



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

## **Πολυμερικές νανογέλες: Ευέλικτες πλατφόρμες σύμπλεξης θεραπευτικών πρωτεϊνών**

Αντιόπη Βαρδαξή<sup>1,2</sup>, Στέργιος Πίσπας<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Βασιλέως Κωνσταντίνου 48, 11635, Αθήνα, Ελλάδα

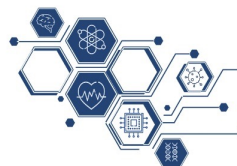
<sup>2</sup> Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη – Ζωγράφου, 15784, Αθήνα, Ελλάδα



Διοργανωτές



## 1. Εισαγωγή-Σκοπός



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- ✓ Οι νανογέλες αποτελούν πολύπλοκα τρισδιάστατα υλικά στην περιοχή μεγεθών της νανοκλίμακας που σχηματίζονται από διασυνδεδεμένα διογκούμενα δίκτυα πολυμερών με υψηλή ικανότητα συγκράτησης νερού. Τα χαρακτηριστικά τους, όπως το μέγεθος, το φορτίο, το πορώδες, κ.α. μπορούν να ρυθμιστούν μέσω της χημικής σύνθεσης ενώ ταυτοχρόνως καθορίζονται από τις στρατηγικές που έχουν επιλεγεί για το σχεδιασμό τους.
- ✓ Οι νανογέλες είναι βιοσυμβατές με υψηλή ικανότητα φόρτωσης βιομακρομορίων προστατεύοντας τα από την αποικοδόμηση και συνεισφέροντας στην διαδικασία μεταφοράς και ελεγχόμενης αποδέσμευσης στο σημείο-στόχο. Ως εκ τούτου, η ευελιξία της αρχιτεκτονικής τους επιτρέπει την χρήση σε διάφορες βιοϊατρικές εφαρμογές ως δυνητικοί φορείς μεταφοράς μέσω σύμπλεξης ή/και ενθυλάκωσης βιομακρομορίων.
- ✓ Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των τυχαίων πολυμερικών νανογελών μεθακρυλικού μεθυλεστέρα της διμεθυλαμίνης/μεθακρυλικού εστέρα της ολιγοαιθυλενογλυκόλης ( $P(DMAEMA-co-OEGMA)$ ) ομοιοπολικά συνδεδεμένων με τον παράγοντα διασύνδεσης 1,12-διβρομωδωδεκάνιο ( $Br(CH_2)_{12}Br$ ) και η διερεύνηση της ικανότητας σύμπλεξης τους με την οβαλβουμίνη (*Ovalbumin/OVA*), μιας πολλά υποσχόμενης θεραπευτικής πρωτεΐνης με ανοσοενισχυτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες.

