

Wychwyty i zakotwiczenie nano- i mikrocząstek wewnątrz żywych komórek jest podstawowym problemem w wielu układach dostarczania leków. Zrozumienie kolejnych etapów składających się na ten proces stanowi bardzo ważne zagadnienie badawcze. Celem projektu jest opracowanie metod przygotowania wydłużonych cząstek sferoidalnych, zawierających związki o znaczeniu biologicznym lub znaczniki fluorescencyjne. Zostaną one zastosowane do badań pozwalających na wnikliwe zrozumienie podstawowych etapów adsorpcji cząstek oraz penetracji cienkich warstw (płaskich lub sferycznych membran liposomalnych) będących modelami membran żywych komórek. Otrzymane cząstki powinny być biodegradowalne oraz powinny umożliwiać uwalnianie w kontrolowany sposób związanych związków aktywnych biologicznie.

W projekcie zaplanowane jest przeprowadzenie systematycznych badań wytworzenia cząstek sferoidalnych złożonych z alifatycznych poliestrów, poliwęglanów oraz odpowiednich kopolimerów, powszechnie stosowanych w zastosowaniach biomedycznych. Cząstki będą złożone wyłącznie z polimeru lub będą jeszcze zawierać znaczniki (sondy) fluorescencyjne (np. czerwień nilową lub fluoresceinę) i/lub Symwastatynę (lek stosowany w leczeniu stanów zapalnych endothelium – komórek wyściełających ściany naczyń krwionośnych). Pierwszy etap będzie polegał na przygotowaniu cząstek sferycznych na kilka sposobów, mianowicie, a) metodą bezpośredniej polimeryzacji dyspersyjnej homo- lub kopolimeryzacji odpowiednich monomerów (laktydów, glikolidu, cyklicznych węglanów) i b) metodą z zsyntetyzowanych polimerów rozpuszczonych w rozpuszczalnikach organicznych, emulgowanych w wodzie zawierającej stabilizator (np. alkohol poliwinylowy) a następnie przez odparowanie rozpuszczalnika organicznego (olej w wodzie – O/W – emulsyfikacja przez odparowanie rozpuszczalnika).

Cząstki polimerowe będą zawierać związaną np. Symwastatynę lub znacznik fluorescencyjny, które zostaną wprowadzone na etapie syntezy lub procesu wytwarzania cząstek sferycznych z gotowych polimerów. W kolejnym etapie, po wymieszaniu cząstek z roztworem alkoholu poliwinylowego zostaną przygotowane folie z wbudowanymi cząstkami. W trzecim etapie paski folii zostaną poddane jednoosiowej deformacji w podwyższonej temperaturze. Proces rozciągania folii, a następnie jej rozpuszczenie w wodzie, prowadzi do uzyskania nano- i mikrocząstek sferoidalnych o współczynniku kształtu (stosunek osi dłuższej do krótszej) do ok. 10. W niektórych przypadkach planujemy sfunkcjonalizować powierzchnię cząstek przez wprowadzenie ugrupowań anionowych lub kationogennych, które można w kolejnym etapie przekształcić w grupy kationowe. Cząstki zostaną scharakteryzowane pod względem wielkości, rozrzutu wielkości, współczynnika kształtu i ładunku (potencjału zeta).

Szybkość procesu degradacji cząstek i uwolnienie związków aktywnych zostanie zbadane w funkcji składu cząstek i ich kształtu. Cząstki zostaną zastosowane w badaniach adsorpcji na powierzchniach płaskich pokrytych warstwą lipidową (obojętną elektrycznie i zawierającą grupy anionowe i kationowe). Liposomy, które są najprostszymi modelami komórek zostaną przygotowane z klas lipidów wymienionych powyżej. Grubość warstwy lipidowej zostanie oznaczona elipsometrycznie, a morfologia powierzchni za pomocą AFM. Proces adsorpcji cząstek sferoidalnych na podłożach płaskich będzie badany za pomocą SEM i mikroskopii fluorescencyjnej. Proces adsorpcji cząstek na liposomach wraz z ich internalizacją będzie śledzony stosując krio-TEM, mikroskopię fluorescencyjną oraz miareczkowanie mikrokalorymetryczne. Podobne metody będą zastosowane w badaniach oddziaływań cząstek na kultury żywych komórek. W tym wypadku zostaną zastosowane również testy przeżywalności komórek po kontakcie z nano- i mikrocząstkami oraz testy na efektywność osadzania cząstek na ścianach naczyń krwionośnych. Wiedza pozyskana w efekcie realizacji projektu będzie stanowić podstawę do zaprojektowania wydajnych, nowoczesnych nośników leków, które poprawią terapię medyczną w zakresie leków p/nowotworowych i p/miażdżycowych.