Biodegradowalne poli(etero-estro-węglan)y jako wstrzykiwalne, hydrożelowe nośniki paklitakselu

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

Karolina Anna Borkowska

Promotor pracy: prof. dr hab. inż. Marcin Sobczak

Bezpośredni opiekun pracy: dr Adam Kasiński

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej i Biomateriałów

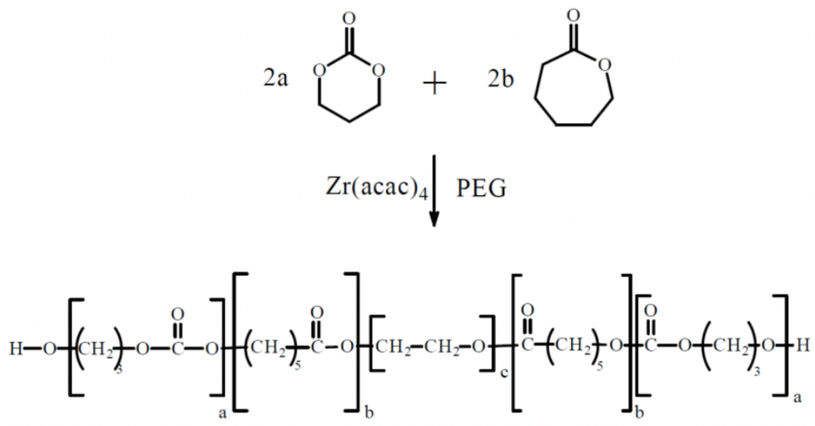
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY — WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY

Jedną ze strategii prowadzenia innowacyjnej terapii przeciwnowotworowej, mającą na celu zwiększenie skuteczności leczenia przy jednoczesnym ograniczeniu działań niepożądanych jest wykorzystanie innowacyjnych, lokalnych nośników substancji czynnych (ang. *local drug delivery systems*, LDDSs). Tego typu nośniki uwalniają substancje lecznicze w sposób przedłużony i kontrolowany; są biodegradowalne, poprawiają efektywnośc terapii oraz komfort pacjenta. Wykorzystanie technologii hydrożeli termowrażliwych pozwala na otrzymanie systemów iniekcyjnych, będących płynnym zolem w temperaturze pokojowej i przechodzących w półstały żel w warunkach fizjologicznych, co pozwala na ich łatwe podanie do guza, eliminując konieczność chirurgicznej implantacji systemu.

Cele projektu:

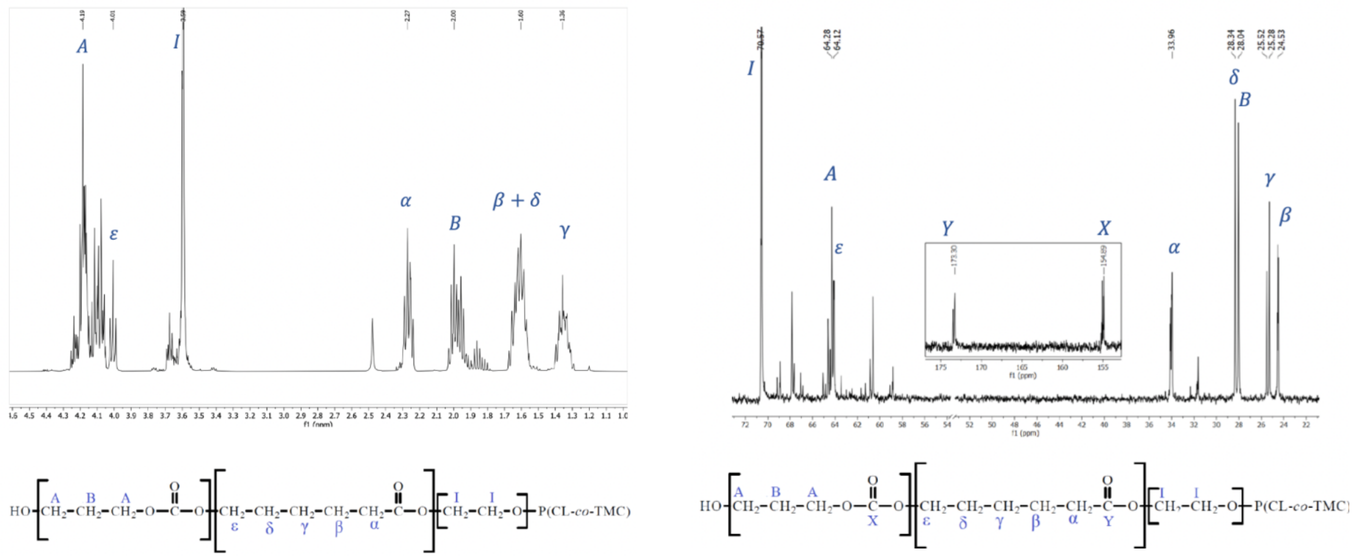
- otrzymanie innowacyjnych, wstrzykiwalnych systemów terapeutycznych, opartych na hydrożelach inteligentnych (ang. *smart hydrogels*), uwalniających PTX w sposób przedłużony i kontrolowany.
- synteza biodegradowalnych i biozgodnych poli(etero-estro-węglanów), niezbędnych do otrzymania matryc hydrożelowych, ocena ich właściwości fizykochemicznych oraz optymalizacja warunków procesu ich otrzymywania.