## 2. Μέθοδοι και Υλικά



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

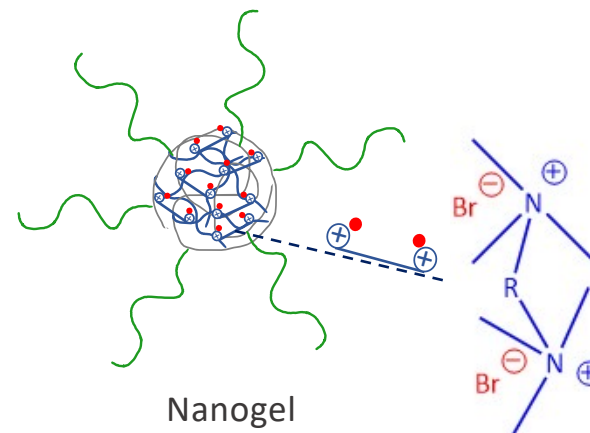
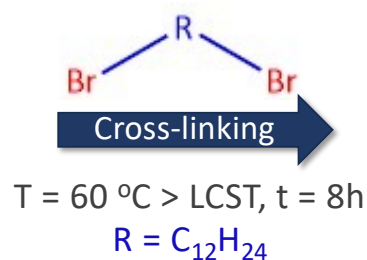
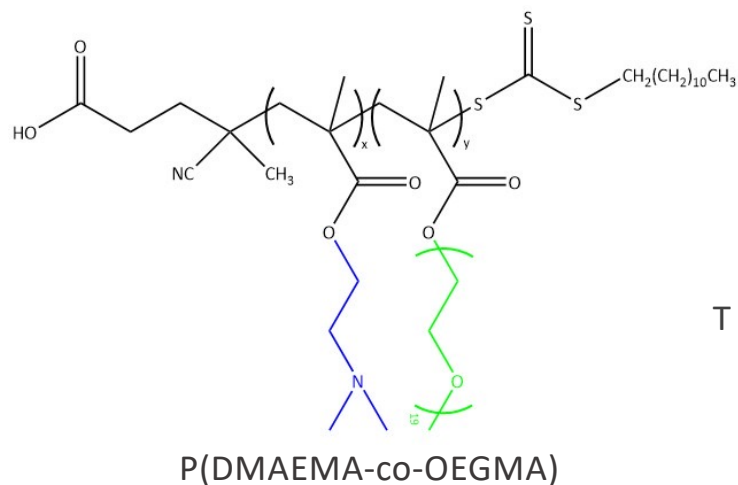
### Σύνθεση νανογελών

Κατάλληλες ποσότητες ενός διαλύματος του παράγοντα διασύνδεσης **1,12-διβρωμοδεκανίου (DBD)** σε **αιθανόλη** προστέθηκαν σε υδατικό διάλυμα πολυμερούς **P(DMAEMA-co-OEGMA)** συγκέντρωσης **1 mg/mL** και ακολούθησε σταδιακή αραιώση 2 mL/90 min έως ότου ο τελικός όγκος διαλυμάτων να είναι **10 mL**.

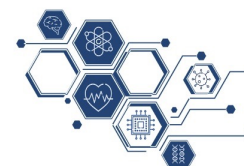
Δείγμα	$V_{\text{pol}}$ (mL)	$V_{\text{DBD}}$ ( $\mu\text{L}$ )	$V_{\text{final}}$ (mL)
Nanogel 1	2	28,6	10
Nanogel 2		71,4	10

Η προσθήκη 1,12-διβρωμοδεκανίου (DBD) πραγματοποιήθηκε με σκοπό την **20% w/w** και **50% w/w** μοριακή μετατροπή/αντίδραση των διμεθυλαμινομάδων με τον παράγοντα διασύνδεσης.

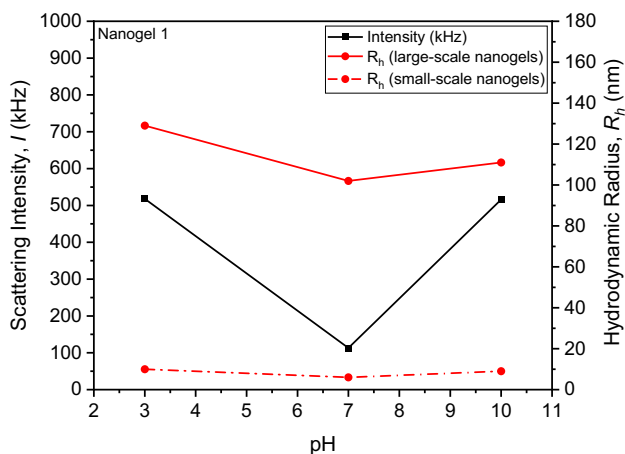
- Στο διάλυμα Nanogel 1 μετά το πέρας των 24 ωρών παρατηρήθηκε διφασικός διαχωρισμός (coacervation).



