

საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

გიორგი ჭუმბურიძე

არაორგანულ მარილებზე ადსორბირებული  
ბაქტერიოფაგური პრეპარატები და პოლიმერული  
კომპოზიტები მათ საფუძველზე

სადოქტორო პროგრამა - ქიმიური და ბიოლოგიური ინჟინერია

დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად  
წარდგენილი დისერტაციის

ავტორეფერატი

თბილისი

2018 წელი

სამუშაო შესრულებულია საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის ქიმიური ტექნოლოგიისა და მეტალურგიის ფაკულტეტის ქიმიური და ბიოლოგიური ტექნოლოგიების დეპარტამენტში

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: პროფ. რამაზ ქაცარავა,  
პროფ. როსტომ გაფრინდაშვილი

რეცენზენტები: -----  
-----

დაცვა შედგება ----- წლის "-----" -----, -----საათზე საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის -----  
-----ფაკულტეტის სადისერტაციო კოლეგიის სხდომაზე, კორპუსი -----, აუდიტორია -----  
მისამართი: 0175, თბილისი, კოსტავას 77.

დისერტაციის გაცნობა შეიძლება სტუ-ს ბიბლიოთეკაში,  
ხოლო ავტორეფერატისა – ფაკულტეტის ვებ-გვერდზე

სადისერტაციო საბჭოს სწავლული მდივანი-----

## თემის ზოგადიდახასიათება

თემისაქტუალობა: დღეისათვის წარმოებული ბაქტერიოფაგური პრეპარატების (როგორც თხიერი, ასევე მშრალი ფაგების) ძირითადი ნაკლია მათი არასაკმარისი სისუფთავე.

პათოგენური ბაქტერიების სახალი შტამები, რომლებიც მდგრადი აპრაქტიკულად ყველა ანტიმიკრობული აგენტის მიმართ, თანამედროვე მედიცინის ერთ-ერთი ყველაზე პრობლემატურისაკითხია. შიში იმისა, რომ კაცობრიობა უბრუნდება “პრეანტიბიოტიკურ ერას”, რეალურია და ინფექციის საწინააღმდეგო ალტერნატიული საშუალებების მოკვლევა და განვითარება თანამედროვე ფარმაციის და ბიოტექნოლოგიისათვის ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი გამოწვევაა.

ანტიბიოტიკების აღმოჩენამ დედამათფართო გავრცელებამ დეით ვლებოდა, რომ შესაძლებელია ინფექციური დაავადებების სპრევენცია და მკურნალობა ბაქტერიოფაგებით.

ბაქტერიოფაგები მიმზიდველი თერაპიული აგენტები აშემდეგ არემოებათაგამო:

1.

ისინი ხასიათდება მაღალი სპეციფიკურობით და ეფექტურობით სამიზნე პათოგენური ბაქტერიების მიმართ;

2.

მათმა ხანგრძლივმა კლინიკურმა გამოყენებამ ყოფილ საბჭოთა კავშირსა და აღმოსავლეთ ევროპის ქვეყნებში, ასევე კომერციულმა გაყიდვებმა აშშ-ში 1940-ან წლებში, დაადასტურა ბაქტერიოფაგების სრული უსაფრთხოობა;

3.

ახალი ბაქტერიული შტამების გაჩენის შემთხვევაში ფაგების წრაფად მოდიფიცირება დაიბრუნებს ბაქტერიციდულ აქტივობას.

ბაქტერიოფაგები ფართოდ არის ბუნებაში გავრცელებული;

ისინი დედამიწის ბუნებრივი ბინადარნი არიან.

ლიტერატურული მონაცემების მიხედვით, ბაქტერიოფაგები ინფექციების

(ეპიდემიების) ბუნებრივიმაკონტროლებელნიარია. ბაქტერიებისპოპულაციისგადაჭარბებულმატებასთანერთადიწყებამათიამოქმედებადაინფექციური აგენტებისშეზღუდვა.

ბაქტერიოფაგებისარსყველგან, სადაცმათისაკვებიბაქტერებია. ბაქტერიებისპოპულაციისკლებსადაგაქრობასთანერთადგარემოდანქრებამათიჰომოლოგიურიფაგებიც.

ბაქტერიოფაგებისპრეპარატების, როგორცსამკურნალოპროფილაქტიკურისაშუალებების, ისტორიასათავსიღებსგასულისაუკუნისდასაწყისიდან.

ბაქტერიებისბუნებრივიდაშემქნილირეზისტენტობის (მდგრადობის) გამოდღეისათვისმთელმსოფლიოშიბაქტერიოფაგებისპრეპარატებსგანხილავენროგორცანტიბიოტიკებისპარალელურსამკურნალოპრეპარატებს.

ბაქტერიოფაგებისპრეპარატებიგამორჩევამაღალითერაპიულიეფექტიტაშეუცვლელნიარიაწროგორცპროფილაქტიკურისაშუალებები. ესპრეპარატებიარატოქსიკურია, უვნებელია, მათიმიღებაარაიწვევსთანამდევმოვლენებს, უკუჩვენებაარაქვთდამათიმიღებაშესაძლებელიანებისმიერისაკისადარისკისჯგუფისადამიანებისათვის.

ბაქტერიოფაგებისპრეპარატებიმიღებისასმოქმედებსმხოლოდშესაბამისპათოგენურ (ადამიანისინფექციურიდაავადებებისგამომწვევ) ბაქტერიებზედაიწვევსმათაშლას (ლიზისს).

ინფექციებისგამომწვევიბაქტერიებისგანადგურებისშემდეგბაქტერიოფაგებიტოვებენორგანიზმს.

მეცნიერულიკვლევებითადალიტერატურულიმონაცემებითდადასტურებულიაბაქტერიოფაგებისუვნებლობა, როგორცადამიანისადაცხოველებისორგანიზმისათვის, ასევეგარემოსმიმართ.

ამგვარად, ზემოთაღნიშნულიდან გამომდინარე, ბაქტერიოფაგების შესწავლისა და წარმოების აქტუალ ბაროგორც წმინდა მეცნიერული, ასევე პრაქტიკული მიზნით, უდავოა.

**სამუშაოს მიზანი:**

1. ბაქტერიოფაგების ადსორბცია არაორგანულ მარილებზე
2. ბაქტერიოფაგების გაწმენდა უხსნარ და ძნელად ხსნად მარილებზე
3. ბიოდეგრადირებადი პოლიმერების საფუძველზე ფაგების შემცველი ბიოკომპოზიტების მომზადება უხსნარ მარილებზე ადსორბირებული ფაგების გამოყენებით
4. ელექტროსპინინგის მეთოდით ბაქტერიოფაგების შემცველი ნანო- და მიკრობოჭკოების მიღება
5. ბაქტერიოფაგებით დატვირთული პოლიმერების ელექტროსპინინგი

**მეცნიერული სიახლე.** წარმოდგენილი კვლევები ეძღვნება მაღალი სისუფთავის ბაქტერიოფაგების მიღების ახალი და ინოვაციური ტექნოლოგიის შემუშავებას, რომელიც ეფუძნება ჩვენს მიგნებას, რომ ბაქტერიოფაგები აქტიურად ადსორბირდება ორვალენტური მეტალების - კალციუმის (Ca) და მაგნიუმის (Mg), ასევე ფოსფატების წყალში უხსნარი (ან ძნელად ხსნადი) მარილების მიერ, რომლებიც გამოიყენება აბებისა და ბიოკომპოზიტების მისაღებად.

**ნაშრომის პრაქტიკული მნიშვნელობა:** ბიოდეგრადირებადი პოლიმერული მატრიცის საფუძველზე დამზადებული პოლიმერ/ბაქტერიოფაგის ბიოკომპოზიტები, რისთვისაც გამოვიყენეთ ინოვაციური ტექნოლოგია მიღებული, არასასურველი მინარევებისაგან გაწმენდილი მშრალი ბაქტერიოფაგური პრეპარატები,

რომლებიც შემავსებლების სახით შეიძლება კალციუმის და მაგნიუმის მარილებს.

შევისწავლეთ პოლიმერ/ბაქტერიოფაგური ბიოკომპოზიტების ბაქტერიციდული

ლიაქტივობაცდებში *in vitro*. შევისწავლეთ და დავადგინეთ, რომ ელექტრულ ველსა და ელექტროსპინინგის პროცესს უმნიშვნელო ზეგავლენა აქვს ბაქტერიოფაგების აქტივობაზე, რამაც მოგვცა საშუალება ელექტროსპინინგის საშუალებით მიგველო ბაქტერიოფაგებითა და ბიოკომპოზიტებით დატვირთული ნანობოჭკოები.

სადისერტაციო ნაშრომის ძირითადი ნაწილი - ექსპერიმენტი - შესრულებულია პირადად ავტორის მიერ. მიღებული ფაგური პრეპარატები გაგზავნილი იყო ბარსელონას უნივერსიტეტში, სადაც ჩატარდა ელექტროსპინინგი და ფაგების შემცველი ნანო- და მიკრობოჭკოების ელექტროდართვა და მათი თვისებების შესწავლა. ბიოკომპოზიტების მიღება ასევე, ავტორის მონაწილეობით ტარდებოდა ბაქტერიოფაგების აქტივობის განსაზღვრის ექსპერიმენტები სს "ბიოქიმიფარმში".

