

Streszczenie rozprawy doktorskiej:

„Magnetic iron oxide nanoparticles as potential carriers for doxorubicin targeted drug delivery; Spectroscopic investigation of doxorubicin, nanoparticles and doxorubicin-nanoparticle interactions”

(tytuł w języku polskim: „Magnetyczne nanocząstki tlenków żelaza, jako potencjalne nośniki doksorubicyny w celowanym transporcie leków. Badania spektroskopowe doksorubicyny, nanocząstek i oddziaływań nanocząstek z doksorubicyną.”)

Promotorzy:

Prof. dr hab. Paweł Krysiński, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

Prof. Gary Blanchard, Wydział Chemii, Michigan State University

Doksorubicyna jest wysoce skutecznym lekiem przeciwnowotworowym należącym do grupy antracyklin. Pomimo wysokiej skuteczności, doksorubicyna wykazuje szereg cech ograniczających jej szerokie stosowanie m.in. brak możliwości wchłaniania leku z przewodu pokarmowego czy powstawanie rozmaitych skutków ubocznych, w tym zagrażających życiu chorób serca. Badania kliniczne wskazały na wprost proporcjonalną zależność prawdopodobieństwa powstawania chorób serca od przyjętej dawki doksorubicyny.

Jednym ze sposobów zwiększenia skuteczności terapii przeciwnowotworowej jest zastosowanie celowanego transportu leków, dzięki któremu lek (doksorubicyna) mógłby być kierowany bezpośrednio w miejsce chorobotwórcze zmniejszając przy tym narażenie innych organów na niepotrzebne skutki uboczne. Wśród różnych metod stosowanych w celowanym transporcie leków, zastosowanie magnetycznych nośników leków (takich jak magnetyczne nanocząstki tlenków żelaza) wydaje się być bardzo obiecujące. Magnetyczne nośniki są w stanie transportować większą ilość leku do tkanek poddanych działaniu zewnętrznego pola magnetycznego.

Celem mojej pracy doktorskiej są studia nad magnetycznymi nanocząstkami tlenków żelaza jako nośnikami doksorubicyny. W mojej pracy skoncentrowałem się na zagadnieniach utrudniających stosowanie magnetycznych nanocząstek tlenków żelaza jako nośnika doksorubicyny, które mogą być zrozumiane z perspektywy fizykochemicznych właściwości badanych związków.

Moja rozprawa doktorska została podzielona na dwie części. Pierwsza z nich – część literaturowa, przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący nanocząstek i doksorubicyny przedstawioną w oparciu o dostępną literaturę naukową. Druga część przedstawia rezultaty mojej pracy, opublikowane w czasopismach naukowych. Część ta została podzielona na trzy rozdziały: pierwszy- poświęcony właściwościom spektroskopowym i fotoreaktywności doksorubicyny, drugi- dotyczący oddziaływań antracyklin z jonami żelaza (III), oraz trzeci- przedstawiający syntezę magnetycznych nanocząstek tlenków żelaza, oddziaływanie z doksorubicyną oraz metodę pozwalającą na ilościowe wyznaczenie stężenia doksorubicyny obecnej na powierzchni nanocząstek.

Rozdział przedstawiający właściwości spektroskopowe i fotoreaktywność doksorubicyny jest istotny, ponieważ pokazuje ograniczenia w zastosowaniu metod spektroskopowych dla ilościowego oznaczenia antracyklin. Doksorubicyna pod wpływem światła ultrafioletowego ulega redukcji do odpowiadającej jej formy dihydrochinonu, która nie fluoryzuje w zakresie emisyjnym doksorubicyny. Związek ten ulega jednak ponownemu utlenieniu do doksorubicyny reagując z tlenem rozpuszczonym w roztworze. W wyniku tej reakcji następuje regeneracja cząsteczki doksorubicyny oraz utworzenie dodatkowej cząsteczki nadtlenu wodoru. Nadtlenek wodoru jest również znany jako substancja powodująca uszkodzenia tkanki mięśnia sercowego, dlatego istotne jest odpowiednie przechowywanie roztworów doksorubicyny w naczyniach pochłaniających promieniowanie z zakresu nadfioletu. W tym rozdziale przedstawiłem również mechanizm nieodwracalnej fotodegradacji doksorubicyny. Proces ten jest dwuetapowy. Końcowym produktem tego procesu jest kwas 3-metoksylowy. Produkt pośredni nie jest wystarczająco stabilny, abym mógł go odpowiednio scharakteryzować. Dwuetapowość tego procesu jest jednak dobrze widoczna na podstawie analizy profilów kinetycznych reakcji fotodegradacji. Rozdział ten dostarcza istotnych informacji dotyczących kontroli zakresu i intensywności światła służącego do oznaczenia doksorubicyny.

