

ננו-מערכות לנשיאת תרופות המבוססות על ביוחומרים*

חגית לוי וורד אדלר, מורות לכימיה, אולפנת "אורות מודיעין"

השילוב בין תחומי הננוטכנולוגיה והרפואה סלל את הדרך לתחילתו של תחום חדש שנקרא ננו-רפואה. אף שרוב המחקר והפיתוח בתחום זה החלו מאוחר יחסית, בשנות ה-90, הוא כבר מציע מגוון רב של יישומים ננוטכנולוגיים כגון מערכות לנשיאת תרופות, חיישנים, סמנים פלואורסנטיים לצורכי הדמיה ועוד. העלייה המשמעותית ביותר בכמות הפרסומים והגשות הפטנטים בתחום הננו-רפואה החלה למעשה רק בעשור האחרון. מוקד המאמצים העיקרי בעשור הזה היה במחקר ופיתוח בתחום "מערכות נשיאת תרופות" ובתחום ההדמיה. בשנת 2005 אישר מנהל המזון והתרופות בארה"ב את תרופות ה"ננו" הראשונות, Abraxane-i Doxil, לטיפול במחלת הסרטן (טבעוני, 2015).

ננו-מערכות לנשיאת תרופות

אחד החסרונות המשמעותיים של טיפול תרופתי הוא תופעות הלוואי שנגרמות מהתפזרות התרופה בכל רקמות הגוף. לא פעם תופעות הלוואי קשות עד כדי כך שהנכונות של החולים לקבל את הטיפול התרופתי נמוכה מאוד. בשנים שקדמו למהפכת ה"ננו" התמקד המאמץ לצמצום תופעות הלוואי בעיקר בהכנת נוסחאות (פורמולציות) שיאפשרו לתת את התרופה באופן מקומי באמצעות משחות, טיפות עיניים, משאפים או תרסיסים. אולם במקרים רבים תכונותיו הכימיות של החומר הפעיל בתרופה אינן מאפשרות טיפול מקומי יעיל, והחולים נאלצים לשאת את תופעות הלוואי.

אחת התרומות המרכזיות של מהפכת הננו לתחום הרפואה היא בפיתוח של ננו-מערכות שיכולות לשאת את מולקולות התרופה בגופנו (Drug delivery systems). בשונה ממערכות נשיאה קונוונציונליות שאינן "ננו", כמו טבליות וגלולות, ננו-מערכות נשיאה יכולות להתביית על אזור ספציפי בגוף, למשל, גידול סרטני, להגן על החומר הפעיל מפירוקו בגוף ולשאת בתוך הגוף תרופות שאינן מסיסות בדם. כלומר, לספק תרופה ממוקדת מטרה ובאופן זה להפחית את תופעות הלוואי.

* מעובד מתוך עבודה בקורס מבוא לחומרים וננו-טכנולוגיה בהנחיית פרופ' רון בלונדר

אם נשתמש באנלוגיה, מערכות נשיאה ננומטריות שקולות למונית שמסיעה את התרופה ברחבי הגוף ומשחררת אותה רק כשהגיעה ליעדה. כך הטיפול במחלה הופך הרבה יותר יעיל, ותופעות הלוואי פוחתות באופן משמעותי (טבעוני, 2015).

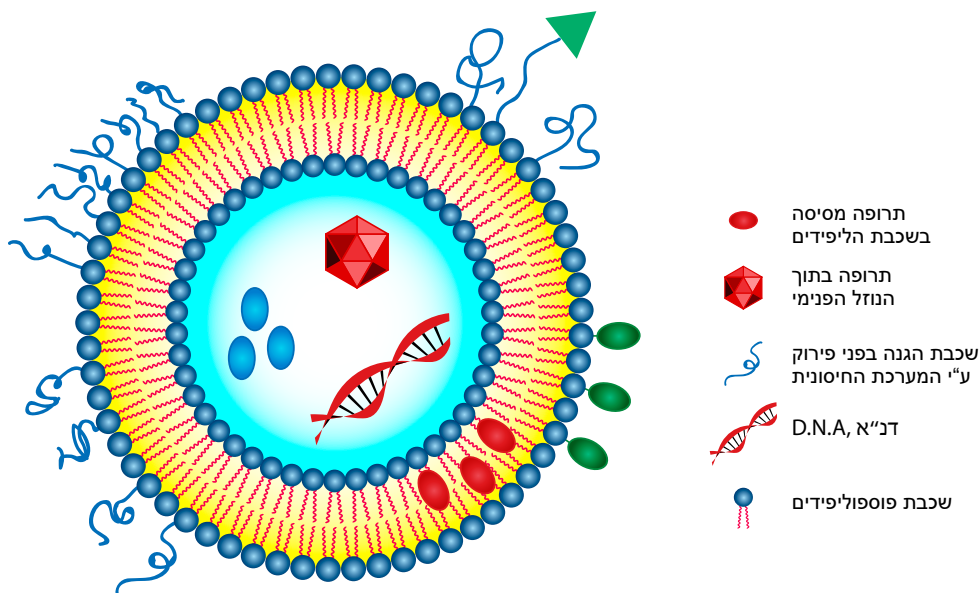
טכנולוגיות נפוצות ליצירת מערכות נשיאה ננומטריות

