ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗ ΧΗΜΕΙΑ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΝΑΝΟΫΒΡΙΔΙΩΝ ΜΕ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΛΑΝΘΑΝΙΔΩΝ ΓΙΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ

ΘΕΟΔΩΡΑ ΣΤΑΥΡΙΝΟΥ

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΓΑΝΩΤΑΚΗΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2018

UNIVERSITY OF CRETE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

PROGRAM OF POSTGRADUATE STUDIES IN CHEMISTRY

BIOCHEMISTRY LABORATORY

Master Thesis

SYNTHESIS AND STUDY OF LANTHANIDE NANOHYBRIDS FOR PHARMACEUTICAL USE

THEODORA STAVRINOU

MASTER THESIS SUPERVISOR: D.F.GHANOTAKIS

HERAKLION 2018

Εξεταστική Επιτροπή

Δημήτριος Φ.Γανωτάκης

Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης

Γεώργιος Τσιώτης

Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης

Νικόλαος Α Χανιωτάκης

Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εκπόνηση της μεταπτυχιακής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Δημήτριο Γανωτάκη για τη σωστή καθοδήγηση και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στη διάρκεια υλοποίησης της εργασίας μου.

Θα ήθελα επίσης να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στον ερευνητή κ. Δημήτρη Στεφανάκη για την πολύτιμη βοήθειά του από την αρχή αυτής της προσπάθειας καθώς και τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου.

Τέλος, ευχαριστώ το πανεπιστήμιο Κρήτης από το οποίο μου δόθηκε η ευκαιρία να διεκπεραιώσω την μεταπτυχιακή εργασία μου.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Σταυρινού Θεοδώρα
Πάφος (Κύπρος)
99188660
theodora.stavrinou@hotmail.com
Φύλο Θήλυ | Ημερομηνία γέννησης 22/05/1994 | Εθνικότητα Κυπριακή

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ

2012–2016

Πτυχίο Γενικής Χημείας
Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (Ελλάδα)
Βαθμός (Λίαν Καλώς) 7,37
Διπλωματική Εργασία " Σύνθεση νέας υδατοδιαλυτής οργανομεταλλικής ένωσης και μελέτη αντικαρκινικής δράσης της. Εφαρμογή της στον καρκίνο του μαστού "

2016–2018

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης στη Χημεία με Κατεύθυνση τη Βιοχημεία
Τμήμα Χημείας, Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο Κρήτης (Ελλάδα)

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Παροχή επικουρικού, εκπαιδευτικού έργου σε προπτυχιακά εργαστήρια βιοχημείας (2 εξάμηνα)

ΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

Ξένες γλώσσες αγγλικά

Οργανωτικές / διαχειριστικές δεξιότητες

- 2017-2018 Πρόερδος Συλλόγου Μεταπτυχιακών Φοιτητών Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης

- Μέλος οργανωτικής επιτροπής 20ού Συνεδρίου Μεταπτυχιακών Φοιτητών Χημείας, Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα, 25 – 27 Ιουνίου 2018

Επαγγελματικές δεξιότητες

- Φυγοκέντριση
- Φωτομετρία UV-VIS
- Φασματοσκοπία IR
- Μοριακή Φθορισμομετρία
- Φασματοσκοπία Μαγνητικού Συντονισμού Πυρήνων Υδρογόνου H-NMR
- Φασματοσκοπία ενεργειακής διασποράς
- Σύνθεση ανόργανων συμπλόκων και πολυμερών
- Σύνθεση, απομόνωση, χαρακτηρισμός οργανικών συμπλόκων
- Προετοιμασία δείγματος για ηλεκτρονική μικροσκοπία διελευσης TEM
- Χρήση οπτικού μικροσκοπίου
- Κυτταρικές καλλιέργειες Περίθλαση ακτίνων X
- Περίθλαση ακτίνων X

Ψηφιακες δεξιότητες

ECDL European Computer Driving Licence

(Concepts of Information Technology, Using the Computer and managing Files, Word Processing, Spreadsheets, Database, Presentation, Information and Communication)

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Συνέδρια

20ό Συνέδριο Μεταπτυχιακών Φοιτητών Χημείας, Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα, 25 – 27 Ιουνίου 2018. «Σύνθεση και μελέτη νανοϋβριδίων με στοιχεία λανθανιδών για φαρμακευτική χρήση» Θ. Σταυρινού, Δ. Στεφανάκης και Δ.Φ. Γανωτάκης (Προφορική Παρουσίαση).

CURICULUM VITAE

PERSONAL INFORMATION

THEODORA STAVRINOU
8025 PAPHOS (Cyprus)
99188660
theodora.stavrinou@hotmail.com
Sex Female | Date of birth 22/05/1994 | Nationality Cypriot

EDUCATION AND TRAINING

2012–2016

Degree in Chemistry (7.37/10), Chemistry Deparment, University of Ioannina, Greece

Diploma Thesis "Synthesis of a new water-soluble organometallic compound and its anti- tumor activity study. Application to breast cancer"

2016–2018

Msc in Chemistry, Biochemistry
University of Crete, Heraklion, Greece

WORK EXPERIENCE

Teaching assistant in the undergraduate Biochemistry Laboratory Course (2 semesters)

PERSONAL SKILLS

Foreign language English

Organisational / managerial skills

- 2017-2018 Profession of the Postgraduate Students Association of the Department of Chemistry of the University of Crete
- Member of the Organizing Committee of the 20th Congress of Chemistry Postgraduate Students, Heraklion Crete, Greece, 25-27 June 2018

Job-related skills

- Centrifugation
- UV-VIS photometry
- IR spectroscopy
- X-ray diffraction
- Molecular Fluorimetry
- Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance Spectrum Spectroscopy H-NMR
- Energy-dispersive X-ray spectroscopy
- Composition of inorganic complexes and polymers
- Synthesis, isolation, characterization of organic complexes
- Sample preparation for TEM transit electron microscopy
- Using an optical microscope
- Cell cultures

Digital skills

ECDL European Computer Driving Licence

(Concepts of Information Technology, Using the Computer and managing Files, Word Processing, Spreadsheets, Database, Presentation, Information and Communication)

ADDITIONAL INFORMATION

Conferences

20th Conference of Chemistry Postgraduate Students, Heraklion Crete, Greece, 25-27 June 2018. "Synthesis and study of nanohybrids with lanthanide elements for pharmaceutical used" T. Stavrinou, D. Stefanakis and D.F. Ganotakis (Oral Presentation).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, παρασκευάστηκαν επιτυχώς δύο νανοϋβρίδια με στοιχεία λανθανιδών. Οι φυλλοειδείς δομές αυτές ήταν νανοσωματίδια γαδολινίου, δυσπροσίου με αντισταθμιστικά νιτρικά ανιόντα (GdDy-NO_3) και νανοσωματίδια γαδολινίου, δυσπροσίου, τερβίου με αντισταθμιστικά νιτρικά ανιόντα (GdDyTb-NO_3).

Στο πρώτο μέρος, μελετήθηκαν τα νανοσωματίδια GdDy-NO_3. Αρχικά, η επιφάνεια των νανοσωματιδίων GdDy-NO_3 τροποποιήθηκε με αμινομάδες και έπειτα με φολικό οξύ, δίνοντας έτσι την ικανότητα στόχευσης καρκινικών κυττάρων. Τα νανοσωματίδια με αυτόν τον τρόπο μπόρεσαν να αποτελέσουν σύστημα στοχευμένης χορήγησης φαρμάκων. Μια σειρά από βιολογικά μόρια και φαρμακευτικές ενώσεις προστέθηκαν στα ανόργανα στρώματα αυτών των δομών. Συγκεκριμένα, στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 ενσωματώθηκαν επιτυχώς με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής τα αμινοξέα ασπαραγινικό οξύ, αλανίνη, γλουταμίνη, γλυκίνη, κυστεϊνη και θρεονίνη. Μετά την επιτυχή προσθήκη απλών αμινοξέων ακολούθησε η προσθήκη του διπεπτιδίου L-Ala-Gln, φαρμακευτική ένωση η οποία δρα τοπικά στο γαστρεντερικό σωλήνα. Έπειτα, ενσωματώθηκε η νιτροφουραντοϊνη, αντιβιοτικό το οποίο χρησιμοποιείται για τις λοιμώξεις ουροποιητικού συστήματος καθώς και το βαλπροϊκό οξύ το οποίο ανήκει στα αντι-επιληπτικά φάρμακα.

Στο δεύτερο μέρος της εργασίας, εισήχθησαν με επιτυχία τα αμινοξέα γλουταμινικό οξύ και ιστιδίνη στα νανοσωματίδια GdDyTb-NO_3. Επίσης, προστέθηκαν τα αρωματικά αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τυροσίνη με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής.

Επιπλέον, μελετήθηκε η ενσωμάτωση χημικών ενώσεων στα νανοσωματίδια με τη μέθοδο της αποστοίβαξης. Έγινε προσθήκη του διπεπτιδίου L-Ala-Gln στα νανοϋβρίδια GdDy-NO_3 και του γλουταμινικού οξέος στα νανοσωματίδια GdDyTb-NO_3.

Ο χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων έγινε με τις τεχνικές περίθλαση ακτίνων Χ, φασματοκοπία υπερύθρου, ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης και μικροσκοπία φθορισμού. Από τα αποτελέσματα προέκυψε η επιτυχής ενσωμάτωση αμινοξέων και φαρμάκων στις δομές αυτές, αποδεικνύοντας έτσι ότι οι μήτρες που συντέθηκαν είναι λειτουργικές.

Λέξεις Κλειδιά: *στοιβαγμένα διπλά υδροξείδια, στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων, ανιοανταλλαγή, αποστοίβαξη*

ABSTRACT

In the present study, magnetic nanoparticles with perspective applications in MRI and drug delivery were prepared. Nano-hybrids with lanthanide elements were synthesized. More specifically, layered structures of gadolinium nanoparticles with compensating nitrate anions (GdDy-NO_3) and gadolinium, dysprosium, terbium with compensating nitrate anions (GdDyTb-NO_3) were prepared and extensively characterized by using X-ray diffraction, infrared spectroscopy, passing electron microscopy and fluorescence microscopy.

Various nanohybrids were prepared by using an ion exchange method. In particular, the amino acids aspartic acid, alanine, glutamine, glycine, cysteine and threonine were successfully incorporated into the GdDy-NO_3 nanoparticles. After the successful addition of simple amino acids, the dipeptide L-Ala-Gln, a pharmaceutical compound that acts topically in the gastrointestinal tract, and nitrofurantoin, an antibiotic used for urinary tract infections as well as valproic acid, belonging to antiepileptic drugs, were also incorporated in the nanoparticles.

GdDyTb-NO_3 nanoparticles were also used for the development of nanohybrids. More specifically, glutamic acid, histidine and the aromatic amino acids phenylalanine and tyrosine were successfully incorporated into the GdDyTb-NO_3 nanoparticles by using the ion exchange method.

In addition to the ion exchange method, nanohybrids were also prepared by using a delamination procedure. The dipeptide L-Ala-Gln was added to the GdDy-NO_3 and glutamic acid incorporated in the GdDyTb-NO_3 nanoparticles by using this particular method.

In order to develop nanohybrids with a tumor cell targeting ability, the surface of the GdDy-NO_3 nanoparticles was modified with amino groups and subsequently with folic acid. Such nanoparticles could be loaded with an anticancer drug and directed to tumor cells that overexpress folic acid receptors.

Key words: layered double hydroxides, targeted drug delivery, anion exchange, delamination

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ 14
Κεφάλαιο 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ 16
1.1 Συμβατικές μεθόδοι και συστήματα μεταφοράς φαρμάκων 16
1.2 Δομή στοιβαγμένων διπλών υδροξειδίων 17
1.3 Ιδιότητες και εφαρμογές 18
1.4 Τεχνικές σύνθεσης 19
1.4.1 Μέθοδος της συγκαταβύθισης 19
1.4.2 Μέθοδος ανιοανταλλαγής 20
1.4.3 Μέθοδος αποστοίβαξης 20
1.5 Τεχνικές Χαρακτηρισμού 21
1.5.1 Περίθλαση ακτίνων Χ (X-Ray Diffraction XRD) 21
1.5.2 Φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR Fourier-transform infrared spectroscopy) 22
1.5.3 Ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (Transmission Electron Microscopy TEM) 22
1.5.4 Μοριακή Φθορισμομετρία 22
1.5.5 Θερμοσταθμική ανάλυση (TGA) 23
1.5.6 Κυκλική Βολταμετρία 23
1.6 Στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων 23
1.7 Μαγνητικά νανοσωματίδια 25
1.8 Σκοπός 28
Κεφάλαιο 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 29
2.1 Σύνθεση νανοσωματιδίων γαδολινίου δυσπροσίου με αντισταθμιστικά νιτρικά ανιόντα (GdDy-NO_3) 29
2.2 Προσθήκες αμινοξέων με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής GdDy-NO_3 29
2.2.1 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη ασπαραγινικού οξέος (GdDy-Asp) 29
2.2.2 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη αλανίνης (GdDy-Ala) 29
2.2.3 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη γλουταμίνης (GdDy-Gln) 30
2.2.4 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη γλυκίνης (GdDy-Gly) 30
2.2.5 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη κυστεϊνης (GdDy-Cys) 30
2.2.6 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη θρεονίνης (GdDy-Thr) 30
2.3 Επιφανειακή τροποποίηση νανοσωματιδίδιων GdDy-NO_3 30
2.3.1 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου δεσμευμένα με αμινομάδες (GdDy-NH_2) 30

2.3.2 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με επόμενη τροποποίηση με φολικού οξέος (GdDy-FA).....31

2.3.3 Προσθήκη του αμινοξέος γλυκίνη στα επιφανειακά τροποποιημένα νανοσωματίδια με φολικό οξύ (GdDy-FA-Gly) 31

2.4 Προσθήκες φαρμάκων με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3.....31

2.4.1 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη διπεπτιδίου L-Αλανίνη-Γλουταμίνη (GdDy-L-Ala-Gln) 31

2.4.2 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη νιτροφουραντοϊνης (GdDy-Nitrofurantoin) 32

2.4.3 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη βαλπροϊκού οξ;έος (GdDy-Valproic acid).....32

2.5 Σύνθεση νανοσωματιδίων γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με αντισταθμιστικά νιτρικά ανιόντα (GdDyTb-NO_3).....32

2.6 Προσθήκες αμινοξέων με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3.....32

2.6.1 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκη γλουταμινικού οξέος (GdDyTb-Glu) 32

2.6.2 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκ ιστιδίνης (GdDyTb-His)..33

2.6.3 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκη φαινυλαλανίνης (GdDyTb-Phe) 33

2.6.4 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκη τυροσίνης (GdDyTb-Tyr) 33

2.7 Προσθήκες φαρμάκων στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 με τη μέθοδο της αποστοίβαξης με διαλύτη γλυκερόλη.....33

2.7.1 GdDy-L-Ala-Gln.....33

2.7.2 GdDy-Glu.....34

2.8 Απορρόφηση UV Αρωματικών Αμινοξέων 34

Κεφάλαιο 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ 35

3.1 Σύνθεση και χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων 35

3.1.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-NO_3 35

3.1.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-NO_3 37

3.2 Προσθήκες αμινοξέων σε νανοσωματίδια GdDy-NO_3 με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής.....39

3.2.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Asp.....40

3.2.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Ala.....41

3.2.3 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Gln 42

3.2.4 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Gly.....43

3.2.5 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Cys 44

3.2.6 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Thr 45

3.3 Χαρακτηρισμός επιφανεικά τροποιημένων νανοσωματιδίων GdDy-NO_3 46
3.3.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-NH_2 46
3.3.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-FA 47
3.3.3 Προσθήκη αμινοξέος γλυκίνη στα επιφανειακά τροποποιημένα νανοσωματίδια με φολικό οξύ (GdDy-FA-Gly) 48
3.4 Προσθήκες φαρμάκων στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής 50
3.4.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy- L-Ala-Gln 50
3.4.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Nitrofurantoin 51
3.4.3 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Valproic acid 52
3.5 Προσθήκες αμινοξέων στα νανοσωματίδια GdDyTb-NO_3 με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής 53
3.5.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-Glu 53
3.5.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-His 55
3.5.3 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-Phe 56
3.5.4 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-Tyr 58
3.6 Προσθήκες φαρμάκων στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 με τη μέθοδο της αποστοίβαξης με διαλύτη γλυκερόλη 61
3.6.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy - L-Ala-Gln 61
3.6.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-Glu 62
Κεφάλαιο 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 64
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 65

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

GdDy-NH_2 : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου δεσμευμένα με αμινομάδε

GdDy-FA : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με τροποποίηση με φολικού οξέος

GdDy-FA - Gly : Επιφανειακά τροποποιημένα νανοσωματίδια γαδολινίου-δυσπροσίου με φολικό οξύ με ενσωματωμένο το αμινοξύ γλυκίνη

MRI: Magnetic Resonance Imaging

FID : Free induction decay Σήμα ελεύθερης επαγωγικής απόσβεσης

XRD: Περίθλαση Ακτίνων X X-Ray Diffraction

BBB: Blood Brain Barrier

TEM: Transmission Electron Microscopy

FT-IR: Fourier-transform infrared spectroscopy

TGA : Θερμοσταθμική ανάλυση

GdDy-NO_3 : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με αντισταθμιστικά νιτρικά ανιόντα

GdDy -Asp : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη ασπαραγινικού οξέος

GdDy -Ala : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη αλανίνης

GdDy –Gln: Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη γλουταμίνης

GdDy –Gly: Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη γλυκίνης

GdDy –Cys : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη κυστεϊνης

GdDy –Thr : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη θρεονίνης

GdDy-L-Ala-Gln : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη διπεπτιδίου L-Αλανίνη-Γλουταμίνη

GdDy-Nitrofurantoin : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη νιτροφουραντοϊνης

GdDy-Valproic acid : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη βαλπροϊκού οξ;έος

GdDyTb-NO_3 : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με αντισταθμιστικά νιτρικά ανιόντα

GdDyTb-Glu : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκη γλουταμινικού οξέος

GdDyTb-His : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκ ιστιδίνης

GdDyTb-Tyr : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκη τυροσίνης

GdDyTb-Phe : Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκη φαινυλαλανίνης

UV : Ultraviolet

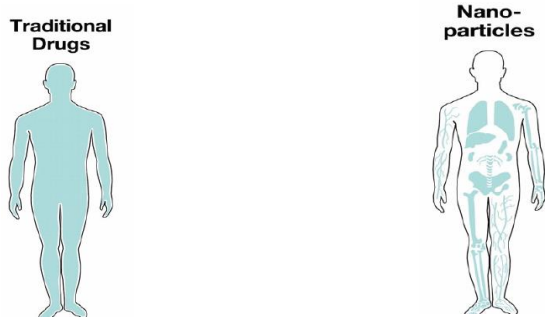
Κεφάλαιο 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Συμβατικές μεθόδοι και συστήματα μεταφοράς φαρμάκων

Η χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών απαιτεί ένα σύστημα δοσολογίας στη φαρμακευτική θεραπεία το οποίο αμέσως να επιτυγχάνει την επιθυμητή θεραπευτική συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα και να τη διατηρεί σταθερή για όλη τη διάρκεια της θεραπείας. Η συχνότητα χορήγησης ή το διάστημα δόσης εξαρτάται από την ημιζωή ή τον μέσο χρόνο παραμονής του.

Στις συμβατικές μεθόδους χορήγησης φαρμάκων η δραστική ουσία περνάει από την κυκλοφορία του αίματος σε όλο το σώμα, με αποτέλεσμα ένα μόνο μέρος της να φτάνει τελικά στο σημείο δράσης της. Η αποικοδόμηση, η κακή βιοδιαθεσιμότητα και η χαμηλή κυκλοφοριακή σταθερότητα του φαρμάκου απαιτούν τη χορήγηση επαναλαμβανόμενων δόσεων. Η δραστική ουσία μένει στο σώμα προκαλώντας παρενέργειες και είναι πιθανόν να επηρεάσει άλλα όργανα ή ιστούς. Έτσι, η αποτελεσματικότητά τους περιορίζεται [1].

Με τα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων η χορήγηση γίνεται από κατάλληλο φορέα, με ελεγχόμενη απελευθέρωση και σε συγκεκριμένο χρόνο, διάρκεια και θέση στον οργανισμό. Η δραστική ουσία μεταφέρεται ακριβώς στο σημείο που πρέπει να δράσει μέσα στον οργανισμό του ασθενούς (Εικόνα 1.1)



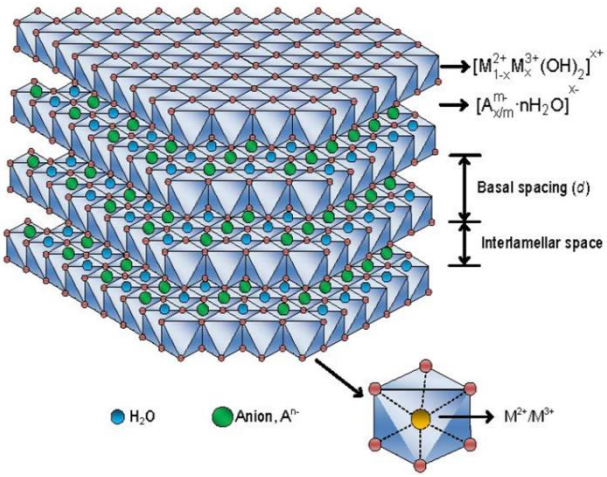
Εικόνα 1.1. Κατανομή δραστικής ουσίας με τις συμβατικές μεθόδους έναντι των συστημάτων μεταφοράς φαρμάκων

Τα στοιβαγμένα διπλά υδροξείδια αποτελούν φορείς χορήγησης φαρμάκων.

1.2 Δομή στοιβαγμένων διπλών υδροξειδίων

Ο υδροταλκίτης είναι ένας φυσικώς απαντώμενος υδροξυανθρακικός εστέρας του μαγνησίου και του αργιλίου που ανακαλύφθηκε στη Σουηδία το 1842 με φόρμουλα $Mg_6Al_2(OH)_{16}CO_3 \cdot 4H_2O$ [1]. Η δομή του υδροταλκίτη είναι παρόμοια με εκείνη του βρουσίτη, $Mg(OH)_2$, μια εξαγωνική διαμόρφωση υδροξυλίων, όπου κατιόντα μαγνησίου γεμίζουν όλες τις οκταεδρικές οπές κάθε δύο στρώματων. Τα στοιβαγμένα διπλά υδροξείδια είναι ανόργανα πολυμερή τα οποία αποτελούνται από μέταλλα γεφυρωμένα με υδροξείδια [2] και ακολουθούν το γενικό τύπο $M_X^{II}M_Y^{III}(OH_{2X+2Y})[A^{n-}]_{y/n}.zH_2O$ όπου M^{II} και M^{III} είναι δισθενή και τρισθενή μέταλλα και A^{n-} είναι τα αντισταθμιστικά ανιόντα, στην περίπτωσή μας νιτρικά ανιόντα [3].

Τα πιο κοινά μέταλλα που χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση των στοιβαγμένων διπλών υδροξειδίων είναι το μαγνήσιο και το αργίλιο. Μέταλλα που επίσης έχουν χρησιμοποιηθεί είναι τα Zn, Co, Ni, Mn, Fe (δισθενή) και τα Cr, Co, Fe, V, Y, Mn (τρισθενή) καθώς και στοιχεία λανθανιδών. Στοιχεία που αφορούν και την παρούσα μελέτη [4],[5]. Δισθενή ή και τρισθενή θετικά φορτισμένα μέταλλα γεφυρώνονται με ομάδες υδροξειδίων σχηματίζοντας οκτάεδρα. Η γραμμική ένωση αυτών οκταέδρων διαμορφώνει ένα φύλλο (Εικόνα 1.2). Η φυλλοειδής αυτή δομή έχει την ιδιότητα να φιλοξενεί ενδιάμεσα στα θετικά φορτισμένα στρώματα, αρνητικώς φορτισμένες ενώσεις. Η διαφορά αυτή στο φορτίο καθώς και η παρουσία μορίων νερού προσδίδουν τη σταθερότητα στη δομή [6].

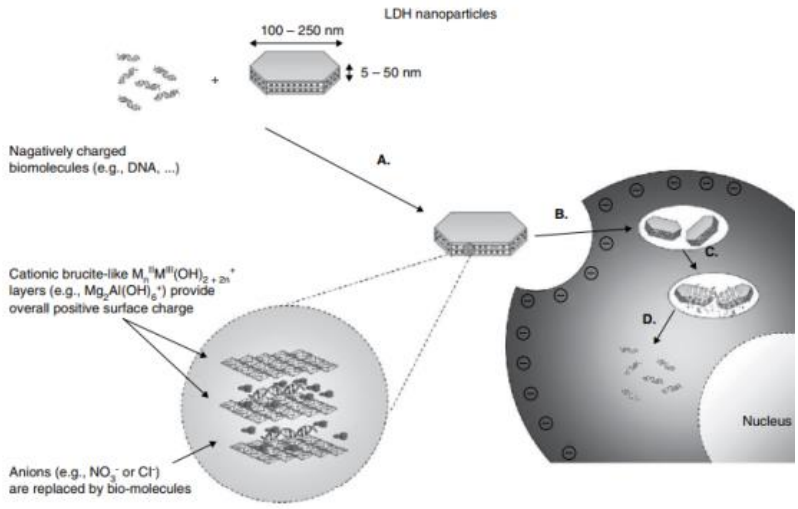


Εικόνα 1.2 Σχηματική δομή στοιβαγμένων διπλών υδροξειδίων

Οι δομές αυτές έχουν τη δυνατότητα να φιλοξενούν στο εσωτερικό τους ποικιλία αρνητικά φορτισμένων ενώσεων. Δέχονται απλά ανιόντα μέχρι σύνθετα μόρια. Φιλοξενούν πορφυρίνες [7] καθώς και λιπαρά οξέα [8]. Εξετάστηκε η προσθήκη διάφορων φαρμακευτικών ουσιών όπως αντιφλεγμονώδη φάρμακα [9], αντικαρκινικά φάρμακα [10], [11] και φάρμακα για νευρολογικές παθήσεις όπως το Parkinson [12]. Επίσης, εισήχθηκαν βιολογικά μόρια όπως ATP [13], [14] και DNA [15], [16]. Έχει μελετηθεί η ενσωμάτωση βιταμινών όπως το ασκορβικό οξύ [17], [18], η βιταμίνη A και E [19]. Επιπρόσθετα, επιτεύχθηκε επικάλυψη των νανοσωματιδίων με πρωτεϊνες [20].

