

Przedmiotem prowadzonych badań w ramach przygotowywanej pracy doktorskiej są układy micelarne z modelowymi substancjami leczniczymi o działaniu przeciwwgrzybicznym oraz przeciwbólowym i przeciwzapalnym. Do substancji powierzchniowo czynnych użytych jako składowe systemów należą surfaktanty o odmiennym charakterze, takie jak niejonowe blokowe polimery, surfaktanty jonowe i niejonowe. Micele są niewielkimi cząstkami rzędu od kilku do kilkuset nanometrów, w których wyróżnia się rdzeń wewnątrz oraz płaszcz na powierzchni. W takiej strukturze mogą być inkorporowane leki i w ten sposób dostarczane do organizmu człowieka. Micele stanowią bardzo obiecujący nośnik dla substancji leczniczych, ponieważ zwiększają rozpuszczalność leków trudno rozpuszczalnych, mogą wpływać na profil uwalniania leku oraz zwiększają przepuszczalność leku przez błony komórkowe po podaniu miejscowym. Ze względu na dynamiczną strukturę tego typu systemów, wynikającą z wymiany pojedynczych cząsteczek surfaktanta w roztworze z utworzonymi przez niego skupiskami oraz możliwością lokalizacji leku zarówno we wnętrzu, jak i w płaszczu miceli pełne zrozumienie struktury powyższych układów stanowi istotne wyzwanie współczesnej nauki.

W piśmiennictwie nie wyjaśnia się dokładnego mechanizmu działania substancji pomocniczych zdolnych do tworzenia miceli wpływających na proces solubilizacji i uwalniania substancji leczniczej z postaci leku. Zastosowanie w trakcie prowadzonych badań komplementarnych metod, które pozwalają zestawić informację strukturalną uzyskaną na podstawie technik NMR z informacjami uzyskanymi innymi metodami - za pomocą spektrofluorymetrii, tensjometrii, pomiarów dynamicznego rozproszenia światła oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej przełożą się na lepsze zrozumienie procesów zachodzących podczas tworzenia układów micelarnych, a w następstwie na projektowanie nowych nośników dla leków o ściśle określonych parametrach. Pomiar spektrofluorymetryczny oraz tensjometryczny (napięcia powierzchniowego) umożliwiły wyznaczenie stężenia surfaktanta, w którym tworzą się micidele. Ponadto zmiany napięcia powierzchniowego miceli z inkorporowanym lekiem pozwoliły na wstępny opis prawdopodobnego procesu solubilizacji. Wielkość cząstek w układzie micelarnym oraz zmiany średnicy cząstek w zależności od ilości dodanego leku wyznaczono za pomocą pomiarów dynamicznego rozproszenia światła. Rozpuszczalność leku w micelach i stabilność otrzymanych systemów określono przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej, co wykazało różne właściwości solubilizacyjne poszczególnych surfaktantów, a w konsekwencji różną siłę zachodzących interakcji między nimi a inkorporowanym lekiem. Praca ma na celu scharakteryzowanie modelowych układów lek-substancja powierzchniowo czynna z uwzględnieniem lokalizacji leku w miceli, określeniem interakcji poszczególnych części struktury surfaktanta tworzącego micidele z lekiem, zbadaniem wpływu innych czynników, np. stężenia oraz struktury substancji powierzchniowo czynnej, a także temperatury na proces micelizacji i solubilizacji.

W ramach prowadzonych prac we współpracy z ośrodkiem w Wielkiej Brytanii modelowe formułacje zostały przebadane z użyciem nowej metodologii pozwalającej na mapowanie utworzonych układów w oparciu o nowe techniki NMR. Po raz pierwszy wykorzystany został protokół, który dotychczas stosowany był jedynie do badań interakcji substancji niskocząsteczkowych (np. nowych leków) z białkami. Przewagą jego stosowania od standardowo stosowanych dotychczas metod analizy widm NMR jest możliwość określenia części struktury leku oddziałujących z poszczególnymi elementami surfaktanta tworzącego micidele, a nie tylko określenie, które części struktury leku lub surfaktanta ulegają największym zmianom w wyniku oddziaływań w nowo powstającym układzie.

Na podstawie uzyskanych wyników dotyczących zwiększonej efektywności przeciwwgrzybiczej przygotowanych formułacji w porównaniu z kontrolą w modelowych układach biologicznych z użyciem grzybów opornych i wrażliwych zostanie podjęta próba wyjaśnienia molekularnego mechanizmu znoszenia oporności na flukonazol przy użyciu technik spektroskopii NMR. Wstępnie obserwacjom z użyciem NMR zostaną poddane grzyby w czasie inkubacji z wybranymi formułacjami. Analizowane zostaną zmiany strukturalne składowych systemu oraz możliwe interakcje między nimi. W kolejnym etapie planowane są badania NMR próbek zawierających wybrane formułacje oraz wyizolowane białka odpowiedzialne za oporność grzybów, wyselekcjonowane na podstawie doniesień dotyczących mechanizmów oporności grzybów.

Przeprowadzone badania pozwalają na opracowanie uniwersalnego narzędzia służącego określeniu struktury systemów micelarnych. Przedstawiona metoda mapowania z wykorzystaniem NMR może zostać ponadto zastosowana w obszarze chemii materiałów do wyjaśnienia procesów solubilizacji leków w innych nośnikach substancji leczniczej, np. nanoemulsjach, żelach. Metody wykorzystane w ramach przygotowywanej rozprawy doktorskiej mogłyby zostać w przyszłości rozwinięte i zastosowane do podjęcia próby badania interakcji prezentowanych formułacji w miejscu docelowym w żywej komórce, a także między zastosowanych układem a jej wyizolowanymi elementami struktury.