

Streszczenie

Celem pracy było zbadanie nowej metody kontrolowania szybkości degradacji hydrolytycznej oraz uwalniania substancji aktywnych z polimerowej matrycy w formie elektroprzędzonej włókniny, o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu przepuklin. Głównym założeniem było uzyskanie kontroli kinetyki uwalniania leku, bez zmiany właściwości fizycznych i chemicznych nośnika. Celami pobocznymi było uzyskanie właściwości mechanicznych włókien w czasie degradacji hydrolytycznej, pozwalających na pełnienie funkcji wzmacniającej uszkodzone tkanki miękkie, a także kierunkowego uwalniania wybranych środków terapeutycznych z każdej z powierzchni materiału.

Prace zrealizowano w trzech głównych etapach, w czasie których badano wpływ wprowadzenia modyfikatorów w formie nanowłókien poli(węglano uretanowych) (PCU) o różnej hydrofilowości, na proces uwalniania siolimusu oraz soli sodowej diklofenaku, z kopoliestrowych, biodegradowalnych mikrowłókien. Wybrano 3 rodzaje handlowo dostępnych PCU różniących się hydrofilowością, higroskopijnością, właściwościami termicznymi i mechanicznymi oraz zsyntezowano 2 biodegradowalne kopolimery: poli(D,L-laktyd-co-glikolid) oraz poli(ϵ -kaprolakton-co-węglan trimetyleny). Metodą dwustrumieniowego elektroprzędzenia roztworów kopoliestrowych zawierających substancje aktywne oraz PCU, wytworzono dwuskładnikowe, częściowo biodegradowalne włókniny. W pierwszym etapie badano włókniny PDLGA/PCU. Dzięki wykorzystaniu roztworów w heksafluoroizopropanolu (HFIP) uzyskano gładkie włókna kopoliestru. Przeprowadzono inkubację otrzymanych materiałów w wodnym roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem, w temperaturze 37 °C, przez 24 tygodnie. Postęp degradacji hydrolytycznej oraz erozji badano metodami analitycznymi takimi jak spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), chromatografia wykluczania (żelowa) (SEC/GPC), różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) oraz skaningowa mikroskopia elektronowa SEM. Szybkość uwalniania leków mierzono stosując wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC), a następnie dopasowując uzyskane wyniki do wybranych matematycznych modeli kinetycznych. Zmiany właściwości mechanicznych w czasie inkubacji próbek mierzono w statycznej próbie rozciągania. Przeprowadzono również pomiary szybkości przenikania małowcząsteczkowej, modelowej substancji przez wewnętrzną strukturę włókien. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono współczynniki retencji opracowanych materiałów. W badaniach z wykorzystaniem linii komórkowej fibroblastów dokonano oceny cytotoksyczności *in vitro* oraz adhezji komórek na powierzchni materiałów. W drugim eksperymencie badano wpływ zwiększenia porowatości oraz średnic mikrowłókien PDLGA, które uzyskano stosując roztwory w dichlorometanie (DCM). Otrzymane włókniny PDLGA/PCU przebadano w analogiczny sposób jak w pierwszym eksperymencie. Trzeci eksperyment przeprowadzono z wykorzystaniem bardziej hydrofobowej matrycy, będącej mieszaniną kopolimeru PCLTMC z niewielkim dodatkiem poli(ϵ -kaprolakton)(PCL). PCL stanowił stabilizator włókien, ze względu na bardzo niską temperaturę zeszklenia PCLTMC oraz amorficzną strukturę, co prowadziło do natychmiastowego zlewania się uzyskanych włókien w jednolitą masę. Zmianę matrycy dokonano, aby pokazać, że modyfikacja materiału za pomocą nanowłókien PCU daje analogiczny efekt, niezależnie od hydrofilowości oraz

właściwości fizycznych polimeru stanowiącego nośnik leku. Uzyskane włókniny PCLTMC:PCL/PCU zbadano w analogiczny sposób jak w dwóch wcześniejszych eksperymentach.

