



ივ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი
ბიოფიზიკა

**„მიკრობ კანდიდაზე, PCL წამლის გადამტან ნანონაწილაკებში
შეფუთული ანტიბიოტიკის მოქმედება და კომპლექსური
ნანონაწილაკების კალორიმეტრული კვლევები“**

მარიამ შაქარაშვილი

სამაგისტრო ნაშრომი შესრულებულია ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა
ფაკულტეტის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელი: თამაზ მძინარაშვილი
ფიზ.მათ.დოქტორი, სრული პროფესორი
თანახელმძღვანელი: ელენე ლომაძე დოქტორანტი

თბილისი 2019



Ivane Javakhishvili Tbilisi State University

Faculty of Exact and Natural Sciences

Master's thesis for get academic degrees in Biophysics

**“Action of antibiotics packaged in nanoparticles transperring PCL drug
on microbe candida and calorimetric studies of complex nanoparticles”**

Mariam Shaqarashvili

Scientific Supervisors:

Professor **Tamaz Mdzinarashvili**

Doctor of Phys.-Math. Sciences

Department of Physics

Tbilisi State University

Elene Lomadze PhD

Tbilisi 2019

ანოტაცია

ნაშრომი ეხება ერთ-ერთ ყველაზე აქტუალურ საკითხს, რომელიც დაკავშირებულია მიკრობებზე ანტიბიოტიკების მოქმედებასთან. აღნიშნულ თემატიკაზე მუშაობს ბევრი სამეცნიერო ცენტრი, ვინაიდან უკვე მრავალია ისეთი პათოგენური მიკრობები, რომლებიც ანტიბიოტიკების მიმართ გამოიჩევიან რეზისტენტულობით. ჩვენ ნაშრომში შესწავლილია მიკრობი კანდიდა ალბიკანსი, რომელიც არის პათოგენური სოკოვანი მიკრობი (არა ბაქტერიული), არის ფართოდ გავრცელებული და ამავე დროს იგი ადვილად აინფიცირებს ადამიანის საჭმლის მომნელებელ სისტემას. ამავე დროს აღსანიშნავია, რომ ვინაიდან იგი არის არა ბაქტერიული წარმომავლობის მიკრობი, მისი განადგურება შესაძლებელი ხდება მხოლოდ გარკვეული ტიპის ძლიერი ანტიბიოტიკების მოქმედებისას. ვიცით, რომ ანტიბიოტიკების მოხმარება ერთის მხრივ როგორც დადებით, ასევე უარყოფით შედეგს გვაძლევს, რადგანაც იგი მოქმედებს საზიანო და სასარგებლო ბაქტერიებზე ან მიკრობებზე და ანადგურებს მათ. ჩვენს შემთხვევაში ანტიბიოტიკი, კეტოკონაზოლი გვაქვს მოთავსებული ნანო ნაწილაკში PCL-ში, რომელსაც აქვს ფუნქცია და უზრუნველყოფს წამლის მიწოდებას, კონკრეტული სამიზნე უჯრებამდე დაუზიანებლად და ახდენს წამლის გამონთავისუფლებას იმ მიდამოში, ასევე ჩვენს მიერ ჩატარებულმა ცდებმა ტურბიდომეტრული და კალორიმეტრული დაგვანახა, რომ ნანო ნაწილაკში მოთავსებული ანტიბიოტიკი უფრო ეფექტურად ანადგულებს ბაქტერიას ან მიკრობს ვიდრე თავისუფალი სახით მიღებული ანტიბიოტიკი.

Anotation

Labour refers to one of the most actual matter, which concerns with antiobiotics operation on microbes. A lot of scientific centers work on this subject, because, there are many such pathogenic microbes, which are distinguished with resistance to antibiotics. On our labour, microbe candida albicans is learnt, which is pathogenic FUNGUS microbe (non bacterial) and it is widely spreaded, and it's easily infect human's digestive system. It's also indicated that in view of the fact it is bacterial lineage microbe, its destruction is possible only when powerful antibiotics operates on it. We know, that, uses of antibiotics have as positive as well negative results, because they operates harmful and useful bacterias or microbes and they destroy them. On our case we have placed antibiotic KETAKONZOLI in PCL particle, which has function and which guaranteed to give drug, to specific back-sight cell undamagedely and it exonerates drug on that area. On our experiment on turbidium and kalorimetre saw us that antibiotics which is placed in nanoparticles destroy bacteria or microbe much more effective than free antibiotics.

სარჩევი

შესავალი	6
ნაწილი I	
ლიტერატურული მიმოხილვა.....	8
თავი I	
1.1. მიკრობები ჩვენს გარშემო	8
1.2. მიკრობებით გამოწვეული ინფექციები	9
1.3. სოკოვანი მიკრობი კანდიდა.....	10
1.4. ანტიბიოტიკები და მათი რეზისტენტობა.....	14
1.5. ნანონაწილაკები.....	16
თავი II	
ექსპერიმენტული ნაწილი, გამოყენებული მასალები და მეთოდები.....	22
2.1. კვლევებში გამოყენებული მასალები.....	22
2.2. კალორიმეტრიული მეთოდი	22
2.3. ტურბიდიმეტრიის მეთოდი.....	27
თავი III	
ჩატარებული კვლევები და მიღებული შედეგები	29
3.1. კეტაკონაზოლი/PCL ნანონაწილაკების კალორიმეტრიული კვლევები.....	29
3.2. მიკრობიოლოგიური ექსპერიმენტები მიკრობ კანდიდაზე	31
თავი IV	
მიღებული შედეგების ანალიზი	35
4.1. მიკრობიოლოგიური კვლევების ანალიზი	35
4.2 კალორიმეტრიული კვლევებია ანალიზი	36
დასკვნები:.....	38
გამოყენებული ლიტერატურა.....	39

შესავალი

ჩვენს გარშემო უამრავი მიკრობი არსებობს, ისინი მიკროსკოპილი ორგანიზმები არიან, რომლებიც წარმოადგენენ როგორც ერთ უჯრედს. აქვთ მაღალი მეტაბოლოზმი, სწრაფი და უხვი გამრავლების უნარი. მიკრობები, რომლებიც ჩვენს ირგვლივ არსებობს არის სხვადასხვა ფორმის და ზომის: სფეროსებრი, ჩხირისებური ანუ ცილინდრული და სპირალური. სფეროსებრივ ბაქტერიებს კოკები ეწოდებათ. მიკროორგანიზმები არსებობენ ნიადაგში, წყალში, ჰაერში, ცოცხალ ორგანიზმებზე და მათ შინაგან ორგანოებში. შეიძლება ითქვას, რომ ცხოველები და მათ შორის ადამიანი, მრავალფეროვანი მიკროორგანიზმების და ბაქტერიების თავშესაფარია. ამ ნამცეცა არსებებიდან, რომელთა დანახვა შეუიარაღებელი თვალით შეუძლებელია, ზოგი გარკვეულ სასარგებლო ფუნქციებს განაპირობებს ორგანიზმში, მაგალითად მონელებას, ხოლო ზოგი შესაძლოა სასიკვდილოდ საშიში დაავადებების გამომწვევი მიზეზი გახდეს. ადამიანის ორგანიზმი სავსეა მიკრობებით, მონაცემების მიხედვით, ჩვენს შიგნით ბაქტერიების უჯრედების რაოდენობა 10-ჯერ აღემატება სხეულის უჯრედების რაოდენობას. განსაკუთრებით ბევრია ბაქტერიები კანზე და კუჭ-ნაწლავში. ამ ბაქტერიების დიდი უმრავლესობა ადამიანისთვის უსაფრთხოა, ზოგიერთი იმუნური სისტემისთვის სასარგებლოც კია, თუმცა არსებობს პათოგენური ბაქტერიებიც, რომლებიც იწვევენ ისეთ დაავადებებს, როგორცაა ქოლერა, სიფილისი, კუთრი, შავი ჭირი, ციმბირული წყლული. მრეწველობაში ბაქტერიები გამოიყენება ისეთ პროცესებში, როგორცაა საკანალიზაციო წყლების გაწმენდა, ყველის და სხვა რძის პროდუქტების წარმოება. ადამიანის ორგანიზმში ასევე არსებობენ სოკოვანი მიკრობები, რომელთა გამრავლება ორგანიზმში იწვევს ინფექციებს, სხეულის თითქმის ყველა ნაწილში. ამ მიკრობების წინააღმდეგ მიმართავენ მძლავრ იარაღს — ანტიმიკრობულ პრეპარატებს. ასე წლის წინათ ხალხმა იცოდა, რომ ზოგი მიკრობი დაავადებას იწვევდა, მაგრამ ანტიმიკრობულ მედიკამენტებზე იმხანად არავის სმენოდა. ამიტომ, თუ ვინმეს სერიოზული ინფექციური დაავადება შეეყრებოდა, ექიმებს ბევრი ვერაფრის შეთავაზება შეეძლოთ. ადამიანი თავისი იმუნიტეტის იმედზე რჩებოდა. ინფექციას იმუნური სისტემა უნდა გამკლავებოდა, ხოლო თუ ის სუსტი აღმოჩნდებოდა, ბრძოლა ხშირად ტრაგიკული შედეგით მთავრდებოდა. მიკრობებით დაინფიცირებული უმნიშვნელო განაკაწრიც კი ძალიან ხშირად სიკვდილის მიზეზი ხდებოდა. წლების შემდეგ შექმნილმა ანტიბიოტიკებმა გარკვეული დროის განმავლობაში გვამღებდა შედეგს, მაგრამ ანტიბიოტიკებით გატაცებამ და მათმა ბოროტად გამოყენებამ დამღუპველი შედეგები

მოიტანა. ინფექციური დაავადებები არათუ აღმოიფხვრა, არამედ უფრო მეტიც — მათ ახალი ძალებით შემოუტეეს კაცობრიობას და მსოფლიოში სიკვდილიანობის უპირველეს მიზეზად იქცნენ. მიკროორგანიზმები წამლებისადმი რეზისტენტულები გახდებოდნენ, საწიროა შემუსავდეს მათ წინააღმდეგ ახალი მეთოდები.

ნაწილი I

ლიტერატურული მიმოხილვა

თავი I

1.1. მიკრობები ჩვენს გარშემო

მიკროორგანიზმი, მიკრობები (ბერძ. μικρός) *mikrós*, "პატარა" და ὄργανισμός „ორგანიზმი“) — მიკროსკოპული ორგანიზმი, რომელიც შედგება როგორც ერთი უჯრედი. მიკროორგანიზმები არსებობენ ნიადაგში, წყალში, ჰაერში, ცოცხალ ორგანიზმებზე და მათ შინაგან ორგანოებში. მიკროორგანიზმების შემსწავლელი მეცნიერებაა მიკრობიოლოგია. ისინი იმდენად მცირე ზომისანი არიან რომ, მათი შეუიარაღებელი თვალით დანახვა შეუძლებელია. [2][3] ზოგიერთი მიკრობი იმდენად მცირე ზომის არის რომ, მასზე დაკვირვებისას იყენებენ ელექტრონულ მიკროსკოპს რომელიც, საგნებს 25000-ჯერ ადიდებს. მიკროორგანიზმები პროტისტების სამყაროს მიეკუთვნებიან. ისინი ცხოველების და მცენარეებისაგან განსხვავდებიან უფრო სუსტი მორფოლოგიური დიფერენციაციით. მიკროორგანიზმები იყოფა ორ ჯგუფად: უმაღლესი პროტისტები-რომლებიც მიეკუთვნებიან ეუკარიოტები, რომლებიც უჯრედული ორგანიზაციით ემსგავსებიან ცხოველურ და მცენარეულ უჯრედებს და რომელიც მორფოლოგიურად სიცოცხლის ყველაზე რთულ ფორმას შეესაბამება. და უმდაბლესი პროტისტები-ბაქტერიების უჯრედის აგებულებით მნიშვნელოვნად განსხვავდებიან ყველა სხვა ცოცხალი ორგანიზმისაგან, პირველ რიგში თავის სიმარტივით. ისინი პროკარიოტებს მიეკუთვნებიან და ცოცხალი ორგანიზმების დიდ და მორფოლოგიურად განსხვავებულ ქვესამყაროს წარმოადგენენ. თავდაპირველად პროკარიოტებისაგან ჩამოყალიბდა ორი სამყარო: ერთი ეუბაქტერიები, რომელიც ყველა გრამდადებითი, გრამ უარყოფით და ცოანობაქტერიას აერთიანებს. ხოლო მეორე ევოლუციის მომდევნო ეტაპებზე გაიყო არქეაქტერიებად და ეუკარიოტულ ორგანიზმებად. მიკრობები, რომლებიც ჩვენს ირგვლივ არსებობს არის სხვადასხვა ფორმის და ზომის: სფეროსებრი, ჩხირისებური ანუ ცილინდრული და სპირალური. სფეროსებრივ ბაქტერიებს (ბერძნულად *coccus*-მრგვალი) კოკები ეწოდებათ. თუ კოკები სიბრტყეში განლაგებულნი არიან წყვილ-წყვილად მათ დიპლოკოკები ეწოდებათ. ხოლო თუ ისინი რამდენიმე მოლეკულის სახით არიან განლაგებულნი მათ სტრეპტო კოკები ეწოდებათ. ხოლო ყურძნის მტევნის ფორმის აგებულება აქვთ სტაფილოკოკებს.

ჩხირისებრი ბაქტერიები ანუ ცილინდრული ბაქტერიები სიბრტყეში განლაგებულნი არიან ძეწკვის მსგავსად და ისინი ძირითადად სიგრძეში იზრდებიან, ისინი თავის ფორმით

კოკებს გვანან და ამიტომაც მათ კოკო ბაცილებს უწოდებენ. ისეთ ჩხირისებრ ბაქტერიებს, რომლებსაც სპორები აქვთ კი მათ სტრეფტო ბაქტერიები ეწოდებათ.

სპირალური ფორმის ბაქტერიებიც იყოფა 3 ჯგუფად ესენია: ვიბრიონი რომელსაც, ოდნავ დახვეული სპიროქატები და ჩხვეული ფორმის მქონენი სპირილები. მიუხედავად იმისა, რომ ბაქტერიული უჯრედი მცირე ფორმისაა და სიცოცხლის ყველაზე დაბალ საფეხურზე დგანან მათი უჯრედის აგებულება არც ისე მარტივია. მიკრობების უჯრედი გარშემორტყმულია გარსით, რადგანაც ეს გარსი უფერულია ამიტომაც მიმართავენ უჯრედის პლაზმოლიზს ე.ი. დაამუშავებენ Na-ის 2%-იანი ხსნარით, რომლის შდეგადაც უჯრედი იკუმშება და გარსი ადვილად ცილდება მას და მიკროსკოპში ნათლად მოჩანს. თუ გარსი მკვრივია ბაქტერიული უჯრედი უფრო მდგრადია. ნახშირწყლებიდან გარსის შემადგენლობაში შედის პოლისაქარიდები, ლიპიდები, აზოტოვნიებიდან ცილები და ამინომჟავები, შესაძლოა ქიტინიც.

ბაქტერიულ უჯრედს მკვეთრად გამორჩეული ბირთვი არ გააჩნია, წლების მანძილზე ეს საკითხი პრობლემურ საკითხად რჩებოდა. ბაქტერიულ უჯრედს ცალკე გამოყოფილი ბირთვი არ გააჩნია, ხოლო უჯრედში არსებული ბირთვის ბუნება ძალიან რთულია.