W kolejnym rozdziale, który poświęcony jest oddziaływaniom antracyklin z jonami żelaza(III) przedstawiłem wyniki opisujące wpływ poszczególnych podstawników na trwałość powstających

kompleksów. W literaturze naukowej przedstawiono teorię o wpływie kompleksów antracyklina-żelazo(III) na występowaniem skutków ubocznych. Problem ten jest zatem ważny zarówno z punktu widzenia tradycyjnej terapii, ponieważ jony żelaza są rozpowszechnione w ludzkim organizmie, jak również z punktu widzenia zastosowania nanocząstek żelaza jako nośników doksorubicyny, ponieważ każdy tlenek metalu występuje w roztworze w równowadze z jonami metalu. W tym rozdziale scharakteryzowałem wpływ podstawnika metoksyłowego, grupy hydroksylowej oraz podstawnika cukrowego – daunosaminy na zdolność tworzenia kompleksów z jonami żelaza(III). Prace te pozwoliły na pełniejsze zrozumienie mechanizmu tworzenia kompleksów antracyklin z jonami Fe^{3+} oraz pozwoliły na zaprojektowanie pokrycia dla magnetycznych nanocząstek tlenków żelaza, które znacząco poważnie ogranicza zdolność tworzenia kompleksu doksorubicyna-żelazo(III).

Ostateczny cel mojej pracy został przedstawiony w trzecim rozdziale. Opisałem w nim wykorzystaną metodę syntezy magnetycznych nanocząstek tlenków żelaza oraz ich pokrycie cytrynianami, które wykazują zdecydowanie wyższe powinowactwo do jonów Fe^{3+} , niż cząsteczki antracykliny. Otrzymane nanocząstki utworzyły stabilny koloid w środowisku wodnym. Cytryniany obecne na powierzchni nanocząstek elektrostatycznie ograniczały zdolność nanocząstek do samoagregacji oraz uniemożliwiały wytworzenie toksycznych kompleksów doksorubicyna- Fe^{3+} . Zaproponowana przeze mnie metoda pokrycia zapewniła dużą efektywność w procesie adsorpcji doksorubicyny na powierzchni nanocząstek w porównaniu z metodami zaproponowanymi przez inne zespoły badawcze. W rozdziale tym istotnym elementem jest również omówienie nowej metody, którą wykorzystałem dla oznaczenia doksorubicyny zaadsorbowanej do powierzchni nanocząstek. Jest to metoda, która pozwala uniknąć kłopotów związanych z obecnością nanocząstek w badanej próbce. Nanocząstki, ze względu na swój rozmiar, efektywnie rozpraszają światło w zakresie wykorzystywanym w spektroskopii fluorescencyjnej i absorpcyjnej. W mojej metodzie pomiar polega na zastosowaniu układu trójfazowego zawierającego: nanocząstki, wodę oraz octan etylu. Octan etylu nie miesza się z wodą. Doksorubicyna wykazuje niewielką rozpuszczalność w octanie etylu, lecz jej kwantowa wydajność fluorescencji jest w tym rozpuszczalniku znacznie wyższa niż w roztworze wodnym, co jest gwarantem wysokiej czułości stosowanej metody. Nanocząstki pokryte cytrynianami nie przedostają się do fazy organicznej. Doksorubicyna obecna w układzie woda/octan etylu występuje w równowadze, dzięki czemu możliwy jest pomiar jej fluorescencji w fazie

organicznej. Po wprowadzenie nanocząstek tlenków żelaza pokrytych cytrynianami do fazy wodnej znaczna część doksorubicyny ulega adsorpcji do powierzchni nanocząstek. Zmniejsza się tym samym stężenie doksorubicyny w fazie wodnej oraz w fazie organicznej, ponieważ równowaga musi być zachowana. Poprzez porównanie intensywności fluorescencji przed i po wprowadzeniu nanocząstek możliwe jest dokładne określenie ilości przyłączonej doksorubicyny do powierzchni magnetycznych nanocząstek. Dzięki temu, że pomiar odbywa się w fazie organicznej nie obserwujemy żadnych efektów optycznych związanych z obecnością nanocząstek w badanej próbce.

Podstawą mojej rozprawy doktorskiej jest cykl pięciu oryginalnych artykułów naukowych mojego współautorstwa, opublikowanych w uznanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym: *Journal of Physical Chemistry A* (impact factor 2012: 2.771), *Journal of Physical Chemistry B* (dwie publikacje, impact factor 2012: 3.607), *Journal of Physical Chemistry C* (impact factor 2012: 4.814) i *RSC Advances* (partial impact factor 2012: 2.562) oraz jedna praca przeglądowa opublikowana w *Bioelectrochemistry* (impact factor 2012: 3.947).

Prezentowane badania zaowocowały również dwoma wystąpieniami ustnymi na 43rd IUPAC World Chemistry Congress w San Juan, Puerto Rico, oraz 7th World Congress in Oxidation Catalysis w Saint Louis, USA oraz trzema prezentacjami w formie plakatu: 2nd Conference Innovation in Drug Delivery in Aix-en-Provence, Francja oraz 1st Warsaw-Cambridge Young Scientists Meeting w Warszawie, Polska (dwa plakaty).

Przedstawiona praca doktorska włącza się w nurt badań, których celem jest zrozumienie oddziaływań i reaktywności doksorubicyny oraz wnosi wkład do pełniejszego poznania nanocząstek tlenków żelaza jako potencjalnego nośnika leków.