

STRESZCZENIE PRACY: „Charakterystyka struktur lipidowo-polimerowych metodami obrazowania krio-TEM i dyfrakcji rentgenowskiej SAXS”

Samoorganizujące się w wodzie, stabilizowane przez amfifilowe kopolimery blokowe, struktury lipidowe stanowią przedmiot znacznego naukowego zainteresowania ze względu na szeroki zakres ich możliwych zastosowań. W ostatnim czasie badania skupiają się na systemach lipidowych o złożonej, uporządkowanej budowie wewnętrznej, to jest liotropowych ciekłych kryształach (LLC) oraz liotropowych nanocząstkach ciekłokrystalicznych (LLCNP), takich jak kubosomy i heksosomy. Częstki te można formować w sposób kontrolowany, tak, aby spełniały wymagania dotyczące kształtu, rozmiaru i uporządkowania wewnętrznego, a także by wykazywały stabilność termodynamiczną oraz bioadhezję. Z uwagi na swoją budowę cząstki te mogą być stosowane jako nośniki do enkapsulacji substancji zarówno hydrofilowych, jak i hydrofobowych oraz amfifilowych.

Pod koniec lat 60-tych ubiegłego wieku, wykorzystując rozpraszanie promieniowania rentgenowskiego, po raz pierwszy zaobserwowano tworzenie się fazy kubicznej w strukturach lipidowych z lecytyny [1]. W 1996 roku, Landh and Larsson opatentowali [2] metodę wytwarzania dyspersji koloidalnych nielamelarnych liotropowych faz krystalicznych utworzonych z moonoleinianu glicerolu (GMO), które stabilizowano przy użyciu niejonowego, triblokowego polimeru poli(tlenek etylenu)-poli(tlenek propylenu)-poli(tlenek etylenu) (PEO-b-PPO-b-PEO) Pluronic® (P407) [3]. W ciągu ostatniej dekady wysiłki naukowców doprowadziły do opracowania nowych technik otrzymywania zorganizowanych systemów wykorzystujących różne lipidy oraz różne polimery lub surfaktanty do stabilizacji powstałych struktur LLCNP.

Praca doktorska dotyczy badań nad ustaleniem wpływu wybranych amfifilowych kopolimerów blokowych na morfologię, strukturę i stabilność liotropowych nanocząstek ciekłokrystalicznych utworzonych z moonoleinianu glicerolu (GMO) stabilizowanego tymi kopolimerami.

Zsyntezowano pięć amfifilowych kopolimerów blokowych:

- poli(tlenek etylenu)-b-poli(kwas mlekowy) (PEO-b-PLA),
- poli(tlenek etylenu)-b-poli(5-metylo-5-etyloksykarbonyl-1,3-dioksan-2-one) (PEO-b-PMEC),
- poli(tlenek etylenu)-b-poli(ϵ -kapolakton) (PEO-b-PCL),

- poliglicydol-b-poli(β -butyrolakton) (PGI-b-P(β -BL)),
- poli(tlenek etylenu)-b-poliglicydol-b-poli(β -butyrolakton) (PEO-b-PGI-b-P(β -BL)).

Przeprowadzono pełną charakterystykę zsyntezowanych kopolimerów, potwierdzono ich budowę chemiczną oraz wyznaczono masy molowe.

Główną techniką wykorzystaną do badania struktur lipidowo-polimerowych była kriogeniczna transmisyjna mikroskopia elektronowa, która pozwoliła na wizualizację utworzonych cząstek oraz określenie ich uporządkowania poprzez zastosowanie szybkiej transformaty Fouriera. Dodatkowymi metodami charakterystyki dyspersji była niskokątowa dyfrakcja rentgenowska i dynamiczne rozpraszanie światła.

Zbadano dziesięć lipidowo-polimerowych hybryd złożonych z monooleinianu glicerolu oraz powyższych kopolimerów. Zbadano także jako odnośniki dyspersje lipidu GMO oraz dyspersje GMO stabilizowanego przez Pluronic® P407.

Badania przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej skupiały się na określeniu wpływu amfifilowych kopolimerów blokowych na samoorganizację lipidu GMO do liotropowych nanocząstek ciekłokrystalicznych. Do otrzymania struktur GMO:kopolimer stosowano metodę Top Down. Konieczne było określenie rozmiarów i typów powstałych struktur oraz ustalenie ich uporządkowania wewnętrznego. Badania miały na celu znalezienie związku pomiędzy rodzajem i długością hydrofobowego bloku kopolimerów a morfologią powstałych struktur.

W tym celu wykonano badania samoorganizacji liotropowych nanocząstek ciekłokrystalicznych na bazie GMO i różnych kopolimerów w dyspersji wodnej. Ustalono rodzaj i rozmiar hybryd tworzonych przez kopolimery z monooleinianem glicerolu, a także zbadano stabilność powstałych dyspersji. Wykorzystanie kriogenicznej transmisyjnej mikroskopii elektronowej oraz połączenie tej techniki z niskokątową dyfrakcją rentgenowską i dynamicznym rozpraszaniem światła pozwoliło na określenie typu i parametrów cząstek, w tym rodzaju ich uporządkowania wewnętrznego, oraz ustalenie rozkładu rozmiarów. Badania potwierdziły, że wszystkie wykorzystane kopolimery amfifilowe tworzyły stabilne dyspersje lipidowo-polimerowe, a rodzaj polimerowego stabilizatora miał istotny wpływ na kształt, rozmiar i typ uporządkowania wewnętrznego uzyskanych cząstek. W dyspersjach obecne były nanocząstki zarówno nieuporządkowane (pęcherzyki, struktury gąbczaste), jak i uporządkowane (kubosomy). Udział tych struktur w populacji nanocząstek zależał od zastosowanego stabilizatora. Rodzaj zastosowanego kopolimeru nie miał natomiast wpływu na grubość dwuwarstwy lipidowej zmierzonej dla pęcherzyków.

Zbadane struktury GMO z amfifilowymi kopolimerami blokowymi zostały porównane z innymi opisanymi w literaturze obiektami tworzącymi się w obecności innych polimerowych stabilizatorów w dyspersji GMO.

Aby określić możliwości zastosowania powyższych hybryd, jako potencjalnych nośników leków, część dyspersji LLCNP została użyta do enkapsulacji i uwalniania substancji biologicznie aktywnej – hydrofobowego resweratrolu.

Wykonane badania są punktem wyjścia do dalszych prac nad ustaleniem możliwości kontroli struktur cząstek tworzonych przez lipid GMO i polimerowy stabilizator poprzez zmianę typu amfifilowych kopolimerów, a w dalszej perspektywie możliwości enkapsulacji różnych rodzajów leków powstających strukturach.