



Pannon Egyetem
Vegyésmérnöki- és Anyagtudományok Doktori Iskola

**Biokompatibilis polimer alapú,
kemoterapeutikumokat tartalmazó
gyógyszerhordozó nanorészecskék**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Készítette:

Babos György
okleveles környezetmérnök

Témavezető:

Dr. Feczko Tivadar
tudományos főmunkatárs

2023

Bevezetés és célkitűzés

A rosszindulatú daganatok hagyományos, kemoterápiás kezelését súlyos mellékhatások kísérhetik, illetve a rákellenes hatóanyag ellen rezisztencia alakulhat ki a tumorsejtekben. Ennek kiküszöbölésére az alkalmazott kemoterapeutikumokat nanorészecskékbe kapszulázva, gyógyszerhordozó rendszerként, célzott módon lehet a tumoros szövetbe juttatni. A hatóanyagleadás szabályozható és tervezhető, segítségével a kioldódás a célszövetben valósítható meg. A hagyományos, szisztémás adagoláshoz képest jelentős dóziscsökkentés érhető el így módon, így nagymértékben visszaszoríthatók a nemkívánatos mellékhatások. Több, eltérő hatásmechanizmusú szer együttes alkalmazásával a rezisztencia kialakulásának elmaradása remélhető.

Különböző biodegradábilis polimerek segítségével nanorészecskéket készítettem poli(tejsav-glikolsav) kopolimerből (PLGA), polihidroxialkanoát (PHB) származékokból, poli(vinil-alkohol)-ból (PVA), melyekbe doxorubicin és sorafenib kemoterápiás hatóanyagokat mikrokapszuláztam. A nanorészecskék felületét különböző anyagokkal (másodrendű kötések: poloxamerek, polivinil-alkohol, kovalens kötéssel kapcsolás: polietilén-glikol, tumorpenetrációs peptid) módosítottam a nagyobb stabilitás, szelektív célzás és a hosszabb vérkeringésben elérhető felezési idő érdekében. A dinamikus fényszórásmérés, UV-vis spektrofotometria és folyadékkromatográfia segítségével vizsgáltam az előállított nanorészecskék fizikai-kémiai tulajdonságait (méret, összetétel).

Vizsgáltam a mikrokapszulázott gyógyszerek nanorészecskékből való kioldódásának sebességét, valamint a gyógyszerhordozó rendszer hatékonyságát élő sejt kultúrákon. Mértem a ráksejtek (HT-29 és HepG2 sejtvonal) nanorészecske felvételét felületmódosítás előtt és után, illetve a nanorészecskékből kioldódó kemoterapeutikumok citotoxikus hatását az eredetivel megegyező mennyiségű szabad gyógyszervegyülethez képest.

Kísérleti munka

Kutatásaim során kemoterápiás hatóanyagok mellékhatásainak ill. a tumorsejtekben az egyes hatóanyagok ellen kialakuló rezisztencia kialakulásának kiküszöbölése érdekében különböző polimereket felhasználva biokompatibilis és biodegradábilis gyógyszerhordozó nanorészecskéket készítettem. A személyre szabott terápia kívánalmainak megfelelően különböző anyagokból, különböző részecskeméretekből és eltérő hatóanyagtartalommal rendelkező gyógyszerhordozó rendszerek létrehozása volt a cél.

Metatézissel előállított, jól definiált szerkezetű, vízben nem oldódó PVA polimerbe mikrokapszuláztam sorafenib hatóanyagot magas kapszulázási hatékonysággal és hatóanyagtartalommal. Vizsgáltam a nanorészecskék tumorsejtek általi felvételét, mely kedvező eredményt mutatott. Citotoxicitási teszteken a kapszulázott hatóanyag az eredeti, tiszta hatóanyaghoz hasonló hatékonyságot mutatott.

