



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Bioaktyvių junginių įkapsuliavimas polimerinėse matricose

Baigiamasis magistro projektas

Dovilė Sniečkutė

Projekto autorė

vyr. m. d. dr. Edvinas Krugly

Vadovas

Kaunas, 2022



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Bioaktyvių junginių įkapsuliavimas polimerinėse matricose

Baigiamasis magistro projektas

Chemijos inžinerija (6211EX020)

Dovilė Sniečkutė

Projekto autorė

vyr. m. d. dr. Edvinas Krugly

Vadovas

vyr. m. d. dr. Darius Čiužas

Recenzentas

Kaunas, 2022



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Dovilė Sniečkutė

Bioaktyvių junginių įkapsuliavimas polimerinėse matricose

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama(s) kitų asmenų autorius ar kitų teisių, laikydamasi(s) Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – Universitetas) intelektinės nuosavybės valdymo ir perdavimo nuostatų bei Universiteto akademinės etikos kodekse nustatytų etikos reikalavimų;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjęs (-usi);
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Universitete galiojančią tvarką ir būsiu pašalinta(s) iš Universiteto, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Dovilė Sniečkutė

Patvirtinta elektroniniu būdu



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Tvirtinu:
Cheminės technologijos fakulteto dekanas
prof. dr. K. Baltakys

Suderinta:
Aplinkosaugos technologijos katedros vedėja
doc. dr. Violeta Kaunelienė

Dekano potvarkis Nr. V25-02-10, 2022 m. gegužės
mėn. 16 d

2022 m. vasario mėn. 7 d

Baigiamojo magistro projekto užduotis

Projekto tema	Bioaktyvių junginių įkapsuliavimas polimerinėse matricose
Darbo tikslas ir uždaviniai	<p>Tyrimo tikslas – atlikti bioaktyvių junginių įkapsuliavimo polimerinėse matricose tyrimą, siekiant kontroliuoti įkapsuliuotų junginių atpalaidavimo kinetiką.</p> <p>Tiksliui pasiekti suformuoti uždaviniai:</p> <ol style="list-style-type: none">įkapsuliuoti funkcinį junginį į polimerinę matricą, esant skirtingoms bandymo sąlygoms;ištirti pagamintų pluoštų morfologiją ir chemines savybes;įvertinti polimerinio tirpalo sudėties ir pluošto gaminimo sąlygų įtaką pagamintų pluoštų paviršiaus vilgymui ir mechaninėms savybėms;nustatyti atsipalaidavimo kinetiką ir ją įtakojančius faktorius;pateikti rekomendacijas pramonei pluošto gamybai ir parengti principinę technologinę schemą.
Reikalavimai ir sąlygos	<p>Turi būti visos privalomos baigiamojo projekto sudėtinės dalys kaip nurodyta dekanu 2021 m. vasario 24 d. potvarkiu Nr. V25-02-03 patvirtintuose „Pirmosios pakopos Cheminė technologija ir inžinerija ir antrosios pakopos Chemijos inžinerija studijų programų baigiamųjų projektų rengimo ir gynimo metodiniuose reikalavimuose“.</p>
Vadovas	vyr. m. d. dr. Edvinas Krugly (vadovo pareigos, vardas, pavardė, parašas) 2022-02-07 (data)
Užduotį gavau:	<u>Dovilė Sniečkutė</u> 2022-02-07 (studento vardas, pavardė) (parašas, data)

Sniečkutė, Dovilė. Bioaktyvių junginių įkapsuliavimas polimerinėse matricose. Magistro baigiamasis projektas / vadovas vyr. m. d. dr. Edvinas Kruglys; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): Inžinerijos mokslai, Chemijos inžinerija.

Reikšminiai žodžiai: audinių inžinerija, elektrinis verpimas, polipieno rūgštis, karbamazepinas.

Kaunas, 2022. 75 p.

Santrauka

Biologiškai aktyvių junginių įkapsuliavimas į įvairias polimerines matricas gali padėti išspręsti šioms medžiagoms būdingus trūkumus. Dažnai šie junginiai pasižymi netinkamomis savybėmis: nekontroliuojamu atsipalaidavimu organizme, mažu tirpumu vandenyje ar net toksiškumu. Šioms problemoms spręsti naudojama elektrinio verpimo technologija. Elektrinio verpimo metodu funkcinis junginys yra įkapsuliuojamas į polimerinę matricą, kuri gali pagerinti jo savybes ir padėti kontroliuoti atsipalaidavimą.

Literatūroje nėra pateikiama duomenų apie antiepilepsinio vaisto karbamazepino įkapsuliavimą į polipieno rūgšties matricą, gautų pluoštų chemines ir mechanines savybes bei atsipalaidavimo kinetiką, todėl baigiamasis magistro projektas yra skirtas šiam tyrimui.

Tyrimo metu buvo analizuota gautų pluoštų morfologija ir cheminė struktūra. Skenuojančių elektronų mikroskopijos būdu nustatyta, kad susidarė netolygaus paviršiaus ir porėtos mikrogijos, kurios buvo atsitiktinai orientuotos. Didžiausias pluošto gijų diametras išmatuotas mėginiuose, pagamintuose esant 30 % santykinei drėgmei, o mažiausias – 60 % santykinei drėgmei. Tankiausiai poros išsidėsčiusios ant gijų, kurios pagamintos esant didžiausiai santykinei drėgmei – 60 %, tačiau didėjant santykinei drėgmei porų diametras sumažėjo. Furjė transformacinės infraraudonųjų spindulių spektroskopijos metodu nustatyta, kad pluoštai turėjo polipieno rūgščiai ir karbamazepinui būdingas funkcines grupes. Vandens vilgymo kampo analizė parodė, kad vandens vilgymo kampas priklauso nuo karbamazepino kiekio pluošte. Didėjant karbamazepino kiekiui mėginiuose pluoštas tapo hidrofobiškesnis. Atlikti pluoštų tempimo bandymai patvirtino, kad geriausiomis mechaninėmis savybėmis tempiant pasižymėjo pluoštai pagaminti esant 30 % santykinei drėgmei. Pastebėta, kad didinant santykinę drėgmę pluoštų atsparumas tempimui mažėjo. Karbamazepino atsipalaidavimo kinetikos tyrimas parodė, kad didinant santykinę aplinkos drėgmę ir karbamazepino kiekį mėginyje galima pasiekti aukštesnę karbamazepino atpalaidavimo procentinę dalį. Intensyviausiai vaistas išsiskyrė iki 10 valandos, o nuo 10 iki 24 valandos atpalaidavimas sulėtėjo. Remiantis gautais rezultatais pateiktos rekomendacijos pramoninei pluošto gamybai.

Sniečkutė, Dovilė. Encapsulation of Bioactive Compounds in Polymeric Matrices. Master's Final Degree Project / supervisor vyr. m. d. dr. Edvinas Krugly; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Engineering Sciences, Chemical Engineering.

Keywords: tissue engineering, electrospinning, polylactic acid, carbamazepine.

Kaunas, 2022. 75 p.

Summary

The encapsulation of bioactive compounds in various polymeric matrices can help to overcome the disadvantages inherent in these materials. Often these compounds have inappropriate properties: uncontrolled release in the body, low water solubility or even toxicity. Electrospinning technology is used to solve these problems. In the electrospinning method, the functional compound is encapsulated in a polymeric matrix, which can improve its properties and help control release.

There are no data in the literature on the encapsulation of the antiepileptic drug carbamazepine in the polylactic acid matrix, the chemical and mechanical properties of the fibers and the release kinetics, therefore the final master's project is dedicated to this study.

During the research of the master's project the structure and properties of the formed fibers by electrospinning were analyzed. Scanning electron microscopy revealed the formation of an uneven surface and porous micro scaffolds that were randomly oriented. The maximum fiber diameter was measured on samples produced at 30 % relative humidity and the smallest at 60 % relative humidity. The densest pores are located on the scaffolds, which are produced at the highest relative humidity – 60 %, but the diameter of the pores decreased with increasing relative humidity. Fourier transform infrared spectroscopy revealed that the fibers had functional groups characteristic of polylactic acid and carbamazepine. Analysis of the water contact angle showed that the water contact angle depends on the amount of carbamazepine in the fiber. The hydrophobicity of the fiber increased with increasing carbamazepine amount. The tensile tests performed on the fibers showed that the fibers produced at 30 % relative humidity had the best mechanical tensile properties. It was observed that the tensile strength of the fibers decreased with increasing relative humidity. A study of the release kinetics of carbamazepine showed that a higher percentage of carbamazepine release could be achieved by increasing the relative humidity and the amount of carbamazepine in the sample. The drug was released most intensely up to 10 hours, and release slowed from 10 to 24 hours. Based on the obtained results, recommendations for the industrial production of fibers were provided.

Turinys

Lentelių sąrašas	8
Paveikslų sąrašas	9
Santrumpų sąrašas	11
Ižanga.....	12
1. Literatūros apžvalga	14
1.1. Regeneracinės medicinos problemos ir panaudojimas.....	14
1.2. Polimerinės matricos	17
1.2.1. Sintetinių ir gamtinių polimerinių matricų funkcijos ir savybės.....	17
1.2.2. Polimerai matricų gamyboje.....	18
1.2.3. Funkcinės veikliosios medžiagos polimerinėse matricose	21
1.3. Polimerinių matricų gamybos būdai.....	23
1.3.1. Įranga ir atlikimas.....	25
1.3.2. Elektrinio verpimo metodai	25
1.4. Suformuotų polimerinių matricų tyrimų apžvalga	28
1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas	37
2. Tiriamoji dalis.....	38
2.1. Medžiagos ir metodai	38
2.1.1. Tyrimo planas	38
2.1.2. Tyrime naudotos medžiagos ir reagentai.....	39
2.1.3. Pradinių tirpalų paruošimas	39
2.1.4. Polimerinio pluošto formavimas elektrinio verpimo metodu.....	40
2.1.5. Pluoštinių struktūrų charakterizavimas skenuojančių elektronų mikroskopijos metodu	41
2.1.6. Furjė transformacinė infraraudonųjų spindulių spektroskopija.....	41
2.1.7. Vandens vilgymo kampo analizė, skirta įvertinti pluošto hidrofiliškumą / hidrofobiškumą	42
2.1.8. Mechaninės savybės tempiant	42
2.1.9. Funkcinio junginio atpalaidavimas <i>in vitro</i>	43
2.1.10. Paklaidų apskaičiavimas.....	43
2.2. Rezultatai	44
2.2.1. Pluoštinių struktūrų morfologija.....	44
2.2.2. Pluošto gijų diametro priklausomybė nuo santykinės drėgmės ir karbamazepino kiekio.....	47
2.2.3. Pluošto gijų porų diametras	47
2.2.4. Cheminės polimerinio pluošto savybės	48
2.2.5. Pluošto hidrofiliškumo analizė	51
2.2.6. Mechaninių savybių analizė	56
2.2.7. Funkcinės medžiagos atsipalaidavimo tyrimas	57
2.2.8. Tyrimo rezultatų apibendrinimas	60
3. Rekomendacijos.....	62
4. Darbuotojų sauga ir sveikata	65
4.1. Profesinės rizikos veiksniai	65
4.2. Asmeninės ir kolektyvinės apsaugos priemonės	65
4.3. Pavojingumo ir atsargumo frazės, įspėjamieji ženklai	66
4.3.1. N,N-dimetilformamidas.....	66
Išvados	69
Literatūros sąrašas	70

Lentelių sąrašas

1.1 lentelė. Polimerinių matricų privalumai ir trūkumai [22]	18
2.1 lentelė. Tyrimo plano mėginiai	39
2.2 lentelė. Tyrimui paruošti polimero tirpalai	40
2.3 lentelė. Tyrimo rezultatų apibendrinimas	61
2.4 lentelė. CBZ atsipalaidavimo tyrimo rezultatai	61
3.1 lentelė. Pradinių medžiagų masės santykiai.....	63
4.1 lentelė. Rizikos veiksnių, galinčių pakenkti darbuotojų sveikatai, identifikavimas	65
4.2 lentelė. Naudotų medžiagų pavojingumas pagal reglamentą (EB) Nr. 1272/2008 [72]	66
4.3 lentelė. Klasifikacija pagal reglamentą (EB) Nr. 1272/2008 [72]	66
4.4 lentelė. Cheminės medžiagos ribiniai dydžiai [74]	67

Paveikslų sąrašas

1.1 pav. PLA (c), PLA / polianilino (d) ir PLA / polianilino (e) SEM nuotraukos [7].....	14
1.2 pav. Kolageno / PCL nanopluošto SEM nuotraukos [14].....	16
1.3 pav. PLA nanopluošto membranos SEM nuotraukos [17].....	17
1.4 pav. CBZ struktūrinė formulė [37].....	21
1.5 pav. 2-(4-izobutilfenil)propano rūgšties struktūrinė formulė [36].....	22
1.6 pav. Acetilsalicilo rūgšties struktūrinė formulė [35].....	23
1.7 pav. Elektrinio verpimo įrangos schema su statiniu (viršuje) ir besisukančiu kolektoriumi (apačioje) [43].....	25
1.8 pav. SEM nuotraukos: (a) ir (b) paviršiaus morfologija esant skirtingam didinimui; (c) ir (d) skerspjūvis esant skirtingam didinimui [36].....	29
1.9 pav. SEM nuotraukos ir nanopluošto gijų skersmens pasiskirstymas [55].....	30
1.10 pav. Tuščių (kairėje) ir vaistu pakrautų (dešinėje) PLGA / PVP koaksialinių gijų paviršiaus morfologija [56].....	31
1.11 pav. SEM nuotraukos pululano nanopluošto (A, B) ir pululano nanopluošto su įkapsuliuoto nanonešikliu (C, D). (B) ir (D) padidintos (A) ir (C) nuotraukos [57].....	32
1.12 pav. SEM nuotraukos pieno rūgšties bakterijų, išdžiovintų iš vandens dispersijos, (1, 3 stulpeliai; atitinkamai esant dideliam ir mažam didinimui) ir nanopluošte įkapsuliuotų bakterijų (2, 4 stulpeliai; esant dideliam ir mažam didinimui) [58]	33
1.13 pav. SEM nuotraukos: PLA–PCL elektroverpimo būdu gautas pluoštas (A); polilaktido-kopolikaprolaktono / gentamicino sulfato elektroverpimo būdu gautas pluoštas (B) [59]	34
1.14 pav. Poliakrilnitrilo nanopluošto SEM vaizdai, esant skirtingam didinimu [60].....	35
1.15 pav. SEM nuotraukos: PCL–želatinos nanopluoštas (a), PCL–želatinos / gvazdikėlių eterinio aliejaus (1,5 % koncentracijos) nanopluoštas (c), PCL–želatinos / gvazdikėlių eterinio aliejaus (3 % koncentracijos) nanopluoštas (e) ir PCL–želatinos / gvazdikėlių eterinio aliejaus (6 % koncentracijos) (g) nanopluoštas [61]	36
1.16 pav. SEM analizės nuotraukos: PLGA / želatinos 70:30 (A) PLGA / želatinos 50:50 (B) nanopluoštai [62]	37
2.1 pav. Elektrinio verpimo stendo principinė schema	40
2.2 pav. Grynos pieno rūgšties IR spektras [67]	42
2.3 pav. CBZ IR spektras [68]	42
2.4 pav. Mėginių DS1–DS8 SEM nuotraukos	45
2.5 pav. Mėginių DS9–DS16 SEM nuotraukos	46
2.6 pav. Vidutinio gijų diametro priklausomybė nuo aplinkos santykinės drėgmės: a) 0 g CBZ, b) 0,2 g CBZ, c) 0,4 g CBZ, d) 0,8 g CBZ	47
2.7 pav. Vidutinio porų diametro priklausomybė nuo santykinės drėgmės verpimo kameroje: a) 0 g CBZ, b) 0,2 g CBZ, c) 0,4 g CBZ, d) 0,8 g CBZ	48
2.8 pav. Mėginių DS1–DS4, pagamintų be CBZ, FTIR spektrai	49
2.9 pav. Mėginių DS5–DS8, pagamintų su 0,2 g CBZ, FTIR spektrai.....	49
2.10 pav. Mėginių DS9–DS12, pagamintų su 0,4 g CBZ, FTIR spektrai.....	50
2.11 pav. Mėginių DS13–DS16, pagamintų su 0,8 g CBZ, FTIR spektrai.....	50
2.12 pav. Vandens vilgymo kampas mėginių be CBZ, esant skirtingai santykiniai aplinkos drėgmei: a) 30 %, b) 40 %, c) 50 %, d) 60 %	51
2.13 pav. Vandens vilgymo kampas mėginių su 0,2 g CBZ, esant skirtingai santykiniai aplinkos drėgmei: a) 30 %, b) 40 %, c) 50 %, d) 60 %.....	52

2.14 pav. Vandens vilgymo kampas mėginių su 0,4 g CBZ, esant skirtingai santykinei aplinkos drėgmei: a) 30 %, b) 40 %, c) 50 %, d) 60 %.....	53
2.15 pav. Vandens vilgymo kampas mėginių su 0,8 g CBZ, esant skirtingai santykinei aplinkos drėgmei: a) 30 %, b) 40 %, c) 50 %, d) 60 %.....	54
2.16 pav. Vandens vilgymo kampo priklausomybė nuo CBZ kiekio: a) esant 30 % santykinei aplinkos drėgmei, b) esant 40 % santykinei aplinkos drėgmei, c) esant 50 % santykinei aplinkos drėgmei, d) esant 60 % santykinei aplinkos drėgmei.....	55
2.17 pav. Pluoštų atsparumo tempimui priklausomybė nuo aplinkos santykinės drėgmės: a) 0 g CBZ, b) 0,2 g CBZ, c) 0,4 g CBZ, d) 0,8 g CBZ	56
2.18 pav. Atpalaiduoto CBZ koncentracijos pokytis per laiką	58
2.19 pav. Atpalaiduotos procentinės CBZ dalies nuo visos įdėtos vaisto masės pokytis per laiką ..	59
2.20 pav. CBZ atsipalaidavimo vieneto dalimis (C/C ₀) pokytis per laiką	60
3.1 pav. Principinė technologinė gamybos schema: 1 – pradinių žaliavų sandėliavimo patalpa; 2 – temperatūros / drėgmės daviklis; 3 – periodinio veikimo vakuuminė džiovyklė; 4 – tuščiavidurės lentynos; 5 – termopora; 6 – vakuumetras; 7 – siurblys; 8 – karšto vandens talpykla; 9 – kondensatorius; 10 – vakuuminis siurblys; 11 – žaliavų laikymo talpos; 12 – svarstyklės; 13 – periodinio veikimo maišyklė; 14 – termopora; 15 – elektros variklis; 16 – aukščio matavimo sistema; 17 – šildomas apvalkalas; 18 – maišiklis; 19 – siurblys; 20 – manometras; 21 – kasetinis filtras; 22 – elektrinio verpimo įrenginys; 23 – kolektoriaus sukimosi greičio, temperatūros ir santykinės drėgmės valdikliai; 24 – adata; 25 – būgninis kolektorius; 26 – aukštos įtampos šaltinis; 27 – galutinių produktų sandėliavimas	62
4.1 pav. Pavojaus piktogramos: a) simbolis – liepsna (GHS02), b) simbolis – pavojai sveikatai (GHS08), c) simbolis – šauktukas (GHS07) [73].....	67

Santrumpų sąrašas

Santrumpos:

PLA – polipieno rūgštis;

CBZ – karbamazepinas;

SEM – skenuojančių elektronų mikroskopija;

PCL – polikaprolaktonas;

3D spausdinimas – trimatis spausdinimas;

FTIR spektroskopija – Furjė transformacinė infraraudonųjų spindulių spektroskopija;

PVP – polivinilpirolidonas;

PLGA – poli-d,l-laktido-ko-glikolidas;

IR – infraraudonieji spinduliai;

DCM – dichlormetanas;

DMF – N,N-dimetilformamidas;

PBS – fosfatinis buferis.

Ižanga

Regeneracinė medicina yra pasirengusi pakeisti 21-ojo amžiaus sveikatos priežiūros sistemą, siekdama išgydyti pacientus, kurių iki šiol nepavyko. Tai yra mokslu pagrįstas, atsakingas ir reguliuojamas naujų technologijų taikymas, kuris leidžia pradėti naudoti anksčiau neįmanomus gydymo būdus, apdairiai pritaikytus tam tikroms sunkioms ligoms ir negalioms gydyti [1].

Regeneracinė medicina yra plati sritis, apimanti audinių inžineriją. Audinių inžinerijoje natūralūs elektrai laidūs polimerai yra dominuojančios biomedžiagos. Polimerinis karkasas turėtų pasižymėti biologiniu suderinamumu, bioskaidumu ir netoksiškumu. Polipieno rūgštis (PLA) yra natūralus polimeras, plačiai naudojamas kaip biokarkasas. Audinių inžinerijoje pluoštą galima pagaminti elektrinio verpimo būdu. Elektrinis verpimas yra pirmaujantis pluošto, pasižyminčio dideliu poringumu ir erdviniais ryšiais, gamybos būdas. Metodo populiarumas didėja dėl paprasto gamybos būdo ir nebrangios įrangos. Šiuo metodu pagamintus pluoštus galima naudoti įvairių funkcinių junginių, įskaitant antibiotikus, baltymus ar vaistus nuo vėžio, tiekimui [2].

Natūralių biologiškai aktyvių junginių įkapsuliavimas į įvairius nano- arba mikropluoštus gali padėti išspręsti šioms medžiagoms būdingus trūkumus. Dauguma biologiškai aktyvių junginių yra jautrūs šviesai, šilumai ir pH pokyčiams, dėl kurių atsiranda pakitęs galutinio produkto skonis arba spalva. Įkapsuliavimas gali užkirsti kelią biologiškai aktyvių junginių skilimui *in vitro* arba *in vivo* sąlygomis [3]. Kai kurių medžiagų naudojimas maistui ar terapiniam vartojimui yra apribotas dėl jų nemalonaus skonio ir kartumo. Įkapsuliuotas junginys nesiliečia su burnos ertmėje esančiais skonio jutikliais ir taip išsprendžia šią problemą [4].

Mikro- arba nanodalelių įkapsuliavimas gali pagerinti fizikines ir chemines savybes, tokias kaip morfologija ir drėkinimas, paverčiant bioaktyvius junginius į sferinius, vienodo dydžio ir laisvai tekančius miltelius [3]. Šios savybės palengvina bioaktyvių medžiagų apdorojimą gamybos metu, sumažina galimybę keisti galutinių produktų kokybę. Taip pat literatūroje pateikiama informacija, kad blogai vandenyje tirpių medžiagų tirpimo greitis gali padidėti 20–55 %. Tai lemia funkcinio junginio amorfinė forma polimerinėje matricoje [3].

Nekontroliuojamas bioaktyvių junginių išsiskyrimas yra kiti opi problema. Įkapsuliavimas leidžia kontroliuojamai ir į tikslinę vietą išleisti biologiškai aktyvius junginius. Išorinė matrica apsaugo nuo skilimo ir išankstinio metabolizmo, taip padidindama tikslinio junginio biologinį aktyvumą vartojant per burną [5]. Taigi biologiškai aktyvių junginių įkapsuliavimas suteikia galimybę pagerinti jų fizikines ir chemines savybes bei kontroliuoti atsipalaidavimą tikslinėje vietoje.

Literatūroje pateikiama duomenų apie įvairių prieuždegiminių, antimikrobinių ar analgetiniu poveikiu pasižyminčių medžiagų įkapsuliavimą į PLA polimerinę matricą, tačiau nėra pateikta duomenų apie antiepilepsinio vaisto karbamazepino (CBZ) įkapsuliavimą, pagaminto pluošto savybes ir atsipalaidavimo pobūdį. Dėl šios priežasties yra svarbu ištirti šio junginio įkapsuliavimo į polimerinę matricą sąlygas, gautų pluoštų chemines ir mechanines savybes bei ištirti atsipalaidavimo kinetiką.

Tyrimo tikslas – atlikti bioaktyvių junginių įkapsuliavimo polimerinėse matricose tyrimą, siekiant kontroliuoti įkapsuliuotų junginių atpalaidavimo kinetiką.

Tikslui pasiekti suformuoti uždaviniai:

1. įkapsuliuoti funkcinį junginį į polimerinę matricą, esant skirtingoms bandymo sąlygoms;
2. ištirti pagamintų pluoštų morfologiją ir chemines savybes;
3. įvertinti polimerinio tirpalo sudėties ir pluošto gaminimo sąlygų įtaką pagamintų pluoštų paviršiaus vilgymui ir mechaninėms savybėms;
4. nustatyti atsipalaidavimo kinetiką ir ją įtakojančius faktorius;
5. pateikti rekomendacijas pramoninei pluošto gamybai ir parengti principinę technologinę schemą.

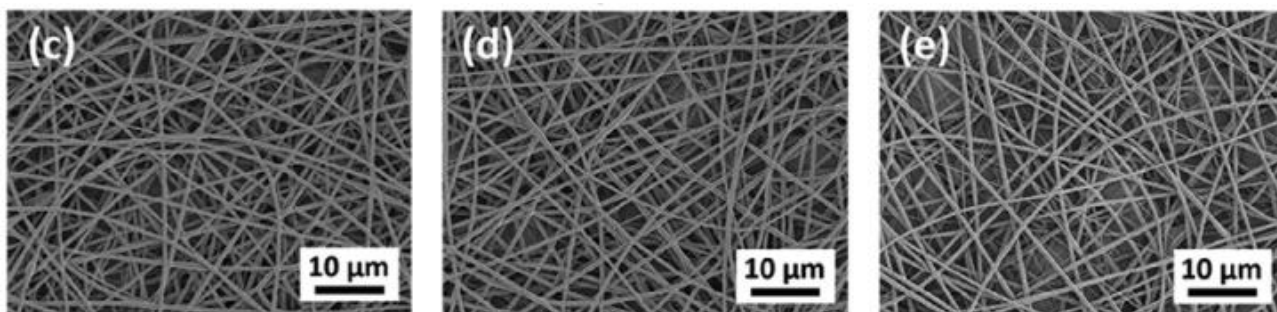
1. Literatūros apžvalga

1.1. Regeneracinės medicinos problemos ir panaudojimas

Žmogaus organizmas turi ribotas galimybes veiksmingai atstatyti ir regeneruoti pažeistus ar sužalotus audinius. Taikant regeneracinę mediciną yra kuriami metodai pažeistoms ląstelėms, organams ir audiniams atstatyti ar juos pakeisti. Ši šaka apima terapinių, kamieninių ląstelių naudojimą, audinių inžineriją bei dirbtinių organų gamybą. Daugelis audinių, tokių kaip oda, sausgyslės, nervai ir kremzlės, po traumų negali atsinaujinti. Audinių pažeidimai stebimi sergant širdies ir kraujagyslių ligomis, akių ligomis ar patyrus įvairius nudegimus, odos pažeidimus [2]. Šiuo metu esančios chirurginės intervencijos ar organų transplantacija ne visada gali iki galo grąžinti audinių funkcijas, kyla pooperacinių komplikacijų, taip pat yra ribotas donorų skaičius.

Širdies ir kraujagyslių ligos yra pagrindinė mirties priežastis visame pasaulyje. Apskaičiuota, kad 2019 metais nuo širdies ir kraujagyslių ligų mirė 17,9 milijonų žmonių, o tai sudaro 32 % visų mirčių pasaulyje [6]. Šios ligos siejamos ne tik su riebalų kaupimusi arterijose ir padidėjusia kraujo krešulių rizika, bet ir su arterijų pažeidimu tokiuose organuose kaip smegenys, širdis, inkstai ir akys. Kadangi trūksta pakankamai organų donorų, audinių inžinerija tampa perspektyvi sritis siekiant išgydyti šią lėtinę ligą – pakeičiant ar taisant pažeistus audinius [2].

Pagaminti pluoštai, skirti atkurti širdies audinius, turi turėti didelį laidumą ir elastingumą, kad imituotų širdies funkcijas. Wang'as ir kiti tyrėjai pagamino nanopluoštus iš polianilino ir PLA polimerų širdies audinių regeneracijai. Nanopluoštai pasižymėjo biologiniu suderinamumu, padidino tarpląstelinę sąveiką bei spontanišką pirminių kardiomiocitų susitraukimą [7]. Pagamintų pluoštų skenuojančių elektronų mikroskopijos (SEM) nuotraukos pateikiamos 1.1 paveiksle.



1.1. pav. PLA (c), PLA / polianilino (d) ir PLA / polianilino (e) SEM nuotraukos [7]

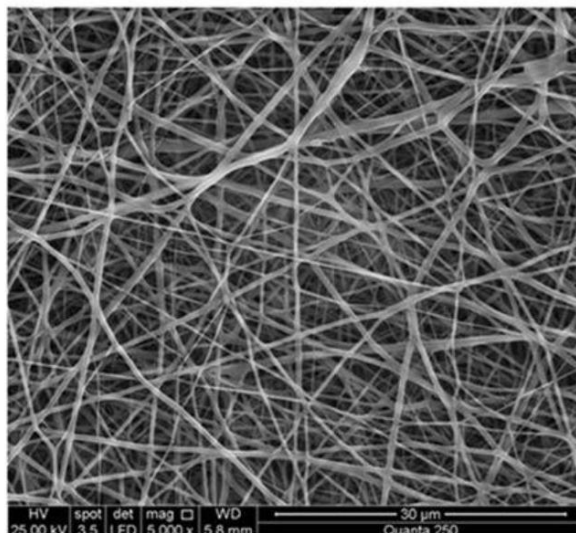
Autologinių kraujagyslių transplantacija plačiai naudojama širdies ir kraujagyslių ligoms gydyti, tačiau ribota autologinių kraujagyslių donorystė yra viena iš problemų. Autologines kraujagysles būtų galima pakeisti dirbtinėmis, pavyzdžiui, elektrinio verpimo metodu pagamintomis kraujagyslėmis [8]. Kiti mokslininkai, naudodami audinių inžineriją, stengiasi rekonstruoti kraujagysles, susidedančias iš endotelio ir perivaskulinių ląstelių. Didelis nanopluoštų poringumas ir matmenų santykis sustiprina maistinių medžiagų ir dujų mainus. Tai turi įtakos angiogenezei, dėl kurios kraujagyslės gali atsinaujinti [5]. Yazdanpanah'as ir kiti mokslininkai, naudodami elektroverpimą pagamino nanopluoštą, kurio pagrindą sudaro poli-L-pieno rūgštis ir želatina. Tempimo bandymai parodė, kad poli-L-pieno rūgštis ir želatinos pluošto mechaninis stiprumas ir numatomas trūkimo slėgis yra geresni nei sluoksniuotų poli-L-pieno rūgštis / želatinos ir želatinos pluoštų. Šie rezultatai pagrindžia, jog pagamintas pluoštas galėtų būti naudojamas audinių inžinerijoje [9].

Geras regėjimas priklauso nuo ragenos epitelio gebėjimo atsinaujinti iš limbalinės epitelio zonos ląstelių. Limbose esančios kamieninės ląstelės išsivysto į subrendusias epitelio ląsteles ir migruoja į pažeistą epitelio vietą. Kai kurie vidiniai ir išoriniai elementai, tokie kaip cheminiai veiksniai, radiacija ir nudegimai, imuninės sistemos sukeltos ligos, pavyzdžiui, *Stevens-Johnson* sindromas ar paveldimos ligos, tokios kaip aniridija, gali sukelti ligą, vadinamą limbalinių kamieninių ląstelių nepakankamumu [10, 11]. Donoro audinių transplantacija yra pagrindinis metodas, skirtas gydyti sudėtingas akių ligas. Tačiau transplantacija neapsiriboja be neigiamų padarinių: audinių atmetimo ar laikinų rezultatų. Daugelis mokslininkų šias problemas bando išspręsti pasitelkdami regeneracinę mediciną [2]. Ravani's su mokslo grupe ištyrė elektrinio verpimo būdu pagamintą polikaprolaktoną (PCL) kaip sintetinį limbalinių epitelio ląstelių nešiklį. Jiems pavyko pagaminti 132 nm skersmens nanopluoštą, kurio vidutinis poringumas buvo 85 %, o limbalinės epitelio ląstelės turėjo 96 % gyvybingumą ant šio nanopluošto. Tyrimas parodė, kad elektrinio verpimo būdu iš PCL pagamintas nanopluoštas yra ne tik gera terpė daugintis limbalinėms epitelio ląstelėms, bet taip pat gali būti naudojamas akies paviršiaus audinių inžinerijoje [12].

Kiti tyrėjai išbandė sujungti du metodus – stereolitografiją ir elektrinį verpimą, siekdami atkartoti limbų struktūrą ir sukurti tinkamą limbalinių kamieninių ląstelių nešiklį. Jie taikė mikrostereolitografiją, kad pagamintų polietilenglikolio diakrilato žiedus, o po to elektrinio verpimo būdu gamino poli-pieno-ko-glikolio rūgšties žiedus. Limbalinės kamieninės ląstelės augo ant poli-pieno-ko-glikolio rūgšties žiedų ir po mėnesio sukėlė epitelizaciją *ex vivo* triušių ragenose [13].

Tinklainės pigmento epitelis yra dar viena svarbi akies dalis ir bet koks jo defektas gali sukelti regėjimo problemų. Kadangi vis dar nėra veiksmingo vaisto degeneracinėms tinklainės ligoms (geltonosios dėmės degeneracijai ar *Stargardto* ligai) gydyti, tinklainės pigmento epitelio transplantacija yra vienintelis perspektyvus būdas sustabdyti tinklainės pigmento epitelio degeneraciją. Tačiau mokslininkai ieško alternatyvų transplantacijai ir tyrimuose taiko regeneracinės medicinos metodus [10].

Poli-D-L-pieno rūgšties nanopluoštas geba skatinti tinklainės pigmento epitelio augimą. Tai buvo įrodyta stebint naujų jungčių susidarymą ir padidėjusią RPE₆₅ geno ekspresiją. Tokio pluošto implantavimas į kiaulės akį išlaikė ląstelių augimą [2]. Panašiam tyrimui, atliktame su kolageno / PCL nanopluoštu, buvo parodyta, kad jungiamojo epitelio ląstelių, kultivuotų ant nanopluošto, stratifikacija buvo lygiai tokia pati kaip natūralaus jungiamojo audinio epitelio [14]. Šio nanopluošto SEM nuotrauka pateikiama 1.2 paveiksle.



