

**Tytuł: Mechanism of incorporation of lipid liquid crystalline drug carriers – cubosomes and hexosomes into lipid membranes**

**Mechanizm wnikania ciekłokrystalicznych lipidowych nośników leków – kubosomów i heksosomów w błony lipidowe**

Lipidowe ciekłokrystaliczne nanocząstki (LCNP) są intensywnie badane jako nośniki leków i substancji trudno rozpuszczalnych w roztworach wodnych. Zainteresowanie tymi nośnikami leków wynika z ich biozgodności, łatwości przygotowania nośnika i wprowadzenia leku oraz czynnika odpowiedzialnego za adresowanie nośnika do miejsca jego działania w organizmie. Nośnik ma za zadanie chronić zdrowe komórki przed efektami ubocznymi działania leku o dużej toksyczności, uwalniając lek dopiero w miejscu przeznaczenia. Ostatnio pokazaliśmy, że lipidowe fazy ciekłokrystaliczne w formie żelu i po rozproszeniu do nanocząstek mogą być nośnikami toksycznych leków z grupy antracyklin o kontrolowanym uwalnianiu leku z nośnika. Właściwości nośnika zależą jednak od lipidu wybranego do jego utworzenia i polimeru dodawanego jako stabilizator, np. ostatnio wykazano, że chętnie stosowane kubosomy zawierające fitantriol są znacznie bardziej toksyczne niż monooleinowe i niszczą błony także zdrowych komórek już w nieobecności leku. Na podstawie obrazów uzyskanych metodą konfokalnej mikroskopii postulowano, że nośnik zbudowany z fitantriolu uruchamia stres oksydacyjny i zmienia organizację błony komórkowej. Zrozumienie molekularnego mechanizmu tego oddziaływania jest zatem istotne z punktu widzenia jego zastosowania terapeutycznego i jest celem naszego projektu. Duże doświadczenie w badaniach fizykochemicznych warstw lipidowych i oddziaływań z nimi będzie pomocne w realizacji zadań przewidzianych w projekcie. Ich wyniki pozwolą zaprojektować optymalne nośniki lipidowe i mogą rozszerzyć ich zastosowania w terapii i diagnostyce. Przydatność wybranych przez nas nośników leków antracyklinowych i metotreksatu zostanie zweryfikowana w badaniach na komórkach glejaka, we współpracujących z nami Zespołach prof. dr hab. Marcina Kruszewskiego w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej oraz prof. dr hab. Leszka Królickiego w Centrum Medycyny Nuklearnej, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Dotychczasowe badania w tej dziedzinie dotyczyły oddziaływania ciekłokrystalicznych lipidowych nośników z warstwami lipidowymi osadzonymi na stałych podłożach. Właściwości błony zależą jednak wtedy także od właściwości i topografii stałego podłoża, na którym są osadzone. Nasze podejście opiera się na wykorzystaniu w tych badaniach także lipidowej warstwy, rozpostartej na powierzchni wody (warstwa Langmuira-Blodgett). Jest to prosty model pojedynczej okładki błony biologicznej i nie jest uzależniony od właściwości stałego podłoża. Molekularny opis oddziaływania błony lipidowej na powierzchni woda - powietrze oraz po jej przeniesieniu na stałe podłoże z nośnikiem leku pozwoli nam określić jak efektywność adsorpcji, dezintegracji nośnika i penetracji leku zależy od właściwości i organizacji lipidów w błonie. Pozwoli także ustalić optymalny skład chemiczny nośnika pozwalający na spowolnienie procesu uwalniania leku z nośnika. Wiadomo, że ściany komórkowe komórek nowotworowych są słabiej upakowane, bardziej porowate, i przepuszczalne dla różnych substancji. Tę cechę można odtwarzać wykorzystując warstwy Langmuira-Blodgett zorganizowane przy różnych ciśnieniach powierzchniowych, co określa gęstość upakowania cząsteczek lipidowych w warstwie. Określimy mechanizm i kinetykę adsorpcji i wnikania nośnika do błony, zobrazujemy zmiany struktury i składu błony przed i po kontakcie z nośnikami leku metodami mikroskopii (kąta Brewstera i AFM) oraz spektroskopii w podczerwieni (PM-IRRAS), a także reflektometrii neutronowej. Uważamy, że procesy te określają trwałość nośnika w kontakcie z błoną i efektywność wprowadzania leku do komórki i dlatego ich opis pozwoli nam zaproponować optymalny układ dostarczania leku do badań biologicznych i klinicznych.