1.3 Ιδιότητες και εφαρμογές

Οι δομές αυτές έχουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και ιδιότητες που τις καθιστούν δημοφιλείς στη στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων. Αρχικά, είναι εύκολα στη σύνθεση γεγονός που μας δίνει τη δυνατότητα να συνθέσουμε διάφορες δομές. Έπειτα, έχουν καλή θερμική σταθερότητα, μπορούν να γίνουν δοκιμές με πειράματα που απαιτούν υψηλές θερμοκρασίες, και έχουν μεγάλη ειδική επιφάνεια. Επίσης, είναι μη τοξικά και βιοσυμβατά για τον οργανισμό. Αποσυντίθενται σε όξινες συνθήκες και με αυτό τον τρόπο απελευθερώνουν τη φαρμακευτική ένωση ελεγχόμενα. Ακόμα, δέχονται χημικές και βιολογικές τροποποιήσεις με στόχο τη σκόπιμη μεταφορά τους σε επιθυμητά σημεία στον οργανισμό και την κυτταρική στόχευση. Επιπλέον, ενθυλακώνουν αδιάλυτα στο νερό φάρμακα και τα προστατεύουν από τυχόν υδρόλυση ή ενζυματική αποικοδόμηση που μπορεί να δεχτούν. Δρουν σε επίπεδο ιστού ακόμα και κυττάρου αφού μπορούν να ενσωματωθούν στο εσωτερικό του κυττάρου με φαγοκυττάρωση /ενδοκύτωση (Εικόνα 1.3). Τέλος, χάρις στο μικρό μέγεθος και τη στοχευμένη χορήγηση, τα νανοσωματίδια μπορούν να εισέλθουν στο κυκλοφορικό και λεμφικό σύστημα και τελικά στους ιστούς και τα όργανα, με στόχο τη διάγνωση αλλά και τη χορήγηση φαρμάκων σε κακοήθεις ιστούς.



Εικόνα 1.3 Ενδοκύτωση νανοσωματιδίων

Λόγω αυτών των ιδιοτήτων τους έχουν ένα πολλά υποσχόμενο μέλλον στην παράδοση και απελευθέρωση φαρμάκων, ανοίγοντας ευρείες δυνατότητες για έρευνες και ανάπτυξη για την κλινική εφαρμογή. Μπορούν να βρουν ποικίλες εφαρμογές σε διάφορους τομείς. Στον περιβαλλοντικό τομέα χρησιμοποιούνται για απομάκρυνση βαρέων μετάλλων, όπως για παράδειγμα η απομάκρυνση του αρσενικού από το νερό [21]. Στον τομέα της ιατρικής μελετώνται για τη φωτοδυναμική θεραπεία [22], [23] καθώς και για τη αντιμετώπιση του καρκίνου [24], [25]. Επίσης, χρησιμοποιούνται στην κατάλυση όπου έχουν παρασκευαστεί ετερογενή καταλύτες για τη διάσπαση του υπεροξειδίου [26].

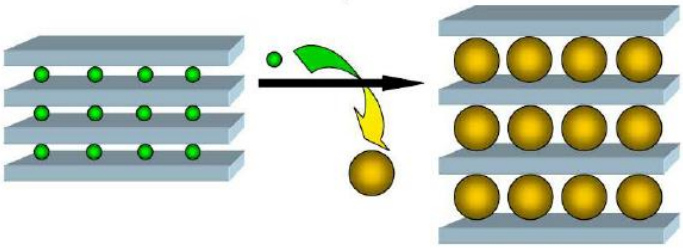
1.4 Τεχνικές σύνθεσης

1.4.1 Μέθοδος της συγκαταβύθισης

Οι τεχνικές προσθήκης των φαρμάκων στα νανοσωματίδια ποικίλουν. Τεχνική η οποία ομοιάζει με τη τεχνική σύνθεσής τους είναι η μέθοδος της συγκαταβύθισης. Σύμφωνα με την τεχνική αυτή διάλυμα τρισθενών και δισθενών μετάλλων αναμιγνύεται στάγδην με διάλυμα του επιθυμητού παρεμβαλλόμενου ανιόντος, με ταυτόχρονη ρύθμιση του pH με χρήση βάσης ώστε να προωθήσει τη συγκαταβύθιση.

1.4.2 Μέθοδος ανιοανταλλαγής

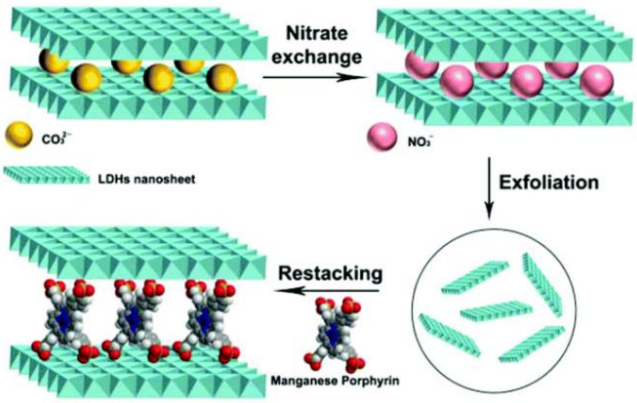
Η πιο καθιερωμένη τεχνική σύνθεσης είναι η μέθοδος της ανιοανταλλαγής. Σε διάλυμα νανοσωματιδίων προστίθεται διάλυμα που περιέχει τα αρνητικώς φορτισμένα ιόντα με κατάλληλη ρύθμιση του pH. Τα αρχικά αντισταθμιστικά ανιόντα που υπάρχουν δεσμευμένα ανάμεσα στα ανόργανα στρώματα, στην περίπτωσή μας νιτρικά ανιόντα, ανταλάσσονται με έντονη ανάδευση με τα ανιόντα που προστέθηκαν στο μείγμα (Εικόνα 1.4) [4].



Εικόνα 1.4 Μέθοδος ανιοανταλλαγής

1.4.3 Μέθοδος αποστοίβαξης

Τα τελευταία χρόνια έγινε γνωστή η ενσωμάτωση χημικών ενώσεων στη φυλλοειδή δομή των νανοσωματιδίων με τη μέθοδο της αποστοίβαξης. Τεχνική με την οποία η φυλλοειδής διάταξη αποδιατάσσεται, ενσωματώνονται οι επιθυμητές φαρμακευτικές ενώσεις και έπειτα η δομή επαναδιατάσσεται (Εικόνα 1.5).



Εικόνα 1.5 Μέθοδος αποστοίβαξης

Αρχικά, κατάλληλος διαλύτης προστίθεται σε ποσότητα νανοσωματιδίων. Με χρήση βάσης το pH αυξάνεται και έπειτα προστίθεται το επιθυμητό ανιόν. Το διάλυμα αφήνεται σε υπέρηχους για 30 λεπτά. Τα νανοσωματίδια τελικά αποστοιβάζονται και δημιουργείται ένα ομοιογενές διάλυμα, στο οποίο τώρα υπάρχουν μονοστοιβάδες. Με φυγοκέντρηση τα επιθυμητά ανιόντα δεσμεύονται στα ανόργανα στρώματα, τα νανοσωματίδια επαναστοιβάζονται και αποκτούν ξανά την αρχική τους δομή [27]. Η μέθοδος της αποστοίβαξης έχει μελετηθεί με χρήση διάφορων διαλυτών [28], για ενσωμάτωση αμινοξέων [29] καθώς και για μεταφορά του DNA [30].

1.5 Τεχνικές Χαρακτηρισμού

Για την μελέτη των νανοσωματιδίων χρησιμοποιούνται οι εξής τεχνικές: περίθλαση ακτίνων Χ, φασματοσκοπία υπερύθρου, ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης, θερμοσταθμική ανάλυση, μοριακή φθορισμομετρία και κυκλική βολταμετρία.

1.5.1 Περίθλαση ακτίνων Χ (X-Ray Diffraction XRD)

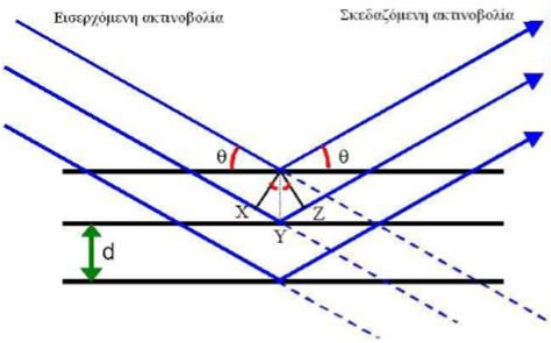
Η πρώτη τεχνική χαρακτηρισμού που εφαρμόστηκε ήταν η περίθλαση ακτίνων Χ (Εικόνα 1.6). Αυτή η τεχνική μελετά τη δομή των κρυσταλλικών στερεών. Όταν μια δέσμη ακτίνων Χ πέφτει πάνω σε έναν κρύσταλλο τότε η δέσμη αλληλεπιδρά με τα άτομα του κρυστάλλου και δημιουργείται το φαινόμενο της σκέδασης. Ακολουθείται ο νόμος του Νόμος του Bragg κατά τον οποίο nλ=2dημθ όπου

n = ακεραιος αριθμός

λ = ακτινοβολία μήκου κυματος λ

d = απόσταση μεταξύ διαδοχικών κρυσταλλικών επιπέδων

θ = γωνία σκέδασης



Εικόνα 1.6 Περίθλαση ακτίνων Χ

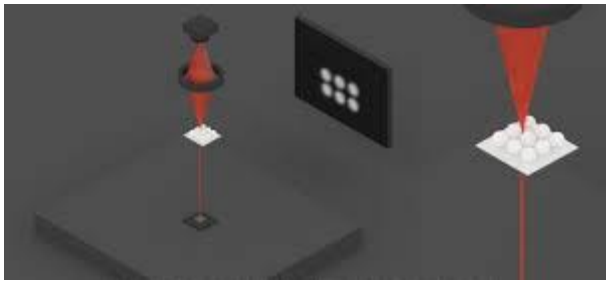
Σύμφωνα με το νόμο του Bragg όσο μειώνεται η γωνία σκέδασης, τόσο αυξάνεται η απόσταση μεταξύ διαδοχικών κρυσταλλικών επιπέδων. Η αύξηση αυτή οφείλεται στην πιθανή ενσωμάτωση χημικής ένωσης.

1.5.2 Φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR Fourier-transform infrared spectroscopy)

Μια επόμενη τεχνική είναι η φασματοσκοπία υπερύθρου η οποία δίνει πληροφορίες για τη ταυτότητα των χημικών δεσμών που υπάρχουν στο προς ανάλυση δείγμα. Όταν υπέρυθρη ακτινοβολία προσπίπτει στην προς εξέταση μας ουσία ένα ποσοστό φωτονίων απορροφάται από αυτήν. Η απορρόφηση αυτή συμβαίνει σε συγκεκριμένη συχνότητα, χαρακτηριστική για κάθε είδος δεσμού. Η συχνότητα αυτή ισοδυναμεί με τη διαφορά δύο επιπέδων δόνησης. Οι σχετικές θέσεις των ατόμων σε ένα μόριο δεν είναι απόλυτα καθορισμένες. Αλλάζουν ως αποτέλεσμα των περιστροφικών και δονητικών κινήσεων του μορίου. Καθε κορυφή του φάσματος IR αντιστοιχεί σε μια μορφή δόνησης ενός δεσμού.

1.5.3 Ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (Transmission Electron Microscopy TEM)

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης αποτελεί τεχνική μικροσκοπίας κατά την οποία μια δέσμη ηλεκτρονίων χτυπάει πάνω στο δείγμα. Η αλληλεπίδραση αυτή έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μιας εικόνας. Η εικόνα αυτή μεγενθύνεται και εστιάζεται με χρήση συσκευής απεικόνισης (Εικόνα 1.7). Η ηλεκτρονική μικροσκοπία μετάδοσης έχει ικανότητα απεικόνισης υψηλής ανάλυσης και της αποτύπωσης λεπτομεριών. Δίνει χαρακτηριστικά για τη δομή του υλικού, όπως η κρυσταλλικότητα, αλλά και την μορφολογία.



Εικόνα 1.7 Αρχή λειτουργίας του TEM

1.5.4 Μοριακή Φθορισμομετρία

Η μοριακή φθορισμομετρία αποτελεί τεχνική με την οποία λαμβάνονται φάσματα φθορισμού στα οποία παρουσιάζονται κορυφές ως αποτέλεσμα ενεργειακών μεταπτώσεων ηλεκτρονίων. Άτομα ή μόρια διεγείρονται από ακτινοβολία κατάλληλου μήκους κύματος, απορροφώντας ενέργεια και μεταβαίνουν σε υψηλότερη ενεργειακή στοιβάδα. Κατά την

επαναφορά των ηλεκτρονίων στη βασική στοιβάδα εκπέμπεται ακτινοβολία φθορισμού μεγαλύτερου μήκους κύματος.

1.5.5 Θερμοσταθμική ανάλυση (TGA)

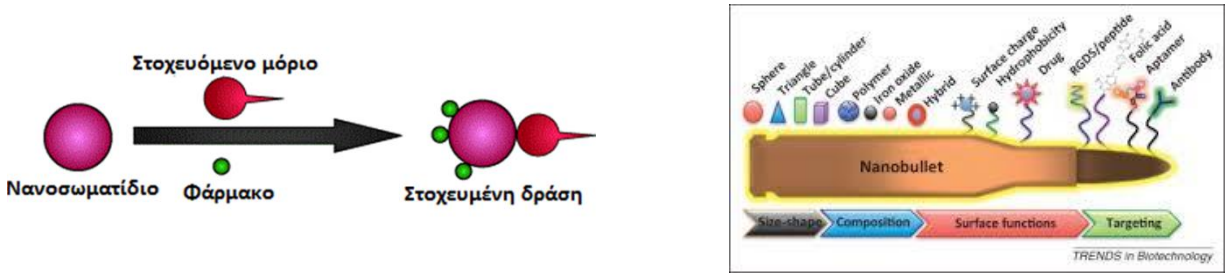
Η θερμοσταθμική ανάλυση (TGA) είναι μια αναλυτική τεχνική προσδιορισμού της θερμικής σταθερότητας των υλικών. Κατά την ανάλυση καταγράφεται συνεχώς η μεταβολή της μάζας του δείγματος σε μια ελεγχόμενη ατμόσφαιρα, ως συνάρτηση της θερμοκρασίας. Μελετάται η μεταβολή του βάρους, λόγω κάποιας μεταβολής στις ιδιότητες του υλικού, σε σχέση με τη μεταβολή της θερμοκρασίας. Επίσης, προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε διαλύτη και η παρουσία πτητικών ειδών. Μπορεί ακόμη, να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητα σε νερό ή των υπολειμματικών διαλυτών σε ένα υλικό.

1.5.6 Κυκλική Βολταμετρία

Η κυκλική βολταμετρία αποτελεί μέθοδο η οποία χρησιμοποιείται στην ηλεκτροχημεία. Παρέχει πληροφορίες για την οξειδωτική ή την αναγωγική διαδικασία, επιτρέπει την κατανόηση περίπλοκων δράσεων μεταφοράς ηλεκτρονίων στη βιοχημεία και στη χημεία μακρομορίων. Χρησιμοποιείται για το χαρακτηρισμό οξειδοαναγωγικών ιδιοτήτων ενώσεων και τη μελέτη μηχανισμών οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων.

1.6 Στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων

Η ανάπτυξη νέων συστημάτων στοχευμένης χορήγησης φαρμάκων με νανοσωματίδια μελετάται εκτενώς τα τελευταία χρόνια. Εξετάζεται η δημιουργία συστημάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για παροχή στοχευμένης απελευθέρωσης φαρμάκων, βελτίωσης της βιοδιαθεσιμότητας, διατήρησης, απελευθέρωσης φαρμάκων ή διαλυτοποίησης φαρμάκων για συστηματική χορήγηση. Η χορήγηση της φαρμακευτικής ένωσης γίνεται ενεργά με τη δέσμευση του φαρμάκου στον επιθυμητό ιστό ή κύτταρο είτε παθητικά με την ενσωμάτωση του θεραπευτικού παράγοντα σε ένα νανοσωματίδιο που φθάνει παθητικά στο όργανο στόχο [31]. Σε αυτόν τον τομέα πολύ διαδεδομένη είναι η έννοια των magic bullet (Εικόνα 1.8). Το καινοτόμο σύστημα αυτό περιλαμβάνει μια συντονισμένη συμπεριφορά τριών στοιχείων του φαρμάκου, της ομάδας στόχευσης και του φαρμακευτικού φορέα. Το φάρμακο οδηγείται στο στόχο, απελευθερώνεται και δρα στο ακριβές επιθυμητό σημείο.

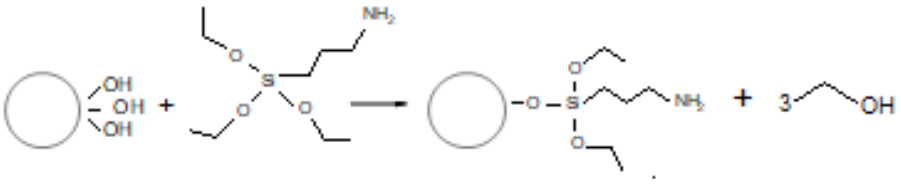


Εικόνα 1.8 Σύνθεση συστήματος στοχευμένης χορήγησης

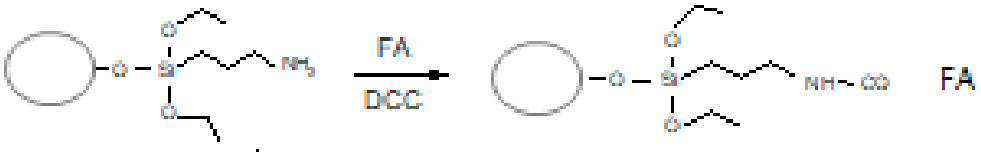
Τα συστήματα αυτά δέχονται τροποποιήσεις επιφανειακά με μόρια ή ενώσεις με χημική συγγένεια με τις επιθυμητές περιοχές στόχους [32].

Μια σημαντική κατηγορία στοχευμένης χορήγησης φαρμάκων είναι τα λιποσώματα αφού έχει αποδειχθεί ότι είναι χρήσιμα για την παροχή φαρμακευτικών παραγόντων. Η παράδοση της φαρμακευτικής ουσίας περιλαμβάνει δέσμευση ή αλληλεπίδραση με τη στοχευόμενη κυτταρική μεμβράνη. Επιτρέπεται η αυξημένη ανταλλαγή λιπιδίων με τη λιπιδική μονοστιβάδα του νανοσωματιδίου, η οποία επιταχύνει τη μεταφορική ροή των λιποφιλικών φαρμάκων για να διαλυθεί μέσω της εξωτερικής λιπιδικής μεμβράνης των νανοσωματιδίων στα στοχευόμενα κύτταρα.

Τα στοιβαγμενα διπλά υδροξείδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φορείς στοχευμένης κυτταρικής στόχευσης. Μία εφαρμογή τους είναι η κυτταρική στόχευση καρκινικών κυττάρων με φολικό οξύ. Τα νανοσωματίδια αυτά έχουν τη δυνατότητα να δεχτούν επιφανειακή τροποποίηση με αμινομάδες με χρήση (3-αμινοπρόπυλ)-τριμεθόξυσιλανιο με σκοπό επόμενη τροποποίηση με φολικό οξύ.



Εικόνα 1.9 Δέσμευση αμινομάδας στα νανοσωματίδια



Εικόνα 1.10 Πρόσδεση φολικού οξέος

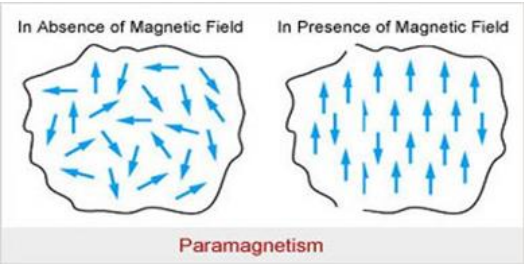
Αρχικά, τα νανοσωματίδια αντιδρούν με το (3-αμινοπρόπυλ)-τριμεθόξυσιλανιο APTS. Κατά την αντίδραση αυτή σπάει ο δεσμός Si-O και σχηματίζεται δεσμός του οξυγόνου των νανοσωματιδίων με το πιρίτιο (Εικόνα 1.9). Τώρα, τα νανοσωματίδια φέρουν τις αμινομάδες. Έπειτα, γίνεται προσθήκη του φολικού οξέος όπου σχηματίζεται πεπτιδικός δεσμός μεταξύ του αζώτου των αμινομάδων που προέρχονται από το APTS και του καρβοξυλίου του φολικού οξέος (Εικόνα 1.10).

Τα καρκινικά κύτταρα υπερεκφράζουν υποδοχείς φολικού οξέος. Τα τροποποιημένα νανοσωματίδια συνδέονται ισχυρά με τα κύτταρα με τους φολικούς υποδοχείς. Το όξινο pH (pH = 4) των καρκινικών κυττάρων υδρολύει τα στοιβαγμένα διπλά υδροξείδια και στοχευμένα πλέον απελευθερώνεται για να δράσει τοπικά και άμεσα η φαρμακευτική ένωση η οποία ήταν ενσωματωμένη σε αυτά [33]. Επιπρόσθετα, η στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων με χρήση νανοσωματιδίων μπορεί να περιλαμβάνει τροποποιήσεις με σκοπό να μπορούν να διέρχονται μέσω του BBB αιματοεγκεφαλικού φραγμού (blood-brain barrier). Συγκεκριμένα δέχονται επιφανειακή τροποποίηση με Tween 80 ώστε να έχουν τη ικανότητα να διαπερνούν τους διάφορους βιολογικούς φραγμούς και να φθάνουν στα επιθυμητά σημεία δράσης [34].

1.7 Μαγνητικά νανοσωματίδια

Τα μαγνητικά νανοσωματίδια αποτελούνται από μέταλλα ή μεταλλικά οξείδια τα οποία βρίσκονται εντός μιας ανόργανης δομής. Λειτουργούν ως μαγνητικοί φορείς, αφού κατευθύνονται από ένα εξωτερικό μαγνητικό πεδίο.

Η ταξινόμηση των υλικών γίνεται σε τέσσερις κατηγορίες. Τα διαμαγνητικά υλικά δεν παρουσιάζουν μαγνητικά δίπολα, έχουν χαμηλή μαγνήτιση και αντίθετη με το μαγνητικό πεδίο. Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει τα παραμαγνητικά υλικά. Περιέχουν δίπολα που απουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου βρίσκονται τυχαία προσανατολισμένα ενώ παρουσία αυτού τέινουν να ευθυγραμμίζονται μαζί του (Εικόνα 1.11). Τα σιδηρομαγνητικά υλικά είναι μερικώς ευθυγραμμισμένα ακόμα και απουσία μαγνητικού πεδίου. Τέλος, τα αντισιδηρομαγνητικά υλικά έχουν δίπολα τα οποία παρουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου στοιχίζονται αντιπαράλληλα με το μαγνητικό πεδίο, δίνοντας έτσι, μηδενική συνολική μαγνήτιση. Τα στοιχεία των λανθανιδών ανήκουν στην κατηγορία των παραμαγνητικών υλικών.



Εικόνα 1.11 Μαγνητικές ροπές απουσία και παρουσία μαγνητικού πεδίου στα παραμαγνητικά στοιχεία

Ο παραμαγνητισμός οφείλεται στην ύπαρξη ασύζευκτων ηλεκτρόνιων. Ισχυρότερα μαγνητικά φαινόμενα παρατηρούνται μόνο όταν εμπλέκονται d ή f ηλεκτρόνια (Εικόνα 1.12). Το μέγεθος της μαγνητικής ροπής σε ένα άτομο λανθανίδων μπορεί να είναι αρκετά μεγάλο επειδή μπορεί να έχει μέχρι και 7 ασύζευκτα ηλέκτρόνια.

Lanthanide Electron Configurations

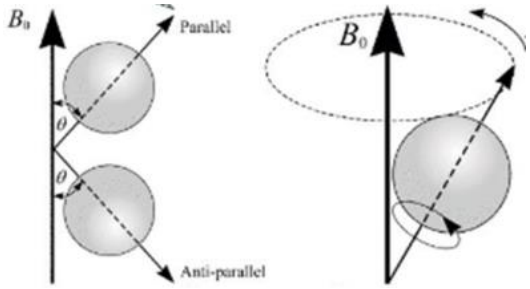
Symbol	Idealized	Observed	Symbol	Idealized	Observed
La	$5d^16s^2$	$5d^16s^2$	Tb	$4f^85d^16s^2$	4f9 6s2
Ce	$4f^15d^16s^2$	$4f^15d^16s^2$	Dy	$4f^95d^16s^2$	4f10 6s2
Pr	$4f^25d^16s^2$	4f3 6s2	Ho	$4f^{10}5d^16s^2$	4f11 6s2
Nd	$4f^35d^16s^2$	4f4 6s2	Er	$4f^{11}5d^16s^2$	4f12 6s2
Pm	$4f^45d^16s^2$	4f5 6s2	Tm	$4f^{12}5d^16s^2$	4f13 6s2
Sm	$4f^55d^16s^2$	4f6 6s2	Yb	$4f^{13}5d^16s^2$	4f14 6s2
Eu	$4f^65d^16s^2$	4f7 6s2	Lu	$4f^{14}5d^16s^2$	4f145d16s2
Gd	$4f^75d^16s^2$	4f75d16s2			

Ion	Unpaired e-	Color	Ion	Unpaired e-	Color
La3+	0	Colorless	Tb3+	6	Pale Pink
Ce3+	1	Colorless	Dy3+	5	Yellow
Pr3+	2	Green	Ho3+	4	Pink; yellow
Nd3+	3	Reddish	Er3+	3	Reddish
Pm3+	4	Pink; yellow	Tm3+	2	Green
Sm3+	5	Yellow	Yb3+	1	Colorless
Eu3+	6	Pale Pink	Lu3+	0	Colorless
Gd3+	7	Colorless			

Εικόνα 1.12 Ηλεκτρονιακή κατανομή λανθανιδών

Το σπουδαιότερο παραμαγνητικό στοιχείο είναι το γαδολίνιο καθώς έχει 7 ασύζευκτα ηλεκτρόνια, γεγονός που το καθιστά πολύ δημοφιλή στη χρήση του στην απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI).

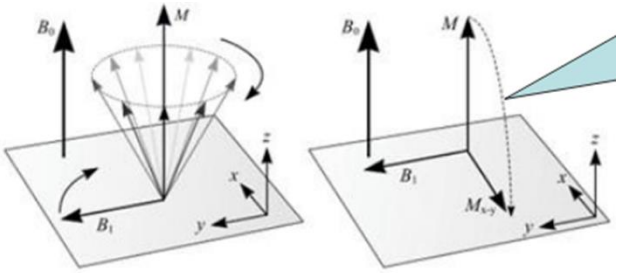
Οι πυρήνες ευθυγραμμίζονται με μαγνητικές ροπές σε παράλληλη ή αντιπαράλληλη διάταξη.



Εικόνα 1.13 Ευθυγράμμιση μαγνητικών πυρήνων

Στους ιστούς του σώματος ευθυγραμμίζονται παράλληλα δημιουργώντας ένα μικρό μαγνητισμό στην κατεύθυνση του Bo. Τα πρωτόνια συμπεριφέρονται ως μαγνητικά δίπολα ή ως μικροσκοπικοί μαγνήτες. Όταν ο πυρήνας εισέλθει στο μαγνητικό πεδίο B_0, το πεδίο αλληλεπιδρά με τη μαγνητική ροπή μ και αναπτύσσεται μια ροπή στρέψης, η οποία τείνει να ευθυγραμμίσει τη μ με το πεδίο B_0 (Εικόνα 1.13).