### 3. Αποτελέσματα – Φυσικοχημικές Ιδιότητες Διαλυμάτων Ι

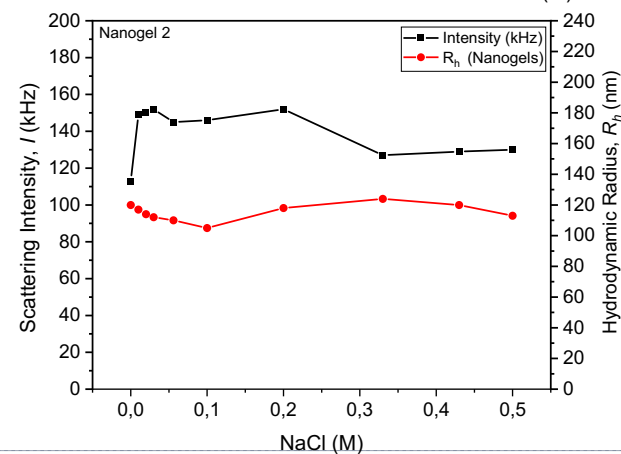
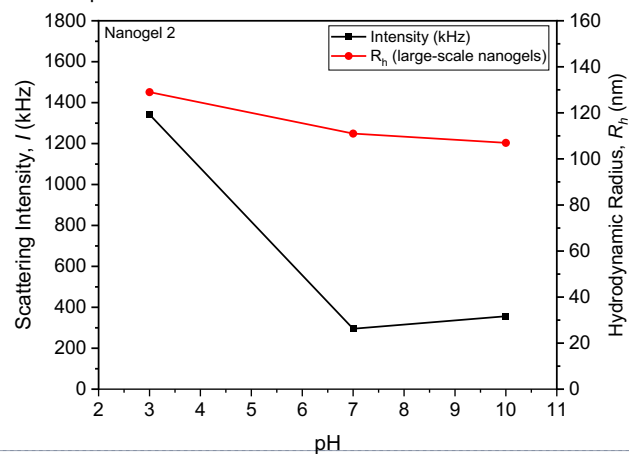
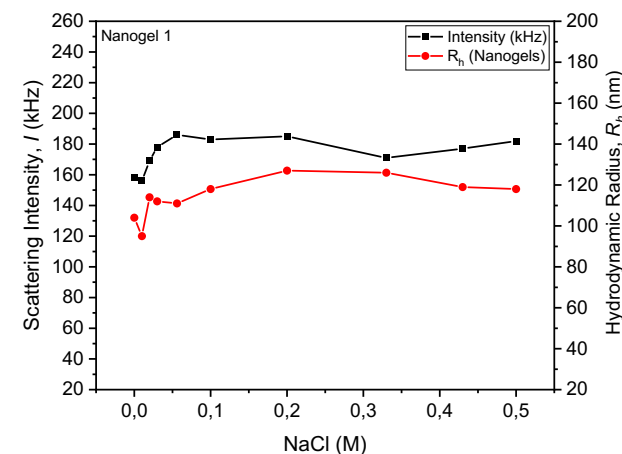


#### Επίδραση pH



Η μάζα και το μέγεθος των νανογελών επηρεάζονται από τις μεταβολές του pH αλλά παραμένουν σχεδόν αμετάβλητες παρουσία ισχυρής ιοντικής ισχύος ( $C_{NaCl} > 0.15$  M).