**სამუშაო აპრობაცია.** დისერტაციის ძირითადი შედეგები წარდგენილია:

- "Adsorbition of Bacteriophages on Ca/Mg Insoluble Salts end Some New Routes to Bactericidal Surgical Materials". Third International Caucasian Symposium on Polimers and Materials, Tbilisi, Georgia, 1-4 September, 2013
- "Complex formation study between bacteriophages and synthetic cationic polymer". 3rd International Conference "Nanotechnologies" October 20 – 24, 2014, Tbilisi, Georgia, Nano – 2014

**ნაშრომის სტრუქტურა.** ნაშრომი მოიცავს 112 ნაბეჭდ გვერდს, შესავალს, ლიტერატურის მიმოხილვას, შესრულებული სამუშაოს განსჯას, ექსპერიმენტულ ნაწილს, დასკვნას, ციტირებული ლიტერატურის ნუსხას 92 დასახელებით, 18 ნახაზს, 8 ცხრილს, 15 სურათს.

## ნაშრომის ძირითადი შინაარსი

### 1. ლიტერატურის მიმოხილვა

ნაშრომის ლიტერატურის მიმოხილვაში შეკრებილი და გაანალიზებულია ბაქტერიოფაგების აღმოჩენის ისტორია და კვლევის მეთოდები; ფაგების მნიშვნელობა და ადგილი თანამედროვე სამედიცინო პრაქტიკაში; საქართველოში და საზღვარგარეთ არსებული ბაქტერიოფაგური პრეპარატების აღწერილობები და მიღების მეთოდები. ფაგადსორბირებული ბიოკომპოზიტების მიღების ჩვენს კვლევამდე არსებული სამუშაოები, რომლებიც ეხება ბაქტერიოფაგების გასუფთავების პროცესებს სხვადასხვა მეთოდების გამოყენებით.

## 2. შედეგები და მათი განსჯა

### 2.1 . უხსნარმარილებზეადსორბირებულინედლი ფაგური პრეპარატების მიღება

შესწავლილია „ბიოქიმიკარმის“ მიერ წარმოებული „Staphylococcus aureus“ ბაქტერიოფაგისა და კომპლექსური პრეპარატების - „პიოფაგის“ და „ინტესტიფაგის“ ურთიერთქმედება კალციუმისა და მაგნიუმის კარბონატებისა და ფოსფატების წვრილდისპერსულ ფხვნილებთან. დადგენილია, რომ ოთახის ტემპერატურაზე 30 წთ დაყოვნებისას ბაქტერიოფაგები ადსორბირდება აღნიშნულ მარილებზე. მიღებული სუსპენზიების გაფილტვრისას ბალასტური ცილებისა და ნუკლეინის მჟავების ფრაგმენტების უდიდესი ნაწილი ( $\leq 97\%$ ) მიყვება ფილტრატს, რაც დადგენილია UV სპექტროფოტომეტრით. ფილტრატში ბაქტერიოფაგების ტიტრის შესწავლამ გვიჩვენა, რომ ბაქტერიოფაგების თითქმის 100% ადსორბირებულია მყარ მარილებზე. ადსორბირებული ფაგები ინარჩუნებენ მაღალ აქტივობას, რაც დადგენილია მიღებული ფაგადსორბირებული მყარი ნალექების ბაქტერიციდული აქტივობის განსაზღვრით ბაქტერიალურ გაზონზე (ლიზისის ზონა: +4), ასევე ბაქტერიოფაგების დესორბციითა და შემდგომი გატიტვრით.

კვლევის პროცესში დადგინდა, რომ საუკეთესო ადსორბენტს წარმოადგენს კალციუმის კარბონატი, რომლის თანაობისას გამოყენებული

თხიერი ფაგების არის  $\text{pH}=7,4$  არ იცვლება (მერყეობს 7,14-7,39 ფარგლებში), რაც მნიშვნელოვანია ადსორბირებულ/დესორბირებული ფაგების სიცოცხლისუნარიანობის თვალსაზრისით. ადსორბენტად მაგნიუმის კარბონატის გამოყენებისას შეიმჩნეოდა თხიერი ბაქტერიოფაგების არის  $\text{pH}$ -ის საგრძნობი ზრდა 9-10 მდე, რაც გარკვეულ უარყოფით გავლენას ახდენდა ფაგების სიცოცხლისუნარიანობაზე. გამოვიყენეთ კალციუმ კარბონატის/მაგნიუმ კარბონატის 50:50 ნარევი, მაგრამ  $\text{pH}$ -ის ზრდა ამ შემთხვევაშიც მნიშვნელოვანი იყო.

მაგნიუმკარბონატის წილი შევამცირეთ 10%-მდე (90:10 ნარევი), მაგრამ ამ შემთხვევაშიც  $\text{pH}$  იზრდებოდა 8.0-8,3-მდე. ამიტომ გადავწყვიტეთ შეგვემუშავებინა შემდეგი ტექნოლოგიური რეგლამენტი: ბაქტერიოფაგების ადსორბციისათვის გამოგვეყენებინა სუფთა კალციუმკარბონატი და ფაგების ადსორბციის შემდეგ გავვეშრო ერთ-ერთი მეთოდით და მაგნიუმკარბონატი დაგვემატებინა უკვე მიღებულ იმშრალი პრეპარატისათვის 5%-ის ოდენობით. ასეთი მიდგომა საშუალებას გვაძლევს თავიდან ავიცილოთ თხიერი ბაქტერიოფაგების არის შეტუტიანება. მაგნიუმკარბონატი ნარევი შეგვყავს მიღებული ფაგური პრეპარატის სამკურნალო (ჭრილობის შემახორცებელი) პოტენციალის გაზრდის მიზნით: ცნობილია, რომ ჭრილობის რეგენერაციის დაჩქარების მიზნით, სასურველია როგორც კალციუმის, ასევე მაგნიუმის იონების არსებობა. ეს მიდგომა თავდაპირველადვე იყო ჩადებული მოცემულ ნაშრომში. აღსანიშნავია აგრეთვე ის გარემოებაც, რომ კარბონატებს გააჩნიათ ბუფერული თვისებები, რაც მნიშვნელოვანია ჭრილობის  $\text{pH}$ -ის რეგულირების თვალსაზრისით.

## 2.2. ადსორბენტების მომზადება

კალციუმკარბონატს (30 გ) ვათავსებთ სტერილურ ფაიფურის როდინში და გულმოდგინეთ ვურევთ 30 წთ-ის განმავლობაში ერთგვაროვანი მასის წარმოქმნამდე. შემდგომი სტერილიზაციის მიზნით



ფხვნილი გადაგვაქვს სტერილურ მინის ფილტრზე და ვრეცხავთ ქლოროფორმით, ფილტრზევე ვაშრობთ ქლოროფორმისგან, გადაგვაქვს სტერილურ მინის ქილაში და ვხუფავთ ჰერმეტიულად.

### 2.3. ფაგების ადსორბცია მყარ ადსორბენტებზე

3-3 კალციუმკარბონატისვათავსებთსტერილურმინისკოლბაში, რომელიცაღჭურვილიასარეველითდავამატებთ 30 მლთხიერისტაფილოფაგისხსნარს („ბიოქიმფარმის“ სერიულიპრეპარატიტიტრით $10^8$ - $10^9$ ) დაგულმოდგინეთვურევთ 20 წთ-ისგანმავლობაში. სარეველასვაჩერებთ, კოლბასვახურავთთავსდავათავსებთგრილ, მზისგანდაცულადგილას. ნარევსვაყოვნებთმშვიდმდგომარეობაში 30 წთ-სდავფილტრავთსტერილურმინისფილტრზე. ვზომავდითსუპერნატანტის pH-ს, რომელიცარიცვლებოდადარჩებოდასაწყისისერიულიფაგის pH-სდონეზე (7,3-7,4).

კალციუმკარბონატის (მშრალი) ფხვნილის გამოყენებისას ფილტრატი ჩამოვიდა 27 მლ ხსნარი (90%), ხოლო საწყისი სითხის 3 მლ (10%) დარჩა ადსორბენტზე (ადსორბირდა). მიღებულ ფილტრატი შევავსეთ 30 მლ-მდე ფიზიოლოგიური ხსნარის დამატებით. ხსნარის UV სპექტროფოტომეტრულმა ანალიზმა აჩვენა, რომ (ნახ. 1), ფილტრატი გასული მინარევები არ წარმოადგენს 100% ცილას, ვინაიდან ასეთ შემთხვევაში ოპტიკურ სიმკვრივეთა თანაფარობა  $D_{260}/D_{280}$  უნდა იყოს 0.57-ს ტოლი. სუფთა ნუკლეინის მჟავების შემთხვევაში თანაფარდობა  $D_{260}/D_{280}$  ტოლია 2-ის. აქვე შევნიშნავთ, რომ ნუკლეინის მჟავების შთანთქმის კოეფიციენტები 260 ნმ და 280 ნმ ტალღის სიგრძეებზე, გაცილებით მაღალია, ვიდრე ცილის. ყოველივე ზემოთქმულის გათვალისწინებით, ფილტრატები ჩვენს შემთხვევაში გამდიდრებულია ცილით - თანაფარდობა  $D_{260}/D_{280}$  უფრო ახლია 1-თან, თუმცა არ გამორიცხავს მცირე რაოდენობით ნუკლეინის მჟავების მინარევების