ננו-מערכות לנשיאת תרופות מורכבות מחומר נשא, שמשמש כגוף של הננו-חלקיק, מחומר פעיל, מחומר מייצב וממולקולות הכוונה שמאפשרות לחלקיק להתביית על תאים מסוימים בגוף. יש כיום מגוון רב של מערכות נשיאה ננומטריות שנבדלות זו מזו בחומרים שמרכיבים אותן, בגודלן ובכמות החומר שאותן הן יכולות לשאת.

במאמר זה אנו נתמקד באחת הדוגמאות הנפוצות ביותר למערכת נשיאה ננומטרית המורכבת משרשרות פולימר (מטריצה פולימרית) שמתלפפות ולוכדות בתוכן את החומר הפעיל, כך שנוצר ננו-חלקיק שמכיל את התרופה בתוכו. בדרך כלל תהליך הכנת הננו-חלקיקים נעשה במים לצורך קבלת תרחיף או אמולסיה, ולכן משתמשים בחומר מייצב שימנע מהננו-חלקיקים להתלכד לגוש גדול.

בנוסף נוהגים לחבר לפני שטח הננו-חלקיק מולקולות הכוונה, כמו נוגדנים או מקטעי דנ"א, שיודעות להיקשר באופן ספציפי לאזורים מסוימים בגוף. את הננו-נשאים מחדירים לרוב לגוף בזריקה לווריד. כשמערכת הנשיאה מגיעה ליעדה היא נקשרת לאזור הרצוי, והתרופה מתחילה להשתחרר.

דוגמה נפוצה לננו-מערכת לנשיאת תרופות היא ליפוזומים. בדומה לתאים הנמצאים בגופנו, ליפוזומים הם מבנים כדוריים שמורכבים מממברנה (מעטפת) של פוספוליפידים ומלאים בנוזל. הליפוזום הוא למעשה מעין מיכל ננומטרי שיכול לשאת בתוכו את התרופה ולהביא אותה ליעדה (איור 1). דוגמה נהדרת לשימוש בליפוזומים כמערכת נשיאה היא בתרופה דוקסיל דוקסיל שפותחה באוניברסיטה העברית ומשמשת בעיקר לטיפול בסרטן השד. החומר הפעיל, דוקסורוביצין, ממוקם בתוך הליפוזום ונישא על-ידו לעבר הגידול כך שפיזורו בשאר הגוף מופחת בצורה משמעותית ואיתו גם תופעות הלוואי. (טבעוני, 2015)



איור 1. ליפוזום כננו מערכת לנשיאת תרופות

העקרונות העומדים בבסיס הטכנולוגיה של ננו-קפסולות לנשיאת תרופות (Shimanovich, Bernardes, Knowles, & Cavaco-Paulo, 2014)

- מענה לצורך במציאת תחליף לתרופות קונוונציונליות ומתן פתרון לתופעות לוואי וליעילות נמוכה.
- הובלה ומשלוח מבוקרים של התרופה למקום הנדרש.
- שליטה בריכוז התרופה בגוף לאורך זמן רב יחסית.
- שליטה על גודל הקפסולה המכילה את התרופה (קפסולה גדולה מיועדת לטיפול חיצוני, והקטנה לטיפול פנימי שדורש חדירה בין התאים).

- היכולת לשנות את אבני הבניין (הננומריים) ואת תכנון הסינתזה לקבלת קפסולות עם תכונות רצויות.
- ניצול יתרונות הביופולימר המתבטא ברבגוניות, התאמה ביולוגית ופעילות נמוכה של המערכת החיסונית.

כיצד מסנתזים חומרים אלה?

נתמקד במבנים המורכבים ממעטפת ביופולימרית עם מידות מיקרו או ננו ובתוכן מאוסן החומר הפעיל. הכנת הנוקפסולות מתבצעת בגישת ה-Bottom-up - בניית ננו קפסולות ממונומרים של חלבונים ושימוש בעקרון ההרכבה עצמי (self-assembly). מידע נוסף ניתן למצוא במאמרן של סוהיר סחניני ורון בלונדר ב"על כימיה" גיליון 31, 2018:

http://chemcenter.weizmann.ac.il/Uploads/dbsAttachedFiles/31_12-19.pdf

בדרך כלל תהליך הכנת הנו-קפסולות נעשה במים לצורך קבלת תרחיף או אמולסיה, ולכן משתמשים בחומר מייצב שימנע מהננו-חלקיקים להתלכד לגוש גדול. ישנן סינתזות רבות לייצור חומרים אלה. כמו כן ניתן לשנות את הננומרים החלבוניים ו/או את שיטת הסינתזה ולקבל ננו קפסולות השונות זו מזו ביציבותן, בגודלן, ברעילות ובמסוגלות לנשיאת התרופה. מדידות ובדיקות לפעילות הנו-קפסולות יפורטו בתיאור המחקר. מידע נוסף ניתן למצוא במאמר:

Shimanovich, U., Bernardes, G. J., Knowles, T. P., & Cavaco-Paulo, A. (2014). IProtein micro- and nano-capsules for biomedical. The Royal Society of Chemistry, 1361-1371.

