



Wrocław University of Technology

Synthesis and properties of nanospherical drug carriers

Synteza i właściwości nanosferycznych nośników leków

PhD thesis

Streszczenie

MSc. Eng. Eliza Nazar

Supervisors:

Prof. Dr. Marek Bryjak

Wrocław University of Technology, Poland

Prof. Dr. Francesco Trotta,

University of Torino, Italy

WROCLAW 2015

STRESZCZENIE

Nanofarmakologia jest dziedziną nauki, otwierającą wiele nowych możliwości terapeutycznych między innymi poprzez zastosowanie systemów kontrolowanego dostarczania leków oraz terapię celowaną. Podstawowymi elementami biorącym udział w kontrolowanym dostarczaniu leków są nanonośniki. Nanonośniki polimerowe są obiecującymi obiektami mającymi coraz większe zastosowanie w wielu dziedzinach nauki, w tym w medycynie, farmacji oraz biotechnologii. Używane są między innymi jako biodegradowalne produkty w implantach ortopedycznych, w systemach kontrolowanego dostarczania i uwalniania leków. Nośniki wielofunkcyjne łączą ze sobą funkcje kontrolowane wprowadzania leku oraz terapię celowaną. Właściwości chemiczne jak i biologiczne nanocząstek zależą od ich wielkości, rozproszenia, morfologii oraz struktury powierzchni. Zastosowanie nanocząstek otwiera wiele możliwości począwszy od immobilizacji ligandów, reagentów i enzymów a skończywszy na kierunkowym wprowadzaniu czynników aktywnych. Użycie nanonośnika w systemie kontrolowanego dostarczania leków wymaga spełnienia przez niego kryterium biokompatybilności oraz wykrywania komórek objętych procesem patologicznym.

Wobec powyższych danych, celem niniejszej pracy było opracowanie zarysu technologicznego dla syntezy nanocząstek z różnych polimerów kompatybilnych z immobilizowaną cystatyną, ocena ich właściwości fizykochemicznych oraz farmakologicznych w obszarze terapeutycznym. Przeprowadzono syntezy nanonośników z różnymi grupami funkcyjnymi występującymi na powierzchni, które poddano funkcjonalizacji oraz monitorowano właściwości fizyczne otrzymanych obiektów. Nanocząstki z sfunkcjonalizowaną powierzchnią otrzymano przez aktywację aldehydem glutarowym, w przypadku występowania grup aminowych, oraz przez aktywację diwinylosulfonem, dla nośników z powierzchniowymi grupami hydroksylowymi. Analizę fizykochemiczną zsyntetyzowanych nanocząstek przeprowadzono z zastosowaniem technik spektralnych (IR) oraz mikroskopowych (TEM). Wybrano metodę immobilizacji czynnika kierującego – cystatyny a kinetykę uwalniania leków oceniano stosując hydrofilowe i lipofilowe analogi cytostatyków. W ramach prowadzonych badań opracowano metodę oczyszczania cystatyny w skali laboratoryjnej wykorzystując proces obróbki termicznej, mikro- i ultrafiltracji, oraz chromatografii powinowactwa.

Wykonano analizę wpływu otrzymanych nośników na komórki nowotworowe raka piersi: linia (MCF-7), raka prostaty, linia (Du145) oraz na fibroblasty myszy (Balb/3T3). Badania przeprowadzono dla „czystych” nośników jak również dla nośników z immobilizowaną cystatyną. Analiza cytotoksyczności wykazała niską aktywność nośników dla badanych typów komórek nowotworowych.

W wyniku badań związanych z impregnowaniem nośników analogami leków dobrano dwa typy nanocząstek: cyklodekstrynowe oraz nośniki krzemianowe powlekane polietylenoiminą lub chitozanem. Pierwszy typ cząstek, nośniki cyklodekstrynowe, zostały wybrane do wiązania leków lipofilowych, natomiast drugi typ, nośniki powlekane, do wiązania leków hydrofobowych. Pomiar kinetyki uwalniania analogów leków umożliwiły taki dobór nośnika by lek uwalniał się z niego powoli.

Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski:

1. Cystatyna oczyszczona według przedstawionej metody wykazuje 1500 razy większą aktywność w porównaniu do nieoczyszczonego materiału.
2. Zsyntezowane nanocząstki spełniają wymagania dla nośników wykorzystywanych w terapii celowanej tj. mają odpowiednią wielkość, są stabilne i biozgodne.
3. Sposób immobilizacji czynnika aktywnego zależy od grup funkcyjnych dostępnych na powierzchni nośnika
4. Karbo-cyklodekstrynowe nośniki wykazały najlepsze właściwości dla hydrofobowego analogu leku. Zwiększyły jego uwalnianie w czasie.
5. Dla hydrofilowych leków najlepsze właściwości wykazały nośniki krzemianowe otoczkowane polielektrolitami.
6. Immobilizowana cystatyna wykazała najwyższą aktywność inhibicyjną dla AC cząstek.