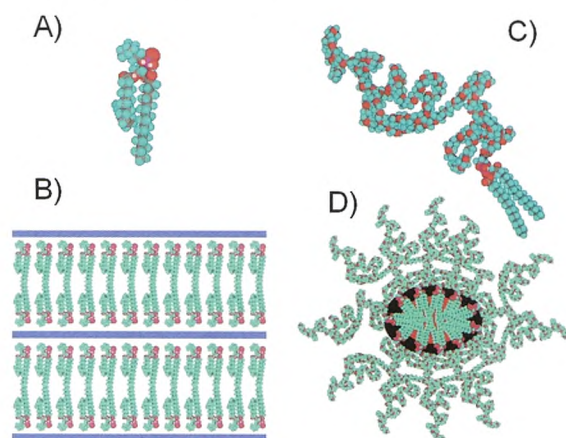


Neutron- og røntgenanalyse af “drug delivery” partikler

Af Lise Arleth, Biofysikgruppen, Institut for Grundvidenskab, Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Hvis medicin kunne indgives kontrolleret i de organer, hvor der er brug for den, og på en måde så den ikke samtidig bliver spredt ud i de raske organer, ville det være muligt at behandle en lang række sygdomme bedre og med færre bivirkninger. Der eksisterer f.eks. adskillige cellegifte, som har stort potentiale i forhold til kræftbehandling, men som man ikke tør bruge i praksis, fordi de har for store bivirkninger i de raske organer. Der forskes derfor intensivt i såkaldte “drug delivery” systemer. Det ideelle drug delivery system kan for eksempel være en lille kapsel, der holder medicinen indkapslet, så længe kapslen bevæger sig rundt i blodbanerne, og først lukker medicinen ud når den er kommet hen til den del af kroppen, hvor den skal virke. Denne artikel beskriver, hvordan en kombination af neutron- og røntgenstråling kan benyttes, når sådanne partikler skal udvikles.

For at “drug delivery” kapsler kan trænge ind i sygt væv, skal kapslerne helst have en størrelse på mellem 10 og 100 nanometer. Større kapsler kan ikke trænge ordenligt ind i de mikroskopiske blodkar i det væv, hvor de skal virke. Mindre kapsler trænger fint ind, men siver næsten lige så hurtigt ud igen. Hvis man kender den typiske diameter af blodkarrene i vævet, der skal behandles, kan man udregne den optimale størrelse af sin “drug delivery” kapsel.

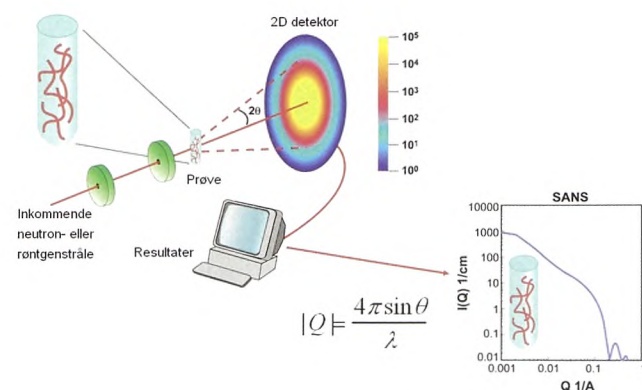


Figur 1. A) Fosforlipid molekyle B) Stakke af fosforlipid-dobbeltlag C) PEGyleret fosforlipid D) PEGyleret fosforlipid-micelle. Når man PEGylerer molekyler, binder man kemisk en PEG (Polyethylenglycol) på molekylet. I eksemplet i figur 1C og D er der bundet en PEG kæde med en molmasse på 5000 g/mol på hvert fosforlipid molekyle.