Synteza poli(etero-estro-węglan)ów w reakcji ROP



Rysunek 1. Schemat syntezy PCTC w reakcji ROP

- Przeprowadzono kilka serii syntez PCTC w reakcji polimeryzacji z otwarciem pierścienia (ang. *ring-opening polymerization*, ROP) (Rysunek 1).
- Scharakteryzowano strukturę otrzymanych kopolimerów oraz określono ich liczbowo średnią masę molową, korzystając z technik ^{1}H i ^{13}C NMR (Rysunek 2).
- Określono optymalne warunki prowadzenia reakcji.
- Zbadano zdolność otrzymanych kopolimerów do tworzenia hydrożelu termowrażliwego, określono temperatury przejść fazowych zol-żel i żel-zol dla otrzymanych hydrożeli.
- Określono optymalną strukturę kopolimeru PCTC.



Rysunek 2. Przykładowe widma ^{1}H i ^{13}C NMR otrzymanych kopolimerów PCTC

Optymalne warunki syntezy PCTC

Temperatura	80 °C
Czas reakcji	46 h
Monomery/katalizator	500:1 *mol/mol*
CL/PEG	2:1 *m/m*
TMC/PEG	1:2 *m/m*

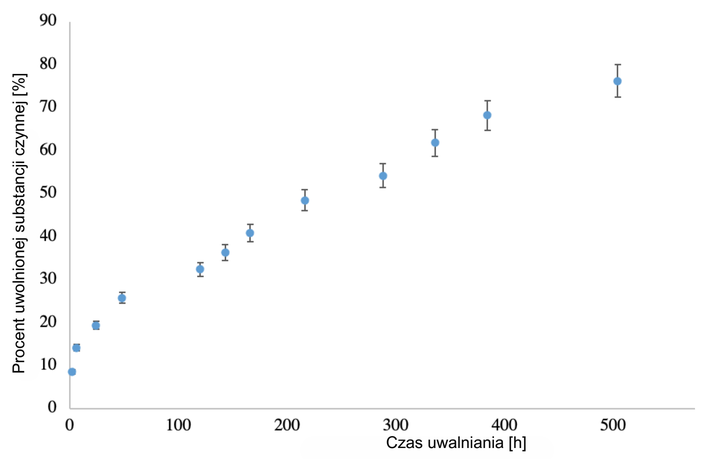
Powiększenie skali prowadzenia reakcji nie wpłynęło znacząco na strukturę i właściwości otrzymanego produktu.

Badanie kinetyki uwalniania paklitakselu z otrzymanych matryc

Rysunek 3. Przygotowana próbka do badania uwalniania PTX z matrycy

Otrzymany hydrożel termowrażliwy poddano badaniom kinetyki uwalniania substancji czynnej. W tym celu do matrycy hydrożelowej inkorpowowano PTX jako modelowy, hydrofobowy lek przeciwnowotworowy. Badania przeprowadzono w warunkach *in vitro* metodą bezmembranową z całkowitą wymianą buforu (Rysunek 3).