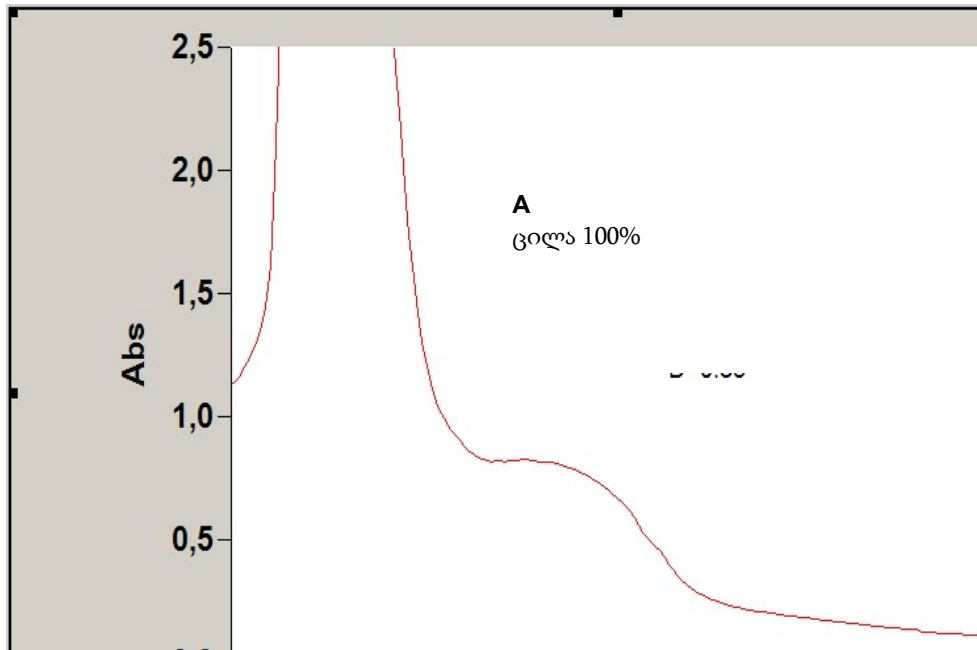
არსებობას (რომელთაც აქვთ მაღალი შთანთქმის კოეფიციენტი, რაც ზრდის შთანთქმას 260 ნმ-ზე). ქვემოთ მინარევს ვახსენებთ როგორც „ბალასტურ ცილას“.

UV-სპექტროფოტომეტრულმა ანალიზმა (ნახ. 1, B) აჩვენა, რომ კალციუმკარბონატის სერიული ფაგებით პირველადი დამუშავებისას (მორევა 20 წთ, დაყოვნება 30 წთ, გაფილტვა - 1-ლი ფილტრატი), 1-ლ ფილტრატში ჩამოდის საწყისი ბალასტური ცილის 78,3%. ფილტრზე დარჩენილ ფაგადსორბირებულ ფხვნილს დავამატეთ 30 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარი და პროცედურა (მორევა 20 წთ, დაყოვნება 30 წთ, გაფილტვა - მე-2 ფილტრატი) გავიმეორეთ.

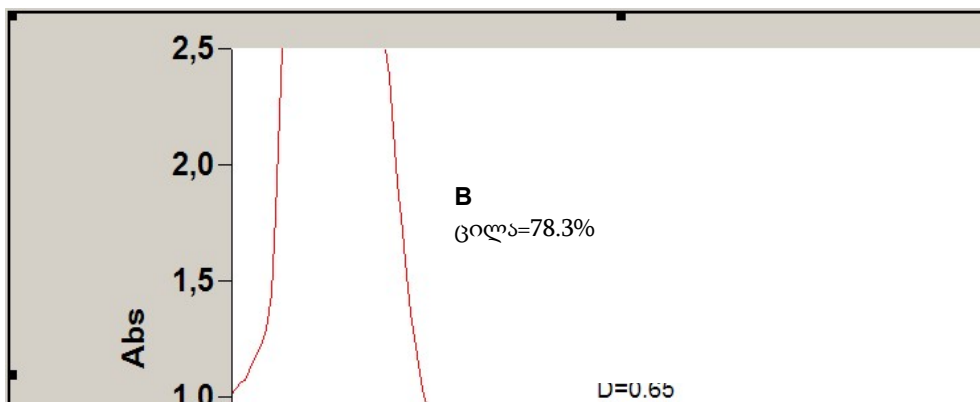
მე-2 ფილტრატში ჩამოვიდა 21,2 ცილა (ნახ. 1, C). ამ ორი ოპერაციის შემდეგ, ჯამურად ფილტრატში ჩამოვიდა 99,5% ცილა, ანუ (ექსპერიმენტის ცდომილების გათვალისწინებით) პრაქტიკულად 100% ცილა. სხვაგვარად, მყარ კალციუმკარბონატზე დარჩა ბალასტური მინარევებისაგან თავისუფალი, პრაქტიკულად სუფთა ფაგები. ამგვარად დამუშავებული ფაგადსორბირებული მყარი ნალექის გაშრობის შემდეგ (იხ. ქვემოთ), ვიღებთ მაღალი სისუფთავის მშრალ ფაგურ პრეპარატს, რომელც უშუალოდ შეიძლება გამოვიყენოთ თერაპიაში მრავალი დანიშნულებით.

შემდგომი ნაბიჯი იყო სტაფილოფაგების დესორბცია და მათი ტიტრის/აქტივობის შეფასება. 1-ლი ფილტრატის ჩამოშვების შემდეგ ფილტრზე დარჩენილი ნოტიო ფხვნილიდან (რომლის წონა წყლის ადსორბციის შემდეგ არის ~6 გ), ვიღებდით 2 გ-ს, ვამატებდით 10 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარს და ვდგავდით სანჯღრეველაზე 30 წთ-ის განმავლობაში და სუსპენზიას, დაყოვნების გარეშე, რათა შეგვემცირებინა ფაგების რეადსორბცია, სწრაფად ვფილტრავდით. მიღებულ ფილტრატში ფაგების ტიტრი აღმოჩნდა  $1.10^8$ , ანუ იგივე რიგის, რაც ფაგების საწყისი ტიტრია, რაც მეტყველებს იმაზე, რომ ფაგების თითქმის 100% ადსორბირდა მყარ კალციუმკარბონატზე. 1-ლ ფილტრატში ფაგების ტიტრი - უმეტესწილად  $10^6$ , კარგად ეთანადება ფაგების 100%-იან

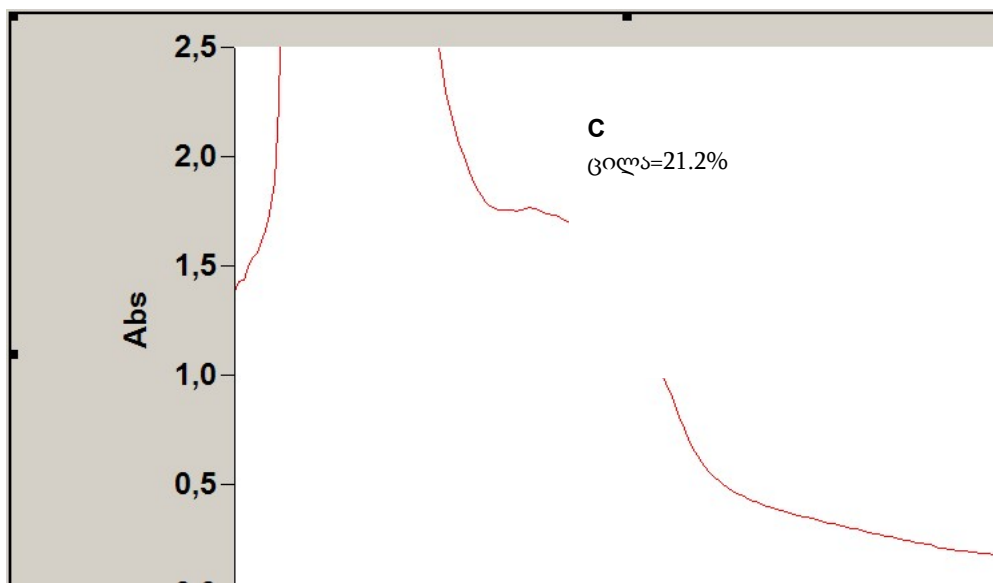
ადსორბციას.მე-2 ფილტრატის (ფიზიოლოგიური ხსნარით დამუშავება) შემდეგ დარჩენილ ნოტიო ფხვნილიდან ანალოგიური მეთოდით დესორბირებული (ბალასტური ცილებისგან პრაქტიკულად 100%-ით თავისუფალი) ფაგების ტიტრი შეადგენდა  $10^6$ -ს; მე-2 დესორბციის შედეგად მიღებული ფაგების დაბალი ტიტრი უნდა მივაწეროთ ან დესორბციის დაბალ ხარისხს, ან ამ მანიპულაციების შედეგად ფაგების დიდი ნაწილის ინაქტივაციას. შევნიშნავთ, რომ ყველა ფილტრატის (მათ შორის ტიტრით  $10^6$ ) აქტივობა აგარის გაზონზე ფასდებოდა როგორც +4, რაც რიგ შემთხვევებში ფაგების ტიტრის დაბალი რიცხობრივი მახასიათებლის ( $10^6$ ) მიუხედავად, მაღალი აქტივობაა.