ბაქტერიებს გააჩნიათ წამწამები და სპორები. სპორები მათი თავდაცვის საშუალებაა, ხოლო წამწამებით ისინი გადაადგილდებიან. ისინი პლოტოპლაზმური ძვებია და მიკროსკოპშიც ნათლად ჩანს, წამწამების კავშირი პლოტოპლაზმასთან არაა მტკიცე და მათი მოშორება შეიძლება, ამით უჯრედი არ წყვეტს არსებობას, მხოლოდ მოძრაობის უნარს კარგავს იგი.

მიცელიალური სოკოები, როგორც ეუკარიოტული ორგანიზმებია, რომელთაც პროკარიოტებთან განსხვავებით გააჩნიათ ბირთვი, ხასიათდებიან გენეტიკური ინფორმაციის უფრო ფართო სპექტრით და ასევე ორგანული ნაერთების მრავალფეროვანი კონვერსიის უნარით. [3]

1.2. მიკრობებით გამოწვეული ინფექციები

ბევრი დაავადება ინფექციურია. ეს ნიშნავს, რომ მათი გამომწვევი მიკროორგანიზმები ჰაერით ან ფიზიკური კონტაქტით გადადის ადამიანიდან ადამიანზე. ასეთ მიკროორგანიზმებს მიეკუთვნება ბაქტერია, ვირუსი, პრიონი, და სოკო.

ბაქტერიებით გამოწვეული სნულებებია: საკვებით მოწამვლა, ტუბერკულოზი, ტეტანუსი და ხეხილის ავადმყოფობა. ბაქტერიებს ანტისეპტიკური პრეპარატებითა

და ანტიბიოტიკებით ებრძვიან. ზოგიერთი ბაქტერიისაგან თავდაცვა წინასწარი აცრიტაც შეიძლება. ამგვარ დაცვას იმუნოზაცია ჰქვია.[4]

ვირუსი რამდენიმე დაავადებას იწვევს, მათ შორის — შიდსს, ცოფს, წითელას, ჩუტყვავილას, გრიპსა და ჩვეულებრივ გაციებას. ვირუსულ დაავადებას ანტიბიოტიკები ვერ მოერევა, სამაგიეროდ ამ შემთხვევაში ანტივირუსული პრეპარატები გამოიყენება.[5]

პრიონი ბაქტერიასა და ვირუსზე მომცროა და მხოლოდ ცილებისგან შედგება. მეცნიერთა აზრით, პრიონები იწვევს ძროხის ცოფს, რომელიც შესაძლოა დაავადებული პირუტყვებიდან ადამიანზეც გადავიდეს.

სოკო იწვევს მსხვილფეხება რქოსანი პირუტყვის ჩლიქების ლპობასა და მცენარეთა მრავალ დაავადებას. სოკოვან სნეულებებს საგანგებო ფხვნილებითა და მალამოებით კურნავენ, რომლებიც რომლებიც მოიცავენ მკურნალობის ფართო კურსს. ადამიანში იწვევს მიკოზს, სირსველსა და სხვა მწვავე სნეულებებს, ერთ-ერთი სოკოვანი მიკრობია კანდიდა, რომელიც იწვევს ინფექციას პირის ღრუში, კუჭ-ნაწლავში საშარდე სისტემაში, სასქესო ორგანოებში, ამავე დროს დიდია მისით დაინფიცირებულთა რაოდენობა.[6]

1.3. სოკოვანი მიკრობი კანდიდა

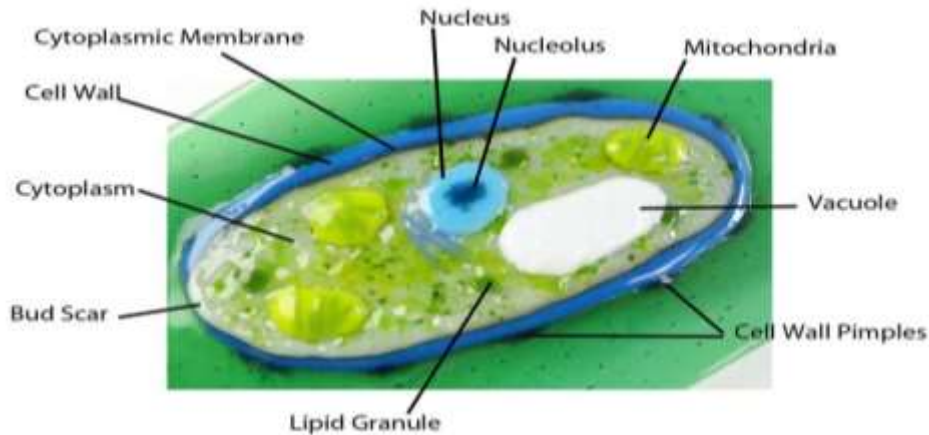
კანდიდა პათოგენური მიკრობია, რომელიც არის ადამიანის მუცლის ფლორის მნიშვნელოვანი წევრი.[7] მას შეუძლია არსებობა ადამიანის სხეულის გარეთაც, იგი გვხვდება კუჭ-ნაწლავის ტრაქტ-ში და ჯანმრთელი ადამიანის პირის ღრუში 40-60% , ასევე გვხვდება ვაგინაში, ფრინველთა გადასამუშავებელ ტრაქტში, ზოგადად მსოფლიო მასშტაბით არის გავრცელებული.[8] ის კომენსალური ორგანიზმია, მაგრამ შეიძლება გახდეს პათოგენურიც იმუნოდეფიციტურ ადამიანში სხვადასხვა პირობების ქვეშ.[9] სოკოვანი უჯრედების ზრდა ორგანიზმში იწვევს მწვავე ინფექციებს. კანდიდას აკვირდებიან HIV- თი დაინფიცირებულ პაციენტებში, იგი ყველაზე გავრცელებული სოკოვანი ნაირსახეობაა, რომელიც ჩამოყალიბებულია იმპლანტირებულ სამედიცინო მოწყობილობებზე ან ადამიანის ქსოვილზე.[10]

კანდიდას სხვადასხვა სახეობა როგორცაა *C. albicans*, *C. Tropicalis*, *C parapsilosis* და *C. glabrata* პასუხს აგებენ 50-90% ადამიანებში კანდიდას შემთხვევებზე.[11] მოკვდავთა 40% -ს გააჩნიათ სისტემური კანდიდა *C. Albicans*-ის გამო.[12]

სტატისტიკურად, ამერიკის შეერთებულ შტატებში, წელიწადში კანდიდათი დაინფიცირებულთა სიკვდილიანობა 2800 დან 11200 მდე მერყეობს.[13] მიუხედავ იმისა, რომ ეს ციფრები ალბათ არ ასახავენ ჭეშმარიტ გავრცობას დაზიანების, რომელსაც ეს

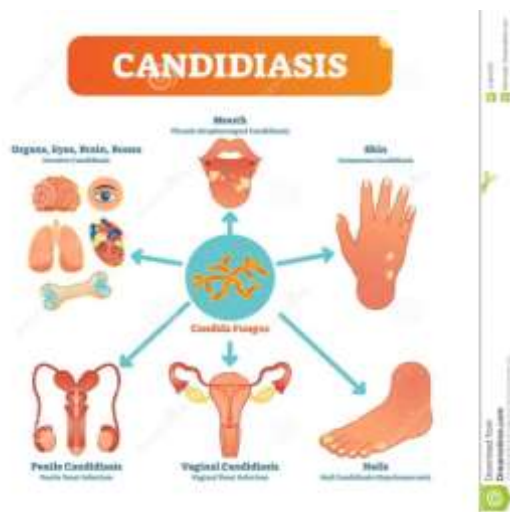
მიკრობი იწვევს. ახალი კვლევები გვაჩვენებს, რომ მას შეუძლია გადაკვეთოს ტვინის სისხლის ბარიერებიც. [14]

Candida albicans



სურ: 1.1

C. albicans გამოიყენებენ, როგორც ნიმუშ ორგანიზმად ბიოლოგიისთვის, მას ზოგადად მიმართავენ, როგორც დიმორფულ სოკოს, რადგან ის იზრდება, როგორც მიკრობი და ბოჭკოვანი უჯრედი თუმცა მას აქვს რამდენიმე განსხვავებული მორფოლოგიური სახეობა. იგი დიდი ხნის მანძილზე ითვლებოდა მნიშვნელოვან დიპლოიდურ ორგანიზმად, ჰაპლოიდური ეტაპის გარეშე, თემცა ახლა ჰაპლოიდის ეტაპის გვერდით *C. Albicans* შეძლია იარსებოს ტეტრაედის მდგომარეობაში, ეს უკანასკნელი ფორმირდება, როდესაც დიპლოიდური *C. Albicans*-ს უჯრედები ხვდებიან ერთმანეთს *opaque* ფორმაში.[15] დიპლოიდური უჯრედის ზომა არის დაახლოებით 29 Mb და ცილების 70%, რომლებიც აკოდირებენ ამ მიკრობს, ჯერ კიდევ არ არიან დახასიათებულნი.[16] *C. Albicans* მარტივად მრავლდება (ვითარდება) ლაბორატორიებში და შესწავლილი *in vivo* და *in vitro*-თი.



სურ: 1.2 კანდიდა ალბიკანსის ინფექციის ადგილები.

განვიხილოთ კანდიდას მიერ გამოწვეული ინფექციების მიზეზები, სიმპტომები და მკურნალობის ტიპები. [17]

კანდიდამ შესაძლებელია გამოიწვიოს საშარდე სისტემის სოკოვანი ინფექცია, რომელიც ყველაზე გავრცელებულია, კანდიდამ შესაძლებელია დააინფიციროს საშარდე მილის ქვედა ნაწილი ან ზოგიერთ შემთხვევაში შესაძლებელია ააღწიოს თირკმელებამდე. [18]

საშარდე სისტემის კანდიდათი დაინფიცირების რისკები იზრდება და შესაძლებელია გამოიწვიოს: ანტიბიოტიკების მიღების კურსმა, სამედიცინო მოწყობილობებმა, საშარდე კათეტერმა, რომლებიც იდგმება ორგანიზმში, თუ ადამიანს აქვს დიაბეტი და სუსტი იმუნური სისტემა. სიმპტომები, რომლებიც შეიძლება გამოვლენილ იქნას ინფიცირებამდე: ხშირი შარდვა, წვა და ტკივილი შარდვისას, სისხლი შარდში და საშვილოსნოს საკვერცხეების ტკივილი. [19] ზოგიერთ შემთხვევაში შესაძლებელია სიმპტომები საერთოდ არ გამოვლინდეს, მაგრამ კანდიდათი დაინფიცირდეს ადამიანი. მკურნალობა რეკომენდირებულია ინდივიდუალურად, სიმპტომებიდან გამომდინარე. ხშირად გამოიყენება ანტისოკოვანი წამალი ფლუკონაზოლი. [20]

სასქესო ორგანოთა სოკოვანი ინფექცია. სასქესო ორგანოებს ყველაზე ხშირად აინფიცირებს კანდიდას სახეობა ალბიკასი. [21] ჩვეულებრივ, სასქესო ორგანოში არსებობენ ბაქტერიები, რომლებსაც ქვიათ ლაქტობაცილუსები და უზრუნველყოფენ კანდიდას რაოდენობის შეკავებას ორგანოში კონტროლის ქვეშ, თუმცა როდესაც ლაქტობაცილუსის დონეები ირღვევა კანდიდას რაოდენობა შეიძლება გაიზარდოს და გამოიწვიოს ინფექცია. ინფექცია გადამდებია სქესობრივი კონტაქტის დროს, დაინფიცირებულმა ადამიანმა შეიძლება გადადოს სრულიად ჯანმრთელ ადამიანს. [22] ინფექციას გამოვლენის რისკები იზრდება ადამიანებში რომლებთაც აქვთ დანიშნული ანტიბიოტიკების არასწორი კურსი, დიაბეტი, ორსულებში, ადამიანები რომლებიც იღებენ კონტრაცეფტულ დასაღვე წამლებს. სიმპტომები: წვის შეგრძნება შარდვისა და სექსუალური კონტაქტის დროს, სასქესო ორგანოში ან მის გარშემო ქავილი და ტკივილი, სიწითლე, შეშუპება, გაღიზიანება, თეთრი სველი ლორწოვანი გამონადენი. კანდიდათი ინფიცირებიდან როგორც ქალები ასევე მამაკაცებიც. [23] მკურნალობა: თუ საქმე არ გვაქვს მწვავე ინფექციასთან მისი მკურნალობა მცირე კურსებით არის შესაძლებელი ან ანტისოკოვანი მალამოებით, ხოლო ინფექცია გამწვავებულია მაშინ საჭიროა მკურნალობის გრძელი კურსი, დასაღვევი წამლებით, მალამოებით და სავლები საშუალებებით. [24]

პირის ღრუს სოკოვანი ინფექცია. პირის ღრუში სადაც გვაქვს ნორმალური მიკროფლორა, კანდიდა ალბიკანსმა შესაძლებელია გამოიწვიოს ინფექცია თუ ის მრავლდება. იგი შეიძლება დარჩეს მხოლოდ პირის ღრუში ან გავრცელდეს ცხვირსა და ყელის უკანა ნაწილში, მკაცრი ინფექციის დროს შესაძლებელია ყელის უკანა ნაწილსაც გასცდეს. მაღალი რისკი დაინფიცირების არსებობს ადამიანებში ვინც ხშირად იღებენ ანტიბიოტიკებს, აქვთ არაკონტროლირებადი დიაბეტი, დაბალი იმუნიტეტი. სიმპტომები: პირის ღრუში თეთრი ლაქისებრი გამონაყარი, რომელსაც აქვს ხაჭოს გარეგნობა და მასზე ხელის შეხებით შეიძლება სისხლი წამოვიდეს. წვისა და ტკივილის შეგრძნება პირში. სიწითლე პირში ან პირის კუთხეებში, სმა-ჭამის პრობლემა, გემოვნების დაკარგვა, შეგრძნება თითქოს პირის ღრუში გხვდება თმა ან ბამბის ნაგლეჯი.[25] თუ არ ვუმკურნალებთ და მივაცურადებთ შესაძლებელია ინფექციამ სისტემური ხასიათი შეიძინოს. მკურნალობა: პირის ღრუ მუშავდება ანტიფუნგალური პრეპარატებით, რომელიც შესაძლებელია იყოს აბის, სითხის ან დრაჟე-კაფსულების სახით. რთული ინფექციების სამკურნალოდ მიმართავენ ფლუკონაზოლის გრძელ კურსებს. ბოლო წლებში მკურნალობის ეს მეთოდები აღარ არის ეფექტური ისეთი მიკრობების მიმართ, რომლებიც მაღალი რეზისტენტულობით გამოირჩევიან ანტიბიოტიკების მიმართ.[26]

კანის სოკოვანი ინფექცია. ამ დროს კანზე, უპირატესად – ძუძუს ქვეშე, მუცელზე, საზარდულის არეში შეწითლებული, დაცვარული უბნები ჩნდება, რომლებიც ხშირად გარშემორტყმულია პატარა ბუშტუკებით – პუსტულებით. გამონაყარი ხშირად მქავანაა. **ტერფების** სოკოვანი ინფექციის ეს ფორმა განსაკუთრებით ხშირია. ამ დროს კანდიდა ძირითადად თითებს შორის კანს აზიანებს ან სულაც უკვე დაზიანებულ (დამსკდარ) კანზე იკიდებს ფეხს და ისეთსავე სიმპტომებს იწვევს, როგორსაც კანის ბანალური სოკოვანი ინფექცია.

