. Ρυθμός αποδέσμευσης προγεστερόνης από κατανομή σωματιδίων διαιρεμένη σε πέντε κλάσεις για α) απλή διάχυση, β) διάχυση με ταυτόχρονη αποικοδόμηση των σωματιδίων (προβλέψεις: συνεχόμενες γραμμές; πειραματικά δεδομένα: μπλε σημεία^[3]).

Κατά τη διάρκεια της αποικοδόμησης του πολυμερούς το μοριακό του βάρος ελαττώνεται με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο συντελεστής διάχυσης και κατά συνέπεια να αυξάνεται ο ρυθμός αποδέσμευσης του φαρμάκου. Το φαινόμενο αρχικά χαρακτηρίζεται από μία σχετικά αργή διάχυση του φαρμάκου από τους πολυμερικούς φορείς μέχρι μία κρίσιμη τιμή, ελάχιστη τιμή, του μοριακού βάρους του πολυμερούς. Πέραν της κρίσιμης αυτής τιμής, παρατηρείται μια σημαντική αύξηση στο συντελεστή διάχυσης, με συνέπεια την αύξηση του ρυθμού αποδέσμευσης του φαρμάκου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση της τρίτης φάσης σε μια καμπύλη αποδέσμευσης τύπου III. Στο Σχήμα 4 γίνεται σύγκριση των βιβλιογραφικών πειραματικών δεδομένων^[3], τα οποία εμφανίζουν προφίλ αποδέσμευσης τύπου III, με τις προβλέψεις του ανεπτυγμένου μοντέλου. Είναι φανερό ότι υπάρχει μια πολύ καλή συμφωνία των προβλέψεων του μαθηματικού μοντέλου με τα πειραματικά δεδομένα.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων παρατηρείται ότι το μοντέλο της απλής διάχυσης καθώς και το δεύτερο μοντέλο που λαμβάνει υπόψη το μηχανισμό αποικοδόμησης του πολυμερούς μπορούν

να προσομοιάσουν με σχετική ακρίβεια τα πειραματικά δεδομένα αποδέσμευσης φαρμάκων από πολυμερικά σωματίδια.



Σχήμα 4. Ρυθμός αποδέσμευσης προγεστερόνης από σωματίδια διαφορετικού μεγέθους (η αρχική κατανομή έχει διαιρεθεί σε πέντε κλάσεις). Στο μοντέλο διάχυσης λαμβάνεται υπόψη η ταυτόχρονη αποικοδόμηση των πολυμερικών σωματιδίων και η χρονική μεταβολή του συντελεστή διάχυσης (προβλέψεις: συνεχόμενες γραμμές; πειραματικά δεδομένα: μπλε σημεία^[3]).

Από τη σύγκριση των δύο μοντέλων παρατηρείται η αναμενόμενη αύξηση στο ρυθμό αποδέσμευσης φαρμάκου στο δεύτερο μοντέλο εξαιτίας της αποικοδόμησης του πολυμερούς. Η μελέτη διαφορετικών κατανομών έχει ως στόχο την πρόβλεψη της πραγματικής κατανομής του φαρμάκου στα σωματίδια. Στην παρούσα εργασία τα πειραματικά δεδομένα που επιλέχθηκαν φαίνεται να προσεγγίζονται καλύτερα για κατανομή φαρμάκου συναρτήσει της επιφάνειας των σωματιδίων καθώς και σιγμοειδή κατανομή φαρμάκου στο εσωτερικό των σωματιδίων. Τέλος, λαμβάνοντας υπόψη την κατανομή μεγέθους των σωματιδίων εξετάζεται η επίδραση του μεγέθους στο προφίλ της αποδέσμευσης και παρατηρείται ότι το τελικό σταθμισμένο προφίλ δίνει καλύτερη προσέγγιση από την αντίστοιχη για πληθυσμό σωματιδίων μεγέθους ίσου με τη μέση τιμή της κατανομής.

Τα μοντέλα που αναπτύχθηκαν μπορούν να περιγράψουν προφίλ τύπου I, II και κατά συνέπεια να προσομοιάσουν επιτυχώς πειραματικά δεδομένα αντίστοιχου προφίλ. Για την πρόβλεψη ενός προφίλ τριών φάσεων πέραν της χρονικής μεταβολής του συντελεστή διάχυσης που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία, μια χωρική μεταβολή θα μπορούσε να δώσει καλύτερες προβλέψεις της τρίτης φάσης των καμπυλών τύπου III. Έτσι η μελέτη της μορφολογίας του σωματιδίου κατά τη διάρκεια της εξέλιξης του φαινομένου της αποδέσμευσης δύναται να δώσει καλύτερη προσέγγιση του φυσικού φαινομένου.

ΛΙΣΤΑ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

C	(mg/ml)	: συγκέντρωση φαρμάκου στο σωματίδιο
r	(cm)	: ακτίνα του σωματιδίου
t	(days)	: χρόνος
D	(cm ² /day)	: συντελεστής διάχυσης
f(r)		: συνάρτηση κατανομής του φαρμάκου στο σωματίδιο
k _m	(cm/hr)	: συντελεστής μεταφοράς μάζας
C _{out}	(mg/ml)	: συγκέντρωση του φαρμάκου στο εξωτερικό μέσο αποδέσμευσης
V _{sol}	(ml)	: όγκος του εξωτερικού μέσου αποδέσμευσης
A _p	(cm ²)	: εξωτερική επιφάνεια του σωματιδίου
N	(#)	: συνολικός αριθμός των σωματιδίων
Sh	(-)	: αδιάστατος αριθμός Sherwood

μ_0, μ_1, μ_2	(mg/ml)	: ροπές μηδενικής, πρώτης και δεύτερης τάξης της κατανομής μοριακού βάρους
k_d	(cm ⁶ /mg ² /s)	: κινητική σταθερά αποικοδόμησης
C_w	(mg/ml)	: συγκέντρωση ύδατος στο σωματίδιο
MW_w	(g/mol)	: μοριακό βάρος κατά βάρος του πολυμερούς
MW_{mon}	(g/mol)	: μοριακό βάρος του μονομερούς
k	(-)	: παράμετρος

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία υλοποιήθηκε στα πλαίσια του ερευνητικού έργου «Nose to Brain Delivery of NG-101 via the Olfactory Region for the Regenerative Treatment of Multiple Sclerosis Using Novel Multifunctional Biomaterials Combined with a Medical Device-[N2B-patch]», και χρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Horizon 2020, Grant No. 721098).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Y. Xu, C.-S. Kim, D.M. Saylor, D. Koo. J Biomed. Mater. Res. PartB: Appl. Biomat. 105B(6) (2017) 1692–1716.
- [2] T. Casalini, F. Rossi, S. Lazzari, G. Perale, M. Masi. Mol. Pharm. 11(11) (2014) 4036-4048.
- [3] C. Busatto, J. Pessoa, I. Helbling, J. Luna, D. Estenoz. Intern. J. Pharm. 536 (2018) 360-369.