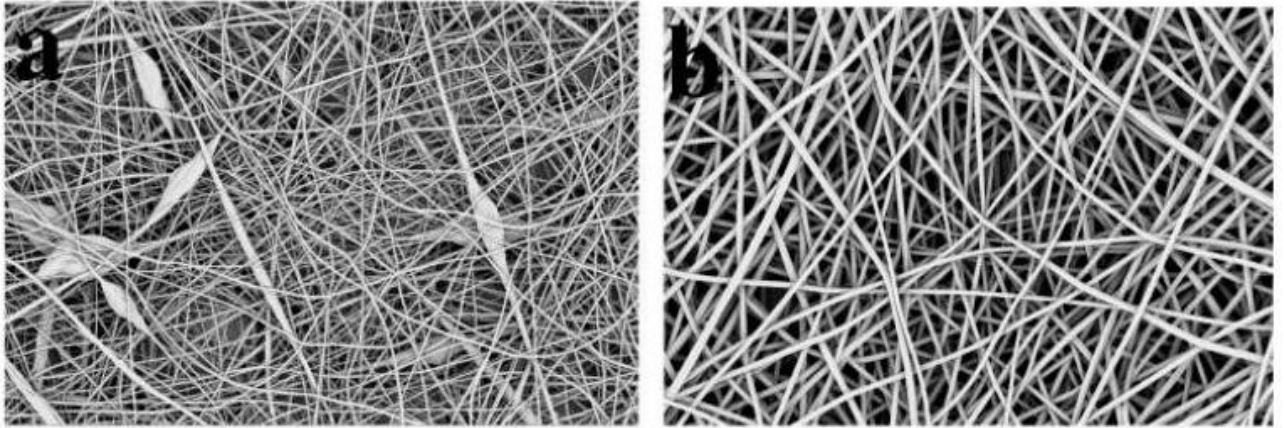
1.2 pav. Kolageno / PCL nanoplušto SEM nuotraukos [14]

Odos sužeidimai yra dažna sergamumo ir mirtingumo priežastis visame pasaulyje. Šie sužalojimai skirstomi į ūminius ir lėtinius, priklausomai nuo gijimo trukmės [6]. Lėtinėms žaizdoms, atsiradusioms dėl cukrinio diabeto, aukšto kraujo spaudimo ar lėtinio venų nepakankamumo, gydyti yra du įprasti būdai – neigiamo slėgio žaizdų terapija ir hiperbarinė deguonies terapija. Naudojant šiuos metodus nepavyksta pasiekti ilgalaikių rezultatų, jie gydo tik smulkias žaizdas. Publikuoti tyrimai parodė, kad elektrinio verpimo būdu gauti nanopluštai pasižymi dideliu paviršiaus ploto ir tūrio santykiu, todėl potencialiai gali būti naudojami odos regeneracijai [5].

Portugalijos tyrėjai sujungė elektrinio verpimo ir biospausdinimo metodus. Iš PCL ir šilko sericino mišinio elektrinio verpimo būdu buvo pagamintas viršutinis sluoksnis, kuris imituoja epidermio savybes – sukuria apsauginį barjerą nuo dehidracijos ir pavojingų veiksnių, o dermos sluoksnis buvo suformuotas spausdinant chitozano / alginato hidrogelį. Rezultatai atskleidė, kad gauta konstrukcija pasižymi poringumu, geromis mechaninėmis savybėmis, paviršiaus drėkinimu ir antimikrobiniu aktyvumu, todėl ją galima naudoti kaip odos pakaitalą [15].

Kitame tyrime elektrinio verpimo metodu buvo pagamintas pluoštas iš poli- γ -glutamo rūgšties ir PLA. *In vitro* ląstelių kultūros tyrimas patvirtino pagaminto nanoplušto biologinį suderinamumą, o eksperimentas su gyvūnais *in vivo* parodė, kad PLA / poli- γ -glutamo rūgšties nanoplušto membrana yra tinkama žaizdoms gydyti. Naudojant šį pluoštą buvo pastebėtas efektyvus žaizdos padengimas nauju epiteliumu, todėl tai yra daug žadantis metodas audinių inžinerijoje ir žaizdų gydyme [16].

Tyrimai rodo, kad žaizdų tvarsčiai, pagaminti elektrinio verpimo metodu, gali pagreitinti žaizdų gijimą. Kinijos mokslininkų atliktame tyrime PLA ir PLA / polivinilo alkoholio / natrio alginato nanoplušto membranos buvo pagamintos naudojant elektrinį verpimą, siekiant sukurti akytą ir didelį specifinį paviršiaus plotą turintį pluoštą [17]. PLA nanoplušto SEM nuotraukos pateikiamos 1.3 paveiksle.



1.3 pav. PLA nanoplušto membranos SEM nuotraukos [17]

Eksperimentai *in vitro* parodė, kad tokios nanoplušto membranos gali palaikyti žiurkių fibroblastų (L929) augimą. Šių membranų potencialas *in vivo* buvo įvertintas naudojant pažeistus žiurkių odos modelius, kuriuose sukurto pluošto membranos žymiai pagreitino žaizdų gijimą, palyginti su komerciškai prieinamais tvarsčiais. Šios išvados parodo elektrinio verpimo būdu pagamintų pluoštinių membranų, kaip naujų žaizdų gydymo tvarsčių, naudingumą [17].

Regeneracinė medicina aktyviai keičia transplantacinę mediciną. Transplantacijos konferencijose vyksta sesijos regeneracinės medicinos ir audinių inžinerijos temomis [18]. Įvairios transplantacijos draugijos steigia fondus ir finansuoja audinių inžinerija pagrįstus tyrimus. Amerikos transplantacijos draugija įsteigė *Transplantacijos regeneracinės medicinos praktikos bendruomenę Pasaulinėje transplantacijos konferencijoje* [19], o Europos organų transplantacijos draugija atidarė *Europos ląstelių terapijos ir organų regeneracijos skyrių* [20].

Regeneracinės medicinos technologijos gali pakeisti esančią sveikatos priežiūros sistemą, atkurdamos pažeistus audinius ir organus, priešingai nei kiti vaistai ir chirurginės procedūros, kurios dažniausiai tik suvaldo ligas, bet ne jas išgydo [21].

1.2. Polimerinės matricos

1.2.1. Sintetinių ir gamtinių polimerinių matricų funkcijos ir savybės

Regeneracinės medicinos tikslas yra pagaminti audinius ir organus pagal morfologiją ir funkciją panašius į gyvo organizmo bei rekonstruoti juos *in vivo* gyvomis recipientų ląstelėmis, kad pakeistų pažeistus audinius ar organus.

Iš biologinių sistemų, tokių kaip augalai, mikroorganizmai, dumbliai ir gyvūnai, išgautos medžiagos yra vadinamos natūraliais polimerais [22]. Šie polimerai dažniausiai gaunami naudojant fermentacijos procesą. Natūralūs polimerai yra labai panašūs į šeiminingo audinius, todėl gali efektyviau sąveikauti su biologinėmis sistemomis bei pagerinti ląstelių elgseną, pavyzdžiui, migraciją, adheziją ar dauginimąsi. Dėl šių priežasčių sumažėja atmetimo rizika [22]. Be paminėtų privalumų, natūralūs polimerai turi ir trūkumų – jautrumą aukštai temperatūrai ir prastas mechanines savybes. Taip pat naudojant natūralius polimerus yra pastebimas nepageidautinas imuninis atsakas, kurį sukelia endotoksinai ar priemaišos, ir skirtingos savybės tarp partijų, kurias lemia nesugebėjimas kontroliuoti polimerų apdorojimo metodų. Tačiau natūralūs polimerai yra neatsiejama regeneracinės

medicinos ir audinių inžinerijos dalis. Siekiant sumažinti jų trūkumus, yra tobulinami gamybos, gryninimo ir mechaninių savybių kontrolės metodai. Šios biologinės medžiagos turi daugybę pritaikymo galimybių įvairių audinių, tokių kaip kremzlės, kaulai, nervai, raumenys, oda, kepenys ir kasa, inžinerijoje ir regeneracijoje [23].

Su gamtiniais polimerais susijusias problemas padeda išspręsti sintetiniai polimerai. Juos yra lengviau kontroliuoti, reguliuoti jų fizikines, chemines ir mechanines savybes. Šie pranašumai garantuoja nuspėjamas, atkuriamas ir reguliuojamas savybes, kurios gali būti laisvai modeliuojamos. Pavyzdžiui, jų skilimo greitis gali būti pakeistas, keičiant kristališkumą ar molekulinę masę. Nenatūralūs polimerai yra paprasčiau apdorojami bei yra inertiški. Pagrindinis sintetinių polimerų trūkumas yra jų prasta sąveika su ląstelėmis ir mažesnis biologinis aktyvumas lyginant su natūraliais polimerais [22]. Apibendrintos sintetinių ir natūralių polimerų savybės pateiktos 1.1 lentelėje.

1.1 lentelė. Polimerinių matricių privalumai ir trūkumai [22]

Polimerų kilmė	Privalumai	Trūkumai
Natūralūs	Bioaktyvumas; citologinis suderinamumas; mažesnė atmetimo rizika.	Imunogeninis atsakas; mikrobinis užterštumas; prastos mechaninės savybės; nuspėjamos savybės; nekontroliuojamas skilimo greitis.
Sintetiniai	Nuspėjamos ir atsikartojančios savybės; reguliuojamas kristališkumas; geros fizinės ir mechaninės savybės.	Mažas biologinis aktyvumas ir suderinamumas; žemas osteolaidumas; prastas sukibimas su ląstelėmis.

Kiekvienas natūralus ir sintetinis polimeras turi privalumų ir trūkumų, todėl jų derinimas tarpusavyje yra tinkamiausias pasirinkimas.

1.2.2. Polimerai matricių gamyboje

PLA yra universalus biopolimeras. PLA gali būti lengvai sintetinama iš įvairių atsinaujinančių išteklių: anglies dioksido, kviečių, kukurūzų ir ryžių, bei yra biologiškai skaidi. PLA gamybai sunaudojama 25–55 % mažiau energijos nei iš naftos gaunamiems polimerams [24].

PLA yra daug žadanti biomedžiaga tokiose srityse kaip audinių inžinerija ar regeneracinė medicina, širdies ir kraujagyslių implantai, odontologija, vaistų pernaša, vėžio terapija, odos ir sausgyslių gydymas, medicinos įrankiai ar net įranga [24]. Taip pat šis polimeras yra svarbus kaip trimatis (3D) spausdinamas biopolimeras. Jis ypač pasižymėjo 2019 metais per koronaviruso ligos (COVID-19) pasaulinę pandemiją. Naudojant PLA sukurtos asmeninės apsaugos priemonės ir ventiliatoriaus modifikacijos. Buvo patvirtinta, kad PLA apsauginių kaukių struktūra yra tinkama ir gali būti laikoma pakankama barjerine apsauga nuo dalelių, kurių dydis atitinka mikroorganizmus, įskaitant ir virusus [25].

PLA tamprumo modulis yra panašus į kaulo ir pasižymi geru terminiu apdorojimu. Todėl PLA naudojama kaulinio audinio inžinerijoje [26].

Mokslininkai tyrė PLA nanopluoštą, pagamintą elektrinio verpimo metodu, kuriame yra tetraciklino hidrochlorido ir tetraciklino hidrochlorido / karboksilinto Fe_3O_4 (TCH / Fe_3O_4 -COOH) nanodalelių. Rezultatai parodė, kad tetraciklino hidrochlorido / karboksilinto Fe_3O_4 / PLA nanopluoštas turi stiprų antibakterinį aktyvumą prieš *E. coli* ir *S. aureus*, todėl gali būti panaudotas žaizdų tvarsčiams gaminti [27]. Kiti tyrėjai taip pat pasiūlė daugiasluoksnę PLA / halosito porėtą nanopluoštinę membraną,

sukurta elektroverpimo būdu. PLA / halosito nanopluoštinės membranos slopinimo zona buvo atitinkamai 16 mm *S. aureus* ir 30 mm *E. coli*. Šie rezultatai parodė, kad PLA / halosito daugiasluoksnė nanopluoštinė membrana pasižymi antimikrobiniu aktyvumu ir geromis mechaninėmis savybėmis [27].

Lėta PLA skilimo kinetika gali riboti šios medžiagos naudojimą. Prieš skilimą šis polimeras yra mažai hidrofiliškas, todėl baltymai ir ląstelės turi ribotą paviršiaus sąveiką su PLA, o jo hidrofobiškumas gali sukelti audinio uždegiminį atsaką. PLA degradacija taip pat gali būti vienas iš trūkumų, jei implantas yra skirtas nuolatiniam tvirtinimui ir naudojimui. Viename tyrime nurodyta, kad PLA gali platinti užkrečiamas ligas [24].

PCL yra vienas iš dažniausiai medicinos reikmėms naudojamų sintetinių polimerų. Taip yra dėl jo lėto biologinio skaidumo, terminio stabilumo, taip pat jis gali būti lengvai modifikuojamas. PCL yra biologiškai suderinamas polimeras, patvirtintas *Maisto ir vaistų administracijos*. PCL savybių derinys su nanopluoštinės struktūros savybėmis, atsirandančiomis dėl elektroverpimo, gali sukurti daug žadančią medžiagą įvairioms reikmėms, įskaitant regeneracinę mediciną [28].

Viena iš PCL panaudojimo sričių yra žaizdų gydymas. Mokslininkai paruošė PCL / kolageno membranas, skirtas žaizdoms gydyti. Vandens vilgymo kampo analizė parodė greitą vandens įsisavinimą, o tai rodo, kad paruošti pluoštai gali padidinti ląstelių sukibimą aplink paveiktą vietą. Taip pat buvo pastebėtas pagreitinėjęs ląstelių dauginimasis ir naujo epitelio susidarymas [28]. Kitame tyrime buvo sukonstruotas PCL / oktakalcio fosfato pluoštas, skirtas kaulinio audinio inžinerijai. Šiame tyrime buvo pastebėtas hidroksiapatito susidarymas ant pluošto paviršiaus. Žmogaus osteoblastai buvo pasėti ant pluošto ir pastebėtos osteogenezės savybės [29].

Literatūroje aprašomas PCL naudojimas širdies ir kraujagyslių ligų gydyme. Tyrėjai elektrinio verpimo būdu pagamino PCL nanopluoštą, kuris galėtų būti naudojamas širdies audinių inžinerijoje. Siekiant pagerinti PCL pluošto hidrofiliškumą, buvo pritaikytas plazminis apdorojimas deguonimi. Iš riebalų gautos kamieninės ląstelės buvo kultivuojamos ant pluošto, o po to iširta jų diferenciacija į miocitus ir jų biologinis elgesys. Buvo nustatyta, kad ląstelių diferenciacija į kardiomiocitus ant PCL pluošto yra daug didesnė nei ant atsitiktinių pluoštų. Dėl to galima teigti, kad šis pluoštas tinkamas širdies rekonstrukcijai [29]. Tiriant PCL ir želatinos nanopluoštus, kartu su širdies endotelio augimo faktoriumi, širdies ir kraujagyslių ląstelėms diferencijuoti buvo naudojamos mezenchiminės kamieninės ląstelės. Mezenchiminė kamieninė ląstelė buvo pasėta ant pluošto, kad būtų galima diferencijuoti širdies ląsteles. Rezultatai parodė, kad pluoštas padidina kamieninių ląstelių gebėjimą diferencijuoti širdies ląsteles ir gali būti naudojamas širdies rekonstrukcijoje [29].

Nors PCL pasižymi geromis mechaninėmis savybėmis, tačiau jo mažą bioskaidumą, prastą sukibimą su kitomis ląstelėmis bei mažą hidrofiliškumą, reikia pašalinti jį derinant su kitomis biomedžiagomis [29].

Kolagenas yra gausiausiai organizme aptinkamas baltymas. Jo randama visuose jungiamuosiuose audiniuose, kurie sudaro apie 20–30 % viso žinduolių kūno baltymų kiekio ir atlieka skirtingas funkcijas priklausomai nuo audinio tipo, kuriame jis randamas [26]. Kolagenas yra biologiškai skaidus, biosuderinamas, necitotoksiškas, skatina ląstelių prisitvirtinimą ir augimą bei gali būti perdirbamas į įvairias formas, tokias kaip plėvelės, hidrogeliai, nano- / mikropluoštai ir kiti. Kolagenas plačiai naudojamas kaip medžiaga odos, kaulų, kremzlių audinių inžinerijoje [26, 30].

Kolagenas gali būti išgaunamas iš įvairių audinių ir organizmų, įskaitant žinduolius, varliagyvius, žuvis ir paukščius [26].

Literatūroje pateikiamas tyrimas, kuriame kolagenas buvo ekstrahuojamas iš žuvis, siekiant pagaminti žaizdų tvarsčius. Ištyrus gauto kolageno imunogeniškumą bei pagaminto nanoplušto, kaip žaizdos tvarsčio, poveikį ląstelėms buvo patvirtinta, kad kolageno nanopluštai skatino pakartotinę epitelizaciją *in vivo* ir padidino žaizdų gijimo greitį [30].

Iš I tipo kolageno elektrinio verpimo būdu pagamintas pluoštas yra chemiškai ir vizualiai panašus į natūralią ekstraląstelinę matricą, esančią odoje. Dėl šios priežasties jis dažnai naudojamas žaizdų regeneracijoje ir odos audinių inžinerijoje. *In situ* sujungti kolageno ir chitozano nanopluštai buvo panaudoti angiogenezei ir epitelizacijai sustiprinti eksperimente su žiurkėmis [26].

Elektrinio verpimo būdu gautas kolageno pluoštas, taip pat, bandomas pritaikyti širdies ir kraujagyslių audiniams. Kolageno / PCL mišinys buvo naudojamas kaip kraujagyslių transplantas eksperimente su žiurkėmis. Transplantai buvo iš anksto implantuoti į pilvaplėvės ertmę, kad autologinės ląstelės prisitvirtintų, o tada įskiepyti į pilvo aortą. Prieš įskiepijimą transplantų sprogimo slėgis buvo didesnis nei 2000 mmHg, o mechaninis vientisumas išliko keturias savaites po implantacijos [26]. Tyrimų metu buvo patvirtinta, kad kolageno ir sintetinių polimerų pluoštai padidino audinių stiprumą, kartu išlaikant pakankamą biologinį suderinamumą.

Kaulų inžinerijos reikmėms buvo ištirta daug įvairių kolageno pagrindu pagamintų medžiagų. Kolageno, PCL ir hidroksiapatito mišinys buvo implantuotas į pažeistas vietas, atsiradusias žiurkės blauzdikauliuose. Po septynių dienų pradėjo formotis naujas kaulas [31]. Kolageno ir chitozano mišinys, buvo panaudotas esant kaukolės defektams eksperimente su žiurkėmis. Rezultatai parodė, kad naudotas mišinys palaikė naujo kaulo augimą ir palengvino kaulo regeneraciją [31].

Gryno kolageno skaidulos turi tam tikrų fizikinių ir cheminių savybių trūkumų, tokių kaip prastas terminis stabilumas, blogas tirpiklio stabilumas ir mažas mechaninis stiprumas, o tai gali apriboti jo panaudojimą. Todėl šių savybių gerinimas ir naujų kolageno šaltinių paieška yra temos, kurios sprendžiamos dėl galimybės panaudoti gryną kolageno nanopluštą regeneraciniėje medicinoje [30].

Želatina yra biopolimeras, gaunamas iš kolageno hidrolizės būdu. Kadangi želatina yra kolageno denatūracijos produktas, ji yra biologiškai skaidi, biosuderinama ir turi mažesnę antigeniškumą nei kolagenas. Dėl didelės molekulinės masės, želatina gali turėti skirtingas konfigūracijas, tokias kaip hidrogeliai, mikrosferos ar mikrodalelės. Želatiną galima lengvai derinti su daugybe natūralių ir sintetinių polimerų, skirtų širdies ir kraujagyslių, kaulų, akių, raumenų, kepenų ir odos defektams gydyti [32].

Moksliniai tyrimai patvirtino, kad elektrinio verpimo būdu gauti želatinos nanopluštai gali būti naudojami žaizdoms gydyti. Ant želatinos ir acto rūgšties pagaminto nanoplušto buvo pasėti žmogaus odos fibroblastai, keratinocitai ir mezenchiminės kamieninės ląstelės. Eksperimentas įrodė, kad jie prilimpa ir dauginasi, o tai rodo, kad nanopluštai nebuvo citotoksiški ir gali būti naudojami audinių inžinerijoje [32]. Tyrimas, atliktas su žiurkėmis *in vivo*, taip pat patvirtino želatinos potencialą audinių inžinerijoje. Pagaminti želatinos nanopluštai buvo lyginami su PCL nanopluštais ir kontroliniais tvarsčiais. Želatinos nanopluštai intensyviau skatino žaizdų gijimą, pagerino epitelizaciją, granuliacinio audinio susidarymą ir miofibroblastų formavimąsi žaizdos srityje [32].

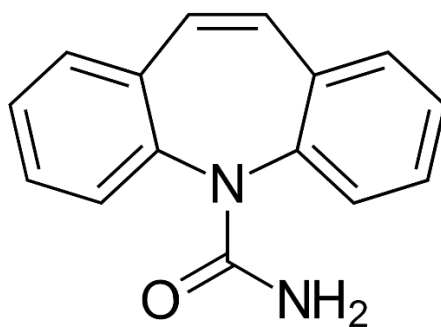
In vivo tyrimai yra būtini norint įrodyti pagamintų nanopluoštų potencialą. Buvo atliktas tyrimas su hidroksiapatito / PCL / želatinos nanopluoštu žiurkių kaukolės defektų gydymui. Tyrimo metu nustatyta, kad pradėjo formuotis naujas kaulas [33]. Nesugiję kaulų lūžiai sukelia ilgalaikį nedarbingumą ir skausmą. Neseniai buvo atlikti tyrimai dėl alternatyvių bioaktyvių medžiagų naudojimo kaulinio audinio inžinerijoje. Želatinos ir chitozano kompozitas buvo naudojamas siekiant padidinti kaulų regeneraciją eksperimente su žiurkėmis. Be to, buvo pastebėtas padidėjęs šarminės fosfatazės mRNA lygis, taip pat osteogeniniai ir angiogeniniai diferenciacijos žymenys [33].

Pagrindinis želatinos naudojimo trūkumas yra jos prastos mechaninės savybės, mažas terminis stabilumas ir santykinai trumpas skilimo greitis, todėl tai vis dar išlieka iššūkiu taikant ją regeneracinėje medicinoje. Be to, palyginti su kolagenu, želatina yra labai jautri kelioms proteazėms, todėl gali būti greičiau suskaidoma. Šiuos trūkumus galima pašalinti modifikuojant želatiną ir gaminant želatinos kompozitus, siekiant padidinti medžiagos mechaninį stabilumą, biosuderinamumą ir biologinį aktyvumą [34].

1.2.3. Funkcinės veikliosios medžiagos polimerinėse matricose

Funkcinių medžiagų pernašos sistemos yra daug žadančios priemonės farmacijos srityje, nes tokiu būdu galima maksimaliai padidinti tiekiamų vaistų gydymą poveikį ir sumažinti nepageidaujamą šalutinį poveikį. Pastaraisiais metais polimerinės matricos sulaukia vis didesnio dėmesio dėl savo unikalių savybių, tokių kaip biologinis suderinamumas ir platus pritaikomumas. Aktyvių medžiagų įkapsuliavimas į polimerinę matricą yra efektyvus būdas tiekti vaistus *in situ*. Tam gali būti naudojamos įvairios funkcinės medžiagos, pasižyminčios priešuždegiminiu, antibakteriniu, antioksidaciniu, antiepilepsiniu ar priešvėžiniu poveikiu, skirtos gydyti širdies ir kraujagyslių ligas, odos defektus, navikus ir kitus sutrikimus [35, 36].

CBZ (5H-dibenzo[b,f]azepin-5-karboksamidas) yra vienas dažniausiai vartojamų vaistų nuo epilepsijos. CBZ struktūrinė formulė pateikiama 1.4 paveiksle.



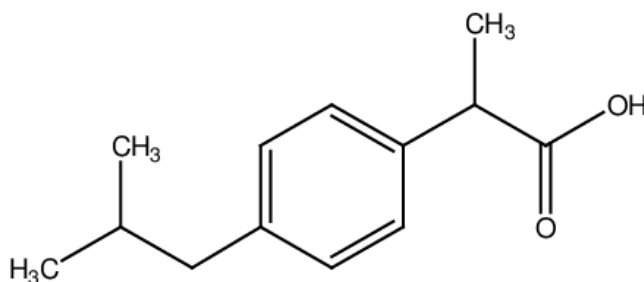
1.4 pav. CBZ struktūrinė formulė [37]

CBZ yra balti, beveik kristaliniai, mažai vandenyje tirpūs milteliai ir naudojami kaip pirmos kartos prieštraukulinis vaistas, kuris beveik 40 metų buvo naudojamas gydyti dalinius traukulius, trišakio nervo neuralgiją, maniakinę depresiją ir sprogstamąją agresiją [37].

CBZ šalutiniai poveikiai gali būti susiję su tokiomis dermatologinėmis reakcijomis kaip toksinė epidermio nekrolizė ir *Stevens-Johnson* sindromas. Aplastinė anemija ir agranulocitozė taip pat gali būti susijusios su CBZ vartojimu [37].

Gydant epilepsiją maždaug 70 % pacientų gali kontroliuoti šią ligą geriamaisiais vaistais, tačiau likę 30 % nereaguoja į geriamąjį gydymą. CBZ įkapsuliavimas į polimerinę matricą gali suteikti galimybę pacientams, nereaguojantiems į per burną vartojamus vaistus, implantuoti CBZ į smegenis. Tyrėjas Ramos‘as atliko bandymus su CBZ ir polimeru polipieno-ko-glikolio rūgštimi. Funkcinis junginys buvo sėkmingai įkapsuliuotas polimerinėje matricoje [37]. Šio tyrimo tikslas buvo suprojektuoti ir pagaminti elektrinio verpimo būdu pagamintus nanopluoštus, sudarytus iš polimero šerdies ir vaistu pakrauto polimero apvalkalo, skirtus epilepsija sergantiems pacientams. Šie nanopluoštai būtų implantuojami į smegenis pacientams, sergantiems epilepsija ir nereaguojantiems į geriamąjį gydymą [37].

Ibuprofenas, dar vadinamas 2-(4-izobutilfenil)propano rūgštimi, yra nesteroidinis vaistas nuo uždegimo, taip pat dažnai naudojamas kaip blogai vandenyje tirpus vaisto modelis. Jis pasižymi prieš uždegiminiu, nuskausminančiu ir karščiavimą mažinančiu poveikiu [36]. Šis vaistas turi nedidelį šalutinį poveikį, kuris dažniausiai apsiriboja lengva dispepsija, odos išbėrimu, transaminazių kiekio padidėjimu. Ibuprofenas yra vienintelis prieš uždegiminis vaistas, rekomenduojamas Pasaulio sveikatos organizacijos ir JAV FDA (maisto ir vaistų administracijos), tinkamas vaikams [36]. Ibuprofeno struktūrinė formulė pateikiama 1.5 paveiksle.

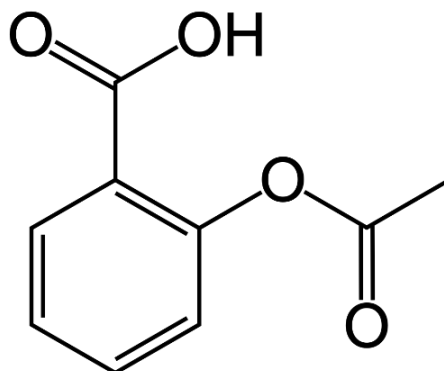


1.5 pav. 2-(4-izobutilfenil)propano rūgšties struktūrinė formulė [36]

Dėl lėto ir prasto tirpumo ibuprofenas dažnai naudojamas kietos dispersijos pavidalu. Kietoje dispersijoje ibuprofenas būna amorfinėje būsenoje. Tokioje būsenoje medžiagai reikia mažiau energijos ištirpti tirpiklyje, nei būnant kristalinėje būsenoje. Vienas iš metodų pasiekti tokią ibuprofeno būseną yra elektrinis verpimas [36].

Kaip ir kiti nesteroidiniai prieš uždegiminiai vaistai, ibuprofenas gali turėti rimtų šalutinių poveikių virškinimo traktui. Mokslininkai nustatė, kad padidinus ibuprofeno tirpumą naudojant jį kietos dispersijos pavidalu galima išvengti skrandžio dirginimo, kurį sukelia ibuprofeno kristalai, prilipę prie skrandžio membranos. Taigi amorfinio ibuprofeno stabilumo didinimas kietoje dispersijoje yra viena iš tyrimų sričių [36].

Aspirinas arba acetilsalicilo rūgštis yra plačiai naudojamas nesteroidinis prieš uždegiminis vaistas. Jis gali būti veiksmingas gydant širdies ligas, vėžį, artritą, veikti kaip analgetikas ir prieš uždegiminis vaistas. Dažniausiai pasireiškiantis šalutinis poveikis yra skrandžio veiklos sutrikimas. Taip pat gali atsirasti skrandžio opos, kraujavimas iš skrandžio ir paūmėjusi astma [35]. Aspirino struktūrinė formulė pateikiama 1.6 paveiksle.



1.6 pav. Acetilsalicilo rūgšties struktūrinė formulė [35]

Nustatyta, kad dėl savo priešūždegiminių savybių aspirinas lėtina natūralią odos regeneraciją. Šiuo atveju uždegimas turi didelę įtaką naujai besiformuojančiam audiniui, pavyzdžiui, kovojant su patogenais, tačiau aspirinas, trukdo uždegimui ir stabdo trombocitų agregaciją [35].

Klinikiniais tikslais nesteroidiniai vaistai nuo uždegimo yra plačiai naudojami karščiavimui, skausmui ir uždegimui malšinti, o tai yra dažniausiai pasitaikantys COVID-19 pacientų simptomai. Iš visų nesteroidinių priešūždegiminių vaistų aspirinas yra populiariausias per burną vartojamas vaistas, gydant pacientus sergančius COVID-19 infekcija. Tačiau aspirinas yra silpna rūgštis, todėl kai $\text{pH} < 3,5$, aspirinas dejonizuojasi ir tampa tirpus riebaluose. Tada jis gali difunduoti į gleivinės ląsteles ir pereiti į joninę formą, sukeldamas gleivinės ląstelių pažeidimą. Aspirino įkapsuliavimas į polimerinę matricą yra būdas, padėsiantis sumažinti gleivinės pažeidimus [38].

1.3. Polimerinių matricų gamybos būdai

Pagrindiniai polimerinių pluoštų paruošimo būdai: 3D spausdinimas, superkritinio putojimo procesas naudojant CO_2 , elektroverpimo technologija, tirpiklio liejimo ir dalelių išplovimo metodas ir kiti [39]. Šių metodų tikslas yra sukurti tinkamas mechanines savybes turinčius kompozitus, kurie sąveikautų su ląstelėmis ir skatintų jų diferenciaciją.

3D biospausdinimas yra sparčiai populiarėjanti technologija, plačiai naudojama audinių inžinerijoje. 3D spausdinimas suteikia galimybę nusodinti įvairių tipų biomedžiagas, ląsteles ir biomolekules sluoksniu po sluoksnio, tiksliai kontroliuojant erdvinį pasiskirstymą [40]. Biospausdinimas turi didelį potencialą pranokti tradicinius audinių inžinerijos metodus bei gali išspręsti daugelį egzistuojančių technologinių problemų [41]. Dėl tikslios dozatoriaus antgalio valdymo padėties trimatėje erdvėje yra galimybė preciziškai valdyti ir atpažinti skirtingų tipų ląsteles, todėl įmanoma sukurti sudėtingos struktūros audinius ir organus. Taip pat ši technologija yra automatizuota, todėl suteikia galimybę vykdyti masinę gamybą [41].

Nepaisant didelės pažangos ir daugybės pasiekimų, biospausdinimo technologija vis dar susiduria su rimtais iššūkiais. Didžiausias iššūkis yra galimybė spausdinti vidaus organų kraujagyslių hierarchinį tinklą, nuo arterijų ir venų iki kapiliarų, be kurių audiniai neišgyvens. Gaminant didelius audinių segmentus su dideliu tūriniu deguonies suvartojimu, pavyzdžiui, širdies ir kepenų audinius, reikia užtikrinti pakankamą deguonies kiekį, kad būtų išvengta maistinių medžiagų trūkumo ir audinių nekrozės. Šiuo metu kraujo kapiliarų gamyba yra apribota dėl per mažos skiriamosios gebos, kuri yra

apie 20 μm , o kraujo kapiliaras gali būti net 3 μm [41]. Vis dėl to tikimasi, kad ši technologija ateityje padės išspręsti organų ir audinių trūkumo problemą.

Tirpiklio liejimo ir dalelių išplovimo metodas yra kitas polimerinių matricų gamybos būdas. Jis gali būti naudojamas įvairiems polimerams, kurie yra tirpūs tirpiklyje, pavyzdžiui, metileno chloride arba chloroforme [39]. Polimeras ištirpinamas atitinkamame tirpiklyje, o po to netirpi druska sumaišoma su polimero tirpalu. Tirpikliui išgaravus, susidaro druskos–polimero kompozitas, kuris galiausiai nuplaunamas, kad būtų pašalintos druskos dalelės. Šis metodas gana paprastas ir nesudėtingas, nereikalaujantis specifinės ir brangios įrangos ir yra taikomas gaminant labai porėtas plėveles, kurių akytumas būna iki 95 %, ir kurių porų struktūra yra tarpusavyje susijusi. Be to, jis leidžia kontroliuoti galutinį poringumą, porų dydį ir tarpusavio ryšius, tinkamai parinkus polimerą, porogeną ir jų santykinį kiekį [42]. Tačiau šiuo metodu pavyksta gaminti tik plonas plėveles ir membranas, todėl negalima gauti 3D struktūrų [39].

