



Politechnika Łódzka
Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska
Katedra Inżynierii Chemicznej

Anna Katarzyna Rył

**Wpływ sił ścinających występujących podczas przepływu
w naczyniach kapilarnych na mechanizm żelowania
polimerowych nośników leków**

Influence of shear forces occurring during the flow in capillaries
on the gelation mechanism of polymeric drug carriers

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Promotor pracy: dr hab. inż. Piotr Owczarz, prof. uczelni

Łódź, 2022

Streszczenie

Ze względu na wzrastającą liczbę wypadków komunikacyjnych, rozwój chorób cywilizacyjnych oraz onkologicznych, w ostatnich latach obserwuje się rosnące zapotrzebowanie na nowoczesne metody leczenia i regeneracji, które skróciłyby czas rekonwalescencji, a jednocześnie byłyby mniej inwazyjne dla pacjenta. Jednym z proponowanych przez badaczy rozwiązań są polimerowe nośniki leków wytwarzane na drodze termoindukowanej przemiany fazowej zol-żel, podczas której agregaty polimerowe tworzą przestrzenne rusztowanie wewnątrz, którego zawieszone są substancje lecznicze. Potencjalne zastosowanie hydrożelowych matryc polimerowych obejmuje iniekcyjne nośniki leków i rusztowania do hodowli komórkowej oraz matryce wytwarzane z wykorzystaniem druku 3D. Przy odpowiednim zaprojektowaniu układy takie można wstrzyknąć pacjentowi w ściśle określone miejsce zmienione chorobowo, a do uformowania sieci przestrzennej dochodzi *in vivo*. Pomimo tego, że układy wykazujące wrażliwość na zmiany temperatury są często badane pod wieloma względami, ich potencjał aplikacyjny w formie małoinwazyjnych zastrzyków, określany jest wyłączenie na podstawie wartości dolnej krytycznej temperatury roztworu. Jednocześnie w literaturze nie stwierdzono badań określających możliwość aplikacji iniekcyjnej tych układów, jak również nie opublikowano prac, w których poddano analizie wpływ przepływu przez igłę iniekcyjną lub dyszę drukarki 3D na czas formowania żelu. Dostępne badania dotyczące polimerów syntetycznych, emulsji oraz układów białkowych wskazują, że poddawanie działaniu pola ścinającego układów koloidalnych może prowadzić do ich odwracalnych lub nieodwracalnych zmian strukturalnych.

Celem pracy jest określenie wpływu pola ścinającego występującego w kapilarach stosowanych podczas aplikacji iniekcyjnej koloidalnych układów polisacharydowych na mechanizm i kinetykę termoindukowanej przemiany fazowej zol-żel prowadzącej do wytworzenia przestrzennej sieci polimerowych stanowiącej inteligentną formę nośników leków.

Badaniom poddano koloidalne układy chitozanu z dodatkiem soli β -glicerofosforanu sodu oraz wodne roztwory hydroksypropylocelulozy (HPC) ulegające przemianie fazowej zol-żel w warunkach fizjologicznych tj. temperaturze 37°C i pH w zakresie 6,8-7,2. Wybrane polimery stanowią powszechne materiały badawcze ze względu na ich biomedyczny potencjał aplikacyjny wynikający z ich biokompatybilności oraz dostępności.

W celu określenia wpływu reżimu agregacji na izotermiczną i nieizotermiczną kinetykę przemiany fazowej zol-żel przeprowadzono badania z wykorzystaniem technik: turbidymetrycznych oraz reometrycznych połączonych z analizą rozpraszania światła pod

małymi kątami. Wpływ aplikacji iniekcyjnej na kinetykę żelowania określony został na podstawie badań reometrycznych i turbidymetrycznych poprzedzonych ścinaniem bezpośrednio w reometrze lub przestrzyknięciem zolu przez igły iniekcyjne w rozmiarach 14G – 25G z wykorzystaniem pompy infuzyjnej. Warunki przepływu, ze szczególnym uwzględnieniem zakresu szybkości ścinania, zostały określone w oparciu o podstawy teoretyczne przepływów płynów nienewtonowskich w przewodach, a potwierdzono je walidacją eksperymentalną przeprowadzoną z wykorzystaniem analizatora tekstury. Równolegle wykonane zostały instrumentalne badania wstrzykiwalności określające możliwość aplikacji iniekcyjnej badanych układów. Ocenę wpływu pola ścinającego, obserwowanego podczas iniekcji, w skali makro- i mikroskopowej na właściwości strukturalne badanych układów przeprowadzono w oparciu o wielointerwałowe testy tiksotropowe połączone z analizą rozpraszania światła.