אמילואיד - חומר רקע

סיבי אמילואיד - מבנה שכיח של ננומבנים של חלבונים הנובע מצבר של חלבונים המתפלמרים בצורה של β -sheets. הם "ידועים לשמצה" בעיקר בגלל מעורבותם במחלות ניווניות של מערכת העצבים, כמו אלצהיימר ופרקינסון, המאופיינות בהצטברות גושים של המשקעים האלה בתאי המוח (איור 2).

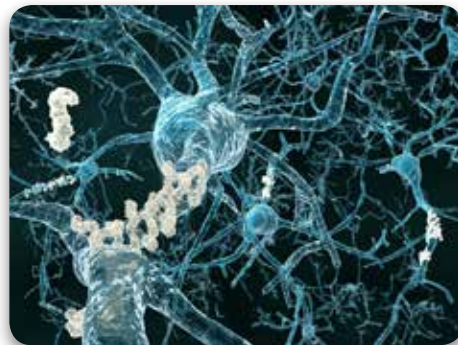
בניגוד לאמילואידים שקשורים למחלות אלה, נמצאו אצל מיקרואורגניזמים, כמו חיידקים, אמילואידים תפקודיים המעורבים בפעילויות רבות שמועילות לאורגניזם שמייצר אותם.

תכונות האמילואיד

החוזק של חומרים ביולוגיים כגון קורי עכביש (איור 3), טמון בהיערכות המרחבית הייחודית של חלבונים מבניים. חלבונים מבניים כמו קורי עכביש ואמילואידים מכילים לרוב משטחי-ביתא, אזורים של גדילים או קטעים קצרים המוערמים זה מעל זה, כל אחד בדיוק באורך המתאים ליצירת שלושה או ארבעה קשרי-מימן המחברים אותם יחדיו מלמעלה ומלמטה.

מבנה זה גורם לחומרים טבעיים שמשקלם נמוך, להיות חזקים כפלדה, למרות שה"דבק" המחזיק אותם יחדיו, כמו זה שבקורי-העכביש, הוא קשרי-מימן החלשים פי מאה עד אלף מהקשרים הכימיים האחרים המצויים במתכות ובחומרים קוולנטיים אחרים.

בנוסף, סיבי האמילואיד נבנים בתנאים קלים בתמיסה מימית (התארגנות עצמית), והם ביוחומר כך שאינם רעילים עבור תא ביולוגי (Omenetto & Kaplan, 2010) השימוש בחומרים המבוססים על אמילואידים (Knowles & Mezzenga, 2016)



איור 2. אמילואיד-בטא המצטבר לסיבים ומשקעים רעילים (פלאקים)



איור 3. קורי עכביש

בשנים האחרונות נעשה שימוש רב בחומרים המבוססים על אמילואידים, כמו עצמות מלאכותיות הנבנות מסיבי אמילואיד המסתדרים מאליהם במבנה מרחבי המחקה מרכיבים בעצמות אדם; דבקים תת-מימיים המשתמשים בתכונותיהם הבלתי מסיסות במים של סיבי האמילואיד; ביו חיישנים המסוגלים לזהות כמויות זעירות של חלבונים; תאים פוטו-וולטאיים אורגניים, שבהם משולבים סיבי אמילואיד הפועלים כחומר exceptor i donor ומחליפים את הסיליקון המסורתי.

במאמר זה נתמקד בנוקפסולות הבנויות מרשת סיבים של חלבון אמילואיד.

במאמר זה נתמקד במחקרה של ד"ר אוליאנה שימנוביץ העוסקת בייצור נוקפסולות ומשתמשת בחומרים טבעיים כדוגמת חלבונים בעלי פעילות ביולוגית המסוגלים ליצור סיבים (אמילואיד).

רקע על החוקרת



ד"ר אוליאנה שימנוביץ, מדענית חדשה במחלקה לחומרים ופני שטח במכון ויצמן למדע, דוגלת בלמידה מהתכונות הטבעיות וה-"חיוביות" של חלבונים בטבע, במטרה לתקן את הפגמים שהטבע עצמו יוצר. ד"ר שימנוביץ מתעניינת במיוחד בסיבים דקים הבנויים מחלבונים. סיבים אלה עשויים להראות כחוטים קשים ואלסטיים, כמו אלה שטוות תולעי משי או כמו לוחות דביקים העשויים מסיבי החלבון אמילואיד המשפיעים על המוח בשלב מתקדם של מחלות האלצהיימר והפרקינסון. למעשה, מחקרה של ד"ר שימנוביץ עשוי להוביל למציאת דרך לשימוש בסיבי תולעי המשי לתיקון סיבי המחלה.