Superkritinis CO_2 yra vienas iš gerai žinomų ekologiškų būdų naudojamų sukurti porėtas matricas audinių inžinerijos srityje. Superkritinis skystis sukuriama, kai medžiaga patenka į aplinką, kurioje viršijama jos kritinė temperatūra ir slėgis. Tokiu būdu yra sujungiamos dvejų fazių – skysčio ir dujų, savybės. Medžiagos tankis ir tirpimo savybės tampa panašios į skysčių, tačiau medžiagos difuziškumas ir klampumas yra panašūs į dujų. Šioje technologijoje nenaudojami pavojingi ir toksiški organiniai tirpikliai. Be to proceso metu palaikoma pakankamai neaukšta temperatūra (37 °C) ir slėgis (73,8 bar). Kitas reikšmingas šio metodo pranašumas yra galimybė tiksliai reguliuoti porėtumą tinkamai parenkant gamybos sąlygas: dujų tankį, tirpinimo slėgį ar putojimo temperatūrą [39]. Nepaisant akivaizdžių privalumų, yra tam tikrų šio metodo ribojimų. Gaunamos polimerinės matricos struktūros valdymas vis dar negali prilygti 3D spausdinimui, o polimerų tipų, kuriems gali būti taikomas superkritinis CO_2 , diapazonas kai kuriose srityse gali būti ribotas, ypač kai reikalingas didelis mechaninis stiprumas [39]. Todėl vis dar reikalingas tolimesnis šio proceso optimizavimas.

Nanopluoštas tampa vis populiarene priemone naudojama vaistų pernašos sistemose. Jis gali būti gaunamas elektrinio verpimo būdu. Elektrinis verpimas yra paprastas ir universalus būdas, naudojant elektrostazines jėgas, gaminti mikro- ar nanodalelių dydžio polimerinį pluoštą. Ši technika pritaikoma pluoštų gamybai iš skirtingų polimerų – sintetinių, natūralių, biologiškai skaidžių, nesuyrančių arba įvairių polimerų mišinių. Nors yra ir kitų įprastų polimerinio pluošto gamybos būdų, elektrinis verpimas išsiskiria savo lengva atlikimo technika, ekonomišku ir nesudėtinga įranga, o gautas polimerinis pluoštas turi didelį paviršiaus plotą ir tūrio santykį, didelį poringumą, geras mechanines savybes, skaidumą [2]. Didžiausius šio metodo trūkumus lemia naudojami toksiški tirpikliai bei aukšta įtampa, kuri, nesilaikant saugaus darbo taisyklių, gali būti pavojinga [5].

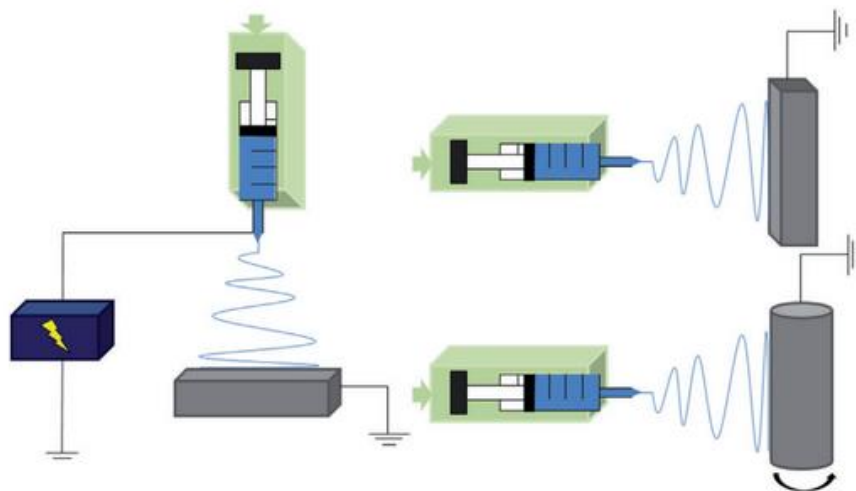
Vaistų pernašos sistemos, gautos iš elektrinio verpimo būdu suformuotų nanopluoštų, yra pakankamai nauja strategija. Šiuo būdu daugybė vaistinių medžiagų, įskaitant mažos molekulinės masės vaistus ir biologines medžiagas, tokias kaip antibiotikai, baltymai, DNR, RNR, hormonai ir gyvos ląstelės, įtraukiamos į elektrinio verpimo pluoštus arba įkapsuliuojamos, pavyzdžiui, sumaišymo elektriniu verpimu, emulsiniu elektriniu verpimu, koaksialiniu elektriniu verpimu arba paviršiaus modifikavimo elektriniu verpimu [43].

Elektriniu verpimu gauti nanopluošto siūlai yra tinkami vietinių, transderminių ir geriamųjų vaistų tiekimui. Be to, elektriniu būdu pagaminti nanopluoštai pasižymi išskirtinėmis savybėmis kontroliuojant vaistų išskyrimo greitį, keičiant sistemos kompoziciją, pavyzdžiui, naudojant

hidrofilines ir hidrofobines medžiagas, keičiant homogeninę struktūrą, branduolio–apvalkalo struktūrą ar kuriant daugiasluoksnę struktūrą [44].

1.3.1. Įranga ir atlikimas

Elektrinio verpimo įrangą sudaro trys pagrindinės dalys: elektros tiekimo šaltinis, kuris generuoja aukštą įtampą, polimero tirpalo tiekimo įrangos dalis, kurią sudaro švirkštas su metaline adata, užpildyta polimero tirpalu bei siurblys, skirtas polimero tirpalo srauto reguliavimui, ir įžemintas kolektorius, paprastai pagamintas iš aliuminio folijos. Elektrinio verpimo įrangos schema pateikta 1.7 paveiksle.



1.7 pav. Elektrinio verpimo įrangos schema su statiniu (viršuje) ir besisukančiu kolektoriumi (apačioje) [43]

Elektrinio verpimo metu polimero tirpalas ar lydas yra švirkščiamas į adatos galą ir sukuriamas elektrinis laukas tarp adatos galiuko ir kolektoriaus lėkštelės, tiekiant aukštą įtampą į sistemą. Kai elektrinis laukas įveikia paviršiaus įtempimą skysčio lašelyje, lašas įgauna Taylor'o kūgio formą. Pluoštas sukasi retrostatiniame lauke ir tempiasi. Pluošto tempimo poveikis nuolat mažina skersmenį. Kai yra pasiekiami norimi siūlo parametrai, pluoštas nusodinamas ant paviršiaus ar kolektoriaus plokštelių [43].

1.3.2. Elektrinio verpimo metodai

1.3.2.1. Sumaišymo elektrinis verpimas

Vaistinio agento maišymas su tinkamu polimeriniu tirpalu išlieka vyraujančiu vaistų įkapsuliavimo į nanopluoštus metodu. Naudojant šį elektrinio verpimo metodą, vaisto kapsulė suformuojama per vieną kartą, nes vaistinė medžiaga yra ištirpinta arba išsklaidyta polimeriniame tirpale. Polimero tirpalo ir funkcinio junginio tarpusavio sąveikai įtakos turi polimero fizikocheminės savybės. Šios savybės yra veiksnys, lemiantis vaistų įkapsuliavimo efektyvumą, vaistų dispersiją ir atpalaidavimą [44].

Li' s su mokslo grupe atliko tyrimą, kurio metu temperatūrai jautrus polimeras polidietilenglikolio metileterio metakrilatas buvo sumaišytas su etilceliulioze ir elektrinio verpimo būdu susuktas į pluoštą. Buvo pagaminti tiek tušti polimeriniai pluoštai, tiek su vaistu ketoprofeno. *In vitro* vaisto išskyrimo tyrimai parodė, kad ketoprofenas buvo atpalaiduotas maždaug per 100 valandų. Be to, buvo

nustatyta, kad medžiagos turi gerą biologinį suderinamumą su L929 fibroblastais. Taigi šiuo metodu paruoštas pluoštas turi potencialo būti panaudotas vaistų tiekimo sistemose [45].

Analogiškas tyrimas buvo atliktas su polimeru poli-N-izopropilakrilamidu, kuris buvo ištirpintas pH jautriame polimere „Eudragit® L100-55“ (EL100-55) ir perdirtas į pluoštą naudojant elektrinį verpimą. Ketoprofenas, kaip pavyzdinis vaistas, buvo įkapsuliuotas į pluoštą. FTIR (Furjė transformacinė infraraudonųjų spindulių) spektroskopija, *in vitro* vaistų atpalaidavimo tyrimai, MTT tyrimai parodė, kad šis metodas ir medžiagų kompozija galėtų būti panaudojami vaistų atpalaidavimo sistemose ir audinių inžinerijoje [46].

1.3.2.2. Koaksialinis elektrinis verpimas

Pagrindinis koaksialinio elektrinio verpimo tikslas yra gauti branduolio–apvaskalo struktūros pluoštus. Šis metodas leidžia įkapsuliuoti vaistus į pluošto šerdį – tokiu būdu galima kontroliuoti vaistų išsiskyrimą. Šiuo būdu gauti pluoštai pasižymi dideliu paviršiaus plotu ir turi trimatį tinklą [44].

Antibiotikai, baltymai, augimo faktoriai, ir kiti biologiškai aktyvūs junginiai buvo sėkmingai įsodinti į koaksialinius pluoštus. Vienas iš pagrindinių šios technikos privalumų yra tas, kad branduolio–apvaskalo struktūra apsaugo įkapsuliuotą junginį ir išlaiko jo bioaktyvumą [44].

Koaksialinio elektrinio verpimo būdu gauti pluoštai buvo panaudoti kaulų regeneracijoje kaip vaistų pernašos sistema. Rekombinantinis žmogaus morfogenetinis baltymas buvo išmirkytas polietilenglikolyje formuojant branduolį, o iš PCL buvo suformuotas jį supantis apvaskalas. Šio tyrimo rezultatai parodė baltymo išsiskyrimą 24 dienas stabilu 500 g per parą greičiu ir padidėjusią osteogeninio geno ekspresiją kaulų čiulpų mezenchiminėse kamieninėse ląstelėse. Baltymas buvo išskiriamas biologiškai aktyvesnis, kai jį saugojo apvaskalas [47].

Kitame darbe mokslininkai ištyrė acetaminofeno išsiskyrimo kinetiką per nanopluoštus, pagamintus koaksialinio elektrinio verpimo būdu. Branduolį sudarė polivinilpirolidonas (PVP), o apvaskalą – etilceliuliozė. Pluošto sintezės proceso stabilumui ir efektyvumui pagerinti buvo naudojamas teflonu padengtas verpimo įrankis, o branduolio tirpalas buvo elektriniu būdu sukamas virš neelektroninio suverpto branduolio skysčio, tokiu būdu suteikiant linijinę morfologiją ir aiškią struktūrą. Tyrimas atskleidė kontroliuojamą vaisto išsiskyrimą [48].

Taigi koaksialinis vaisto įkapsuliuojimas į polimerą neleidžia vaistui per greitai atsipalaiduoti, nes apvaskalas veikia kaip išorinis barjeras, o pagrindinis trūkumas yra parametų optimizavimo sudėtingumas.

1.3.2.3. Emulsinis elektrinis verpimas

Emulsinis elektrinis verpimas yra lanksti ir potenciali vaistų įkapsuliuojimo į nanopluoštus metodika ir yra vienas iš svarbiausių būdų kaip rentabiliai ir efektyviai paruošti branduolio–apvaskalo struktūros nanopluoštus. Gaminant emulsiją aliejaus fazė susidaro naudojant vaistą arba vandeninį baltymų tirpalą hidrofobiniame polimero tirpale. Elektrinio verpimo pabaigoje biomolekulėmis užpildyta fazė pasiskirsto pluošte [43].

Naujausi tyrimai parodė, kad emulsijos pagrindu pagaminti nanopluoštai gali padėti pasiekti didesnę bioaktyviųjų junginių įkapsuliuojimo efektyvumą, biologinį prieinamumą bei stabilumą, taip pat tikslingai

vaisto tiekimą ir kontroliuojamą atsipalaidavimą [49]. Tai ypač patrauklus metodas maisto pramonėje.

Kitame darbe nanopluoštas buvo pagamintas iš metformino hidrochlorido arba metoprololio tartrato ir poli- ϵ -kaprolaktono arba poli-3-hidroksibutirūgšties-ko-3-hidroksivalerio rūgšties. *In vitro* tyrimai parodė, kad emulsinio elektrinio verpimo būdu paruošti nanopluoštai sukėlė ilgalaikį vaistų išsiskyrimą. Šis tyrimas patvirtino, kad emulsinis elektrinis verpimas gali būti efektyvesnė technika nei įprastas mišinio elektrinis verpimas, ypač modeliuojant vaisto išsiskyrimo savybes [50].

1.3.2.4. Paviršiaus modifikavimo elektrinis verpimas

Šioje metodo variacijoje konkretus laidus paviršius gali būti chemiškai modifikuotas. Dažniausiai šis metodas taikomas siekiant sulėtinti antibiotikų imobilizacijos ant tam tikro paviršiaus greitį ir išvengti per greito pradinio medžiagų atsipalaidavimo. Turint gerą elektrinio verpimo sistemą ir gerai standartizuotą metodą, galima 3D paviršius padengti nanodalelėmis arba vienalyčiais paviršiais [44]. Tais atvejais, kai vaisto negalima imobilizuoti dėl to, kad vaistas turi būti endocitozuotas arba sąveikauja su ląstelės branduoliu, jo išsiskyrimo greitį būtų galima tiksliai kontroliuoti įvedant medžiagas, kurios reaguotų į vietinius išorinius veiksnius. To galima pasiekti įvedant hidrofobines funkcinės grupes ant nanopluošto paviršiaus [44].

1.3.2.5. Elektrinis purškimas

Elektriniu purškimu galima gauti mikro- ar nanodalelių dydžio medžiagas, pagamintas iš polimero, esančio tirpale su laidžiu tirpikliu. Ši technika pagrįsta panašiu principu kaip elektrinis verpimas, tačiau skirtumas tarp šių dviejų būdų yra tirpalo savybių, tokių kaip koncentracija, tirpiklis, klampa, ir proceso parametrų, pavyzdžiui, srauto greičio, atstumo nuo adatos galiuko iki kolektoriaus ir įtampos, keitimas. Be to, elektrinio purškimo metu iš Taylor'o kūgio susidarant siūlui, dėl parametrų pokyčių srovė gali jį suskaidyti į skirtingo dydžio ir formos lašelius [51].

Kontroliuojamas antimikrobinų medžiagų išsiskyrimas gali sumažinti gydymo dažnumą, dėl kurio sumažėja atsparumas vaistams. Šiuo tikslu keli antimikrobinėmis savybėmis pasižymintys junginiai buvo įkapsuliuoti į elektriniu purškimu gautas daleles ir parodė veiksmingumą tiek *in vitro*, tiek *in vivo* sąlygomis [52].

Geriamųjų vaistų vartojimas yra sudėtingas dėl tokių veiksnių kaip pH lygis, didelis skaidančiųjų fermentų kiekis ir nenutrūkstamas gleivinės sluoksnis visame virškinimo trakte. Buvo atliktas tyrimas, kuriame omeprazolas buvo įkapsuliuotas į *Eudragit L 100–55* daleles. Citotoksiškumas Caco-2 žarnyno epitelio ląstelėse 24 valandas buvo žymiai mažesnis, palyginti su kontroliniais bandiniais. Vėliau, praėjus 36 ir 48 valandoms, dalelės, kurių vaisto ir polimero santykis buvo mažesnis, taip pat parodė sumažėjusį citotoksiškumą, palyginti su kontrolinėmis [52].

Elektropurškimo būdas gali būti naudojamas maisto pramonėje ir maisto pakuočių gamyboje, įkapsuliuoti antioksidantus, baltymus, maisto priedus ar audinių inžinerijoje [51].

1.3.2.6. Koaksialinis elektrinis purškimas

Koaksialinis elektrinis purškimas leidžia gaminti daugiasluoksnės daleles, kurių dydis svyruoja nuo 10 iki 100 μm . Tam naudojamas aukštos įtampos elektrinis laukas tarp koaksialinės kapiliarinės adatos ir kolektoriaus. Taikant šią techniką, atsiradęs elektros šlyties įtempis pailgina branduolį ir

apvalkalą ant adatos išleidimo angos, kad susiformuotų Taylor'ο kūgis. Po to skysčio srautas pakankamai pailgėja ir dėl elektrohidrodinaminių jėgų jis suskaidomas į daugiasluoksnius lašelius [44].

Šiuo metodu galima kontroliuoti branduolio–apvalkalo struktūrą ir apsaugoti jautrius terapinius komponentus nuo denatūracijos. Be to, šis procesas yra pritaikomas masinei įkapsuliuotų mikro- ir nanodalelių gamyboje [44].

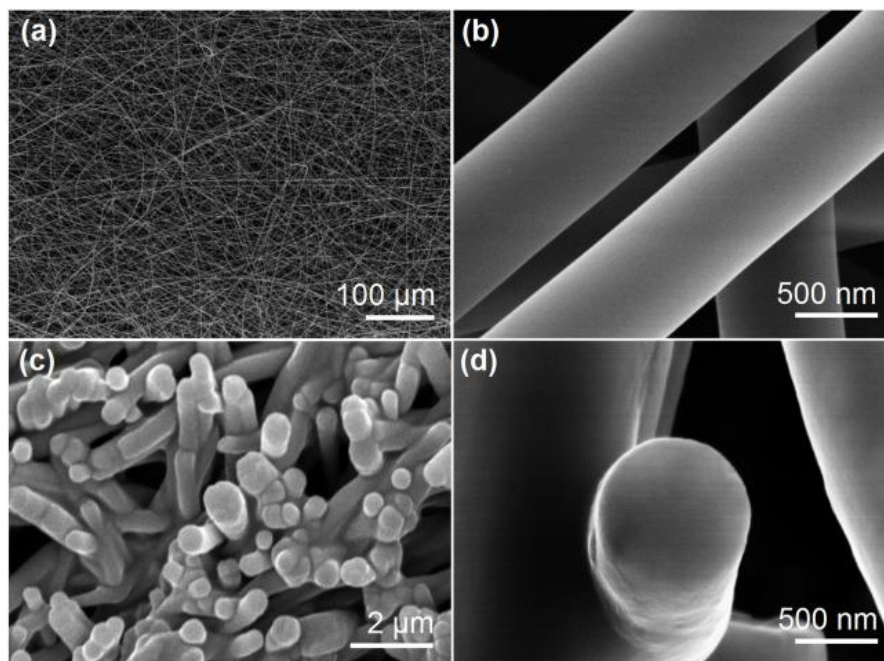
Viename moksliniame tyrime yra aprašomas šio metodo panaudojimas superparamagnetinių geležies oksido nanodalelių įkapsuliuojime. Nanodalelės buvo įkapsuliuotos 0,65–1,2 μm skersmens dalelėse, o vaistų įkapsuliuojimo efektyvumas buvo apie 92 %. Gauti rezultatai patvirtino, kad galima naudoti koaksialinį elektrinį purškimą kaip efektyvų būdą įkapsuliuoti superparamagnetines geležies oksido nanodaleles kartu su kitais jautriais vaistais [53].

Kitame tyrime chitozanas ir alginatas buvo pasirinkti atitinkamai branduoliui ir apvalkalui. Atliekant paviršiaus atsako metodą, buvo nustatyti optimalūs chitozано / alginato dvigubo sluoksnio paruošimo parametrai. Šiame darbe sėkmingai sukurtas naujas ir universalus būdas efektyviai gaminti dvisluoksnės pernašos sistemas, kurios būtų skirtos bioaktyvių junginių, turinčių skirtingas fizines ir chemines savybes, pernašai [54].

1.4. Suformuotų polimerinių matricių tyrimų apžvalga

Elektrinis verpimas yra vienas iš plačiausiai naudojamų nano- / mikrodalelių ir nano- / mikropluošto gamybos metodų. Keičiant aplinkos sąlygas, tirpalo savybes ar prietaiso parametrus, išgaunamos skirtingos pluošto savybės, todėl galima tiksliai reguliuoti su funkcionalumu susijusias galutinio produkto charakteristikas. Toliau bus pateikiama elektroverpimo metodo apžvalga, skiriant dėmesį tolesniam jo taikymui vaistų pernašos sistemose arba audinių regeneracijos tikslams.

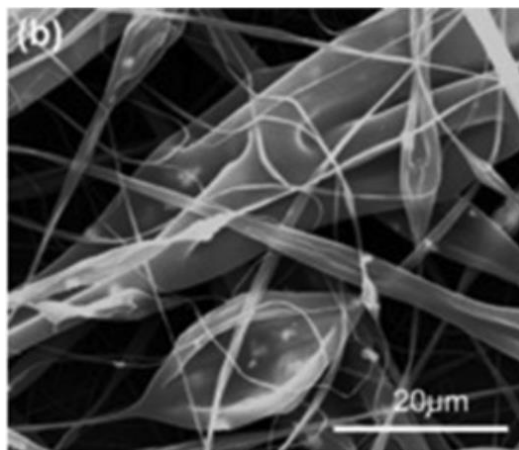
Vienas iš mokslininkų tikslų yra padidinti blogai vandenyje tirpaus vaisto tirpumą, naudojant polimerinę matricę ir elektrinio verpimo metodą. Atliktame tyrime elektrinio verpimo būdu buvo gaminamas PVP nanopluoštas, kuriame yra įkapsuliuota funkcinė medžiaga – ibuprofenas. Nanopluoštui paruošti buvo naudojamas tyrėjų sukonstruotas elektrinio verpimo įrenginys. Parinktas srauto greitis 5,0 ml/h, įtampa – 14,0 kV, o atstumas tarp adatos ir kolektoriaus nustatytas 20 cm. Pluošto struktūrai identifikuoti naudotas SEM metodas. Gauta nanopluošto gijų vidutinis skersmuo 740±130 nm. Gijos turėjo linijinę morfologiją, lygų paviršių ir skerspjūvį, kaip patvirtina SEM nuotraukos [36]. SEM nuotraukos pateiktos 1.8 paveiksle.



1.8 pav. SEM nuotraukos: (a) ir (b) paviršiaus morfologija esant skirtingam didinimui; (c) ir (d) skerspjūvis esant skirtingam didinimui [36]

Siekiant patikrinti funkcinės medžiagos atsipalaidavimo iš polimerinės matricos gebą buvo naudojami poliarizuotos mikroskopijos, dirbtinio liežuvio, lašo formos analizės bei *in vitro* tirpumo metodai. Gauti rezultatai parodė, kad hidrofiliinio polimero sinergetinis poveikis, didelis elektrinio verpimo būdu gauto nanopluošto gijų paviršius ir poringumas bei amorfinė vaisto būseną padidino ibuprofeno tirpumą. Greitas jo ištirpimas ir veikimas yra vieni iš farmacijos tikslų [36].

Svarbiausia žaizdų tvarsčių savybė yra antibakterinis poveikis. Literatūroje yra daug įrodymų, kad elektrinio verpimo būdu pagaminti nanopluoštai, gali būti naudojami šiam tikslui. Tyrime buvo gaminami Januso žaizdų tvarsčiai naudojant PVP ir etilceliuliozę kaip polimerinę matricą, kurioje iš abiejų pusių įkapsuliuotas ciprofloksacinas ir sidabro nanodalelės. Ciprofloksacinas yra populiarus antibiotikas. Jo antibakterinis spektras apima gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas, todėl jis veiksmingas nuo įvairių bakterinių infekcijų [55]. Taip pat žinoma, kad sidabro nanodalelės turi platų antimikrobinį aktyvumą, nes geba sunaikinti bakterijų membraną ir DNR. Šiame tyrime buvo pagaminti du monolitiniai ir keturi Januso pluoštai. Gautų nanopluoštų morfologija buvo stebima naudojant SEM. SEM ir transmisinės elektronų mikroskopijos vaizdai parodė, kad Januso nanopluošto gijos yra lygios ir vientisos struktūros [55]. SEM nuotraukos pateiktos 1.9 paveiksle.

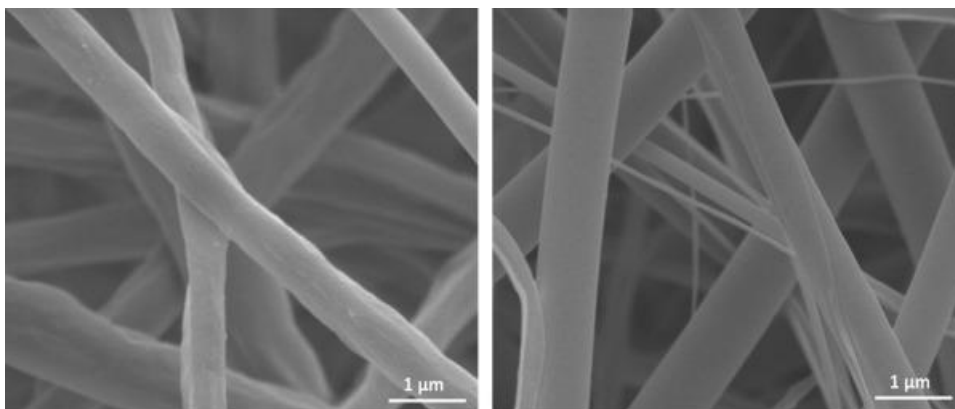


1.9 pav. SEM nuotraukos ir nanopluosto gijų skersmens pasiskirstymas [55]

Rentgeno spindulių difrakcijos analizė patvirtino, kad ciprofloksacinas ir sidabro nanodalelės buvo sėkmingai įkapsuliuoti į Januso struktūros pluoštą, o ciprofloksacinas buvo amorfiškai pasiskirstęs pluošte dėl gero jo ir PVP cheminio suderinamumo. Nanopluoštų antibakterinis aktyvumas tirtas eksperimentuose naudojant *S. aureus* ir *E. coli* bakterijas. Antibakteriniai tyrimai parodė, kad PVP-ciprofloksacino / etilceliuliozės-sidabro nanodalelių Januso nanopluostas gebėjo efektyviausiai slopinti bakterijų augimą [55].

Tyrimo metu padaryta išvada, kad pagaminto pluošto PVP–ciprofloksacino pusė suteikia stiprų antibakterinį poveikį dėl greito ciprofloksacino išsiskyrimo, o etilceliuliozės-sidabro nanodalelių pusė užtikrina ilgalaikį antibakterinį poveikį. Šios struktūros pluoštas yra daug žadantis kandidatas veiksmingiems žaizdų tvarsčiams gaminti [55].

Ragenos įbrėžimas yra defektas atsiradęs ant priekinės akies dalies galintis sukelti ragenos infekciją ir net apakimą, ypač jei įbrėžimas prasiskverbia į gilesnius ragenos sluoksnius. Taip pat tikėtina, kad pažeidimo vietoje gali atsirasti bakterijų, kurios sukelia opų susidarymą. Tyrėjų tikslas buvo sukurti efektyvų gydymo būdą, kuris kartu mažintų įbrėžimą ir randų susidarymą bei užkirstų kelią bakterijų dauginimuisi. Šiam tikslui buvo naudojamas koaksialinio elektrinio verpimo metodas. Buvo paruošta poli-d,l-laktido-ko-glikolido (PLGA) polimerinė matrica su įkapsuliuotu pirfenidonu ir PVP matrica su įkapsuliuotu moksifloksacinu. Pirfenidonas yra antifibrozinis, priešuždegiminis ir antioksidacinis vaistas, patvirtintas idiopatinės plaučių fibrozės gydymui, o moksifloksacinas yra ketvirtos kartos fluorochinolonų grupės antibiotikas, pasižymintis stipriu antibakteriniu poveikiu. Mėginiai buvo analizuojami naudojant įvairius atvaizdavimo, spektroskopinius ir terminius metodus, taip pat buvo atlikta didelio efektyvumo skysčių chromatografijos analizė, leidžiantis išmatuoti abiejų vaisto komponentų koncentraciją tiek pradiniuose pluoštuose, tiek atpalaiduojant funkcines medžiagas. Pluoštų paviršiaus morfologijos analizei naudota SEM. SEM rezultatai parodė, kad ir tuščias, ir vaistu užpildytas pluoštas turėjo lygų, be granulių ir neakytą paviršių, be aiškių vaisto kristalų (1.10 paveikslas) [56].



1.10 pav. Tuščių (kairėje) ir vaistu pakrautų (dešinėje) PLGA / PVP koaksialinių gijų paviršiaus morfologija [56]

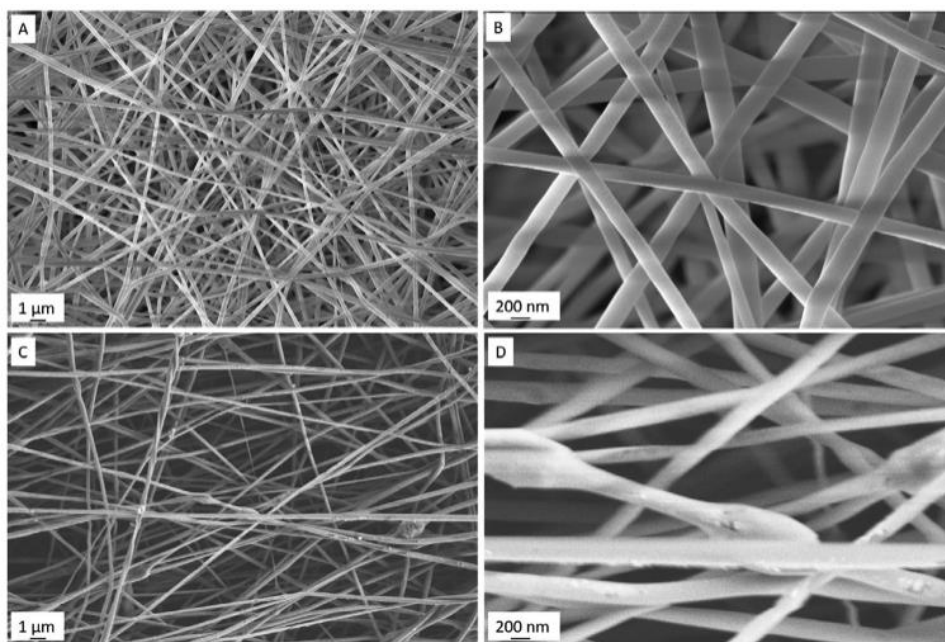
Pluošto porėtumas ir šiurkštumas gali pagreitinti funkcinės medžiagos išsiskyrimo greitį. Vaisto atpalaidavimo tyrimas parodė, kad pifrenidonas visiškai išsiskiria maždaug po 2 valandų, 60 % moksifloksacino išsiskyrė po 30 minučių, o likę 40 % buvo įstrigę gijų šerdyje [56].

Gauti rezultatai patvirtino, kad pagamintas pluoštas geba atpalaiduoti abi funkcines medžiagas, todėl yra daroma išvada, kad galima vartoti vieną paros dozę tokios struktūros kompozito ragenos defektams gydyti [56].

Krūties vėžys yra pagrindinė vėžio forma, nuo kurios miršta moterys [57]. Chemoterapija yra vienas iš labiausiai paplitusių metodų įvairių tipų vėžiui gydyti. Chemoterapija galima taikyti visam organizmui arba tiesiogiai į naviko vietą. Vietinė chemoterapija turi pranašumų, nes koncentruota vaisto dozė patenka tiesiai į naviko vietą ir taip sumažinamas šalutinis poveikis, susijęs su vaisto citotoksiškumu, kai vaistas cirkuliuoja visoje kraujotakos sistemoje. Be to, dėl fermentinio ar hidrolizinio skaidymo gali sumažėti vaisto patekimas į tikslinę vietą. Paklitakselis yra priešvėžinis vaistas, naudojamas chemoterapijoje. Norint sumažinti paklitakselio citotoksiškumą, mokslininkai kartu naudoja ir kitus vaistus, pavyzdžiui, kurkuminą, kuris yra natūralus ir saugus vaistas nuo vėžio [57].

Šiame darbe tyrėjai paruošė disperguotą ir deguonies praturtintą grafeno oksido nanonešiklį (O-PCH-g-HPG), kuriame įkapsuliavo du funkcinius junginius – paklitakselį ir kurkuminą. Gautas nanonešiklis buvo įkapsuliuotas į polimero pululano nanopluoštą elektrinio verpimo būdu [60].

Pluošto gijų morfologijai ir struktūrai patvirtinti buvo naudojamos SEM, FTIR ir UV-Vis analizės, kurios patvirtino nanonešiklio buvimą ir pasiskirstymą nanopluošto viduje [57]. SEM nuotraukos pateiktos 1.11 paveiksle.