Hagyományos PLGA és PEG-ilált PLGA polimerekkel állítottam elő először sorafenib és doxorubicin hatóanyagokat együttesen tartalmazó polimer nanorészecskéket. A hatóanyagtartalom leadása doxorubicin esetében az elvárásoknak megfelelő ütemben ment végbe, míg sorafenib esetében, vérplazma közegben a hordozó mátrix csak visszafogott ütemben lassította a gyógyszer felszabadulását. HT-29 sejtvonalon végzett vizsgálatok azt mutatták, hogy a PEG-ilált PLGA alapú hordozókat a tumorsejtek jelentősen nagyobb arányban vették fel. A citotoxicitási tesztek alapján mindkét típusú gyógyszerhordozó rendszer koncentrációarányos hatást mutatott, de a PEG-ilált változat esetén lényegesen kifejezettebb volt a hatás.

A PEG-ilált PLGA alapú nanorészecskék felületét iRGD tumor penetrációs peptiddel módosítottam, majd vizsgáltam a fizikai-kémiai paraméterek változását, illetve a biológiai hatásokat. A nanorészecskék mérete a várakozásnak megfelelő mértékben emelkedett, azonban így is 22%-kal nagyobb arányban vették fel a tumorsejtek a módosított nanorészecskéket.

PHB alapú polimerből állítottam elő doxorubicint és sorafenibet együttesen tartalmazó gyógyszerhordozó nanorészecskéket magas hatóanyagtartalommal. A gyógyszer felszabadulási profilját kinetikai folyamattal írtam le.

A PHB alapú nanorészecskéket PEG-iláltam, majd vizsgáltam a felületmódosítás fizikai, kémiai és biológiai hatásait. A nanorészecskék mérete kis mértékben növekedett, hatóanyagleadásuk azonban lassult. A PEG-ilált nanorészecskék a hagyományos változathoz képest fokozott citotoxicitással rendelkeztek.

Új tudományos eredmények, tézisek

1. Jól definiált szerkezetű, metatézissel előállított, vízben rosszul oldódó polivinil-alkohol polimerrel először mikrokapszuláztam sorafenib hatóanyagot magas kapszulázási hatékonysággal (93,6 %) és hatóanyagtartalommal (12,0 %). Az így előállított nanorészecskéket a ráksejtek jó hatékonysággal bekebelezték, és koncentrációfüggő citotoxicitást mutattak HT-29 adenokarcinóma sejteken. (S2)
2. Biodegradábilis poli(tejsav-glikolsav) (PLGA) és PEG-ilált PLGA polimerekkel először állítottam elő sorafenib és doxorubicin hatóanyagokat együttesen tartalmazó polimer nanorészecskéket. A nanorészecskék vérplazmában doxorubicin esetén 1 héten át elnyújtott hatóanyaleadást, míg a tumorra jellemző savas pH esetén gyors hatóanyagfelszabadulást mutattak. A sorafenib hatóanyag a PLGA nanorészecskékből vérplazmában gyorsan felszabadult, míg a PEG-ilált PLGA lassította a felszabadulását. Savas közegben mind a kétféle hordozó polimerben lassult a sorafenib felszabadulása. HT-29 adenokarcinóma sejtek lényegesen nagyobb mennyiségben vették fel a PEG-PLGA-ból, mint a PLGA-ból készített nanorészecskéket. Ez magyarázza, hogy bár mind a két hordozóból koncentrációfüggő citotoxicitást tapasztaltam, de a PEG-PLGA gyógyszerhordozó nanorészecskék hatékonyabbnak bizonyultak a HT-29 adenokarcinóma sejteken végzett citotoxicitás vizsgálatban. (S1)
3. PEG-ilált PLGA gyógyszerhordozó nanorészecskék iRGD tumor penetrációs peptiddel való sikeres felületkezelését dinamikus fényszórással végzett részecskeméret vizsgálattal igazoltam, melynek során a 197,4 nm átlagos hidrodinamikai átmérőjű részecskék mérete 225,2 nm-re növekedett. Az iRGD-vel felületmódosított részecskéket HCT-116 vastagbélrák sejtek 22 %-kal nagyobb arányban vették fel a felületkezelésen át nem esett nanorészecskékhez képest. (S1)
4. Elsőként állítottam elő polihidroxi-butirát (PHB) hordozó polimerrel sorafenib és doxorubicin rákellenes szereket együttesen tartalmazó monodiszperz gyógyszerhordozó nanorészecskéket magas kapszulázási hatékonysággal. A doxorubicin felszabadulását háromfázisú kinetikai folyamattal írtam le, mely a kezdeti lemosódásból, a polimer degradációból, végül a lassú diffúzióból tevődik össze. A sorafenib gyorsabban, kétfázisú folyamatban szabadult fel a polimerből: a kezdeti lemosódást a polimer degradáció követte. (S3)
5. A sorafenib és doxorubicin hatóanyagokat tartalmazó PHB nanorészecskék PEG-ilálásával az élő szervezet makrofágjai számára nehezebben felismerhető monodiszperz gyógyszerhordozó nanoanyagot állítottam elő. A doxorubicin hatóanyag felszabadulása a nanorészecskékből ez esetben is háromfázisú kinetikával volt jellemezhető, azonban mind a vérplazmában, mind a