Na podstawie analizy przeprowadzonych badań stwierdzono, że agregacja w reżimie perykinetyki (limitowana dyfuzją) jest procesem wolniejszym od agregacji pod wpływem gradientu prędkości (ortokinetyka) ze względu na synergistyczny efekt zmian molekularnych, dyfuzyjnych oraz cieplnych. W skrajnym przypadku (HPC) agregacja limitowana stochastycznymi ruchami Browna nie wystąpiła pomimo, że zaobserwowano dla takiego układu polimerowego agregację w warunkach ścinania. Wykazano, że zastosowanie jednokierunkowego ścinania rotacyjnego prowadzi do znacznego przyspieszenia etapu szybkiego żelowania, a w przypadku dostatecznie małej wartości szybkości ścinania wręcz do samorzutnego formowania się sieci polimerowej. Zaproponowano mechanizm żelowania tłumacząc, że obserwowane przyspieszenie przemiany fazowej zol-żel zachodzi ze względu na rozluźnienie i jednoczesne rozwinięcie kłębków polimerowych, a tym samym ułatwiony dostęp do grup funkcyjnych biorących udział w formowaniu przestrzennej sieci polimerowej i szybsze wytworzenie oddziaływań międzycząsteczkowych.

Badania wpływu aplikacji iniekcyjnej na kinetykę żelowania wykazały, że zastosowanie niewielkich (w odniesieniu do iniekcji) szybkości ścinania powoduje przyspieszenie przemiany fazowej badanych układów polimerowych wywołane porządkowaniem agregatów i ułatwieniem dostępu do tzw. stref połączeń. Po przekroczeniu krytycznej wartości szybkości ścinania (charakterystycznej dla danego układu) dochodzi do fragmentacji agregatów koloidalnych prowadzącej do zmniejszenia ich rozmiaru przy jednoczesnym wzroście ich liczby. W zależności od rodzaju występujących oddziaływań pomiędzy zarodkami agregacji zjawisko to może ponownie przyspieszać (chitozan) lub opóźniać (HPC) proces formowania struktury przestrzennej. Zaproponowana autorska metodyka wyznaczania czasu

charakterystycznego przemiany fazowej, uwzględniająca kinetykę formowania sieci polimerowej, potwierdziła przyspieszenie agregacji wywołanej gradientem prędkości (konwekcja) w porównaniu do agregacji limitowanej wyłącznie stochastycznymi ruchami Browna (dyfuzja).

Zaproponowana metodyka badawcza pozwala określić potencjał materiału polimerowego jako małoinwazyjnego nośnika leków, zgodnie z którym próba zastosowania zolu hydroksypropylocelulozy wiąże się z utrudnioną lub wręcz niemożliwą iniekcją manualną, a dodatkowo prowadzi do niepożądanego rozlania zolu przed jego zżelowaniem w organizmie. Odmienne zol chitozanowy możliwy był do wstrzyknięcia nawet z zastosowaniem igieł o małych średnicach (23G – 25G), a dodatkowo przepływ przez kapilarę powodował istotne skrócenie czasu przemiany fazowej zol-żel.

Na podstawie dyskusji uzyskanych wyników badań przeprowadzonych w szerokim zakresie szybkości ścinania od $\dot{\gamma} = 200 \text{ s}^{-1}$ do $\dot{\gamma} = 57000 \text{ s}^{-1}$ wykazano dwojaki charakter obserwowanych zjawisk spowodowanych zarówno zmianami konformacji przestrzennej molekuł polimeru jak również faktem akumulowania wewnątrz układu energii pochodzącej ze ścinania. Niezwykle ważną rolę w formowaniu przestrzennej sieci polimerowej w obecności pola ścinającego odgrywa pierwotny mechanizm przemiany fazowej zol-żel, a w szczególności oddziaływania międzycząsteczkowe pomiędzy zarodkami agregacji i ich wrażliwość na działanie bodźca mechanicznego.