Figur 1D viser et eksempel på en partikel, der er blevet foreslået som drug delivery indkapsling af fedtopløselige typer af medicin. Partiklen består af såkaldt PEGylerede fosforlipider. Fosforlipider (figur 1A) er de grundlæggende byggesten i cellemembraner. De er som regel stavformede og består af et “hoved”, som er vandelskende (hydrofilt), og to “ben” som er vandskyende (hydrofobe). Den lagdelte struktur (figur 1B), der er karakteristisk for en cellemembran opfylder disse to modsatrettede “ønsker” fra molekylet: Hydrofile hoveder er omgivet af vand eller andre hydrofile hoveder, mens hydrofobe haler er omgivet af andre hydrofobe haler. Det at fosforlipidmolekylet overordnet

set er stavformet gør, at den flade membranstruktur bliver favoriseret og at fosforlipid molekyler opløst i vand mere eller mindre spontant vil selvorganisere sig i stakke af flade membraner, hvor hvert membran-dobbeltlag har en tykkelse på ca. 5 nm.

Ved syntetisk at fastgøre en lang og pladskrævende polymerkæde, f.eks. en PEG kæde, i fosforlipidens hydrofile hoved (figur 1C) kan man favorisere andre pakningsgeometrier. Hvis man fastgør en tilpas lang PEG-kæde, vil man i teorien favorisere den næsten runde micelleform, der er vist i figur 1D. Det betyder at vandopløste PEGylerede fosforlipider spontant vil selvorganisere sig i runde miceller, der hver især er omgivet af en PEG-korona, som beskytter micellerne mod at blive nedbrudt i blodbanerne.

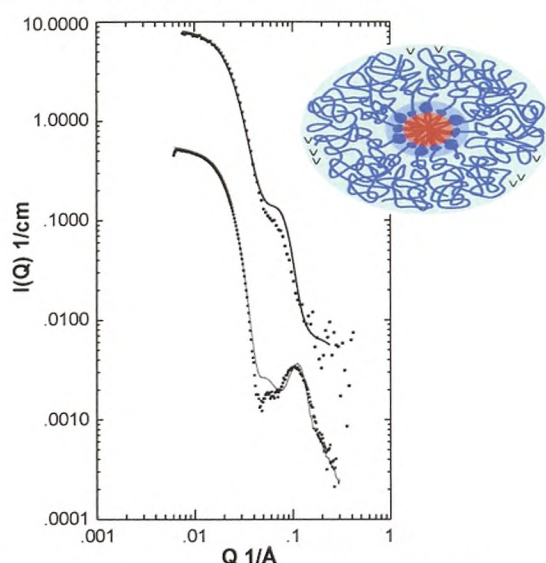


Figur 2. Den eksperimentelle opstilling, der benyttes i et småvinkelspredningseksperiment.

Et er teori, men et andet er praksis. For at kontrollere om ens drug delivery kapsler nu også har den ønskede form og størrelse, har man brug for en målemetode, der kan give strukturel information på den relevante længdeskala. Det er småvinkelspredning (small-angle scattering) ideel til. I et småvinkelspredningseksperiment (figur 2) sendes en smal stråle af røntgenfotoner eller neutroner igennem et måleglas indeholdende den prøve, som man vil undersøge. Det mønster, den *spredte* stråling danner i små vinkler omkring den upåvirkede del af strålen, kaldes

småvinkelspredningen. Småvinkelspredningen afspejler prøvens struktur på en længdeskala af 1-100 nm, som er den relevante længdeskala til studier af drug delivery partikler.

Hvis man har en vandig "opløsning" af PEGylerede miceller, som vist i figur 1D, vil man have en masse miceller orienteret i alle retninger. Dette betyder at det dannede spredningsmønster bliver centrosymmetrisk, sådan at man kan repræsentere al informationen i det målte datasæt ved intensiteten af den målte spredning som funktion af spredningsvinklen θ . I praksis viser det sig, at være smartest at repræsentere spredningsintensiteten som funktion af den såkaldte Q -værdi, hvor Q beregnes ud fra bølgelængden, λ , af den indkommende stråle og spredningsvinklen θ (se figur 2).



Figur 3. SAXS (nederst) og SANS (øverst) data på den samme prøve bestående af PEGylerede miceller i vandig opløsning. Eksperimentelle data (punkter) med modelfit.