החידוש במחקר של ד"ר שימנוביץ

הקהילה המדעית נהגה להתייחס לסיבי אמילואיד כ"רעים" מיסודם, מכיוון שהם יוצרים צבירים רעילים במוח. אולם מחקרה של ד"ר שימנוביץ אודות התכונות הביופיזיות והביוכימיות של אמילואידים מראה כי לחומר המושמץ עשויות להיות תכונות חיוביות. היא מעוניינת לפענח את המנגנון שבאמצעותו נוצרים או מפורקים סיבים חלבוניים מסוג זה, וכן להבין כיצד ניתן לקשור בין המבנה והתפקוד של סיבים שונים המבוססים על חלבונים ולשלוט במבנה שלהם.

ד"ר שימנוביץ מאמינה שכך תוכל לתרום באופן משמעותי למחקר שיסתכם בפיתוחם של כלים ננו-טכנולוגיים בשירות הרפואה. כגון ליבות מיקרוסקופיות המכילות תרופות בשחרור מושהה או ננו-סיבים המשלבים חומרים אנטי-בקטריאליים.

חוקרים מסוגלים כיום לכלוא חומרים רפואיים בתוך קפסולות המיוצרות כננו-חלקיקים בגודל מיקרו/ננו. הקפסולות בנויות מביחומרים כגון אלה:

א. פולימרים מתכלים

ב. תערובת של פולימר וחומר טבעי

ג. חומרים טבעיים כמו סוכרים, פוליסכרידים וחלבונים.

לייצור נוקפסולות ד"ר שימנוביץ משתמשת בחומרים טבעיים כדוגמת חלבונים בעלי פעילות ביולוגית המסוגלים ליצור סיבים (אמילואיד). חידוש נוסף הוא ייצוב נוקפסולות בעזרת הנטייה הטבעית של החלבון לייצב את עצמו, כמו חלבון אמילואיד המתפלמר עם עצמו, ולא עם חומרים כימיים מייצבים העלולים לפגוע בעוצמת הפעילות של החלבון.

יתרונות נוקפסולות הבנויות מאמילואיד

- חלבונים אלו הם בעלי התארגנות עצמית לאחר הייצור הראשוני כך שאין צורך להוסיף חומרים נוספים.
- קלים לסנטוז
- ניתן לעצב אותם כמתאימים להטענת תרופות.
- אינם פוגעים ביעילות החומר הפעיל שבתוכם
- בעלי התאמה ביולוגית ולכן אינם רעילים לתאי הגוף
- מסוגלים לעבור דרך מחסום ביולוגי כך שישתחררו במקומות מסויימים.
- קיימת אפשרות לשליטה על גודל הקפסולות ע"י כמות החלבון וגודל הטיפה בתהליך האמולסיפיקציה.
- קיימת אפשרות לשליטה על קצב שחרור התרופה בעזרת שינוי צפיפות הסיבים בתוך הננו קפסולה.

- ניתן לשאת בתוכם חומרים פעילים הידרופילים וגם הידרופובים
- ניתן להגדיל את צפיפות הקפסולה גם לאחר יצירתה

שאלות המחקר (Shimanovich, et al., 2015)

האמילואיד יוצר צבירים רעילים במח הגורמים למחלות ניווניות שונות. ידוע כי רעילות האמילואיד מגיעה מסיבים קצרים.

1. האם כאשר יוצרים ננו קפסולה הבנויה מננו סיבים של אמילואיד (חלבון טבעי), שנתנו להם מספיק זמן להתפלמר לסיבים ארוכים, מאפשר קבלת סיבים שאינם רעילים? כלומר, האם ניתן לקחת חלבון פטוגני (הגורם למחלות) ולהפוך אותו לחלבון עם פעילות חיובית?

שאלות נוספות:

2. האם ההידרופוביות של החומר הפעיל שמכניסים לתוך הקפסולה משפיעה על יעילות כליאתו בקפסולה ועל קצב שחרורו ממנה?

3. כיצד משפיעה צפיפות הסיבים בננו קפסולה על קצב שחרור התרופה?

4. האם ניתן להגדיל את צפיפות הקפסולה גם לאחר יצירתה?

שיטות המחקר

יצירת ננו קפסולה מננו סיבים של חלבון

יצירת ננו-קפסולה מתבצעת בתהליך האמולסיפיקציה (איור 4) על צ'יפ, עליו ניתן לבצע 15 תגובות במקביל, בשתי צינוריות מכניסים שמן ובאמצעות, מים שבה מומס חלבון (ליזוזום).