Badany hydrożel wykazał przedłużony profil uwalniania substancji czynnej – 504 h (21 dni). Zaobserwowano, iż po 2 h eksperymentu uwolniło się 9% inkorporowanego PTX; wartość wzrasta wraz z upływem czasu i osiąga 76% po 504 h.



Rysunek 4. Profil uwalniania PTX z matrycy polimerowej w 37 °C przez 28 dni

W początkowej fazie widać zwiększoną szybkość uwalniania substancji czynnej (ang. *burst release*), związaną najprawdopodobniej z wymywaniem PTX z powierzchni oraz zewnętrznych części matrycy. Po upływie 24 h szybkość uwalniania stabilizuje się (Rysunek 4).

Ocena cyto- i genotoksyczności

W celu potwierdzenia biozgodności otrzymanego kopolimeru przeprowadzono badania cytotoksyczności (test NRU) i genotoksyczności (test UMU) w warunkach *in vitro*.

Na podstawie wyników uzyskanych po przeprowadzeniu testu wykazano, że dla najwyższego badanego stężenia (1 mg/ml) matryca nie wykazuje działania cyto- i genotoksycznego (Tabela 1).

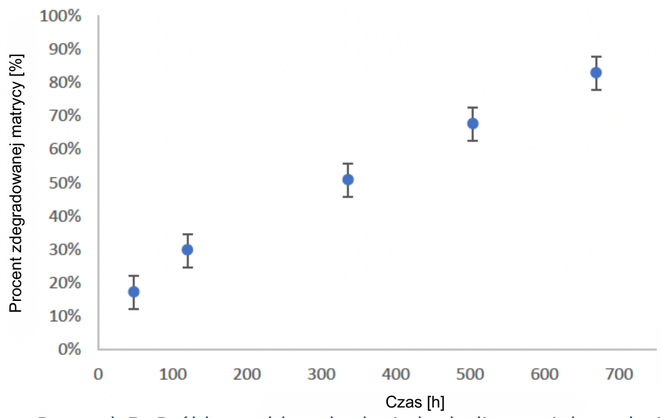
Próbka	Stężenie PTX [mcg/ml]				Cytotoksyczność
	-S9[a]		+S9[b]		
	G ± SD	IR ± SD	G ± SD	IR ± SD	Cells Viability ± SD [%]
T10	1.09 ± 0.03	0.74 ± 0.10	1.09 ± 0.03	1.08 ± 0.12	118 ± 13
Kontrola pozytywna	1.04 ± 0.01	3.30 ± 0.28	0.87 ± 0.04	2.53 ± 0.41	1 ± 1
Kontrola negatywna	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.05	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.08	111 ± 1

a-wersja bez aktywacji metabolicznej
b-wersja z aktywacją metaboliczną

Tabela 1. Wyniki testu UMU i testu NRU przy najwyższych stężeniach badanej matrycy [1 mg/ml]

Badanie hydrolitycznej degradacji matrycy

Przeprowadzono badanie hydrolitycznej degradacji matrycy polimerowej (Rysunek 5).



Rysunek 5. Próbka poddana badaniu hydrolitycznej degradacji matrycy

Z analizy zebranych danych wynika, że hydrolityczna degradacja matrycy zachodzi z względnie stała szybkością przez cały czas trwania eksperymentu.

Wnioski

- Otrzymano biodegradowalne kopolimery PCTC w reakcji ROP, określono optymalne warunki syntezy oraz strukturę kopolimeru, umożliwiające otrzymanie hydrożelu o pożądanych właściwościach.
- Hydrożele termowrażliwe uzyskane na bazie otrzymanych kopolimerów charakteryzowały się temperaturą tworzenia żelu bliską temperaturze fizjologicznej, optymalną dla układów wstrzykiwalnych.
- Otrzymane hydrożele charakteryzują się zdolnością do odwracalnej przemiany fazowej zol-żel w temperaturze 31-45°C.
- Otrzymane hydrożele nie wykazują cyto- i genotoksyczności.
- Kinetyka uwalniania PTX z otrzymanych hydrożeli jest zbliżona do kinetyki pierwszego rzędu.
- Otrzymane hydrożele potencjalnie mogą zostać zastosowane jako wstrzykiwalne, termowrażliwe nośniki substancji przeciwnowotworych.