Som nævnt kan et småvinkelspredningseksperiment foretages både med røntgen- (Small-angle X-ray Scattering, SAXS) og neutronstråling (Small-angle neutron scattering, SANS). Der opnås forskellige kontraster for billeddannelsen med de to metoder. Neutronerne vekselvirker med atomkernerne og i praksis træder de hydrogen (^1H)-rige dele af stoffet tydeligst frem i et SANS eksperiment. Opløses de PEGylerede miceller i tungt vand (D_2O), vil de hydrogenrige miceller, incl. PEG-koronaen, derfor fremtræde meget tydeligt. Omvendt vekselvirker røntgenstrålingen med elektronerne i stoffet og SAXS data afspejler stoffets elektrontæthedsfluktuationer, som igen omtrent svarer til massetæthedsfluktuationerne. I en SAXS måling af en PEGyleret micelle set på en "baggrund" af vand, vil man først og fremmest få information om micellens olielignende indre, som har en masse- og elektrontæthed, der er ca. 20 % lavere end det vand micellen er opløst i, samt om det omgivende lag af fosfolipid hovedgrupper, der har en masse- og elektrontæthed, der er ca. 20 % højere end vandets. Den omgivende PEG corona har omtrent samme masse- og elektrontæthed som vand og bliver derfor stort set usynlig i SAXS målingen. Så mens SANS eksperimentet viser os den PEGylerede micelle i

sin helhed, men uden at give detaljerede information om micellens indre, viser SAXS eksperimentet os, hvordan micellens indre ser ud, men uden at give megen information om PEG-koronaen. Ved at kombinere SANS og SAXS data fra den samme prøve, får man det bedste fra begge verdener, og man kan bestemme sine micellers struktur i meget stor detalje. I figur 3 er vist et eksempel, hvor en modelbaseret analyse af de opnåede SAXS og SANS data afslørede, at de PEGylerede miceller var svagt oblate. Analysen gav derudover en mængde meget detaljeret information om størrelse og form af den hydrofobe kerne, den hydrofile skal og den omgivende PEG-korona [1]. Tilsvarende studier af miceller, der var ladet med små hydrofobe medicinmolekyler, viste hvordan micelleformen blev påvirket af medicinladningen og i sidste ende også, at de PEGylerede miceller var særdeles velegnede som drug delivery partikler [2].

Litteratur

- [1] L. Arleth, B. Ashok, H. Onyukse, P. Thiyagarajan, J. Jacob, and R. Hjelm (2005), Detailed structure of hairy mixed micelles formed by phosphatidylcholine and PEGylated phospholipids in aqueous media, *Langmuir*, **21** (8), 3279-3290.
- [2] B. Ashok, L. Arleth, R. Hjelm, I. Rubinstein and H. Onyukse (2004), In vitro characterization of PEGylated phospholipid micelles for improved drug solubilization: Effects of PEG chain length and PC incorporation, *J. Pharm. Sci.* **93** (10), 2476-2487.



Lise Arleth er lektor i biofysik ved Institut for Grundvidenskab, Life Science Fakultetet på Københavns Universitet. Hun forsker i struktur og vekselvirkninger af biomolekyler i opløsning. De primære måleteknikker er småvinkel neutronspredning (SANS) og småvinkel Røntgenspredning (SAXS) samt lysspredning (DLS og SLS).

Gymnasieelever til fysikolympiade i Iran

Den 23. april 2007 skete den endelige udtagelse af det hold, som skal repræsentere Danmark ved den internationale fysikolympiade i Isfahan, Iran d. 13.-22. juli 2007.



Billedet viser holdet (fra venstre mod højre): Troels Irgens Møller, Støvring Gymnasium, Martin Elvers, Hamlet HTX Hillerød, Ida Marie Heerfordt, Marie Kruses Skole, Mads Bertelsen, Tårnby Gymnasium og Christian Ebbesen, Hasseri Gymnasium.