სოკოვანი ინფექციისგან განკურნება არცთუ ისე ძნელია, პრევენცია კი უფრო იოლი: კანის ზედაპირი მშრალად და სუფთად შეინარჩუნეთ, დაიკვლით წონა, დიაბეტის შემთხვევაში აკონტროლეთ სისხლში შაქრის დონე. მკურნალობენ ადგილობრივი და დასალევი მედიკამენტებით. სადღეისოდ სოკოვანი დაავადების საწინააღმდეგო ათასგვარი კრემი და ლოსიონი არსებობს, მაგალითად, მუსიტროლი.[27]

1.4. ანტიბიოტიკები და მათი რეზისტენტობა

მიუხედავად იმისა, რომ ანტიბიოტიკების გამოყენება კლინიკურ მკურნალობაში უთვალავია და მრავალფეროვანი, მხოლოდ ძალიან მცირე კლასები, ანტიბიოტიკების არის ხელმისაწვდომი, რომ ვუმკურნალოთ მუცლის ან კანდიდას სისტემურ ინფექციებს. სისტემური ინფექციების მკურნალობა ანტიბიოტიკების თერაპია იმართება თუ რამდენად არის ეს საშუალებები გამოყენებული მუცლის ან სისტემურ ინფექციების მკურნალობაში. ყველაზე რთული ინფექციები წარმატებით ინკურნება ანტიბიოტიკების წამლებით. სისტემური ინფექციები შესაძლებელია განიკურნოს როგორც დასაღვეი ასევე ვენური პრეპარატებით: ექინოკანდინსები არიან ინჰიბიტორები გლუკანური სინთეზის.[31] ექინოკანდინსები არიან ლიპოპეპტიდიური ანტიბიოტიკების საშუალებები, რომლებიც ანელებენ სოკოვანი კედლის სინთეზს, გლუკანური სინთეზის.[32] ენზიმის ინჰიბიტორებს მივყავართ სოკოვანი უჯრედების კედლის ფორმირებამდე, სტრუქტურული ინტეგრაციით, რომელიც საბოლოოდ იწვევს უჯრედოვანი დაუცველობის ოსმოტიკურ ლიზის. ყველა ეს სამი საშუალება აჩვენებს კონცენტრაცია დამოკიდებულ სოკოვან აქტივობას კანდიდას ყველა სახეობის წინააღმდეგ, იგი აღიარებულია FDA მარეგულირებელი სააგენტოს მიერ, რომლებიც მუშაობენ ეზოპაგური და ინვეზირებული კანდიდასის მკურნალობის პროცესების სასარგებლოდ. [33,34,35,36]

პოლიენესები მიბმულები არიან ერგოსტეროლთან. როგორცაა ნისტატინი და ამფოტერიცინი B ებმებიან ერგოსტეროლს და ანადგურებენ სოკოვანი უჯრედების მემბრანების მთავარ ლიპიდურ კომპონენტებს, რომლებიც ვითარდებიან ჰიდროფობის პროდიქციებში. შედეგად უჯრედოვანი გამტარიანობა არის შეცვლილი და მივყავართ ციტოსოლიკური კომპონენტის გათხევადობამდე და ხდება სოკოს სიკვდილი.[37,38,]

ნუკლეოტიდის ანალოგი- ინჰიბიტორები დმნ-ის და რნმ-ის სინთეზის.ფლუსიტინი (Flucytosine) არის პირიმიდინის მსგავსი, ხდება ტრანსფორმირება სოკოვან უჯრედებში ციტოზინის პერმიაზებით. შემდეგ ხდება დამინაცია (deaminated) 5-fluorouracil and phosphorylated to 5-fluorodeoxyuridine monophosphate. ნუკლეოტიდი ანელებს thymidylate სინთეზს (synthase) და ერევა დმნ-ის სინთეზში. 5-fluorodeoxyuridine monophosphate შეიძლება იყოს დამატებითი ფოსფორირებად და თანამშრომლობაში რნმთან, ამრიგად ახდენს გავლენას რნმ-ზე და პროტეინების სინთეზზე. [39]

სხვა ანტისოკოვანი საშუალებები ალილამინები (Allylamines) და სიოკარბომეტები (thiocarbamates) ანადგურებენ უჯრედოვან მემბრანას სკალალენ-ეპოქსიდაზას (squalene-epoxidase) შენელებით და ენზიმი, რომელიც ჩართულია ერგოსტეროლის ბიოსინთეზში.

Azoles აზოლები

ანტისოკოვანი წამლების უდიდესი ოჯახია, აზოლების ოჯახი. ისინი ანადგურებენ უჯრედების მემბრანას, lanosterol 14- α -demethylase ზე ინჰიბიტორების მოქმედებით, ენზიმი რომელიც ჩართულია ერგოსტეროლის ბიოსინთეზში. ერგოსტეროლი არის სოკოვანი უჯრედის მემბრანის ყველაზე დიდი სტერილური კომპონენტი, რადგანაც ერგოსტეროლს და ქოლესტეროლს აქვთ ეფექტური ზედაპირული სტრუქტურული განსხვავებები. ანტი სოკოვანი საშუალებების უმეტესობა, რომელიც გამიზნულია ბიოსინთეზისთვის რეაქციაში არ შედის მასპინძელ უჯრედებში, აზოლების ოჯახი მოიცავს იმიდაზოლს და ტრიაზოლს, ვორიკონაზოლს, პოსიკონაზოლს და კეტოკონაზოლს.

მრავალი აზოლი არის ეფექტური სოკოვანი ინფექციების პროფილაქტიკისათვის და მკურნალობისათვის, ამ თვალსაზრისით ისინი მოწონებას იმსახურებენ ამერიკის შეერთებული შტატების სურსათისა და წამლის ადმინისტრაცია

(FDA)- ის მიერ და ასევე ევროპის მედიცინის სააგენტის (EMA) მიერ.

რეზისტენტული პროცესები არის დაფუძნებული განსხვავებულ მექანიზმებზე, სახელდობრ რედუცირებულ წამალზე ინტერუჯრედოვანი აკუმულაციით. რეზისტენტობის განსხვავებული მექანიზმები არსებობს, რადგანაც ის დამოკიდებულია ანტისოკოვანი კომპონენტების მოქმედების ხასიათზე. უჯრედოვანი და მოლეკულური მექანიზმები, რომლებიც მხარს უჭერენ რეზისტენტობას აღნიშნული სოკოვანი კლასების წინააღმდეგ განხილულია აზოლების ჯგუფის მიმართ.

ბოლო 10 წლის განმავლობაში ფლოკუნაზოლი (fluconazole) და იტაკინაზოლი (itraconazole), არის გაოყენებული ექსტენსიურად სისტემური სოკოვანი ინფექციების მკურნალობისთვის, რადგანაც მათი დასაღვევი პრეპარატები უსაფრთხო და ხელმისაწვდომია. ფლოკუნაზოლის რეზისტენტობა არის აღწერილი პაციენტების მაღალი პროცენტულობით.

აზოლების რეზისტენტობა: 1.წამლის ტრანსპორტის აფრეგულაცია. 2.შემცირებული ლანესტეროლი 14 α - დემეთილი, რომელიც ურთიერთქმედებს წამალთან. 3.აპასიურებს C₅ სტეროლს, რომელსაც მიყვავართ ერგოსტეროლის მოქმედების ცვლილებებთან. 4.წამლის ეფექტის ურთიერთ საწინააღმდეგო ქმედება.

აზოლები დამოკიდებულია ევლუქსის ტუმბების ორი პრინციპული ოჯახის რეგულაციაზე.

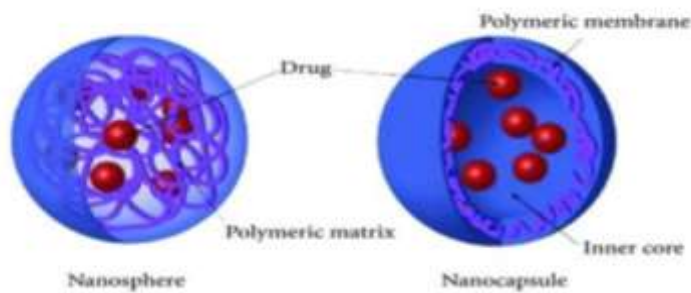
აზოლები უმიზნებენ ერგოსტერულ ბიოსინთეზურ გზას, ერგოსტეროლი არის მნიშვნელოვანი კომპონენტი სოკოვანი უჯრედის მემბრანის, მისი სინთეზის შეწყვეტა საშუალებას იძლევა 14a- მეთილის სტეროლის დაგროვებას, რომლებიც გარდაქმნიან მემბრანის გამტარიანობის სტაბილობას. აზოლის სპეციფიკური სამიზნე არის ციტოქრომი P450- დამოკიდებული ენზიმა ლანოსტეროლი 14a-დემეთილაზა(ცნობილი როგორც Erg11 საფუარაში, რომელიც არის ჰომოლოგიური Cyp51A). Erg11/Cyp51A აკატალიზებს 14a-მეთილის ჯგუფს ოქსიდატივის პროცესის ლანესტეროლიდან. აზოლის დაკავშირება სამვალენტური რკინის ადგილებში ბლოკავს ენზიმას ბუნებრივ სუფსტრატულ ლანოსტეროლს და აზიანებს ბიოსინთეზურ ბილიკს, შუამავლები როგორცაა დოქსიციკლინი აძლიერებს, აზოლეს მოქმედებას. ბოლო წლებში მიკრობებმა ანტიბიოტიკებისადმი გამოიმუშავეს რეზისტენტობა, ამიტომაც ნაპოვნია ახალი საშუალება, ანტიბიოტიკების მოთავსება ნანონაწილაკებში, რომლების წამლის მოქმედების ეფექტურობას ზრდიან. [40,41,42]

1.5. ნანონაწილაკები

სხვადასხვა ინფექციების მკურნალობის დროს, მიუხედავად იმისა, რომ ინფექციის კერები კონკრეტულ ორგანოებზე და ქსოვილებზეა განლაგებული, ანტიბიოტიკის მიღების დროს წამალი მთელს სხეულში მეტ-ნაკლებად თანაბრად ნაწილდება სისხლძარღვთა ცირკულაციური სისტემის გამო, ამის გამო საჭიროა დოზის გაზრდა, რაც თავის მხრივ გვერდით ეფექტებსა და უკუჩვენებებს იწვევს, ორგანიზმში ნადგურდება, როგორც საზიანო ასევე სასარგებლო ბაქტერიებიც, სასარგებლო ბაქტერიები მოქმედებენ მავნე ბაქტერიებზე და ხელს უშლიან მათ გამრავლებას, ამიტომაც ანტიბიოტიკებით სასარგებლო ბაქტერიების განადგურება ხელს უწყობს მავნე ბაქტერიებს გამრავლებაში. მეორეს მხრივ სისხლის იმუნური სისტემის შემადგენელ კომპონენტებს ახასიათებს გარკვეულ ნაერთს დაშლის თვისება. ამიტომ ზოგიერთი პრეპარატის სისხლში შეყვანა არ არის პერსპექტიული, ვინაიდან პრეპარატი დაიშლება მანამ, სანამ ის მიაღწევს დანიშნულების ადგილს. ამიტომ მკურნალობის ეფექტურად წარმართვისთვის, საჭირო გახდა მეცნიერებს შეექმნათ წამლის გადამტანი საშუალებები, რომლებიც დანიშნულების ადგილზე მიიტანდა წამალს საჭირო კონცენტრაციით ისე, რომ არ შეეხოდა სხვა ორგანოებს და დაიცავდა გადასატან ნივთიერებას (წამალს) ფერმენტული ცილების დამანგრეველი მოქმედებისაგან. ცხადია რომ

ამგვარი გადამტანები რამდენიმე კრიტერიუმს უნდა აკმაყოფილებდნენ, უნდა იყვნენ მცირე (ნაწილი = 1×10^{-9} მ) ზომის, სტაბილურები, არატოქსიკური და ბიოდეგრადირებადი. გავრცელებულია სხვადასხვა სახის ბიონანოტრანსპორტერები, როგორცაა დენდრიმერები, ლიპოსომები, PLGA და PCL. ჩვენ ექსპერიმენტში სწორედ ამ უკანასკნელს - PCL-ს ვიყენებთ. წამლების მიწოდება სამიზნე ქსოვილებთან/ორგანელებთან წამლის გადამტანი სხვადასხვა ნაწილისტემების საშუალებით, ფართოდ არის გავრცელებული ახლანდელ დროში. ისინი საშუალებას იძლევიან, რომ გავზარდოთ წამლების სელექტიურობა და ეფექტურობა. ასევე, შევამციროთ გვერდითი ეფექტების გამოვლინება და მინიმუმამდე დავიყვანოთ ან სრულად აღმოვფხვრათ წამლებისგან გამოწვეული ტოქსიურობა. წამლის გადამტანი ნაწილისტემების საშუალებით შესაძლებელია თერაპიული აგენტების მიწოდება დაზიანებულ ქსოვილებთან უცვლელი სახით. მათ მიერ გადაიტანება: ანტიბიოტიკური პრეპარატები, ანტიჰიპერტენზიული აგენტები, იმუნომოდულატორები, ჰორმონები, 5 პროტეინები, დნმ, ანტისხეულები, ანტიბიოტიკები და სხვა. წამლების ენკაპსულირებით ზემოაღნიშნულ სუპრამოლეკულურ გადამტანებში, სამიზნე ადგილებში მიწოდებული წამლის კონცენტრაცია იზრდება, ხოლო სხვა ადგილებში, სადაც არაა გათვალისწინებული წამლის მიწოდება, – მცირდება ან საერთოდ არარსებულია.