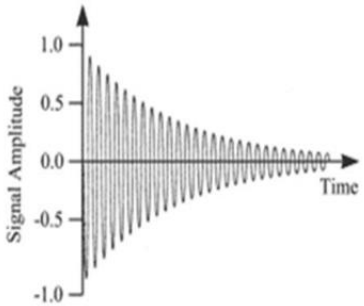
Το άνυσμα της M (Μαγνήτιση) πρέπει να μετακινηθεί στο επίπεδο ώστε να μπορεί να ανιχνευθεί. Το σύστημα πυρήνων εκτίθεται σε μια διαταραχή με συχνότητα (συχνότητα ακτινοβολίας RF) ίση με τη χαρακτηριστική συχνότητα Larmor (Εικόνα. 1.14)



Εικόνα 1.14 Το άνυσμα της M στο επίπεδο

Τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια παρουσιάζουν spin. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή σήματος μαγνητικού συντονισμού! Στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχει μεγάλος αριθμός υδρογόνων εξαιτίας του νερού, τα οπόία αποτελούν πηγή σήματος για το MRI.

Πηνία στο εσωτερικό του μαγνήτη παράγουν παλμούς ραδιοσυχνότητας RF ώστε το B1 της RF να είναι κάθετο στο Bo. Μετά την παύση του παλμού, το μαγνητικό πεδίο M προσπαθεί να επανέλθει στην αρχική τιμή και διεύθυνση. Η μεταβολή αυτή δημιουργεί τα FID σήματα ελεύθερης επαγωγικής απόσβεσης. Η μετατροπή του πλάτους του σηματος από συνάρτηση χρόνου σε συνάρτηση συχνότητας ονομάζεται σήμα μαγνητικού συντονισμού (Εικόνα 1.15).



Εικόνα 1.15 Σήμα ελεύθερης επαγωγικής απόσβεσης FID

Οι σκιαγραφικές ουσίες προσδίδουν σημαντική μεταβολή στην ένταση του σήματος επηρεάζοντας τους T1, T2 χρόνους. Το γαδολίνιο χρησιμοποιείται ως παράγοντας αντίθεσης καθώς αυξάνει την αντίθεση στις εικόνες του μαγνητικού συντονισμού. Με τη μεγάλη του μαγνητική ροπή το γαδολίνιο μπορεί να μειώσει τους χρόνους αποδιέγερσης του πυρηνικού σπιν και έτσι να βελτιώσει την αντίθεση στην εικόνα που λαμβάνεται. Το τέρβιο με 6 ασύζευκτα f ηλεκτρόνια παρουσιάζει οπτικές ιδιότητες [35], [36], [37],[38].

Η ανάπτυξη νέων σκιαγραφικών παραγόντων δίνουν τη δυνατότητα για ταυτόχρονη ανίχνευση και θεραπεία.

1.8 Σκοπός

Η παρούσα μελέτη είχε ως σκοπό τη σύνθεση και μελέτη νανοσωματιδίων με στοιχεία λανθανιδών. Οι λανθανίδες ως παραμαγνητικά υλικά προσδίδουν στα νανοσωματίδια μαγνητικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητες, γεγονός που δίνει τη δυνατότητα ταυτόχρονης ανίχνευσης και θεραπείας στο MRI.

Τα νανοσωματίδια αποτελούν φορείς μεταφοράς φαρμακευτικών ουσιών στον οργανισμό. Οι ανόργανες δομές αποτελούν έχουν μια σπουδαία θέση στην κατηγορία μεταφοράς φαρμάκων. Πλεονεκτούν στο ότι δέχονται τροποποιήσεις και μετατροπές με τις οποίες επιτυγχάνεται η δημιουργία συστημάτων στοχευμένης χορήγησης φαρμάκων.

Συντέθηκαν επιτυχώς τα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 και GdDyTb-NO_3 με αντισταθμιστικά νιτρικά ανιόντα. Τα υλικά αυτά χαρακτηρίστηκαν λαμβάνοντας πληροφορίες για τη μορφολογία τους και τη δομή τους. Τα νανοϋβρίδια δέχθηκαν κατάλληλη επιφανειακή τροποποίηση με φολικό οξύ με σκοπό τη στόχευση τους σε καρκινικά κύτταρα. Μελετήθηκε αρχικά, η ενσωμάτωση διάφορων αμινοξέων και έπειτα η προσθήκη φαρμακευτικών ουσιών στο εσωτερικό των στρωμάτων με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής καθώς και με τη μέθοδο της αποστοίβαξης.

Κεφάλαιο 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Σύνθεση νανοσωματιδίων γαδολινίου δυσπροσίου με αντισταθμιστικά νιτρικά ανιόντα (GdDy-NO_3)

Η σύνθεση της μήτρας GdDy-NO_3 πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της συγκαταβύθισης. Πιο συγκεκριμένα, 15ml διαλύματος που περιέχει 0.1M $Gd(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ και 0,1M $Dy(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ και ένα διάλυμα NaOH 1M προστίθενται στάγδην σε 50ml H_20 υπό ατμόσφαιρα αζώτου και με συνεχή ανάδευση. Η ανάμειξη των διαλυμάτων γίνεται με τέτοια ροή ώστε το pH σταθεροποιείται στο 7,0 ± 0,5. Το μίγμα θερμαίνεται στους 120°C με συνεχή ανάδευση για 6 ώρες. Φυλάγεται ποσότητα ως στερεό αλλά και ως αιώρημα ώστε να αποφευχθεί η συσσωμάτωση σωματιδίων. Το άσπρο ίζημα που σχηματίζεται καταβυθίζεται με φυγοκέντρηση στα 10000 x g για 10 λεπτά. Γίνονται δύο εκπλύσεις και το ίζημα αφήνεται να στεγνώσει σε θερμοκρασία δωματίου. Το νερό που χρησιμοποιείται είναι απαερωμένο και διπλά απιονισμένο (nanopure).

2.2 Προσθήκες αμινοξέων με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής GdDy-NO_3

Οι πρώτες προσπάθειες εισαγωγής ενώσεων στο εσωτερικό των δομών αυτών αφορούσαν αρχικά, απλά αμινοξέα. Εισήχθηκαν τα αμινοξέα ασπαραγινικό οξύ, αλανίνη, γλουταμίνη, γλυκίνη, κυστεϊνη και θρεονίνη.

2.2.1 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη ασπαραγινικού οξέος (GdDy-Asp)

Σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 50mM προστίθεται 45mmol ασπαραγινικού οξέος. Το pH ρυθμίζεται στο 10 με διάλυμα NaOH 1M. Τέλος προστίθεται 0,1gr GdDy-NO_3. Το μίγμα τελικού όγκου 50 ml αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Το πείραμα γίνεται υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Το ίζημα λαμβάνεται με φυγοκέντρηση σε 10000 x g για 10 λεπτά και γίνονται δύο εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό.

2.2.2 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη αλανίνης (GdDy-Ala)

Σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 30mM διαλύονται 0,1gr αλανίνης. Προστίθεται 0,1gr GdDy-NO_3 και το pH ρυθμίζεται στο 10 με διάλυμα NaOH 1M. Το τελικό μίγμα όγκου 50 ml αφήνεται να αντιδράσει σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Το στερεό συλλέγεται με φυγοκέντρηση στα 10000 x g για 10 min και ξεπλένεται δύο φορές με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό.

2.2.3 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη γλουταμίνης (GdDy-Gln)

Σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 30mM προστίθεται 0,1gr γλουταμίνης. Το pH ρυθμίζεται στο 10 με διάλυμα NaOH 1M. Τέλος προστίθεται 0,1gr GdDy-NO_3. Το μίγμα τελικού όγκου 50 ml αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Το πείραμα γίνεται υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Το ίζημα λαμβλανεται με φυγοκέντρηση σε 10000 x g για 10 λεπτά και ακολουθούν δύο εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό.

2.2.4 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη γλυκίνης (GdDy-Gly)

0,1gr γλυκίνης διαλύονται σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 30mM. Το pH ρυθμίζεται με χρήση διαλύματος NaOH 1M σε τιμή 9. Έπειτα, προστίθεται ποσότητα όγκου που αντιστοιχεί σε 0,1gr νανοσωματιδίων GdDy-NO_3. Το μίγμα τελικού όγκου 50ml αφήνεται να αντιδράσει για 48 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Λευκό ίζημα συλλέγεται με φυγοκέντρηση σε 10000 x g για 10 λεπτά και γίνονται δύο εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό.

2.2.5 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη κυστεϊνης (GdDy-Cys)

Σε διάλυμα ρυθμιστικού Tris 30mM διαλύονται 0,1gr κυστεϊνης. Ακολούθως, προστίθεται 0,1gr GdDy-NO_3 και το pH ρυθμίζεται στο 9 με διάλυμα NaOH 1M. Η αντίδραση διαρκεί 48 ώρες, υπό συνεχή ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Το λευκό στερεό συλλέγεται με φυγοκέντρηση στα 10000 x g για 10 λεπτά. Ακολουθούν εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαραιωμένο νερό.

2.2.6 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη θρεονίνης (GdDy-Thr)

Σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 30mM διαλύονται 0,1gr θρεονίνης. Προστίθεται 0,1gr GdDy-NO_3 και το pH ρυθμίζεται στο 9 με διάλυμα NaOH 1M. Το τελικό μίγμα όγκου 50 ml αφήνεται να αντιδράσει σε θερμοκρασία δωματίου για 48 ώρες. Το στερεό συλλέγεται με φυγοκέντρηση στα 10000 x g για 10 min και ξεπλένετυαι δύο φορές με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό.

2.3 Επιφανειακή τροποποίηση νανοσωματιδίδιων GdDy-NO_3

2.3.1 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου δεσμευμένα με αμινομάδες (GdDy-NH_2)

Έγινε επιφανειακή χημική τροποποίηση των νανοσωματιδίων με αμινομάδες. Συγκεκριμένα, 10 ml διαλύματος GdDy-NO_3 επαναιωρούνται σε 20 ml MeOH που περιέχουν 3mM APTS (3-αμινοπροπυλ)-τριμεθόξυσιλάνιο. Το μίγμα αναδεύεται στους 60°C για 4 ώρες

και φυγοκεντρείται σε 18000 x g για 15 λεπτά. ’Επειτα από δύο εκπλύσεις με MeOH το ίζημα ξηραίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.

2.3.2 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με επόμενη τροποποίηση με φολικού οξέος (GdDy-FA)

Ακολούθως προσδέθηκε φολικό οξύ στην επιφάνεια των τροποποιημένων νανοσωματιδίων. Το ίζημα που φτιάχτηκε προστίθεται σε 40 ml DMSO το οποίο εμπεριέχει 2,95mM φολικό οξύ, 0,25mM DCC, 0,025mM pyridine και 13,9mM NHS. Η αντίδραση ολοκληρώνεται σε 4 ώρες στους 37°C . Ακολουθούν φυγοκεντρήσεις και εκπλύσεις του ιζήματος με DMSO.

2.3.3 Προσθήκη του αμινοξέος γλυκίνη στα επιφανειακά τροποποιημένα νανοσωματίδια με φολικό οξύ (GdDy-FA-Gly)

Σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 30mM προστίθονται 0,08 gr γλυκίνης. Έπειτα, υπό ατμόσφαιρα αζώτου προστίθεται κατάλληλος όγκος αιωρήματος GdDy-FA που περιέχει 0,08 gr νανοσωματιδίων. Το pH ρυθμίζεται στην τιμή 10 με χρήση διαλύματος NaOH 1M. Το διάλυμα τελικού όγκου 50 ml αφήνεται να αντιδράσει υπό συνεχή ανάδευση για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Το ίζημα λαμβάνεται με φυγοκέντρηση και δύο εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό.

2.4 Προσθήκες φαρμάκων με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3

Έπειτα από την επιτυχή εισαγωγή των απλών αμινοξέων, εισήχθηκαν εσωτερικά διάφορες φαρμακευτικές ενώσεις όπως το διπεπτίδιο L-Ala-Gln, το αντιβιοτικό νιτροφουραντοϊνη και το αντιεπιληπτικό φάρμακο βαλπροϊκό οξύ.

2.4.1 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη διπεπτιδίου L-Αλανίνη-Γλουταμίνη (GdDy-L-Ala-Gln)

Σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 30mM προστίθεται υπό αποστειρωμένες συνθήκες 1ml διπεπτιδίου (0,2gr). Εισάγεται 0,1gr GdDy-NO_3 και το pH ρυθμίζεται στο 9 με χρήση NaOH 1M. Η αντίδραση τελικού όγκου 50 ml ολοκληρώνεται σε 24 ώρες στους 80°C. Άσπρο στερεό συλλέγεται με φυγοκέντρηση στα 10000 x g για 10 min και ακολουθούν δύο εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό [39].

2.4.2 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη νιτροφουραντοϊνης (GdDy-Nitrofurantoin)

0,1gr νιτροφουραντοϊνης διαλύονται σε 20 ml DMSO και αναμιγνύεται με ρυθμιστικό διάλυμα Tris 0,05M. Τέλος, προστίθεται 0,1gr GdDy-NO_3. Το μίγμα έχει τελικό όγκο 100 ml. Το pH ρυθμίζεται με NaOH 1M σε τιμή 9. Αφήνεται να αντιδράσουν για 24 ώρες στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου. Το ίζημα απομονώνεται με φυγοκέντρηση σε 10000 x g για 10 λεπτά. Ακολουθούν δύο εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό [40].

2.4.3 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου με προσθήκη βαλπροϊκού οξ;έος (GdDy-Valproic acid)

Σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 30 mM προστίθεται 0,1gr βαλπροϊκό οξύ. Το pH ρυθμίζεται στο 9,8 με διάλυμα NaOH 1M. Τέλος προστίθεται 0,1gr GdDy-NO_3. Το μίγμα τελικού όγκου 50 ml αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Το πείραμα γίνεται υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Το ίζημα λαμβάνεται με φυγοκέντρηση σε 10000 x g για 10 λεπτά και ακολουθούν δύο εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό [41], [42].

2.5 Σύνθεση νανοσωματιδίων γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με αντισταθμιστικά νιτρικά ανιόντα (GdDyTb-NO_3)

Η σύνθεση της μήτρας GdDyTb-NO_3 πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της συγκαταβύθισης. Διάλυμα όγκου 30ml που περιέχει 0,2M $Gd(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$, 0,2M $Dy(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ και 0,2M $Tb(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ και ένα διάλυμα NaOH 1M αναμιγνύονται στάγδην σε 50 ml δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Η ανάμειξη των διαλυμάτων γίνεται με τέτοια ροή ώστε το pH να σταθεροποιείται στο 7,0 ± 0,5. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα στο σκοτάδι για 6 ώρες με συνεχή ανάδευση και θέρμανση στους 120°C. Όμοια με τη σύνθεση του GdDy-NO_3 το προϊόν φύλάγεται σε στερεή μορφή αλλά και σε αιώρημα. Το λευκό ίζημα απομονώνεται με φυγοκέντρηση στα 10000 x g για 10 λεπτά και γίνεται έκλπυση με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό.

2.6 Προσθήκες αμινοξέων με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3

Τα αμινοξέα που προστέθηκαν επιτυχώς στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 ήταν το γλουταμινικό οξύ, η ιστιδίνη καθώς και τα αρωματικά αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τυροσίνη.

2.6.1 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκη γλουταμινικού οξέος (GdDyTb-Glu)

0,1gr γλουταμινικού οξέος διαλύονται σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 10 mM. Το pH

ρυθμίζεται στο 9,5. Μετά την προσθήκη 0,1gr GdDyTb-NO_3 ο όγκος του διαλύματος της αντίδρασης είναι 50 ml. Η αντίδραση διαρκεί 24 ώρες, υπό συνεχή ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Το λευκό στερεό συλλέγεται με φυγοκέντρηση στα 10000 x g για 10 λεπτά. Ακολουθούν εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαραιωμένο νερό.

2.6.2 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκ ιστιδίνης (GdDyTb-His)

Σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 30mM διαλύονται 0,1gr τυροσίνη. Το pH ρυθμίζεται στο 10 με διάλυμα NaOH 1M. Στο διάλυμα εισάγεται 0,1gr GdDyTb-NO_3. Ο τελικός όγκος της αντίδρασης είναι 50 ml. Το μίγμα αναδεύεται σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Το ίζημα λαμβάνεται με φυγοκέντρηση στα 10000 x g για 10 λεπτά και έπειτα γίνονται δύο εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαραιωμένο νερό.

2.6.3 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκη φαινυλαλανίνης (GdDyTb-Phe)

0,1gr αμινοξέος διαλύονται σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 30mM. Το pH ρυθμίζεται με 1M NaOH στο 10. Έπειτα προστίθεται κατάλληλος όγκος αιωρήματος που περιέχει 0,1gr GdDyTb-NO_3. Το μίγμα τελικού όγκου 50ml αφήνεται να αντιδράσει υπό ανάδευση για 24 ώρες, σε θερμοκρασία δωματίου. Το προϊόν συλλέγεται με φυγοκέντρηση στα 10000 x g για 10 λεπτά. Το στερεό εκπλένεται δύο φορές με δισαπεσταγμένο απαραιωμένο νερό. Αφήνεται να στεγνώσει σε θερμοκρασία δωματίου.

2.6.4 Νανοσωματίδια γαδολινίου δυσπροσίου τερβίου με προσθήκη τυροσίνης (GdDyTb-Tyr)

0,1gr τυροσίνης διαλύονται σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 30mM. Το pH ρυθμίζεται στο 10 με διάλυμα NaOH 1M. Ακολούθως, εισάγεται κατάλληλος όγκος αιωρήματος που περιέχει 0,1gr GdDyTb-NO_3. Η αντίδραση τελικού όγκου 50ml ολοκληρώνεται σε 24 ώρες, υπό συνεχή ανάδευση, σε θερμοκρασία δωματίου. Το ίζημα απομονώνεται με φυγοκέντρηση στα 10000 x g για 10 λεπτά και γίνονται εκλπύσεις με δισαπεσταγμένο απαερωμένο νερό.

2.7 Προσθήκες φαρμάκων στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 με τη μέθοδο της αποστοίβαξης με διαλύτη γλυκερόλη

Με την εφαρμογή της μεθόδου της αποστοίβαξης των νανοσωματιδίων επιτεύχθηκε η εισαγωγή του διπεπτιδίου L-Ala-Gln και του αμινοξέος γλουταμινικό οξύ.

2.7.1 GdDy-L-Ala-Gln

Σε όγκο αιωρήματος που περιέχει 0,1gr GdDy-NO_3 προστίθεται όγκος γλυκερόλης. Το pH ρυθμίζεται στο 9 με χρήση διαλύματος NaOH 1M. Έπειτα, εισάγεται 1 ml διπεπτιδίου

υπό αποστειρωμένες συνθήκες. Σφραγίζεται και αφήνεται σε υπερήχους για 30 λεπτά. Η αντίδραση πραγματοποιείται υπό ανάδευση με θέρμανση στους 80°C και ολοκληρώνεται σε 24 ώρες. Το πείραμα έγινε υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Το προϊόν συλλέχθηκε με φυγοκέντρηση σε 15000 x g για 15 λεπτά ακολουθούμενη από 3 εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαραιωμένο νερό.

2.7.2 GdDy-Glu

Όγκος αιωρήματος που περιέχει 0,1gr GdDyTb-NO_3 αναμιγνύεται με διάλυμα γλουταμινικού οξεός που περιέχει 0,1gr αμινοξέος. Το pH ρυθμίζεται με διάλυμα NaOH 1M στο 9,5. Προστίθεται γλυκερόλη ώστε ο τελικός όγκος να είναι 50 ml. Σφραγίζεται και αφήνεται σε υπερήχους για 30 λεπτά. Το μίγμα αναδεύεται για 48 ώρες. Το πείραμα έγινε υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Το προϊόν συλλέχθηκε με φυγοκέντρηση σε 15000 x g για 15 λεπτά ακολουθούμενη από 3 εκπλύσεις με δισαπεσταγμένο απαραιωμένο νερό.

2.8 Απορρόφηση UV Αρωματικών Αμινοξέων

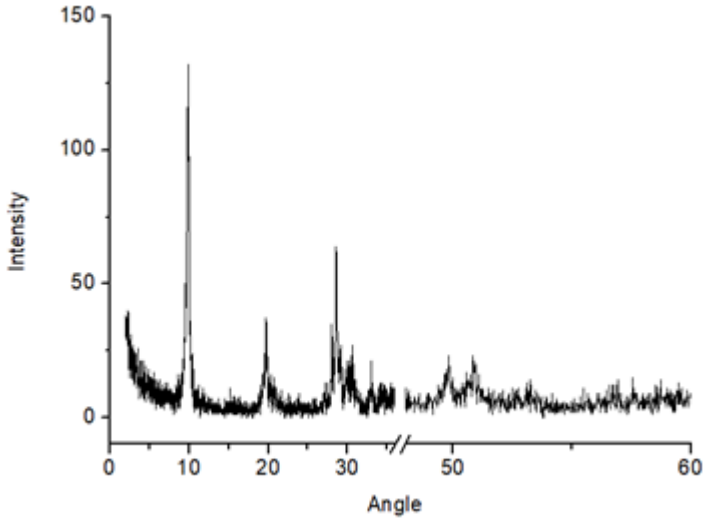
Λήφθηκαν φάσματα υπεριώδους-ορατού του αμινοξέος φαινυλαλανίνη, του νανοσωματιδίου GdDyTb-Phe και των μη τροποποιημένων νανοσωματιδίων GdDyTb-NO_3. Κατάλληλη ποσότητα αμινοξέος και νανοσωματιδίων GdDyTb-NO_3 διαλύθηκαν ξεχωριστά, σε δισαπεσταγμένο νερό και μετρήθηκε η απορρόφηση τους. Ποσότητα των νανοσωματιδίων GdDyTb-Phe διαλύθηκε σε δισαπεσταγμένο νερό στο οποίο προστέθηκε HCl 1M. Αντίστοιχη διαδικασία ακολουθήθηκε και για το αρωματικό αμονιξύ τυροσίνη.

Κεφάλαιο 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Σύνθεση και χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων

3.1.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-NO_3

Ο χαρακτηρισμός των στοιβαγμένων διπλών υδροξειδίων βασίζεται κυρίως στην ανάλυση των κορυφών με περίθλαση ακτίνων Χ. Τεχνική με την οποία μελετάται η δομή των κρυσταλλικών στερεών. Με το νόμο του Bragg υπολογίζεται η απόσταση μεταξύ των διαδοχικών ανόργανων στρωμάτων. Η πιθανή προσθήκη χημικής ένωσης στο εσωτερικό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της διαστρωματικής απόστασης.

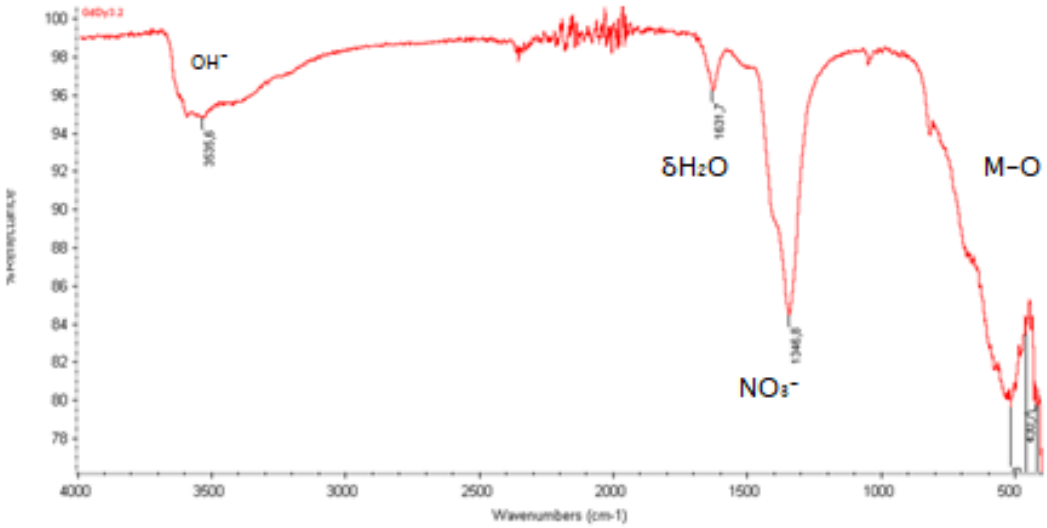


Εικόνα 3.1 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ GdDy-NO_3

Στο διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ του GdDy-NO_3 εμφανίζονται οξείες και υψηλής έντασης κορυφές, οι οποίες οφείλονται στην καλή κρυσταλλικότητα της ένωσης. Σύμφωνα με τον νόμο του Bragg, η πρώτη κορυφή που εμφανίζεται σε γωνία 9,85 υπολογίστηκε ότι αντιστοιχεί σε διαστρωματική απόσταση στα 9,09Å, η οποία είναι χαρακτηριστική απόσταση των αντισταθμιστικών νιτρικών ανιόντων. Σταθερή απόσταση νιτρικών ανιόντων εμφανίζεται και για n=2, n=3 (Εικόνα 3.1). Η σύνθεση του GdDy-NO_3 ήταν επιτυχής με σταθερή απόσταση μεταξύ των στρωμάτων και με απουσία ανθρακικών ανιόντων.