#### Επίδραση Άλατος

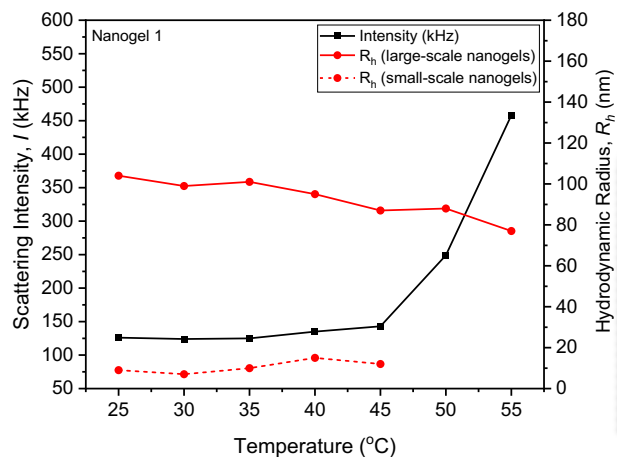


## 4. Αποτελέσματα – Φυσικοχημικές Ιδιότητες Διαλυμάτων II

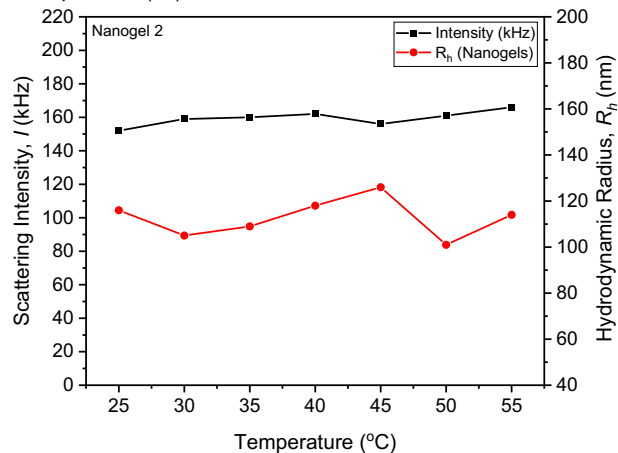


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

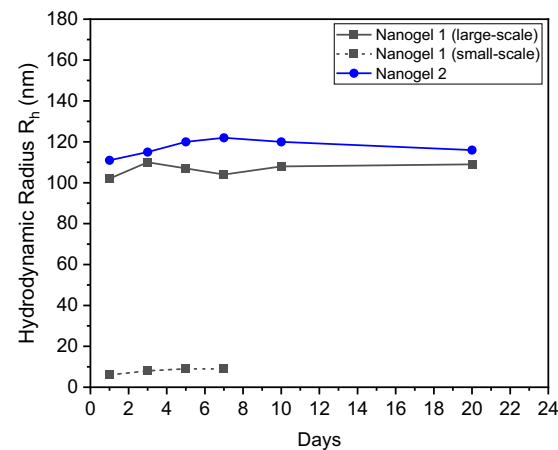
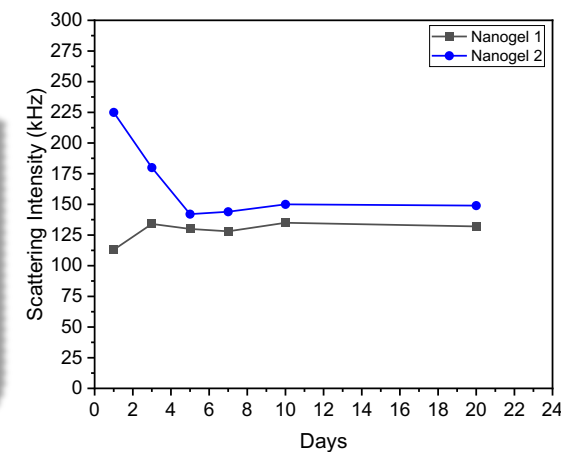
### Επίδραση θέρμανσης



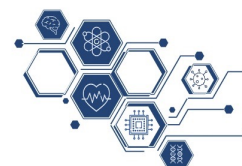
Παρατηρείται μεταβολή της μάζας και του μεγέθους των Nanogel 1 συναρτήσει της θερμοκρασίας και την πάροδο του χρόνου σε αντίθεση με τα Nanogel 2 τα οποία παραμένουν σταθερά.