ნახაზი 1. A - UV სპექტრი



ნახაზი 1. B - UV სპექტრი



ნახაზი 1. C -UVსპექტრი

ასევე მაღალი იყო დესორბირებული ფაგების აქტივობა, შეფასებული კრეიჯის მეთოდით (სურათი 1).



სურათი 1. თხიერ *Staphylococcus aureus* ფაგის არსებობის გამოვლენა (მაყაშვილ-ჭანიშვილის მოდიფიკაციით). ირიბ აგარზე გაზრდილ ბაქტერიულ კულტურას 37°C-ზე 18-24 სთ-ის ინკუბაციის შემდეგ ჩამორეცხავენ 4,5 მლ სტერილური ბულიონით (თევზის ექსტრაქტი, მარტენი, ხოტინგერი და სხვ.) ან ფიზიოლოგიური ხსნარით; სუსპენზიას აზავენ 10-ჯერ. ამ განზავებიდან იღებენ ერთ წვეთს ბაქტერიოლოგიური მარყუჭით და თესავენ შტრიხებად პეტრის ფინჯანზე 1.8% აგარით (თევზის ექსტრაქტი, მარტენი, ხოტინგერი და სხვა). ერთ პეტრის ფინჯანზე შეიძლება რამოდენიმე შტრიხის გაკეთება. შტრიხს აწვეთებენ 0.05 მლ გამოსაკვლევ ხსნარს. ხსნარის გაშრობის შემდეგ პეტრის ფინჯანს დგამენ თერმოსტატში 30-37°C-ზე 12-24 საათით. გამოსაკვლევ ხსნარში ფაგის არსებობა ვლინდება შტრიხზე არსებული ლიზისის უბნით

გრაცის ორშრიანი აგარის მეთოდი - პრეპარატს ანზავენ 10-1-დან 10-8-მდე PFU-მდე სტერილური ბულიონით (თევზის ექსტრაქტი, მარტენი, ხოტინგერი და სხვ.) ან ფიზიოლოგიური ხსნარით (განზავებიდან განზავებამდე სტერილურ პიპეტს აუცილებლად ცვლიან). 10-4, 10-5, 10-6, 10-7 განზავებებიდან სტერილურ სინჯარაში გადააქვთ თითო მილილიტრი, რომელსაც ამატებენ ტესტ-კულტურის 0.1 მლ-ს (5×10<sup>8</sup> მკრ/მლ) და 2.5 მლ 0.7%-იან 45°C-იან ნახევრად თხიერ აგარს. აღნიშნულ

ნარევს ანჯღრევენ და გადააქვთ 1.8%-იან აგარიან პეტრის ფინჯნებზე თანაბარი განაწილების პირობებში. 30 წთ-ის შემდეგ პეტრის ფინჯნებს ათავსებენ თერმოსტატში 30-37°C-ზე 12-24 სთ-ით. პრეპარატის ტიტრი (ფაგის შემცველობა პრეპარატის ერთ მლ\_ში) განისაზღვრება ფაგის ნეგატიური კოლონიების დათვლით პეტრის ფინჯანზე, რის შემდეგაც იყენებენ ფორმულას  $N=Y \times X$  სადაც N არის ფაგის ტიტრი, Y – ფაგის ნეგატიური კოლონიების რიცხვი, X – ფაგის განზავება ფინჯანზე, რომელ განზავებაშიც მოხდა ნეგატიური კოლონიების დათვლა.

ფაგადსორბირებული ნოტიო ფხვნილი, მიღებული ფიზიოლოგიური ხსნარით დამუშავებისა და მე-2 ფილტრატის ჩამოშვების შემდეგ, ამჟღავნებდა საკმაოდ მაღალ აქტივობას ბაქტერიულ გაზონზე მოთავსებისას (სურათი2).



სურათი 2. ფაგადსორბირებული კალციუმკარბონატი გაზონზე

დესორბირებული ფაგების აქტივობა და რაოდენობრივი ანალიზის შედეგები (ცხრილი 1.)

ცხრილი 1. დესორბციის შემდეგ ფაგების აქტივობის შედარება

სტაფილო ფაგის რაოდენობა 1მლ - ტიტრი	საკვლევი ხსნარები					საკვლევი ნალექები			
	1 30 წთ	2 30 წთ	1 <sup>1</sup> 22 სთ	2 <sup>1</sup> 22 სთ	3 კონტროლი	1 30 წთ	2 30 წთ	1 <sup>1</sup> 22 სთ	2 <sup>1</sup> 22 სთ
	რაოდენობრივი ანალიზი								
9*10 <sup>9</sup> 2*10 <sup>8</sup>	3*10 <sup>7</sup>	4*10 <sup>6</sup>	1*10 <sup>5</sup>	2*10 <sup>6</sup>	2*10 <sup>8</sup>	1*10 <sup>8</sup>	1*10 <sup>5</sup>	0,9*10 <sup>8</sup>	2*10 <sup>6</sup>
pH									
7,414	7,385	7,311	7,306	7,144	7,465	7,592	7,485	7,365	7,487
Lysis (ლიზისის ზონა)									
	+4(CL)	+4(CL)	+4(CL)	+4(CL)	+4(CL)	+4(CL)	+4(CL)	+4(CL)	+4(CL)

#### 2.4. ბიოდეგრადირებადი პოლიმერები და ელექტროსპინინგი

მიღებულია სხვადასხვა სტრუქტურის, მთავარ ჯაჭვში უჯერი ორმაგი ბმების შემცველი, ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერამიდები: ჰომოპოლიესტერამიდები(UPEA) ფუმარის მჟავას ნაშთების 100% შემცველობით, უჯერ/ნაჯერი პოლიესტერამიდები(USPEA) ფუმარის მჟავას ნაშთების < 100% შემცველობით და L-ლეიცინისა და L-ფენილალანინის უჯერი თანაპოლიესტერამიდები(co-UPEA) ფუმარის მჟავას ნაშთების 100% შემცველობით. შესწავლილია მათი თერმული თვისებები გამოყენების სფეროს განსაზღვრის მიზნით და ნაჩვენებია უჯერი პოლიესტერამიდების გაკერვის შესაძლებლობა UV -დასხივებით.

სხვადასხვა კლასის ბიოსამედიცინო პოლიმერებს შორის ერთ-ერთი მოწინავე პოზიცია უკავიათ AABB სტრუქტურის პოლიესტერამიდებს ბუნებრივი ამინომჟავების საფუძველზე, რომელთაც ახასიათებთ თვისებათა საინტერესო კომპლექსი: ბიოდეგრადაციისა და ქსოვილებთან მაღალი ბიოშეთავსების უნარი, ჰიდროფილურობა, კარგისამასალე

თვისებებიდა სხვ. კიდევ უფრო მრავალფეროვანი და წინასწარ დასახული თვისებების მქონე პოლიესტერამიდების მიღება შესაძლებელია მათი ფუნქციონალიზაციით, პოლიმერებში ქიმიურად აქტიური ჯგუფების, გრძელი ჰიდროფობური ჯაჭვების და სხვ. ჩართვით. პოლიმერების ფუნქციონალიზაციის ერთ-ერთი პერსპექტიული გზაა უჯერი ბმების შემცველი მაკრომოლეკულების სინთეზი, რომლებიც უჯერ ბმებს შეიცავენ როგორც ძირითად, ასევე გვერდით ჯაჭვებში. უჯერ ბმებთან შესაძლოა განხორციელდეს სასურველი ფუნქციური ჯგუფების მიერთება, მრავალრიცხოვანი დამყნობის რეაქციები, თანაპოლიმერიზაცია, სხვა უჯერ პოლიმერებთან ჰიბრიდიზაცია, მაგ., უჯერ პოლისაქარიდებთან (აკრილოდექსტრანი და სხვ.), მრავალფუნქციური ბიოდეგრადირებადი ჰიდროგელების სინთეზი. ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერამიდების მაკრომოლეკულაში უჯერი ბმების შეყვანით შესაძლებელია სამგანზომილებიანი ბიოდეგრადირებადი სისტემების მიღება და ა.შ.

ყოველივე აღნიშნულის გათვალისწინებით, ჩვენ მიზნად დავისახეთ უჯერი ბმების ჩართვა AABB ტიპის პოლიესტერამიდებში მათი ფუნქციონალიზაციისა და შესაბამისად გამოყენების სფეროს გაფართოების მიზნით. უჯერი ბმების ჩართვა პოლიმერების მთავარ ჯაჭვში განვხორციელეთ **ფუმარის მჟავას** - უჯერი დიკარბომჟავას გამოყენებით, რომელიც წარმოადგენდა სამუშაოს საკვანძო მონომერს. უნდა აღინიშნოს, რომ პოლიმერულ ინდუსტრიაში ფუმარის მჟავას მნიშვნელოვანი ადგილის გამო და უკანასკნელ პერიოდში ნავთობის ფასის ზრდის გათვალისწინებით, ამჟამად შემუშავებულია ფუმარის მჟავას ფერმენტული (*Rhizopus species*) სინთეზის მეთოდი გლუკოზიდან. ამ მეთოდით მიღებული ფუმარის მჟავა სამჯერ უფრო იაფია ნავთობიდან მიღებულთან შედარებით. საყურადღებოა აგრეთვე ის გარემოება, რომ ფერმენტაციის პროცესი მიმდინარეობს ნახშიროჟანგის ფიქსაციით.