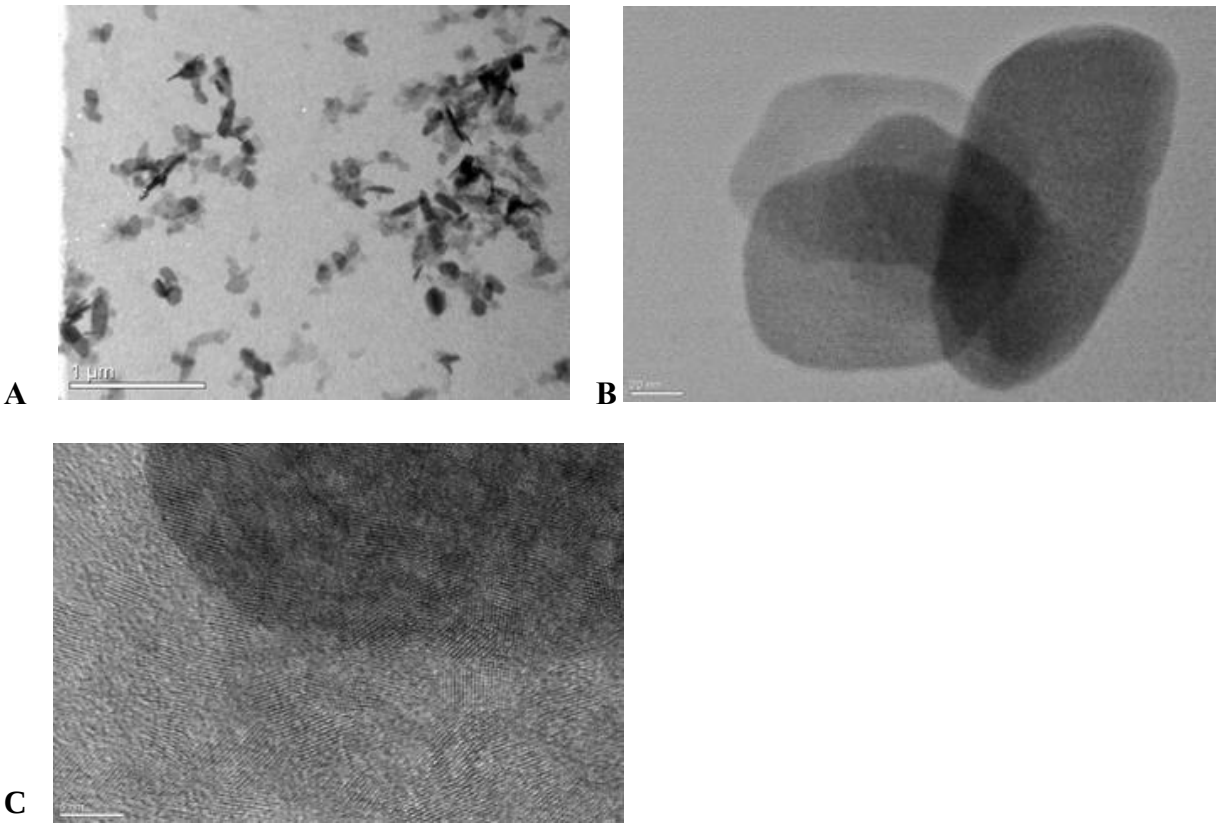
Το φάσμα υπερύθρου των νανοσωματιδίων GdDy-NO_3 δείχνει τις χαρακτηριστικές απορροφήσεις μιας τέτοιας δομής (Εικόνα 3.2). Η ευρεία και μεγάλου εύρους κορυφή στα 3535cm^{-1} αντιστοιχεί στις δονήσεις τάσης των υδροξυλίων των ανόργανων στρωμάτων καθώς και των μορίων νερού που βρίσκονται ενδιάμεσα αυτών. Στα 1631cm^{-1} εμφανίζονται οι δονήσεις των δεσμών του νερού. Η χαρακτηριστική κορυφή στα 1347cm^{-1} αποδίδεται στη

δόνηση των νιτρικών ανιόντων. Οι δονήσεις δεσμού μετάλλου οξυγόνου Gd-O και Dy-O εμφανίζονται στα 820 cm^{-1}, 662 cm^{-1} και 519 cm^{-1}.



Εικόνα 3.2 Φάσμα υπερύθρου νανοσωματιδίων GdDy-NO_3

Η μικροσκοπία TEM είναι μία ακόμη μέθοδος χαρακτηρισμού των νανοσωματιδίων. Οι φωτογραφίες που λήφθηκαν για το δείγμα GdDy-NO_3 παρουσιάζονται πιο κάτω.

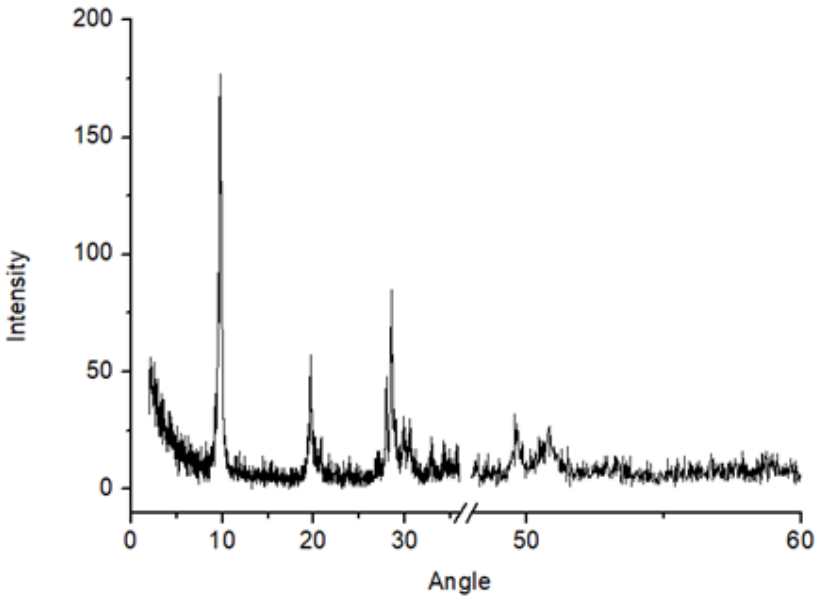


Εικόνα 3.3 Φωτογραφίες από τομές του δείγματος GdDy-NO_3 (TEM)

Χαρακτηριστική εικόνα της δομής των νανοσωματίδιων φαίνεται στην εικόνα Α. Όπως παρατηρείται (Εικόνα 3.3.Α και 3.3.Β) τα νανοσωματίδια αυτά αποτελούνται από πολλές πλάκες οι οποίες δημιουργούν συσσωματώματα. Η απλή κρυσταλλική φύση των νανοσωματιδίων επιβεβαιώνεται (Εικόνα 3.3.C).

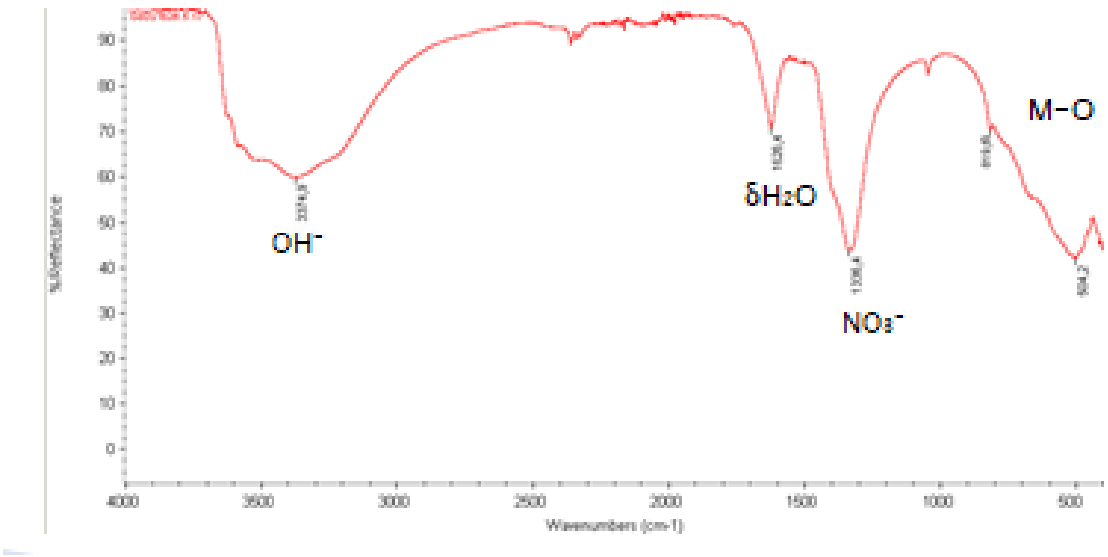
3.1.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-NO_3

Στο διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ του νανοσωματιδίου GdDyTb-NO_3 παρατηρείται διαστρωματική απόσταση στα 9,08Å, χαρακτηριστική απόσταση των αντισταθμιστικών νιτρικών ανιόντων. Οι οξείες και υψηλής έντασης κορυφές δείχνουν την καλή κρυσταλλικότητα της ένωσης. Η σύνθεση του GdDyTb-NO_3 ήταν επιτυχής με σταθερή απόσταση μεταξύ των στρωμάτων και με απουσία ανθρακικών ανιόντων (Εικόνα 3.4).



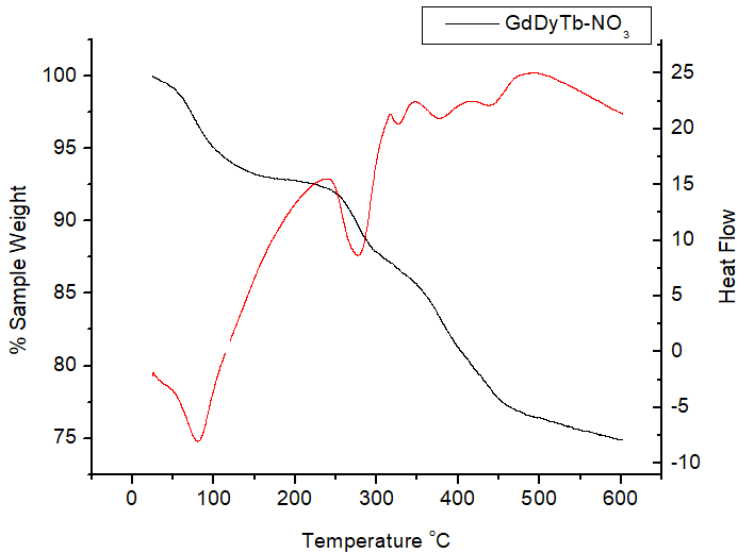
Εικόνα 3.4 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ GdDyTb-NO_3

Όμοια με το GdDy-NO_3 παρουσιάζεται το φάσμα υπερύθρου των νανοσωματιδίων GdDyTb-NO_3 (Εικόνα 3.5). Η ευρεία κορυφή στα 3374,9 cm^{-1} αντιστοιχεί στα υδροξείλια που απαρτίζουν τα οκτάεδρα των ανόργανων στρωμάτων καθώς και τα υδροξείλια των μορίων του νερού που υπάρχει στα ενδιάμεσα στρώματα. Οι δονήσεις που οφείλονται στους δεσμούς του νερού καθώς και οι δονήσεις των νιτρικών αντισταθμιστικών ανιόντων εμφανίζονται στα 1626,4 cm^{-1} και 1336,4 cm^{-1}, αντίστοιχα. Στην περιοχή απορρόφησης κάτω από τα 800 cm^{-1} φαίνονται δονήσεις που οφείλονται στο δεσμούς μετάλλου-οξυγόνου Gd-O, Dy-O και Tb-O.



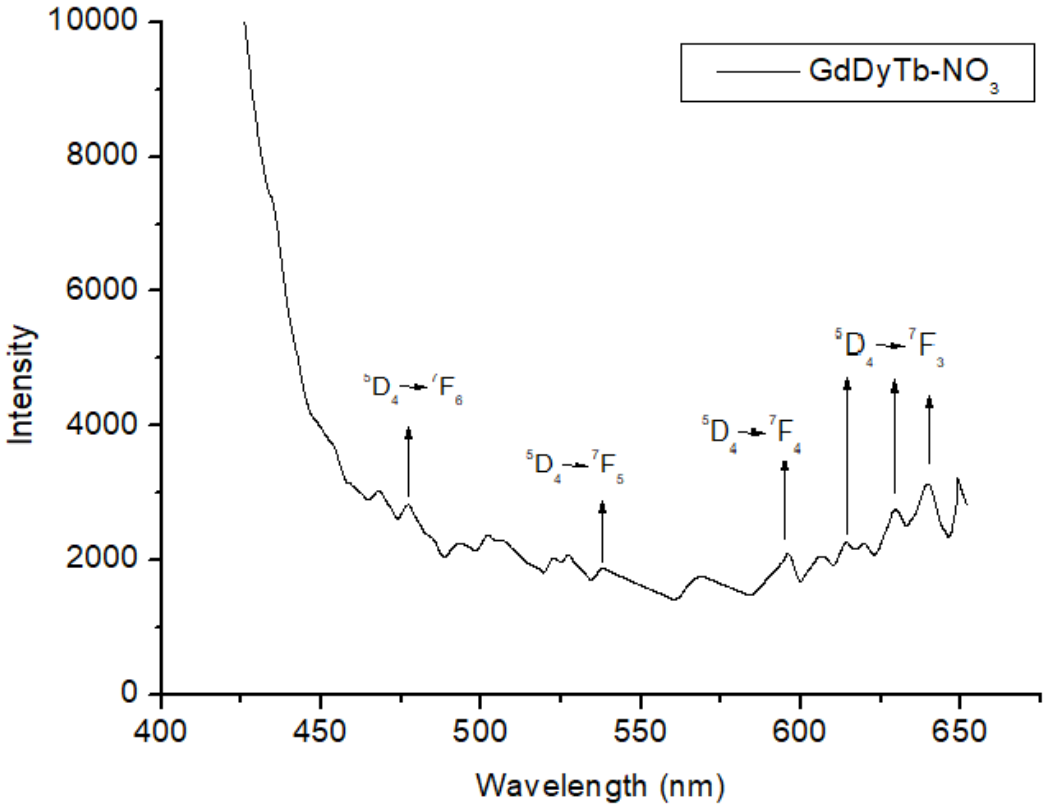
Εικόνα 3.5 Φάσμα υπερύθρου GdDyTb-NO_3

Η καμπύλη θερμοσταθμικής ανάλυσης (TGA) του GdDyTb-NO_3 συμφωνεί με προηγούμενα αποτελέσματα στη βιβλιογραφία [33], [43] (Εικόνα 3.6). Αρχικά, παρατηρείται απώλεια βάρους 7% από τη θερμοκρασία δωματίου μέχρι τους 150 $^{\circ}$C εξαιτίας της απώλειας νερού μεταξύ των στοιβάδων. Η μείωση του βάρους κατά 6% μεταξύ των θερμοκρασιών 150-320°C αντιστοιχεί στη μερική αποσύνθεση των ανόργανων στρωμάτων λόγω αποκαρβοξυλίωσης. Πέρα από τους 320 $^{\circ}$C, διαπιστώνεται περαιτέρω συμπύκνωση των υδροξυλίων και πλήρης αποσύνθεση του υλικού. Παρατηρούνται πέντε ενδόθερμες μεταβολές. Αρχικά στους 81 $^{\circ}$C, έπειτα στους 276 $^{\circ}$C και τέλος στους 327 $^{\circ}$C, 376 $^{\circ}$C και 443 $^{\circ}$C.



Εικόνα 3.6 Διάγραμμα θερμικής ανάλυσης GdDyTb-NO_3

Η ανάλυση του δείγματος GdDyTb-NO_3 με τη τεχνική της μοριακής φθορισμομετρίας έδειξε κορυφές φθορισμού του τερβίου, διεγερμένο στα 369nm (Εικόνα 3.7). Παρουσιάζονται χαρακτηριστικές κορυφές φθορισμού του Tb^{3+} στα 477 nm που αντιστοιχούν σε ενεργειακές μεταπτώσεις $^5D_4 \rightarrow {}^7F_6$, στα 538 nm ($^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$), στα 596 nm και στα 614, 630 και 640 nm ($^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$) [45], [46], [47]. Εξακριβώνονται οι οπτικές ιδιότητες του τερβίου και επιβεβαιώνεται το εμφανές πλεονέκτημά του στη χρήση του στη σύνθεση των μαγνητικών νανοσωματιδίων.



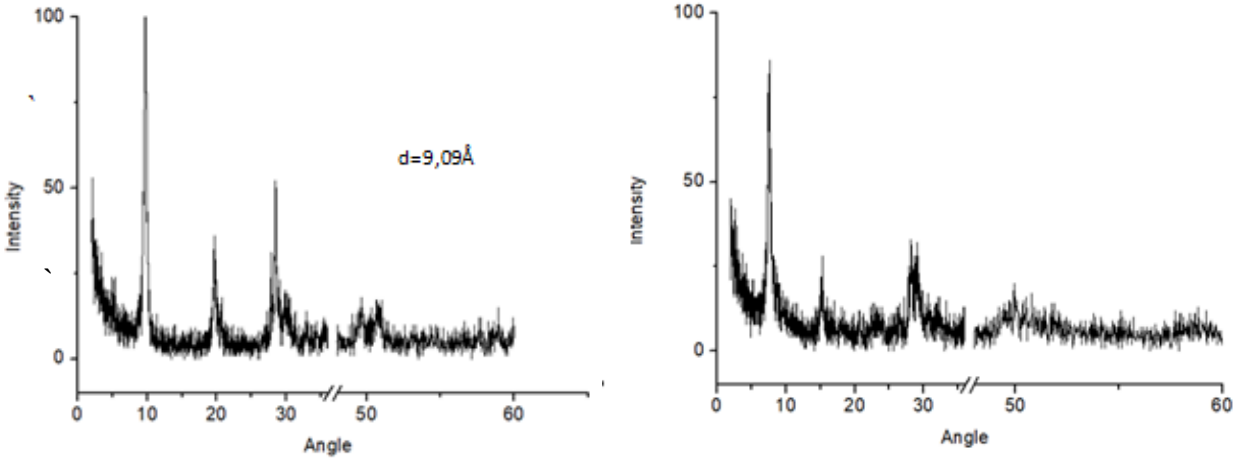
Εικόνα 3.7 Φάσμα εκπομπής μοριακής φθορισμομετρίας νανοσωματιδίων GdDyTb-NO_3 διεγερμένο στα 369nm

3.2 Προσθήκες αμινοξέων σε νανοσωματίδια GdDy-NO_3 με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής

Η προσθήκη αμινοξέων και φαρμάκων στα ενδιάμεσα στρώματα έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της γωνίας που εμφανίζεται η κορυφή και αύξηση της διαστρωματικής απόστασης.

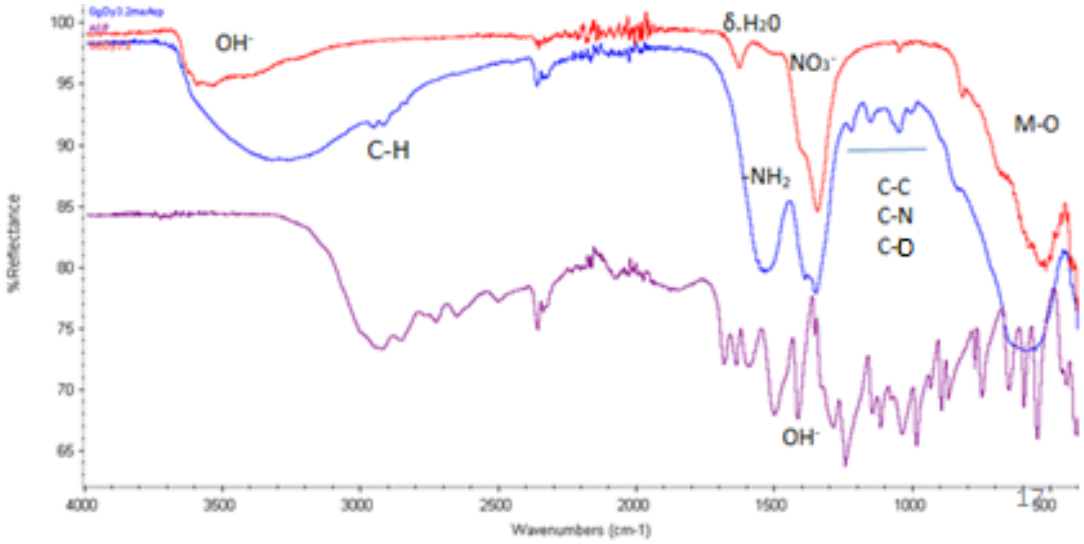
3.2.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Asp

Η προσθήκη του ασπαραγγινικού οξέος στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της διαστρωματικής απόστασης από τα 9,09Å στα 11,63Å. Απόσταση η οποία συμφωνεί με βιβλιογραφία [33] (Εικόνα 3.8).



Εικόνα 3.8 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDy-NO_3 και GdDy-Asp

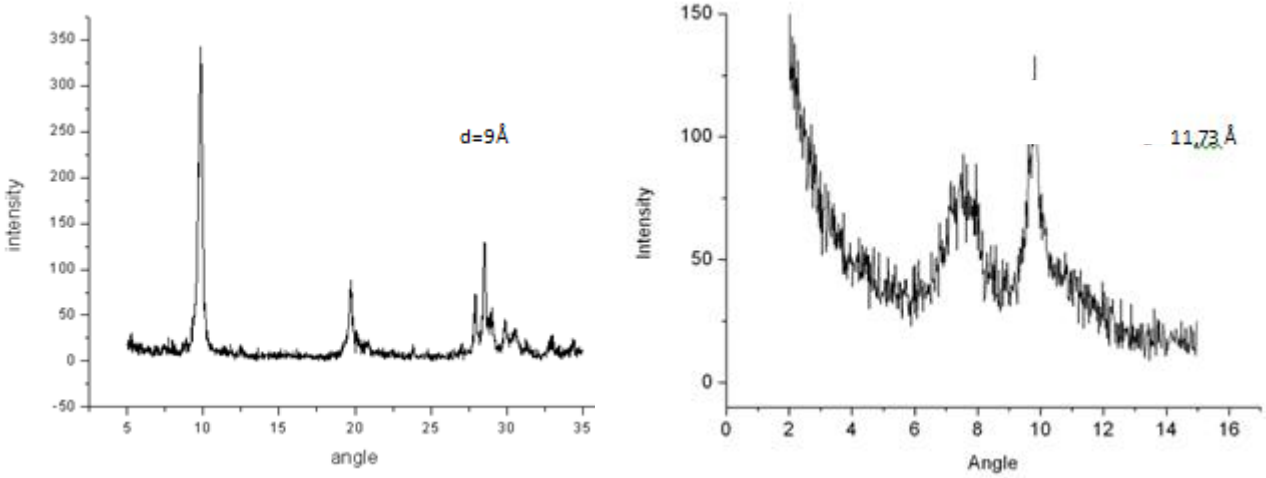
Το φάσμα υπερύθρου του προϊόντος GdDy-Asp φανερώνει την επιτυχή ενσωμάτωση του ασπαραγινικού οξέος (Εικόνα 3.9). Στα 1538cm^{-1} εμφανίζεται η δόνηση της αμινομάδας του αμινοξέος. Η συμμετρική δόνηση του καρβονυλίου παρουσιάζεται στα 1383cm^{-1} και δονήσεις δεσμών υδροξειλίου απορροφούν στα 1369cm^{-1}. Αυτές οι απορροφήσεις αλληλοεπικαλύπτονται με τις δονήσεις των νιτρικών ανιόντων που δεν απομακρύνθηκαν από το δείγμα. Τέλος, παρατηρούνται οι απορροφήσεις των δεσμών άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου και άνθρακα-οξυγόνου στην περιοχή 1257cm^{-1} με 1050 cm^{-1}.



Εικόνα 3.9 Φάσματα υπερύθρου GdDy-NO_3 και GdDy-Asp και Asp

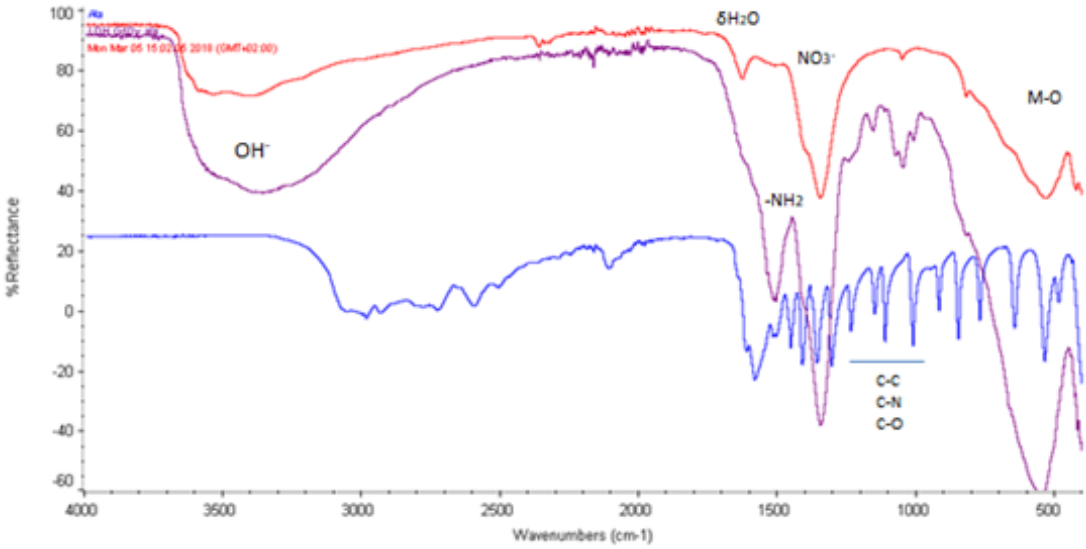
3.2.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Ala

Η διαπλάτυνση των ενδιάμεσων στρωμάτων των νανοσωματιδίων GdDy-NO_3 από 9Å σε 11,73 Å αποδεικνύει την επιτυχή ενσωμάτωση του αμινοξέος. Η κορυφή που εμφανίζεται στα 9Å αντιστοιχεί στα αρχικά αντισταθμιστικά ανιόντα νιτρικών τα οποία δεν ανταλλάχθηκαν ποσοτικά με το αρνητικά φορτισμένο αμινοξύ [21] (Εικόνα 3.10).



Εικόνα 3.10 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDy-NO_3 και GdDy-Ala

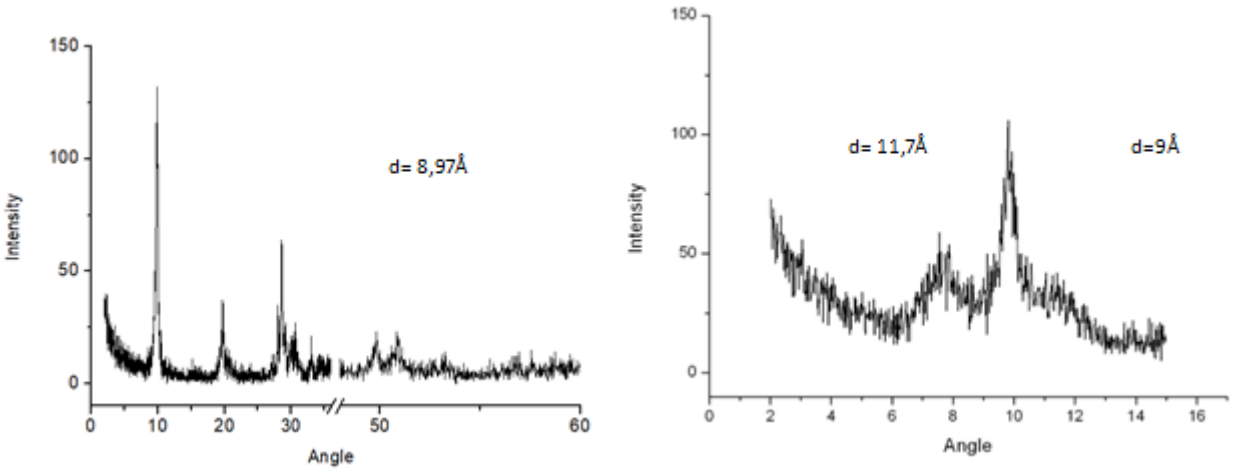
Στο φάσμα υπερύθρου του δείγματος GdDy-Ala εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές κορυφές τόσο των νανοσωματιδίων GdDy-NO_3 όσο και του αμινοξέος αλανίνη. Η απορρόφηση της αμινομάδας του αμινοξέος παρατηρήθηκε στα 1506cm^{-1}. Οι κορυφές στα 1235-1012cm^{-1} οφείλονται στις δονήσεις των δεσμών άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου και άνθρακα-οξυγόνου της αλανίνης (Εικόνα 3.11).