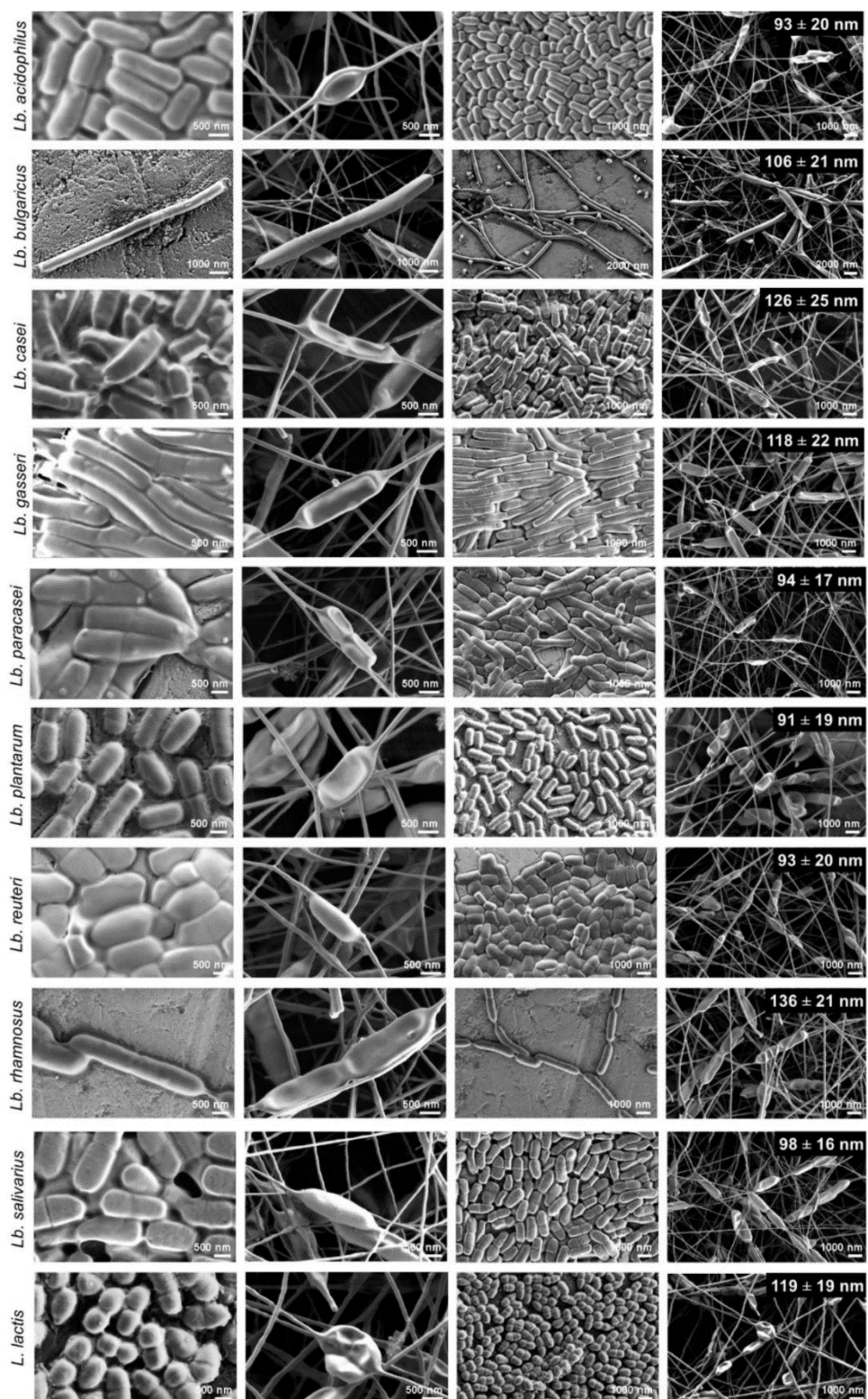


1.11 pav. SEM nuotraukos pululano nanoplūšto (A, B) ir pululano nanoplūšto su įkapsuliuoto nanonešikliu (C, D). (B) ir (D) padidintos (A) ir (C) nuotraukos [57]

Paklitakselio ir kurkumino atsipalaidavimui iš plūšto tirti taikytas dializės metodas, kuris parodė, kad abiejų vaistų naudojimas viename plūšte padidino kurkumino išsiskyrimą. Remiantis MTT tyrimu ir optine mikroskopija, buvo pastebėtas sinerginis paklitakselio ir kurkumino poveikis prieš MCF-7 krūties vėžio ląsteles, slopinant jų dauginimąsi [57].

Gauti tyrimo rezultatai patvirtina, kad nanoplūšto su įkapsuliuotu nanonešikliu sistema gali būti taikoma vietiniai chemoterapijai [57].

Zupančićius su grupe ištyrė polietileno oksido pagrindu pagamintą nanoplūštą, kuriame buvo įkapsuliuotos pieno rūgšties bakterijos. Dalis tyrime naudotų bakterijų buvo patvirtinti probiotikai. Probiotikai yra gyvi mikrobai, kurie turi teigiamą poveikį sveikatai. *Lactobacillus* probiotikai paprastai vartojami per burną gydant skirtingas žarnyno ligas: ūminį gastroenteritą, nekrozinį enterokolitą, antibiotikų sukeltą viduriavimą ir uždegimines žarnyno ligas [58]. Be to, šie probiotikai gali gydyti ne tik žarnyno ligas, bet ir šlapimo takų infekcijas, periodonto ligas ir bakterinę vaginozę. Darbe buvo ištirta devynių skirtingų *Lactobacillus* ir vienos *Lactococcus* rūšių morfologija, zeta potencialas, hidrofobiškumas, vidutinė ląstelių masė ir augimo charakteristikos. SEM analizė patvirtino, kad bakterijos buvo sėkmingai įkapsuliuotos gijose, nes plonuose, apie 100 nm storio nanoplūštuose yra matomi vietiniai sustorėjimai (1.12 paveikslas) [58].

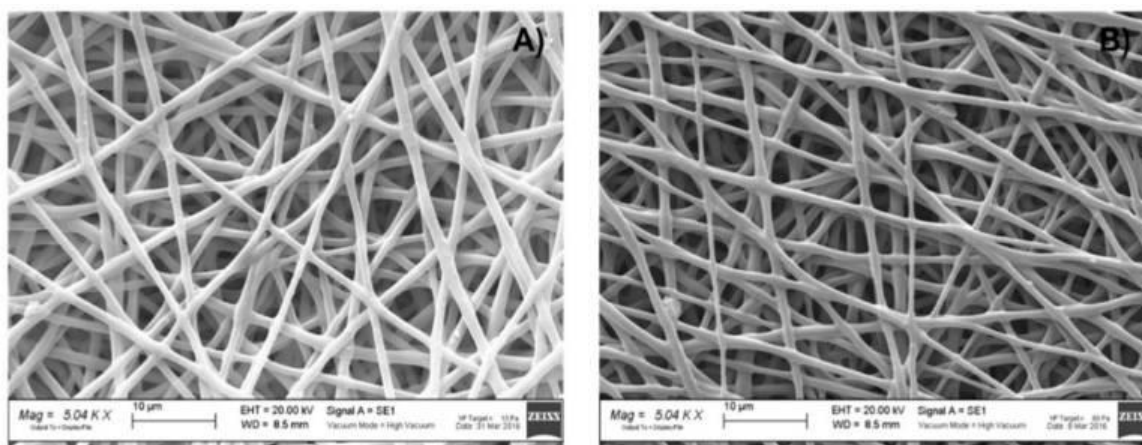


1.12 pav. SEM nuotraukos pieno rūgšties bakterijų, išdžiovintų iš vandens dispersijos, (1, 3 stulpeliai; atitinkamai esant dideliam ir mažam didinimui) ir nanopluošte įkapsuliuotų bakterijų (2, 4 stulpeliai; esant dideliam ir mažam didinimui) [58]

Visos pieno rūgšties bakterijos buvo gyvybingos po įkapsuliavimo į nanopluoštus, o jų gyvybingumas sumažėjo nuo 0 iki 3 log CFU/mg, priklausomai nuo rūšies. Bakterijų išgyvenamumas skyrėsi ir aiškiaus ryšio tarp išgyvenamumo ir išmatuotų parametrų nepastebėta. Tai rodo, kad prognozuoti bakterijų išgyvenimą elektrinio verpimo proceso metu yra sudėtinga ir kiekvienos konkrečios bakterijų padermės formulę reikia optimizuoti atskirai. Tačiau gyvybingumas priklausė nuo pieno

rūgšties bakterijų hidrofobiškumo ir ilgio. Taigi elektrinis verpimas ir sukurtos pernašos sistemos gali būti naudojamos pieno rūgšties bakterijoms patekti į gleivinės paviršius, tokius kaip burnos, nosies ar makšties [58].

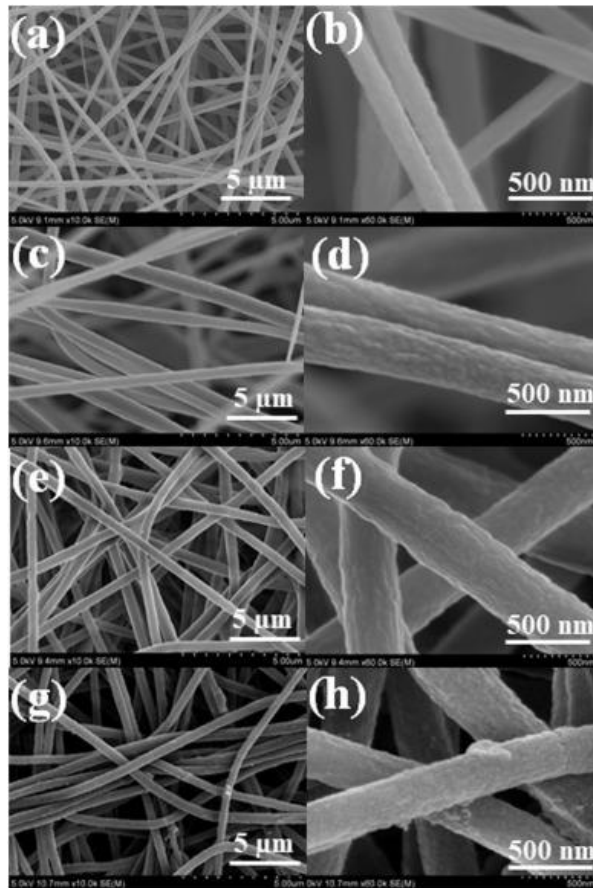
Pisani's su kitais mokslininkais ištyrė elektroverpimo būdu pagamintus nanopluoštus, kurie naudojami kaip antibiotikų atpalaidavimo sistemos, užkertančios kelią bakterijų bioplėvelės susidarymui po chirurginės operacijos. Jų darbe gentamicino sulfatas buvo įkapsuliuotas į polilaktido-ko-polikaprolaktono nanopluoštą, panaudojant elektrinį verpimą. Vietinis gentamicino sulfato vartojimas gali sukelti šalutinius poveikius, tokius kaip ototoksiškumas ir toksiškumas inkstams, todėl vaisto tiekimas per polimerinę matricą, kontroliuojančią vaisto išsiskyrimą, yra daug žadantis metodas. SEM nuotraukos parodė, kad į polimerinį tirpalą įdėjus gentamicino sulfato, pluoštų morfologija nepakito (1.13 paveikslas) [59].



1.13 pav. SEM nuotraukos: PLA–PCL elektroverpimo būdu gautas pluoštas (A); polilaktido-ko-polikaprolaktono / gentamicino sulfato elektroverpimo būdu gautas pluoštas (B) [59]

Pluoštai turėjo lygų paviršių, taip pat nepastebėta gentamicino sulfato kristalų. *In vitro* vaisto atsipalaidavimo profiliai buvo tiriami statinėmis ir dinaminėmis sąlygomis. Gentamicino sulfato išsiskyrimo iš nanopluošto kinetika buvo tirama naudojant matematinius modelius. Atliktas preliminarus mikrobiologinis tyrimas parodė antimikrobinį aktyvumą prieš *S. aureus* ir *E. coli*, o gautos mikrobicidinio poveikio reikšmės buvo pakankamai didelės. Rezultatai rodo, kad yra galimybė ateityje panaudoti elektroverpimo metodu gautus nanopluoštus kaip antibiotikų nešiklius. Pagrindinis privalumas yra galimybė pasiekti didelę antibiotiko koncentraciją veikimo vietoje, išvengiant didelės koncentracijos visoje organizmo sistemoje, taip sumažinant šalutinį vaisto poveikį. Be to, ilgalaikis antibiotiko poveikis tikslinėje vietoje gali sumažinti vartojimo dažnumą [59].

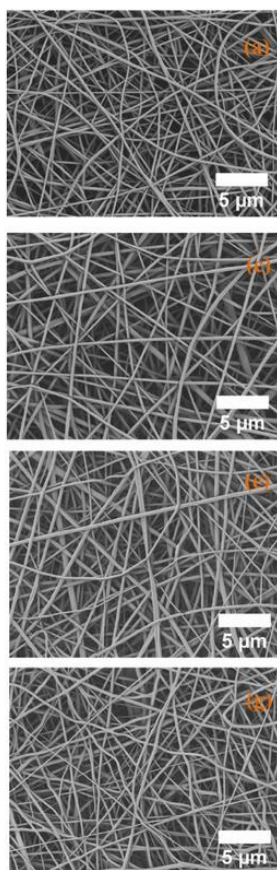
Kitame darbe elektroverpimo būdu pagaminti poliakrilnitrilo nanopluoštai buvo chemiškai modifikuoti oksiduotu chitozanu. Į modifikuotą pluoštą buvo įkapsuliuotas acikloviras. Acikloviras yra stiprus antivirusinis vaistas, pirmiausiai naudojamas *herpes simplex* virusams, vėjaraupiams ir juostinei pūslelinei gydyti. Įprastinio geriamo acikloviro vartojimo biologinis prieinamumas (15–30 %) ir tinkamumo vartoti laikas (2–3 val.) yra santykinai maži. Taigi norint pasiekti reikiamą poveikį, būtina kartoti dozes. Transderminis šio vaisto vartojimas yra vienas iš būdų pasiekti tinkamą rezultatą. SEM analizės nuotraukos atskleidė, kad modifikuojant nanopluoštą, skersmuo padidėjo nuo 218 nm iki 354 nm, o paviršiai tapo šiurkštesni (1.14 paveikslas) [60].



1.14 pav. Poliakrilnitrilo nanopluosto SEM vaizdai, esant skirtingam didinimu [60]

FTIR ir branduolių magnetinio rezonanso spektroskopijos rezultatai įrodė, kad pluošto paviršiuje įvyko kiekvienos pakopos funkcinės grupės konversija. Atliekant *in vitro* vaistų atpalaidavimo kinetinį tyrimą, buvo pastebėta, kad acikloviras iš nanopluosto atsipalaiduoja pagal *Korsmeyer-Peppas* modelį su *Fickiano* difuzijos mechanizmu. Pradžioje iš modifikuoto pluošto (nuo 1 iki 9 val.) kontroliuojamu greičiu išsiskyrė nuo 48 % iki 50 % vaisto, o po 72 valandų – 73 % funkcinės medžiagos. Nemodifikuotas pluoštas atpalaidavo 90–95 % funkcinės medžiagos per 5–7 valandas. Ląstelių dalinimosi, gyvybingumo ir adhezijos tyrimas bei hemosuderinamumo testas parodė, kad gautas pluoštas turi puikų biologinį suderinamumą ir hemosuderinamumą. Gauti rezultatai patvirtino oksiduotu chitozanu chemiškai modifikuoto poliakrilnitrilo nanopluosto naudojimą transderminių vaistų pernašoje [60].

Unalan‘as su kitais tyrėjais elektrinio verpimo būdu pagamino antibakterinį PCL–želatinos nanopluostą, kuriame yra gvazdikėlių eterinio aliejaus, o ledinė acto rūgštis naudota kaip tirpiklis. Ledinė acto rūgštis laikoma netoksišku tirpikliu. Gvazdikėlių eterinis aliejus naudojamas dėl jo gydomųjų savybių, tokių kaip antioksidacinis, priešuždegiminis ir antimikrobinis poveikis. Nanopluosto paviršiaus morfologija buvo nagrinėjama naudojant SEM. SEM nuotraukos pateikiamos 1.15 paveiksle. Palyginus tarpusavyje pluoštą be eterinio aliejaus ir su įkapsuliuotu eteriniu aliejumi, pluošto skersmuo padidėjo nuo 241 ± 96 nm iki 305 ± 82 nm [61].

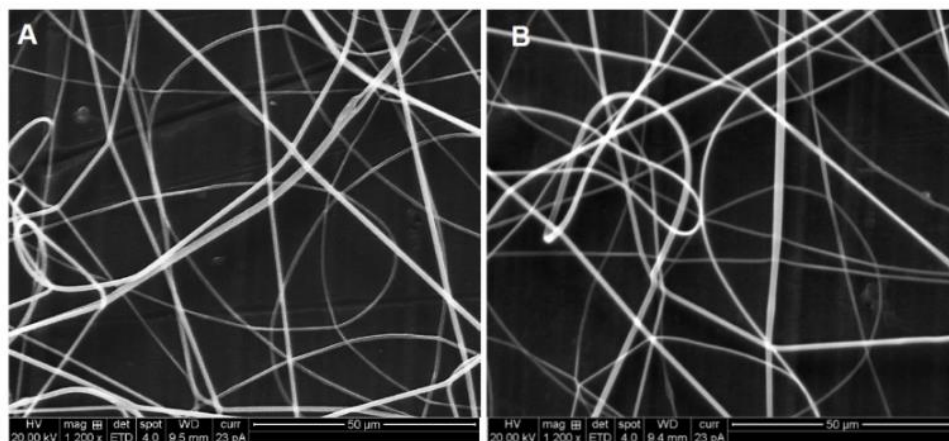


1.15 pav. SEM nuotraukos: PCL–želatinos nanoplauštas (a), PCL–želatinos / gvazdikėlių eterinio aliejaus (1,5 % koncentracijos) nanoplauštas (c), PCL–želatinos / gvazdikėlių eterinio aliejaus (3 % koncentracijos) nanoplauštas (e) ir PCL–želatinos / gvazdikėlių eterinio aliejaus (6 % koncentracijos) (g) nanoplauštas [61]

Padidėjus pluošto gijų paviršiui padidėjo ir pluošto drėkinimo lygis. FTIR spektroskopijos analize buvo patvirtinta, kad gvazdikėlių eterinis aliejus yra įkapsuliuotas polimerinėje matricoje, o tikrasis jo kiekis buvo nustatytas dujų chromatografijos–masių spektrometrijos metodu. Nanoplaušto antibakterinis aktyvumas buvo atskirai tirtas naudojant *S. aureus* (gramteigiamas) ir *E. coli* (gramneigiamas) bakterijas. Pagamintas nanoplauštas pasižymėjo didesniu antibakteriniu efektu lyginant su kontroliniu mėginiu. Didžiausias slopinimo efektas *S. aureus* buvo stebimas šeštą tyrimo valandą, o *E. coli* buvo aktyvios iki 24 valandos. *In vitro* tyrimai parodė, kad plauštas neturėjo citotoksinio poveikio normalioms žmogaus odos fibroblastų ląstelėms. Taigi PCL–želatinos / gvazdikėlių eterinio aliejaus nanoplauštas gali būti naudojamas žaizdų gydymui, norint išvengti bakterinių infekcijų ir nenaudoti antibiotikų [61].

Dwivedi‘s su mokslo grupe pagamino nanoplauštą, naudodami PLGA / želatinos polimerą, kuriame buvo įkapsuliuotas rekombinantinis žmogaus epidermio augimo faktorius ir gentamicino sulfatas. Viena iš pagrindinių kliūčių taikant gydymo metodus, naudojant augimo faktorius, yra nekontroliuojamas augimo faktoriaus išsiskyrimas. Antibakterinių medžiagų įkapsuliuavimas į elektrinio verpimo būdu gautus pluoštus yra viena iš klinikinių tyrimų sričių, ypač dėl to, kad vis dažniau atsiranda antibiotikams atsparių bakterijų. Šiame darbe naudotas antibiotikas – gentamicino sulfatas, yra baktericidinis aminoglikozidų grupės antibiotikas, plačiai naudojamas bakterinėms infekcijoms gydyti. Bakterijų slopinimo ir *in vivo* biologinio suderinamumo žaizdų gijimo efektyvumui įvertinti buvo atliktas tyrimas su diabetu sergančiomis C57BL6 pelėmis, turinčiomis

nugaros žaizdas. Antibakteriniam tyrimui naudotos *S. aureus* bakterijos, nes jos dažniausiai aptinkamos diabetinėse žaizdose. Rezultatai parodė, kad pagaminto nanoplušto antibakterinis aktyvumas yra panašus į grynų gentamicino miltelių. SEM analizės nuotraukose galima matyti, kad pluošte nesusidarė granulės, gijos yra lygios ir panašios į natūralią ekstraląstelinę matricą (1.16 paveikslas) [62].



1.16 pav. SEM analizės nuotraukos: PLGA / želatinos 70:30 (A) PLGA / želatinos 50:50 (B) nanopluoštai [62]

Diabetu sergančių pelių žaizdų gijimo *in vivo* tyrimai parodė, kad tyrėjų pagamintas nanopluostas puikiai gydė žaizdas ir 12 dienų skatino nuolatinį ląstelių dauginimąsi. Gauti rezultatai atskleidė, kad nanopluosto gebėjimas vienu metu atpalaiduoti antibiotiką ir bioaktyvų molekulinį junginį gali padaryti bakterijas neveikliomis diabetinėse žaizdose ir tuo pačiu pagreitinti žaizdų gijimą [62].

Išanalizuotuose straipsniuose atskleidžiamas tyrėjų susidomėjimas elektrinio verpimo metodu ir jo pritaikymu vaistų pernašos sistemose ar audinių inžinerijoje.

1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Atlikus įvairios mokslinės literatūros analizę buvo nustatyta, kad elektrinis verpimas yra perspektyvus metodas, leidžiantis įkapsuliuoti įvairius funkcinius junginius į polimerines matricas ir sprendžiantis regeneracinės medicinos ir audinių inžinerijos problemas. Moksliniuose straipsniuose nurodyta, kad polimeras PLA gali būti naudojamas audinių inžinerijoje, nes pasižymi geromis mechaninėmis savybėmis, taip pat gali būti naudojamas kuriant kaulinį audinį ar pluoštus pasižymintį antimikrobinu poveikiu ir apsaugančius nuo virusų. Šiame polimere bandyta įkapsuliuoti skirtingus funkcinius junginius – ibuprofeną, aspiriną, tetraciklino hidrochloridą, tačiau nėra duomenų apie antiepilepsinį vaistą CBZ. Dėl šios priežasties yra svarbu ištirti šio junginio įkapsuliuojimo į polimerinę matricą sąlygas, gautų pluoštų chemines ir mechanines savybes bei ištirti atsipalaidavimo kinetiką.

2. Tiriamoji dalis

2.1. Medžiagos ir metodai

2.1.1. Tyrimo planas

Elektrinio verpimo procesas priklauso nuo kelių veiksnių. Šie veiksniai skirstomi į elektrinio verpimo, tirpalo ir aplinkos parametrus. Pagrindiniai elektrinio verpimo parametrai yra elektrinis laukas, srauto greitis, adatos skersmuo ir atstumas tarp adatos ir kolektoriaus. Tirpalo parametrus priskiriamas tirpiklis, tirpalo laidumas bei klampumas ir polimero koncentracija. Aplinkos parametrai yra santykinė drėgmė ir temperatūra. Visi šie parametrai turi įtakos pluošto susidarymui. Tirpalo savybės ir elektroverpimo proceso parametrai turi didesnę įtaką gaminamų pluoštų susidarymui ir morfologijai nei aplinkos sąlygos [5].

Polimerinio tirpalo srautas per metalinį adatos antgalį lemia pluošto morfologiją. Tolygius ir be granuliuotus pluoštus galima pagaminti naudojant kritinį polimerinio tirpalo srautą. Ši kritinė vertė priklauso nuo naudojamo polimero. Padidinus srautą virš kritinės vertės, gali susidaryti granulės [63].

Atstumas tarp metalinio adatos galiuko ir kolektoriaus turi esminį vaidmenį pluošto morfologijai. Kai atstumas mažas, gijos nespėja sustingti, kol pasiekia kolektorių, todėl susidaro didesnio vidutinio skersmens pluoštai. Kitu atveju, kai atstumas didelis, gali susidaryti smulkesni pluoštai [64].

Srovės srautas iš aukštos įtampos maitinimo šaltinio keliauja į tirpalą per metalinę adatą, priversdamas sferinį lašelį deformuoti į Taylor'o kūgį, ir esant kritinei įtampai suformuoti itin smulkius pluoštus. Ši kritinė įtampos vertė priklauso nuo naudojamo polimero. Didinant įtampą iki kritinės vertės susidaro mažesnio skersmens pluoštai, o padidėjus naudojamai įtampai virš kritinės vertės, susidaro granulės arba granuliuoti pluoštai [64].

Moksliniai tyrimai rodo, kad santykinė drėgmė turi įtakos pluošto skersmeniui ir porų dydžiui. Mažesnė santykinė oro drėgmė lemia greitą tirpiklio išgaravimą, todėl pluoštas susidaro storesnis. Priešingu atveju, didesnė drėgmė slopina tirpiklio išgaravimą, todėl pluoštas yra plonesnis. Drėgmė taip pat turi įtakos pluošto porų susidarymui. Manoma, kad polimero poros susidaro kondensuojantis vandens lašeliams. Tai rūko susidarymo procesas, kurio metu vandens garai liečiasi su šaltu paviršiumi, kai polimero tirpalas keliauja link kolektoriaus, ir vandens lašeliai palieka pėdsaką jam išdžiūvus [65]. Šiame tyrime buvo keičiama santykinė drėgmė nuo 30 % iki 60 % ir stebima jos įtaka gijų skersmeniui ir porėtumui.

Funkcinio junginio koncentracija verpimo tirpale buvo kitas eksperimento kintamasis. Tyrimo metu buvo siekiama sėkmingai įkapsuliuoti funkcinį junginį CBZ į PLA polimerinę matricą. Įkapsuliuojimo efektyvumas buvo tiriamas naudojant FTIR spektroskopijos metodą. Mechaninės savybės buvo nustatytos naudojant tempimo bandymą, o gautų mėginių hidrofiliškumas įvertintas vandens vilgymo kampo analize.

Tyrimo metu buvo suplanuota paruošti 16 mėginių skirtingomis sąlygomis – keičiant santykinę drėgmę elektrinio verpimo kameroje ir funkcinio junginio kiekį. Tyrimo plano mėginiai nurodyti 2.1 lentelėje.

2.1 lentelė. Tyrimo plano mėginiai

Mėginio numeris	CBZ masė, g	Santykinė drėgmė elektrinio verpimo kameroje, %
DS1	0	30
DS2		40
DS3		50
DS4		60
DS5	0,2	30
DS6		40
DS7		50
DS8		60
DS9	0,4	30
DS10		40
DS11		50
DS12		60
DS13	0,8	30
DS14		40
DS15		50
DS16		60

2.1.2. Tyrime naudotos medžiagos ir reagentai

Tyrimams naudotos medžiagos ir reagentai: funkcinio junginio CBZ milteliai (IUPAC pavadinimas: 5H-dibenzo[b,f]azepino-5-karboksamidas; molekulinė masė: 236,27 g/mol; CAS nr. 298-46-4; *Sigma-Aldrich*, JAV), polimero PLA granulės (CAS nr. 26100-51-6; 3 mm nominalaus dydžio granulės; *Sigma-Aldrich*, JAV), tirpikliai dichlormetanas (DCM) (molekulinė masė: 84,93 g/mol; CAS nr. 75-092-2; HPLC grynumo; *Merck Millipore*, JAV) ir N,N-dimetilformamidas (DMF) (molekulinė masė: 73,09 g/mol; CAS nr. 68-12-2; HPLC grynumo; *Merck Millipore*, JAV).

2.1.3. Pradinių tirpalų paruošimas

PLA granulės ir CBZ milteliai buvo pasverti naudojant laboratorines analitines svarstyklės *Analytical Plus Z622761* (*Ohaus*, JAV). Granulės ir milteliai buvo imami metaliniu šaukšteliu ir sveriami į stiklinį 30 ml buteliuką. 10 ml DCM ir 10 ml DMF buvo matuojami 10 ml matavimo cilindru ir užpilami ant PLA granulių ir CBZ miltelių mišinio. Į stiklinio buteliuko vidų įdedamas magnetas, skirtas pagamintą tirpalą maišyti magnetine maišykle. Buteliukas uždaromas guminiu kamščiu ir kamštis apsukamas plėvele *Bemis Parafilm*. Iš viso buvo paruošti keturi mėginiai su skirtinga CBZ koncentracija (2.2 lentelė).

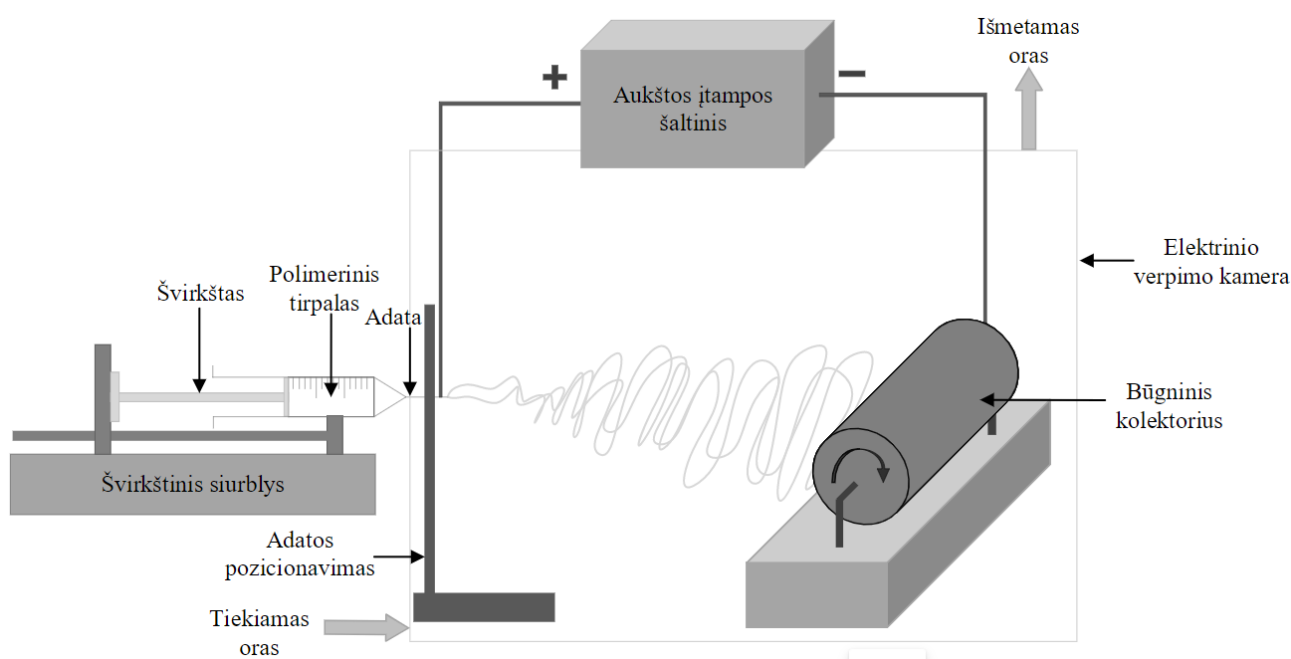
2.2 lentelė. Tyrimui paruošti polimero tirpalai

Mėginio numeris	PLA masė, g	CBZ masė, g	DCM tūris, ml	DMF tūris, ml
0	3,0	0	10	10
1	3,0	0,2	10	10
2	3,0	0,4	10	10
3	3,0	0,8	10	10

Gauti tirpalai buvo maišomi 40 °C temperatūroje ant magnetinės maišyklės 06-SH-4C (*ChemLand*, Lenkija) su kaitinimo plokšte, esant 200 aps./min 24 valandas.

2.1.4. Polimerinio pluošto formavimas elektrinio verpimo metodu

Elektrinio verpimo stendas buvo suprojektuotas ir pagamintas Kauno technologijos universitete, Cheminės technologijos fakultete, Lietuvoje. Elektrinio verpimo stendo principinė schema pateikiama 2.1 paveiksle.



2.1 pav. Elektrinio verpimo stendo principinė schema

Elektrinio verpimo stendą sudaro: aukšto įtampos šaltinis, skirtas generuoti aukštą įtampą; įranga skirta tiekti polimerinį tirpalą, kurią sudaro švirkštinis siurblys ir švirkštas su metaline adata; adata, prijungta prie prietaiso, kuris gali keisti jos poziciją kolektoriaus atžvilgiu; besisukantis būgninis kolektorius, apsuktas aliuminio folija, ant kurios nusėda suformuotas pluoštas; kolektorius, sukamas nuolatinės srovės variklio. Elektrinio verpimo stendo kamera turi angas, skirtas įleisti ir išleisti orą. Drėgmė yra kontroliuojama prie kameros prijungtu drėkintuvu, o temperatūra keičiama naudojant temperatūros valdymo bloką.

Polimero tirpalas buvo supiltas į 10 ml plastikinį švirkštą su *Luer* tipo užraktu (*B. Braun*, JAV) ir su buka 23G dydžio plienine adata (*Fisnar*, JAV). Srauto greitis nustatomas 1,5 ml/h naudojant švirkštinį siurbli (*New Era Pump Systems*, JAV). Adata prijungiama prie maitinimo šaltinio ir nukreipiama link įžeminto besisukančio metalinio būgninio kolektoriaus, kurio sukimosi greitis 16

kpm. Kolektorius uždengiamas aliuminio folija (*Sigma-Aldrich*, JAV). Atstumas nuo antgalio iki kolektoriaus parenkamas apie 13 cm. 16 kV aukšta įtampa užtikrinama vidiniu aukštos įtampos šaltiniu. Elektrinio verpimo stendo kameroje palaikoma pastovi 25 °C temperatūra, o santykinė drėgmė keičiama nuo 30 % iki 60 %. Mėginiai formuojami 20 minučių. Po elektrinio verpimo mėginiai 24 valandas laikomi vakuuminėje džiovyklėje FCD-3000 (*ChemLand*, Lenkija) 40 °C temperatūroje, esant 0,08 MPa slėgiui.

Elektrinio verpimo metu polimero tirpalas yra švirkščiamas į adatos galą naudojant švirkštinį siurbli. Aukštos įtampos šaltinis yra prijungtas prie kolektoriaus ir metalinės adatos. Tiekiant aukštą įtampą yra sukuriamas elektrinis laukas tarp metalinio adatos galiuko ir būgninio kolektoriaus. Kai elektrinis laukas įveikia paviršiaus įtempimą skysčio lašelyje, lašas įgauna Taylor'o kūgio formą. Pluoštas sukasi elektrostatiniame lauke ir tempiasi link būgninio kolektoriaus. Susidariusio pluošto gijos nusėda ant kolektoriaus ir suformuojamas pluoštas.

2.1.5. Pluoštinių struktūrų charakterizavimas skenuojančių elektronų mikroskopijos metodu

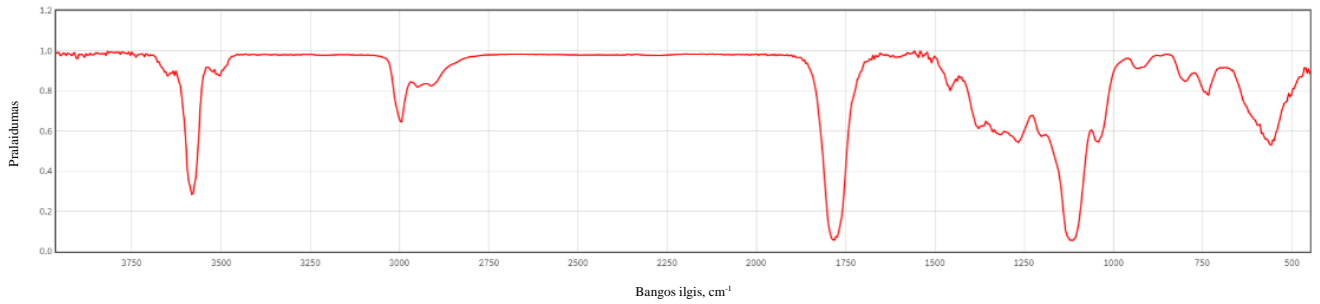
Gijų paviršius buvo analizuojamas naudojant SEM. SEM gali suteikti informacijos apie kristalinę struktūrą, cheminę sudėtį ar paviršiaus topografiją. Naudojant skenuojančių elektronų mikroskopą galima pasiekti iki 1 000 000 kartų didinimą su 1 nm skiriamąja geba [25].

