



**STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

„Synteza i właściwości nowych funkcjonalizowanych micel polimerowych  
o znaczeniu terapeutycznym”

mgr inż. Łukasz Lamch

Promotor: Prof. dr hab. inż. Kazimiera Anna Wilk

Zakład Technologii Organicznej i Farmaceutycznej Z-12, Wydział Chemiczny

Prezentowana rozprawa doktorska dotyczy syntezy, właściwości oraz oceny przydatności funkcjonalizowanych kopolimerów blokowych o strukturze amfipatycznej. Stanowią one składniki budulcowe biokompatybilnych micel polimerowych jako efektywnych nanoonośników substancji hydrofobowych lub amfifilowych o znaczeniu przeciwnowotworowym, w tym przede wszystkim jako fotouczulaczy z grupy ftalocyjanin cynku. W ramach zrealizowanych prac badawczych przeprowadzono zarówno hydrofilizację, jak i funkcjonalizację cząsteczki kopolimeru blokowego. Wykonano to poprzez przyłączenie łańcucha glikolu polietylenowego, który wykazuje efekt steryczny, i/lub kwasu foliowego w charakterze liganda, jak też poprzez chemiczną koniugację do szkieletu kopolimeru blokowego PEG-yłowanej ftalocyjaniny cynku. Zaproponowane i zastosowane metody syntezy wymienionych amfifilowych kopolimerów blokowych pozwalają na otrzymanie pożądaných produktów i półproduktów z wysoką wydajnością. Uzyskano w ten sposób amfifilowe kopolimery blokowe, złożone z hydrofobowego łańcucha poliestrowego: poli(L-laktydu) (PLLA), poli(D,L-laktydu) (PDLLA) lub polikaprolaktonu (PCL) oraz hydrofilowego bloku poli(tlenku etylenu) (PEG), a także ich funkcjonalizowane analogi, zawierające przyłączone kowalencyjnie, hydrofilizowane (PEG-yłowane) ligandy (kwas foliowy, FA) lub ftalocyjaninę cynku (ZnPc). Posłużyły one, w wyniku procesów samoorganizacji, do skonstruowania szeregu micel polimerowych, zawierających solubilizowane fotouczulacze z grup ftalocyjanin o zróżnicowanej hydrofobowości: ftalocyjaninę cynku (ZnPc), heksadekafluoroftalocyjaninę cynku (ZnPcF<sub>16</sub>), tetrasulfonowaną ftalocyjaninę cynku (ZnPc-sulfo<sub>4</sub>), tetra *tert*-butylową ftalocyjaninę cynku (ZnPc-t-but<sub>4</sub>) i okta oktyloksylową ftalocyjaninę cynku (ZnPc-o-oktyl<sub>8</sub>) oraz, w przypadku ftalocyjaniny cynku przyłączonej kowalencyjnie, modelowy cytostatyk (kolchicynę, Col). Charakterystyka nanoonośników polimerowych obejmowała wyznaczenie ich rozmiarów i morfologii za pomocą metody dynamicznego rozproszenia światła (ang. *dynamic light scattering*, DLS) i techniki mikroskopii sił atomowych (ang. *atomic force microscopy*, AFM). Micele funkcjonalizowanych kopolimerów blokowych, zarówno tych jednego rodzaju, jak i mieszanych, charakteryzowały się pożądanymi właściwościami, przydatnymi z punktu widzenia nanoproductów o znaczeniu terapeutycznym. Posiadały niewielkie rozmiary (poniżej około 100



nm) i były unimodalnego rozkładu o  $PdI < 0,3$  (indeks polidispersyjności, ang. *polydispersity index*,  $PdI$ ). Badania pozostałych kluczowych właściwości nanonośników polegały m. in. na wyznaczeniu parametrów solubilizacyjnych, a także miejsca lokalizacji i aktywności fotouczulaczy w micelach polimerowych, z wykorzystaniem zaawansowanych technik spektroskopowych ( $^1H$ , 1D NOE i DOSY NMR, pomiary czasów relaksacji  $T_1$ , XPS w połączeniu z trawieniem jonowym). Uzyskane wyniki zostały potwierdzone z wykorzystaniem techniki spektrofotometrii UV-Vis i spektroskopii fluorescencyjnej. Wszystkie badane nanonośniki charakteryzowały się wysoką wydajnością solubilizacji oraz odpowiednimi parametrami stężenia substancji aktywnej, a także długoterminową stabilnością koloidalną. Fotouczulacze enkapsulowane w micelach polimerowych wykazywały również dobrą stabilność chemiczną, objawiającą się brakiem zmian stężenia substancji aktywnych podczas przechowywania. Ocena przydatności nanonośników objęła następujące badania: określenie kinetyki procesu fotowysbielania (ang. *photobleaching*) oraz zdolności do generowania reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*, ROS), co przeprowadzono dla ich postaci enkapsulowanej w otrzymanych micelach polimerowych, a także, porównawczo w środowisku wodnym, dla ich formy wolnej. Badania biologiczne, w tym określenie lokalizacji wewnątrzkomórkowej otrzymanych nanonośników oraz ich potencjalnej cytotoksyczności, miały na celu potwierdzenie skuteczności i selektywności dostarczania substancji aktywnych, solubilizowanych lub związanych kowalencyjnie przez micelle polimerowe. Zostały przeprowadzone na wybranych liniach komórek nowotworowych (czerniaka (linia Me45) i raka jajnika (linia SKOV-3), a także porównawczo (dodatkowy model do badań nad nanonośnikami funkcjonalizowanymi kwasem foliowym) na komórkach raka płuc (linia A549)) oraz komórkach prawidłowych (przykładowo keratynocyty (linia HaCaT)).

Modyfikacja amfifilowych kopolimerów blokowych – pochodnych poliestrowych, które zawierają hydrofilowy łańcuch poli(tlenku etylenu), oraz ich analogów z przyłączonym ligandem lub hydrofilizowaną (PEG-yłowaną) ftalocyjaniną cynku, pozwala na otrzymanie cennych składników budulcowych dla założonych procesów samoorganizacji. Przeprowadzone badania wykazują, że otrzymane nanokonstrukty mogą służyć do efektywnej solubilizacji hydrofobowych fotouczulaczy jako modelowych składników aktywnych, z zastosowaniem w terapii fotodynamicznej. Główne czynniki, mające kluczowy wpływ na potencjał aplikacyjny nanonośników, jak równowaga solubilizacyjna, a także miejsce lokalizacji w micelach polimerowych, zależą od budowy amfipatycznej fotouczulacza oraz kopolimeru blokowego i są bezpośrednio związane z funkcją ochronną micel przed degradacją chemiczną substancji aktywnej. Wytworzone micelle biokompatybilnych kopolimerów blokowych mogą stanowić efektywne nanonośniki fotouczulaczy, które znacząco poprawiają ich właściwości fizykochemiczne i terapeutyczne.