

STRESZCZENIE

Dominik Lipka

Nowe liposomowe formułacje antybiotyku przeciwnowotworowego z grupy antracyklin

Opracowanie skutecznej terapii przeciwnowotworowej jest obecnie jednym z największych wyzwań stawianych współczesnej nauce. Wydaje się, że jednym z najbardziej oczywistych kierunków pozwalających na zwiększenie efektywności już istniejących terapii jest opracowanie nanonośników leków umożliwiających ich efektywne dostarczenie leku do nowotworu. Jednym z pierwszych nanośników leków dopuszczonym do użytku był Doxil[®] będący liposomową formułacją doksorubicyny.

Liposomy są sztucznie otrzymywanymi pęcherzykami lipidowymi zbudowanymi z dwuwarstwy lipidowej zamykającymi w swoim wnętrzu roztwór wodny. Dzięki swoim właściwościom liposomy mogą w swym wnętrzu zamykać między innymi leki przeciwnowotworowe.

Celem niniejszej rozprawy było opracowanie nowej aktywnej metody zamykania wewnątrz liposomów związków o słabym charakterze zasadowym oraz lekko zaznaczonych właściwościami lipofilowych w oparciu o gradient askorbinianu amonu oraz kwasu askorbinowego. Nowa metoda zamykania pozwoliła na stworzenie formułacji liposomowej epirubicyny, antybiotyku z grupy antracyklin o charakterze przeciwnowotworowym.

W pierwszej części rozprawy opisano podstawowe parametry pozwalające na aktywne zamykanie leku za pomocą nowego gradientu, takie jak wydajność zamykania (*ang. encapsulation efficiency* - EE), wpływ stosunku lek/lipid na EE, wpływ pH zewnętrznego na EE oraz wyznaczono kinetykę zamykania leku wewnątrz liposomów. Badania te pozwoliły na opracowanie optymalnych warunków enkapsulacji leku wewnątrz liposomów. W kolejnych doświadczeniach zbadano stabilność zarówno krótko, jak i długoterminową opracowanej liposomowej formułacji epirubicyny wykazując, że nowo opracowana metoda zamykania aktywnego leku pozwala na otrzymanie stabilnych formułacji liposomowych.

Następnie przebadano stabilność *in vitro* opracowanych formułacji w obecności ludzkiego osocza. Określono także stan fizyczny leku wewnątrz liposomów, wykorzystując do tego zarówno mikroskopię Cryo-TEM, jak i metodę dichroizmu kołowego. Uzyskane parametry liposomów zawierających epirubicynę porównano do opisanych w literaturze a uzyskanych dzięki zastosowaniu metod opartych na siarczanie amonu oraz wersenianie amonu. Otrzymane wyniki pozwoliły porównać zachowanie leku zamkniętego wewnątrz liposomów różnymi metodami.

W następnych etapach przebadano aktywność cytotoksyczną opracowanych formułacji *in vitro* względem linii komórkowych mysich oraz ludzkich nowotworów piersi, wykazując zwiększoną aktywność przeciwnowotworową wynikającą z zastosowania opracowanej metody zamykania. W kolejnym etapie badań dokonano korelacji stanu fizycznego leku wewnątrz liposomów z jego aktywnością biologiczną *in vitro*.

Następnie dla liposomowych postaci epirubicyny opartych na gradiencie askorbinianu amonu oraz kwasu askorbinowego określono aktywność przeciwnowotworową na mysim modelu nowotworu piersi 4T1 oraz porównano ich aktywność z aktywnością wolnego leku. Wykazano zwiększoną aktywność przeciwnowotworową obu liposomowych formułacji względem wolnego leku. Formułacja oparta na gradiencie askorbinianu amonu charakteryzowała się nieznacznie większą aktywnością przeciwnowotworową w porównaniu do formułacji opartej na gradiencie kwasu askorbinowego, w związku z czym została wybrana do dalszych badań. Następnie dla tej wybranej liposomowej postaci epirubicyny wyznaczono profil farmakokinetyczny i porównano go do profilu uzyskanego dla wolnej antracykliny.

W drugiej części pracy formułację liposomową epirubicyny opartą na gradiencie askorbinianu amonu ukierunkowano za pomocą kwasu foliowego. Określono dla niej stabilność krótkoterminową w warunkach przyspieszonych oraz stabilność *in vitro* w obecności ludzkiego osocza, wykazując zależności pomiędzy ilością kwasu foliowego na powierzchni a stabilnością otrzymanych formułacji. Określono również wpływ ilości kwasu foliowego na powierzchni liposomów, jak i długości linkera, do którego był on przyłączony, na aktywność cytotoksyczną *in vitro*. Wreszcie, określono lokalizację leku w komórkach, porównując formułację ukierunkowaną do nieukierunkowanej i uzyskując wyraźną akumulację leku w jądrach komórkowych w przypadku formułacji ukierunkowanych.

W ostatnim etapie prac wyznaczono profile farmakokinetyczne dla formułacji ukierunkowanych z różną ilością kwasu foliowego na powierzchni, korelując to z czasem ich krążenia w krwioobiegu.