

Nano- i mikrocząstki polimerowe uważane są za obiecujące nośniki leków. Wśród licznych badanych polimerów syntetycznych, polietery oraz poliestry wyróżniają się pod względem bardzo dobrej biokompatybilności. Wśród substancji aktywnych biologicznie, białka i kwasy nukleinowe szczególnie wymagają obecności odpowiedniego nośnika, który umożliwia ich skuteczne wykorzystanie jako leku.

Pierwszym celem pracy było zbadanie możliwości enkapsulacji insuliny w micelach polieterowo-poliestrowych. Jako komponent polieterowy został wybrany liniowy poliglicydol. Poliglicydol, podobnie jak PEG, jest biozgodnym, rozpuszczalnym w wodzie polimerem. Dodatkowo, obecne w jego strukturze grupy hydroksylowe można wykorzystać do dalszej modyfikacji korony miceli. Z kolei hydrofobowy blok poliestrowy został wytworzony z polilaktydu. W celu optymalizacji właściwości otrzymanych formułacji micelarnych został zbadany wpływ długości bloku hydrofilowego na właściwości fizykochemiczne powstających miceli (zarówno z samych kopolimerów, jak i w obecności insuliny) oraz na sam proces enkapsulacji i uwalniania insuliny. Kolejnym z celów było sprawdzenie przydatności polieterów zawierających grupy aminowe do tworzenia polipleksów z kwasami nukleinowymi. Główny nacisk przyłożono na zbadanie wpływu struktury makrocząsteczek (długość łańcucha, rzędowość grup aminowych) na kluczowe zagadnienia związane z dostarczaniem kwasów nukleinowych do komórek, takich jak cytotoksyczność, zdolność kompleksowania DNA, i ostatecznie wydajność transfekcji genu.

Zostało wykazane, że kopolimery blokowe glicydolu i laktydu w badanym zakresie ciężarów cząsteczkowych ($M_n(\text{polilaktyd}) \approx 5000$; $M_n(\text{poliglicydol}) \approx 3800 - 12800$) poszczególnych bloków, mogą wydajnie enkapsulować insulinę w formie miceli. Stwierdzono, iż istotny wpływ na właściwości otrzymywanych formułacji ma ciężar cząsteczkowy części hydrofilowej polimeru. Najlepsze właściwości uzyskano w przypadku kopolimeru PGL_PLL1, który spośród badanych polimerów charakteryzował się najmniejszą średnią długością części hydrofilowej ($DP_n(\text{glicydolu}) = 52$). Cząstki wytworzone z tego kopolimeru charakteryzowały się najmniejszą średnią wielkością oraz najmniejszym rozrzutem średnic. W przypadku tego kopolimeru najwyższe były również uzyskiwane wydajności enkapsulacji insuliny (co najmniej 75%), a przede wszystkim micelle wytworzone z tego kopolimeru charakteryzowały się najbardziej korzystnym profilem uwalniania leku (niski poziom początkowego wyrzutu leku i uwalnianie leku w ciągu 24 godzin). Stwierdzono, że duże znaczenie na właściwości badanych układów ma najprawdopodobniej krytyczne stężenie micelizacji, które w przypadku kopolimeru PGL_PLLA1 o najkrótszym łańcuchu poliglicydolowym ma wartość najniższą (0,40 mg/ml).

Drugim z celów było sprawdzenie, czy liniowe poliaminoetery, o różnym ciężarze cząsteczkowym oraz rzędowości grup aminowych, wykazują właściwości predestynujące je do bycia wydajnymi nośnikami kwasów nukleinowych. W ramach prowadzonych badań otrzymano liniowe polietery o strukturze łańcucha głównego, analogicznej do poli(tlenku etylenu) zawierające w swojej strukturze grupy aminowe (pierwszo- lub trzeciorzędowe) lub czwartorzędowe tetraalkilowe grupy amoniowe. Poliglicydyloaminę oraz jej blokowe kopolimery z poli(tlenkiem etylenu) uzyskano poprzez konwersję grup hydroksylowych,