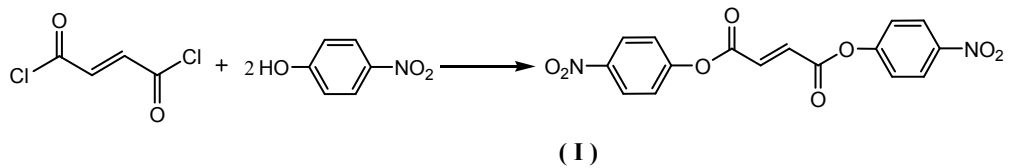
უჯერი ბმების შემცველი ბადეების შეკერვის რეაქციების განხორციელების შემდეგ პრაქტიკაში ყველაზე დიდი გამოყენება ჰპოვეს



უჯერმა პოლიესტერებმა (პოლიესტერულმა ფისებმა), რომელთა წარმოებამაც ბოლო ხანს მნიშვნელოვან მასშტაბებს მიაღწია. ბიომედიცინა უჯერი ბმების შემცველი სხვადასხვა კლასის პოლიმერების გამოყენების ერთ-ერთი საინტერესო სფეროა. ალიფატური, უჯერი, ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერები გამოცდილ იქნა ძვლოვანი ქსოვილის აღდგენით ქირურგიაში - გამყარებადი შემკვრელების სახით ძვლის პროთეზების მისაღებად. პოლიმერული შემკვრელების სტრუქტურას ისე არჩევენ, რომ პოლიმერის დეგრადაციის/ძვლის ზრდის ურთიერთსაწინააღმდეგო პროცესი დაზიანებული ქსოვილის სრულ აღდგენამდე გაგრძელდეს. უჯერი ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერებისა და პოლიანჰიდრიდების გამოყენება შესაძლებელია წამლების მიმწოდებელი ეფექტური სისტემების კონსტრუირებისათვის.

განხორციელებული კვლევის შედეგად ჩვენ მივიღეთ ძირითად ჯაჭვში სხვადასხვა რაოდენობით უჯერი ბმების შემცველი ფუნქციური, ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერამიდები ბუნებრივი ამინომჟავების საფუძველზე. შევისწავლეთ მათი თერმული და მექანიკური თვისებები, რაც იძლევა მათი გამოყენების სფეროს განსაზღვრის შესაძლებლობას.

ძირითად ჯაჭვში უჯერი ბმების შემცველი ფუნქციური პოლიმერების მისაღებად ჩვენ დავასინთეზეთ დი-პ-ნიტროფენილფუმარატი - ბის-ელექტროფილური მონომერი -ფუმარის მჟავას უჯერი გააქტიურებული დიესტერი (I) (სქემა 1) ორი მეთოდით: აქცეპტორულ-კატალიზური მეთოდით ხსნარში და ფაზათაშორისი მეთოდით.

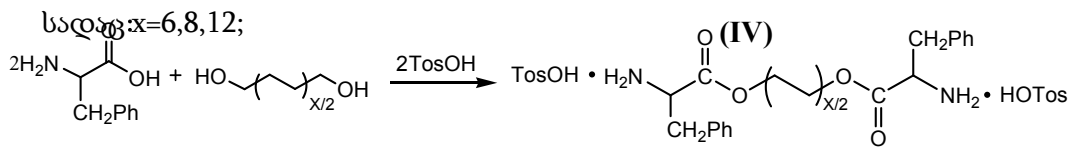
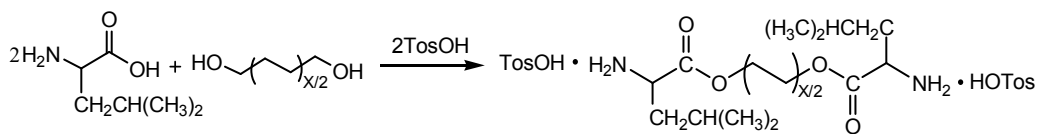
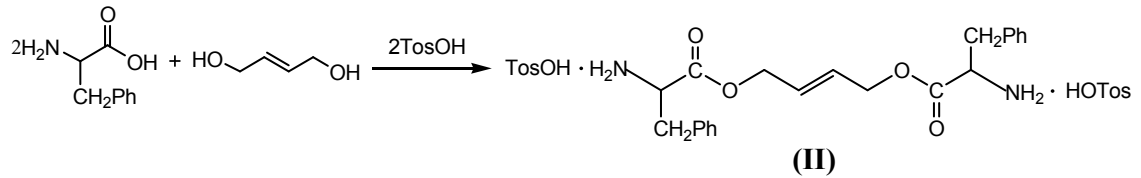


სქემა 1.

ფუმარის მჟავას დი-პ-ნიტროფენილის ესტერის სინთეზი ფაზათაშორისი მეთოდითმდელი სისუფთავის მონომერის სინთეზის საშუალებას იძლევა მინიმალური დანაკარგით. მიღებული პროდუქტის გასასუფთავებლად საპოლიკონდენსაციო სისუფთავებდე საკმარისი აღმოჩნდა მისი ერთჯერადი გადაკრისტალება. ბის-ელექტროფილურ მონომერებად გამოვიყენეთ აგრეთვე ნაჯერი მჟავების(მაგ. სებაცინის მჟავას) დი-პ-ნიტროფენილის ესტერები. ფუმარის მჟავას დი-პ-ნიტროფენილის ესტერის სინთეზი დაწვრილებით აღწერილია ჩვენს ადრინდელ სამუშაოში. იქვე მოყვანილია ამ ნაერთის მახასიათებლები.

ბის(α-ამინომჟავა)α,ω-ალკილენდიესტერების დი-პ-ტოლუოლ-სულფომჟავების მარილების სინთეზი ჩავატარეთ თავისუფალი α-ამინომჟავების პირდაპირი კონდენსაციით α,ω-დიოლბთან პ-ტოლუოლსულფომჟავას მონოჰიდრატის თანაობისას (სქემა 2).

სქემა 2.



სადაც:  $x = 6, 8$ ;

(III)

მარილები მივიღეთ მაღალი გამოსავლებით (75-99%). მიღებული ნაერთების სავარაუდო სტრუქტურები დადგენილ იქნა FTIR და <sup>1</sup>H NMR სპექტრული და ელემენტური ანალიზებით.

მიზნობრივი პოლიმერების სინთეზისათვის გამოვიყენეთ ე.წ. გააქტიურებული პოლიკონდენსაციის მეთოდი. ამ მეთოდით პოლიკონდენსაციის რეაქცია ხორციელდება რბილ პირობებში, რაც აუცილებელია ორმაგი ბმების ადრეული პოლიმერიზაციის თავიდან ასაცილებლად.

მიღებული პოლიმერების პოლიკონდენსაციით მივიღეთ სხვადასხვა სტრუქტურის უჯერი პოლიესტერამიდები (სქემა 3):

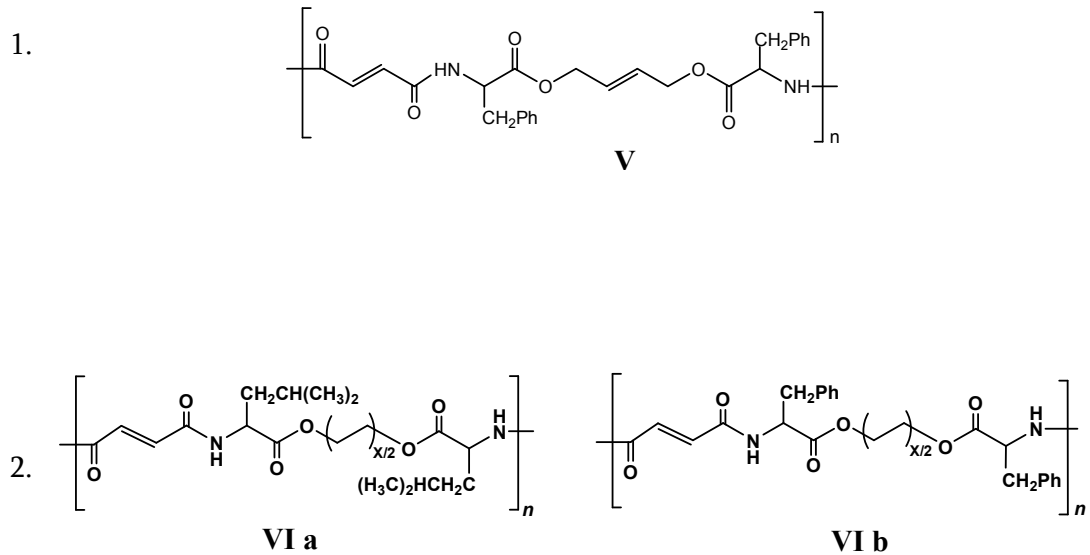
1. უჯერი ჰომოპოლიესტერამიდი L-ფენილალანინისა და უჯერი დიოლის საფუძველზე ფუმარის მჟავას ნაშთების 100% შემცველობით (UPEA) (V), (I) და (II) ნაერთების პოლიკონდენსაციით;