Za pomocą dwustrumieniowego elektroprzędzenia wytworzono przepłot biodegradowalnych mikrowłókien kopoliestrowych, pełniących funkcję nośnika leków, z nieulegającymi biodegradacji nanowłóknami poli(węglano uretanowymi) o różnej hydrofilowości, pełniącymi rolę modyfikatora, wpływającego na zmianę powinowactwa uzyskanego materiału do wody, która jest głównym składnikiem środowiska biologicznego. W ten sposób uzyskano zmianę makroskopowej hydrofilowości włókniny, co miało wpływ na procesy dyfuzji wody do mikrowłókien kopoliestrowych i tym samym na ich hydrolizę oraz rozpuszczanie zawartego w nich leku. Po wprowadzeniu nanowłókien PCU, zmianie uległa także droga oraz opory dyfuzji substancji aktywnych i produktów degradacji hydrolitycznej do otoczenia, co wpłynęło zarówno na uzyskany przebieg profili uwalniania, jak również właściwości fizyczne matrycy. Opracowana gradientowa struktura przepłotu komponentów biodegradowalnych i niebiodegradowalnych, których wzajemny stosunek wagowy zmieniał się w funkcji odległości od rdzenia włókniny do jej powierzchni, pozwoliła na efektywne uwalnianie substancji aktywnych przy jednoczesnej stabilizacji właściwości mechanicznych włókien w czasie degradacji. Zabieg ten dał potencjalnie możliwość potencjalnego wykorzystania materiału w roli implantów tj. siatki chirurgiczne w leczeniu przepuklin. Wprowadzenie litej membrany poliuretanowej w rdzeniu włókniny umożliwiło zahamowanie i/lub kontrolowanie dyfuzji leków w obrębie wewnętrznej struktury materiału. Opracowano dwie funkcjonalne powierzchnie zewnętrzne włókniny. Każda z nich uwalniała inny lek i była oddzielona od drugiej wewnętrzną litą membraną z PCU. Jedna ze stron włókniny uwalniała trudno rozpuszczalny w wodzie sirolimus, o właściwościach antyproliferacyjnych, którego obecność dodatkowo hydrofobizowała kopoliestrową matrycę, spowalniając jej degradację hydrolityczną. Założeniem działania tej powierzchni było wytworzenie właściwości antyadhezyjnych materiału w stosunku do komórek, co przy zastosowaniu w roli siatki chirurgicznej zmniejszyłoby prawdopodobieństwo tworzenia się niebezpiecznych dla pacjenta zrostów. Z drugiej strony materiału, uwalniano łatwo rozpuszczalną sól sodową diklofenaku, należącą do grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Lek ten uwalniając się znacznie szybciej, przyspieszał degradację i erozję nośnika, co dało silniejszy efekt w przypadku bardziej hydrofilowej matrycy o temperaturze zeszklenia materiału powyżej temperatury inkubacji. Potencjalną funkcją działania soli sodowej diklofenaku pod kątem zastosowania w leczeniu przepuklin byłoby, redukcja bólu pooperacyjnego oraz zmniejszanie prawdopodobieństwa powstawania stanów zapalnych. Funkcjonalność obu opisanych powierzchni włókniny zbadano dokonując analizy kinetyki uwalniania leków oraz przeprowadzając eksperymenty z udziałem linii komórkowej, w których zbadano cytotoksyczność *in vitro* oraz adhezję fibroblastów na każdej z powierzchni. W czasie prowadzenia pomiarów zaobserwowano, że ze wzrostem hydrofobowości modyfikatorów w postaci nanowłókien PCU szybkość uwalniania leków z kopoliestrowych mikrowłókien maleje. Zanotowano również zmiany w szybkości i mechanizmie degradacji hydrolitycznej, na który wpływ miała zmiana ilość zaabsorbowanej przez materiał wody. Właściwości mechaniczne oraz termiczne wykorzystanych poli(węglano uretanów) miały zasadniczy wpływ na stabilizację wytrzymałości na rozciąganie i elastyczności włókien w czasie inkubacji w medium degradacyjnym. Uzyskanie większych średnic nanowłókien oraz temperatura zeszklenia

wyższa niż temperatura inkubacji wyraźnie poprawiły charakterystykę odkształceniowo-naprężeniową materiałów, patrząc przez pryzmat potencjalnego zastosowania we wzmacnianiu uszkodzonych tkanek miękkich.

W ramach prowadzonych badań, dzięki zastosowaniu metody dwustrumieniowego elektroprzędzenia połączono funkcjonalność systemu kontrolowanego uwalniania leków oraz implantu w formie nanostrukturalnej siatki chirurgicznej o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu przepuklin. Wykorzystując zarówno polimery biodegradowalne, pełniące rolę nośnika leku oraz nieulegające biodegradacji modyfikatory PCU, synergistycznie połączono zalety obu typów polimerów, przy jednoczesnym ograniczeniu ich wad, pod kątem wykorzystania w roli implantu chirurgicznego. Przeprowadzone badania podstawowe, dotyczące kinetyki uwalniania substancji aktywnych, szybkości degradacji hydrolitycznej i erozji kopoliestrów oraz zmian właściwości mechanicznych włóknin, towarzyszących tym procesom, a także przenikania leków przez strukturę wewnętrzną otrzymanego materiału i jego interakcji z komórkami w warunkach *in vitro*, pozwoliły na wyciągnięcie wielu aplikacyjnych wniosków, stanowiących solidną podstawę do prowadzenia dalszych badań w tym temacie.