### Μελέτες σταθερότητας



## 5. Αποτελέσματα – Σύμπλεξη νανογελών - πρωτεΐνης



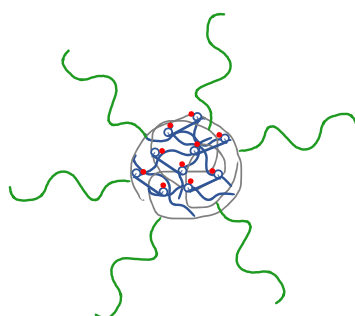
1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

### Παρασκευή συμπλόκων νανογέλης - οβαλβουμίνης

- ❖ Το διάλυμα **Nanogel 2** παρουσίασε κολλοειδή σταθερότητα συναρτήσει του χρόνου και των υπερήχων κι ως εκ τούτου επιλέχθηκε για την σύμπλεξη με την θεραπευτική πρωτεΐνη οβαλβουμίνη.
- ❖ Κατάλληλες ποσότητες διαλύματος **οβαλβουμίνης (OVA)** σε **νερό** προστέθηκαν σε **1 mL** διαλύματος **Nanogel 2** συγκέντρωσης **C = 10<sup>-4</sup> g/mL** και ακολούθησε σταδιακή αραίωση μέχρι ο τελικός όγκος διαλυμάτων των συμπλόκων να είναι **10 mL**.

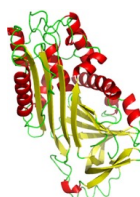
OVA/Nanogel I 2	V <sub>Nanogel2</sub> (mL)	V <sub>OVA</sub> (μL)	C <sub>OVAfinal</sub> (mg/ml)	V <sub>final</sub> (mL)
10% w/w	1	10	0.001	10
20% w/w	1	20	0.002	10

Η προθήκη OVA πραγματοποιήθηκε με σκοπό την **10% w/w** και **20% w/w** ηλεκτροστατική σύμπλεξη με τα Nanogel 2.

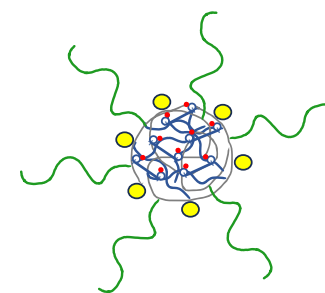


Nanogel 2

+

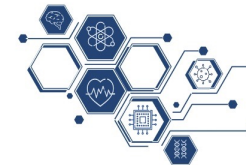


Οβαλβουμίνη (OVA) (●)



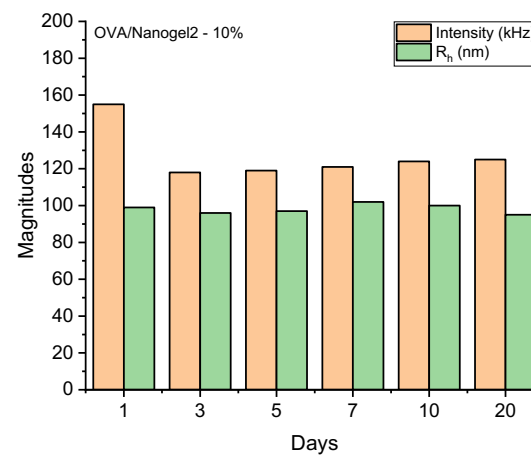
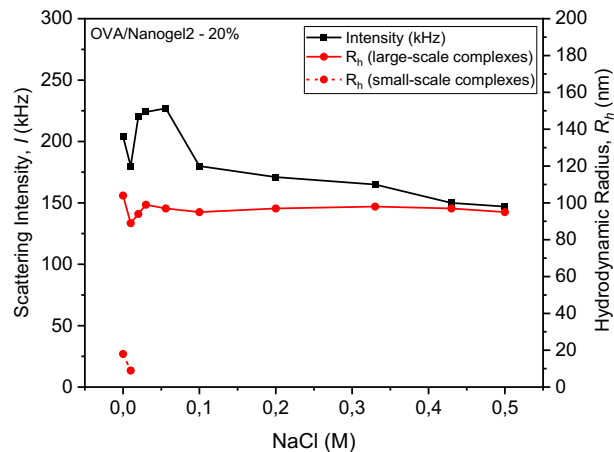
Σύμπλοκο OVA/Nanogel