Mėginių paviršius buvo tirtas naudojant SEM mikroskopą (*SEM S-3400N*, Vokietija). Mėginio analizės metu naudojama 3,00 kV greitinanti įtampa ir 1000–10000 kartų vaizdo didinimas. Analizei naudoti 10 mm ilgio, 10 mm pločio ir 0,05±0,02 mm storio bandiniai. Vidutinis pluošto gijų skersmuo ir porų diametras buvo matuojamas iš SEM nuotraukų naudojant *Image J* analizės programinę įrangą (*NIH*, JAV). Vidutiniam pluošto skersmeniui ir porų diametrai apskaičiuoti buvo išmatuota 50 atsitiktinai atrinktų taškų. Matavimai atlikti naudojant vienodo mastelio ir vienodo didinimo SEM nuotraukas. Gijų skersmuo buvo išmatuotas iš 1000 kartų padidintų nuotraukų, o porų diametras – iš 10000 kartų padidintų nuotraukų.

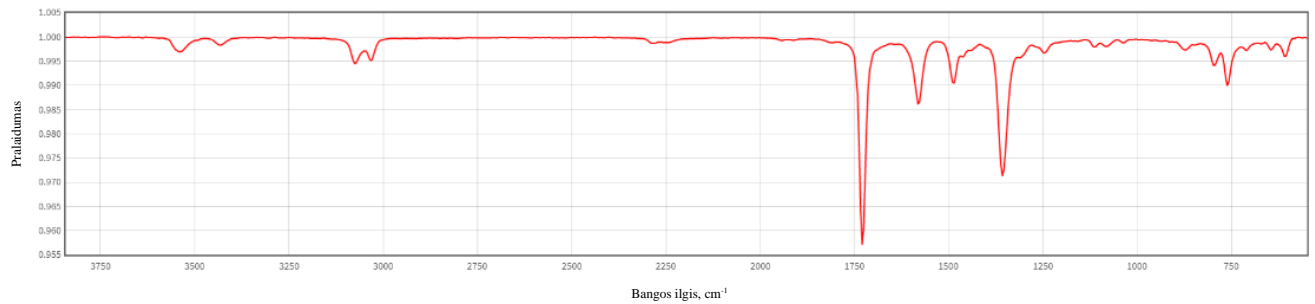
2.1.6. Furjė transformacinė infraraudonųjų spindulių spektroskopija

FTIR yra metodas, naudojamas kietų medžiagų, skysčių ir dujų infraraudonųjų spindulių sugerties, emisijos ir fotolaidumo spektrui gauti. FTIR spektroskopija leidžia tyrėjams gauti informaciją apie bangos ilgį ir adsorbcijos intensyvumą. Dažniausiai FTIR taikoma tam tikro junginio funkcinės grupės tyrimui ir nustatymui. Infraraudonųjų (IR) spindulių spektroskopija tiria molekulinės vibracijas. FTIR spektrą sudaro sugerties smailės, atitinkančios vibracijos dažnius tarp dalelių atomų ryšių. FTIR yra kokybinės analizės technika – smailės intensyvumas tiesiogiai atitinka esamų medžiagų prigimtį [66].

Pagamintų pluoštų struktūrai patvirtinti buvo naudojamas FTIR spektroskopijos metodas. Funkcinių grupių nustatymui buvo paruošti kiekvieno pluošto 20 mm ilgio, 10 mm pločio ir apie 0,05±0,02 mm storio mėginiai. FTIR spektrai buvo gauti naudojant *SPECTRUM GX 2000* (*PerkinElmer*, JAV) sistemą. Tyrime buvo matuojamas atspindys nuo pagaminto polimerinio pluošto. IR spektro kitimo ribos 4000–650 cm⁻¹. Gauti spektrai buvo lyginami su elektroniniame šaltinyje *National Institute of Standards and Technology (NIST)* pateiktais spektrais [67, 68]. Grynos pieno rūgšties ir CBZ IR spektrai pateikiami atitinkamai 2.2 ir 2.3 paveiksluose.



2.2 pav. Grynos pieno rūgšties IR spektras [67]



2.3 pav. CBZ IR spektras [68]

2.1.7. Vandens vilgymo kampo analizė, skirta įvertinti pluošto hidrofiliškumą / hidrofobiškumą

Vandens vilgymo kampo matavimas yra kokybinis būdas įvertinti, ar paviršius turi hidrofobinių ar hidrofiliinių savybių. Jis pagrįstas tarpmolekulinės sąveikos tarp paviršiaus ir nedidelio vandens lašo stebėjimu, kai lašas susilieja su paviršiumi. Metodas dažniausiai naudojamas paviršiaus analizei, susijusiai su drėkinimu, sukibimu ir absorbcija [36]. Visiškas drėkinimas, t.y., yra ištisinio sluoksnio susidarymas ant paviršiaus be lašų, yra retas reiškinys. Skysčio / kieto lašelio, apsupto arba dujomis, arba jų garais, kampas su kietu / skystu substratu vadinamas vandens vilgymo kampu.

Siekiant nustatyti vandens vilgymo kampą θ buvo paruošti 20 mm ilgio, 10 mm pločio ir apie $0,05 \pm 0,02$ mm storio mėginiai ir kambario temperatūroje (20 ± 1 °C) užpiltas 20 μ L distiliuoto vandens lašelis, o kontaktinis kampas išmatuotas optiniu tensiometru *Theta Lite TL 101* (*Biolin Scientific*, programinė įranga *OneAttension v1.0*, Suomija). Vandens vilgymo kampas buvo matuojamas 10 sekundžių ir užfiksuojamas 121 matavimo rezultatas.

2.1.8. Mechaninės savybės tempiant

Mechaninės polimero savybės apima jo elgesį veikiant įtempimui. Tempimo stipris yra įtempis, reikalingas bandiniui sulaužyti. Jis išreiškiamas paskaliais arba psi. Tempimo stipris yra svarbi polimerų, kurie bus tempiami, savybė. Pavyzdžiui, pluoštai turi turėti gerą atsparumą tempimui. Jungo modulis yra įtempio ir deformacijos santykis. Jis taip pat vadinamas tamprumo moduliu arba tempimo moduliu. Jungo modulis yra įtempių ir deformacijų kreivės nuolydis. Įtempių ir deformacijų kreivės dažnai nėra tiesios diagramos, rodančios, kad modulis kinta atsižvelgiant į deformacijos dydį [22].

Polimero atsparumas tempimui didėja didėjant molekulinėi masei [22]. Esant mažoms molekulinės masės vertėms, polimerų grandinės yra laisvai susietos tarpusavyje dėl silpnos tarpmolekulinės *van*

der Vals'o sąveikos, o polimerų, turinčių didelę molekulinę masę, grandinės tampa stambios ir dėl to susipainioja, todėl polimero stiprumas yra aukštas [22].

Mechaninės pagaminto PLA pluošto savybės buvo nustatytos naudojant universalų medžiagų tyrimo prietaisą *BDO-FB 0,5 TH (Zwick GmbH & Co, Vokietija)* kontroliuojamoje aplinkoje pagal ASTM D 882 standartą. Bandinių tempimo greitis nustatytas 50 mm/min. Buvo išmatuoti stačiakampio formos mėginiai, kurių matmenys: plotis 10 mm, ilgis 70 mm ir storis $0,05 \pm 0,02$ mm. Mėginių mechaninėms savybėms apibūdinti buvo naudojamas dydis σ_B – atsparumas tempimui, kuris matuojamas MPa.

2.1.9. Funkcinio junginio atpalaidavimas *in vitro*

Vaistinės medžiagos atsipalaidavimas turi svarbų vaidmenį siekiant norimų biologinių funkcijų. Elektrinio verpimo metodas leidžia pasiekti skirtingus vaistų išsiskyrimo profilius, keičiant pluošto savybes [8].

Atpalaidavimo kinetikos tyrimas buvo atliktas mėginams DS1, DS8, DS10, DS11 ir DS12. CBZ atpalaidavimo testas *in vitro* buvo vykdomas fosfatiname buferyje (PBS), kurio pH=7,4. Buvo paruošti 20 mm ilgio, 20 mm pločio ir $0,05 \pm 0,02$ mm storio bandiniai. Prieš tyrimą bandiniai buvo pasverti laboratorinėmis analitinėmis svarstyklėmis *Analytical Plus Z622761 (Ohaus, JAV)*. Mėginiai inkubuojami 20 ml PBS $37 \pm 0,1$ °C temperatūroje. Periodiškai imami 3 ml tūrio mėginiai po 0,5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 10 h ir 24 h, ir pridedama po 3 ml šviežio PBS, kad būtų išlaikytas pastovus tūris. Atpalaiduotos medžiagos koncentracija nustatoma UV-Vis spektrofotometru prie 286 nm bangos ilgio. Išsiskyrusios funkcinės medžiagos kiekis apskaičiuojamas pagal kalibravimo kreivę, sudarytą naudojant skirtingas funkcinės medžiagos koncentracijas ištirpintas PBS tirpale $37 \pm 0,1$ °C temperatūroje po 24 h.

2.1.10. Paklaidų apskaičiavimas

Atliktų tyrimų rezultatai buvo pateikti kaip aritmetiniai vidurkiai ir apskaičiuoti pagal (2.1) formulę:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}, \quad (2.1)$$

čia: \bar{x} – aritmetinis vidurkis, N – bandymų skaičius, x_i – vieno bandymo rezultatas.

Išmatavus aritmetinį vidurkį buvo vertinamas rezultatų nuokrypis nuo vidurkio. Tam naudojamas vidutinis kvadratinis nuokrypis, kuris apskaičiuojamas pagal (2.2) formulę:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\bar{x} - x_i)^2}{N-1}}, \quad (2.2)$$

čia: $\frac{\sum_{i=1}^N (\bar{x} - x_i)^2}{N-1}$ – nuokrypio nuo aritmetinio vidurkio kvadratų suma, taikoma visiems išmatuotiems bandiniams.

Skaičiavimai buvo atliekami naudojant skaičiuoklės programinę įrangą *Excel (Microsoft Corp., JAV)*.

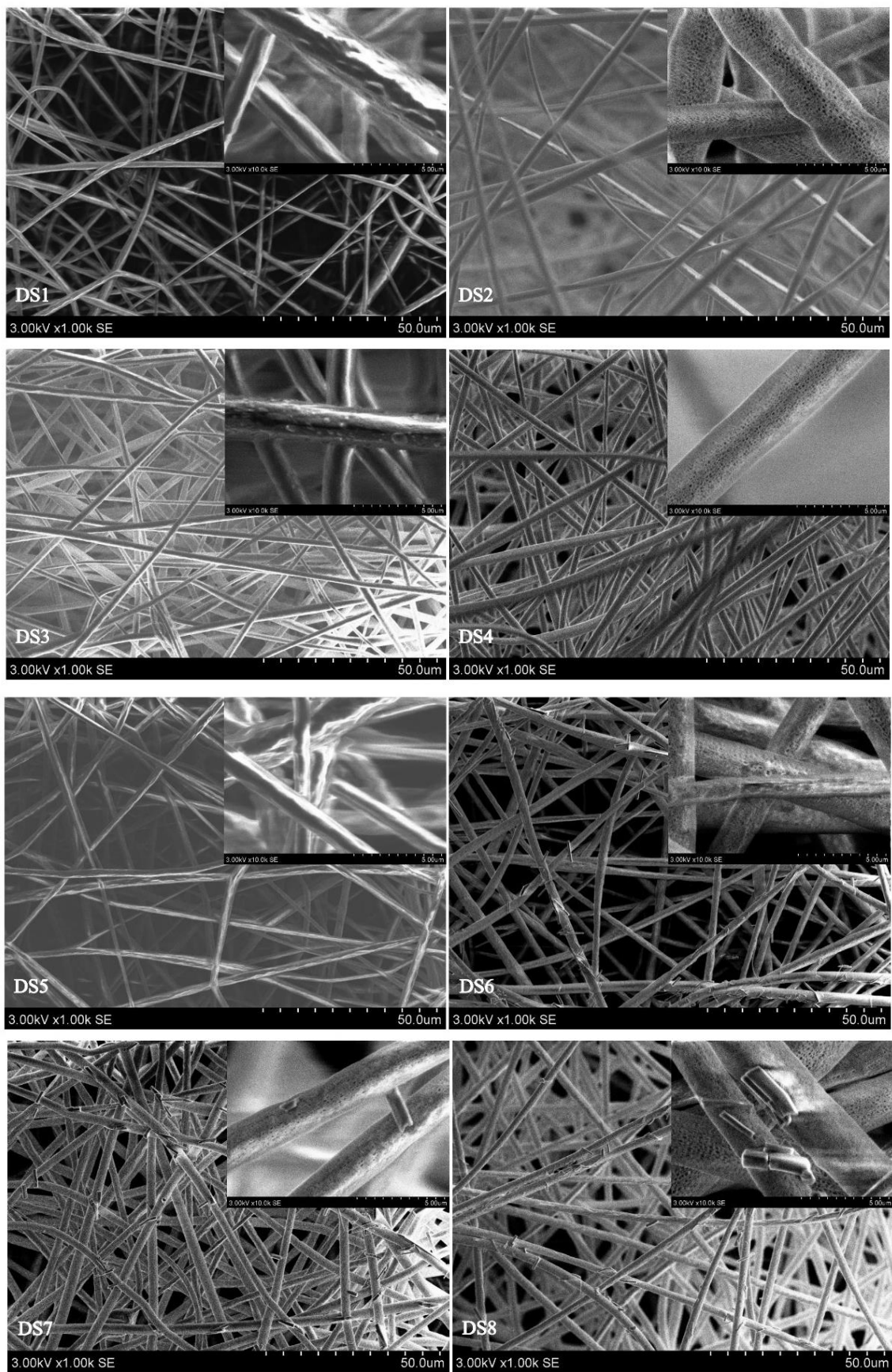
2.2. Rezultatai

2.2.1. Pluoštinių struktūrų morfologija

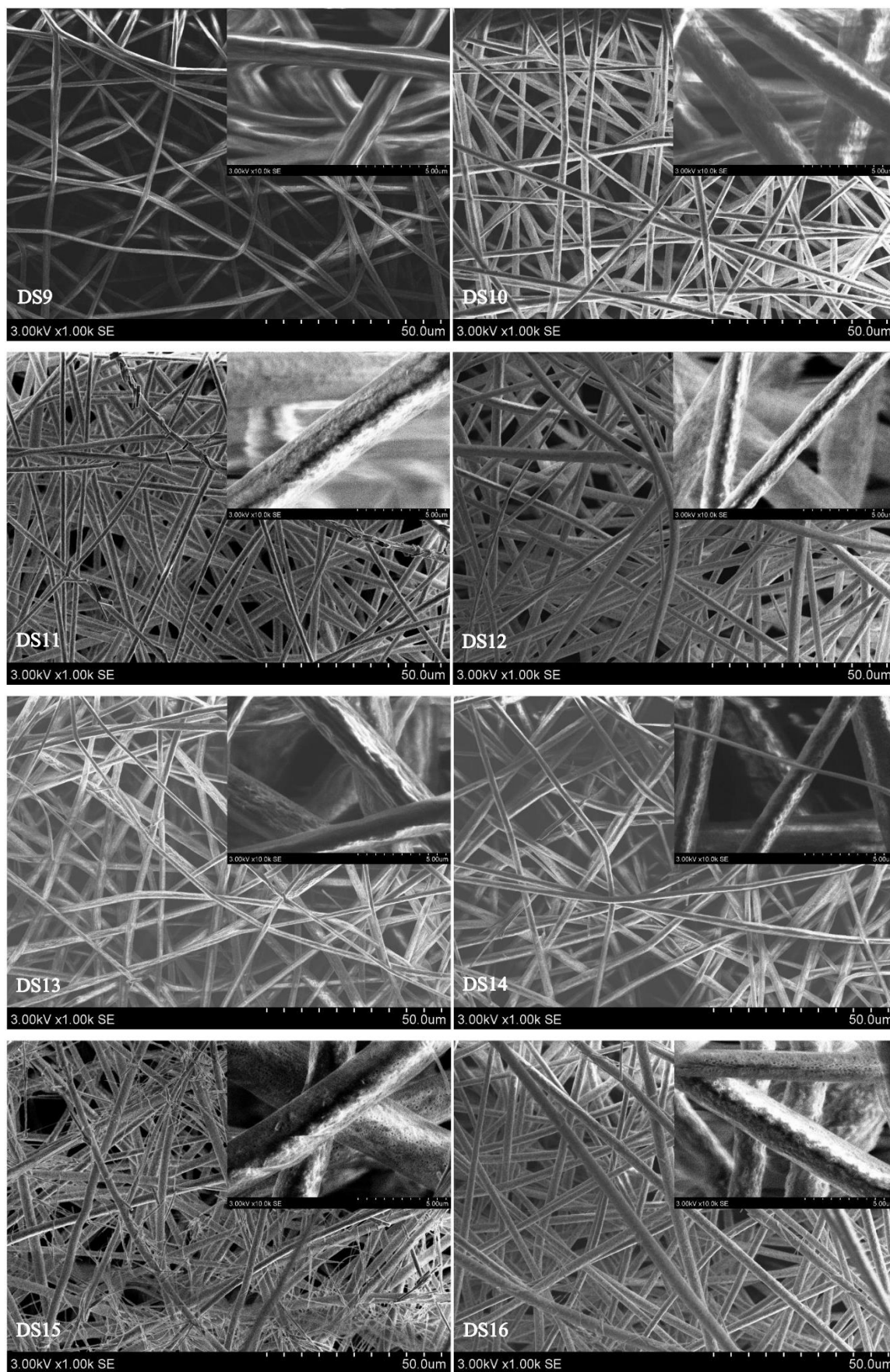
2.4–2.5 paveiksluose pateiktos elektrinio verpimo būdu gautų pluoštų SEM nuotraukos. Rezultatai rodo, kad suformuotų gijų paviršius nėra tolygus ir vientisas. Pluošto gijos, kurios buvo pagamintos esant 30 % santykinei drėgmei (mėginiai DS1, DS5, DS9, D13), turi glotnesnį paviršių, o didėjant aplinkos santykinei drėgmei paviršius tapo šiurkštesnis.

Gijos turi porų. Tankiausiai poros išsidėsčiusios ant gijų, kurios pagamintos esant didžiausiai santykinei drėgmei – 60 % (mėginiai DS4, DS8, DS12, DS16), tačiau didėjant santykinei drėgmei porų diametras sumažėjo. Didesnis porų tankis ant paviršiaus leidžia atpalaiduoti didesnę kiekį funkcinio junginio. Tas pačias tendencijas stebėjo ir kiti mokslininkai [65]. Ant mėginio DS3 gijų paviršiaus matomi iškilimai, kurie galėjo susiformuoti išgaravus tirpikliui ir gijai susitraukus. Funkcinio junginio įkapsuliavimas nepakeitė gijų išorinės išvaizdos.

Gijos yra atsitiktinai orientuotos. Atsitiktinai orientuotos gijos laikomos naudingomis ląstelėms, nes pasižymi didesniu gyvybingumu, lyginant su išlygintais pluoštais [69].



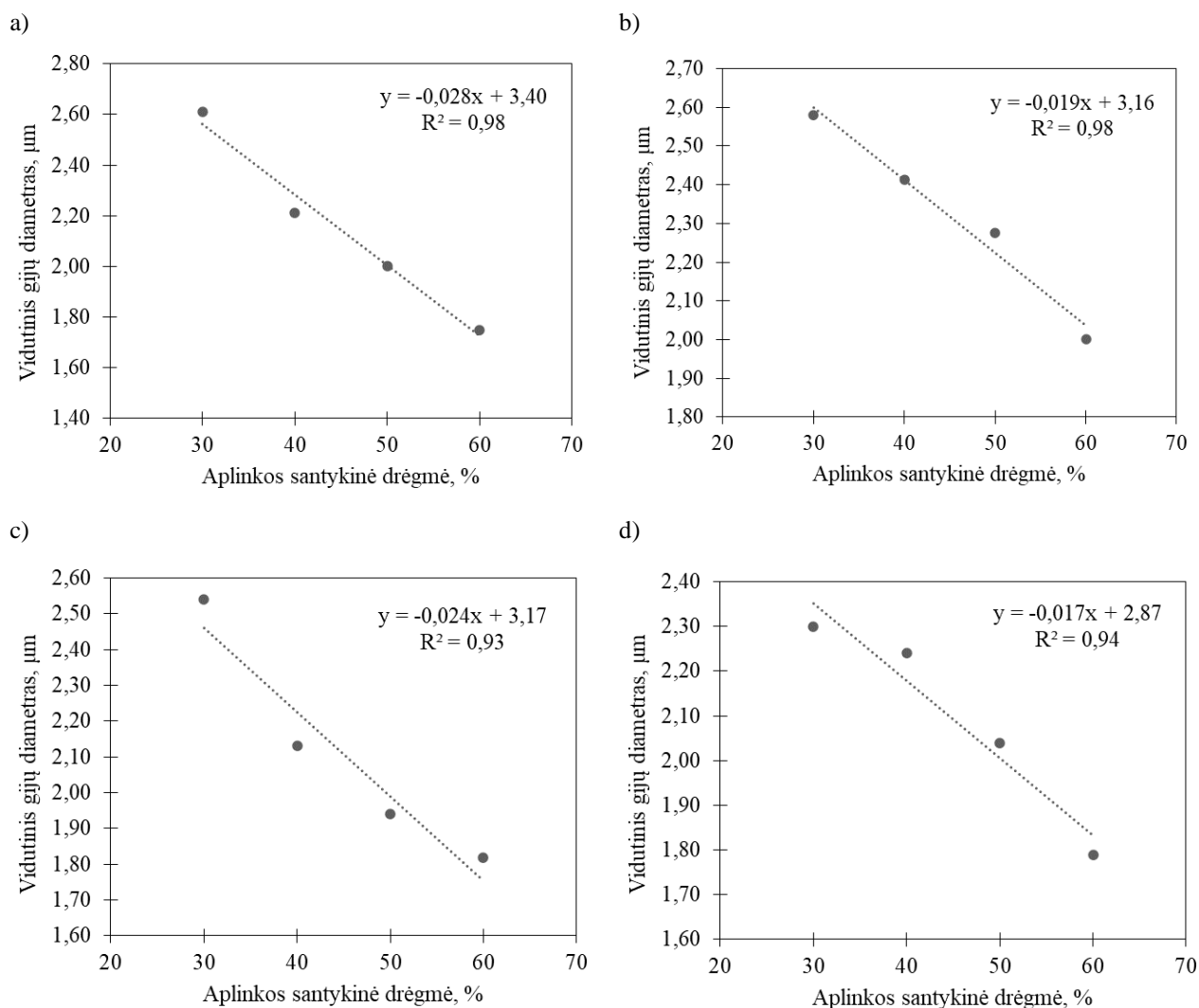
2.4 pav. Mėginių DS1–DS8 SEM nuotraukos



2.5 pav. Mėginių DS9–DS16 SEM nuotraukos

2.2.2. Pluošto gijų diametro priklausomybė nuo santykinės drėgmės ir karbamazepino kiekio

Pagaminto pluošto gijos yra mikrodudžio. Išmatavus 50 atsitiktinių gijų buvo pastebėta, kad jų diametras pasiskirsto pagal normalųjį arba log-normalųjį skirstinį. Vidutinis gijų diametras svyruoja nuo $2,61 \pm 0,52 \mu\text{m}$ (mėginys DS1) iki $1,75 \pm 0,42 \mu\text{m}$ (mėginys DS4). Įkapsuliuoto CBZ kiekis neturėjo įtakos gijų diametrai, tačiau įtakos turėjo elektrinio verpimo kameroje esanti santykinė drėgmė. Didėjant santykinėi drėgmei gijų diametras mažėjo. Tiesinė priklausomybė tarp vidutinio gijų diametro ir aplinkos santykinės drėgmės matoma 2.6 paveiksle esančiuose grafikuose.

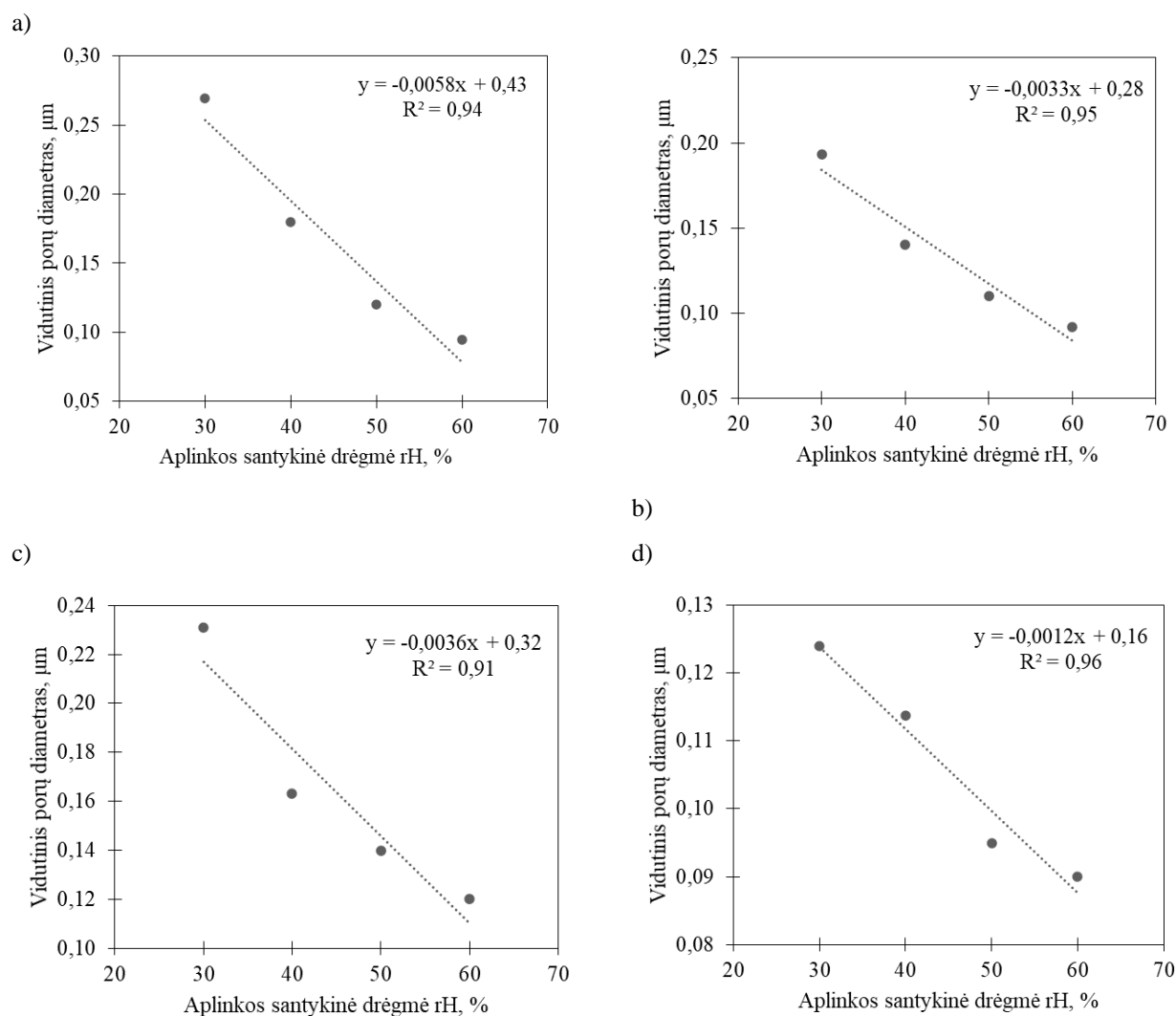


2.6 pav. Vidutinio gijų diametro priklausomybė nuo aplinkos santykinės drėgmės: a) 0 g CBZ, b) 0,2 g CBZ, c) 0,4 g CBZ, d) 0,8 g CBZ

Didėjanti santykinė aplinkos drėgmė slopina tirpiklio išgaravimą iš pluošto, todėl pluošto diametras mažėja. Mažėjant santykinėi aplinkos drėgmei tirpiklis greičiau pasišalina iš pluošto, todėl jo gijos susidaro storesnės. Ta pati tendencija stebėta ir kituose tyrėjų darbuose [65]. Taigi keičiant elektrinio verpimo kameroje esančią santykinę drėgmę galima keisti pluošto gijų storį.

2.2.3. Pluošto gijų porų diametras

Didėjant santykinėi drėgmei elektrinio verpimo kameroje porų diametras mažėjo. Tokie patys rezultatai buvo gauti ir kituose moksliniuose darbuose [65]. Tendencijos matomos 2.7 paveiksle.



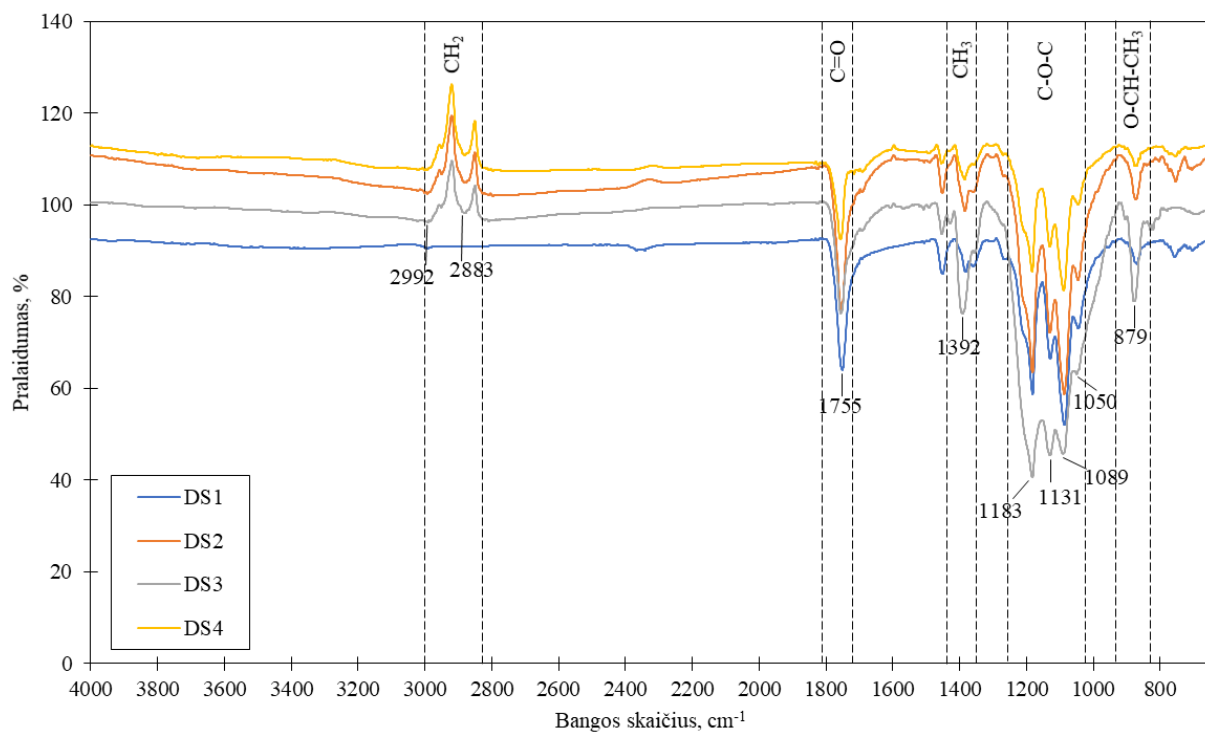
2.7 pav. Vidutinio porų diametro priklausomybė nuo santykinės drėgmės verpimo kameroje: a) 0 g CBZ, b) 0,2 g CBZ, c) 0,4 g CBZ, d) 0,8 g CBZ

Didžiausias porų diameteras ($0,27 \pm 0,037 \mu\text{m}$) gautas pluošte, kuris pagamintas be CBZ ir esant 30 % santykinėi drėgmei, o mažiausias diameteras išmatuotas esant 60 % santykinėi drėgmei mėginiuose be CBZ ($0,09 \pm 0,018 \mu\text{m}$), su 0,2 g ($0,09 \pm 0,026 \mu\text{m}$) ir 0,8 g ($0,09 \pm 0,017 \mu\text{m}$) CBZ. Lyginant gijų porų diameterą mėginiuose, pagamintuose esant 30 % ir 60 % santykinėi drėgmei, be CBZ, su 0,4 g ir 0,8 g CBZ, porų diameteras sumažėjo daugiau nei du kartus. Mėginyje su 0,8 g CBZ kintant santykinėi drėgmei intervale nuo 30 % iki 60 % vidutinio porų diametro pokytis buvo mažiausias – 0,012–0,09 μm .