2. უჯერი ჰომოპოლიესტერამიდები ფუმარის მჟავას ნაშთების 100% შემცველობით (UPEA) (VI a,b) L-ფენილალანინის (III) ან L-ლეიცინის (IV) საფუძველზე მიღებული ესტერების პოლიკონდენსაციით (I)-თან;

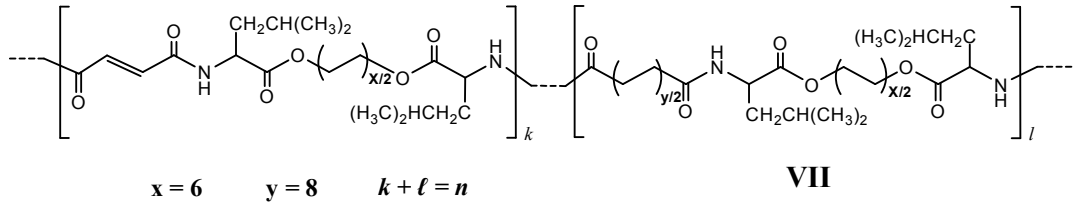
3. უჯერ/ნაჯერი პოლიესტერამიდები L-ლეიცინის საფუძველზე ფუმარის მჟავას ნაშთების <100% შემცველობით (USPEA) (IV) ნაერთის პოლიკონდენსაციით (I)-თან და სეზაცინის მჟავას დი-პ-ნიტროფენილის ესტერთან;

4. უჯერთანაპოლიესტერამიდები L-ლეიცინისა და L-ფენილალანინის საფუძველზე ფუმარის მჟავას ნაშთების 100% შემცველობით (co-UPEA) (III) და (IV) ნაერთების პოლიკონდენსაციით (I)-თან;

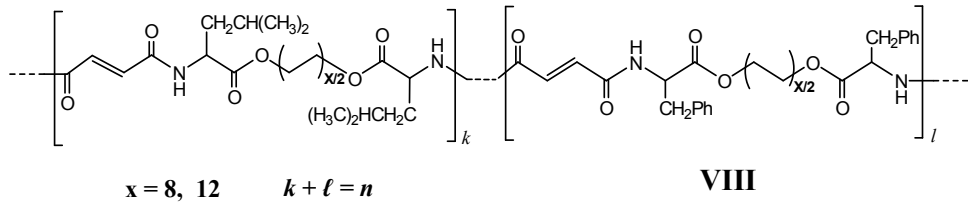
სქემა 3.



3.



4.



უნდა აღნიშნოს,

რომ ბიოსამედიცინოდანიშნულების პოლიმერებისთვის გარდა ზემოთ ჩამოთვლილი თვისებებისა მნიშვნელოვანია თერმული დამექანიკური თვისებების შესწავლა, რადგან ისინი მნიშვნელოვან გავლენას ახდენენ როგორც პოლიმერების სხვა თვისებებზე, ასევე განსაზღვრვენ მათი გამოყენების სფეროს. მაგალითად, კრისტალური პოლიმერების ბიოდეგრადაციული თვისებები და ბალისტიკური მიმდინარეობს, ვიდრე ამორფულებისა. პოლიმერები მაღალი გამინების ტემპერატურით პერსპექტიული ნაერთებია ან წოვადიქირურგიული და კონსტრუქციული მასალების სახით, და ბალიგამინების ტემპერატურით კი – ხელოვნური კანის, სტენტის საფარის სახით, წამლების კონტროლირებადი გამოყოფის სისტემების მისაღებად, პოლიმერ ბიკარგიმექანიკურ მახასიათებლებით პერსპექტიულებია ზოგადი დიქირურგიული მასალებად, ძვლის აღდგენითი ქირურგიაში, სისხლძარღვთა სტენტების დასამზადებლად და სხვ.

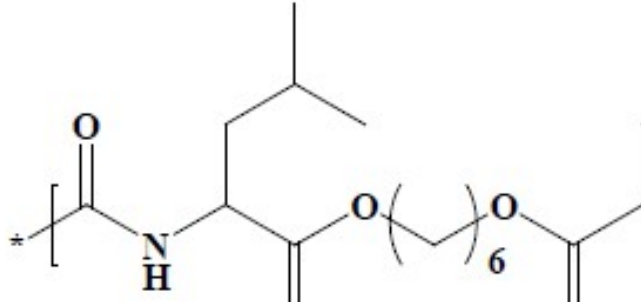
ელექტროდართული ბოჭკოები გროვდებოდა ნემსის წვერიდან (შიდა დიამეტრი 0,84 მმ) სხვადასხვა დაშორებით (10-25 სმ) განთავსებულ სამიზნე ადგილზე. ვოლტაჟი მერყეობდა 10-დან 30 კვ-მდე და სამიზნეზე (ძაბვის) გადაცემა ხდებოდა მაღალი ძაბვის გადამცემით (GammaHighVoltageResearch, ES30-5W). მასის-დინების სიხშირის კონტროლის მიზნით (0,5 მლ-დან - 5მლ-მდე სთ<sup>-1</sup>) პოლიმერული ხსნარების მიწოდება ხდებოდა საინფუზიო დეგუშიანი შპრიცით KDS100(KDScientific,USA). ელექტროსპინინგის ყველა ექსპერიმენტი მიმდინარეობდა ოთახის ტემპერატურაზე. ელექტროდართული ბოჭკოების ბადეები მზადდებოდა ოპტიმიზირებული პარამეტრების (ე.ი. ნემსის წვერის - კოლექტორის - მანძილი, ძაბვა და დინების სიჩქარე) და გამხსნელების პირობებში (ი.ე. გამხსნელის და პოლიმერის კონცენტრაციის თანაფარდობა).

PEG-ების ელექტროსპინინგი ტარდებოდა ფაგესტაფის სერიული ხსნარის (F), გამოყენებით ფაგესტაფის წყალთან 1:1 განზავებული ხსნარის (WF) და წყლის (W) გამოყენებით.

PEG-ების ელექტროსპინინგი ჩატარდა ქლოროფორმ:ეთანოლის ხსნარში (10:1 v/v). ფაგების ჩართვა განხორციელდა მოწოდებული ფაგესტაფის ან ფერის პრეპარატების ლიოფილიზატების დამატებით. ალტერნატიულად, ელექტროსპინინგის ხსნარში დავამატეთ კალციუმის კარბონატის ფხვინი, რომლის ზედაპირზეც ფაგები იყო ადსორბირებული. ამ შემთხვევაში, შესაძლებელი გახდა საწყისი ხსნარის ორგანული ნარჩენებისა და მარილების თავიდან აცილება.

## 2.5. ბაქტერიოფაგებით დატვირთული PEU 1L6 - სელექტროსპინინგი

ჩვენს მიერ წარმატებით განხორციელდა უპირატესად 1L6 ბლოკებით შემდგარი 1L6 ჰომო- და თანაპოლიმერის ელექტროსპინინგი ქლოროფორმ-ეთანოლის ხსნარის (10:1 v/v) და 10%-დან 16%-მდე w/v კონცენტრაციის პოლიმერის გამოყენებით.



ნახაზი2. PEU 1L6 - ბიოდეგრადირებადი პოლიმერი

მიუხედავად იმისა, რომ ეთანოლმა შესაძლოა იმოქმედოს ბაქტერიოფაგების აქტივობაზე, გამოყენებულმა დაბალმა თანაფარდობამ შეიძლება შეინარჩუნოს მათი აქტივობა, როგორც შემდეგ არის ნაჩვენები.

პროცესისთვის ოპტიმალურ პარამეტრებს წარმოადგენს: ძაბვა - 20-25 კვ, დინების სიჩქარე - 1.5-3.5 მლ/სთ, წვერი-კოლექტორის შორის მანძილი - 24.6 სმ. აღნიშნულ პირობებში მიღებული იყო ერთგვაროვანი და უწყვეტი ბოჭკოები საშუალო დიამეტრით 2.6-2.70 მკმ. ამიტომ, იგივე ხსნარი და პოლიმერის კონცენტრაცია იყო გამოყენებული ბაქტერიოფაგებით დატვირთული PEU 1L6 ბადის მოსამზადებლად. წინა ექსპერიმენტებმა, რომელიც განხორციელდა ბაქტერიციდული ნივთიერებებისა და ენზიმების შემცველი ხსნარების გამოყენებით, გამოავლინა მათი ძლიერი ზეგავლენა ბოჭკოების მორფოლოგიაზე ელექტროსპინინგის ოპტიმალური პარამეტრების პირობებშიც (დიამეტრი შემცირდა 1,29 მკმ-მდე და 0.46 მკმ, როდესაც ხსნარის შემცველობაში შესაბამისად იყო დატვირთული  $\alpha$ -ქიმოტრიფსინი და კატიონური პოლი(ჰექსამეთილენ)ბიგუანიდი. დამატებით, ფერმენტის (ენზიმის) გამოყენების შემთხვევაში საჭირო იყო დინების სიჩქარე ყოფილიყო 0.5 მლ/სთ.

ლიოფილიზირებულბაქტერიოფაგები შევურიეთ ქლოროფორმ-ეთანოლის ხსნარს (10:1 v/v), რომელშიც 1L6-ის კონცენტრაცია შეადგენდა 10% (w/v). ელექტროსპინინგის ხსნარში ბაქტერიოფაგების არსებობამ გადაგვაწყვეტინა ხელახლა შეგვემოწმებინა ტექნოლოგიის ოპტიმალური პირობები და ექსპერიმენტი დაგვეწყო ზემოთ აღნიშნული პარამეტრებით.