1.6 PCL ნაწილისტემა



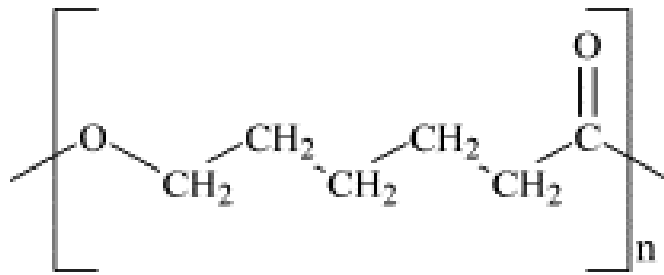
სურ: 1.3

ნაწილისტემატების სისტემების გამოყენება წამლისმოხმარებისთვის, განსაკუთრებით სწრაფად გაიზარდა წლების განმავლობაში, რადგან მათ წარმატებით შეუძლიათ მაქსიმალურად გაზარდონ პრეპარატის მოლეკულების ეფექტურობა.[43] მიმდინარეობს სხვადასხვა ბუნებრივი და სინთეზური პოლიმერების კვლევა წამლის გადამტანი ნაწილისტემატების დასამზადებლად.[44,45,46] მაქსიმალურად ეფექტური სატრანსპორტო სისტემის შესაქმნელად აუცილებელია შეირჩეს ისეთი შესაფერისი პოლიმერული მატრიქსი, რომელიც შეიძლება რომ შედგებოდეს როგორც სტაბილური, ასევე დაშლადი

პოლიმერებისაგან. ნანონაწილაკები არიან ნაწილაკები დიამეტრის დიაპაზონიდან 1-დან 100 ნმ-მდე, როგორც წამლის მიწოდების სისტემა, მას შეუძლია შეიკავოს წამალი ან ბიომოლეკულები თავის შიდა სტრუქტურაში ან მის ზედაპირზე.[47,48]

ნაწილაკის ზომების გამო, ნანო ნაწილაკს შეუძლია გადაადგილება თავისუფლად ორგანიზმში უპატარესი კაპილარული ვენების უჯრედებში და ქსოვილების ღრეოებში, რათა მიაღწიონ სამიზნე ორგანოებს და მოხდეს მასში მოთავსებული წამლის გამონთავისუფლება. ნანონაწილაკების ეს თვისებები ხელს უწყობს ნანონაწილაკში არსებული წამლის მოლეკულების ბიოგანაწილებას და ფარმაკოლოგიურ მოდიფიცირებას, რომლებსაც მივყავართ წამლის ეფექტურობის ზრდასთან და არასასურველი უკუჩვენებების შემცირებასთან. ნანონაწილაკები შეიძლება მომზადდეს არაორგანული ან პოლიმერული მასალებისგან. პოლიმერული ნანო ნაწილაკები არიან უფრო გავრცელებულნი და შესაფერისები, რადგან შესაძლებელია მათი ქიმიურად მოდიფიცირება, რომ იყვნენ ქიმიურად ბიოდეგრადირებულნი და ბიოთავსებადნი.[49,50,51] ბიოდეგრადირებადი ნივთიერებები იშლებიან ენზიმატიკურად ან არაენზიმატიკურად ან ორივე ნაირად იმასათვის, რომ იყვნენ არატოქსიკურები. ბიოდეგრადირებადი პოლიმერების გამოყენება კიდევ უფრო გაიზარდა ბოლო ატწლეულებში. ზოგადად ისინი შესაძლებელია იყვნენ კლასიფიცირებულნი სინთეტიკურ ბიოდეგრადირებად პოლიმერებად, რომლებიც მოიცავენ შედარებით ჰიდროფობულ მასალებს პოლი-ლაქტურ-კო-გლიკოლის მჟავას (PLGA), პოლიპროპილენოკოლონი (PCL) და სხვა, ან ბუნებრივად მოპოვებად პოლიმერებს, როგორც არის ქიტოსანი, ჰიალურონი და სხვა. სინთეტიკური პოლიმერებს აქვს ბევრი თანდაყოლილი უპირატესობა, რადგან შეიძლება მათი სტრუქტურების მანიპულაცია იმისთვის, რომ შეიქმნას, კონკრეტული მომხმარებლის, შესაფერისი სპეციალიზირებული გადამზიდები.

PCL არის ნახევრად კრისტალური პოლიესტერი $(C_{16}H_{32}O_2)_n$, რომელიც ჰიდროფობულია, ბიოდეგრადირებადი და ბიოთავსებადი, სხვა პოლიმერებთან შედარებით, PCL-ს ბიოდეგრადირების პროცესი ნელია, თუმცა ყველაზე შესაფერისი მართვადი სისტემა აქვს, გარდა ამისა, PCL-ს აქვს შესანიშნავი შემადგენლობა სხვა პოლიმერებთან თავსებადია, რაც ხელს უწყობს სასურველი თვისებების შერწყმას(მიღებას) როგორცაა დეგრადაციის კინეტიკა, ჰიდროფილურობა.[52,53,54,55]



სურ: 1.4 ნანონაწილაკი PCL-ის ქიმიური კონფიგურაცია.

სხვადასხვა მეთოდები შეიძლება გამოყენებულ იქნას ნანონაწილაკების მომზადებაში, რომელთა დიდი ნაწილი ემულსიური აორთქლების ტიპისაა. ნანო-ემულსიების მომზადება სპონტანური ემულსიფიკაციის მექანიზმის მეშვეობით წყლის შეუთავსებელი გამხსნელის გამოყენებით არის დადგენილი მეთოდი, რომელიც საშუალებას იძლევა ნანო-ზომის წვეთები წარმოქმნას. ნანო-ემულსიები მზადდება ნავთობის წყალში დისპერციებით, რომლებიც 100-დან 600 ნმმდეა.[56,57,58,59]

მიუხედავად იმისა, რომ პოლიმერული ნარევების ემულსიფიკაცია ცნობილია ეფექტური მეთოდია, ის შეიძლება იყოს დაკავშირებული შეზღუდვებთან, რომელიც ითვალისწინებს და აკონტროლებს ნაწილაკების ზომისა და განაწილების პროცესის ეფექტურობისა, როდესაც ხდება ნაწილაკების გამონთავისუფლება ემულსიიდან დადგენილი პროცესების საშუალებით. Supercritical fluid extraction of emulsion (SFEE) ემულსიის სუპერკრიტიკული სითხის მოპოვება არის ნაწილაკის ფორმირების ტექნიკა, სადაც ის იყენებს სითხეს supercritical fluid (SCF), როგორცაა supercritical carbon dioxide (scCO₂), რომ სწრაფად იყოს გამოყოფილი გამხსნელის ან ემულსიის ზათოვანი ფაზა. გამხსნელის მოცილებას მივყავართ დალექვამდე, რაც იწვევს წყლის სუსპენზიას(suspension), რომელიც შეიცავს ნანო ნაწილაკებს. მიღებული წყლის სუსპენზიიდან ნანო ნაწილაკების გამოყოფა შეიძლება მოხდეს ცენტრიფუგირებით და აორთქლებით ოთახის ტემპერატურაზე. ნაწილაკები რომლებიც არიან წარმოქმნილნი SFEE საშუალებით აქვთ დადგენილი ზომა და მორფოლოგია, რადგან ემულსირების პროცესი უზრუნველყოფს ნიმუშს და scCO₂ სწრაფი კინეტიკური პროცესების თავიდან აცილებას ნაწილაკების აგლომერაციას. [60,61,62]

ამ კვლევის მიზანი იყო, რომ შექმნილიყო პოლი-ნანო ნაწილაკები, scCO₂ -ის გამხსნელის გამოყენებით ნანო ემულსირებით, რომელიც იყო მომზადებული სპონტანური ემულსიფიკაციის პროცესის საშუალებით. კიდევ ერთი მიზანი ამ კვლევისა იყო ნანონაწილაკების თავსებადობისა და სხვადასხვა პარამეტრების ეფექტურობის შესწავლა, რომელის ზეგავლენას ახდენს ნანო ნაწილაკის მომზადების პროცესზე, სადაც გამოიყენება PCL- ი როგორც პოლიმერული ნიმუში.[63]

მომზადების მეთოდები

ზეთოვან წყალში ემულსიის მომზადება

ნანო-ემულსიები მომზადდა სპონტანური ემულსიფიკაციის მექანიზმის მეშვეობით. PCL ემულსიების მომზადებისთვის გამოყენებული მეთოდი ადაპტირებულია კვლევებიდან, რომლებიც ჩაატარებულია პრიოტოს და კალვოს მიერ. ორგანული ფაზა შედგება PCL-ის ჰომოგენური გამხსნელისაგან აცეტონისა და Tween 80 -გან. ამავდროულად დეიონიზირებული წყალი ქმნის წყლის ფაზას. საბოლოო ჯამში, PCL-ის შესაბამისი რაოდენობა, პირველადი კონცენტრაციის მისაღებად, იხსნება აცეტონში (0.6-10% w/w) ტერმოსტატიკული წყლის აბაზანაში 40°C-ზე, მანამ სანამ დაემატება surfactant ცენტრიფუგის მილში, რათა მოხდეს საჭირო კონცენტრაციების მოპოვება, (მიღება). მილში არსებული შემადგენლობა ირევა 1-წთ ის განმავლობაში ვორტექსის მიქსით. ამის შემდეგ 35,8გ თბილი დეიონიზირებული წყალი დაემატა (40°C) და ისევ მოტავსდა ვორტექსის მიქსში 5 წთ ით, რომ მოხდეს ჰომოგენური ემულსიის ფორმირება. გამხსნელის მოცილების პროცესი სწრაფად ტარდება, ემულსიის მომზადებისას. [64,65,66]

გამხსნელის მოცილება მეშვეობით SFEE

SFEE ჩატარდა, სადაც 25-გ ემულსია გამოყენებულია მაღალი წნევის ჭურჭელში (Thar Process Inc., აშშ), რომელიც 40 ° C (± 2 ° C) იყო გაცხელებული, ჭურჭელი იხურება და იტუმბება თხევადი CO₂-ით, სადაც წნევამ უნდა მიღწიოს 100 ბარს, სისტემა რჩება წონასწორულ მდგომარეობაში მორევის პროცესში 15 წთ ის განმავლობაში. სანამ გაცხელდება 1 სთ-ის გამნმავლობაში ვაწვდით ახალ CO₂-ს. თავდაპირველი ექსპერიმენტი ჩატარდა კონტროლირებადი (მართვადი) SCCO₂ ნაკადი 1, 4 ან 10 გ / წთ, რათა დადგინდეს SCCO₂ მოპოვების ეფექტურობა. ნიმუში მოპოვებულია მაღალი წნევის მატარებელი ჭურჭლიდან. აცეტონის პოპოვების (გამოყოფის) ეფექტურობა დგინდება წონის სხვაობის გამოყენებით პროცედურამდე და პროცედურის შემდეგ. [67,68]

გამხსნელის გამოყოფა ატმოსფერული წნევის დროს

გამხსნელის გამოყოფა ატმოსფერული წნევის დროს იყო 40 ° C -ზე (± 2 ° C) თერმოსტატული წყლის აბაზანაში, 25-ე ემულსიით, რომელიც 50 მლ-იან ჭურჭელში. აცეტონის აორთქლება განისაზღვრა 0, 1, 2, 3, 4 და 24 საათის განმავლობაში SFEE-ის მსგავსად წონის სხვაობის გამოყენებით. [69,70]

ნაწილაკების ზომა და zeta პოტენციური გაზომვა

ეს ზომები ჩატარდა ნანონაწილაკის ზომისა და ზედაპირის მუხტის დასადგენად. საშუალო ნაწილაკების ზომები და polydispersity ინდექსი (PDI) იზომება

დინამიური სინათლის გამფანტავის (DLS) გამოყენებით Zetasizer Nano-ZS. ინსტრუმენტი აღჭურვილი იყო 633 ნმ-ზე ლაზერული ემისიებით და 173 ° -იანი კუთხით. ნიმუშები განზავებული იყო დეონიზირებული წყლით (4 in 1) და გაზომვები სამმაგად ჩატარდა ოთახის ტემპერატურის დროს (25 ° C). ნაწილაკის ზომის სიდიდე იყო საშუალოდ სამი დამოუკიდებელი გაზომვით. გაზომვები ჩატარდა სამმაგად ერთსა და იმავე ნიმუშზე, რომელიც გამოყენებულია ნაწილაკის ზომების გასაზომად. [71,72,73]

ნაწილაკების მორფოლოგია

ელექტრონული მიკროსკოპით ჩატარდა ნანონაწილაკების ზომისა და ფორმის გაზომვა, გაყინული ნაწილაკების წყალხსნარი დისპერსირდებოდა, თხევად პირობებში ვაკუუმის დროს, 55^o C-ზე. გამოყენებულია ScanVac CoolSafe გაყინვის საშრობი.[74,75] დაახლოებით 1 მგ მშრალი ნაწილაკები თავსდებოდა ნიმუშის ჭურჭელში(stub ?), რისთვისაც გამოიყენება CO₂ - ის ათჰეზია, შედეგად გაუხსნელი ნაწილაკები მოცილდება. ნიმუში იფარება ქრომით, შემდეგ stub თავსდება დამჭერში და იდგმება Hitachi SU8030 ელექტრონულ მიკროსკოპში სკანირებისათვის. [76,77]

თავი II

ექსპერიმენტული ნაწილი, გამოყენებული მასალები და მეთოდები

2.1. კვლევებში გამოყენებული მასალები

ექსპერიმენტისთვის შერჩეული იქნა *Candida albicans* ATCC 60193, - 80 °C გლიცეროლში შენახული შტამი დაითესა საბურო დექსროზას ნიადაგზე ინკუბირება 37 °C 24 საათი, მეორე დღეს ერთეული კოლონიები გადაითესა იგივე ნიადაგზე, ინკუბირება 37°C 24 სთ. ღამის კულტურისგან 0.9% ფიზიოლოგიურში მომზადდა მიკრობის სუსპენზია ერთი მაკვალანდიანი სტანდარტით, რომელიც გამოყენებულია ექსპერიმენტებში.

ანტიბიოტიკად გამოყენებული იქნა აზოლების ჯგუფის ანტიბიოტიკი კეტაკონაზოლი, რომელიც არის კომერციული წარმომავლობის და სხვადასხვა თანაფარდობით (0-100%) მომზადებული იქნა PCL ნანონაწილაკებთან კომპლექსში. ნანონაწილაკების ეს კომპლექსი მომზადებულია გერმანიის საარბრიუკენის უნუვერსიტეტის ფარმაკოლოგიურ ლაბორატორიაში და გამოიგზავნა ჩვენთან აღნიშნული კვლევების მიზნით.

2.2. კალორიმეტრიული მეთოდი

ეს მეთოდი საშუალებას გვაძლევს მივიღოთ განსაკუთრებულად მნიშვნელოვანი ინფორმაცია მოდელური და ბიოლოგიური მემბრანების თერმოდინამიკაზე. მისი დახმარებით არეგისტრირებენ და იკვლევენ ლიპიდების ფაზური მდგომარეობის ცვლილებას და ასევე ახასიათებენ ამ მდგომარეობის დარღვევას ლიპიდების ურთიერთქმედებისას სხვა ნივთიერებებთან (ცილებთან, იონებთან ან პატარა ჰიდროფობურ მოლეკულებთან).

კალორიმეტრის ძირითადი მახასიათებლები

1. ფაზური გადასვლის ტემპერატურა T_m (გადასვლის საშუალო წერტილი, რომელსაც ლიტერატურაში ასევე აღნიშნავენ როგორც T_m), შეესაბამება გადასვლის შუა წერტილს. ორ მდგომარეობას შორის გადასვლისას T_m განისაზღვრება, როგორც წერტილი სადაც $\Delta G^0 = 0$:

$$\Delta G^0 = 0 = \Delta H - T_m \Delta S \quad (1)$$

$$T_m = \Delta H / \Delta S \quad (2)$$

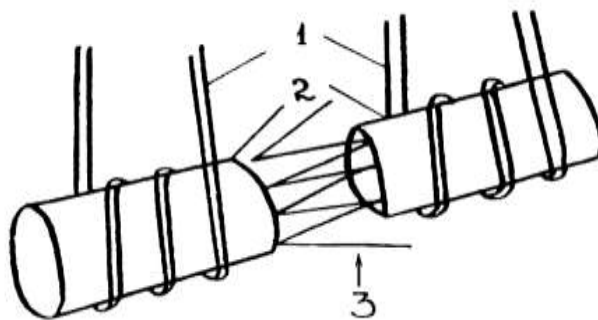
ეს თანაფარდობა შეიძლება გამოვიყენოთ გადასვლის ენტროპიის ΔS -ის მოსაპეზნად, T_m -ის და ΔH -ის გაზომვის შემდეგ .

2. გადასვლის T_c ტემპერატურა, რომელიც შეესაბამება გადასვლის დასაწყისს .

3. გადასვლის ენტალპია ΔH - სითბოს რაოდენობა, რომელიც საჭიროა გადასვლის განსახორციელებლად გათვლილი ნივთიერების ერთ მოლზე ან ერთეულ მასაზე.