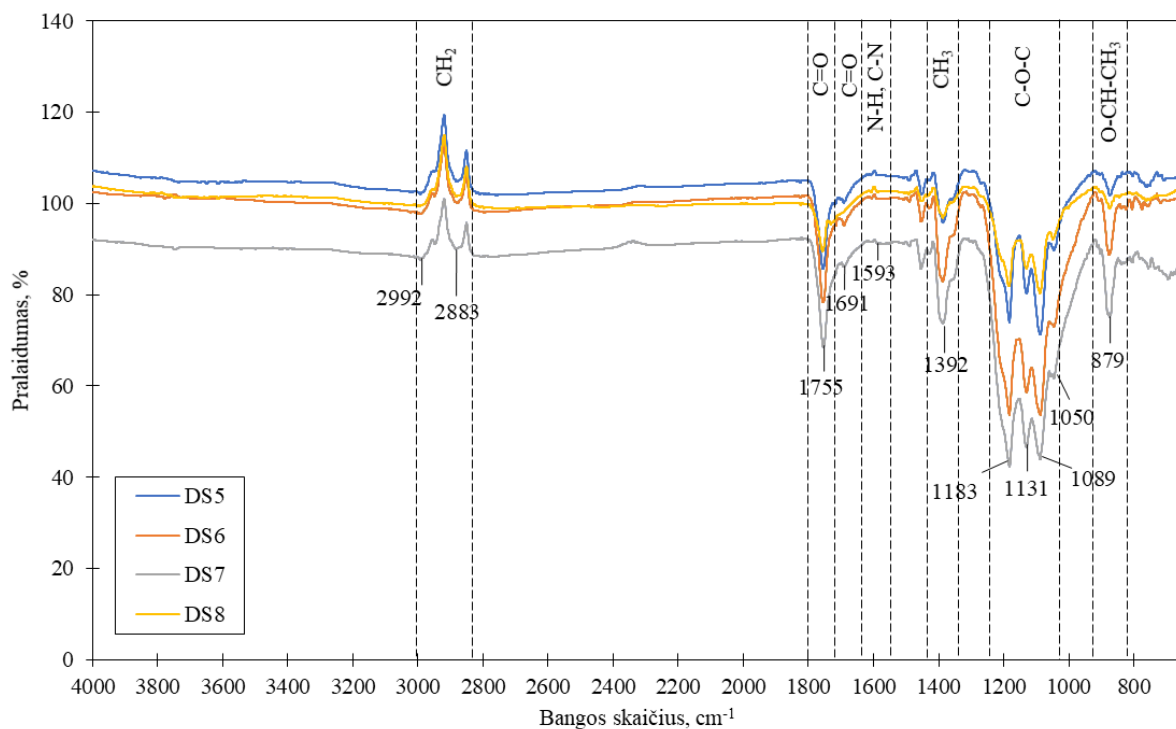
CBZ kiekis neturėjo įtakos porų diameterui, o santykinės drėgmės augimas lėmė mažesnių porų susidarymą.

2.2.4. Cheminės polimerinio pluošto savybės

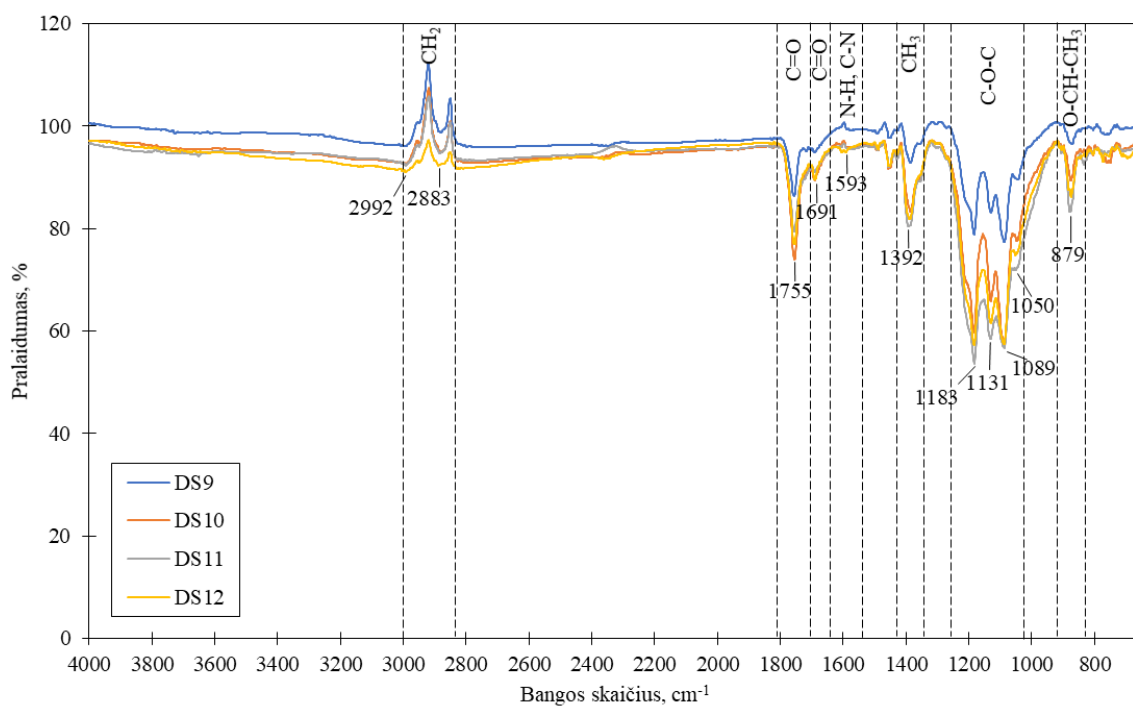
Gautų PLA polimerinių pluoštų struktūros patvirtinimui naudotas FTIR spektroskopijos metodas. IR spinduliuotės spektro fragmentai pateikiami 2.8–2.11 paveiksluose.



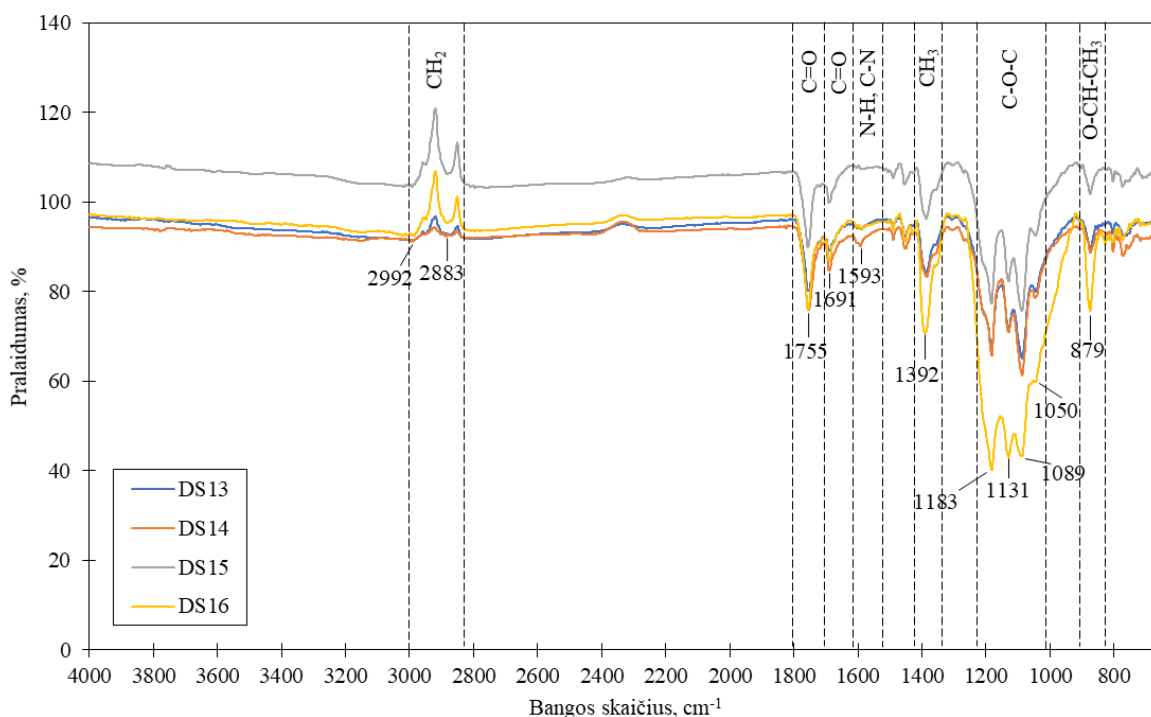
2.8 pav. Mėginių DS1–DS4, pagamintų be CBZ, FTIR spektrai



2.9 pav. Mėginių DS5–DS8, pagamintų su 0,2 g CBZ, FTIR spektrai



2.10 pav. Mėginių DS9–DS12, pagamintų su 0,4 g CBZ, FTIR spektrai



2.11 pav. Mėginių DS13–DS16, pagamintų su 0,8 g CBZ, FTIR spektrai

IR spinduliuotės spektro fragmente (2.8–2.11 paveiksluose) rastos PLA atitinkančios absorbcijos juostos ties 2992 cm^{-1} ir 2883 cm^{-1} , kurios būdingos metileno (CH_2) grupių asimetriniams (ties 2942 cm^{-1}) ir simetriniams (ties 2864 cm^{-1}) valtiniams virpesiams. Juosta, esanti ties 1755 cm^{-1} bangos skaičiumi, parodo karbonilo $\text{C}=\text{O}$ grupės, būdingos esteriams, buvimą. Ties 1392 cm^{-1} bangos

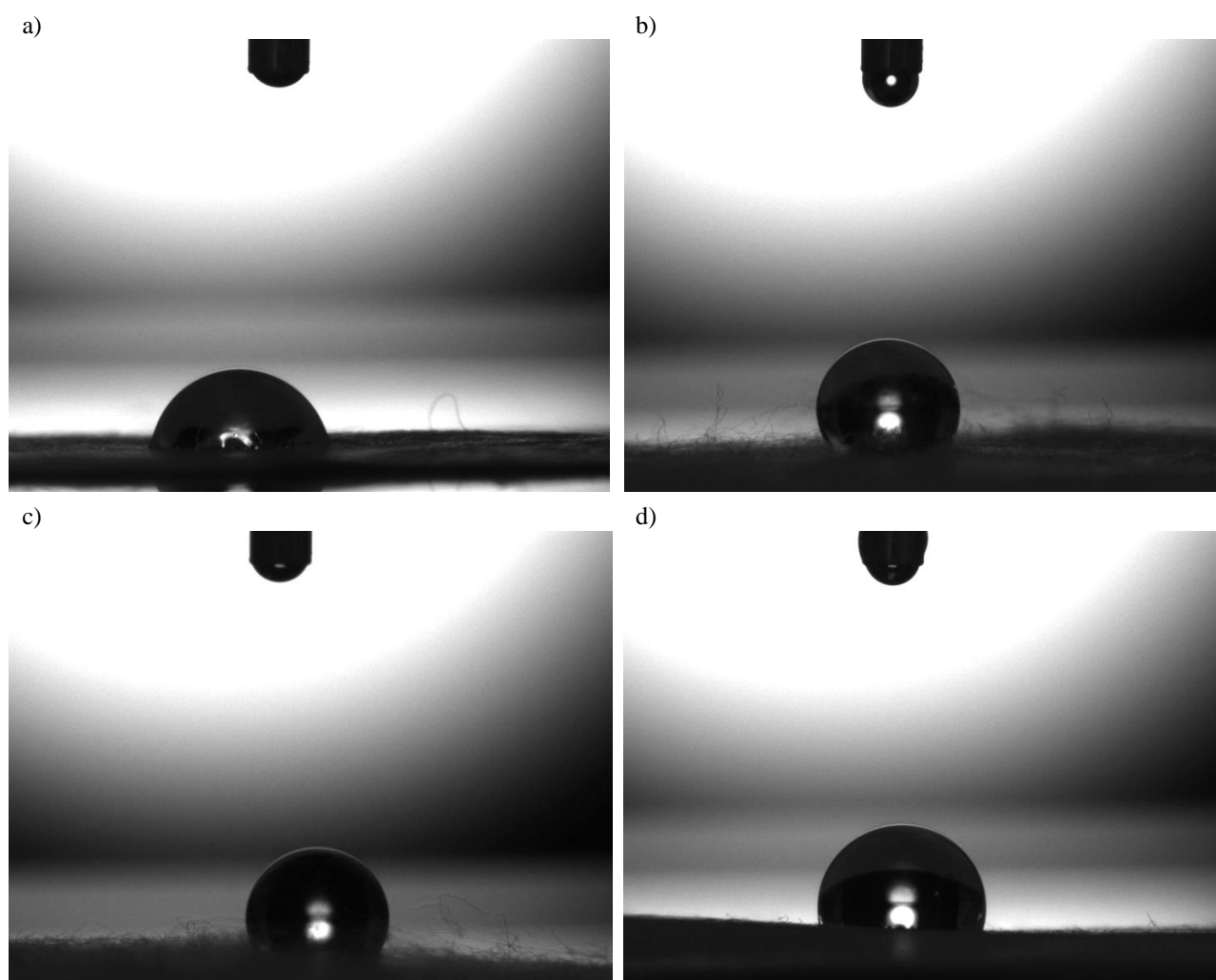
skaičiumi esanti absorbcijos juosta atitinka CH₃ grupės deformaciją. Intensyvios smailės juostos intervale ties 1183–1044 cm⁻¹ bangos skaičiumi priskiriamos asimetriniams ir simetriniams C–O–C valentiniams virpesiams. Šios grupės absorbcija yra kompleksinė dėl skirtingų funkcinių grupių atomų, besiribojančių su ja. Vidutinio intensyvumo smailė ties 879 cm⁻¹ parodo O–CH–CH₃ grupę.

Visuose mėginiuose (DS1–DS16) rasti pikai yra tipiniai PLA ir atitinka grynos PLA FTIR spektrą [67]. Galima teigti, kad elektrinio verpimo metu polimeras chemiškai nepasikeitė.

Didinant funkcinės medžiagos koncentraciją FTIR spektruose smailių, esančių ties 1691 cm⁻¹ ir 1593 cm⁻¹, intensyvumas didėjo, o mėginiuose be CBZ šios smailės neaptiktos. Pikai, esantys ties 1691 cm⁻¹ bangos skaičiumi susiję su C=O grupe, o absorbcijos juostos ties 1593 cm⁻¹ bangos ilgiu nurodo amido II deformacinius N–H ir C–N virpesius. Šios smailės yra būdingos CBZ [68], todėl galima teigti, kad veikioji medžiaga buvo sėkmingai įkapsuluota polimerinėje matricioje.

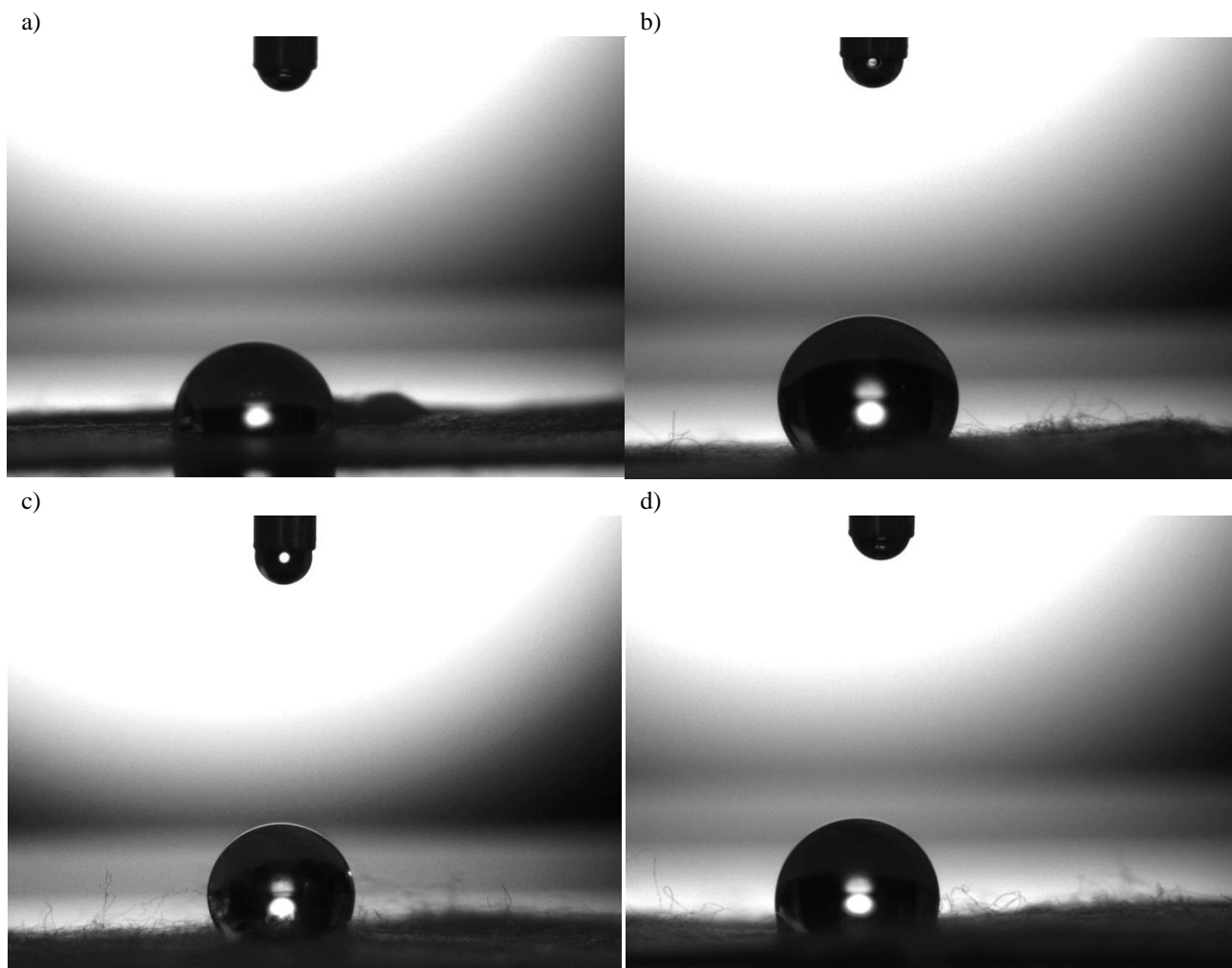
2.2.5. Pluošto hidrofiliškumo analizė

Siekiant įvertinti pagamintų pluoštų hidrofiliškumą / hidrofobiškumą buvo užfiksuota distiliuoto vandens lašo būsena ant pagaminto pluošto bandinių paviršiaus ir atlikti vandens vilgymo kampo matavimai. Skirtingų mėginių vandens vilgymo kampo matavimai pateikti 2.12–2.15 paveiksluose.



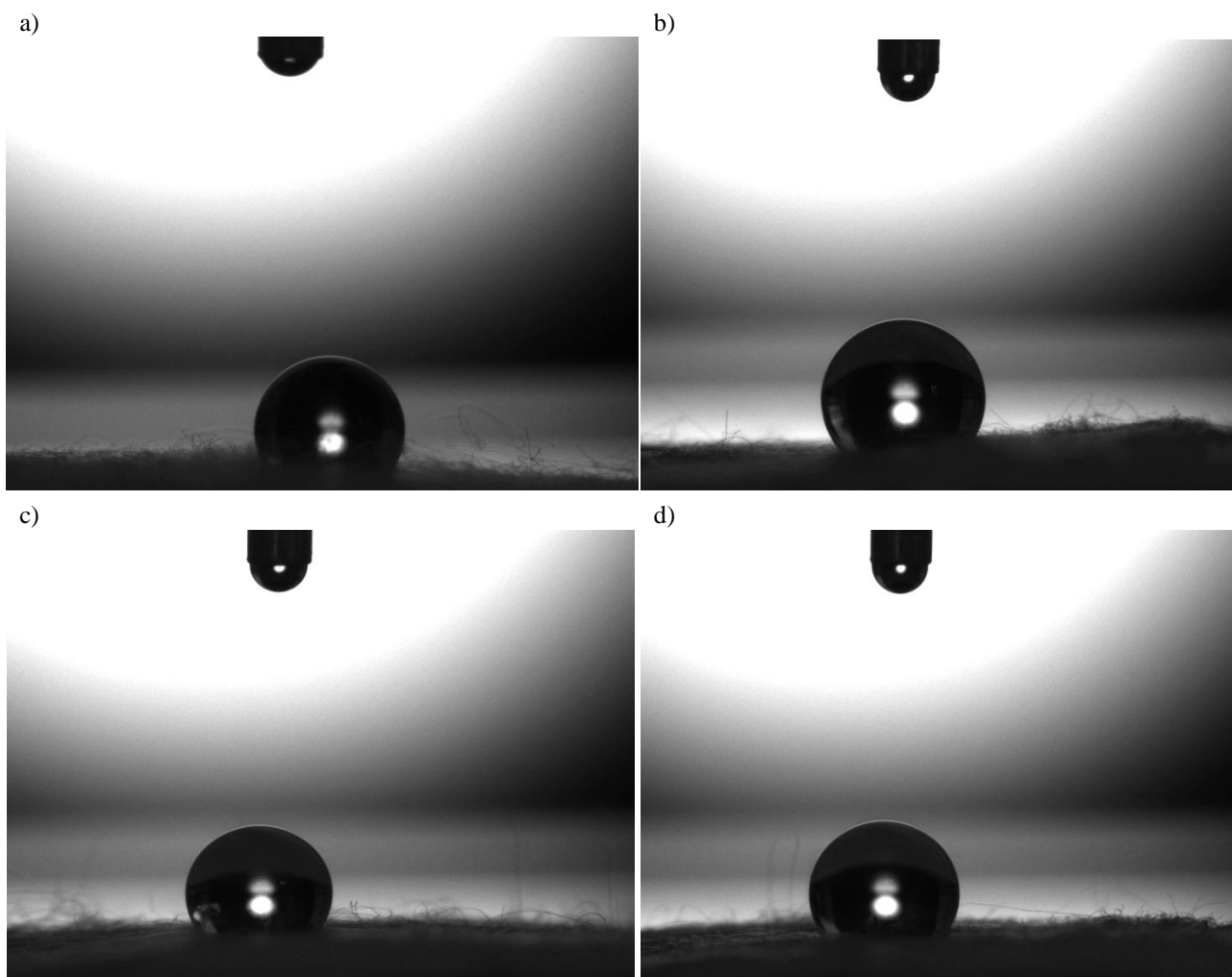
2.12 pav. Vandens vilgymo kampas mėginių be CBZ, esant skirtingai santykinei aplinkos drėgmei: a) 30 %, b) 40 %, c) 50 %, d) 60 %

Iš gautų nuotraukų matoma, kad mažiausias vandens vilgymo kampas ($82,58 \pm 2,31^\circ$) yra a) nuotraukoje. Jis gautas esant 30 % santykinei aplinkos drėgmei. Didžiausias kampas ($106,54 \pm 4,10^\circ$) užfiksuotas b) nuotraukoje, esant 40 % santykinei drėgmei.



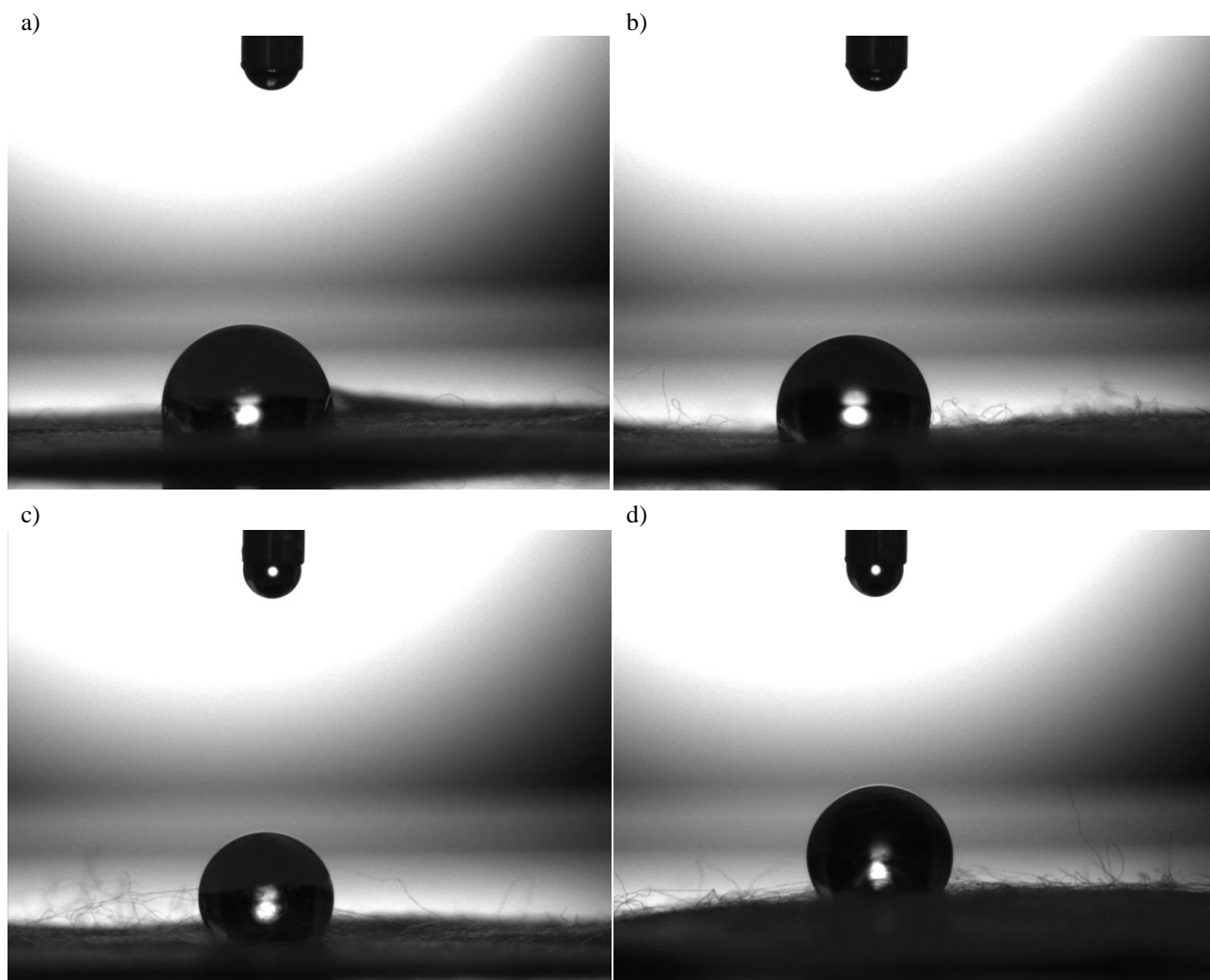
2.13 pav. Vandens vilgymo kampas mėginių su 0,2 g CBZ, esant skirtingai santykinei aplinkos drėgmei: a) 30 %, b) 40 %, c) 50 %, d) 60 %

Šiuo atveju mažiausias vilgymo kampas yra a) nuotraukoje ($96,72 \pm 3,73^\circ$), o didžiausias c) nuotraukoje ($116,16 \pm 4,14^\circ$). Rezultatai rodo, jog įkapsulius CBZ į PLA polimerinę matricą, bandiniai tapo hidrofobiškesni lyginant su bandiniais be CBZ.



2.14 pav. Vandens vilgymo kampas mėginių su 0,4 g CBZ, esant skirtingai santykinei aplinkos drėgmei: a) 30 %, b) 40 %, c) 50 %, d) 60 %

Išmatavus vandens vilgymo kampą mėginiuose, kurie pagaminti su 0,4 g CBZ, buvo nustatyta, kad mažiausias vilgymo kampas yra a) nuotraukoje ($102,31 \pm 3,72$ °), o didžiausias d) nuotraukoje ($121,41 \pm 1,12$ °). Lyginant šiuos mėginius su mėginiais be CBZ ir su 0,2 g CBZ galima teigti, kad didėjant CBZ kiekiui mėginiuose, jų vilgymo kampas taip pat didėja.

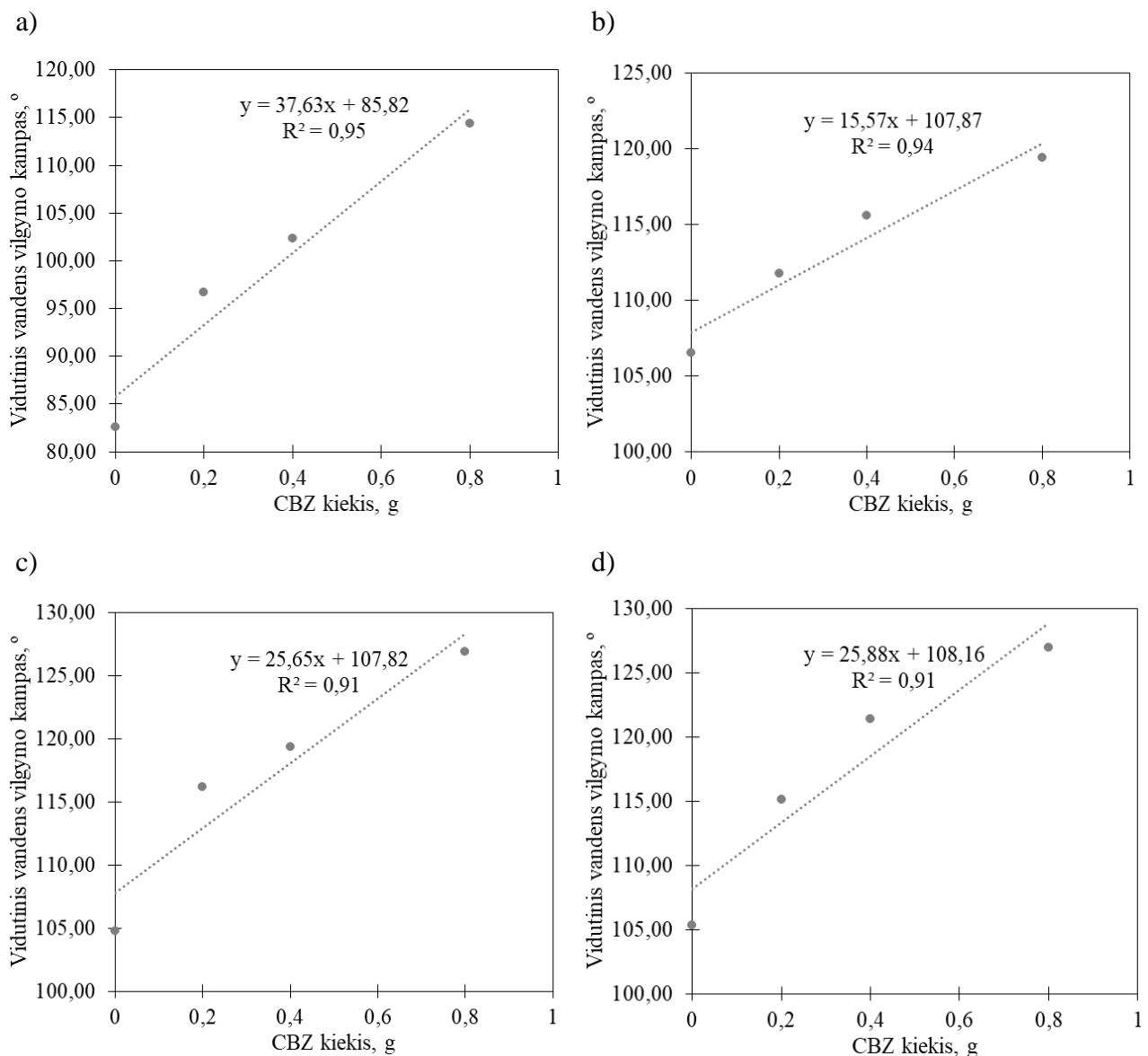


2.15 pav. Vandens vilgymo kampas mėginių su 0,8 g CBZ, esant skirtingai santykinei aplinkos drėgmei: a) 30 %, b) 40 %, c) 50 %, d) 60 %

Mėginių su 0,8 g CBZ hidrofobiškumas dar padidėjo lyginant su prieš tai išmatuotais bandiniais. Šiuo atveju mažiausias vandens vilgymo kampas yra matomas a) nuotraukoje ($114,37 \pm 2,13$ °), o didžiausias – d) nuotraukoje ($126,95 \pm 0,11$ °).

Santykinė drėgmė, prie kurios buvo pagaminti mėginiai turėjo įtakos vandens vilgymo kampui. Mažiausias vandens vilgymo kampas visuose mėginiuose buvo gautas esant 30 % santykinei drėgmei, tačiau didžiausias vandens vilgymo kampas pasiskirstė netolygiai. Taigi šiame tyrime užfiksuoti rezultatai neparodė tiesinės priklausomybės tarp santykinės drėgmės ir pluošto hidrofiliųjų / hidrofobiųjų savybių.

Gauti rezultatai parodė, kad vandens vilgymo kampas tiesiogiai priklauso nuo CBZ kiekio pluošte. Vandens vilgymo kampo priklausomybė nuo CBZ kiekio polimeriniame tirpale pateikiama 2.16 paveiksle.