איור 4. תהליך יצירת הננו-קפסולות

(Shimanovich, et al., 2015) Reprinted with permission from ASCnano, 9,1,43-51(2015). Copyright 2015 American Chemical Society

נוצרת טיפת מים בגודל ננומטרי המוקפת בשמן, לאחר מכן עושים אינקובציה ב- 65 מעלות למשך 24 שעות, (חלבונים אמילואידים יוצרים סיבים בסביבה חומצית בטמפרטורות גבוהות) ומקבלים ננוקפסולה הבנויה מננו סיבים של החלבון המומס היוצרים ביניהם קשרי צילוב. לבסוף שוטפים את הקפסולה.



איור 5. צילום של ניסוי בפועל של הכנת ננו-קפסולות

במקרה בו שמים בשתי הצינוריות מים וחלבון ובאמצעות שמן, ממשיכים באותו התהליך ומקבלים ננו קפסולה עם עטיפה הבנויה מננו סיבים אך ללא קשרי צילוב בתוכה (חלולה). ניתן לשלוט על גודל הננו קפסולה ע"י שליטה על גודל הטיפה בעזרת שינוי עוצמת הזרימה של השמן/מים בצינוריות או באמצעות שינוי כמות החלבון המומס במים (איור 5).

שיטות אפיון לננו-קפסולות

את התוצרים מאפיינים באמצעות צביעה ב- Nile red וצפייה במיקרוסקופ פלואורסנטי.

- **Nile red** - משמש כמדד לכמות השומנים, במרבית הממסים הקוטביים Nile red לא יהיה פלואורסטי, אולם כאשר הסביבה עשירה בשומנים מקבלים פלואורסנטיות גבוהה, עם צבעים משתנים מאדום עמוק (עבור שומנים קוטביים כמו אמילואידיים) עד כדי פליטת ירוק וצהוב חזק (עבור שומנים ניטרליים).

- **מיקרוסקופ פלואורסנטי** משמש לעירור (noitaticxe) ולהסתכלות בפליטה (noissime) של אורכי גלים ספציפיים החל מאור על-סגול ועד תת-אדום. מקור האור של מיקרוסקופ זה יכול להיות נורת הלוגן (כספית או קסנון), או לייזר באורך גל מסוים. העיקרון של מיקרוסקופיה פלואורסנטית הוא שישנן מולקולות שבאופן רגיל אינן פולטות אור, אלא אם מאירים עליהן באור באורך גל מאוד מסוים. כאשר מולקולה כזו נחשפת לאור באורך הגל המתאים, זה גורם למולקולה לפלוט אור באורך גל אחר (ותמיד ארוך יותר). אחת המולקולות המפורסמות ביותר היא החלבון הזורח בירוק (Green Fluorescent Protein, GFP).

במיקרוסקופ פלואורסנטי ניתן להסתכל על דגימות חיות או דגימות מקובעות. בשימוש רגיל, טווח הרזולוציה הוא כמו של מיקרוסקופ אור אבל עם ניגוד טוב הרבה יותר בגלל השימוש בצבעים שונים על רקע כהה. אולם, מיקרוסקופ פלואורסנטי מאפשר שימוש בשיטות של סופר-רזולוציה, עד לרמה של כ-20 ננומטר. בשיטות אלו, ניתן להבחין במבנים שונים בתוך אברונים ואפילו במולקולות בודדות (למשל ריבוזום בודד, או מולקולת רנ"א שליח בודדת).

- **SEM** - מיקרוסקופ אלקטרוני סורק. הפקת התמונות נוצרת על ידי זיהוי אלקטרונים משניים הנפלטים מפני השטח עקב פגיעת אלומת האלקטרונים העיקרית שנורתה מתחת האלקטרונים ומורכזה על ידי העדשות. ב- SEM, אלומת האלקטרונים סורקת את כל הדגימה שורה אחר שורה (סריקת ראסטר), וגורמת לפליטת אלקטרונים משניים (Secondary electron), ואלקטרונים מוחזרים (Backscattered electrons) מפני הדגימה. האלקטרונים המשניים והמוחזרים שנפלטים מפני הדגימה נקלטים על ידי גלאי אלקטרונים המשניים הנמצאים בדרך כלל לצד הדגם; ואילו גלאי האלקטרונים המוחזרים נמצאים בדרך כלל מעל הדגם; ולעתים ניתנים אף להוצאה (משיכה) מתא הבדיקה. התמונה הסופית נבנית ממספר האלקטרונים שנפלטים מכל נקודה על הדגימה.

באופן כללי, רזולוציית המיקרוסקופ החודר גבוהה בהרבה משל אחיו הסורק, אך מכיוון שהדמיית המיקרוסקופ הסורק נסמכת על עיבוד פני השטח במקום חדירה לתוכו הוא מסוגל להדמות נפח ויש לו עומק ראייה גדול יותר, משום כך הוא יכול לדמות תמונות שיהיו ייצוג טוב למבנה התלת-ממדי של העצם הנבחן (מיקרוסקופ אלקטרוני, 2017).

- **ThT increases** - בשיטה זו מוסיפים סמן פלורוסנטי הנקשר רק לסיבים אמילואידיים וכך ניתן לבדוק את צפיפות הסיבים בננו קפסולה.