Εικόνα 3.11 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-Ala και Ala

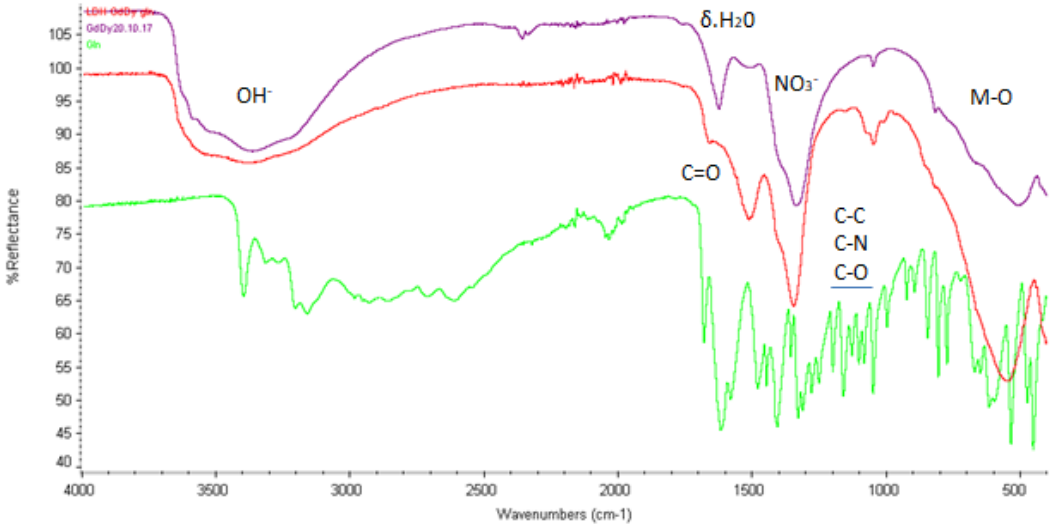
3.2.3 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Gln

Αντίστοιχα αποτελέσματα λήφθηκαν και στην ενσωμάτωση του αμινοξέος γλουταμίνη. Η απόσταση μεταξύ των στρωματων αυξήθηκε από 8,97Å σε 11,7Å. Επίσης, παρατηρείται κορυφή η οποία οφείλεται σε νιτρικά ανιόντα στα 9Å τα οποία παράμειναν στο δείγμα (Εικόνα 3.12).



Εικόνα 3.12 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDy-NO_3 και GdDy-Gln

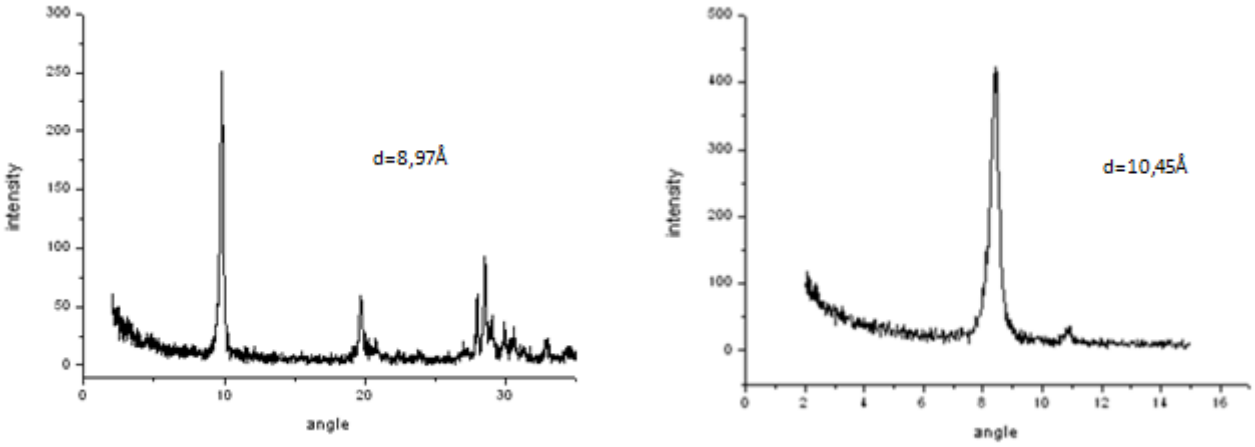
Η παρουσία του αμινοξέος γλουταμίνη μεταβάλει το φάσμα FT-IR (Εικόνα 3.13). Διατηρούνται οι απορροφήσεις του δείγματος GdDy-NO_3 όμως εμφανίζονται νέες κορυφές οι οποίες οφείλονται στην παρεμβολή του αμινοξέος. Παρατηρείται η δόνηση του καρβονυλίου στα 1659cm^{-1}. Επίσης, παρουσιάστηκαν κορυφές δόνησεις των δεσμών άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου και άνθρακα-οξυγόνου στα 1135-1011cm^{-1} του γλουταμινικού οξέος.



Εικόνα 3.13 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-Gln και Gln

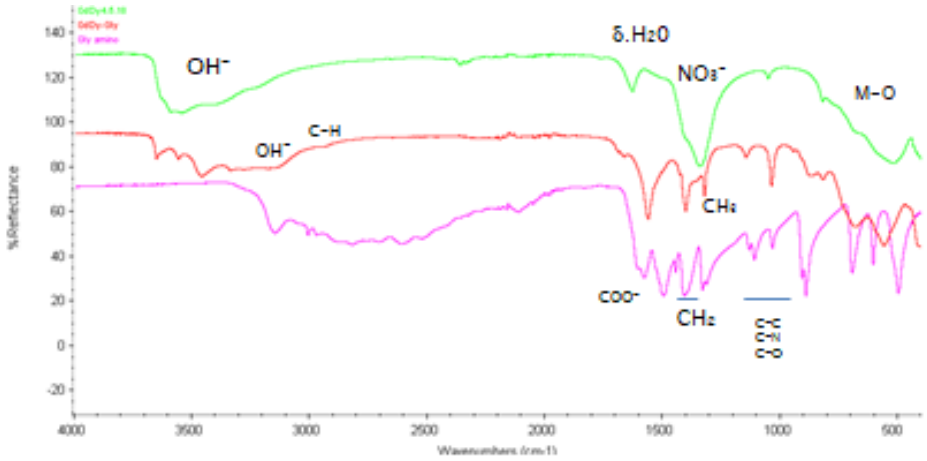
3.2.4 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Gly

Η ανάλυση των φασμάτων XRD δείχνει την επιτυχή ενσωμάτωση της γλυκίνης στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 (Εικόνα 3.14). Η διαστρωματική απόσταση αυξήθηκε από 8,97Å σε 10,45Å. Η κορυφή στα 8,09Å οφείλεται σε ανθρακικά ανιόντα τα οποία εισήχθηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος.



Εικόνα 3.14 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDy-NO_3 και GdDy-Gly

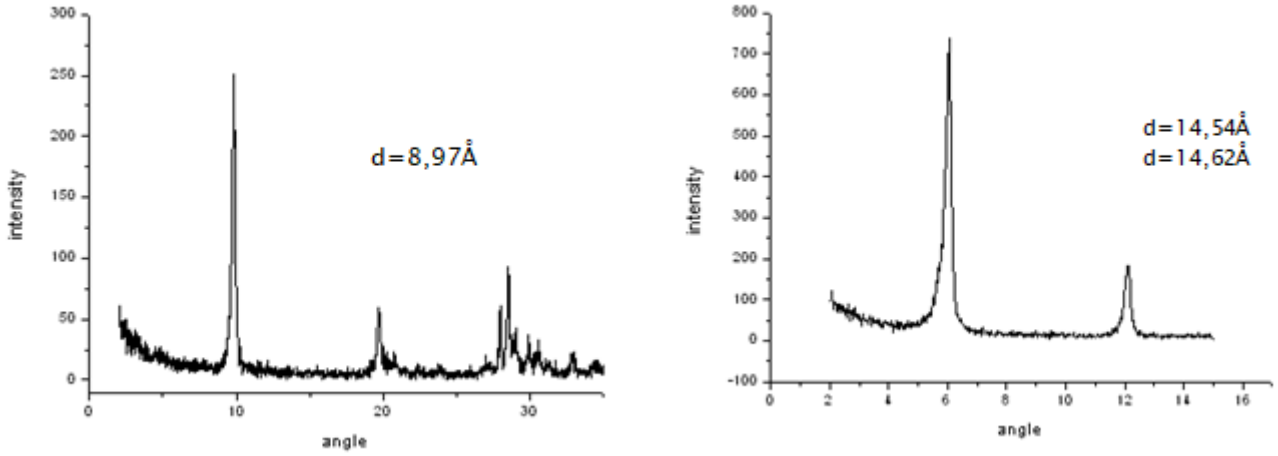
Η σύγκριση των φασμάτων υπερύθρου των νανοσωματιδίων GdDy-NO_3, των νανοσωματιδίων που προστέθηκε γλυκίνη GdDy-Gly και του αμινοξέος Gly δείχνει την επιτυχή ενσωμάτωση του αμινοξέος (Εικόνα 3.15). Εμφανίζονται κορυφές στα 3150cm^{-1}, 2954 cm^{-1} , 1581cm^{-1} οι οποίες αντιστοιχούν στις δονήσεις των υδροξειδίων, των δεσμών C-H και του COO^- αντίστοιχα. Στα 1429 cm^{-1}, 1405 cm^{-1} παρουσιάζονται απορροφήσεις του μεθυλενίου και στα 1327cm^{-1} του μεθυλίου. Οι δονήσεις που οφείλονται στους δεσμούς C-C, C-H και C-O αντιστοιχούν στις κορυφές στα 1127cm^{-1} και 1037cm^{-1}.



Εικόνα 3.15 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-Gly και Gly

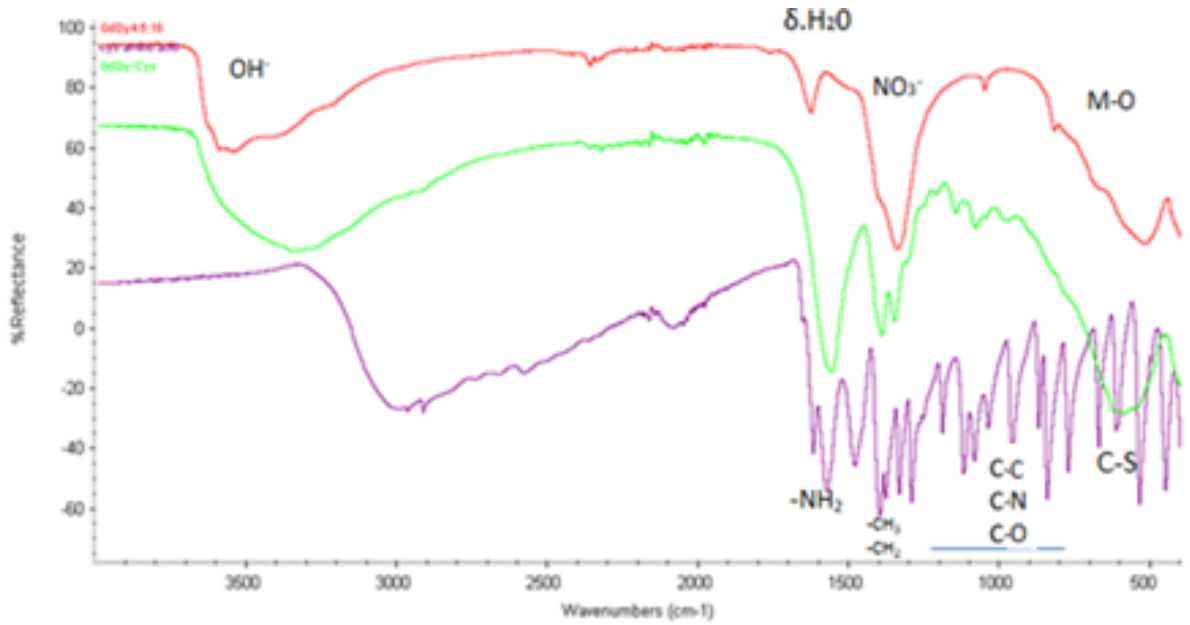
3.2.5 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Cys

Η ενσωμάτωση του αμινοξέος κυστεϊνη στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 αποδεικνύεται με τη σύγκριση των φασμάτων περίθλασης ακτίνων Χ (Εικόνα 3.16). Η κορυφή η οποία εμφανίζεται σε γωνία 6,07 αντιστοιχεί σε απόσταση d ίση με 14,54Å για n=1 και η κορυφή στα 12,09 σε απόσταση 14,62 Å για n =2.



Εικόνα 3.16 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ GdDy-NO_3 και GdDy-Cys

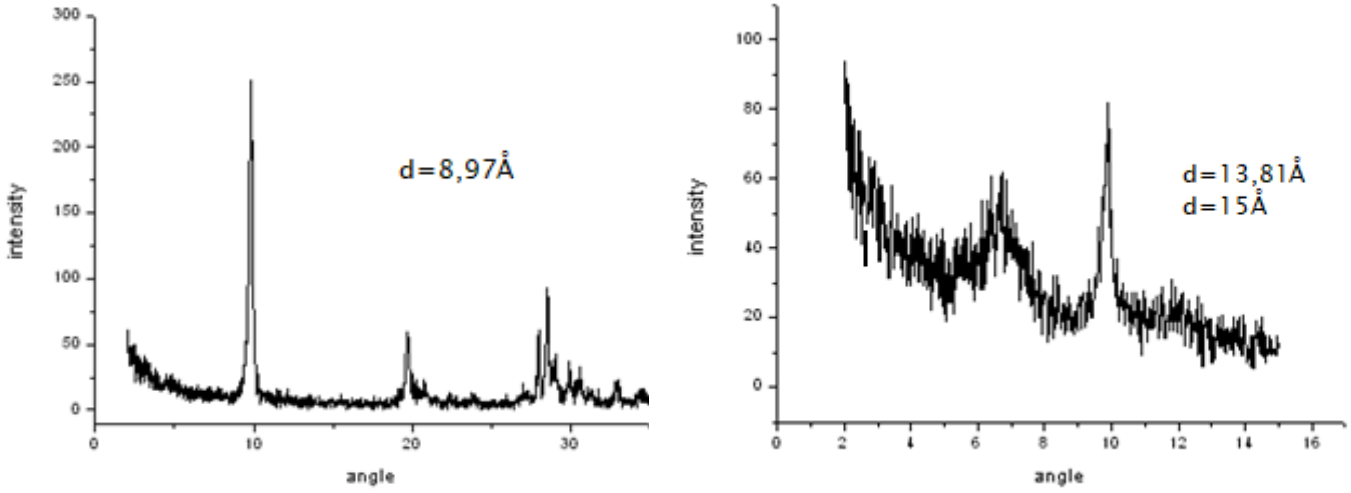
Τα φάσματα υπερύθρου των νανοσωματιδίων GdDy-NO_3, GdDy-Cys και του αμινοξέος κυστεϊνης αναλύονται (Εικόνα 3.17). Οι δονήσεις των δεσμών υδροξειδίου και της αμινομάδας του αμινοξέος εμφανίζονται στα 2921cm^{-1} και 1560cm^{-1}. Η κορυφές στα 1393cm^{-1} και 1380cm^{-1} αντιστοιχούν στις ομάδες του μεθυλενίου και του μεθυλίου. Οι απορροφήσεις στα 1254-968 cm^{-1} αφορούν δονήσεις των δεσμών C-C, C-H και C-O. Η δόνηση του δεσμού C-S εμφανίζει απορρόφηση στα 612cm^{-1}.



Εικόνα 3.17 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-Cys και Cys

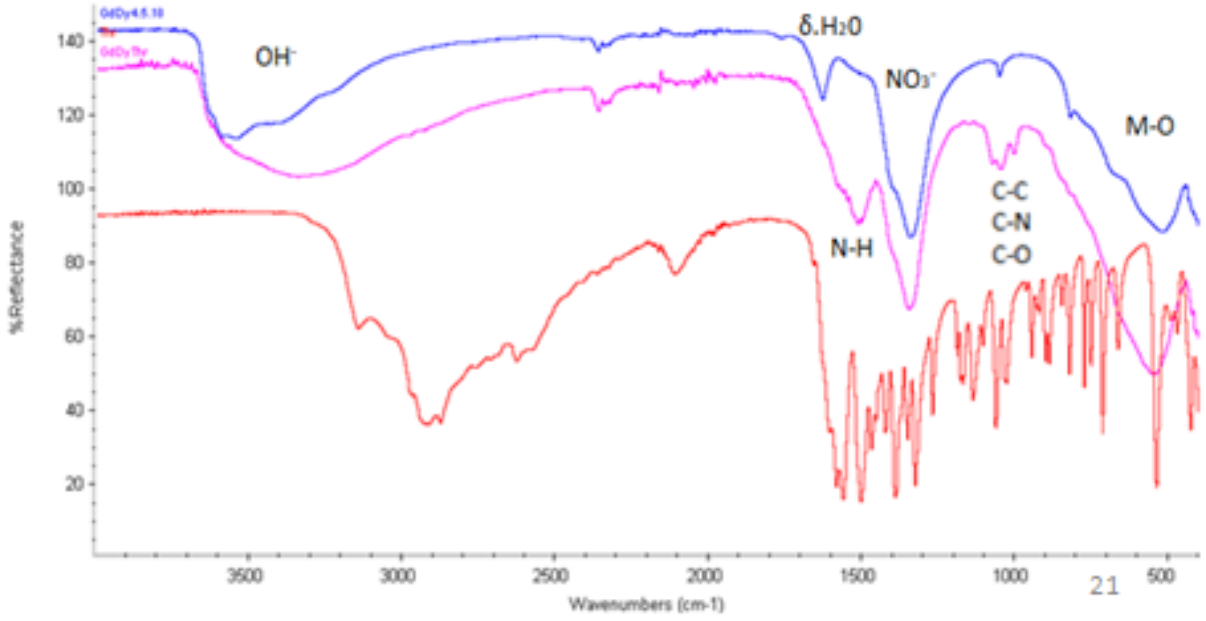
3.2.6 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Thr

Η προσθήκη της θρεονίνης στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της διαστρωματικής απόστασης από τα 8,97Å στα 13,81Å για n=1 και 15Å για n=2. Η κορυφή που εμφανίζεται σε γωνία 9,91 αντιστοιχεί σε σιαστρωματική απόσταση 8,91 Å και οφείλεται στα νιτρικά ανιόντα τα οποία δεν ανταλλάχθηκαν πλήρως (Εικόνα 3.18).



Εικόνα 3.18 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDy-NO_3 και GdDy-Thr

Η φασματοσκοπία υπερύθρου φανερώνει την παρουσία του αμινοξέος στο δείγμα μας (Εικόνα 3.19). Οι απορροφήσεις του υδροξειδίου εμφανίζεται ως μια ευρεία κορυφή στα 2974cm^{-1}. Η δόνηση του δεσμού N-H του αμινοξέος παρουσιάζεται στα 1503cm^{-1}. Δονήσεις των δεσμών C-C, C-N, C-O δείχνουν απορρόφηση στα 1082-1004cm^{-1}.



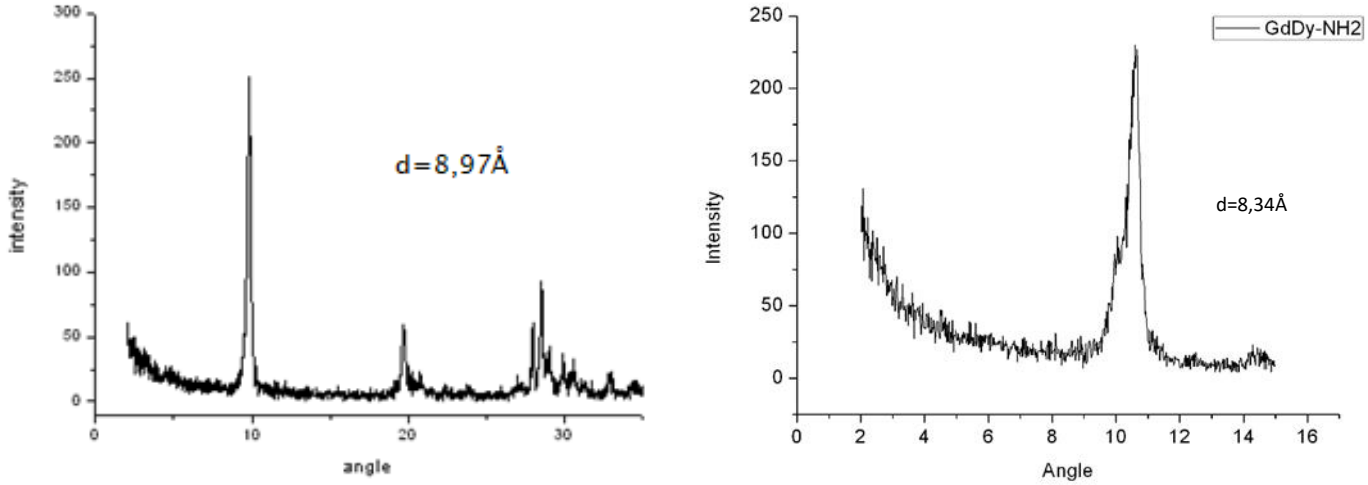
Εικόνα 3.19 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-Thr και Thr

3.3 Χαρακτηρισμός επιφανεικά τροποιημένων νανοσωματιδίων GdDy-NO_3

3.3.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-NH_2

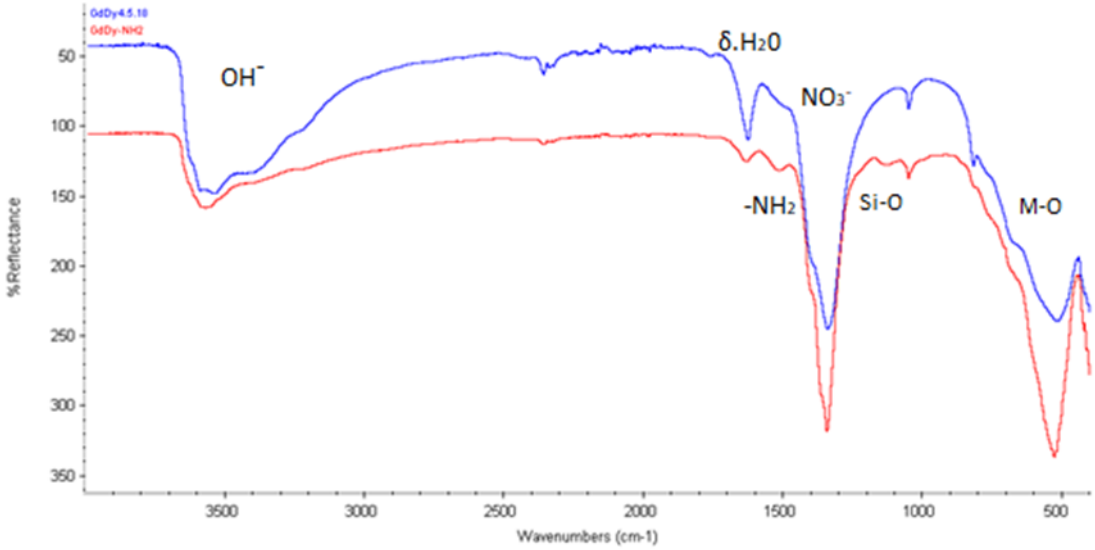
Ο χαρακτηρισμός των τροποποιημένων νανοσωματιδίων με αμινομάδες έγινε με περίθλαση ακτίνων Χ και με φασματοσκοπία υπερύθρου.

Με την ανάλυση των παρακάτω διαγραμμάτων XRD παρατηρείται πως η απόσταση μεταξύ των ανόργανων στρωμάτων παραμένει η ίδια μετά την τροποποίηση του νανοσωματιδίου. Εξακριβώνεται ότι η τροποποίηση ήταν επιφανειακή και δεν επηρεάστηκαν τα ενδιάμεσα στρώματα (Εικόνα 3.20).



Εικόνα 3.20 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ GdDy-NO_3 και GdDy-NH_2

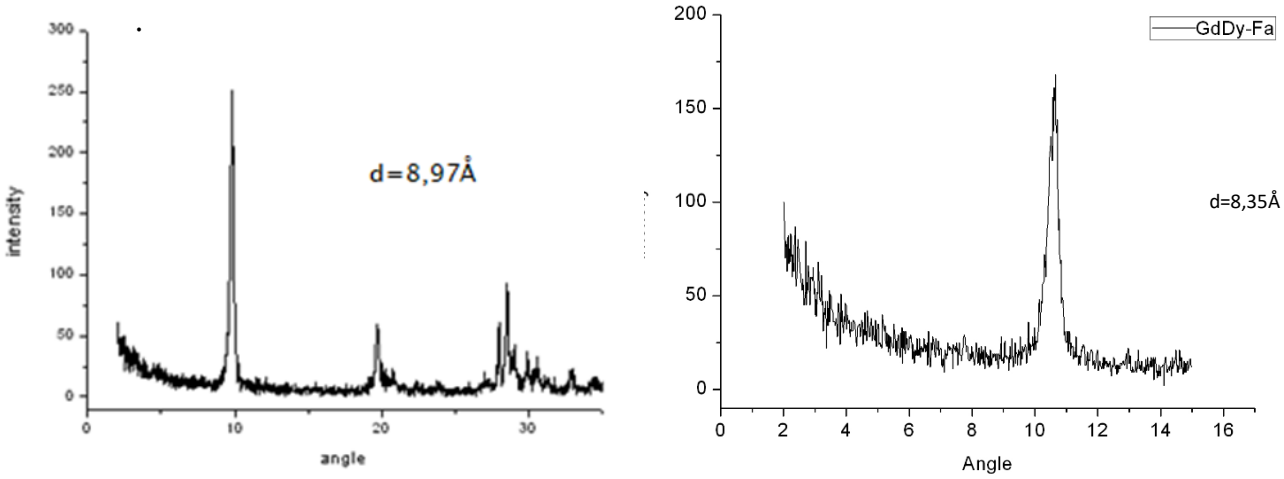
Συγκρίνοντας το φάσμα υπερύθρου των νανοσωματιδίων GdDy-NO_3 και το GdDy-NH_2 παρατηρούμε την εμφάνιση νέων κορυφών οι οποίες οφείλονται στη δέσμευση του αντιδραστηρίου 3-αμινοπροπυλτριμεθοξυσιλάνιο στην επιφάνεια του. Οι αμινομάδες εμφανίζονται στα 1523 cm^{-1} και η απορρόφηση του δεσμού Si-O στα 1135 cm^{-1} (Εικόνα 3.21).