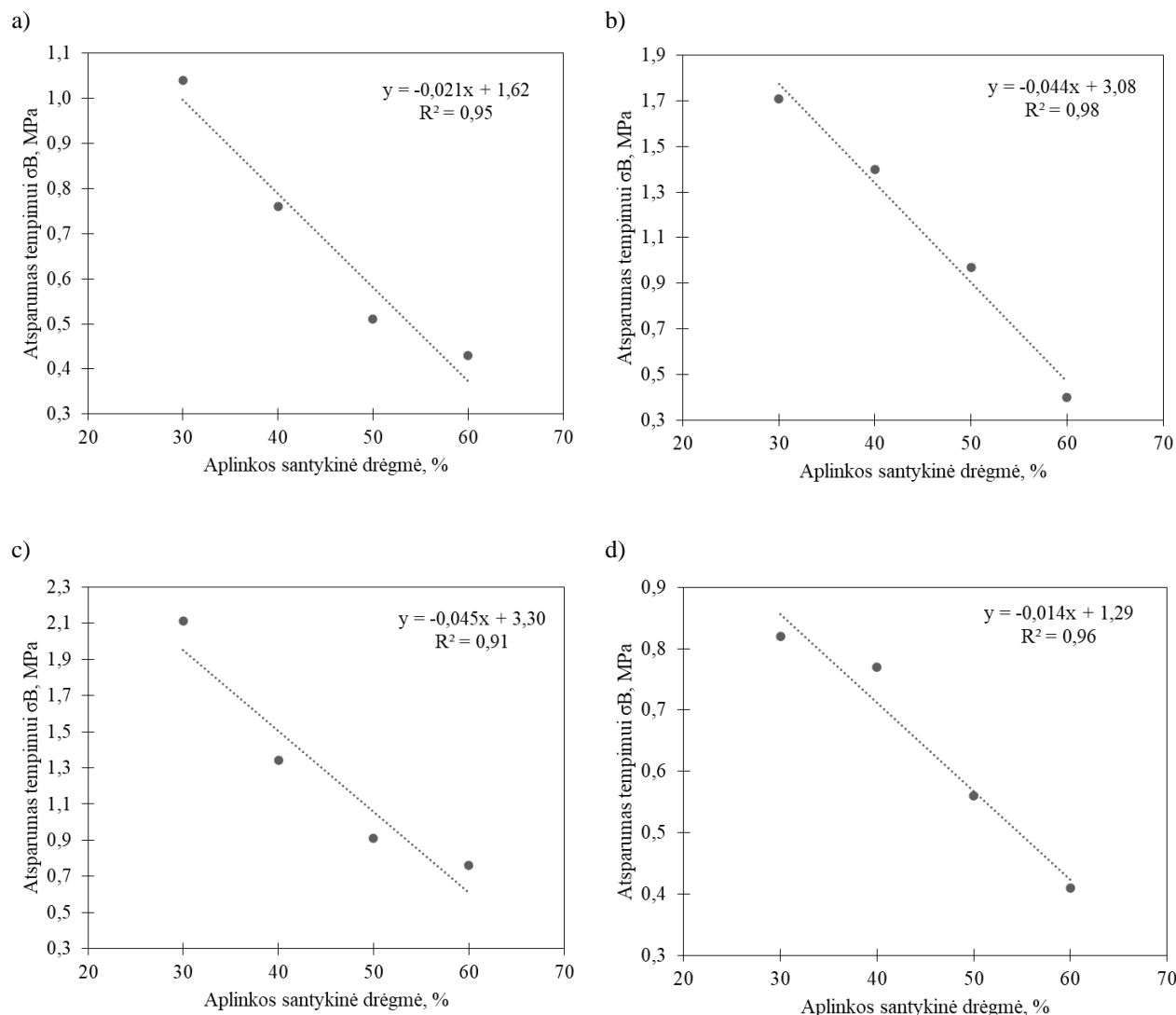
2.16 pav. Vandens vilgymo kampo priklausomybė nuo CBZ kiekio: a) esant 30 % santykinei aplinkos drėgmei, b) esant 40 % santykinei aplinkos drėgmei, c) esant 50 % santykinei aplinkos drėgmei, d) esant 60 % santykinei aplinkos drėgmei

Tarp vandens vilgymo kampo ir CBZ kiekio vyravo teigiama tiesinė priklausomybė – didėjant CBZ kiekiui didėjo ir vandens vilgymo kampas. CBZ yra mažai tirpi vandenyje medžiaga, todėl jos koncentracijos didėjimas turėjo įtakos medžiagos hidrofiliškumui. Polimeras PLA taip pat pasižymi hidrofobinėmis savybėmis.

PLA yra poliesteris, todėl pasižymi hidrofobiškumu, o tai daro didelę įtaką jo naudojimui tekstilės pramonėje, medicinoje ir kitose srityse. PLA hidrofiliškumui pagerinti gali būti taikomi įvairūs fiziniai ir cheminiai metodai. Kelių polimerų sumaišymas kartu yra vienas iš paprasčiausių būdų, kaip suderinti skirtingų komponentų savybes. PLA polimeras gali būti sumaišomas su hidrofiliškais polimerais, tokiais kaip krakmolai ar citrato plastifikatoriai, siekiant padidinti jo hidrofiliškumą [70].

2.2.6. Mechaninių savybių analizė

Pagamintų pluoštų mechaninėms savybėms nustatyti buvo atliktas tempimo bandymas. Jo tikslas yra gauti medžiagos stiprumo / tamprumo rodiklius, kurie inžineriniu požiūriu atspindi svarbiausias medžiagos mechanines savybes. Pagamintų pluoštų atsparumo tempimui priklausomybė nuo verpimo kameroje esančios santykinės drėgmės pateikiama 2.17 paveiksle.



2.17 pav. Pluoštų atsparumo tempimui priklausomybė nuo aplinkos santykinės drėgmės: a) 0 g CBZ, b) 0,2 g CBZ, c) 0,4 g CBZ, d) 0,8 g CBZ

Gauti rezultatai parodė, kad pluoštų atsparumas tempimui mažėjo didėjant aplinkos santykinėi drėgmei. Didžiausias atsparumas tempimui buvo stebimas pluoštuose, kurie pagaminti esant 30 % santykinėi drėgmei elektrinio verpimo kameroje, o pluoštai, kurie buvo pagaminti esant 60 % santykinėi aplinkos drėgmei pasižymėjo mažiausiu atsparumu tempimui. Atspariausias tempimui buvo bandinys DS9, pagamintas esant 30 % santykinėi aplinkos drėgmei ir 0,4 g CBZ (2,11 MPa). Silpniausias mėginys buvo DS8, pagamintas esant 60 % santykinėi aplinkos drėgmei ir 0,2 g CBZ (0,4 MPa).

Atsparumas tempimui yra tiesiogiai susijęs su pluošto gijų storium – kuo storesnės gijos, tuo didesnis jų atsparumas tempimui. Šiame tyrime mažesnė santykinė oro drėgmė lėmė greitesnį tirpiklio

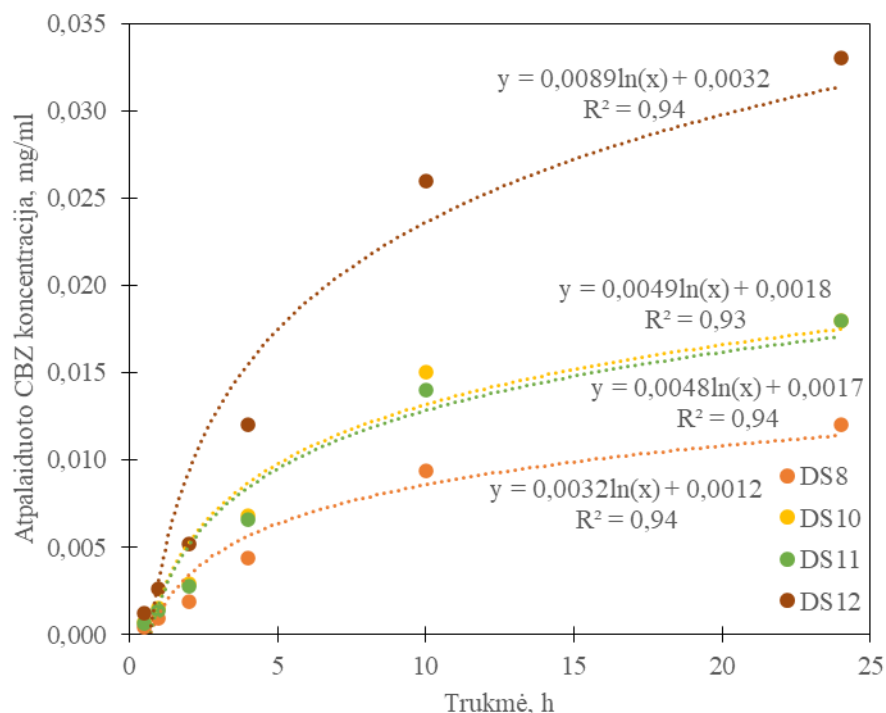
išgaravimą ir storesnių gijų susidarymą, ir atvirkščiai, didesnė drėgmė slopino tirpiklio išgaravimą ir lėmė plonesnių gijų susidarymą. CBZ kiekis polimeriniame tirpale neturėjo tiesioginės įtakos pluošto atsparumui tempimui.

Kitame moksliniame darbe buvo nustatytos tos pačios tendencijos – didžiausias tempiamasis stipris buvo gautas iš nanopluošto esant mažiausiam santykiniam drėgniui. Tyrime buvo paaiškinta, kad esant mažesnei santykinei drėgmei tirpiklio garavimo greitis buvo didesnis, todėl polimero tirpalo koncentracija elektrinio verpimo metu buvo didesnė. Didesnė koncentracija lėmė didesnę atsparumą tempimui. Taip pat esant žemesnei santykinei drėgmei nanopluošto paviršius buvo lygus ir be granulių, o esant dideliame santykiniam drėgnumui, pluoštai pasižymėjo minkšta tekstūra, rodančia prastą pluošto sukibimą. Dėl prasto sukibimo ir didelės drėgmės įvyksta fazių atsiskyrimas, kurį skatina vanduo. Pluoštas ant paviršiaus susidaro netrukus po to, kai polimero čiurkšlė liečiasi su supančia aplinka, todėl pluošto sukibimas tarpusavyje yra silpnesnis, nes likutinis tirpiklis yra būtinas norint sujungti pluoštų jungtis. Tai sumažina nanopluošto stiprumą esant didesnei drėgmei. Padidėjus santykinei oro drėgmei, atmosferoje atsiranda daugiau vandens molekulių. Jei vandens molekulė prasiskverbia į polimero molekules, ji gali reaguoti kaip plastifikatorius, todėl lūžimo metu padidėja pailgėjimas [65].

2.2.7. Funkcinės medžiagos atsipalaidavimo tyrimas

Vaistų pernašos ar tiekimo sistemoms keliami svarbūs reikalavimai – vaisto atpalaidavimas turi būti kontroliuojamas ir kuo ilgiau išlaikyti pageidaujamą vaisto koncentraciją kraujyje arba tiksliniuose audiniuose. Atpalaidavimo kinetika gali būti įvairi: išskyrimas gali būti lėtas viso proceso metu arba pradžioje gali būti atpalaiduojama didelė dozė vaisto, o po to seka lėtas komponento atpalaidavimas.

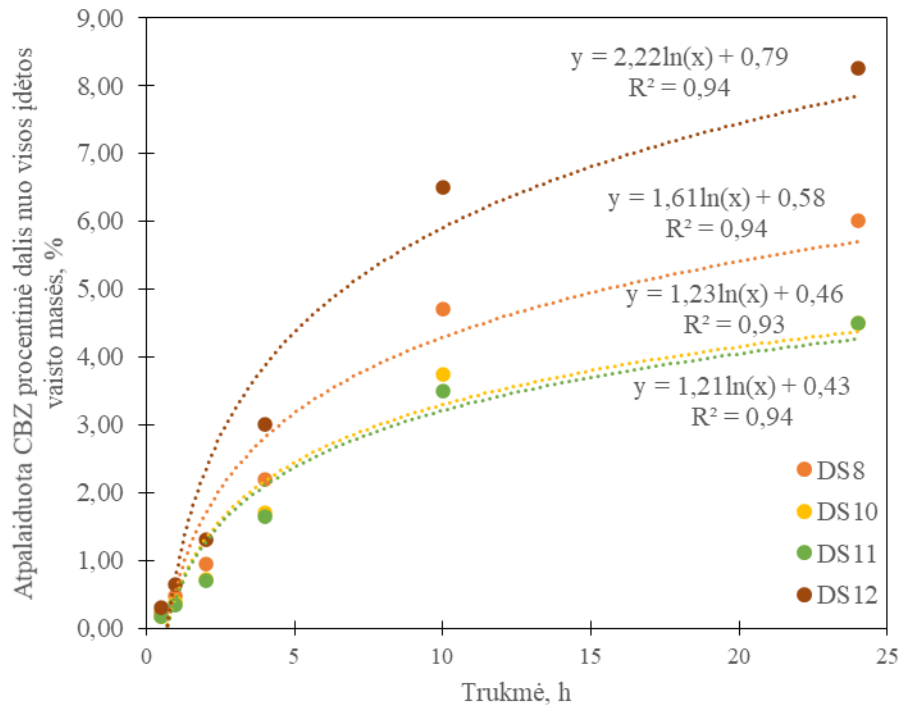
CBZ išskyrimo iš PLA mikropluošto profilis *in vitro* buvo tiriamas PBS, siekiant įvertinti galimą PLA pluošto su įkapsuliuotu CBZ panaudojimą kaip vaistų tiekimo sistemą. Atpalaiduoto CBZ koncentracijos pokytis per laiką pavaizduotas 2.18 paveiksle.



2.18 pav. Atpalaiduoto CBZ koncentracijos pokytis per laiką

Stebint CBZ atsipalaidavimą iš PLA polimerinės matricos buvo gautos logaritminės kreivės, todėl atpalaidavimo kinetika yra logaritminio matematinio pobūdžio. R^2 reikšmės svyravo taro 0,93 ir 0,94, todėl galima teigti, kad visų keturių mėginių rezultatai atitiko vaisto atpalaidavimo *in vitro* eksperimentinius duomenis. Didžiausia koncentracija CBZ atsipalaidavo iš mėginio DS12, kuriame buvo 0,4 g CBZ, o mažiausia koncentracija funkcinio junginio atsipalaidavo iš mėginio DS8, kuriame buvo 0,2 g CBZ. Mėginiai DS10 ir DS11 parodė tarpusavyje panašius rezultatus. Nors mėginiuose DS10, DS11 ir DS12 buvo vienodas kiekis CBZ, bet didžiausia koncentracija nustatyta iš mėginio DS12, kuris buvo pagamintas esant aukščiausiai santykinei aplinkos drėgmei (60 %). Didėjant santykinei drėgmei ant gijų paviršiaus susidarė daugiau porų, kurios leido atpalaiduoti didesnę vaisto kiekį.

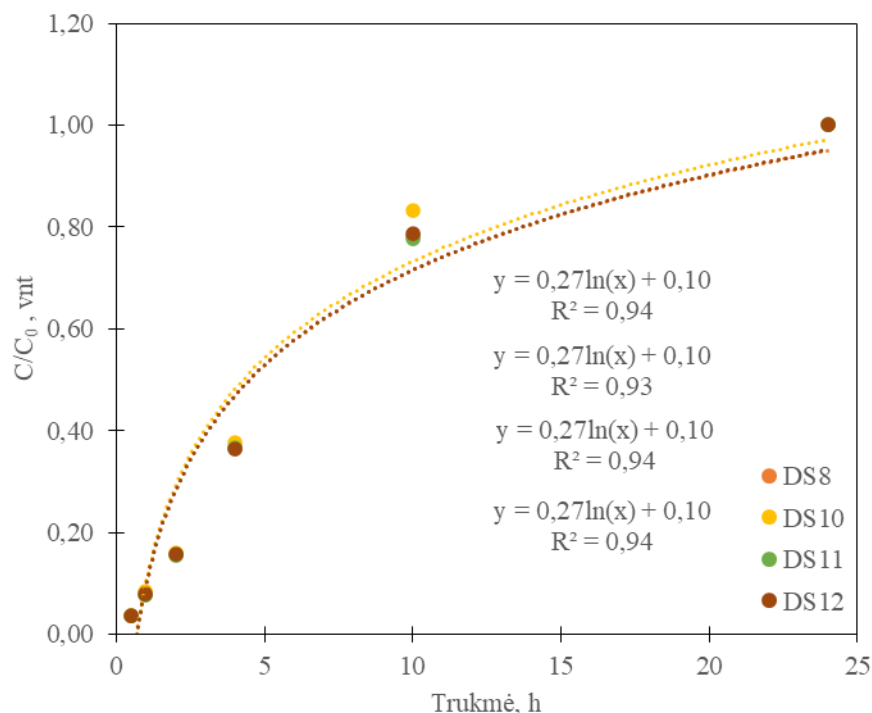
Siekiant palyginti procentines atpalaiduoto CBZ dalis, buvo apskaičiuota procentinė atpalaiduoto CBZ dalis nuo visos įdėtos į mėginį vaisto masės. Šios priklausomybės pavaizduotos 2.19 paveiksle.



2.19 pav. Atpalaiduotos procentinės CBZ dalies nuo visos įdėtos vaisto masės pokytis per laiką

Didžiausias kiekis vaisto išsiskyrė iš mėginio DS12, kuris buvo pagamintas esant 60 % santykinei drėgmei verpimo kameroje ir 0,4 g CBZ. Per 24 valandas iš šio pluošto mėginio atsipalaidavo 8,25 % CBZ. Mėginiai DS10 ir DS11 per 24 valandas atpalaidavo tą patį kiekį CBZ – 4,50 %. Iš šių pluoštų išsiskyrė žemiausias kiekis CBZ. Tai yra beveik du kartus mažiau nei iš pluošto DS12. Nors mėginys DS8 buvo mažiau CBZ nei kituose pluoštuose, tačiau iš jo atsipalaidavo didesnė procentinė dalis CBZ nei iš mėginių DS10 ir DS11. Mėginys DS8 buvo pagamintas esant tokiai pačiai santykinei drėgmei verpimo kameroje kaip mėginys DS12. Dėl aukštesnės santykinės drėgmės ant pluošto gijų susidaro daugiau porų, kurios leidžia atpalaiduoti daugiau funkcinio junginio. Tyrimo metu buvo pastebėta, kad didinant santykinę aplinkos drėgmę ir CBZ kiekį mėginys galima pasiekti aukštesnę CBZ atpalaidavimo procentinę dalį.

Tyrimo metu buvo stebima, kokia dalis CBZ tam tikru laiko momentu išsiskyrė iš PLA polimerinės matricos. Šis pokytis vieneto dalimis parodytas 2.20 paveiksle.



2.20 pav. CBZ atsipalaidavimo vieneto dalimis (C/C_0) pokytis per laiką

Iš logaritminės grafinės priklausomybės galima matyti, kad visuose mėginiuose vaisto išskyrimas vyko panašiu greičiu. Intensyviausiai funkcinis junginys išsiskyrė iki 10 valandos. Nuo 10 iki 24 valandos vaisto išsiskyrimas sulėtėjo.

Mokslininkai savo darbuose taip pat stebėjo funkcinių junginių atsipalaidavimo kinetiką. Atliekant *in vitro* vaistų išsiskyrimo kinetinį tyrimą, buvo įrodyta, kad antivirusinis vaistas acikloviras gali būti kontroliuojamai atpalaiduojamas iš oksiduoto chitozono modifikuoto pluošto panašiu modeliu kaip buvo CBZ atpalaiduotas iš PLA matricos [60]. Kitame tyrime buvo stebimas aspirino išsiskyrimas iš *Eudragit S100* pagrindu pagaminto nanoplušto. Buvo nustatyta, kad aspirinas atsipalaiduoja pagal erozijos mechanizmą. Per pirmas dvi valandas buvo atpalaiduotas nedidelis kiekis aspirino, kad apsaugotų skrandžio membraną, nuo antros iki šeštos valandos vaisto išsiskyrimas buvo intensyvesnis ir vėliau stabilizavosi, kad būtų išvengta galimo vaisto perdozavimo [38].

Tyrimai patvirtino, kad funkcinio junginio atsipalaidavimo kinetiką lemia pačio junginio savybės, polimerinė matricą ir pluošto gamybos sąlygos.

2.2.8. Tyrimo rezultatų apibendrinimas

Tyrimo metu buvo pagaminta 16 skirtingų mėginių iš PLA matricos, kurioje buvo įkapsuliuotas funkcinis junginys CBZ. Tyrimų rezultatai patvirtino, kad vaistas buvo sėkmingai įkapsuliuotas polimerinėje matricoje.

Didinant santykinę drėgmę verpimo kameroje pluošto gijos susidarė plonesnės, porų diametras sumažėjo ir pluoštas tapo mažiau atsparus tempimui. Tarp santykinės drėgmės ir pluošto hidrofiliškumo savybių nebuvo pastebėta tiesinė priklausomybė.

Kitas veiksnys turėjęs įtakos pagaminto pluošto savybėms buvo CBZ kiekis bandiniuose. CBZ įkapsuliavimas į polimerinę matricą nepakeitė gijų diametro, neturėjo tiesioginės įtakos porų susidarymui ir pluošto atsparumui tempimui, tačiau turėjo įtakos vandens vilgymo kampui. Didinant CBZ kiekį pluoštas tapo hidrofobiškesnis.

2.3 lentelė. Tyrimo rezultatų apibendrinimas

Mėginys	CBZ kiekis, g	Santykinė drėgmė, %	Vidutinis gijų diameteras, μm	Vidutinis porų diameteras, μm	Atsparumas tempimui σ_B , MPa	Vidutinis vilgymo kampas, $^\circ$
DS1	0	30	2,61±2,65	0,27±0,037	1,04	82,58±2,31
DS2		40	2,21±2,19	0,18±0,020	0,76	106,54±4,10
DS3		50	2,00±1,96	0,12±0,021	0,51	104,77±1,18
DS4		60	1,75±1,65	0,09±0,018	0,43	105,34±3,51
DS5	0,2	30	2,58±2,61	0,19±0,029	1,71	96,72±3,73
DS6		40	2,41±2,43	0,14±0,015	1,4	111,77±3,26
DS7		50	2,28±2,31	0,11±0,012	0,97	116,16±4,14
DS8		60	2,00±1,99	0,09±0,026	0,4	115,15±5,12
DS9	0,4	30	2,54±2,61	0,23±0,034	2,11	102,31±3,72
DS10		40	2,13±2,09	0,16±0,026	1,34	115,59±2,25
DS11		50	1,94±1,83	0,14±0,017	0,91	119,35±0,33
DS12		60	1,82±1,78	0,12±0,022	0,76	121,41±1,12
DS13	0,8	30	2,30±2,27	0,12±0,016	0,82	114,37±2,13
DS14		40	2,24±2,25	0,11±0,019	0,77	119,39±1,78
DS15		50	2,04±2,00	0,10±0,017	0,56	126,90±1,66
DS16		60	1,79±1,73	0,09±0,017	0,41	126,95±0,11

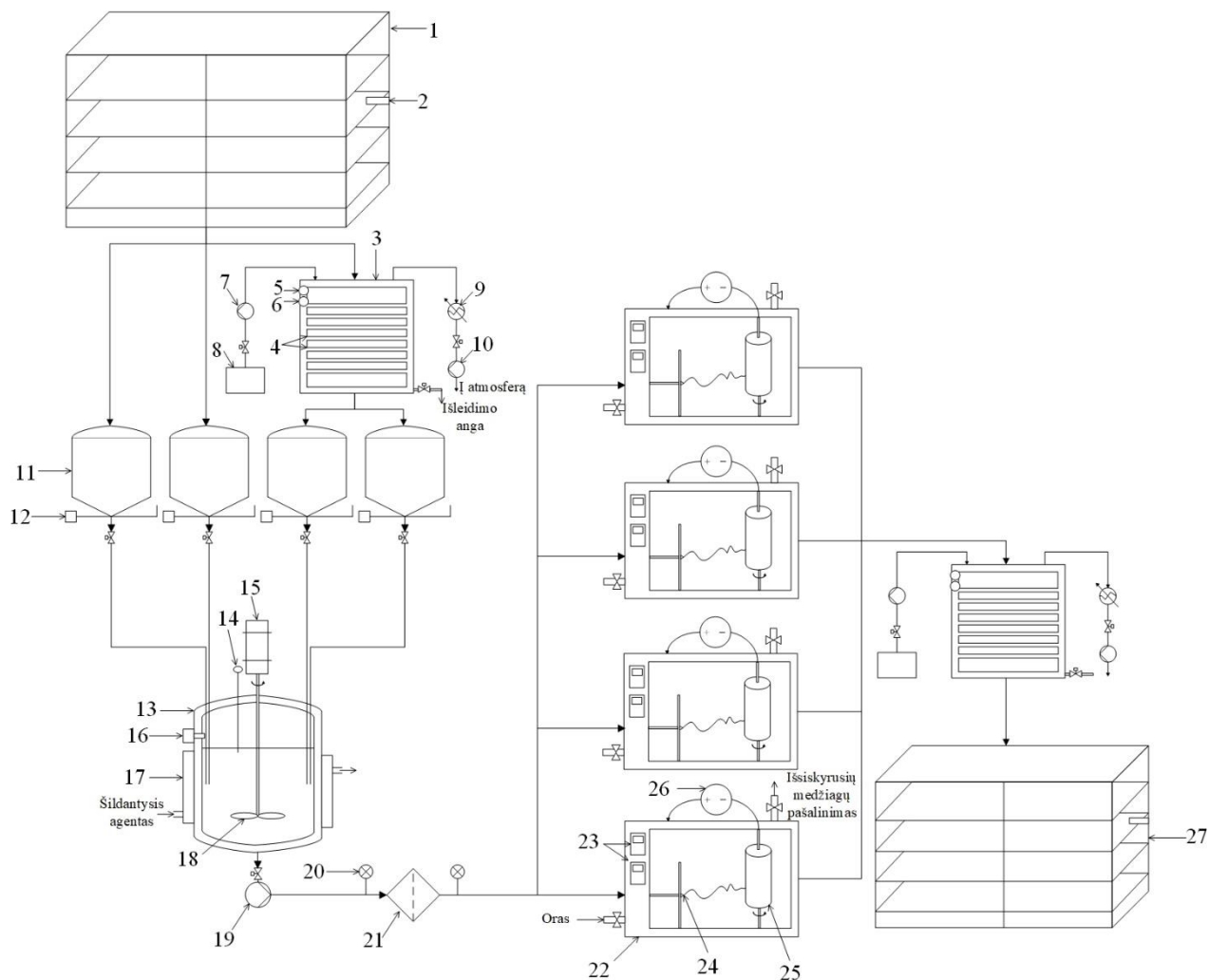
CBZ atsipalaidavimą iš PLA polimerinės matricos lėmė santykinė aplinkos drėgmė ir CBZ kiekis tirpale. CBZ atsipalaidavimo kinetikos matavimo rezultatai pateikiami 2.4 lentelėje.

2.4 lentelė. CBZ atsipalaidavimo tyrimo rezultatai

Trukmė, h	Koncentracija, mg/ml				
	DS1	DS8	DS10	DS11	DS12
0	0	0	0	0	0
0,5	0	0,00044	0,00068	0,00066	0,0012
1	0	0,00094	0,0015	0,0014	0,0026
2	0	0,0019	0,0029	0,0028	0,0052
4	0	0,0044	0,0068	0,0066	0,012
10	0	0,0094	0,015	0,014	0,026
24	0	0,012	0,018	0,018	0,033

3. Rekomendacijos

Remiantis atliktu tyrimu buvo sudaryta PLA pluošto gamybos su įkapsuliuotu funkciniu junginiu CBZ technologinių procesų sekos principinė schema, kuri pateikta 3.1 paveiksle.



3.1 pav. Principinė technologinė gamybos schema: 1 – pradinių žaliavų sandėliavimo patalpa; 2 – temperatūros / drėgmės daviklis; 3 – periodinio veikimo vakuuminė džiovyklė; 4 – tuščiavidurės lentynos; 5 – termopora; 6 – vakuumetras; 7 – siurblys; 8 – karšto vandens talpykla; 9 – kondensatorius; 10 – vakuuminis siurblys; 11 – žaliavų laikymo talpos; 12 – svarstyklės; 13 – periodinio veikimo maišyklė; 14 – termopora; 15 – elektros variklis; 16 – aukščio matavimo sistema; 17 – šildomas apvalkalas; 18 – maišiklis; 19 – siurblys; 20 – manometras; 21 – kasetinis filtras; 22 – elektrinio verpimo įrenginys; 23 – kolektoriaus sukimosi greičio, temperatūros ir santykinės drėgmės valdikliai; 24 – adata; 25 – būgninis kolektorius; 26 – aukštos įtampos šaltinis; 27 – galutinių produktų sandėliavimas

Pradinių medžiagų sandėliavimas: pradinės žaliavos turi būti laikomos vėsioje, sausoje, gerai ventiliuojamoje, apsaugotoje nuo tiesioginių saulės spindulių vietoje. Jų laikymo talpos turi būti sandariai uždarytos ir pritaikytos cheminių medžiagų laikymui. Rekomenduojama žaliavų sandėliavimo temperatūra yra 20 ± 5 °C, o santykinė drėgmė 30 ± 5 %.

Pradinių žaliavų džiovinimas: PLA granulės ir CBZ milteliai yra džiovinami prieš naudojimą. Džiovinimo metu yra pašalinama perteklinė drėgmė, kuri gali įtakoti medžiagų savybes. Džiovinimas vyksta periodinio veikimo vakuuminėje džiovyklėje. Šio tipo džiovyklės naudojamos sprogių,

lengvai užsidegančių ir pavojingas dujas išskiriančių medžiagų džiovinimui. Taip pat tinkama džiovininti medžiagas, kurios yra jautrios aukštai temperatūrai. Stačiakampio formos vakuuminėje džiovyklėje yra išdėstytos lentynos. Rekomenduojama, kad lentynos būtų pagamintos iš 304 tipo nerūdijančio plieno. Džiovinami produktai sudedami į ant lentynų esančius metalinius padėklus. Džiovinimo proceso metu vakuuminės džiovyklės kamera sandariai uždaroma ir naudojant vakuuminį siurblių per kondensatorių yra sudaromas vakuumas. Saugumui naudojama perkaitinimo signalizacija. Pradinės žaliavas yra rekomenduojama džiovininti 40 °C temperatūroje 24 valandas.

Žaliavų svėrimas: rekomenduojama pradinių žaliavų svėrimui naudoti dozavimo sistemą medžiagoms sverti iki 100 kg partijoje. Milteliai į svėrimo talpas patenka iš vakuuminės džiovyklės, o tirpalai paimami iš sandėliavimo patalpos. Siekiant perkelti gamybą iš laboratorijos į technologinę liniją, gamybos apimtis rekomenduojama padidinti 10000 kartų. Pradiniai medžiagų santykiai, reikalingi pagaminti polimerinį pluoštą, yra pateikiami 3.1 lentelėje.

3.1 lentelė. Pradinių medžiagų masės santykiai

CBZ koncentracija, %	DMF:DCM:PLA:CBZ masės santykis
0,77	0,71:1:0,23:0,015
1,53	0,71:1:0,23:0,030
3,01	0,71:1:0,23:0,060

Pradinių medžiagų maišymas: pasvertos medžiagos patenka į maišyklę. Elektriniame verpime yra naudojami homogeniški tirpalai. Šiam tikslui pasiekti rekomenduojama naudoti periodinio tipo maišyklę, turinčią funkciją, skirtą reguliuoti maišymo kameroje esančią temperatūrą. Rekomenduojama maišymą atlikti 40 °C laipsnių temperatūroje, 12 valandų.

Tirpalo filtravimas: neištirpusios sudedamosios mišinio dalys gali užkimšti elektrinio verpimo adatą, todėl prieš elektrinį verpimą gautą tirpalą reikia filtruoti. Filtravimui rekomenduojama naudoti kasetinius filtrus. Filtru užsikišimui tikrinti prieš filtrą ir už jo įrengti manometrai. Filtrą rekomenduojama keisti, kai slėgių skirtumas vamzdyne prieš filtrą ir už jo yra didesnis nei nurodyta filtro charakteristikoje.

Elektrinis verpimas: filtruotas tirpalas siurbliu transportuojamas į elektrinio verpimo aparatą. Tirpalo transportavimui rekomenduojama naudoti diafragminį siurblių. Šio tipo siurbliais galima transportuoti klampus tirpalus, jie pasižymi ypatingai tikslia našumo ir spaudimo reguliavimo galimybe.

Viena iš elektrinio verpimo įrenginio dalių yra aukštos įtampos šaltinis. Rekomenduojama naudoti 16 kV įtampą.

Iš siurblio tirpalas patenka į adatą. Rekomenduojama naudoti 23 kalibro adatą. Suformuotus pluoštas yra surenkamas ant horizontalaus cilindrinio kolektoriaus, pagaminto iš nerūdijančio plieno. Kolektoriaus sukimosi greitis 400 aps./min. Elektrinio verpimo kameroje rekomenduojama palaikyti pastovią 25±2 °C temperatūrą ir 60 % santykinę drėgmę.

Pagaminto pluošto džiovinimas: pagamintas pluoštas džiovinamas tokiomis pačiomis sąlygomis kaip pradinės medžiagos. Šiame etape rekomenduojama pluoštą džiovininti 24 valandas.

Pagamintų pluoštų sandėliavimas: išdžiovintus pluoštus rekomenduojama laikyti polietileniniuose, sandariai uždaruose maišeliuose. Maišeliai laikomi sandėliavimo patalpoje, kurio palaikoma 20 ± 5 °C temperatūra ir 30 ± 5 % santykinė drėgmė.

4. Darbuotojų sauga ir sveikata

4.1. Profesinės rizikos veiksniai

Darbo vietoje ir aplinkoje gali pasireikšti fizinių, fizikinių, cheminių, biologinių, ergonominių ar psichosocialinių veiksnių sukelti pavojai. Rizikos veiksniai, galintys pasireikšti darbo vietoje, kurioje gaminama PLA plėvelė su įkapsuliuotu funkciniu junginiu CBZ, pateikti 4.1 lentelėje.

4.1 lentelė. Rizikos veiksnių, galinčių pakenkti darbuotojų sveikatai, identifikavimas

Rizikos veiksnys	Veiksnių pasireiškimo charakteristika
Fiziniai	Elektrinio verpimo kameroje yra besisukančių dalių. Maišyklės, vakuuminių džioviklių paviršiai gali būti įkaitę. Naudojami įrenginiai gali būti techniškai netvarkingi. Technologinėje linijoje yra veikiančių elektros prietaisų (elektros srovė). Darbo vietoje gali įvykti gaisras.
Fizikiniai	Darbo aplinkoje gali būti per karšta arba per šalta, per maža santykinė aplinkos drėgmė. Nepakankamas darbo vietos apšvietimas. Įrenginiai gali sukelti triukšmą. Įrenginiai gali sukelti vibraciją.
Cheminiai	Naudojamos pavojingos, ėsdinančios cheminės medžiagos. Yra galimybė įkvėpti medžiagas arba joms patekti per akis ar odą.
Biologiniai	Nėra.
Ergonominiai	Darbo vieta gali būti neergonomiška. Reikia pakelti talpas su medžiagomis, kurios gali sverti daugiau nei 10 kg. Dirbant prie kompiuterio reikia įtemptai stebėti daug skirtingų objektų, signalų.
Psichosocialiniai	Darbas pamainomis, iš kurių viena – nakties metu. Darbo metu operatorius yra atsakingas už sklandų gamybinės linijos veikimą ir kitų asmenų saugumą.

4.2. Asmeninės ir kolektyvinės apsaugos priemonės

Patalpoje, kurioje įrengta gamybinė linija yra susiduriama su rizikos veiksniais. Darbuotojų apsaugai nuo šių veiksnių yra naudojamos kolektyvinės apsaugos priemonės. Sienos ir lubos turi būti pagamintos iš garsą sugeriančių medžiagų, kurios sumažina nuo įrenginių sklindantį triukšmą. Įrenginiai turi būti pastatyti ant vibraciją sukeliančių platformų. Švarus ir išvalytas oras turi būti tiekiamas į gamybinę patalpą, o užterštas oras pašalinamas. Vėdinimo sistema apsaugo nuo cheminių medžiagų poveikio.