## 6. Αποτελέσματα – Ιδιότητες Συμπλόκων

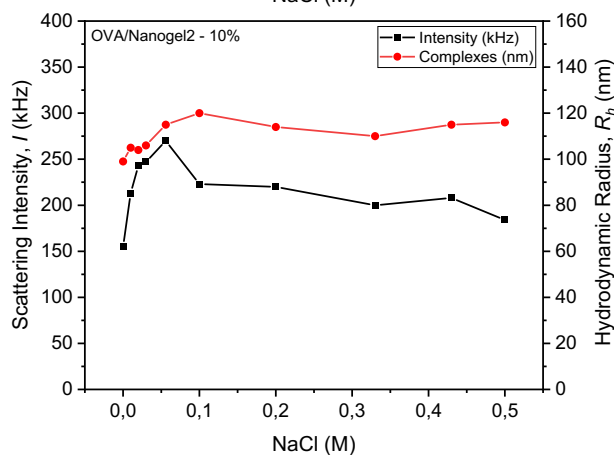
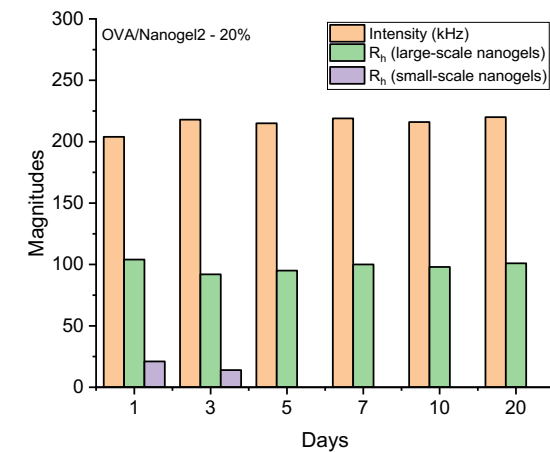


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

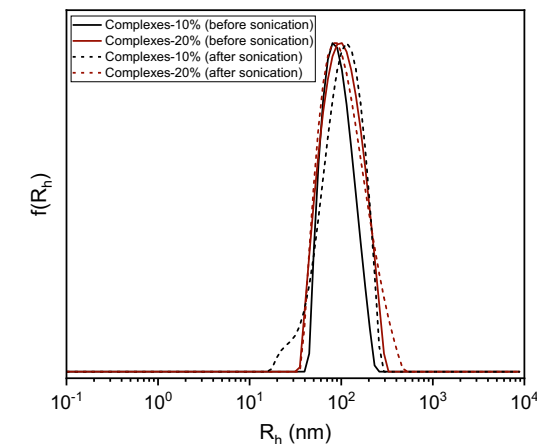
### Επίδραση Άλατος



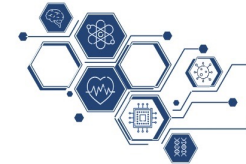
### Μελέτες Σταθερότητας



- Ενδείξεις απουσίας μεταβολής των μεγεθών των συμπλόκων παρουσία ισχυρής ιοντικής ισχύος ( $C_{NaCl} > 0.15$  M).
- Ενδείξεις σταθερότητας μετά την 3<sup>η</sup> ημέρα και υπό την επίδραση υπερήχων.