Εικόνα 3.21 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3 και GdDy-NH_2

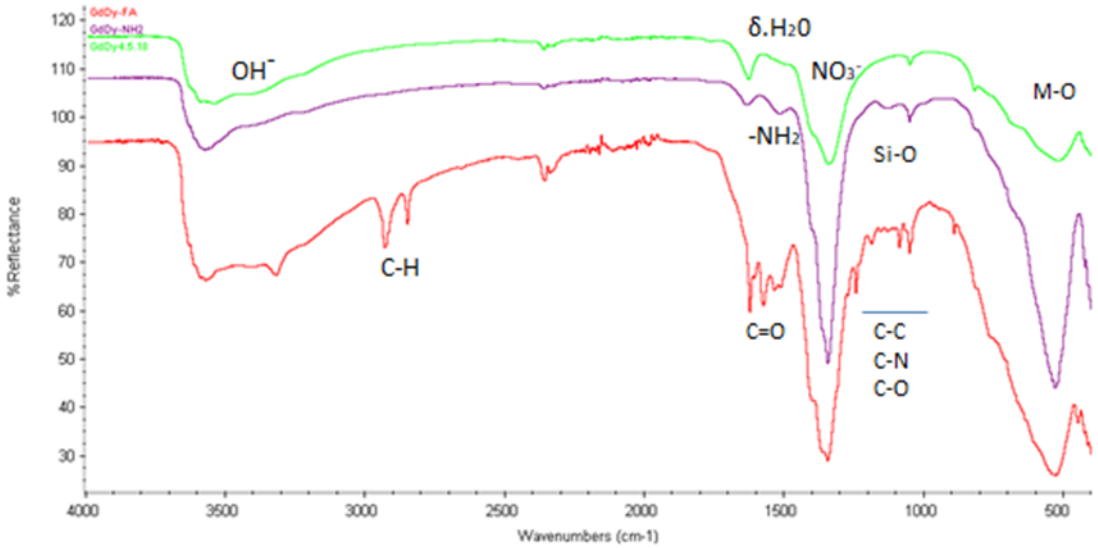
3.3.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-FA

Στη συνέχεια χαρακτηρίστηκαν τα τροποποιημένα νανοσωματίδια με την πρόσδεση του φολικού οξέος. Αναλύοντας τώρα το διάγραμμα XRD των νανοσωματιδίων που δέχτηκαν επόμενη τροποποίηση με φολικό οξύ παρατηρείται ότι τα ενδιάμεσα στρώματα δεν επηρεάστηκαν και η τροποποίηση ήταν επιτυχής [33] (Εικόνα 3.22).



Εικόνα 3.22 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDy-NO_3 και GdDy-FA

Πιο κάτω απεικονίζονται συγκριτικά τα φάσματα υπερύθρου των GdDy-NO_3, GdDy-NH_2 και GdDy-FA (Εικόνα 3.23). Οι δονήσεις των δεσμών των αμινομάδων στα 1515cm^{-1} καθώς και του δεσμού Si-O στα 1130,4 cm^{-1} διατηρούνται. Παρουσιάζονται επίσης, οι απορροφήσεις του δεσμού C-H στα 2930, 2850,7 cm^{-1} καθώς και απορροφήσεις οι οποίες οφείλονται στη δόνηση του καρβονυλίου στα 1624 και 1575 cm^{-1}. Τέλος, παρατηρούνται δονήσεις των δεσμών άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου και άνθρακα-οξυγόνου στα 1244-1053cm^{-1} οι οποίες οφείλονται στη δέσμευση του φολικού οξέος. Η απορρόφηση των νιτρικών ανιόντων εξακολουθεί να υπάρχει αφού οι τροποποιήσεις είναι επιφανειακές και τα ενδιάμεσα στρώματα δεν επηρεάστηκαν.

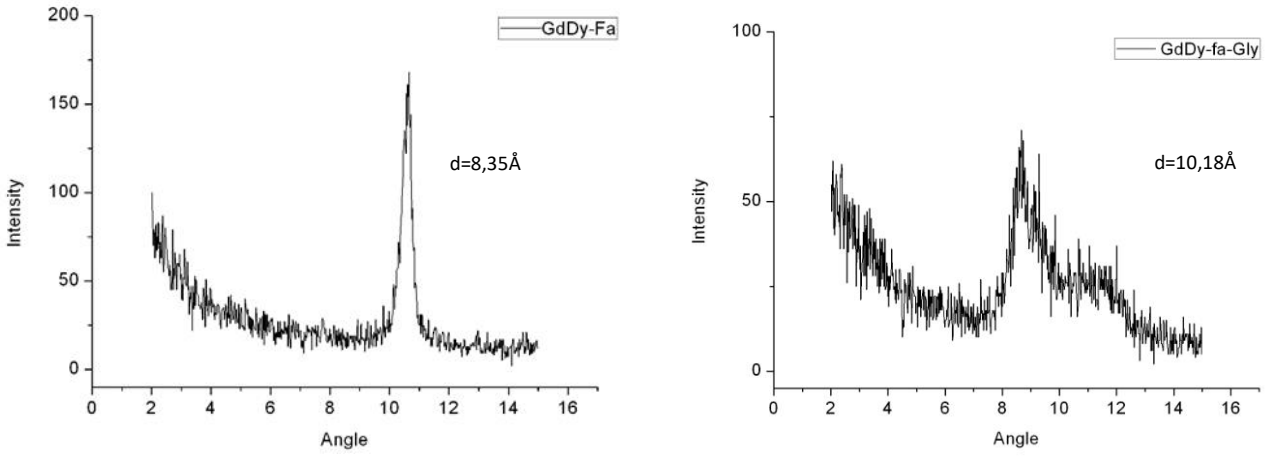


Εικόνα 3.23 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-NH_2 και GdDy-FA

3.3.3 Προσθήκη αμινοξέος γλυκίνη στα επιφανειακά τροποποιημένα νανοσωματίδια με φολικό οξύ (GdDy-FA-Gly)

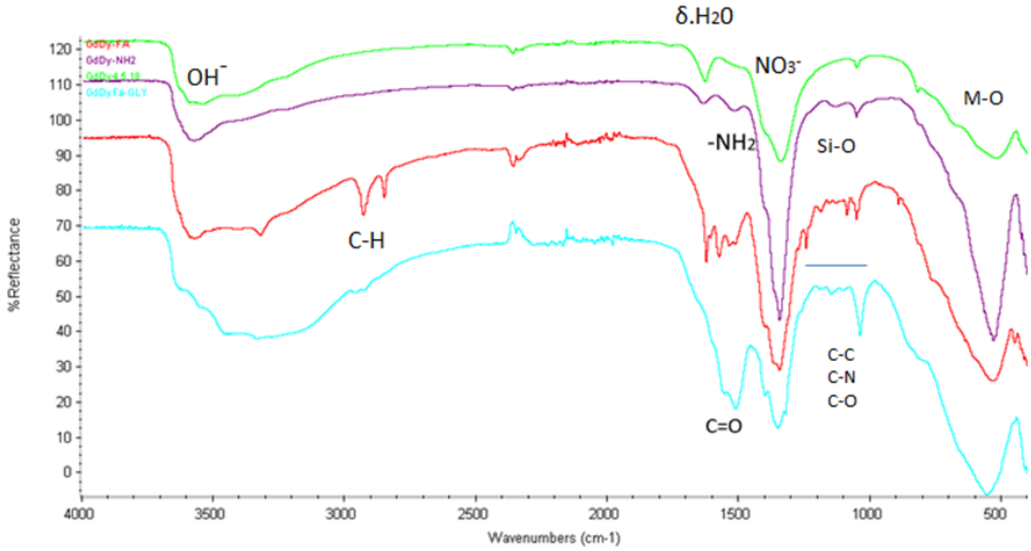
Η προσθήκη του αμινοξέος γλυκίνη στα επιφανειακά τροποποιημένα νανοσωματίδια με φολικό οξύ είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της απόστασης μεταξύ των ανόργανων στρωμάτων στα 10,18Å. Απόσταση η οποία συμφωνεί και με προηγούμενο αποτέλεσμα προσθήκης της γλυκίνης σε μη τροποποιημένα ναοσωματίδια GdDy-NO_3. Εμφανίζεται κορυφή η οποία δηλώνει την ύπαρξη ανθαρκικών ανιόντων χωρίς όμως αυτό να έχει επηρεάσει την προσθήκη του αμινοξέος. Η μείωση της έντασης των κορυφών οφείλεται στην κακή κρυσταλλικότητα του υλικού. Συνολικά, παρατηρήθηκε πως η διαστρωματική απόσταση παρέμεινε σταθερή σε όλες τις επιφανειακές τροποποιήσεις. Διαπλάτυνση των στρωμάτων υπήρξε μόνο με την ενσωμάτωση του αμινοξέος. Η επιτυχής προσθήκη της

γλυκίνης οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα νανοσωματίδια ακόμη και μετά τις τροποποιήσεις παραμένουν λειτουργικά (Εικόνα 3.24).



Εικόνα 3.24 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDy-FA και GdDy-FA-Gly

Πιο κάτω απεικονίζονται συγκριτικά τα φάσματα υπερύθρου των νανοσωματιδίων GdDy-NO_3, των επιφανειακά τροποποιημένων νανοσωματίδιων με αμινομάδες GdDy-NH_2 και με φολικό οξύ GdDy-FA και τα επιφανειακά τροποποιημένα νανοσωματίδια με φολικό οξύ ενσωματωμένα με γλυκίνη GdDy-FA-Gly (Εικόνα 3.25). Στο φάσμα IR των νανοσωματιδίων GdDy-FA-Gly παρατηρούνται δονήσεις των δεσμών υδροξειλίου, C-H, καρβονυλίου, άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου, άνθρακα-οξυγόνου. Κοινές κορυφές οι οποίες οφείλονται στο αμινοξύ δεν εμφανίζονται ξεκάθαρα καθώς αλληλεπικαλύπτονται από το φολικό οξύ το οποίο προσδέθηκε επιφανειακά.

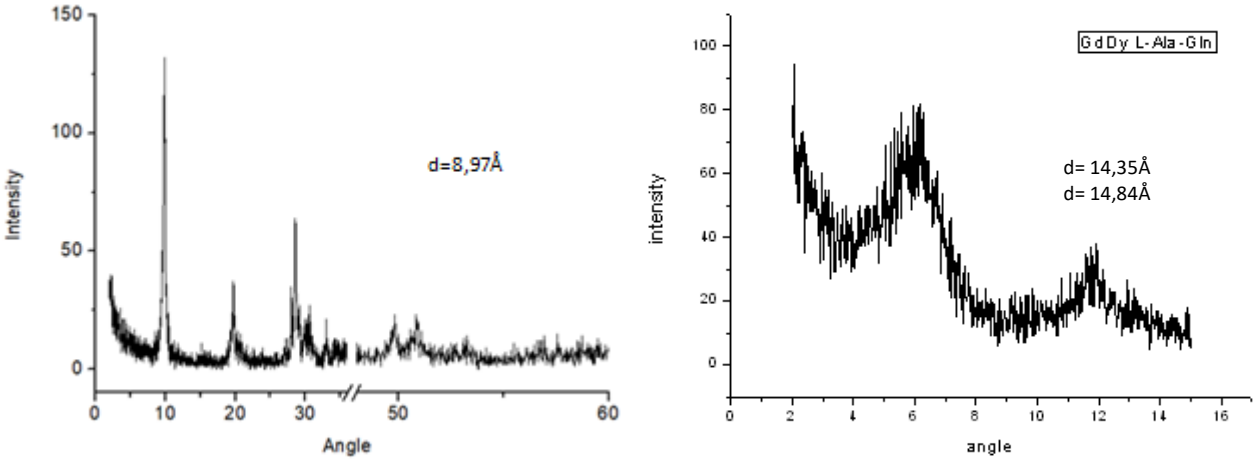


Εικόνα 3.25 Φάσματα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-NH_2, GdDy-FA και GdDy-FA-Gly

3.4 Προσθήκες φαρμάκων στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής

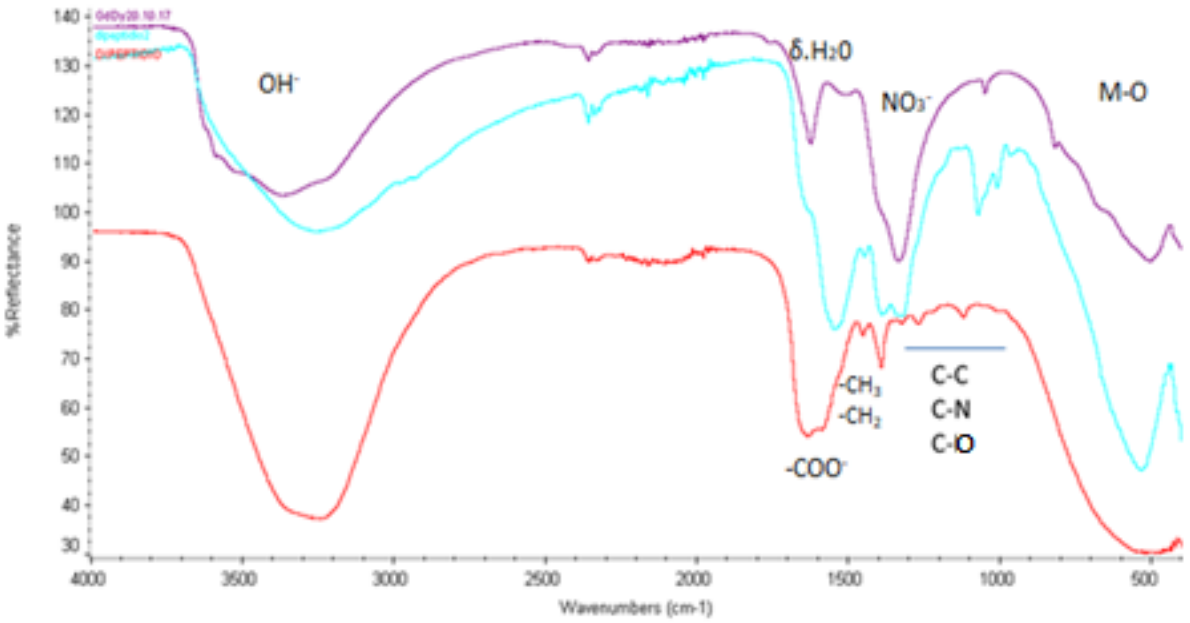
3.4.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy- L-Ala-Gln

Η επιτυχής ενσωμάτωση του διπεπτιδίου στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 αποδεικνύεται με την αύξηση της απόστασης μεταξύ των στρωμάτων από 8,97Å σε 14,35Å τόσο για n=1 όσο και για n=2 σε 14,84Å. Η κακή κρυσταλλική δομή οφείλεται λόγω του μεγέθους του αντιδραστηρίου (Εικόνα 3.26). Παρ' όλα αυτά η ενσωμάτωσή του ήταν επιτυχής [39]. Το συμπέρασμα αυτό συμπληρώνεται και από το IR.



Εικόνα 3.26 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDy-NO_3 και GdDy- L-Ala-Gln

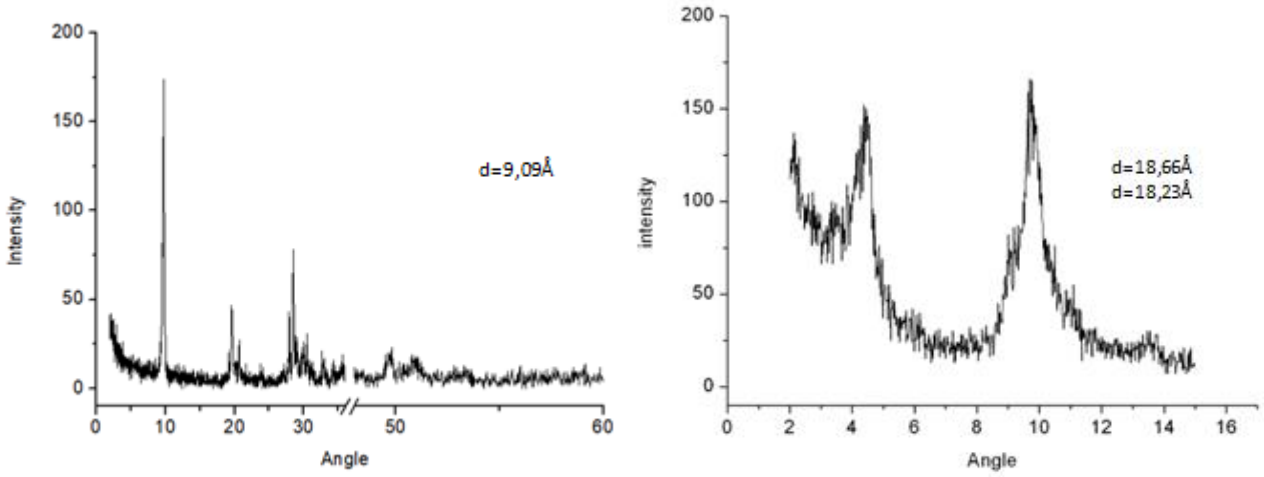
Το φάσμα υπερύθρου του GdDy- L-Ala-Gln φανερώνει πως η προσθήκη του L-Ala-Gln στο εσωτερικό των ανόργανων στρωμάτων ήταν επιτυχής (Εικόνα 3.27). Παρατηρούμε την εμφάνιση κορυφών οι οποίες αποδίδονται στους δεσμούς του διπεπτιδίου. Εμφανίζεται η χαρακτηριστική κορυφή του καρβονυλίου στα 1637cm^{-1} καθώς και του δεσμού COO- στα 1582cm^{-1}. Οι απορροφήσεις στα 1452cm^{-1} και 1394cm^{-1} οφείλονται στο μεθυλένιο και στο μεθύλιο της δομής του διπεπτιδίου. Η ύπαρξη των δεσμών άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου και άνθρακα-οξυγόνου παρατηρείται στα 1326-999cm^{-1}.



Εικόνα 3.27 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy- L-Ala-Gln και L-Ala-Gln

3.4.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Nitrofurantoin

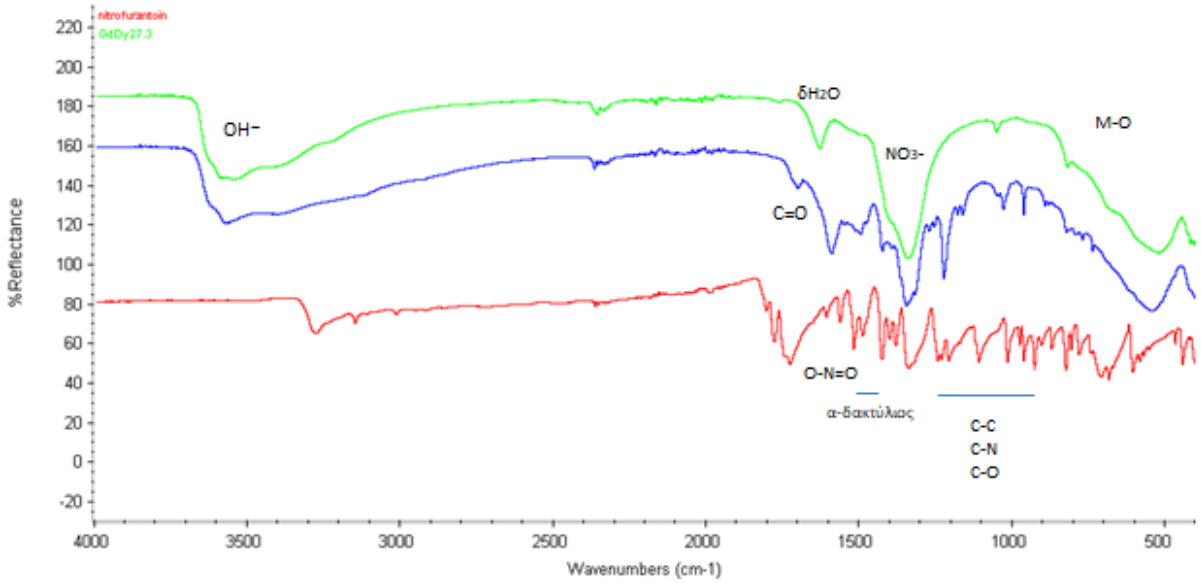
Η τεχνική περίθλασης ακτίνων Χ βεβαιώνει την ενσωμάτωση του αντιβιοτικού στα νανοσωματίδια (Εικόνα 3.28). Η διαστρωματική απόσταση υπολογίστηκε σύμφωνα με τον νόμο του Bragg στα 18,66Å για n=1και για n=2 ίση με 18,23Å. Η σταθερή διαπλάτυνση των ανόργανων στρωμάτων φανερώνει την επιτυχή ενσωμάτωση της νιτροφουραντοίνης [40], [44].



Εικόνα 3.28 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ GdDy-NO_3 και GdDy-Nitrofurantoin

Το αντιβιοτικό νιτροφουραντοϊνη ενσωματώθηκε επιτυχώς στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3. Αυτό, αποδεικνύεται και με τη φασματοσκοπία FT-IR (Εικόνα 3.29). Η κορυφή στα 1720cm^{-1} δείχνει την παρουσία του καρβονυλίου ενώ στα 1549cm^{-1} εμφανίζεται η

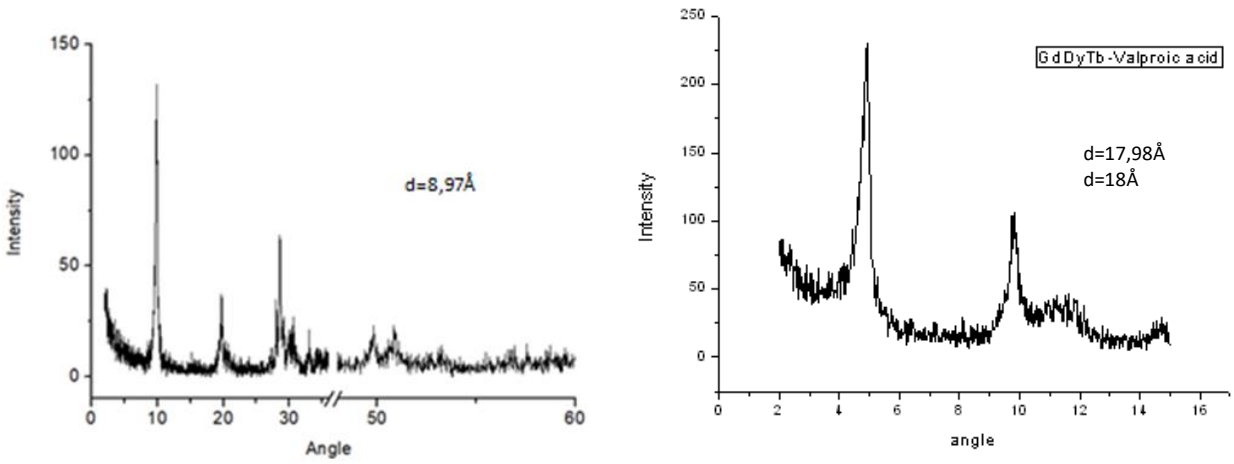
απορρόφηση του O-N=O. Οι απορροφήσεις στην περιοχή 1518-1337cm^{-1} φανερώνουν την ύπαρξη του α-δακτυλίου της νιτροφουραντοϊνης. Οι δονήσεις των δεσμών άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου και άνθρακα-οξυγόνου αντιστοιχούν στις απορροφήσεις 1245-950cm^{-1}. Τέλος, στα 700cm^{-1} εμφανίζονται τα υδρογόνα των αρωματικών δακτυλίων.



Εικόνα 3.29 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-Nitrofurantoin και Nitrofurantoin

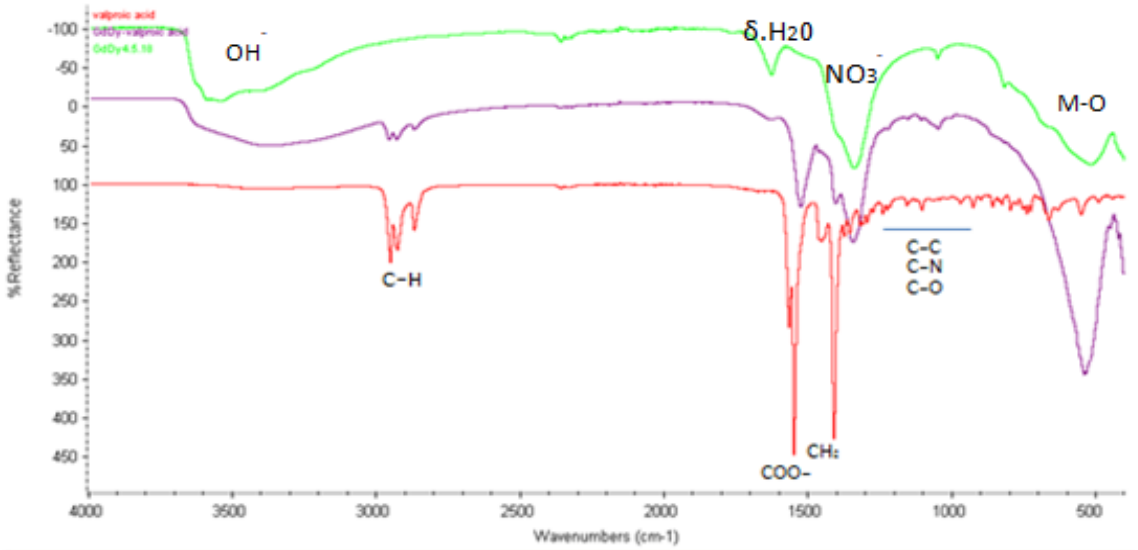
3.4.3 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy-Valproic acid

Τα διαγράμματα περίθλασης ακτίνων X φανερώνουν ην επιτυχή ενσωμάτωση του αντιεπειλιπτικού φαρμάκου στα νανοσωματίδια (Εικόνα 3.30). Κορυφές εμφανίζονται σε γωνία 4,91 και 9,81 που αντιστοιχούν σε αύξηση της διαστρωματικής απόστασης από τα 8,97Å στα 17,98Å για n=1 και 18Å για n=2. Παρατηρείται επίσης η ύπαρξη ανθρακικών ανιόντων με διαστρωματική απόσταση στα 7,8Å, τα οποία όμως δεν επηρέασαν την προσθήκη.



Εικόνα 3.30 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDy-NO_3 και GdDy-Valproic acid

Στο φάσμα υπερύθρου GdDy-Valproic acid εμφανίζονται κορυφές τόσο του αμινοξέος (Εικόνα 3.31). Στα 2993-2886cm^{-1} παρουσιάζονται οι κορυφές του δεσμού C-H. Η δόνηση του καρβοξυλίου εμφανίζεται στα 1550cm^{-1} και του μεθυλενίου στα 1474cm^{-1} και 1388cm^{-1}. Οι δονήσεις των δεσμών C-C, C-N, C-O παρατηρούνται στην περιοχή 1235-988cm^{-1}.



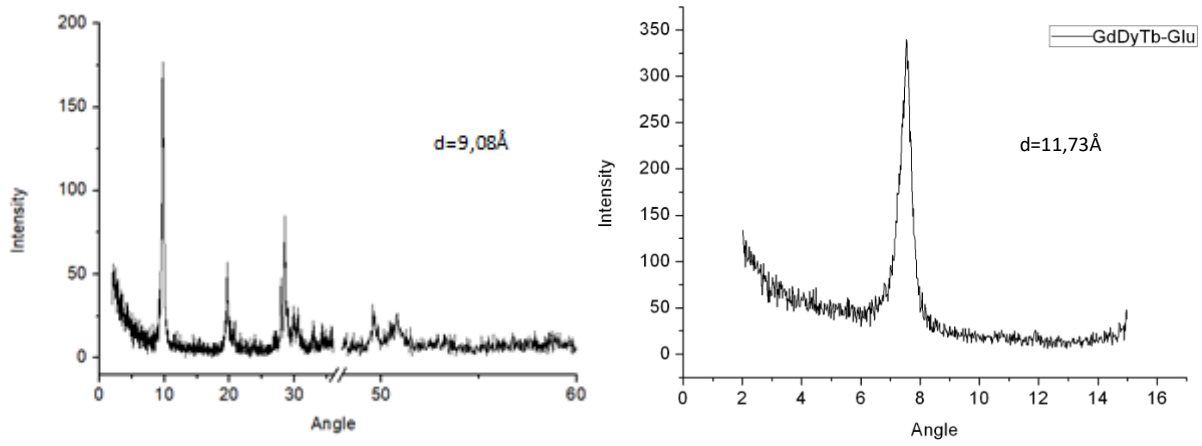
Εικόνα 3.31 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-Valproic acid και Valproic acid

3.5 Προσθήκες αμινοξέων στα νανοσωματίδια GdDyTb-NO_3 με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής

3.5.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-Glu

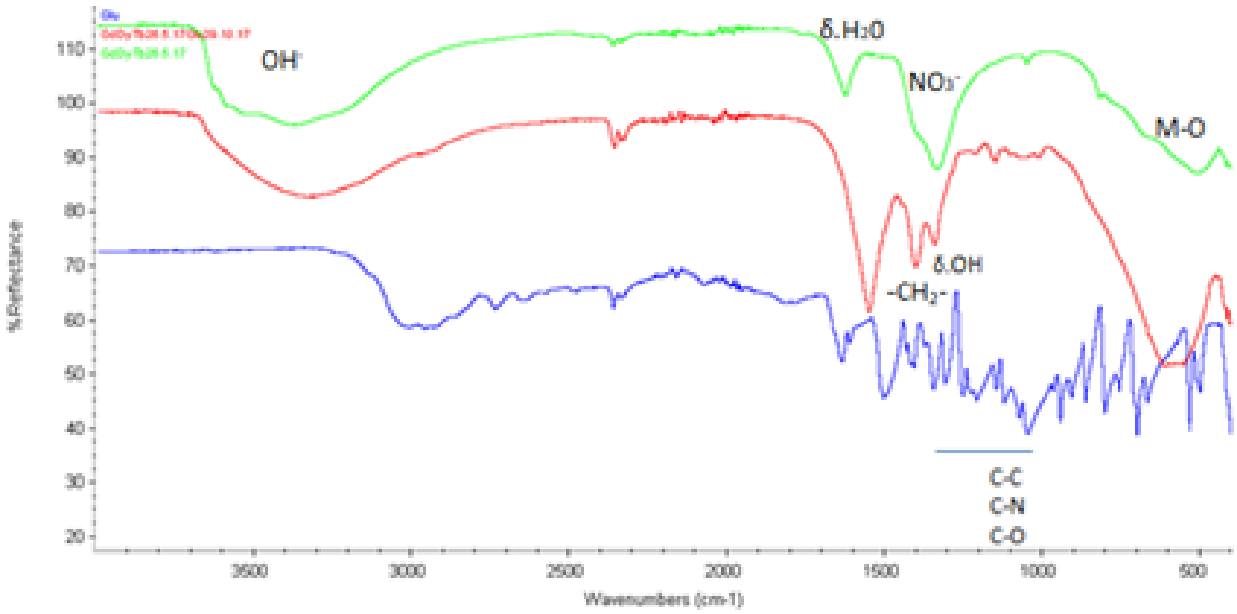
Το γλουταμινικό οξύ ενσωματώθηκε επιτυχώς ανάμεσα στα ανόργανα φύλλα του

GdDyTb-NO_3. Η οξεία κορυφή που εμφανίζεται φανερώνει τη καλή κρυσταλλικότητα του υλικού. Η διαστρωματική απόσταση διευρύνθηκε στα 11,73Å (Εικόνα 3.32).



Εικόνα 3.32 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDyTb-NO_3 και GdDyTb-Glu

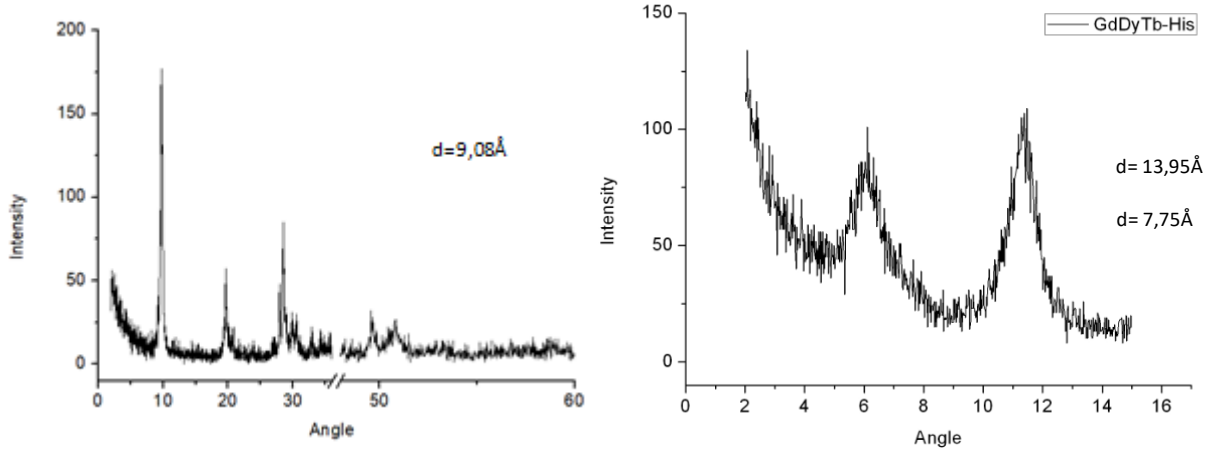
Η προσθήκη του γλουταμινικού οξέος ανάμεσα στα ανόργανα στρώματα των νανοσωματιδίων GdDyTb-NO_3 φανερώνεται και από την ανάλυση του φάσματος υπερύθρου (Εικόνα 3.33). Η κορυφή στα 1584cm^{-1} αποδίδεται στο καρβονύλιο του αμινοξέος. Επίσης, κοινές κορυφές με το φάσμα υπερύθρου του γλουταμινικού οξέος αποτελούν οι απορροφήσεις στα 1402cm^{-1} και στα 1344cm^{-1} οι οποίες αντιστοιχούν στο μεθυλένιο και στο δεσμό υδροξειλιου. Οι δονήσεις των δεσμών άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου και άνθρακα-οξυγόνου εμφανίζονται στο διάστημα 1300-950cm^{-1}.



Εικόνα 3.33 Φάσμα υπερύθρου GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Glu και Glu

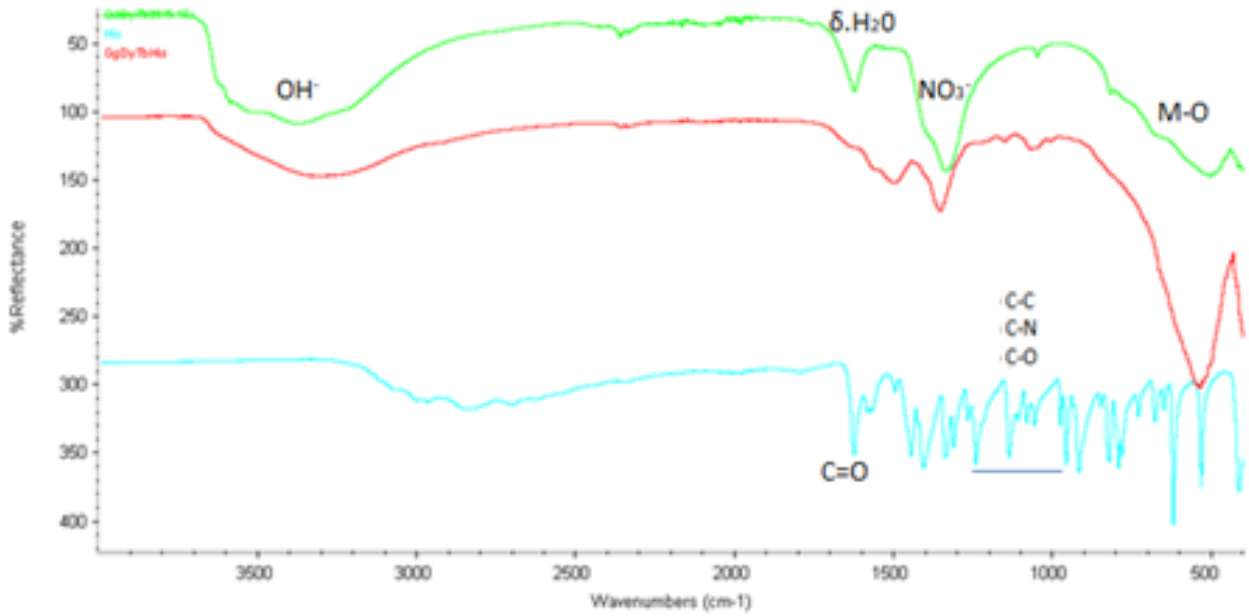
3.5.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-His

Από το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ των νανοσωματιδίων GdDyTb-His συμπεραίνουμε πως το αρωματικό αμινοξύ ιστιδίνη ενσωματώθηκε στο εσωτερικό των στρωμάτων (Εικόνα 3.34). Με την προσθήκη του, η απόσταση αυξήθηκε από 9,08Å σε 13,95Å. Η κορυφή στα 7,75Å οφείλεται σε ανθρακικά ανιόντα τα οποία κατά τη διάρκεια του πειράματος εισήχθηκαν στο δείγμα.



Εικόνα 3.34 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ GdDyTb-NO_3 και GdDyTb-His

Στο φάσμα υπερύθρου του GdDyTb-His παρατηρείται η ύπαρξη του δεσμού C=C στα 1490cm^{-1}. Η δόνηση στα 1589cm^{-1} οφείλεται στο καρβονύλιο του αμινοξέος. Επίσης, εμφανίζονται οι δονήσεις των δεσμών άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου και άνθρακα-οξυγόνου εμφανίζονται στο διάστημα 1245-950cm^{-1} (Εικόνα 3.35).

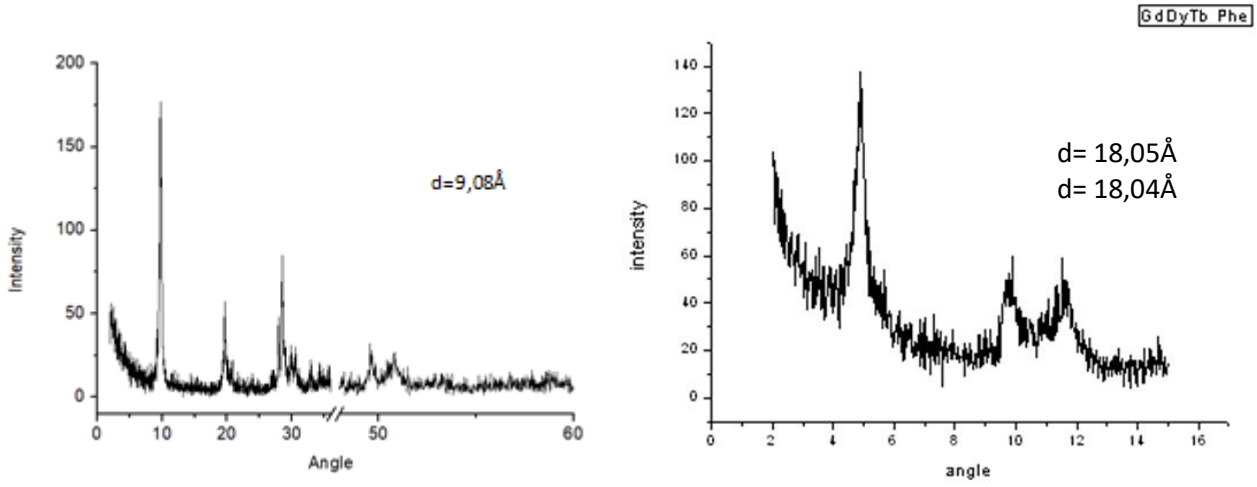


Εικόνα 3.35 Φάσμα υπερύθρου GdDyTb-NO_3, GdDyTb-His και His

Επιτυχώς εισήχθηκαν και τα αρωματικά αμινοξέα Phe και Tyr.

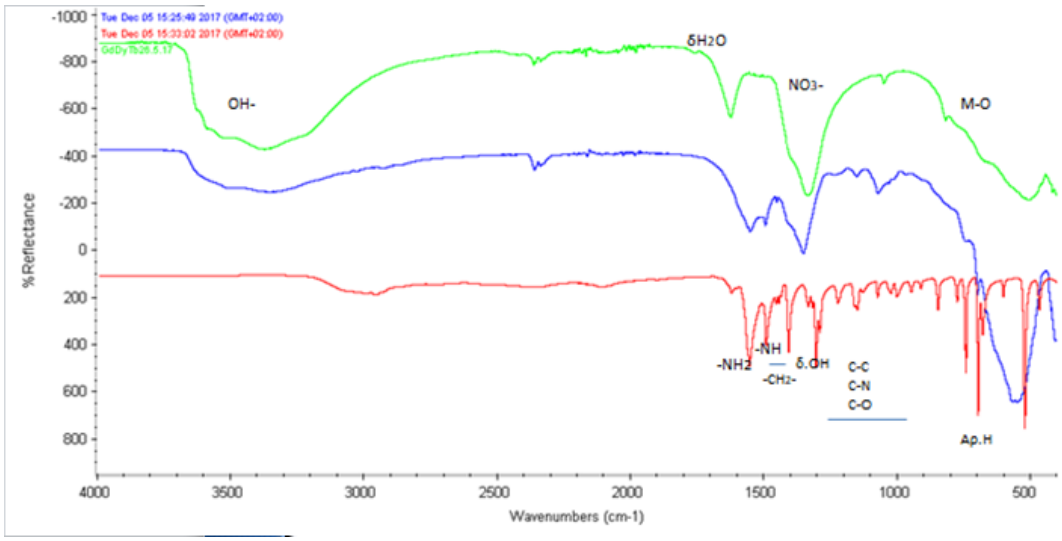
3.5.3 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-Phe

Η ενσωμάτωση του αρωματικού αμινοξέος φαινυλαλανίνη στο GdDyTb-NO_3 αποδεικύεται από την αύξηση της απόστασης μεταξύ των στρωμάτων από 9,08Å σε 18,05Å για n=1 και 18,04Å για n=2 (Εικόνα 3.36). Αποτελέσματα που συμφωνούν με τη βιβλιογραφία [44], [40].



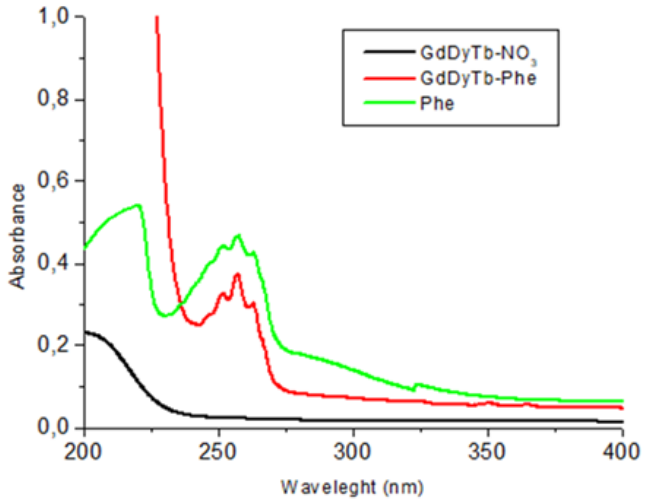
Εικόνα 3.36 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDyTb-NO_3 και GdDyTb-Phe

Η αμινομάδα της φαινυλαλανίνης εμφανίζεται στα 1560cm^{-1}. Η δόνηση του δεσμού N-H παρουσιάζεται στα 1507cm^{-1}. Στα 1450-1400cm^{-1} παρατηρείται η απορρόφηση του μεθυλενίου. Η περιοχή απορρόφησης 1300-950cm^{-1} αποδίδεται στις δονήσεις των δεσμών άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου και άνθρακα-οξυγόνου. Τέλος, στα 700cm^{-1} παρουσιάζονται τα αρωματικά υδρογόνα του αμινοξέος (Εικόνα 3.37).



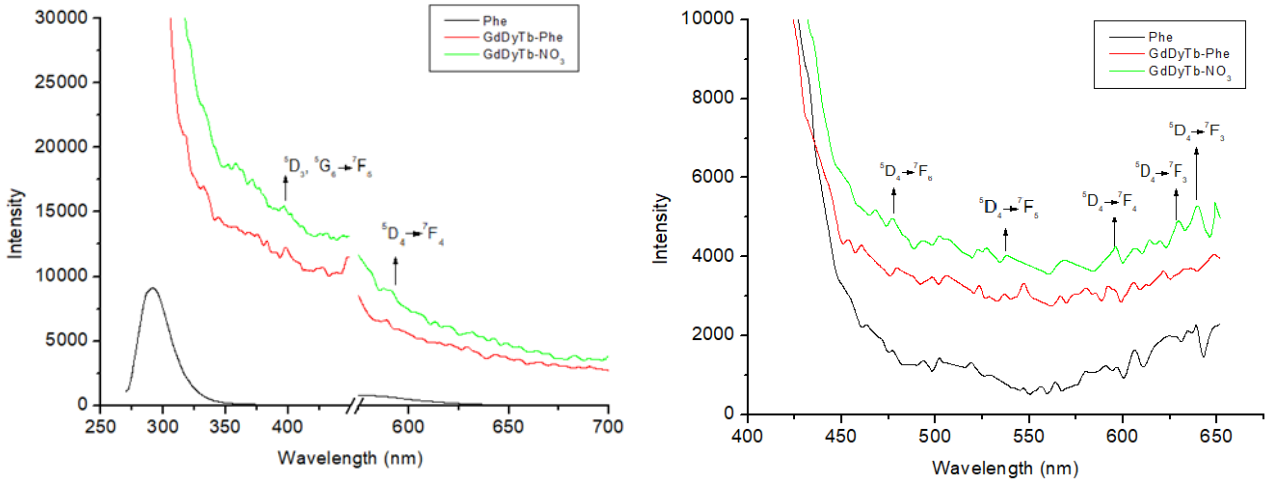
Εικόνα 3.37 Φάσμα υπερύθρου GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Phe και Phe

Έγινε σύγκριση των φασμάτων υπεριώδους ορατού των νανοσωματιδίων GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Phe και του αμινοξέος Phe (Εικόνα 3.38). Το φάσμα υπεριώδους ορατού των νανοσωματιδίων GdDyTb-Phe εμφανίζει απορρόφηση στα 251, 257 και 236nm. Απορροφήσεις οι οποίες αντιστοιχούν με τις απορροφήσεις του φάσματος του αμινοξέος φαινυλαλανίνης. Γεγονός που αποτελεί ακόμη μία απόδειξη της επιτυχής ενσωμάτωσης του αρωματικού αμινοξέος στα νανοσωματίδια GdDyTb-NO_3.



Εικόνα 3.38 Φάσμα υπεριώδους ορατού GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Phe και Phe

Λήφθηκαν φάσματα μοριακής φθορισμομετρίας των νανοσωματίδιων GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Phe και του αμινοξέος φαινυλαλανίνη (Εικόνα 3.39). Αρχικά, πραγματοποιήθηκε διέγερση στα 260 nm (φάσμα A) όπου φαίνεται ο φθορισμός του αμινοξέος στα 290 nm. Έπειτα, τα δείγματα διεγείρθηκαν σε υψηλότερο μήκος κύματος στα 369 nm (φάσμα B). Η ανάλυση του δείγματος GdDyTb-NO_3 έδειξε κορυφές φθορισμού οι οποίες οφείλονται στο τέρβιο. Παρουσιάζονται χαρακτηριστικές κορυφές φθορισμού του Tb^{3+} στα 477 nm που αντιστοιχούν σε ενεργειακές μεταπτώσεις $^5D_4 \rightarrow {}^7F_6$, στα 538 nm ($^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$), στα 596 nm ($^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$) και στα 614 ,630 και 640 nm ($^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$) [45], [46], [47]. Η ύπαρξη της φαινυλαλανίνης στα νανοσωματίδια GdDyTb-Phe είχε ως αποτέλεσμα μικρή μετατόπιση των κορυφών φθορισμού του τερβίου, σε σύγκριση με τα νανοσωματίδια GdDyTb-NO_3 που δεν περιέχουν το αμινοξύ.

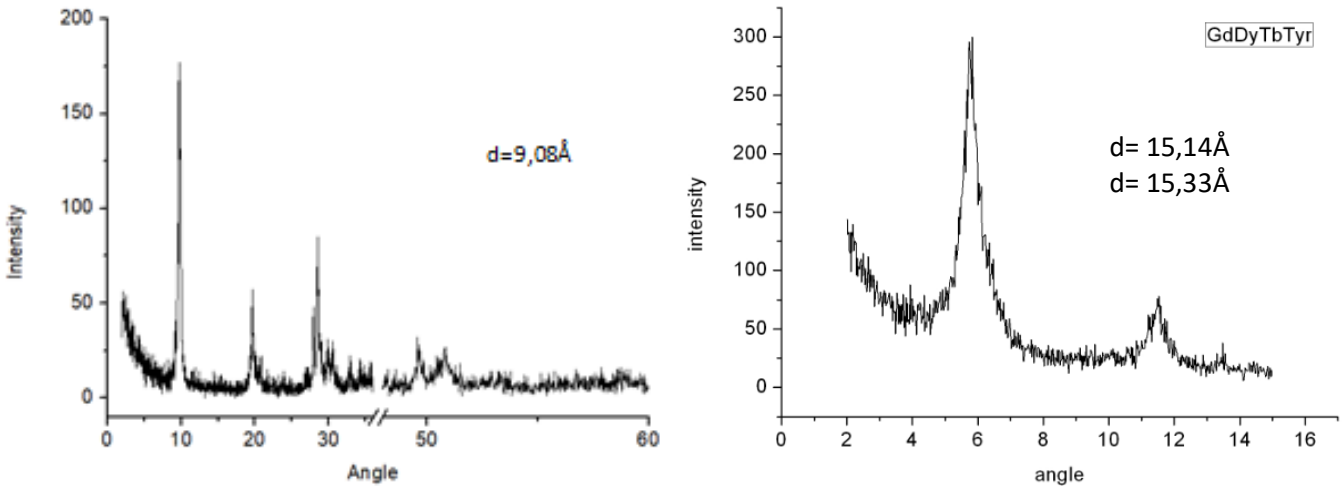


A **B**

Εικόνα 3.39 Φάσματα μοριακής φθορισμομετρίας Α. Δειγμάτων GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Phe και Phe διεγερμένων στα 260 nm Β. Δειγμάτων GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Phe και Phe διεγερμένων στα 369 nm

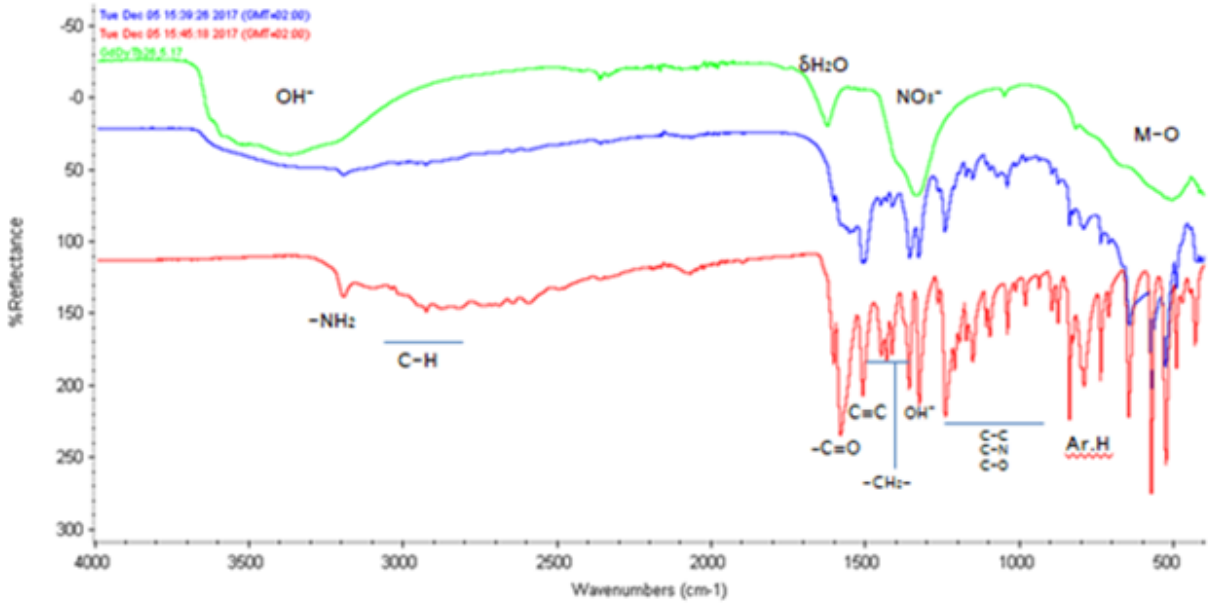
3.5.4 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-Tyr

Η ανάλυση των διαγραμμάτων περίθλασης ακτίνων Χ των νανοσωματιδίων GdDyTb-NO_3 και GdDyTb-Tyr βεβαιώνουν την επιτυχή ενσωμάτωση της τυροσίνης στα ενδιάμεσα στρώματα. Η απόσταση μεταξύ των ανόργανων στρωμάτων αυξήθηκε από τα 9,08Å στα 15Å τόσο για n=1 όσο και για n=2. Οι οξείες κορυφές φανερώνουν την καλή κρυσταλλικότητα της ένωσης (Εικόνα 3.40).



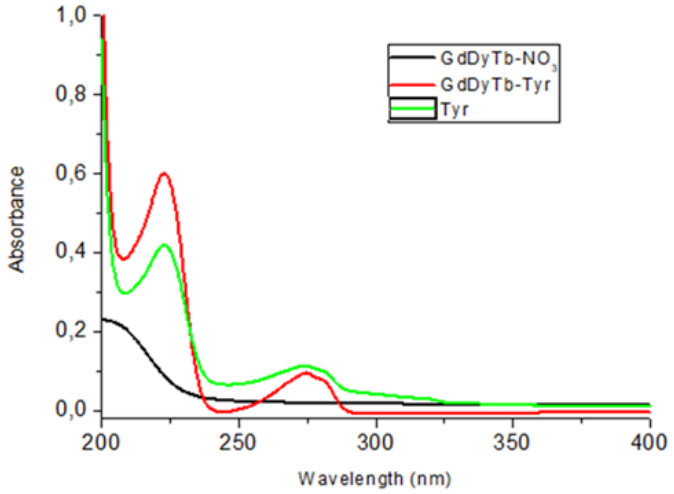
Εικόνα 3.40 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ GdDyTb-NO_3 και GdDyTb-Tyr

Η ανάλυση των φασμάτων υπερύθρου δείχνει την επιτυχημένη προσθήκη της τυροσίνης στα ανόργανα στρώματα του νανοσωματιδίου (Εικόνα 3.41). Η πρώτη κορυφή εμφανίζεται στα 3195cm^{-1} και οφείλεται στην αμινομάδα. Στα 2962cm^{-1} παρατηρείται η δόνηση του δεσμού C-H. Η απορρόφηση στα 1576cm^{-1} δηλώνει την ύπαρξη του καρβονυλίου της τυροσίνης, ενώ η δόνηση στα 1500cm^{-1} αποδίδεται στο δεσμό C=C. Οι απορροφήσεις στα 1454cm^{-1}, 1446cm^{-1} , 1413cm^{-1} και στα 1356cm^{-1}, 1327cm^{-1} οφείλονται στις δονήσεις των δεσμών του μεθυλενίου και του υδροξειλίου, αντίστοιχα. Στα 1250-950cm^{-1} αντιστοιχούν οι δονήσεις των δεσμών άνθρακα-άνθρακα, άνθρακα-αζώτου και άνθρακα-οξυγόνου. Τα αρωματικά υδρογόνα της δομής του αμινοξέος εμφανίζονται στο διάστημα 850-640cm^{-1}.



Εικόνα 3.41 Φάσμα υπερύθρου GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Tyr και Tyr

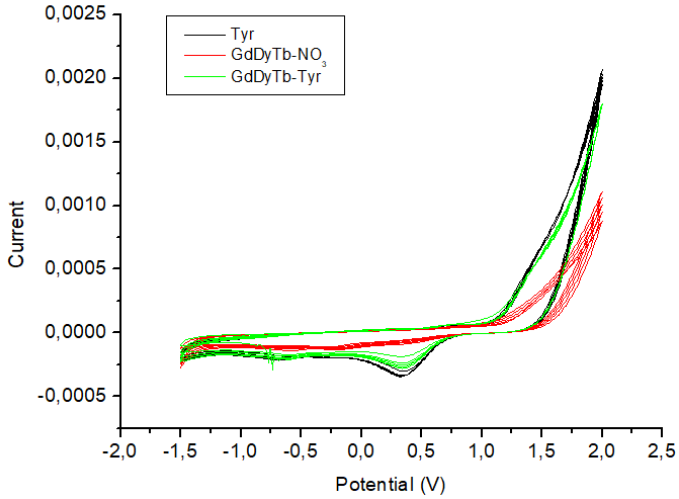
Όμοια, αναλύθηκαν και τα φάσματα υπεριώδους ορατού των νανοσωματιδίων GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Tyr και του αμινοξέος τυροσίνη (Εικόνα 3.42). Τα νανοσωματίδια GdDyTb-Tyr εμφάνισαν απορρόφηση στα 223 και 274nm, απορροφήσεις οι οποίες οφείλονται στο αρωματικό αμινοξύ. Η τυροσίνη ακινητοποιηθήκε επιτυχώς.



Εικόνα 3.42 Φάσμα υπεριώδους ορατού GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Tyr και Tyr

Εφαρμόστηκε η τεχνική της κυκλικής βολταμετρίας για τα δείγματα GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Tyr και το αμινοξύ τυροσίνη. Έγινε χρήση ηλεκτροδίου εργασίας (ηλεκτρόδιο γραφίτη), βοηθητικού ηλεκτροδίου (ηλεκτρόδιο πλατίνας) και το ηλεκτρόδιο αναφοράς (ηλεκτρόδιο αργύρου).

Η ανάλυση του διαγράμματος κυκλικής βολταμετρίας του αμινοξέος τυροσίνη δείχνει την αναγωγή του αμινοξέος στα 0,4 V [45]. Αντίστοιχα αποτελέσματα παρατηρούνται και στα νανοσωματίδια GdDyTb-Tyr. Στα νανοσωματίδια GdDyTb-NO_3 δεν υπάρχει κάποια οξειδοαναγωγική διαδικασία. Το αμινοξύ τυροσίνη μετά την ενσωμάτωσή του στα νανοσωματίδια GdDyTb-NO_3 φαίνεται ότι διατηρεί τις οξειδωτικές ιδιότητές του (Εικόνα 3.43).

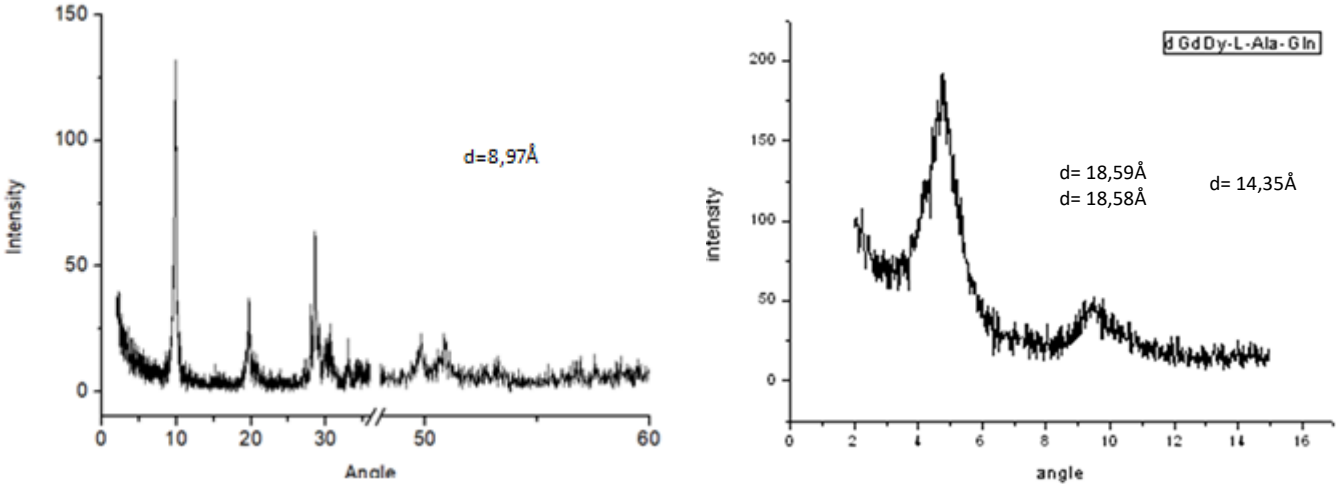


Εικόνα 3.43 Διάγραμμα κυκλικής βολταμετρίας GdDyTb-NO_3, GdDyTb-Tyr και Tyr

3.6 Προσθήκες φαρμάκων στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 με τη μέθοδο της αποστοίβαξης με διαλύτη γλυκερόλη

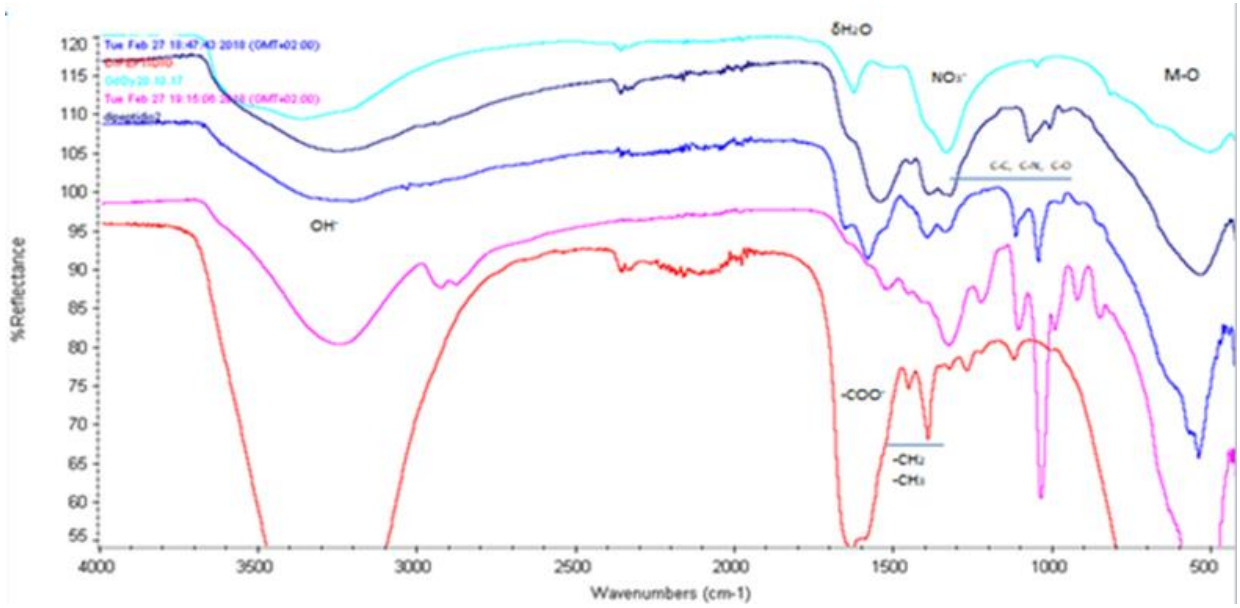
3.6.1 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDy - L-Ala-Gln

Η αύξηση της διαστρωματικής απόστασης από 8,97Å σε 18,59Å τόσο για n=1 όσο και σε 18,58Å για n=2 δείχνει την δέσμευση του διπεπτιδίου στα εσωτερικά στρώματα. Συγκρίνοντας την αντίστοιχη τιμή της απόστασης με την μέθοδο της ανιοανταλλαγής συμπεραίνουμε ότι το διπεπτίδιο ενσωματώθηκε επιτυχώς αλλά υπό διαφορετική γωνία από ότι με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής όπου η απόσταση υπολογίστηκε στα 14,35Å (Εικόνα 3.44) [39].



Εικόνα 3.44 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων X GdDyTb-NO_3 και GdDyTb-Gln

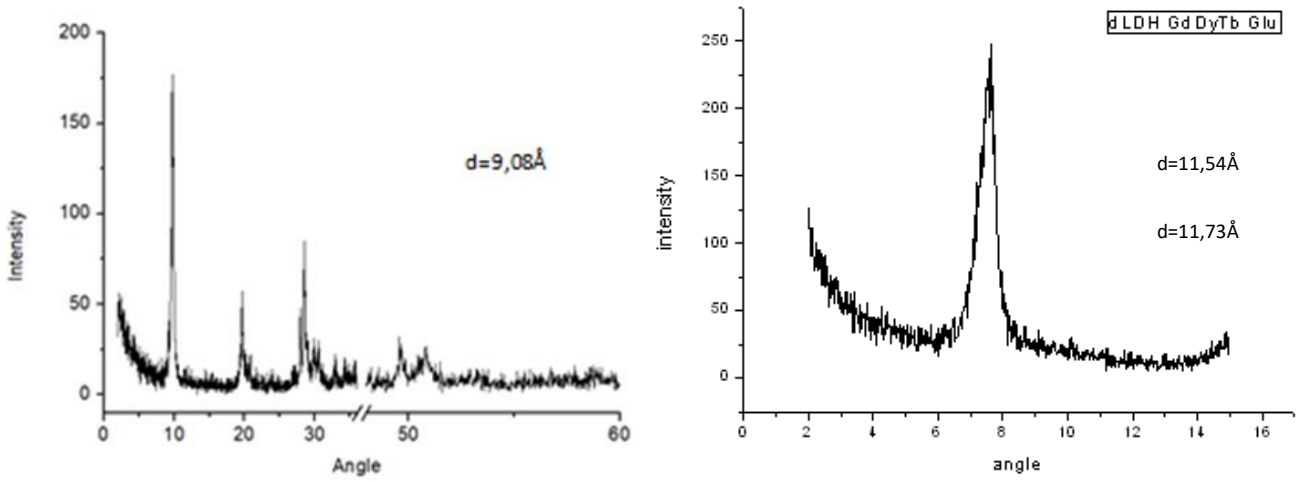
Έγινε σύγκριση των φασμάτων υπερύθρου του GdDy-NO_3, των νανοσωματιδίων GdDy-L-Ala-Gln που ενσωματώθηκε με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής, του GdDy-L-Ala-Gln με τη μέθοδο της αποστοίβαξης, του διαλύτη γλυκερόλη και του αντιδραστηρίου L-Ala-Gln (Εικόνα 3.45). Παρατηρούμε ότι το φάσμα υπερύθρου GdDy-L-Ala-Gln με αποστοίβαξη είναι πανομοιότυπο με το φάσμα του GdDy-L-Ala-Gln που προστέθηκε με ανιοανταλλαγή. Έντονη εμφανίζεται κορυφή στα 1120cm^{-1} που οφείλεται στο διαλύτη. Όμως, είναι φανερή η επιτυχής προσθήκη του αμινοξέος.



Εικόνα 3.45 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-L-Ala-Gln με ανιοανταλλαγή, GdDy-L-Ala-Gln με αποστοίβαξη, γλυκερόλη και L-Ala-Gln

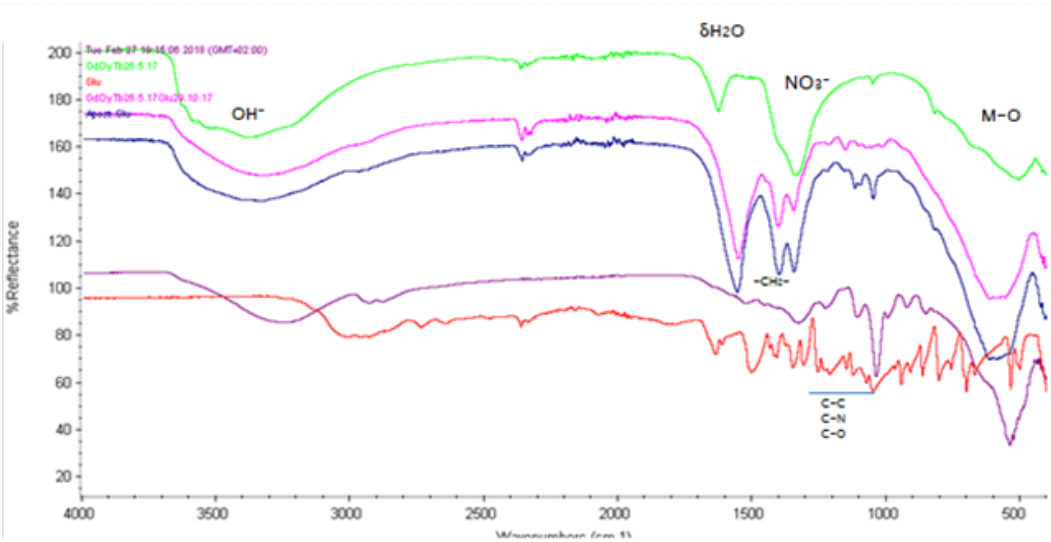
3.6.2 Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων GdDyTb-Glu

Το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ του επαναστοιβαγμένου GdDyTb-NO_3 με προσθήκη του γλουταμινικού οξέος εμφανίζει μία οξεία κορυφή, στοιχείο που φανερώνει καλή κρυσταλλικότητα, στα 11,54Å. Λήφθηκαν παρόμοια αποτελέσματα με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής όπου η απόσταση ήταν 11,73Å (Εικόνα 3.46).



Εικόνα 3.46 Διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ GdDyTb-NO_3 και GdDyTb-Gln

Όμοια με πιο πάνω έγινε σύγκριση των αντίστοιχων φασμάτων υπερύθρου για το γλουταμινικό οξύ. Η σύγκριση των φασμάτων των δύο μεθόδων δείχνει την επιτυχή ενσωμάτωση του αμινοξέος στα ανόργανα στρώματα των ναοσωματιδίων (Εικόνα 3.47).



Εικόνα 3.47 Φάσμα υπερύθρου GdDy-NO_3, GdDy-L-Ala-Glu με ανιοανταλλαγή, GdDy-Glu με αποστοίβαξη, γλυκερόλη και Glu

Κεφάλαιο 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία παρασκευάστηκαν επιτυχώς δύο νανοσωματιδία λανθανιδών. Οι φυλλόμορφες δομές αυτές ήταν τα GdDy-NO_3 και GdDyTb-NO_3 με αντισταθμιστικά νιτρικά ανιόντα.

Η επιφάνεια των νανοσωματιδίων GdDy-NO_3 τροποποιήθηκε με αμινομάδες και έπειτα με φολικό οξύ, δίνοντας έτσι τη ικανότητα στόχευσης καρκινικών κυττάρων. Τα νανοσωματίδια με αυτόν τον τρόπο αποτέλεσαν σύστημα στοχευμένης χορήγησης φαρμάκων. Μια σειρά από βιολογικά μόρια και φαρμακευτικές ενώσεις προστέθηκαν στα ανόργανα στρώματα αυτών των δομών. Συγκεκριμένα, στα νανοσωματίδια GdDy-NO_3 ενσωματώθηκαν επιτυχώς με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής τα αμινοξέα ασπαραγινικό οξύ, αλανίνη, γλουταμίνη, γλυκίνη, κυστεϊνη και θρεονίνη. Μετά την επιτυχή προσθήκη απλών αμινοξέων ακολούθησε η προσθήκη του διπεπτιδίου L-Ala-Gln, φαρμακευτική ένωση η οποία δρα τοπικά στο γαστρεντερικό σωλήνα. Έπειτα, ενσωματώθηκε η νιτροφουραντοϊνη, αντιβιοτικό το οποίο χρησιμοποιείται για τις λοιμώξεις ουροποιητικού συστήματος καθώς και το βαλπροϊκό οξύ το οποίο ανήκει στα αντιεπιληπτικά φάρμακα.

Στα νανοσωματίδια GdDyTb-NO_3 εισήχθηκαν με επιτυχία το αμινοξύ γλουταμινικό οξύ και η ιστιδίνη. Επίσης, προστέθηκαν τα αρωματικά αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τυροσίνη με τη μέθοδο της ανιοανταλλαγής.

Επιπλέον, μελετήθηκε η ενσωμάτωση χημικών ενώσεων στα νανοσωματίδια με τη μέθοδο της αποστοίβαξης. Έγινε προσθήκη του διπεπτιδίου L-Ala-Gln στα νανοϋβρίδια GdDy-NO_3 και του γλουταμινικού οξέος στα νανοσωματίδια GdDyTb-NO_3.

Η ενσωμάτωση διάφορων βιολογικών μορίων και φαρμάκων στα ενδιάμεσα ανόργανα στρώματα ήταν επιτυχής. Γεγονός που αποδικνύει ότι οι δομές αυτές είναι λειτουργικές. Υπάρχει προοπτική για την περαιτέρω προσπάθεια προσθήκης και σταθεροποίησης ουσιών στα μαγνητικά νανοϋβρίδια με απώτερο σκοπό τη στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων για διάφορες παθήσεις.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Zhang, K., et al., *Potential for layered double hydroxides-based, innovative drug delivery systems.* Int J Mol Sci, 2014. **15**(5): p. 7409-28.
2. Zuo, H., *Layered double hydroxide nanoparticles with peptide topenetrate blood brain barrier for gene delivery*. 2016, University of Queensland.
3. Vaccari, C.T., *catalysis today* 1991.
4. Rives, V., M. del Arco, and C. Martin, *Intercalation of drugs in layered double hydroxides and their controlled release: A review.* Applied Clay Science, 2014. **88-89**: p. 239-269.
5. Stefanakis, D. and D.F.G. J, *Rare earth fluorescent nanoparticles for specific cancer cell targeting.* J Nanopart Res 2016.
6. Miyata, S., *Syntheses of Hydrotalcite-Like Compounds and Their Structures and Physicochemical Properties .1. Systems Mg2+-Al3+-No-3,Mg2+-Al3+-Cl-,Mg2+-Al3+-Clo-4,Ni2p-Al3+-Cl- and Zn2+-Al3+-Cl-.* Clays and Clay Minerals, 1975. **23**(5): p. 369-&.
7. Park, I.Y., K. Kuroda, and C. Kato, *Preparation of a Layered Double Hydroxide-Porphyrin Intercalation Compound.* Chemistry Letters, 1989(11): p. 2057-2058.
8. Borja, M. and P.K. Dutta, *Fatty-Acids in Layered Metal-Hydroxides - Membrane-Like Structure and Dynamics.* Journal of Physical Chemistry, 1992. **96**(13): p. 5434-5444.
9. Ambrogi, V., et al., *Intercalation compounds of hydrotalcite-like anionic clays with antiinflammatory agents - I. Intercalation and in vitro release of ibuprofen.* International Journal of Pharmaceutics, 2001. **220**(1-2): p. 23-32.
10. Tae-Hyun Kim, et al., *Anticancer Drug-Incorporated Layered Double Hydroxide Nanohybrids and Their Enhanced Anticancer Therapeutic efficacy in Combination Cancer Treatment.* BioMed Research International, 2014.
11. Oh, J.-M., et al., *Inorganic Drug-Delivery Nanovehicle Conjugated with Cancer-Cell-Specific Ligand.* Adv. Funct. Mater, 2009. **19**: p. 1617–1624.
12. Wei, M., et al., *Intercalation of L-Dopa into Layered Double Hydroxides: Enhancement of Both Chemical and Stereochemical Stabilities of a Drug through Host-Guest Interactions.* Chemistry of Materials, 2008. **20**(16): p. 5169-5180.
13. Tamura, H., et al., *Synthesis and characterization of hydrotalcite-ATP intercalates.* Solid State Ionics, 2004. **172**(1-4): p. 607-609.
14. Tamura, H., et al., *Formation of hydrotalcite in aqueous solutions and intercalation of ATP by anion exchange.* Journal of Colloid and Interface Science, 2006. **300**(2): p. 648-654.
15. Li, A., et al., *The use of layered double hydroxides as DNA vaccine delivery vector for enhancement of anti-melanoma immune response.* Biomaterials, 2011. **32**(2): p. 469-477.
16. Nakayama, H., A. Hatakeyama, and M. Tsuhako, *Encapsulation of nucleotides and DNA into Mg-Al layered double hydroxide.* Int J Pharm, 2010. **393**(1-2): p. 104-11.
17. Aisawa, S., et al., *Intercalation behavior of L-ascorbic acid into layered double hydroxides.* Applied Clay Science, 2007. **35**(3-4): p. 146-154.
18. Gasser, M.S., *Inorganic layered double hydroxides as ascorbic acid (vitamin C) delivery system-Intercalation and their controlled release properties.* Colloids and Surfaces B-Biointerfaces, 2009. **73**(1): p. 103-109.
19. Meyn, M., K. Beneke, and G. Lagaly, *Anion-Exchange Reactions of Layered Double Hydroxides.* Inorganic Chemistry, 1990. **29**(26): p. 5201-5207.
20. Gu, Z., et al., *Stabilization of layered double hydroxide nanoparticles by bovine serum albumin pre-coating for drug/gene delivery.* J Control Release, 2015. **213**: p. e150-1.
21. Hong, J., *Synthesis and arsenic adsorption performances of ferric-based layered double hydroxide with a-alanine intercalation.* Chemical Engineering Journal 2014. **252**: p. 267–274.
22. Hamblin, M.R. and T. Hasana, *Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease* 2004.

23. O'Riordan, K., O.E. Akilov, and T. Hasan, *The potential for photodynamic therapy in the treatment of localized infections.* Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2005. **2**(4): p. 247-262.
24. Tae-HyunKim, et al., *Anticancer Drug-Incorporated Layered Double Hydroxide Nanohybrids and Their Enhanced Anticancer Therapeutic Efficacy in Combination Cancer Treatment.* 2014.
25. Senapati, S., et al., *Layered double hydroxides as effective carrier for anticancer drugs and tailoring of release rate through interlayer anions.* Journal of Controlled Release, 2016. **224**: p. 186-198.
26. Manlin, Z., et al., *Layered Double Hydroxide-Supported Carbon Dots as an Efficient Heterogeneous Fenton-Like Catalyst for Generation of Hydroxyl Radicals* J. Phys. Chem. C, 2014. **118**: p. 10441−10447.
27. Fabrice, L., et al., *Delamination and restacking of layered double hydroxides.* Journal of materials chemistry, 2000.
28. Yu, J.F., et al., *Preparation of two dimensional layered double hydroxide nanosheets and their applications.* Chemical Society Reviews, 2017. **46**(19): p. 5950-5974.
29. Hibino, T., *Delamination of layered double hydroxides containing amino acids.* Chemistry of Materials, 2004. **16**(25): p. 5482-5488.
30. Junya, W., et al., *Delaminated Layered Double Hydroxide Nanosheets as an Efficient Vector for DNA Delivery.* Journal of Biomedical Nanotechnology, 2016. **12**: p. 922–933.
31. *Nanoparticle-based targeted drug delivery* Experimental and Molecular Pathology, 2009. **86**(3): p. 215-223.
32. Kura, A.U., et al., *Layered double hydroxide nanocomposite for drug delivery systems; bio-distribution, toxicity and drug activity enhancement.* Chem Cent J, 2014. **8**(1): p. 47.
33. Stefanakis, D. and D.F. Ghanotakis, *Synthesis and characterization of gadolinium nanostructured materials with potential applications in magnetic resonance imaging, neutron-capture therapy and targeted drug delivery.* Journal of Nanoparticle Research, 2010. **12**(4): p. 1285-1297.
34. Aminu Umar, K., et al., *Preparation of Tween 80-Zn/Al-Levodopa-Layered Double Hydroxides Nanocomposite for Drug Delivery System.* The Scientific World Journal, 2014.
35. Dimitrios, S., *Preparation of new mri contrast agents, with characteristics including their sprcific adhension on cell types*, in *deparment of chemistry*. 2009, university of Crete.
36. Tenison, M., *principles of nuclear magnetic resonance and MRI Review*, in *Chapter 3*
37. Stefanakis, D., I. Seimenis, and D. Ghanotakis, *Synthesis and characterization of gadolinium nanosheets with bound rose bengal: potential use in photodynamic therapy and MRI.* Journal of Nanoparticle Research, 2014. **16**(11).
38. Stefanakis, D. and D. Ghanotakis, *Synthesis and characterization of nanoparticles, consisting of a gadolinium paramagnetic core and a mesoporous silica shell, for controlled delivery of hydrophobic drugs.* Journal of Nanoparticle Research, 2013. **16**(1).
39. Yongliao, W., et al., *Intercalation of l-Alanyl-Glutamine Dipeptide into Layered Double Hydroxides: Configuration Stabilization in Confined Interlayer Region.* INDUSTRIAL & ENGINEERING CHEMISTRY RESEARCH, 2012. **51**: p. 11128–11136.
40. Dziallas, P., *Synthesis and characterisation of different nanomaterial with the ability of controlled drug release* 2014, University of Applied Sciences, Krefeld, Germany
41. Nakayama, H. and A. Hayashi, *Protection of Deliquescence of Sodium Valproate by Hydrotalcite Using Different Synthetic Routes*

Journal of Pharmaceutical Microbiology, 2017. **Vol. 3 No. 1: 2**.
42. Vinay, J.N., et al., *Synthesis, Characterization, and In Vitro Drug Delivery Capabilities of (Zn, Al)-Based Layered Double Hydroxide Nanoparticles.* Journal of Nanotechnology, 2015. **2015**.
43. Laura J. M, Lauren K. J., and Andrew M. F, *Ln2(OH)5NO3 · xH2O (Ln) Y, Gd-Lu): A Novel Family of Anion Exchange Intercalation Hosts.* Chemistry of Materials, 2008. **20**.

44. Sfendourakis, G.-P., *Sythesis and characterization of LDH nanobiohybrids*, in *deparment of chemistry*. 2017, university of crete.
45. Jeffrey J., W., Jay R. Winkler, and H.B.G. ⇑, *Redox properties of tyrosine and related molecules.* FEBS Letters, 2012. **586**.