ცდებმა აჩვენა, რომ სხვადასხვა ნიმუშისათვის საერთო კოლექტორის მანძილი 24.5 სმ და ძაბვა 30 კვ აღმოჩნდა ოპტიმალური, თუმცა საჭირო გახდა დინების სიჩქარის მნიშვნელოვანი ცვლილებები დატვირთული ბაქტერიოფაგების ტიპიდან გამომდინარე. კერძოდ, ფაგებით დაუტვირთავი და ფაგესტაფითა და ფერსის ბაქტერიოფაგებით დატვირთული ბოჭკოების შემთხვევაში, შესაბამისად, საჭირო იყო სიჩქარე ყოფილიყო 1.5, 1.0 და 0.8 მლ/სთ. სურათი3-ზე ნაჩვენებია ორი სერიული ბაქტერიოფაგით დატვირთული 1L6-ის ბადის SEM-ს სურათი. ფოტოებზე ნათლად ჩანს, რომ ბოჭკოებს აქვს გლუვი ზედაპირი, განაკვეთზე ცირკულარული და დაახლოებით მსგავსი დიამეტრი მიკრომეტრების შკალაზე.

მაშასადამე, ფაგესტაფის და ფერსის ბაქტერიოფაგების შემცველი ბადეების საშუალო დიამეტრი განისაზღვრა შესაბამისად:  $1.62 \pm 0.32$  მკმ და  $1.95 \pm 0.45$  მკმ (ცხრილი 3). მიუხედავად იმისა, რომ გამოყენებული იყო ერთნაირი ტექნოლოგია, ზემოთ მოყვანილი ორივე მაჩვენებელი გაცილებით დაბალია 1L6-ის დაუტვირთავი ბოჭკოების დიამეტრთან ( $2.70 \pm 0.11$  მკმ) შედარებით. აღსანიშნავია, რომ ელექტროსპინიგის ხსნარი უნდა შეიცავდეს მარილს და ბაქტერიოფაგის საწყისი ხსნარის ლიოფილიზაციის ნარჩენებს და შედეგად, ხსნარის გაზრდილი გამტარიანობა მნიშვნელოვან ზეგავლენას ახდენს დიამეტრზე.

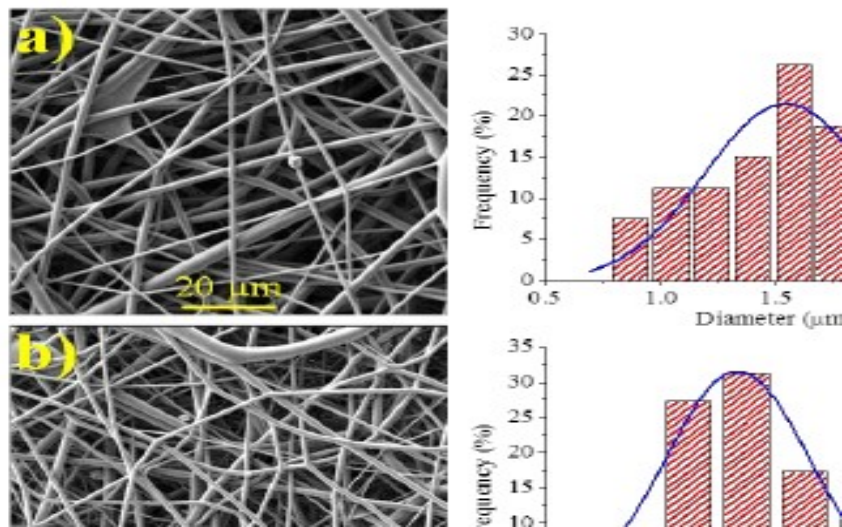
ჩვენ ასევე მოვახდინეთ პირობების ოპტიმიზაცია, რომელიც საჭიროა ფაგებით დატვირთული კალციუმის კარბონატის ნაწილაკების ელექტროსპინიგისათვის.

ამ პროცესს გააჩნია ორი მთავარი უპირატესობა: ლიოფილიზაციის პრობლემური პროცესი თავიდან არის აცილებული და ასევე, შესაძლებელია გამოყოფა და მოცილება მარილების და ბაქტერიების ნარჩენებისა, რაც დამახასიათებელია ფაგების შემცველი კომერციული ხსნარებისათვის.

კარბონატის ნაწილაკები ( $2.5\%$  (w/v)) შეერია ქლოროფორმ-ეთანოლის 1L6-ის ზემოთ აღნიშნულ ხსნარს. ელექტროსპინინგამდე მაგნიტური

შენჯღრევითსუსპენზია გახდა ერთგვაროვანი. პოლიმერის ფრაგმენტებისგან და წვეთებისაგან თავისუფალი უწყვეტი ბოჭკოების მისაღებად საჭირო გახდა დინების სიჩქარის მნიშვნელოვანი მომატება 5-6.7 მლ/სთ. სურათი 3-ზე გამოსახულია კარბონატზე ადსორბირებული 2 ტიპის ბაქტერიოფაგისაგან დამზადებული ბოჭკოების ზედაპირის მორფოლოგია. ბოჭკოებზე აღინიშნება კარბონატის ნაწილაკების აგრეგაციასთან ასოცირებული მრგვალი ფორმის ამოზნექილობები, რომელიც არათანაბრად არის

გადანაწილებული ბოჭკოს მთელ სიგრძეზე. ამის გარდა, აგრეგატები კარგად იყო ინკაფსულირებული გლუვი ტექსტურის მქონე ბოჭკოებში. ფაგესტაფებით და ფერსით დატვირთული ნიმუშების საშუალო დიამეტრი, შესაბამისად, შეადგენდა  $3.45 \pm 0.41$  მკმ და  $3.32 \pm 0.40$  მკმ (ცხრილი 3). კარბონატების გარეშე დამზადებული ნიმუშები იყო მეტი, როგორც დინების სიჩქარის გაზრდის ლოგიკურ შედეგი (ე.ი., 6.7 და 5 მლ/სთ შედარებით 1 და 0.8 მლ/სთ-სთან ფაგესტაფით და ფერსით დატვირთული ნიმუშებისათვის, შესაბამისად). ელექტროსპინინგის პროცესიდან აღდგენილი ფაგების მორფოლოგია ყოველთვის უცვლელი რჩებოდა



სურათი 3. ფაგესტაფითა და ფერსით დატვირთული 1L6 მატრიქსი (SEM)



ცხრილი 2. - ფაგესტაფისა და ფერსის ბაქტერიოფაგის აქტივობის შედარება

ნიმუში	ფაგის აქტივობა FPU/მლ
ფაგესტაფის საწყისი ნიმუში	$5 \times 10^3$
ფაგესტაფი - ლიოფილიზაციის შემდეგ	$1 \times 10^3$
ფაგესტაფი - CaCO <sub>3</sub> ადსორბირებული	$4 \times 10^3$
ფაგესტაფი / ნანო-ბოჭკო - CaCO <sub>3</sub>	$4 \times 10^3$
ფაგესტაფი / ნანო-ბოჭკო	$2 \times 10^3$
ფერსის საწყისი ნიმუში	$4 \times 10^3$
ფერსის ლიოფილიზაციის შემდეგ	$3 \times 10^3$
ფერსის - CaCO <sub>3</sub> ადსორბირებული	$4 \times 10^3$
ფერსის / ნანო-ბოჭკო - CaCO <sub>3</sub>	$4 \times 10^3$
ფერსის / ნანო-ბოჭკო	$2 \times 10^3$

ცხრილი 3. ელექტროსპინინგის პარამეტრები

ნიმუში	ვოლტაჟი კვ	ნაკადი მლ/სთ	კოლექტორის დისტანცია, სმ	დამეტრი მკმ
1L6	30	1.5	24.5	2.70 ± 0.11
1L6-ფაგესტაფი/CaCO <sub>3</sub>	30	6.7	24.5	3.45 ± 0.41
1L6-ფაგესტაფი	30	1	24.5	1.62 ± 0.32
1L6-ფერსის/CaCO <sub>3</sub>	30	5	24.5	3.32 ± 0.40
1L6-ფერსის	30	0.8	24.5	1.95 ± 0.45

## დასკვნა

1. შესწავლილია „ბიოქიმიკარმის“ სერიული სტაფილოკოკური ფაგის, „პიოფაგის“ და „ინტესტიფაგის“ ურთიერთქმედება კალციუმისა და მაგნიუმის უხსნარი მარილების წვრილდისპერსულ ფხვნილებთან. დადგენილია, რომ ოთახის ტემპერატურაზე, 30 წთ-ით დაყოვნებისას, ბაქტერიოფაგები ადსორბირდება აღნიშნულ მარილებზე. ფილტრატში ბაქტერიოფაგების ტიტრის შესწავლამ გვიჩვენა, რომ ბაქტერიოფაგების თითქმის 100% ადსორბირებულია მყარ მარილებზე.

2. მიღებულისუსპენზიებისგაფილტვრისასბალასტურიცილებისადანუკლეინისმჟავებისფრაგმენტებისუდიდესინაწილი(<97%)მიყვებაფილტრატს, რაც დადგენილია UV სპექტროფოტომეტრით.