4. სითბოტევადობა C_p - სითბოს რაოდენობა (გადათვლილი ერთ გრამზე ან მოლზე), რომელიც აუცილებელია ნიმუშის ტემპერატურის მოსამატებლად ერთი გრადუსით.

განვიხილოთ დსკ-ს მოქმედების პრინციპი დეტალურად; დიფერენციალური სკანირებადი კალორიმეტრი შედგება ორი კამერისაგან: მათგან ერთში თავსდება გამხსნელი, მეორეში – გამხსნელისა და გამოსაკვლევ ნივთიერების ნარევი. ვინაიდან კალორიმეტრის კამერები აბსოლუტურად იდენტური ვერ იქნება, გაზომვის სიზუსტისათვის თავდაპირველად კამერებს ავსებენ ერთი და იმავე სტანდარტული სითხით (გამხსნელით) და იწერება ე.წ. ბაზისური ხაზი ტემპერატურის საჭირო ინტერვალში. ბუნებრივია, ბაზისიური ხაზი გამოდის სწორხაზოვანი.



სურ. 2.1 DASM 4A კალორიმეტრის კამერა

1. პლატინის კაპილარები
2. უჟანგავი ფოლადის თხელი მილები
3. თერმობატარეა

როდესაც იწყება კამერებისათვის სითბოს გადაცემა (ტემპერატურის გაზრდისას), კალორიმეტრის კამერებს შორის ტემპერატურული წონასწორობის შესანარჩუნებლად, ნიმუშის კამერას მიეწოდება ნაკლები ან მეტი სიმძლავრე, იმის და მიხედვით პროცესი ენდოთერმულია, თუ ეგზოთერმული, ანუ პროცესი სითბოს შთანთქმით მიმდინარეობს თუ გამოყოფით – ამ პრინციპით კალორიმეტრი ათანაბრებს ტემპერატურებს კამერებში.

კალორიმეტრი იწერს იმ ელექტრული სიმძლავრის სიდიდეს, რომელიც მას დასჭირდა გადაეცა ნიმუშის კამერისათვის ტემპერატურული ბალანსის დასამყარებლად. ეს სიდიდე პროპორციულია სითბოტევადობების სხვაობისა კამერებში მოთავსებულ ხსნარებს შორის და წარმოადგენს ტემპერატურის ფუნქციას.

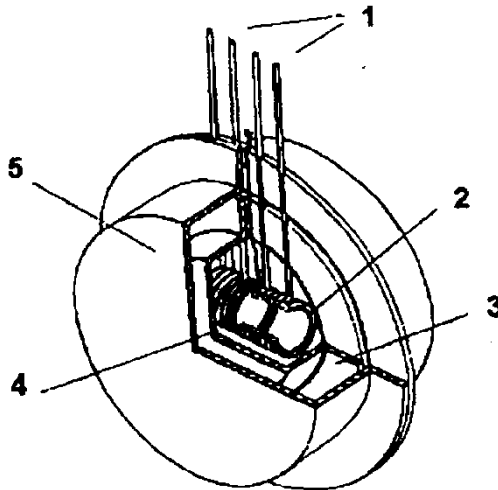
DASM 4A კალორიმეტრი

ამ ზოგად პრინციპზე დაყრდნობით არსებობს სხვადასხვა ტიპის კალორიმეტრები. განვიხილოთ DASM 4A (სურ.2.2) ტიპის მიკროკალორიმეტრს .



სურ.2.2 DASM 4A კალორიმეტრი

გარემოსთან სითბოცვლის გამოსარიცხად მისი ორივე კამერა გარშემორტყმულია ადიაბატური გარსით, რომლის ტემპერატურაც კამერების ტემპერატურის ტოლია (სურ. 2.2; 2.3). ტემპერატურათა თუნდაც მცირე სხვაობას, კალორიმეტრი აღმოაჩენს არა მარტო კამერებს შორის, არამედ გარსსა და კამერას შორისაც; ეს კი ააქტივებს გაცხელების მექანიზმს და აღადგენს ტემპერატურულ ბალანსს ზემოთ აღწერილი პრინციპით. ასეთი სისტემა კიდევ უფრო ზუსტად იცავს ტემპერატურულ წონასწორობას.



სურ. 2.3. DASM 4A -ს კალორიმეტრული ბლოკი

- 1- ჩატვირთვის კაპილარები.
- 2- სპირალური კალორიმეტრული კამერა გამახურებლით.
- 3- შიდა ადიაბატური გარსი.
- 4- კამერებს შორის ტემპერატურათა სხვაობის მზომი.
- 5- გარე სითბური ეკრანი (რომელიც აღკვეთს მილის გარე ნაწილის გავლენას კამერაზე).

კალორიმეტრთან მუშაობის პრინციპი

დიფერენციალურ კალორიმეტრთან მუშაობის ერთ-ერთი ყველაზე რთულ პრობლემას წარმოადგენს კამერების ჩატვირთვა განსაზღვრული თანაბარი რაოდენობით: კამერებში ნიმუშის რაოდენობის ჩატვირთვის სიზუსტე არ უნდა აღემატებოდეს 10^{-5} -ს. ცხადია, ასეთი სიზუსტის დაცვა ნიმუშების აწონვით შეუძლებელია. გარდა ამისა, არ შეიძლება კამერის ბოლომდე გავსება, რადგან სითხისა და კამერის სითბური გაფართოების კოეფიციენტი სხვადასხვაა. მეორეს მხრივ, თუ კამერაში თავისუფალ მოცულობას დავტოვებთ, მაშინ სითხის გახურებისას ხდება დამატებით ორთქლ წარმოქმნა, რაზეც დამატებითი ენერგია იხარჯება. არსებობს კიდევ ერთი პრობლემა: მიუხედავად იმისა, რომ გამხსნელსა და ხსნარის ზევით ორთქლის დრეკადობა მცირედ განსხვავდება, ორთქლის წარმოქმნის დიდი კუთრი სითბოსგამო, სხვაობრივი სითბური ეფექტი შესამჩნევი ხდება. ამიტომ კამერაში არ უნდა დარჩეს ჰაერის ბუშტუკები.

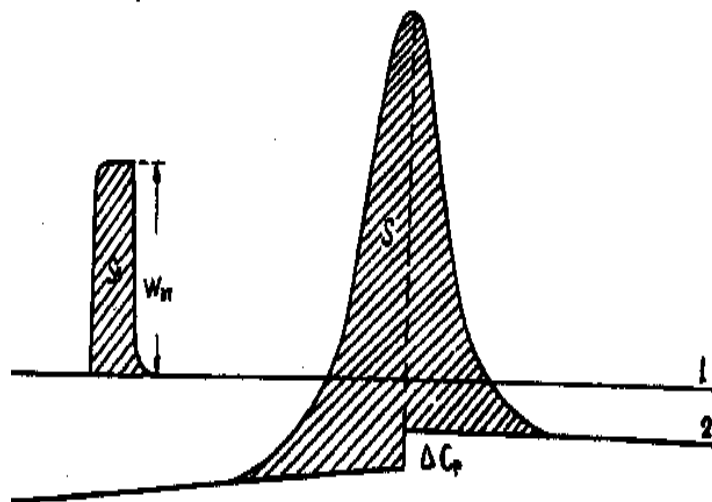
ამ უზუსტობების თავიდან ასაცილებლად, კამერაში ნიმუში შეჰყავთ კაპილარული მილის საშუალებით ისე, რომ ის ავსებსკამერას. გახურების პროცესში კამერაში ბუშტუკების გამოსარიცხად კაპილარული მილების გარე გამოსასვლელებს მოდებული აქვთ ჭარბი წნევა

(რამდენიმეატმ.). რადგან მოდებული წნევა არც ისე დიდია, იგი არ მოქმედებს ხსნარის სითბურ თვისებებზე. სითხეში არსებული აირის წნევასა და ჭარბ წნევას შორის სხვაობას მონოსტატი არეგულირებს. ასე რომ, ხსნარის შესაძლო გაფართოება, აორთქლება კონდენსაცია გაზომვის პროცესში გავლენას არ ახდენს კუთრი სითბოტევადობის განსაზღვრაზე(ΔC_p).

დიფერენციალური კალორიმეტრით მიღებული შედეგების ანალიზი

როგორც ავლიშნეთ, DASM 4A კალორიმეტრი დიფერენცირებული ტიპის ხელსაწყოა, ანუ ის ზომავს არა აბსოლუტურ სითბოტევადობებს, არამედ კამერებში მოთავსებულ ხსნარებს შორის სითბოტევადობების სხვაობას. თუ კამერებში მოთავსებული სითხეების სითბური თვისებები განსხვავებულია, მათი ერთნაირი სიჩქარით გაცხელებისას წარმოიქმნება კამერათა შორის ტემპერატურული სხვაობა. აღნიშნული სხვაობა, კამერებს შორისარსებული თერმოწყვილების მიერ, გარდაიქმნება ელექტრულ სიგნალად, რომელიც ძლიერდება გამაძლიერებელით და ხვდება გამახურებლის სქემაში. გამახურებლის სქემა კი ისე არეგულირებს გახურების დენებს, რომ კამერებს შორის ტემპერატურათა სხვაობა იყოს მინიმალური. მაკომპენსრებელი სიმძლავრის პროპორციული ძაბვა რეგისტრირდება ორკოორდინატიანი თვითჩამწერის ორდინატაზე, ხოლო აბსცისაზე ფიქსირდება ტემპერატურა ტემპერატურის ინდიკაციის ბლოკიდან.

სურ.6-ზე გამოსახულია ტიპური კალორიმეტრული მრუდი, რომელიც მიიღება ბიოპოლიმერების (ცილების, ნუკლეინის მჟავების და ა.შ) ხსნარების გაცხელებისას. პიკი ქვემოდან შემოსაზღვრულია ნატიური და დენატურირებული ბიოლოგიური სტრუქტურის სითბოტევადობების ექსტრაპოლაციური მნიშვნელობებით. სურ. 2.6. ტიპური მაკროკალორიმეტრული ჩანაწერი სითბოშთანთქმის პიკით.



1-საბაზისო ხაზი.

2 -ჩანაწერის მრუდი ნიმუშისათვის.

პიკის ქვეშ მოხვედრილი ფართობის მიხედვით შეგვიძლია დავთვალოთ სითბო, რომელიც გამოიყოფა ან შთანთქმება მაკრომოლეკულების სტრუქტურული დენატურაციის დროს

$$Q_{et} = W_{et} \cdot t \quad (3)$$

სადაც, Q არის სითბოს რაოდენობა (დენატურაციის სითბო);

სადაც, W -ეტალონური სიმძლავრეა, რომელიც t დროში გადაეცემა ერთ-ერთ კამერას.

ეტალონურ პიკს S_{et} შეესაბამება სითბოს Q_{et} რაოდენობა, აქედან შეგვიძლია დავითვალოთ პროპორციით Q სითბოს რაოდენობა მეორე პიკისათვის რომელსაც შეესაბამება S ფართობი.

$$Q = \frac{S}{S_{et}} \cdot Q_{et} \quad (4)$$

ახლა საჭიროა დავითვალოთ თითოეული პიკში ფართობი, ამისათვის ამოვჭრით პიკებს და ავწონით მივიღებთ m და m_{et} სადაც $m = \rho \cdot V$ და $V = S \cdot d$ ρ არის ქაღალდის სიმკვრივე, V მოცულობა, d ქაღალდის სისქე. აქედან მივიღებთ რომ

$$\frac{m}{m_{et}} = \frac{\rho \cdot S \cdot d}{\rho \cdot S_{et} \cdot d} \quad (5)$$

$$\frac{m}{m_{et}} = \frac{S}{S_{et}} \quad (6)$$

საბოლოოდ პიკის Q სითბოს რაოდენობა გამოითვლება ამოჭრილი პიკის მასების შეფარდების ნამრავლით ეტალონუს სითბოს რაოდენობასთან.

$$Q = \frac{m}{m_{et}} \cdot Q_{et} \quad (7)$$

2.3. ტურბიდიმეტრის მეთოდი

კვლევისთვის გამოყენებული იქნა siemens microscan turbidity meter, მას გააჩნია სინათლის წყარო რომელიც სპექტროფოტომეტრისგან განსხვავებით ერთ ფიქსირებულ ტალღის სიგრძეზე მუშაობს და მიმღები ფოტოელემენტი. ტურბიდიმეტრის მუშაობის ლოგიკა განსხვავდება სპექტროფოტომეტრისგან რადგან ეს უკანასკნელი ზომავს კიუვეტის ხსნარში მყოფი საკვლევის ნივთიერების მიერ სინათლის შთანთქმას, ხოლო ტურბიდიმეტრი ზომავს საკვლევ მილში მუდმივად ცირკულირებადი ბაქტერიული ხსნარის სიმღვრივეს, ანუ ბაქტერიების მიერ გაბნეულ და არა შთანთქმულ სინათლეს.

ტურბიდიმეტრის მიერ გაზნეული სინათლის გაზომვა და მუშაობა ემყარება ე.წ **რელეის გაზნევის** კანონს (რელეის გაზნევის კანონის თანახმად გაზნეული სინათლის ინტენსიობა დამოკიდებულია როგორც ნაწილაკების ზომებზე ასევე დაცემული სინათლის ტალღის სიგრძეზე (მუდმივი ტიტრის პირობებში), კერძოდ, გაზნეული სინათლის ინტენსიობა უკუპროპორციულია სინათლის ტალღის სიგრძეზე):

$$I = I_0 \left(\frac{1 + \cos^2 \theta}{2R^2} \right) \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right)^4 \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right)^2 \left(\frac{d}{2} \right)^6, \quad (8)$$

სადაც I_0 და I არის დაცემული და გარდატეხილი სინათლის ინტენსივობები, θ -გაზნევის კუთხე, R - მანძილი გაზნევის ადგილიდან მიმღებ მოწყობილობამდე, n - სითხის გარდატეხის მაჩვენებელი, λ - დაცემული სინათლის ტალღის სიგრძე და d - საკვლევი ობიექტის ზომა. ფორმულიდან ჩანს, რომ რაც უფრო პატარაა დაცემული სინათლის ტალღის სიგრძე (λ^{-4}) და დიდია საკვლევი ობიექტის ზომა (d^6) მით უფრო სინათლის გაზნევის ეფექტი დიდია. ამის გამო ტურბიდიტის მეთოდში გამოყენებულია ლურჯი (პატარა ტალღის სიგრძე) ფოტოდოდის სინათლე.

იმ შემთხვევაში, როდესაც მუდმივია დაცემული სინათლის ტალღის სიგრძე, ინტენსიობა და უცვლელია საკვლევი ობიექტის (ჩვენს შემთხვევაში ბაქტერიების) ზომები, რომლებზეც სინათლე ეცემა, მაშინ გაზნევის, ან ხსნარის სიმღვრივის/გამჭირვალობის სიდიდე პირდაპირ პროპორციული იქნება ბაქტერიების რაოდენობისა ხსნარში. ჩვენ შემთხვევაში ვზომავთ რა ხსნარის გამჭვირვალობას (ან მის ცვლილებას) ვიგებთ ბაქტერიების რიცხვს საკვებ არეში.

თავი III

ჩატარებული კვლევები და მიღებული შედეგები

ჩვენი კვლევის მთავარ ამოცანას წარმოადგენდა დაგვედგინა კეტაკონაზოლის/PCL კომპლექსის თვისებები და მისი ზემოქმედება კანდიდა ალბიკანსზე.