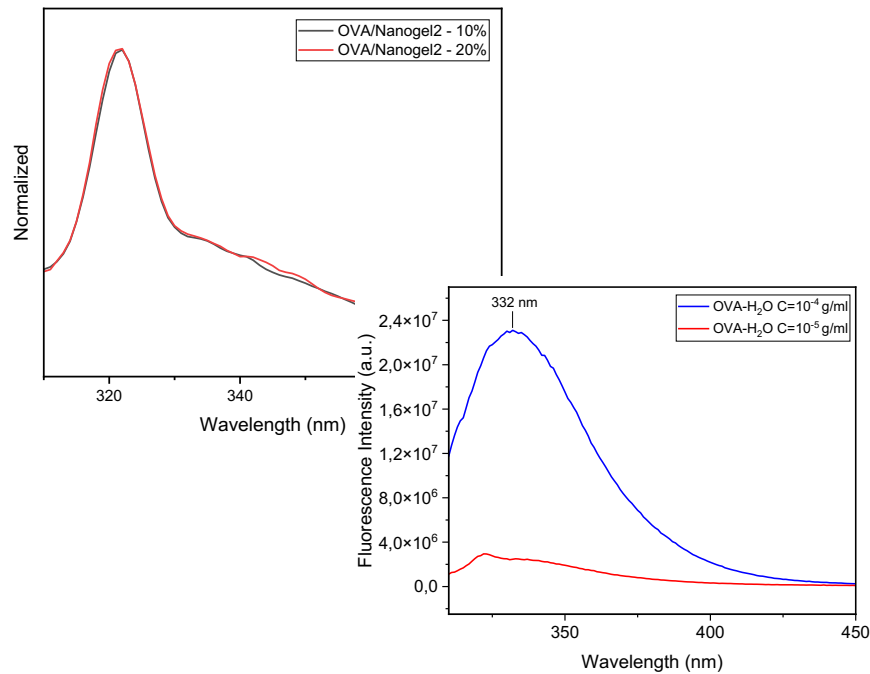


## 7. Αποτελέσματα – Δομή Πρωτεΐνης στα Σύμπλοκα

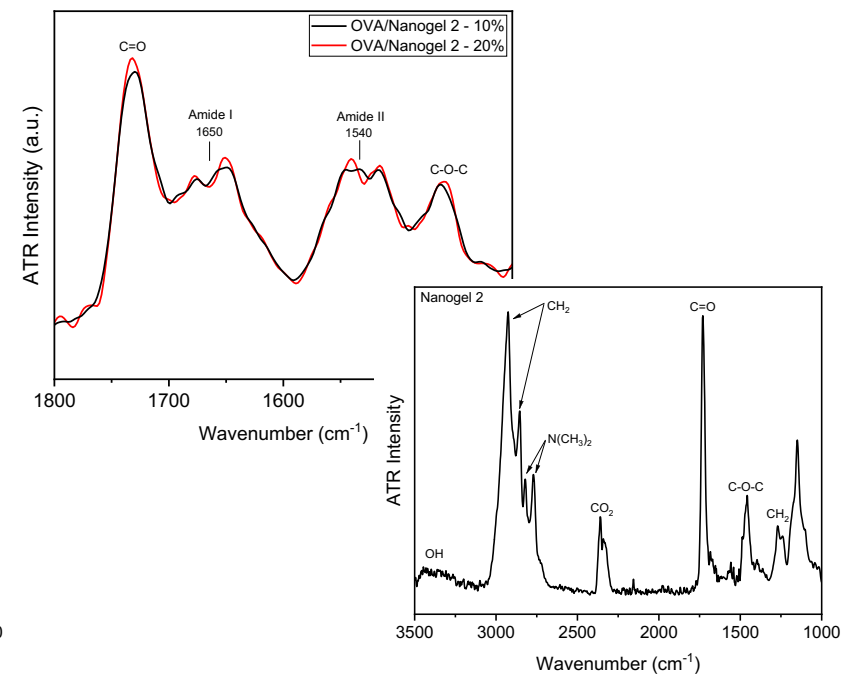


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

### Fluorescence Spectroscopy



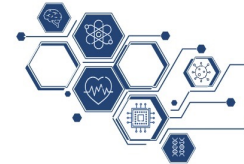
### ATR-FTIR Spectroscopy



- Παρατηρείται μειωμένη εκπομπή τρυπτοφάνης λόγω της πολύ χαμηλής συγκέντρωσης OVA στα διαλύματα (0.001 mg/ml and C=0.002 mg/ml).
- Παρατηρείται διατήρηση της δευτεροταγούς δομής της οβαλβουμίνης.