3. უხსნარიმარილებიდანფაგებისდესორბცია მდამათმაგატიტვრამგრაც  
იასმეთოდითგვიჩვება,

რომდესორბირებულიფაგებიინარჩუნებენმაღალაქტივობას.

იგივეშედეგია მიღებულიფაგადსორბირებულიმყარინალექებისაქტივობისგა  
ნსაზღვრით ბაქტერიალურ გაზონზე (ლიზისის ზონა +4), ასევე  
ბაქტერიოფაგების დესორბციითა და შემდგომი გატიტვრით.

4. დადგინილია,

რომსაუკეთესოადსორბენტებსწარმოადგენსკალციუმისმარილები,

რომლებიცარცვლიანთხიერიფაგების pH-ს (7,4),

რაცმნიშვნელოვანიაადსორბირებულ/დესორბირებული ფაგების

სიცოცხლისუნარიანობის თვალსაზრისით. ადსორბენტად მაგნიუმის

მარილის გამოყენებისას შეიმჩნეოდა თხიერი ბაქტერიოფაგების pH-ის

ზრდა 9-10-მდე, რაც გარკვეულ უარყოფით გავლენას ახდენდა ფაგების

სიცოცხლისუნარიანობაზე.

5. უხსნარმარილებზე ადსორბირებული მაღალი სისუფთავის ფაგური

პრეპარატები ადვილად და სწრაფად ექვემდებარება შრობას

(ლიოფილურად ან ვაკუუმში), რაც საგრძნობლად ამცირებს მყარი

(ფხვნილოვანი) ფაგური პრეპარატების წარმოებისათვის გაწეულ

ენერგოდანახარჯებს.

6. მიღებულიმშრალი, ფხვნილოვანი ფაგური პრეპარატების

პერსპექტულია როგორც ტაბლეტირებისათვის ბაქტერიოფაგების

(მაგალითად, „ინტესტიფაგის“) პერორალური ფორმების, ასევე

პოლიმერული ბიოკომპოზიტების (მაგალითად, ხელოვნური კანის ახალი

თაობის „ფაგობიოდერმის“ და ელექტროდართული ბოჭკოების) მისაღებად.

7. მიღებულია და დაახასიათებულია სხვადასხვა სტრუქტურის მქონე

უჯერ/ნაჯერი პოლიესტერამიდები. შესწავლილია მათი თერმული

თვისებები გამოყენების სფეროს განსაზღვრის მიზნით და ნაჩვენებია

უჯერი პოლიესტერამიდების გაკერვის შესაძლებლობა UV -დასხივებით.

8. ელექტროსპინინგით მიღებული 1L6-ის ბადეს აქვთ სამგანზომილებიანი სტრუქტურა, რაც, როგორც აღმოჩნდა, შესანიშნავად უწყობს ხელს ეუკარიოტული უჯრედების ადჰეზიასა და ზრდას რაც შემდგომში გამოიხატება ჭრილობების ეფექტურ შეხორცებაში

9. მიუხედავად ორგანული გამხსნელების და ელექტრული ველის გამოყენებისა ელექტროსპინინგის პროცესი არ იწვევს ფაგებს მნიშვნელოვან ინაქტივაციას

### სადისერტაციო ნაშრომის ძირითადი შედეგები გამოქვეყნებულია შემდეგ შრომებში:

- ე. ჩხაიძე, ნ. ნეფარიძე, გ. ჭუმბურიძე, მ. სირაძე, დ. ხარაძე, რ. ქაცარავა.  
უჯერიბმების შემცველი ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერამიდების სინთეზი, მათი თერმული დამექანიკური თვისებების კვლევა - საქართველოს ქიმიური ჟურნალი. 2015, (15), 2, გვ. 48-56.
- Neparidze N., Chkhaidze E., Jokhadze G., Siradze M., Chumburidze G., Loladze T. Characterization and Properties of Polyesteramides Containing

Long-chain n-alkyl Substituents - Journal of Technical Science & Technologies  
- International Black Sea University, Tbilisi, Georgia, 2016, (5), 1,P. 29-33.

- Angélica Díaz, Luis J. del Valle, Noel Rodrigo, María Teresa Casas, **George Chumburidze**, Ramaz Katsarava, Jordi Puiggalí. Incorporation of bacteriophages into electrospun microfibrinous matrices of a leucine based poly(ester urea) - Journal of Royal Society Open Science, London, England, 2017, RSOS-171556, P. 1-43.

## ABSTRACT

The research was done over the relation of a serial „Staphylococcus aureus“ bacterial phages of the “Biochemphag” and the complex medicine the “Pio phages” with the finely dispersed powders of the Ca and Mg carbonates. This research reveals that at the room temperature and, when holding them for a while the bacterial phages are adsorbing to the above mentioned salts. After the filtration of the suspension which we got, the most part of a fragmented ballast acids and proteins (<97%) are washing out - moving to filtrate. This was detected over the UV spectrometry. The bacteriophages titer showed also that almost 100% of the bacteriophages are adsorbed at the solid salts. Adsorbed salts are keeping its high activity, that is detected by the desorption of the bacteriophages and subsequent titration. Also by the activity of the solid deposition (precipitate) at the bacterial sward (zone of the lysis: +4 method of Krieg)

Bacteriophages have successfully been loaded into electrospun scaffolds based on a biodegradable poly(ester urea) (PEU). Specifically, Phagestaph and Fersis bacteriophage preparations were considered due to their specific activity against Staphylococci (e.g. *S. aureus*) and Streptococci (e.g. *S. pyogenes*). The effect of the applied electric field and the time at which phages were exposed to the high voltage on the final phage activity was evaluated by means of the double agar method. Studies were extended to the electrospinning of water-soluble polymers (i.e. poly(ethylene glycol)) that allowed to use the initial commercial bacteriophage solutions. Results were promising since they revealed a scarce influence of the electrical field and the electrospinning process on the phage activity. Fiber morphology was logically found to be strongly dependent on the conductivity of the electrospinning solution.

Preparation of poly(ester urea) scaffolds loaded with phages was performed according to two different methodologies: a) Lyophilization of the initial phage preparation and subsequent dispersion of the residue in the organic polymer solution, b) Adsorption of phage in calcium carbonate particles and subsequent dispersion in the polymer solution. Morphology, hydrophilicity and bactericide properties were reevaluated in all cases. Results demonstrated that the use of carbonate particles rendered a final activity similar to the initial preparation, whereas a slight loss of activity was detected when the lyophilization step was performed. Adhesion and proliferation assays using epithelial cells demonstrated the biocompatibility of both unloaded and bacteriophage-loaded PEU scaffolds, although some slight differences were observed depending on the type of bacteriophages and the selected preparation methodology.

Phage therapy is the application of bacteria-specific viruses to treat pathogenic bacterial infections. This therapy has many potential applications in human medicine as well as in veterinary, agriculture and food processing. The discovery of bacteriophages is controversial since different claims have been formulated. Nevertheless, it is recognized that Dr. Herelle performed the pioneering work and proposed the name of bacteriophage to viruses capable to invade bacterial cells and even to disrupt bacterial metabolism causing bacterial lysis.

Specifically, phages appear nowadays highly interesting as an antibiotic alternative to treat bacterial infections that have developed an antibiotic resistance and also when biofilms resistant to antibiotic penetration (e.g. those covered by a polysaccharide layer) were reproduced. The high specificity of phages is also attractive since they can be seen to be harmless to the host organism as well as to beneficial bacteria (e.g. gastro-intestinal flora). Nowadays, phages have been revealed highly appropriate for the treatment of poorly healing wounds, e.g. in diabetic and bedridden patients as well as those affected by venous stasis ulcers. The treatment has greater costs since liquid preparations of phages are applied locally requiring the use and frequent change of dressings. Therefore, recent approaches deal with the incorporation/encapsulation of phages into a polymeric matrix or their immobilization onto a polymeric surface.

Biodegradable poly(ester amide)s based on amino acids have been employed as matrices for the deposition of a combination of phages with other medicaments. The product has been commercialized under the trademark of PhagoBioDerm, being demonstrated beneficial for the treatment of poorly healing wounds and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Encapsulation of phages in microspheres by means of emulsion-solvent extraction method has been performed but results showed a loss of activity that was attributed to the employment of an organic solvent. Creation of antimicrobial surfaces by

passive immobilization, through chemical bioconjugation, covalent anchoring or by electrostatic interaction taking advantage of the different charge distribution between head and tail have also been assayed with different success.

Electrospinning is currently an easy process to get micro/nanofibers and mats with a tunable porosity after accumulation of fibers. An additional advantage of the technique is a great versatility that allows working with a great variability of polymeric materials and loading different active agents for a required application (e.g. preparation of scaffolds with bactericide properties). Basically, a high electrical field is applied to a liquid droplet held at the end of a capillary tube. The drop becomes electrically charged and stretched when the electrostatic repulsion counteracts the surface tension. In this way, a jet is ejected towards a grounded target (collector). Solution characteristics (e.g. solvent, polymer concentration, conductivity, vapor diffusivity) and operational parameters (e.g. distance between the needle to the collector, flow rate and applied voltage) can be easily modified in order to get continuous and homogeneous fibers with the desired morphology.