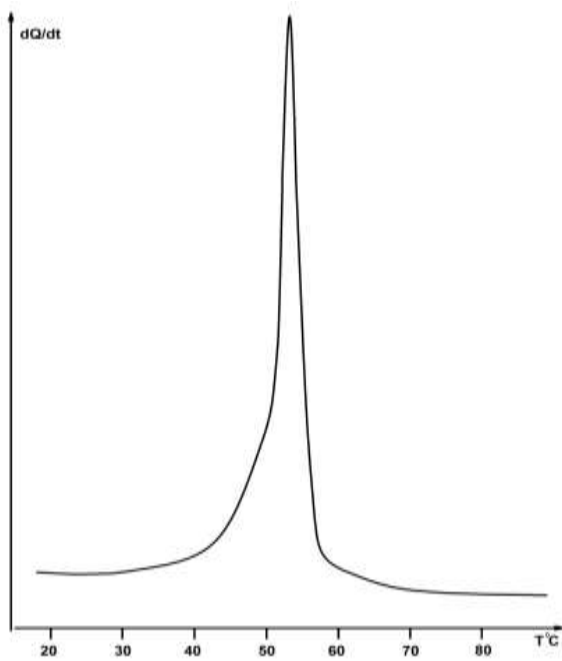
კვლევა დაიყო ორ ეტაპად:

1. ნანონაწილაკების ფიზიკური თვისებების დასადგენად ჩატარდა კალორიმეტრიული კვლევები
2. კანდიდაზე კომპლექსისი მოქმედების ეფექტურობის დასადგენად ჩატარდა მიკრობიოლოგიური კვლევები

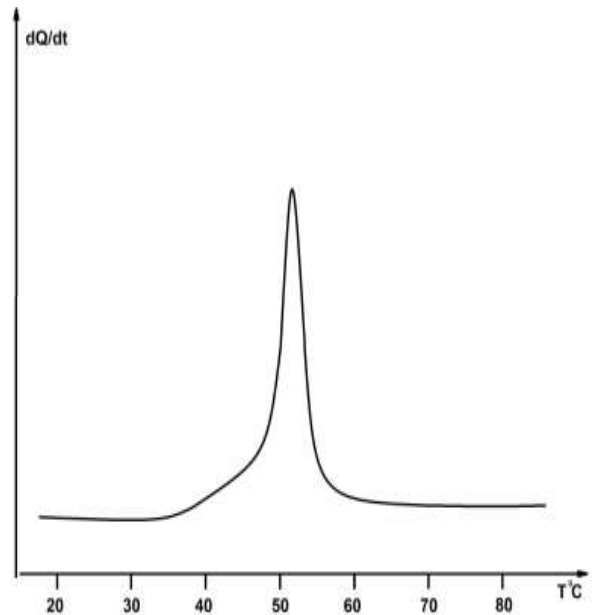
3.1. კეტაკონაზოლი/PCL ნანონაწილაკების კალორიმეტრიული კვლევები

კვლევის მიზანია გაიზომოს ნანონაწილაკების თერმული სტაბილობა, კეტაკონაზოლი/PCL კომპლექსზე კალორიმეტრიული კვლევები ჩატარებული იქნა მიკრო სკანირებად დიფერენციალურ კალორიმეტრის გამოყენებით, რომლითაც გაიზომა ამ ნანონაწილაკების თერმოდინამიკური პარამეტრები. გაიზომა წამლისა და ნანონაწილაკის სხვადასხვა პროცენტული შემადგენლობები, რომლებიც 2,5 ჯერ განზავდა 1მ/ლ -ში, კერძოდ კეტაკონაზოლი/PCL: 0/100, 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/100, 0/100, შემდეგი პირობების ქვეშ: $T = 100^{\circ}\text{C}$, გაცხელების სიჩქარე $V=2^{\circ}/\text{min}$. თავდაპირველად გაიზომა 0/100% თანაფარდობის კომპლექსი, რომლითაც ნაჩვენები იქნა სუფთა ნანონაწილაკის სითბური ეფექტი, ამ გაზომვების კალორიმეტრიული ჩანაწერი მოცემულია გრაფიკი: 1. საიდანაც ჩანს, რომ 53°C -ზე ხდება ნანონაწილაკების მოწესრიგებული სტრუქტურების დარღვევა. ამის შემდეგ გაიზომა სხვადასხვა პროცენტულობის წამალი/PCL კომპლექსები, წამლის პროცენტულ მატებასთან ერთად ხდებოდა პიკის ფართობების შემცირება, საბოლოოდ გაიზომა სუფთა წამალი, გაზომვამ პიკი არ მოგვცა, გრაფიკი: 4., აქედან გამომდინარე პიკის ფართობის მონოტონური შემცირება დამოკიდებული ყოფილა PCL ნანონაწილაკების რაოდენობაზე და არანაირი კავშირი არ აქვს წამალთან.

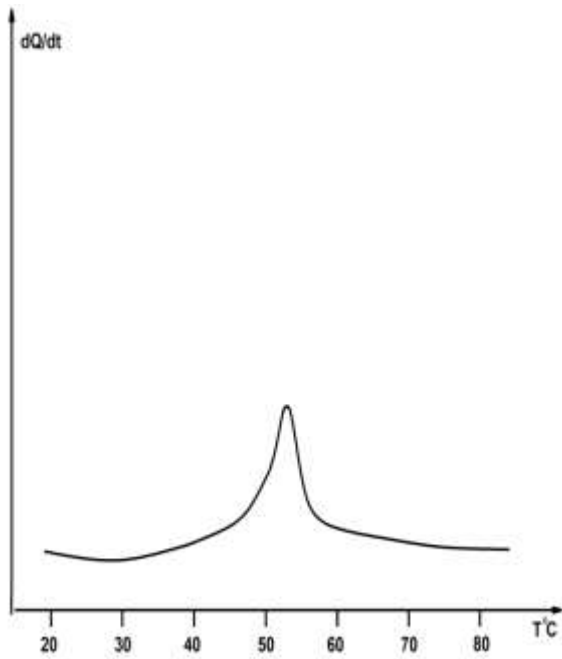
სითბოს ტევადობის დამოკიდებულება ტემპერატურაზე



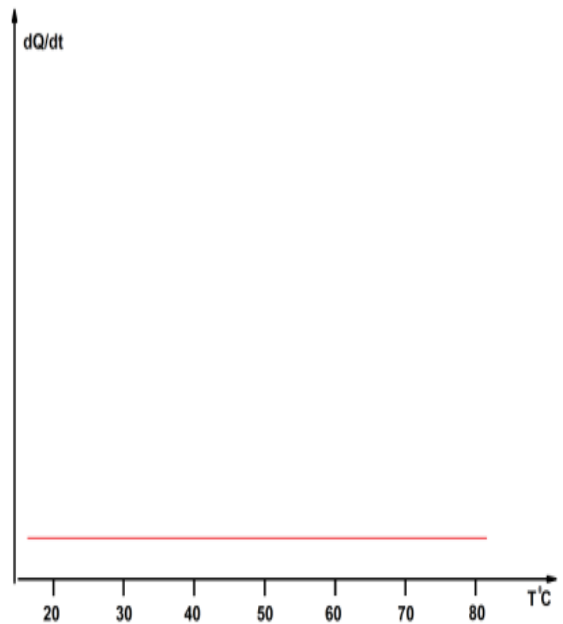
გრაფიკი: 1. სუფთა PCL- 0/100



გრაფიკი: 2. წამალი/PCL- 50/50



გრაფიკი: 3. წამალი/PCL- 70/30



გრაფიკი: 4. სუფთა წამალი- 100/0

თითოეული პიკისათვის დაითვალა შთანთქმული სითბოს რაოდენობა (7) ფორმულის გამოყენებით

$$Q = \frac{m}{m_{et}} \cdot Q_{et} \quad \text{სადაც} \quad Q_{et} = W_{et} \cdot t \quad \text{ჩვენს შემთხვევაში} \quad W_{et} = 50 \text{ მკ.ვტ} \quad t = 3 \text{ წთ}$$

ის განმავლობაში გადაეცემოდა ერთ-ერთ კამერას, დავითვალეთ

$$Q_{et} = 50 \cdot 10^{-6} \cdot 180 = 9 \cdot 10^{-3} \text{ ჯ.} \quad (8)$$

ამოჭრილი პიკის მასა $m_1=0,5581$ მგ, ხოლო ამოჭრილი ეტალონური პიკის მასა $m_{et1}=0,1236$ მგ

პირველი გაზომვისას როდესაც გვქონდა 100% PCL შთანთქმული სითბოს რაოდენობა იქნება

$$Q_1 = \frac{0,5581 \cdot 9 \cdot 10^{-3}}{0,1236} = 0,041 \text{ ჯ}$$

20%წამალი/80% PCL

$$Q_3 = \frac{0,3615 \cdot 9 \cdot 10^{-3}}{0,1485} = 0,022 \text{ ჯ}$$

40%წამალი/60% PCL

$$Q_5 = \frac{0,3250 \cdot 9 \cdot 10^{-3}}{0,1485} = 0,019 \text{ ჯ}$$

60%წამალი/40% PCL

$$Q_7 = \frac{0,2265 \cdot 9 \cdot 10^{-3}}{0,2230} = 0,009 \text{ ჯ}$$

80%წამალი/20% PCL

$$Q_9 = \frac{0,0792 \cdot 9 \cdot 10^{-3}}{0,1480} = 0,005 \text{ ჯ}$$

100%წამალი/0% PCL

$$Q_{11} = \frac{0 \cdot 9 \cdot 10^{-3}}{0,1480} = 0 \text{ ჯ}$$

3.2. მიკრობიოლოგიური ექსპერიმენტები მიკრობ კანდიდაზე

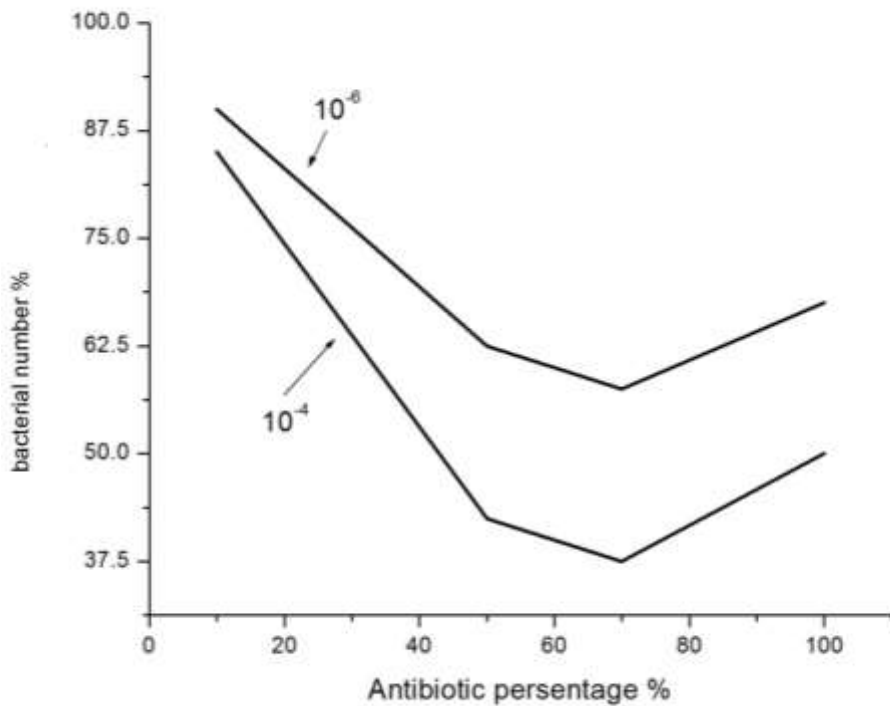
მიკრობიოლოგიური ექსპერიმენტები ჩატარებული იქნა რ.ლუგარის კვლევით ლაბორატორიაში, რომელიც აღჭურვილია 2 დონის ბიოუსაფრთხოების კაბინებით, რაც აუცილებელია კანდიდას ჯგუფის მიკრობებთან სამუშაოდ.

ექსპერიმენტისთვის შერჩეული იქნა *Candida albicans* ATCC 60193, - 80 °C გლიცეროლში შენახული შტამი, დაითესა საბურო დექსროზას ნიადაგზე ინკუბირება 37 °C 24 საათი, მეორე დღეს ერთეული კოლონიები გადაითესა იგივე ნიადაგზე, ინკუბირება 37°C 24 სთ. დამის

კულტურისგან 0.9% ფიზიოლოგიურში მომზადდა მიკრობის სუსპენზია ერთი მაკფალანდიანი სტანდარტით , რომელიც გამოყენებულია ექსპერიმენტებში.

ექსპერიმენტებში აღებული იქნა ერთი მაკფალანდის სტანდარტით განზავებული *Candida albicans* ATCC 60193 მიკრობი, რომელსაც ემატებოდა სხვადასხვა კეტოკონაზოლის/PCL თანაფარდობის 0/100 10/90, 20/80, 30/70. 40/60 , 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10, 100/0 კომპლექსური ნაწონაწილაკები. თითოეული კომპლექსიდან 0,03 მლ დავამატეთ 5 მლ TS ბულიონს და დავუმატეთ 0,03 მლ მიკრობი წინასწარ მომზადებული მიკრობული სუსპენზიიდან, ინკუბაცია 37°C 24 სთ., ინკუბაციის მერე სინჯარები იყო სრულიად გამჭირვალე, ესე იგი მიკრობი არ გაიზარდა და დოზა იყო ძლიერ ლეტარული, მიკრობული ზრდა აღინიშნებოდა მარტო იმ სინჯარაში სადაც დამატებული იყო მარტო PCL ნაწონაწილაკები, და თანხვედრაში იყო კონტროლთან.