- **סמן פלואורסנטי המשנה צבעו על פי הידרופוביות התמיסה:** צבע אדום - סביבה הידרופובית, צבע כחול - סביבה הידרופילית.
- **MTT test** - סמן פלואורסנטי המסמן תאים מתים. כאשר עצמת הצבע הנפלט עולה - כמות הפוטונים הנפלטים עולה - יש עליה בכמות התאים המתים.

השפעת הידרופוביות של החומר הפעיל שמכניסים לתוך הקפסולה על יעילות הננו קפסולה

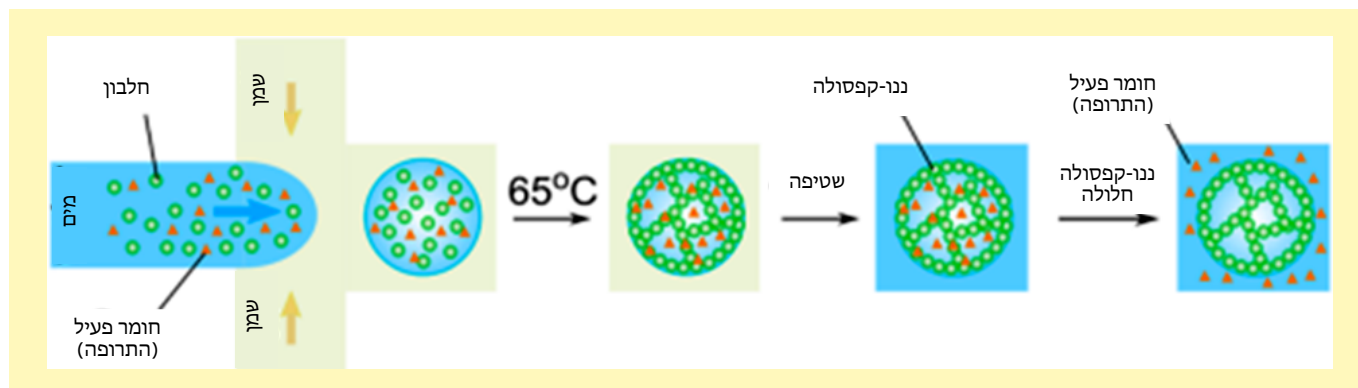
בהמשך המחקר נבדקו חומרים פעילים (תרופות) בעלי תכונות הידרופוביות שונות על מנת לבדוק אם ההידרופוביות משפיעה על כליאת החומר הפעיל בקפסולה ועל שחרורו ממנה. שחרור החומר הפעיל מתבצע בשני מנגנונים:

1. דרך דיפוזיה אשר תלויה בצפיפות הקפסולה ואינטראקציה בין החומר הפעיל לבין הסיבים החלבוניים. ככל שתרופה יותר הידרופובית היא תיצור יותר אינטראקציה עם הסיבים ותשתחרר לאט יותר.
 2. התפרקות הננו קפסולה עצמה (ע"י הידרוליזה של הקשרים הפפטידים) בשלבים האחרונים, אחרי שרוב התרופה השתחררה. התפרקות זו תלויה בצפיפות הסיבים בננו-קפסולה - ננוקפסולה צפופה יותר תתפרק לאט יותר.
- כדי לבדוק את השפעת ההידרופוביות של החומר הפעיל על יעילות הקפסולה הוכנסו לפאזה המימית (יחד עם החלבון) 4 חומרים פעילים שונים בעלי הידרופוביות שונה וזיקה שונה לחלבון ממנו מיוצרת הקפסולה:

החומרים הפעילים:

1. Thioflavin T - בעל זיקה חזקה למבנים אמילואידיים.
2. penicillin V - הידרופילי, מסיס במים
3. Remazol Brilliant Blue R (RBBR) - חומר ארומטי, מסיס במים, ראקטיבי
4. Tetracycline - נציג של תרופה הידרופובית עם מסיסות נמוכה במים.

מבצעים את תהליך האנקפסולציה לקבלת ננו קפסולות יחד עם החומר הפעיל (איור 6)

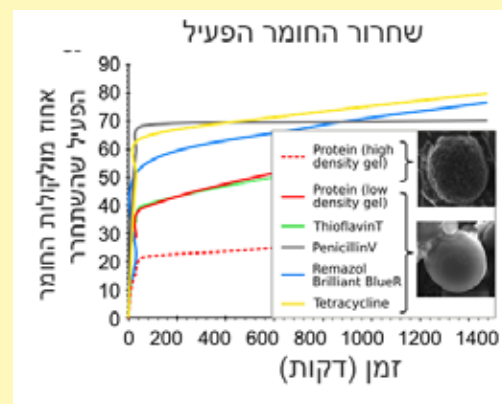
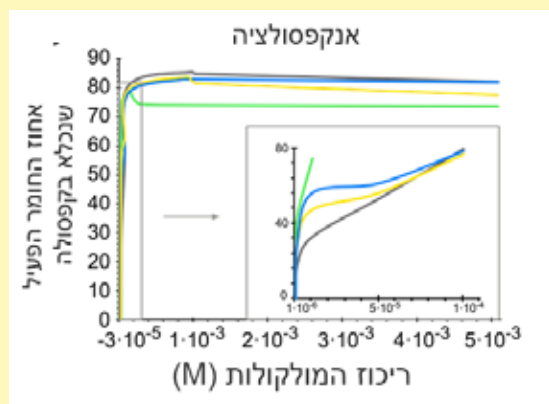