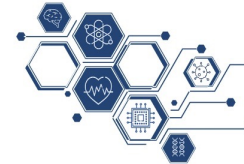
## 8. Συμπεράσματα



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- ❖ Πολυμερικές νανογέλες παρασκευάστηκαν μέσω ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του τυχαίου πολυμερούς P(DMAEMA-co-OEGMA) και του παράγοντα διασύνδεσης 1,12-διβρωμοδεκανίου σε διαφορετικές αναλογίες τροποποίησης διβρωμοαλκανίου/διμεθυλαμινο-ομάδων.
- ❖ Οι μελέτες που πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση δυναμικής σκεδάσεως φωτός (DLS) κατέδειξαν την ύπαρξη δύο πληθυσμών νανογελών στην περίπτωση του διαλύματος Nanogel 1 (που τεκμηριώνεται και από τον διφασικό διαχωρισμό μετά το πέρας των 24 ωρών από την σύνθεση) κι ενός για το διάλυμα Nanogel 2.
- ❖ Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των νανογελών (μάζα, μέγεθος, διαλυτότητα) εξαρτώνται τόσο από το ποσοστό τροποποίησης με τον παράγοντα διασύνδεσης όσο και από την μεταβολή εξωτερικών ερεθισμάτων όπως το pH, η θερμοκρασία και η ιοντικής ισχύς. Η ενισχυμένη κολλοειδής σταθερότητα σε συνάρτηση με τον χρόνο και υπό την επίδραση υπερήχων επέτρεψε την δημιουργία νανοσυμπλόκων με την πρωτεΐνη οβαλβουμίνη (OVA) μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων.
- ❖ Τα σύμπλοκα OVA/Nanogel 2 παρουσίασαν σταθερότητα σε αυξημένες συγκεντρώσεις άλατος αλλά και σε μελέτες που διενεργήθηκαν συναρτήσεως του χρόνου και υπό την επίδραση υπερήχων. Επίσης, η φασματοσκοπία υπέρυθρου επιβεβαίωσε ότι κατά τη σύμπλεξη δεν λαμβάνουν χώρα σημαντικές δομικές μεταβολές της OVA.
- ❖ Τέλος, από την παρούσα μελέτη προκύπτει ότι οι πολυμερικές πλατφόρμες που συντέθηκαν αποτελούν πολλά υποσχόμενες πλατφόρμες σύμπλεξης θεραπευτικών πρωτεϊνών για περαιτέρω βιοφαρμακευτικές μελέτες και εφαρμογές.

## 8. Ενδεικτικές Αναφορές



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- ❖ Vardaxi, A.; Pispas, S. Stimuli-Responsive Self-Assembly of Poly(2-(Dimethylamino)ethyl Methacrylate-co-(oligo ethylene glycol)methacrylate) Random Copolymers and Their Modified Derivatives. *Polymers* 2023, 15, 1519
- ❖ Zhou, X., Nie, J., Xu, J., & Du. Thermo-sensitive ionic microgels via post quaternization cross-linking: fabrication, property, and potential application. *Colloid and Polymer Science* 2015, 293, 2101-2111.
- ❖ Xue, H.; Zhao, Z.; Chen, R.; Brash, J.L.; Chen, H. Precise regulation of particle size of poly(N-isopropylacrylamide) microgels: Measuring chain dimensions with a “molecular ruler”. *Journal of Colloid and Interface Science* 2020, 566, 394-400
- ❖ Hao, Q.; Wang, J.; Shen, J.; Gu, R.; Rao, Y.; Feng, J.; Wang, H.; Brash, J.L.; Chen, H. Robust, anti-biofouling 2D nanogel films from poly(N-vinyl caprolactam-co-vinylimidazole) polymers. *Journal of Materials Chemistry B* 2022, 10, 3723-3733
- ❖ González-Toro, D. C., Ryu, J. H., Chacko, R. T., Zhuang, J., & Thayumanavan, S. (2012). Concurrent binding and delivery of proteins and lipophilic small molecules using polymeric nanogels. *Journal of the American Chemical Society*, 134(16), 6964-6967.

**Σας ευχαριστώ για την προσοχή σας!!**