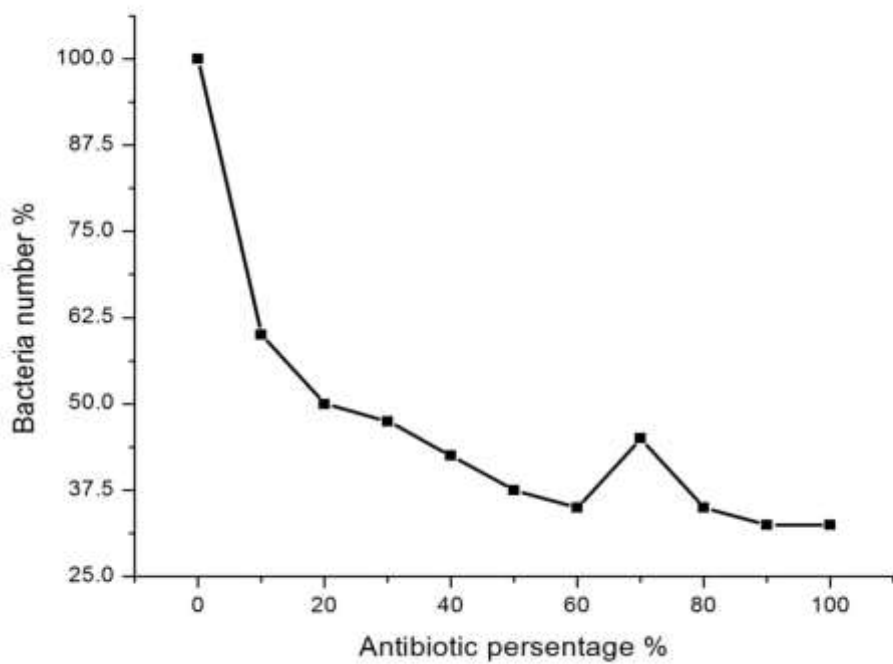
შემდეგი ექსპერიმენტისთვის მოხდა კომპლექსების 10/90, 20/80, 30/70. 40/60 , 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10, 100/0 განზავება 10^{-6} და 10^{-4} , ამჟამად ამორჩეული იქნა 10/90, , 50/50, 80/20, 100/0 კომპლექსები ორივე 10^{-6} და 10^{-4} განზავებიდან, ღამის კულტურისგან 0.9% ფიზიოლოგიურში მომზადდა მიკრობის სუსპენზია 1 მაკფალანდის სტანდარტიანი. კეტოკონაზოლის/პკლ კომპლექსის 10/90, 50/50, 80/20 , 100/0 ორივე განზავებიდან 0,03 მლ დავამატეთ 5 მლ TS ბულიონს და დავუმატეთ 0,03 მლ მიკრობი წინასწარ მომზადებული მიკრობული სუსპენზიიდან (1 მაკფალანდი) ინკუბაცია 37°C 24 სთ.. შედეგები წაკითხული იქნა siemens microscan turbidity meter მიერ და მოცემულია გრაფიკი: 5.-ზე



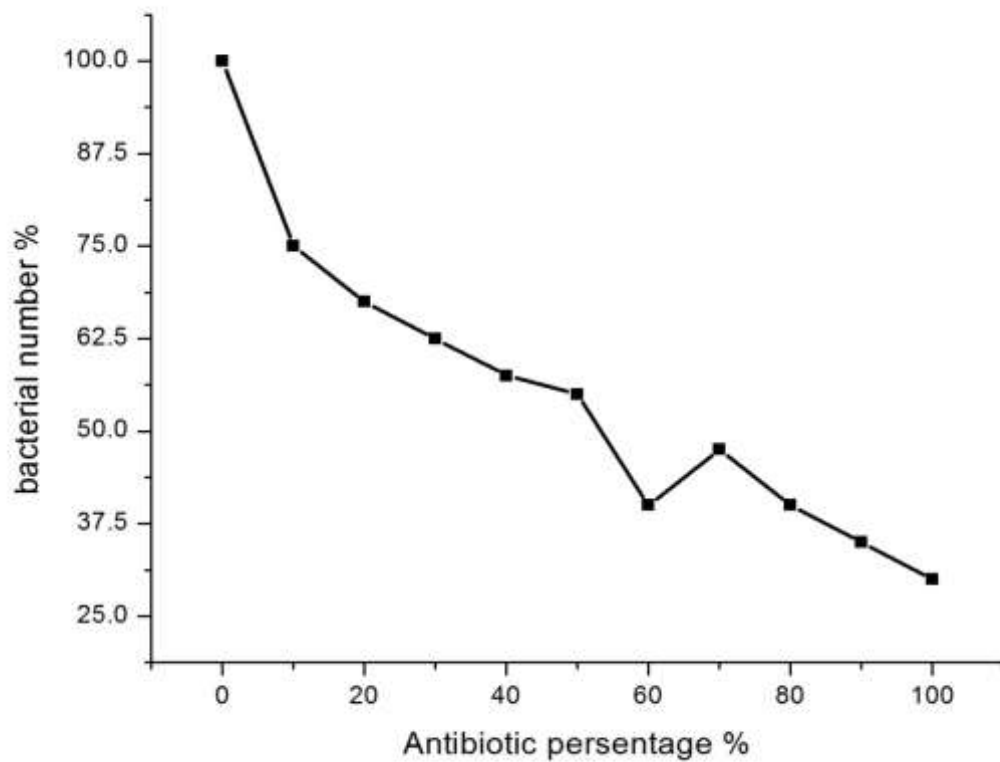
გრაფიკი: 5. კომპლექსების განზავება 10^{-6} და 10^{-4}

შედეგების ანალიზის მიხედვით შემდეგი ექსპერიმენტისთვის აირჩა 10^{-4} განზავება. იმისთვის რომ დაკვირვდით რამდენად ეფექტურია ნანონაწილაკიანი კომპლექსი ცარიელ ანტიბიოტიკთან შედერებით მოვამზადეთ კომპლექსების შესასაბამის, 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10, 100/0, ცარიელი ანტიბიოტიკის განზავებები 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, განზავება მოხდა საწყისი 100% წამლის ხსნარისგან.

ღამის კულტურისგან 0.9% ფიზიოლოგიურში მომზადდა მიკრობის სუსპენზია 1 მაკვალანდის სტანდარტიანი. კეტოკონაზოლის/PCL კომპლექსის თანაფარდობებიდან 0/100, 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10, 100/0 0,03 მლ დავამატეთ 5 მლ TS ბულიონს და დავუმატეთ 0,03 მლ მიკრობი წინასწარ მომზადებული მიკრობული სუსპენზიიდან ინკუბაცია 37°C 24 სთ., იგივე გავიმეორეთ შესაბამისი ანტიბიოტიკების განზავებისთვის. ინკუბაციის მერე შედეგები გაზომილი იქნა siemens microscan turbidity meter მიერ და მოცემულია გრაფიკი: 6.



გრაფიკი: 6. ანტიბიოტიკი+PCL



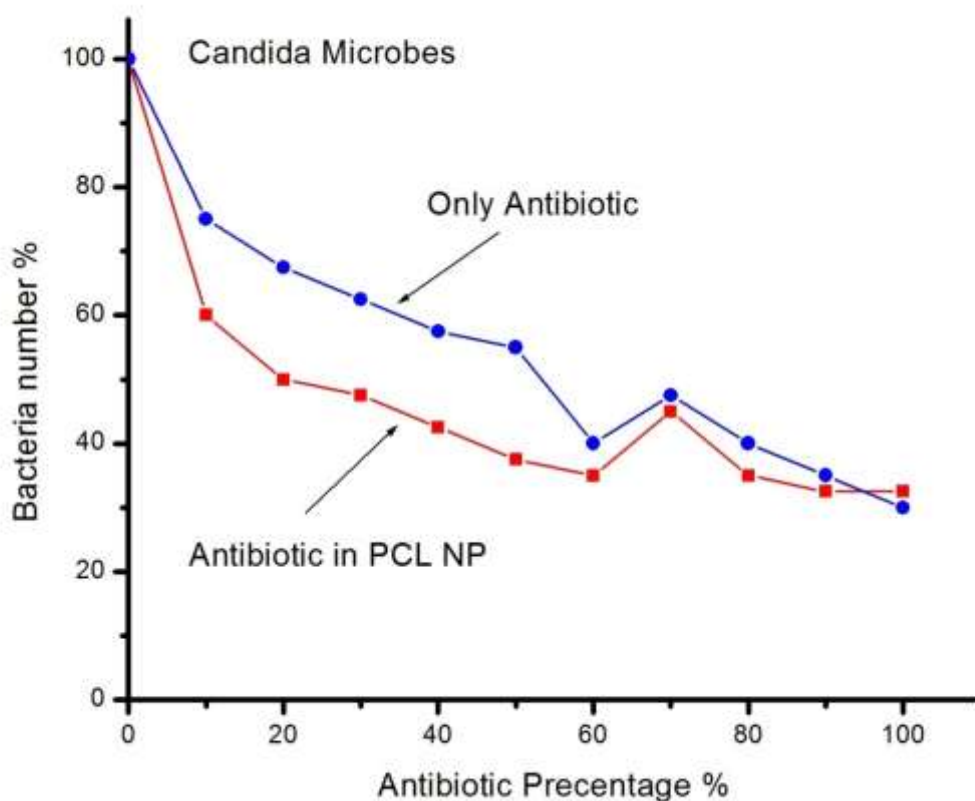
გრაფიკი: 7. მხოლოდ წამალი

თავი IV

მიღებული შედეგების ანალიზი

4.1. მიკრობიოლოგიური კვლევების ანალიზი

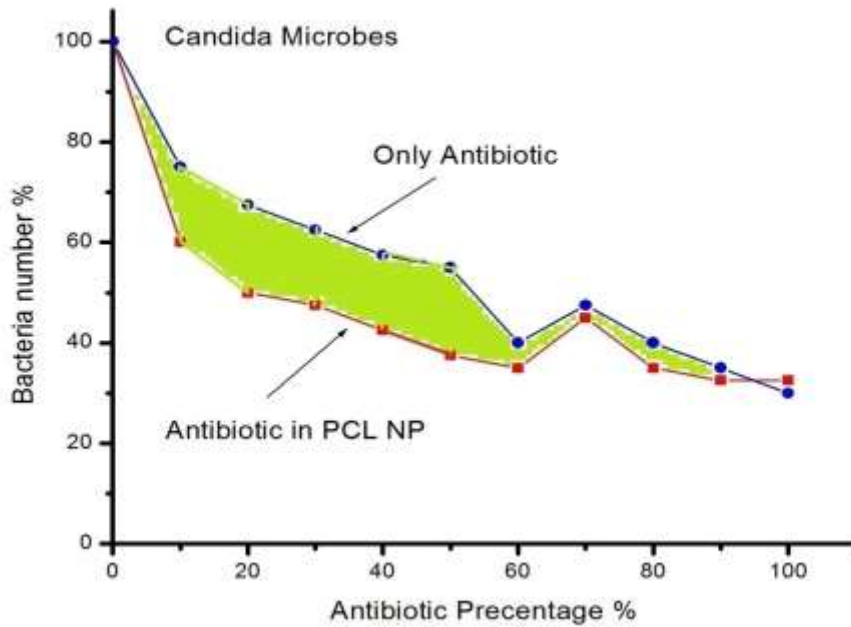
გაზომებიდან გამომდინარე მივიღეთ შედეგები, რომ წამლის მოქმედება მიკრობებზე PCL ნაწილაკებთან ერთად უფრო ეფექტურია, ვიდრე მხოლოდ წამალი, რაც მიღებული გრაფიკიდანაც ჩანს (გრაფიკი: 9), სადაც მოყვანილია მხოლოდ ანტიბიოტიკის და ანტიბიოტიკი+PCL_ის გრაფიკული შედეგები.



გრაფიკი: 8.

მაგალითად 20% წამლი PCL- თან ერთად ანადგურებს მიკრობთა 50%, როდესაც მხოლოდ 20%წამალი ანადგურებს დაახლოებით 30%. გრაფიკი:10-ზე მწვანედ შეფერილი არე გვიჩვენებს წამლისა და ნანო ნაწილაკის ერთად მოქმედების ეფექტურობას, თუმცა ეფექტურობა მცირდება, როდესაც წამლის დოზის პროცენტულობას ვზრდით, ხოლო

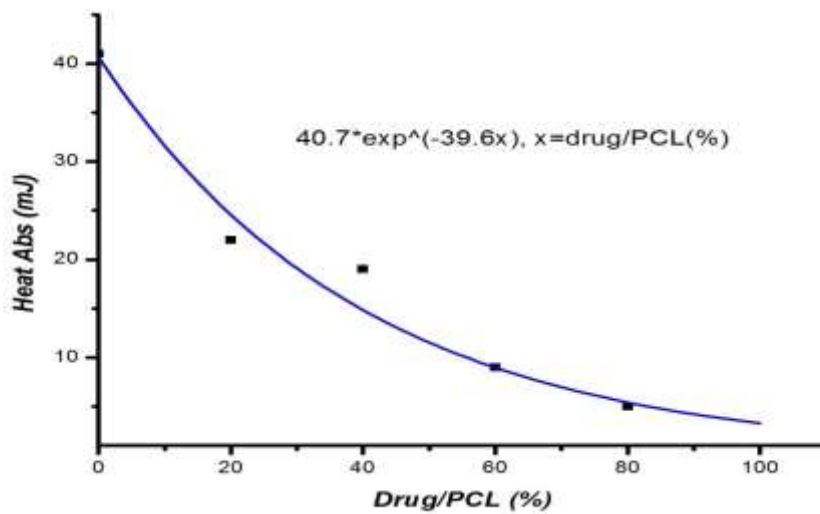
ნანონაწილაკისას ვამცირებთ, ამ ყველაფერს იქამდე მივყავართ, რომ წამლის მოქმედების ეფექტურობა დამოკიდებულია ნანონაწილაკებზე.



გრაფიკი: 9.

4.2 კალორიმეტრული კვლევებია ანალიზი

შთანთქმული სითბოს რაოდენობის დამოკიდებულება წამალი/PCL კომპლექსის თანაფარდობის პროცენტულობასთან მოცემულია გრაფიკი 10-ზე.



გრაფიკი: 10.

კალორიმეტრზე მიღებული შედეგებით დადგინდა, რომ წამალი/PCL კომპლექსის შთანთქმული სითბოს რაოდენობა ხმარდება ნანო ნაწილაკის PCL-ის სტრუქტურის რღვევას, რომელიც 53°C -ზე ხდება. სტრუქტურულ რღვევას იწვევს ნანონაწილაკებში წყალბადური ბმების გაწყვეტა, ამიტომაც წამალი/PCL კომპლექსში, PCL-ის შემცირებით, მცირდება შთანთქმული სითბოს რაოდენობა, რომელიც ნაჩვენებია გრაფიკ: 10-ზე.

დასკვნები:

1. გაზომილი იქნა კეტაკონაზოლი/PCL ნანონაწილაკების სტრუქტურის სითბური სტაბილობა, საიდანაც ჩანს რომ ნანონაწილაკების სტრუქტურის რღვევა ხდება ერთი და იგივე 53° C გრადუსის ტემპერატურულ ინტერვალში და ის არ არის დამოკიდებული წამლის პროცენტულობაზე.
2. ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა გვიჩვენეს, რომ ანტიბიოტიკი(კეტაკონაზოლი) ანადგურებს კანდიდა ალბიკანსის მიკრობს, რომლის ეფექტურობა დამოკიდებული იყო ანტიბიოტიკის რაოდენობაზე. კერძოდ, ანტიბიოტიკის რაოდენობის შემცირებით კლებულობს მიკრობის განადგურების ეფექტი.
3. ნაჩვენები იქნა, რომ ანტიბიოტიკი/PCL-ის კომპლექსი მეტად ეფექტურად ანადგურებს კანდიდა ალბიკანსის მიკრობს ვიდრე მხოლოდ სუფთა ანტიბიოტიკი და კომპლექსში, ანტიბიოტიკი/PCL, წამლის პროცენტულ მატებასთან ერთად კლებულობს ეფექტიის სიდიდე ცარიელ წამალთან მიმართებაში

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Whitman, Whilliam B (2015). *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley and Sons. [CiteSeerX 10.1.1.737.4970](#). [doi:10.1002/9781118960608](#). [ISBN 9781118960608](#).
2. [^] Pace, Norman R. (2006). "Time for a change". *Nature*. **441** (7091): 289. [doi:10.1038/441289a](#). [ISSN 0028-0836](#). [PMID 16710401](#).
3. Rice G (2007-03-27). "[Are Viruses Alive?](#)". Retrieved 2007-07-23.
4. "Disease" at [Dorland's Medical Dictionary](#)
5. [^] White, Tim (19 December 2014). "[What is the Difference Between an 'Injury' and 'Disease' for Commonwealth Injury Claims?](#)". *Tindall Gask Bentley*. [Archived from the original on 27 October 2017](#). Retrieved 6 November 2017.
6. [^] "[What is the deadliest disease in the world?](#)". WHO. 16 May 2012. [Archived from the original on 17 December 2014](#). Retrieved 7 December 2014.
7. James, William D.; Berger, Timothy G.; et al. (2006). *Andrews' Diseases of the Skin: clinical Dermatology*. Saunders Elsevier. pp. 308–311. [ISBN 978-0-7216-2921-6](#).
8. [^] Jump up to:^{a b c d e f} "[Candidiasis](#)". *cdc.gov*. February 13, 2014. [Archived from the original on 29 December 2014](#). Retrieved 28 December 2014.
9. [^] Jump up to:^{a b c} "[Symptoms of Oral Candidiasis](#)". *cdc.gov*. February 13, 2014. [Archived from the original on 29 December 2014](#). Retrieved 28 December 2014.
10. [^] Jump up to:^{a b c d e f g} "[Risk & Prevention](#)". *cdc.gov*. February 13, 2014. Retrieved 28 December 2014.
11. [^] Jump up to:^{a b c d e} "[Treatment & Outcomes of Oral Candidiasis](#)". *cdc.gov*. February 13, 2014. Retrieved 28 December 2014.
12. [^] Jump up to:^{a b c} "[Oral Candidiasis Statistics](#)". *cdc.gov*. February 13, 2014. [Archived from the original on 29 December 2014](#). Retrieved 28 December 2014.
13. [^] Jump up to:^{a b} "[Genital / vulvovaginal candidiasis \(VVC\)](#)". *cdc.gov*. February 13, 2014. [Archived from the original on 29 December 2014](#). Retrieved 28 December 2014.
14. [^] Jump up to:^{a b} "[Symptoms of Genital / Vulvovaginal Candidiasis](#)". *cdc.gov*. February 13, 2014. [Archived from the original on 29 December 2014](#). Retrieved 28 December 2014.
15. [^] Jump up to:^{a b} "[Symptoms of Invasive Candidiasis](#)". *cdc.gov*. February 13, 2014. [Archived from the original on 29 December 2014](#). Retrieved 28 December 2014.
16. [^] Jump up to:^{a b} "[People at Risk for Genital / Vulvovaginal Candidiasis](#)". *cdc.gov*. February 13, 2014. [Archived from the original on 29 December 2014](#). Retrieved 28 December 2014.
17. Bauters, T. G., M. A. Dhont, M. I. Temmerman, and H. J. Nelis. 2002. Prevalence of vulvovaginal candidiasis and susceptibility to fluconazole in women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **187**:569-574.