tumorra jellemző savas közegben a PHB-tal készített nanorészecskéknél nagyobb kioldódási sebességgel. A PHB nanorészecskékből a sorafenib rendkívül gyorsan oldódott ki, amit a nanorészecskék PEG-ilálása lassított. A PEG-ilált PHB nanorészecskék fokozott citotoxicitással rendelkeztek HCT-116 vastagbélrák sejtvonalon. (S3)

Tézisek alapjául szolgáló cikkek:

S1. Babos. G., Biró. E., Meiczinger. M., Feczkó. T. (2018). Dual Drug Delivery of Sorafenib and Doxorubicin from PLGA and PEG-PLGA Polymeric Nanoparticles. *Polymers*. 10(8). 895. Q1 (IF: 3,672)

S2. Feczkó T. Merza G. Babos G. et al. Preparation of cubic-shaped sorafenib-loaded nanocomposite using well-defined poly(vinyl alcohol alt-propenylene) copolymer. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;562:333-341. D1 (IF: 4,793)

S3. György Babos, Joanna Rydz, Michal Kawalec, Magdalena Klim, Andrea Fodor-Kardos, László Trif, Tivadar Feczkó: Poly(3-Hydroxybutyrate)-Based Nanoparticles for Sorafenib and Doxorubicin Anticancer Drug. *International Journal of Molecular Science*, 2020; 21 (19), 7312 D1 (IF: 5,819)

Egyéb a dolgozat témájához kapcsolódó publikációk:

S4. Izolda Kántor, Diana Aparaschivei, Anamaria Todea, Emese Biró, György Babos, Dóra Szerényi, Balázs Kakasi, Francisc Péter, Eugen Şişu, Tivadar Feczkó: Biocatalytic synthesis of poly [ϵ -caprolactone-co-(12-hydroxystearate)] copolymer for sorafenib nanoformulation useful in drug delivery, *Catalysis Today*, 2021, 366, 195-201. Q1, (IF: 6,565)

S5. Izolda Kántor, Diana Dreavă, Anamaria Todea, Francisc Péter, Zoltán May, Emese Biró, György Babos, Tivadar Feczkó: Co-Entrapment of Sorafenib and Cisplatin Drugs and iRGD Tumour Homing Peptide by Poly [ϵ -caprolactone-co-(12-hydroxystearate)] Copolymer. *Biomedicines*, 2022, 10, 43. Q1, (IF: 4,757)

S6. Miklós Jakab, Margit Enisz-Bódogh, Kristóf Kovács, Eszter Keil, György Babos, Tivadar Feczkó: Structure and properties of bovine bone-glass ceramic composite scaffolds. *Processing and Application of Ceramics* 15 [4] (2021). Q3 (IF: 1,51)

S7. Iulia Păușescu, Izolda Kántor, György Babos, Zoltán May, Andrea Fodor-Kardos, Zsombor Miskolczy, László Biczók, Francisc Péter, Mihai Medeleanu, Tivadar Feczkó: Halochromic behavior and anticancer effect of new synthetic anthocyanidins complexed with β -cyclodextrin derivatives. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, 23, 8103. D1 (IF: 6,208)