odpowiednio poliglicydolu lub kopolimeru blokowego glicydolu i tlenku etylenu, w wyniku sekwencji reakcji Appela, substytucji nukleofilowej anionu chlorkowego anionem azydkowym oraz reakcji redukcji grupy azydkowej Staudingera. Poli(2,3-epoksypropylodietyloloaminy) otrzymano w wyniku polimeryzacji według mechanizmu anionowego 2,3-epoksypropylodietyloloaminy inicjowanej *tert*-butanolanem potasu. Poli(2,3-epoksypropylodietyloloaminy) wykorzystano do syntezy polieterów zawierających w swojej strukturze kationowe czwartorzędowe grupy amoniowe w reakcji z bromoetanem. Stopień czwartorzędowania uzyskanych polimerów wynosił około 70%. Zbadano cytotoksyczność otrzymanych poliaminoeterów wobec komórek z linii HeLa, K562 oraz HUVEC. Poliglicydyloamina, której średni stopień polimeryzacji mieści się w zakresie od 59 do 210 charakteryzuje się wysoką cytotoksycznością wobec komórek z linii HeLa, K562 oraz HUVEC. Homopolimery 2,3-epoksypropylodietyloloaminy o średnim stopniu polimeryzacji poniżej 90 charakteryzują się zadowalającym poziomem cytotoksyczności wobec badanych linii komórkowych. Homopolimery EPDEA są nietoksyczne względem komórek z linii HUVEC. Względem linii HeLa PEPDEA o stopniu polimeryzacji 30 (PEPDEA1) jest polimerem nietoksycznym, podczas gdy LC_{50} PEPDEA o stopniu polimeryzacji 90 (PEPDEA2) wynosi 10 $\mu\text{g/ml}$, przy czym dziesięciokrotne zwiększenie stężenia polimeru nie prowadzi do zwiększenia poziomu śmiertelności komórek. Wobec komórek z linii K562, wartości LC_{50} wynoszą odpowiednio 70 i 30 $\mu\text{g/ml}$ w przypadku polimerów PEPDEA1 i PEPDEA2. Pochodne PEPDEA, których ok. 70% grup aminowych zostało przeprowadzone w czwartorzędową sól amoniową w wyniku reakcji z bromkiem etylu, są nietoksyczne względem komórek HeLa i HUVEC. Wobec komórek z linii K562, polimer o stopniu polimeryzacji 30 jest nietoksyczny, natomiast LC_{50} polimeru o stopniu polimeryzacji 90 wynosi 100 $\mu\text{g/ml}$. Uzyskane wyniki wskazują, że cytotoksyczność poliaminoeterów rośnie wraz z ciężarem cząsteczkowym, jak również zmniejsza się wraz ze wzrostem rzędowości grupy aminowej. W przypadku PEPDEA oraz ich czwartorzędowanych pochodnych, cytotoksyczność polimerów jest niższa niż polietylenoiminy. Zbadano zdolność PEPDEA oraz ich czwartorzędowanych pochodnych do tworzenia kompleksów z plazmidowym DNA przy zastosowaniu elektroforezy żelowej, testu wykluczania bromku etydyliny oraz spektroskopii korelacji fotonów. Badania z wykorzystaniem elektroforezy żelowej wykazały, że PEPDEA w pełni kompleksuje plazmidowe DNA przy zastosowanym stosunku wagowym polimeru do DNA równym 10:1, podczas gdy czwartorzędowane pochodne kompleksują DNA przy stosunku wagowym wynoszącym 20:1. Test wykluczania bromku etydyliny wykazał, że polimery o wyższym stopniu polimeryzacji tworzą silniejsze kompleksy DNA. Wykazano, że polimery PEPDEA1 i PEPDEA2, jak również ich czwartorzędowane pochodne, pomimo zdolności do kompleksowania plazmidowego DNA, nie są wydajnymi czynnikami transfekującymi. Przyczyną braku transfekcji w przypadku badanych polimerów jest fakt tworzenia przez nie kompleksów z DNA o wielkości uniemożliwiającej ich wydajny wychwyty przez komórki, co zostało zaobserwowane w badaniach mikroskopowych kompleksów utworzonych z plazmidem znakowanym znacznikiem fluorescencyjnym BOBO-3. Brak zdolności do tworzenia przez badane polimery kompleksów o wielkości umożliwiającej ich wprowadzenie do wnętrza komórek jest prawdopodobnie związane ze stosunkowo niskim ciężarem cząsteczkowym polimerów.