איור 6. תהליך יצירת הננו-קפסולות יחד עם החומר הפעיל

(Shimanovich, et al., 2015) Reprinted with permission from ASCNano, 9,1,43-51(2015). Copyright 2015 American Chemical Society.

בודקים את יעילות הננו קפסולות שנוצרו על-ידי מדידה של:

- א. אחוז החומר הפעיל שנכלא בתוך הקפסולה (איור 7 מימין).
- ב. שחרור החומר הפעיל מהקפסולה לאורך הזמן (איור 7 משמאל).



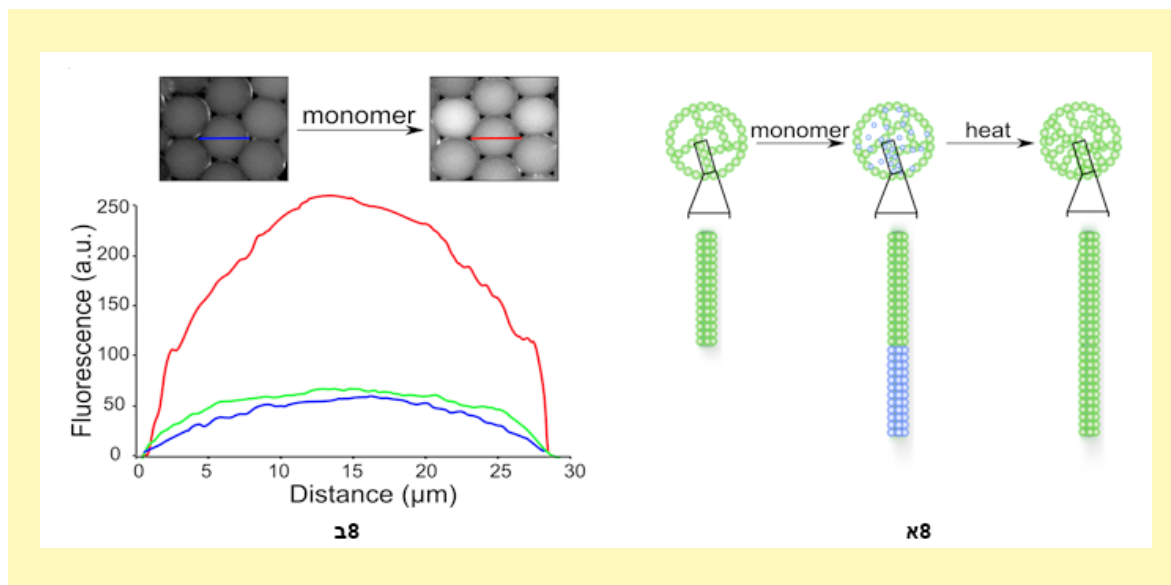
איור 7. בדיקת היעילות של הננו-קפסולות

(Shimanovich, et al., 2015) Reprinted with permission from ASCnano, 9,1,43-51(2015). Copyright 2015 American Chemical Society.

- התוצאות שהתקבלו הוכיחו כי כל התרופות נכלאות בקפסולה ביעילות גבוהה (איור 7 שמאלי), קצב שחרור התרופה תלוי ב:
1. סוג התרופה ככל שהתרופה הידרופובית יותר, היא תשתחרר יותר לאט (איור 7 ימני).
 2. צפיפות הקפסולה - ככל שהקפסולה יותר צפופה, החומר הפעיל ישתחרר יותר לאט (איור 7 ימני).