Asmeninė apsaugos priemonė turi būti naudojama, kai negalima išvengti rizikos arba pakankamai jos apriboti kolektyvinėmis apsaugos techninėmis priemonėmis, darbo organizavimo priemonėmis, metodais ar tvarka. Asmeninių apsaugos priemonių naudojimą reglamentuoja *Darbuotojų aprūpinimo asmeninėmis apsaugos priemonėmis* nuostatai. Asmenine apsaugos priemone yra laikoma bet kuri priemonė, skirta darbuotojui turėti ar dėvėti, siekiant apsaugoti jį nuo rizikos veiksnių, galinčių kelti grėsmę darbuotojo saugai ir sveikatai, bei kitas šiam tikslui skirtas priedas ar reikmuo. Jos turi apsaugoti nuo galimų kenksmingų, pavojingų veiksnių, esančių darbo aplinkoje, pačios nesukeldamos papildomos rizikos; turi atitikti darbo vietoje esančias sąlygas; atitikti ergonominius reikalavimus ir darbuotojo sveikatos būklę; tiksliai tiktai darbuotojui. Jeigu darbuotoją vienu metu veikia daugiau kaip vienas rizikos veiksnys, asmeninės apsaugos priemonės turi būti

tarpusavyje suderintos ir garantuoti apsaugą nuo rizikos veiksnio ar veiksmų. Išduotos asmeninės apsaugos priemonės turi būti paženklintomis CE ženklu ir turinčiomis EB atitikties deklaraciją [71].

Siekiant apsaugoti darbuotojus dirbančius prie šios gamybinės linijos naudojamos asmeninės apsaugos priemonės:

1. veido / akių apsauga: dėvėti apsauginius akinius ar veido skydelį, siekiant išvengti cheminių medžiagų patekimo į akis ar ant odos;
2. kvėpavimo takų apsauga: naudoti respiratorių;
3. kūno / odos apsauga: mėvėti apsaugines pirštines dirbant su cheminėmis medžiagomis. Dėvėti apsauginį chalata, siekiant apsaugoti drabužius ir odą.

4.3. Pavojingumo ir atsargumo frazės, įspėjamieji ženklai.

Pavojingos medžiagos gali sukelti pavojų darbuotojų saugai ir sveikatai. Tyrime buvo naudotos pradinės medžiagos: CBZ, PLA, DCM, DMF. 4.2 lentelėje pateikiama informacija apie naudotų medžiagų pavojingumą.

4.2 lentelė. Naudotų medžiagų pavojingumas pagal reglamentą (EB) Nr. 1272/2008 [72]

Medžiagos pavadinimas	Pavojingumas
CBZ	Nepavojinga
PLA	Nepavojinga
DCM	Nepavojinga
DMF	Pavojinga

4.3.1. N,N-dimetilformamidas

DMF yra klasifikuojama kaip pavojinga medžiaga. Jei naudojamas signalinis žodis – pavojinga. Pagal reglamentą (EB) Nr. 1272/2008 ir saugos duomenų lape pateiktą informaciją 4.3 lentelėje identifikuojamas pavojus susijęs su DMF naudojimu [73].

4.3 lentelė. Klasifikacija pagal reglamentą (EB) Nr. 1272/2008 [72]

Klasifikacija pagal reglamentą (EB) Nr. 1272/2008	Pavojaus kategorija	Pavojingumo klasė
Degūs skysčiai	3	H226
Ūmus toksiškumas įkvėpus	4	H332
Ūmus toksiškumas patekus ant odos	4	H312
Akių pažeidimas	2	H319
Toksiškumas reprodukcinei sistemai	1B	H360D

Pagal Lietuvos higienos normą HN 23:2011 DMF yra nustatyta ribinė poveikio darbo aplinkoje vertė (4.4 lentelė) [74].

4.4 lentelė. Cheminės medžiagos ribiniai dydžiai [74]

Cheminė medžiaga	Ilgalaikio poveikio ribinis dydis	Trumpalaikio poveikio ribinis dydis	Poveikio sveikatai ypatumai	Pastabos
DMF	15 mg/m ³	30 mg/m ³	Medžiaga į organizmą gali prasiskverbti pro nepažeistą odą; reprodukcijai toksiškas poveikis.	Šios medžiagos skystos formos skvarba per odą yra tokia didelė, kad gali sukelti pavojų sveikatai.

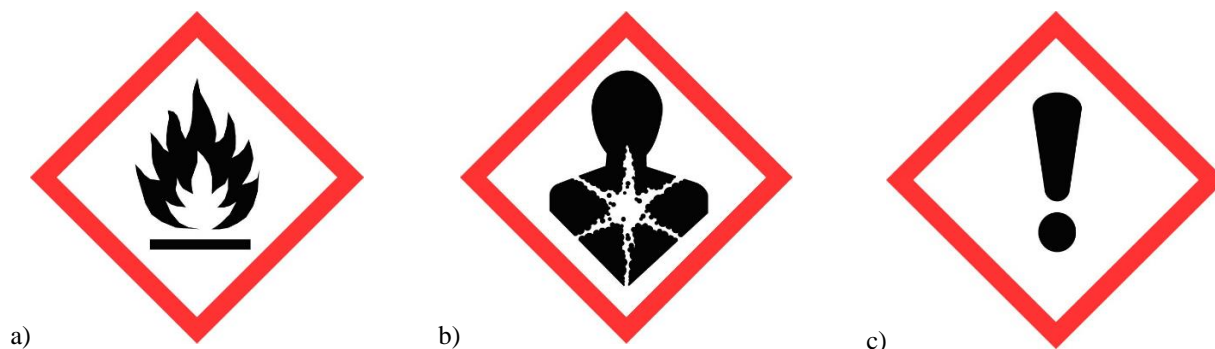
Pavojingumo frazės:

1. degus skystis ir garai, H226;
2. kenksminga susilietus su oda arba įkvėpus, H312 + H332;
3. sukelia stiprų akių dirginimą, H319;
4. gali pakenkti negimusiam kūdikiui, H360D [73].

Atsargumo frazės:

1. laikyti atokiai nuo karštų paviršių, kibirkščių, atviros liepsnos ir kitų degimo šaltinių, P210;
2. mūvėti apsaugines pirštines, dėvėti apsauginius drabužius, naudoti akių / veido apsaugą, P280;
3. patekus ant odos nedelsiant nusiimti užterštą aprangą ir gausiai nuplauti aplietą vietą vandeniu, P303 + P361 + P353;
4. įkvėpus: išnešti asmenį į gryną orą, o pasijutus blogai kreiptis į gydytoją, P304 + P340 + P312;
5. patekus į akis: keletą minučių atsargiai plauti vandeniu, išsiimti kontaktinius lęšius (jei tai yra įmanoma) ir tęsti skalavimą, P305 + P351 + P338;
6. esant sąlyčiui arba kitiems negalavimas kreiptis į gydytoją, P308 + P313 [73].

Pavojaus piktogramos pateikiamos 4.1 paveiksle.



4.1 pav. Pavojaus piktogramos: a) simbolis – liepsna (GHS02), b) simbolis – pavojai sveikatai (GHS08), c) simbolis – šauktukas (GHS07) [73]

Pirmosios pagalbos priemonės:

1. bendroji pagalba: parodyti medžiagos saugos duomenų lapą dalyvaujantiems gydytojui;

2. įkvėpus: įleisti gryno oro ir kreiptis į gydytoją;
3. medžiagai patekus ant odos: nedelsiant nusivilkti visus užterštus drabužius, nuplauti odą su vandeniu ir kreiptis į gydytoją;
4. medžiagai patekus į akis: gausiai skalauti švariu vandeniu, išsiimti kontaktinius lęšius ir kreiptis į gydytoją;
5. prarijus: duoti nukentėjusiam asmeniui išgerti vandens (bent dvi stiklines) ir kreiptis į gydytoją [73].

Priešgaisrinės priemonės:

1. tinkamos gesinimo priemonės: vanduo, putos, anglies dioksidas, sausi milteliai;
2. specialūs medžiagos ar mišinio keliami pavojai: lengvai užsideganti; degimo metu susidaro anglies oksidai, azoto oksidai; garai yra sunkesni už orą ir gali pasklisti pažemiu; aukštesnėje temperatūroje su oru sudaro sprogius mišinius; gaisro atveju gali susidaryti pavojingos degimo dujos arba garai;
3. Patarimai ugniagesiams: pavojaus zonoje būti tik su autonominiu kvėpavimo aparatu, vengti sąlyčio su oda, laikytis saugaus atstumo arba dėvėti tinkamus apsauginius drabužius [73].

Išvados

1. Funkcinis junginys karbamazepinas buvo įkapsuliuotas į polipieno rūgšties polimerinę matricą. Elektrinio verpimo metu buvo keičiamas karbamazepino kiekis nuo 0 g iki 0,8 g tirpale ir santykinė drėgmė nuo 30 % iki 60 % verpimo kameroje. Buvo pagaminta 16 skirtingų mėginių.
2. Pagamintų pluoštų morfologiją ir chemines savybes lėmė funkcinio junginio kiekis ir santykinė aplinkos drėgmė. Rezultatai parodė, kad suformuotų mikrogijų paviršius porėtas. Tankiausiai poros išsidėsčiusios ant gijų, kurios pagamintos esant 60 % santykinėi drėgmei, tačiau didėjant santykinėi drėgmei porų diametras sumažėjo. Vidutinis gijų diametras svyruoja nuo $2,61 \pm 0,52 \mu\text{m}$ iki $1,75 \pm 0,42 \mu\text{m}$. Didžiausias porų diametras ($0,27 \pm 0,037 \mu\text{m}$) gautas pluošte, kuris pagamintas be karbamazepino ir esant 30 % santykinėi drėgmei, o mažiausias diametras išmatuotas esant 60 % santykinėi drėgmei mėginiuose be karbamazepino ($0,09 \pm 0,018 \mu\text{m}$), su 0,2 g ($0,09 \pm 0,026 \mu\text{m}$) ir 0,8 g ($0,09 \pm 0,017 \mu\text{m}$) karbamazepino. Atlikti tyrimai patvirtino, kad gauti mėginiai turėjo polipieno rūgščiai ir karbamazepinui būdingas funkcinės grupes. Polipieno rūgščiai charakteringos funkcinės grupės nustatytos ties 2992 cm^{-1} ir 2883 cm^{-1} (CH_2 asimetriniai ir simetriniai valentiniai virpesiai), 1755 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ grupė), 1392 cm^{-1} (CH_3 deformacija), $1183\text{--}1044 \text{ cm}^{-1}$ (asimetriniai ir simetriniai $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ valentiniai virpesiai), 879 cm^{-1} ($\text{O}-\text{CH}-\text{CH}_3$ grupė). Karbamazepinui būdingos funkcinės grupės nustatytos ties 1690 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ grupė) ir 1593 cm^{-1} (amido II deformaciniai $\text{N}-\text{H}$ ir $\text{C}-\text{N}$ virpesiai).
3. Mažiausias vandens vilgymo kampas visuose mėginiuose buvo gautas esant 30 % santykinėi drėgmei, tačiau didžiausias vandens vilgymo kampas pasiskirstė netolygiai. Gauti rezultatai parodė, kad tarp vandens vilgymo kampo ir karbamazepino kiekio vyravo teigiama tiesinė priklausomybė. Pluoštų atsparumas tempimui mažėjo didėjant aplinkos santykinėi drėgmei. Atspariausias tempimui buvo bandinys pagamintas esant 30 % santykinėi aplinkos drėgmei ir 0,4 g karbamazepino (2,11 MPa). Silpniausias mėginys buvo pagamintas esant 30 % santykinėi aplinkos drėgmei ir 0,2 g karbamazepino (0,4 MPa).
4. Stebint karbamazepino atsipalaidavimą iš polipieno rūgšties polimerinės matricos buvo gautos logaritminio pobūdžio matematinės kreivės. Didžiausias procentinis kiekis vaisto per 24 valandas (8,25 %) išsiskyrė iš mėginio, kuris buvo pagamintas esant 60 % santykinėi drėgmei verpimo kameroje ir 0,4 g karbamazepino. Mėginiai pagaminti esant 40 % ir 50 % santykinėi drėgmei per 24 valandas atpalaidavo mažiausią procentinį kiekį – 4,50 %. Visuose mėginiuose vaisto atpalaidavimas vyko panašiu greičiu – intensyviausiai išsiskyrė iki 10 valandos, o nuo 10 iki 24 valandos sulėtėjo.
5. Pagal gautus tyrimų rezultatus pateiktos rekomendacijos polipieno rūgšties su įkapsuliuotu funkcinio junginiu karbamazepinu pluoštų gamybos technologinei linijai. Parengta principinė technologinė schema susidedanti iš žaliavų sandėliavimo, džiovavimo, svėrimo, maišymo, gautų tirpalų filtravimo, elektrinio verpimo proceso, pagamintų pluoštų džiovavimo ir produktų sandėliavimo etapų.

Literatūros sąrašas

1. SATSUKI Yamada, ATTA Behfar, ANDRE Terzic, „Regenerative medicine clinical readiness“, *Regenerative medicine*, t. 16, nr. 3, p. 1–9, 2021.
2. MOHSEN Doostmohammadi, HAMID Forootanfar, SEERAM Ramakrishna, „Regenerative medicine and drug delivery: Progress via electrospun biomaterials“, *Materials Science and Engineering: C*, t. 109, 2020.
3. PACHUAU Laldusanga, LALDINCHHANA, ROY Probin Kumar, ZOTHANTLUANGA James H., RAY Supratim, DAS Sanjib, „Encapsulation of Bioactive Compound and Its Therapeutic Potential“, *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications*, t. 140, pp. 687–714, 2020.
4. BRITO de SOUZA Volnei, THOMAZINI Marcelo, CHAVES Isabela Elias, FERRO-FURTADO Roselayne, FAVARO-TRINDADE Carmen Sílvia, „Microencapsulation by complex coacervation as a tool to protect bioactive compounds and to reduce astringency and strong flavor of vegetable extracts“, *Food Hydrocoll*, t. 98, p. 1–5, 2020.
5. MARYAM Rahmati, DAVID K. Mills, ALEKSANDRA M. Urbanska, MOHAMMED Reza Saeb, JAYARAMA Reddy Venugopal, SEERAM Ramakrishna, MASOUD Mozafari, „Electrospinning for tissue engineering applications“, *Progress in Materials Science*, t. 117, 2021.
6. W. H. Organization, „WHO“, 2021. Prieiga per internetą: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). [Žiūrėta 2022-08-02].
7. WANG L, WU Y, HU T, GUO B, MA P, „Electrospun conductive nanofibrous scaffolds for engineering cardiac tissue and 3D bioactuators“, *Acta Biomater*, t. 59, p. 68–81, 2017.
8. XINGZI Lan, HAN Wang, JIANFU Bai, XIAOMIN Miao, QUAN Lin, JIANPEI Zheng, SHUKAI Ding, XIAORAN Li, YADONG Tang, „Multidrug-loaded electrospun micro/nanofibrous membranes: Fabrication strategies, release behaviors and applications in regenerative medicine“, *Journal of Controlled Release*, t. 330, p. 1264–1287, 2021.
9. YAZDANPANA A., TAHMASBI M., AMOABEDINY G., NOURMOHAMMADI J., MOZTARZADEH F., MOZAFARI M., „Fabrication and characterization of electrospun poly-L-lactide/gelatin graded tubular scaffolds: Toward a new design for performance enhancement in vascular tissue engineering“, *Progress in Natural Science: Materials International*, t. 25, nr. 5, p. 405–413, 2015.
10. MAHDAVI S. Sharareh, MOHAMMED J. Abdekhodaie, SHOHREH Mashayekhan, ALIZERA Baradaran-Rafii, ALI R. Djalilian, „Bioengineering Approaches for Corneal Regenerative Medicine“, *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, t. 17, p. 567–593, 2020.
11. YOSHINORI Oie, SHIMPEI Komoto, RYO Kawasaki, „Systematic review of clinical research on regenerative medicine for the cornea“, *Japanese Journal of Ophthalmology*, t. 65, p. 169–183, 2021.
12. RAVANI Raghav D, YADAV Saumya, TAKKAR Brijesh, SEN Seema, KASHYAP Seema, GUPTA Deepika Gupta, JASSAL Manjeet, AGRAWAL Ashwini, MOHANTY Sujata,

- TANDON Radhika, „Experimental evaluation of safety and efficacy of plasma-treated poly- ϵ -caprolactone membrane as a substitute for human amniotic membrane in treating corneal epithelial defects in rabbit eyes“, *Indian Journal of Ophthalmology*, t. 69, nr. 9, p. 2412–2416, 2021.
13. ORTEGA I, RYAN AJ, DESHPANDE P, MACNEIL S, CLAEYSSSENS F., „Combined microfabrication and electrospinning to produce 3-D architectures for corneal repair“, *Acta Biomaterialia*, t. 9, nr. 3, p. 5511–5520, 2013.
 14. QINKE Yao, WEIJIE Zhang, YANG Hu, JUNZHAO Chen, CHUNYI Shao, XIANQUA Fan, YAO Fu, „Electrospun collagen/poly(L-lactic acid-co- ϵ -caprolactone) scaffolds for conjunctival tissue engineering“, *Experimental and Therapeutic Medicine*, t. 14, nr. 5, p. 4141–4147, 2017.
 15. SONIA P. Miguel, DEBORAH Simões, ANDRE F. Moreira, ROSA S. Sequeira, ILIDIO J. Correia, „Production and characterization of electrospun silk fibroin based asymmetric membranes for wound dressing applications“, *International Journal of Biological Macromolecules*, t. 121, p. 524–535, 2019.
 16. YUE Fang, XIANQI Zhu, NA Wang, XUAN Zhang, DONGZHI Yang, JUN Nie, GUIPING Ma, „Biodegradable core-shell electrospun nanofibers based on PLA and γ -PGA for wound healing“, *European Polymer Journal*, t. 116, p. 30–37, 2019.
 17. HONGYAN Bi, TIANYI Feng, BINBIN Li, YINGCHAO Han, „In Vitro and In Vivo Comparison Study of Electrospun PLA and PLA/PVA/SA Fiber Membranes for Wound Healing“, *Polymers*, t. 12, nr. 4, p. 839, 2020.
 18. EDGAR L., PU T., PORTER B., AZIZ J. M., LA POINTE C., ASTHANA A., ORLANDO G., „Regenerative medicine, organ bioengineering and transplantation“, *British Journal of Surgery*, t. 107, nr. 7, p. 793–800, 2020.
 19. „American Society of Transplantation“, Prieiga per internetą: <https://www.myast.org/>. [Žiūrėta 2022-01-10].
 20. „European Society for Organ Transplantation / The European Cell Therapy and Organ Regeneration Section“, Prieiga per internetą: <https://esot.org/ectors/>. [Žiūrėta 2022-01-10].
 21. ABBAS Shafiee, LIDA Moradi, MAYASARI Lim, JASON Brown, „Coronavirus disease 2019: A tissue engineering and regenerative medicine perspective“, *STEM CELLS Translational Medicine*, t. 10, nr. 1, p. 27–38, 2020.
 22. FRANCESCA Donnalaja, EMANUELA Jacchetti, MONICA Soncini, MANUELA T. Raimondi, „Natural and Synthetic Polymers for Bone Scaffolds Optimization“, *Polymers*, t. 12, nr. 4, p. 905, 2020.
 23. ASADI Nahideh, DEL BAKHSHAYESH Azizeh Rahmani, DAVARAN Soodabeh, AKBARZADEH Abolfazl, „Common biocompatible polymeric materials for tissue engineering and regenerative medicine“, *Materials Chemistry and Physics*, t. 242, 2020.
 24. DESTEFANO Vincent, KHAN Salaar, TABADA Alonzo, „Applications of PLA in modern medicine“, *Engineered Regeneration*, t. 1, p. 76–87, 2020.

25. VANKOVA E, KAŠPAROVA P, KHUN J, MACHKOVAA, JULAK J, SLAMA M, HODEK J, ULRYCHOVAL, WEBER J, OBROVA K, KOSULIN K, LION T, SCHOLTZ V., „Polylactic acid as a suitable material for 3D printing of protective masks in times of COVID-19 pandemic“, *PeerJ*, 2020.
26. TERUKI Nii, YOSHIKI Katayama, „Biomaterial-Assisted Regenerative Medicine“, *International Journal of Molecular Sciences*, t. 22, p. 1–18, 2021.
27. ZHIMEI Wei, LIQUAN Wang, SHOUYU Zhang, TONGHAI Chen, JIE Yang, SHENGRU Long, XIAOJUN Wang, „Electrospun antibacterial nanofibers for wound dressings and tissue medicinal fields: A Review“, *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, t. 13, nr. 5, 2020.
28. MOKGAOTSA Jonas Mochane, TEBOHO Simon Motsoeneng, EMMANUEL Rotimi Sadiku, TEBOHO Clement Mokhena, JEREMIA Shale Sefadi, „Morphology and Properties of Electrospun PCL and Its Composites for Medical Applications: A Mini Review“, *Applied Sciences*, t. 9, nr. 11, p. 2205, 2019.
29. JANMOHAMMADI M., NOURBAKHS M. S., „Electrospun polycaprolactone scaffolds for tissue engineering: a review“, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, t. 68, nr. 9, p. 527–539, 2019.
30. A. Hernández-Rangel, E. San Martín-Martínez, „Collagen based electrospun materials for skin wounds treatment“, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, t. 109, nr. 9, p. 1751–1764, 2021.
31. BRITANI N. Blackstone, SUMMER C. Gallentine, HEATHER M. Powell, „Collagen-Based Electrospun Materials for Tissue Engineering: A Systematic Review“, *Bioengineering*, t. 8, nr. 3, p. 39, 2021.
32. ANDRIAN D. Juncos Bombin, NICHOLAS J. Dunne, HELEN O. McCarthy, „Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications“, *Materials Science and Engineering: C*, t. 114, 2020.
33. SRUTHI Ranganathan, KALIMUTHU Balagangadharan, NAGARAJAN Selvamurugan, „Chitosan and gelatin-based electrospun fibers for bone tissue engineering“, *International Journal of Biological Macromolecules*, t. 133, p. 354–364, 2019.
34. ALVIN Bacero Bello, DEOGIL Kim, DOHYUN Kim, HANSOO Park, SOO-HONG Lee, „Engineering and Functionalization of Gelatin Biomaterials: From Cell Culture to Medical Applications“, *Tissue Engineering Part B: Reviews*, t. 26, nr. 2, 2020.
35. MEHDI Movahedi, AMIN Orash Mahmoud Salehi, DAVOUD Moezi, REYHANEH Yarahmadian, „In vitro and in vivo study of aspirin loaded, electrospun polycaprolactone–maltodextrin membrane for enhanced skin tissue regeneration“, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 2021.
36. YINGFU Bai, DI Wang, ZHI Zhang, JINCHENG Pan, ZHENGBO Cui, DENG-GUANG Yu, SIM-WAN Annie Bligh, „Testing of fast dissolution of ibuprofen from its electrospun hydrophilic polymer nanocomposites“, *Polymer Testing*, t. 93, 2021.
37. R. C. RAMOS, „Investigating electrospinning to prepare nanofibers suitable for neurological disorders“, *Tese de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas*, p. 1–42, 2020.

38. YANFEI Ding, CHENG Dou,, SHUYUE Chang, ZHENGMING Xie, DENG-GUANG Yu, YANAN Liu, JUN Shao, „Core–Shell Eudragit S100 Nanofibers Prepared via Triaxial Electrospinning to Provide a Colon-Targeted Extended Drug Release“, *Polymers*, t. 12, nr. 9, p. 2034, 2020.
39. MOHAMMAD Azad Alam, MOHAMMAD Hamed Asoushe, POURAN Pourhakkak, LUKAS Gritsch, ALIZERA Alipour, SOMAYE Mohammadi, „Preparation of bioactive polymer-based composite by different techniques and application in tissue engineering: A review“, *Journal of Composites and Compounds*, t. 3, p. 194–205, 2021.
40. UNAL Aynur, ARORA Nidhi, „3D printing in regenerative medicine“, *Regenerated Organs*, 2021, pp. 305–330.
41. RAMADAN Q, ZOUROB M, „3D Bioprinting at the Frontier of Regenerative Medicine, Pharmaceutical, and Food Industries“, *Frontiers in Medical Technology*, 2021.
42. ANTONELLA Sola, JESSIKA Bertacchini, DANIELE D'Avella, LAURA Anselmi, TULLIA Maraldi, SANDRA Marmioli, MASSIMO Messori, „Development of solvent-casting particulate leaching (SCPL) polymer scaffolds as improved three-dimensional supports to mimic the bone marrow niche“, *Materials Science and Engineering: C*, t. 96, p. 153–165, 2019.
43. VLACHOU Marilena, SIAMIDI Angeliki and KYRIAKOY Sotiria, „Electrospinning and Drug“, *Electrospinning and Electrospaying*, 2019, p. 1–22.
44. MANUEL Cornejo Bravo José, JESUS Villarreal Gómez Luis and ARACELY Serrano Medina, „Electrospinning for Drug Delivery Systems: Drug“, *Electrospinning*, 2016, p. 141–155.
45. LI Heyu, LIU Kailin, SANG Qingqing, WILLIAMS Gareth R., WU Junzi, WANG Haijun, WU Jianrong, ZHU Li-Min, „A thermosensitive drug delivery system prepared by blend electrospinning“, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, t. 159, nr. 1, p. 277–283, 2017.
46. LI Heyu, SANG Qingqing, WU Junzi, WILLIAMS Gareth R., WANG Haijun, NIU Shiwei, WU Jianrong, ZHU Li-Min, „Dual-responsive drug delivery systems prepared by blend electrospinning“, *International Journal of Pharmaceutics*, t. 543, nr. 1–2, p. 1–7, 2018.
47. GHAFOR Bakhtawar, ALEEM Amna, ALI Murtaza Najabat, MIR Mariam, „Review of the fabrication techniques and applications of polymeric electrospun nanofibers for drug delivery systems“, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, t. 48, p. 82–87, 2018.
48. QIAN Wei, YU Deng-Guang, LI Ying, LIAO Yao-Zu, WANG Xia and WANG Lu, „Dual Drug Release Electrospun Core-Shell Nanofibers with Tunable Dose in the Second Phase“, *International Journal of Molecular Sciences*, t. 15, p. 774–786, 2014.
49. ZHANG Cen, FENG Fengqin, ZHANG Hui, „Emulsion electrospinning: Fundamentals, food applications and prospects“, *Trends in Food Science & Technology*, t. 80, p. 175–186, 2018.
50. HU Jue Hu, PRABHAKARAN Molamma P., TIAN Lingling, DING Xin and RAMAKRISHNA Seeram, „Drug-loaded emulsion electrospun nanofibers: characterization, drug release and in vitro biocompatibility“, *RSC Advances*, t. 5, p. 100256–100267, 2015.

51. SOARES Rosane M.D., SIQUEIRA Nataly M., PRABHAKARAM Molamma P., RAMAKRISHNA Seeram, „Electrospinning and electrospray of bio-based and natural polymers for biomaterials development“, *Materials Science and Engineering: C*, t. 92, p. 969–982, 2018.
52. STEIPEL Rebeca T., GALLOVIC Matthew D., BATTY Cole J., BACHELDER Eric M., AINSLIE Kristy M., „Electrospray for generation of drug delivery and vaccine particles applied in vitro and in vivo“, *Materials Science and Engineering: C*, t. 105, 2019.
53. RASEKH Manoochehr, AHMAD Zeeshan, CROSS Richard, HERNANDES-GILL Javier, WILTON-ELY James D. E. T., MILLER and Philip W., „Facile Preparation of Drug-Loaded Tristearin Encapsulated Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Using Coaxial Electrospray Processing“, *Molecular Pharmaceutics*, t. 14, nr. 6, p. 2010–2023, 2017.
54. TSAI Shawn, TING Yuwen, „Synthesize of alginate/chitosan bilayer nanocarrier by CCD-RSM guided co-axial electrospray: A novel and versatile approach“, *Food Research International*, t. 116, p. 1163–1172, 2019.
55. YANG Jinke, WANG Ke, YU Deng-Guang, YANG Yaoyao, BLIGH Sim Wan Annie, WILLIAMS Gareth R., „Electrospun Janus nanofibers loaded with a drug and inorganic nanoparticles as an effective antibacterial wound dressing“, *Materials Science and Engineering: C*, t. 111, 2020.
56. ESSAM A. Tawfik, DUNCAN Q.M. Craig, SUSAN A. Barker, „Dual drug-loaded coaxial nanofibers for the treatment of corneal abrasion“, *International Journal of Pharmaceutics*, t. 581, 2020.
57. SHADI Asgari, ALI Pourjavadi, MOHSEN Setayeshmehr, ANJA Boisen, FATEMEH Ajalloueiian, „Encapsulation of Drug-Loaded Graphene Oxide-Based Nanocarrier into Electrospun Pullulan Nanofibers for Potential Local Chemotherapy of Breast Cancer“, *Macromolecular Chemistry and Physics*, t. 222, nr. 15, 2021.
58. ŠPELA Zupančič, KATJA Škrlec, PETRA Kocbek, JULIJANA Kristl, ALEŠ Berlec, „Effects of Electrospinning on the Viability of Ten Species of Lactic Acid Bacteria in Poly(Ethylene Oxide) Nanofibers“, *Pharmaceutics*, t. 11, nr. 9, 2019.
59. SILVIA Pisani, ROSSELLA Dorati, ENRICA Chiesa, IDA Genta, TIZIANA Modena, GIOVANNA Bruni, PIETRO Grisoli, BICE Conti, „Release Profile of Gentamicin Sulfate from Polylactide-co-Polycaprolactone Electrospun Nanofiber Matrices“, *Pharmaceutics*, t. 11, nr. 4, 2019.
60. SHEKH Ehdihan I., AMIRIAN Jhaleh, STADLER Florian J., DU Bing, ZHU Yanxia, „Oxidized chitosan modified electrospun scaffolds for controllable release of acyclovir“, *International Journal of Biological Macromolecules*, t. 151, p. 787–796, 2020.
61. IREM Unalan, STEFAN J. Endlein, BENEDIKT Slavik, ANDREA Buettner, WOLFGANG H. Goldmann, RAINER Detsch ALDO R. Boccaccini, „Evaluation of Electrospun Poly(ϵ -Caprolactone)/Gelatin Nanofiber Mats Containing Clove Essential Oil for Antibacterial Wound Dressing“, *Pharmaceutics*, t. 11, nr. 11, 2019.
62. DWIVEDI C, PANDEY H, PANDEY AC, PATIL S, RAMTEKE PW, LAUX P, LUCH A, SINGH AV, „In Vivo Biocompatibility of Electrospun Biodegradable Dual Carrier (Antibiotic

- + Growth Factor) in a Mouse Model-Implications for Rapid Wound Healing“, *Pharmaceutics*, t. 11, nr. 4, 2019.
63. ANDREA Luraghi, FRANCESCO Peri, LORENZO Moroni, „Electrospinning for drug delivery applications: A review“, *Journal of Controlled Release*, t. 334, p. 463–484, 2021.
64. CHEN Shixuan, LI Ruiquan, LI Xiaoran, XIE Jingwei, „Electrospinning: An enabling nanotechnology platform for drug delivery and regenerative medicine“, *Advanced Drug Delivery Reviews*, t. 132, p. 188–213, 2018.
65. RAKSA Apinya, NUMPAISAL Piya-on, RUKSAKULPIWAT Yupaporn, „The effect of humidity during electrospinning on morphology and mechanical properties of SF/PVA nanofibers“, *Materials Today: Proceedings*, t. 47, nr. 12, p. 3458–3461, 2021.
66. TIERNAN Hannah, BYRNE Bernadette, KAZARIAN Sergei G., „ATR-FTIR spectroscopy and spectroscopic imaging for the analysis of biopharmaceuticals“, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, t. 241, nr. 5, p. 118636, 2020.
67. National Institute of Standards and Technology (NIST), „Lactic acid“, Prieiga per internetą: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C50215&Units=SI&Mask=80>. [Žiūrėta 2022-04-02].
68. National Institute of Standards and Technology (NIST), „Carbamazepine“, Prieiga per internetą: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C298464&Mask=80#IR-Spec>. [Žiūrėta 2022-04-02].
69. DABAŠINSKAITĖ Lauryna, KRUGLY Edvinas, BANIUKAITIENĖ Odeta, MARTUZEVIČIUS Dainius, CIUZAS Darius, JANKAUSKAITĖ Lina, AUKŠTIKALNĖ Lauryna, ŪSAS Arvydas, „The Effect of Ozone Treatment on the Physicochemical Properties and Biocompatibility of Electrospun Poly(ε)caprolactone Scaffolds“, *Pharmaceutics*, t. 13, nr. 8, p. 1288, 2021.
70. QI Yue, MA Hui-Ling, DU Zhong-He, YANG Bo, WU Jing, WANG Rui, ZHANG Xiu-Qin, „Hydrophilic and Antibacterial Modification of Poly(lactic acid) Films by γ-ray Irradiation“, *ACS Omega*, t. 4, nr. 25, p. 21439–21445, 2019.
71. Lietuvos Respublikos socialinės apsaugos ir darbo ministerija, „Darbuotojų aprūpinimo asmeninėmis apsaugos priemonėmis nuostatai“, Lietuva, 2021.
72. THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, „Regulation (EC) No 1272/2008 – classification, labelling and packaging of substances and mixtures (CLP)“, *Official Journal of the European Union*, 2008.
73. Merck KGaA, „N,N-dimethylformamide Safety data sheet“, Prieiga per internetą: https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/msds/MDA_CHEM-103053?Origin=PDP. [Žiūrėta 2022-04-03].
74. Lietuvos Respublikos socialinės apsaugos ir darbo ministerija, „Cheminių medžiagų profesinio poveikio ribiniai dydžiai. Matavimo ir poveikio vertinimo bendrieji reikalavimai“, Lietuva, 2022.