18. **Anderson, M. R., K. Klink, and A. Cohrssen.** 2004. Evaluation of vaginal complaints. *JAMA* **291**:1368-1379.
19. **de Repentigny, L., D. Lewandowski, and P. Jolicoeur.** 2004. Immunopathogenesis of oropharyngeal candidiasis in human immunodeficiency virus infection. *Clin. Microbiol. Rev.* **17**:729-759.
20. **Edwards, S.** 1996. Balanitis and balanoposthitis: a review. *Genitourin. Med.* **72**:155-159.
21. **Foxman, B.** 1990. The epidemiology of vulvovaginal candidiasis: risk factors. *Am. J. Public Health* **80**:329-331.
22. **Nyirjesy, P., C. Peyton, M. V. Weitz, L. Mathew, and J. F. Culhane.** 2006. Causes of chronic vaginitis: analysis of a prospective database of affected women. *Obstet. Gynecol.* **108**:1185-1191.
23. **Richards, M. J., J. R. Edwards, D. H. Culver, and R. P. Gaynes.** 2000. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **21**:510-515.
24. **Richter, S. S., R. P. Galask, S. A. Messer, R. J. Hollis, D. J. Diekema, and M. A. Pfaller.** 2005. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. *J. Clin. Microbiol.*
25. **Sobel, J. D.** 2006. The emergence of non-albicans *Candida* species as causes of invasive candidiasis and candidemia. *Curr. Infect. Dis. Rep.* **8**:427-433
26. **Sobel, J. D., S. Faro, R. W. Force, B. Foxman, W. J. Ledger, P. R. Nyirjesy, B. D. Reed, and P. R. Summers.** 1998. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **178**:203-211
27. **Weinberger, M., S. Sweet, L. Leibovici, S. D. Pitlik, and Z. Samra.** 2003. Correlation between candiduria and departmental antibiotic use. *J. Hosp. Infect.* **53**:183-186.
28. Hof H. A new, broad-spectrum azole antifungal: posaconazole—mechanisms of action and resistance, spectrum of activity. *Mycoses.* 2006;49(1):2–6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
29. Hay R. Antifungal drugs. In: Katsambas A, Lotti T, editors. *European Handbook of Dermatological Treatments.* Berlin, Germany: Springer; 2003. pp. 700–710. [[Google Scholar](#)]
30. Aparicio JF, Mendes MV, Antón N, Recio E, Martín JF. Polyene macrolide antiobiotic biosynthesis. *Current Medicinal Chemistry.* 2004;11(12):1645–1656. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
31. Grover N. Echinocandins: a ray of hope in antifungal drug therapy. *Indian Journal of Pharmacology.* 2010;42(1):9–11. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
32. . Cappelletty D, Eiselstein-McKittrick K. The echinocandins. *Pharmacotherapy.* 2007;27(3):369–388. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
33. Vazquez JA. Anidulafungin: a new echinocandin with a novel profile. *Clinical Therapeutics.* 2005;27(6):657–673. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

34. . Ostrosky-Zeichner L, Kontoyiannis D, Raffalli J, et al. International, open-label, noncomparative, clinical trial of micafungin alone and in combination for treatment of newly diagnosed and refractory candidemia. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2005;24(10):654–661. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
35. . de Wet N, Llanos-Cuentas A, Suleiman J, et al. A randomized, double-blind, parallel-group, dose-response study of micafungin compared with fluconazole for the treatment of esophageal candidiasis in HIV-positive patients. *Clinical Infectious Diseases*. 2004;39(6):842–849. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
36. . Mora-Duarte J, Betts R, Rotstein C, et al. Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis. *The New England Journal of Medicine*. 2002;347(25):2020–2029. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
37. . Sanglard D, Odds FC. Resistance of *Candida species* to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *The Lancet Infectious Diseases*. 2002;2(2):73–85. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
38. . Vermes A, Guchelaar H-J, Dankert J. Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2000;46(2):171–179. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
39. Onishi J, Mainz M, Thompson J, et al. Discovery of novel antifungal (1,3)- β -D-glucan synthase inhibitors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000;44(2):368–377. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
40. Noël T. The cellular and molecular defense mechanisms of the *Candida* yeasts against azole antifungal drugs. *Journal de Mycologie Médicale*. 2012;22:173–178. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
41. . Cannon RD, Lamping E, Holmes AR, et al. Efflux-mediated antifungal drug resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 2009;22(2):291–321. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
42. . Coste AT, Karababa M, Ischer F, Bille J, Sanglard D. *TAC1*, transcriptional activator of CDR genes, is a new transcription factor involved in the regulation of *Candida albicans* ABC transporters *CDR1* and *CDR2*. *Eukaryotic Cell*. 2004;3(6):1639–1652. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
43. Guilherme MR, Mauricio MR, Tenório-Neto ET, Kunita MH, Cardozo-Filho L, Cellet T, Pereira GM, Muniz EC, da Rocha S, Rubira AF. Polycaprolactone nanoparticles containing encapsulated progesterone prepared using a scCO₂ emulsion drying technique. *Mater Lett*. 2014;124:197. doi: 10.1016/j.matlet.2014.03.099. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
44. . Psarros C, Lee R, Margaritis M, Antoniadou C. Nanomedicine for the prevention, treatment and imaging of atherosclerosis. *Maturitas*. 2012;73:52. doi: 10.1016/j.maturitas.2011.12.014. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

45. . Liu G, Liu W, Dong CM. UV- and NIR-responsive polymeric nanomedicines for on-demand drug delivery. *Polym Chem.* 2013;4:3431.
46. . Liu Z, Jiao Y, Wang Y, Zhou C, Zhang Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008;60:1650. doi: 10.1016/j.addr.2008.09.001. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
47. . Gonçalves C, Pereira P, Gama M. Self-assembled hydrogel nanoparticles for drug delivery applications. *Materials.* 2010;3:1420. doi: 10.3390/ma3021420. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
48. . Yang YY, Wang Y, Powell R, Chan P. Polymeric core-shell nanoparticles for therapeutics. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2006;33:557. doi: 10.1111/j.1440-1681.2006.04408.x. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
49. . Makadia HK, Siegel SJ. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers.* 2011;3:1377. doi: 10.3390/polym3031377. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
50. . Crucho C, Barros MT. Formulation of functionalized PLGA polymeric nanoparticles for targeted drug delivery. *Polymer.* 2015;68:41. doi: 10.1016/j.polymer.2015.04.083. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
51. . Seremetaa KP, Chiappettaa DA, Sosnik A. Poly (ϵ -caprolactone), Eudragit[®] RS 100 and poly(ϵ -caprolactone)/Eudragit[®] RS100 blend submicron particles for the sustained release of the antiretroviral efavirenz. *Colloids Surf B: Biointerfaces.* 2013;102:441. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.06.038. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
52. . Woodruff MA, Hutmacher DW. The return of a forgotten polymer-polycaprolactone in the 21st century. *Prog Polym Sci.* 2010;35:1217. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
53. . Karuppuswamy P, Venugopal JR, Navaneethan B, Laiva AL, Ramakrishna S. Polycaprolactone nanofibers for the controlled release of tetracycline hydrochloride. *Mater Lett.* 2015;141:180. doi: 10.1016/j.matlet.2014.11.044. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
54. . Bilensoy E, Sarisozen C, Esendagli G, Dogan AL, Aktas Y, Sen M, Mungan NA. Intravesical cationic nanoparticles of chitosan and polycaprolactone for the delivery of mitomycin C to bladder tumors. *Int J Pharm.* 2009;371:170. doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.12.015. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
55. . Payyappilly SS, Panja S, Mandal P, Dhara S, Chattopadhyay S. Organic solvent-free low temperature method of preparation for self-assembled amphiphilic poly(ϵ -caprolactone)–poly(ethylene glycol)block copolymer based nanocarriers for protein delivery. *Colloids Surf B: Biointerfaces.* 2015;135:510. doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.07.075. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

56. . Sinha VR, Bansal K, Kaushik R, Kumria R, Trehan A. Poly- ϵ -caprolactone microspheres and nanospheres: an overview. *Int J Pharm.* 2004;278:1. doi: 10.1016/j.ijpharm.2004.01.044. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
57. . Jameela SR, Suma N, Misra A, Raghuvanshi R, Ganga S, Jayakrishnan A. Poly (ϵ -caprolactone) microspheres as a vaccine carrier. *Curr Sci.* 1996;70:669. [[Google Scholar](#)]
58. . Youan B, Benoit MA, Rollmann B, Riveau G, Gillard J. Protein-loaded poly (ϵ -caprolactone) microparticles. II. Muramyl dipeptide for oral controlled release of adjuvant. *J Microencapsul.* 1999;16:601. doi: 10.1080/026520499288799. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
59. . Bouchemal K, Briançon S, Perrier E, Fessi H. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. *Int J Pharm.* 2004;280:241. doi: 10.1016/j.ijpharm.2004.05.016. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
60. . Lopez-Montilla JC, Herrera-Morales PE, Pandey S, Shah DO. Spontaneous emulsification: mechanisms, physicochemical aspects, modeling, and applications. *J Dispers Sci Technol.* 2002;23(1–3):219. doi: 10.1080/01932690208984202. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
61. . Shahidzadeh N, Bonn D, Aguerre-Chariol O, Meunier J. Spontaneous emulsification: relation to microemulsion phase behaviour. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 1999;147:375. doi: 10.1016/S0927-7757(98)00711-0. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
62. . Falk RF, Randolph TW. Process variable implications for residual solvent removal and polymer morphology in the formation of gentamycin-loaded poly(L-lactide) microparticles. *Pharm Res.* 1998;15:1233. doi: 10.1023/A:1011991808423. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
63. . Rao JP, Geckeler KE. Polymer nanoparticles: preparation techniques and size-control parameters. *Prog Polym Sci.* 2011;36:887. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.01.001. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
64. . Prieto C, Calvo L. Supercritical fluid extraction of emulsions for the production of vitamin E nanocapsulates. *XXI Int Conf Bioencapsul.* 2013;1:14.
65. . Katayama T, Ohgaki K, Maekawa G, Goto M, Nagano T. Isothermal vapor-liquid equilibria of acetone-carbon dioxide and methanol-carbon dioxide systems at high pressures. *J Chem Eng Jpn.* 1975;8:89. doi: 10.1252/jcej.8.89. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
66. . Campardelli R, Baldino L, Reverchon E. Supercritical fluids applications in nanomedicine. *J Supercrit Fluids.* 2015;101:193. doi: 10.1016/j.supflu.2015.01.030. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
67. . Campardelli R, Porta GD, Reverchon E. Solvent elimination from polymer nanoparticle suspensions by continuous supercritical extraction. *J Supercrit Fluids.* 2012;70:100. doi: 10.1016/j.supflu.2012.06.005. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

68. . Santos DT, Martín A, Meireles MA, Cocero MJ. Production of stabilized sub-micrometric particles of carotenoids using supercritical fluid extraction of emulsions. *J Supercrit Fluids*. 2012;61:167. doi: 10.1016/j.supflu.2011.09.011. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
69. . Kwon H, Lee J, Choi S, Jang Y, Kim J. Preparation of PLGA nanoparticles containing estrogen by emulsification–diffusion method. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2001;182:123. doi: 10.1016/S0927-7757(00)00825-6. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
70. . Galindo-Rodriguez S, Allémann E, Fessi H, Doelker E. Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification-diffusion, and nanoprecipitation methods. *Pharm Res*. 2004;21:1428. doi: 10.1023/B:PHAM.0000036917.75634.be. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
71. . Pasquali I, Bettini R. Are pharmaceuticals really going supercritical. *Int J Pharm*. 2008;364:176. doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.05.014. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
72. . Asasutjarit R, Sorrachaitawatwong C, Tipchuwong N, Pouthai S. Effect of formulation compositions on particle size and zeta potential of diclofenac sodium-loaded chitosan nanoparticles. *Int J Med Health Biomed Bioeng Pharm Eng*. 2013;7:568. [[Google Scholar](#)]
73. . Sharma N, Madan P, Lin S. Effect of process and formulation variables on the preparation of parenteral paclitaxel-loaded biodegradable polymeric nanoparticles: a co-surfactant study. *Asian J Pharm Sci*. 2016;11:404. doi: 10.1016/j.ajps.2015.09.004. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
74. . Goloub T, Pugh RJ. The role of the surfactant head group in the emulsification process: single surfactant systems. *J Colloid Interface Sci*. 2003;257:337. doi: 10.1016/S0021-9797(02)00047-4. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
75. . Hasani F, Pezeshki A, Hamishehkar H. Effect of surfactant and oil type on size droplets of betacarotene-bearing nanoemulsions. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2015;4:146. [[Google Scholar](#)]
76. . Mu L, Feng SS. A novel controlled release formulation for the anticancer drug paclitaxel (Taxol®): PLGA nanoparticles containing vitamin E TPGS. *J Control Release*. 2003;86:33. doi: 10.1016/S0168-3659(02)00320-6. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
77. . Feng S, Huang G. Effects of emulsifiers on the controlled release of paclitaxel (Taxol®) from nanospheres of biodegradable polymers. *J Control Release*. 2001;71:53. doi: 10.1016/S0168-3659(00)00364-3.