הגדלת צפיפות הננו קפסולה

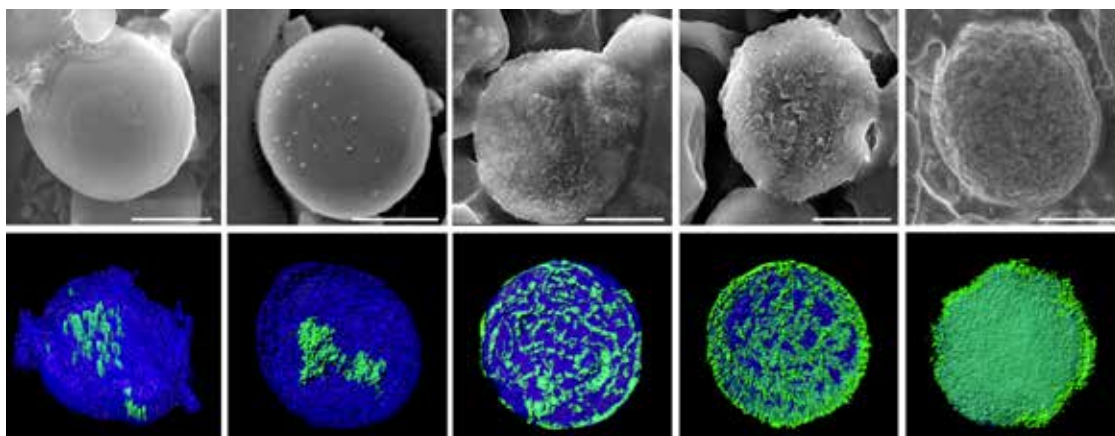
לאחר יצירת הקפסולה ניסו להוסיף עוד מנומרים ובדקו האם נוצרים סיבים נוספים והצפיפות עולה. המהלך מתואר באיור 8 בו הסיבים בצבע ירוק והמונומרים שהוספו בצבע כחול. כדי לבדוק אם באמת התקבל תוצר בעל צפיפות גבוהה יותר השתמשו בסמן פלואורסנטי המשנה צבעו על פי הידרופוביות התמיסה, צבע אדום – סביבה הידרופובית, צבע כחול – סביבה הידרופילית. כפי שאנו רואים באיור 8, התקבלה פלואורסנציה גבוהה של הסמן האדום – ההידרופובי, דבר המאשר את יצירת הסיבים ההידרופוביים וקבלת ננו-קפסולות צפופות יותר.



איור 8. הגדלת צפיפות הננו-קפסולות

(Shimanovich, et al., 2015) Reprinted with permission from ASCnano, 9,1,43-51(2015). Copyright 2015 American Chemical Society.

איור 9 מדגים בעזרת צילומי SEM ו-ThT increases את הגדלת הצפיפות של הננו-קפסולות כתלות בזמן (משמאל לימין) ב-SEM רואים איך פני השטח משתנים עם יצירת הסיבים וב-ThT increases - רואים איך כמות הסיבים (הנצבעים בירוק עולה)



איור 9. הגדלת צפיפות הננו-קפסולה כפי שמדגמת בעזרת SEM (שורה עליונה) ו-ThT increases (שורה תחתונה)
(Shimanovich, et al., 2015) Reprinted with permission from ACSnano, 9,1,43-51(2015). Copyright 2015 American Chemical Society.

בדיקת רעילות

לאחר הכנת הננו-קפסולה נבדקה הרעילות שלה על-ידי בדיקת MTT-test. MTT test - סמן פלואורסנטי המסמן תאים מתים. כאשר יש עליה בכמות התאים המתים, תהיה עליה בכמות הפוטונים הנפלטים ונראה עליה בעוצמת הצבע. המדידה מתבצעת במכשיר שנקרא פלאורימטר, שמעורר מולקולות באורך גל מסוים ומודד פליטת פוטונים. נמצא שקרוב ל-100% מהתאים נותרו בחיים לאחר חשיפה לננו-קפסולה. המסקנה מכך היא שנוקפסולה הבנויה מסיבי אמילואיד אינה רעילה.

מה צפוי בעתיד

ד"ר שמעוןביץ צופה כי נוכל לטפל באמילואידים שנוצרים במוח וגורמים למחלות כמו אלצהיימר ופרקינסון. התרופות הידועות היום לריפוי מחלות אלו מבוססות על נוגדנים המסיסים במים לכן אינן מסוגלות לעבור את המחסום השומני של המוח, כמו כן, לא תהינה פעילות בסביבה הידרופובית זו. כאשר החלבון יוצר סיב הוא הופך להיות יותר הידרופובי. לכן, אם נכניס את התרופה ההידרופילית לננו קפסולה הבנויה מסיבי חלבון הידרופוביים התרופה תוכל לחדור לרקמת המוח ולפעול שם ביעילות.

מקורות

Knowles, T., & Mezzenga, R. (2016). Amyloid Fibrils as Building Blocks for Natural and Artificial. *Advanced Materials*, 6546–6561.

Omenetto, F., & Kaplan, D. (2010, 6 30). New Opportunities for an. *SCIENCE*, pp. 528-531.

Shimanovich, U., Bernardes, G. J., Knowles, T. P., & Cavaco-Paulo, A. (2014). Protein micro- and nano-capsules for biomedicine. *The Royal Society of Chemistry*, 1361-1371.

Shimanovich, U., Efimov, I., Mason, T. O., Flagmeier, P., Buell, A. K., Gedanken, A., et al. (2015). Protein Microgels from Amyloid Fibril. *ACS NANO*, 43-51.

טבעוני, ר'. (2015). [ננו-רפואה ותרופות הדור הבא](#). אוחר ב- 2017, מתוך דוידסון ויצמן: [מיקרוסקופ אלקטרוני](#). (2017). אוחר ב- 2017, מתוך ויקיפדיה: