

Příprava funkcionalizovaných nanohub na bázi β -cyklodextrinu

Ilona Krabicová <ilona.krabicova@tul.cz>, Michal Řezanka

Cyklodextrinové nanohouby jsou polymery složené z vysoce zesíťovaných cyklodextrinů. Díky vysoké inkluzní kapacitě a snadné funkcionalizaci mohou nalézt uplatnění v různých oborech od environmentálních aplikací přes zemědělství po biomedicínu a farmacii. Funkcionalizací se u nanohub dá docílit vlastností ideálních pro jednotlivé aplikace. Nanohouby funkcionalizované manózou, jež jsou tématem této práce, byly navrženy jako nosič pro cílenou dopravu léčiv do tkání specifických vysokým výskytem manózových receptorů.

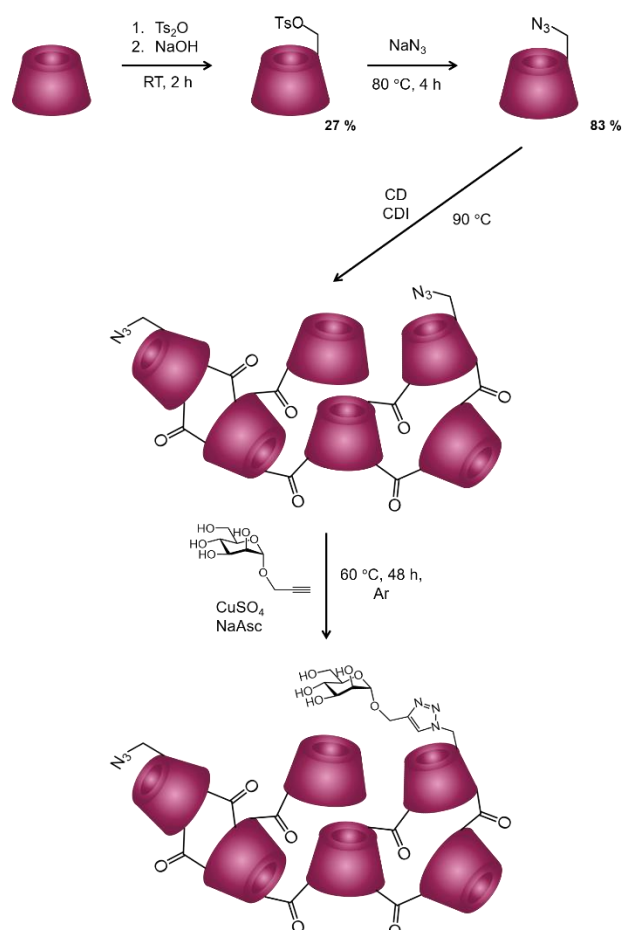
Klíčová slova: β -cyklodextrin, polymer, nanohouby, cílená doprava léčiv

Úvod

Jako cyklodextrinové nanohouby se označují nerozpustné vysoce zesíťované polymery. Svůj název si vysloužily především díky své schopnosti inkorporovat do struktury řadu molekul, které „nasají jako houba“. Tato schopnost nachází využití v řadě oborů, kde je potřeba buď některé látky separovat z okolního prostředí (filtrační a separační aplikace) nebo je naopak uchovat ve vhodném nosiči a postupně uvolňovat do okolí (především cílená doprava léčiv, ale také např. protipožární materiály) [1]. Vhodným výběrem síťovadla nebo navázáním funkčních skupin lze docílit unikátních vlastností potřebných přímo pro danou aplikaci, např. fluorescence, vhodného náboje, schopnosti reagovat na podnět z okolí nebo cílení na specifické biologické receptory [2].

Cílená doprava léčiv je velice aktuální a v literatuře hojně diskutované téma. Neustále se vyvíjejí nové materiály, které umožní omezit dávkování léčiva, eliminovat vedlejší účinky a zacílit léčbu jen na konkrétní tkáň. K tomu by měla pomoci funkcionalizace nosičů specifickými molekulami, jež mají schopnost vázat se na receptory přítomné v postižené tkáni. Funkcionalizace nanohub manózou cílí na tzv. manózové receptory, jež se ve vysoké míře vyskytují v játrech, v buňkách imunitního systému a v některých typech nádorových buněk [3, 4]. Použití nosiče léčiv může být omezeno jeho afinitou ke konkrétnímu léčivu. Nanohouby nicméně prokázaly jistou univerzálnost, jelikož do své struktury jsou schopny inkorporovat jak léčiva hydrofobní, tak hydrofilní [5]. Tato vlastnost společně s jejich snadnou modifikací může být velkým benefitem odlišující cyklodextrinové nanohouby od ostatních typů nosičů léčiv.

Metodika



Obrázek 1: Reakční schéma přípravy cyklodextrinových nanohub funkcionalizovaných manózou.

Princip přípravy manózou funkcionalizovaných cyklodextrinových nanohub vyžaduje několik syntetických kroků. Nejprve přípravu azidového derivátu cyklodextrinu, poté jeho zesíťování karbonyl diimidazolem (CDI) do formy nanohouby a nakonec

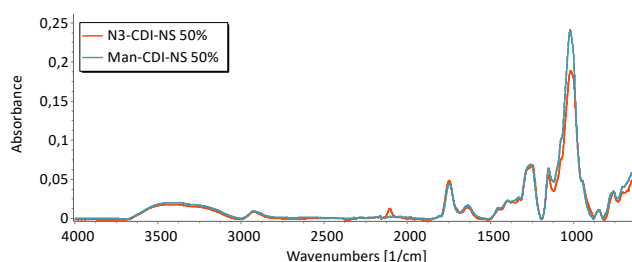
funkcionalizace navázáním manózy s využitím azidoalkynové cykloadiční „click“ reakce (viz obrázek 1).

Pro přípravu nanohub byla použita směs β -cyklodextrinu a jeho azidového derivátu, aby bylo možné posoudit vliv množství navázané manózy na nosičích. Aby bylo možné funkcionalizovat nanohoubu manózou, byl připraven její derivát s alkynovou funkční skupinou.

Po syntéze a následném čištění byly nanohouby charakterizovány pomocí infračervené spektroskopie (FTIR) a elementární analýzy (CHNS), aby byla potvrzena struktura, případně detekovány nečistoty ve vzorcích. Za účelem redukce velikosti částic bylo použito několik metod (kryomlýnek a vysokotlaký homogenizátor), jejichž účinnost byla posuzována s pomocí elektronové mikroskopie (SEM).

Výsledky a diskuze

Čtyřkrokovou syntézou byly připraveny cyklodextrinové nanohouby funkcionalizované manózou. Výchozí látkou pro funkcionalizaci byly nanohouby připravené ze směsi β -CD a jeho azidového derivátu v molárním poměru 9:1, resp. 1:1. Struktury derivátů cyklodextrinu byly potvrzeny nukleární magnetickou rezonancí (NMR). Jelikož jsou nanohouby v běžných rozpouštědlech nerozpustné, byla pro jejich strukturní analýzu využita metoda FTIR. Porovnáme-li spektra azidové nanohouby (N_3 -CDI-NS) a té funkcionalizované manózou (Man-CDI-NS), signál příslušející azidové funkční skupině je po úspěšné funkcionalizaci eliminován (Obrázek 2).



Obrázek 2: FTIR spektrum azidové cyklodextrinové nanohouby a nanohouby funkcionalizované manózou. Po navázání manózy je eliminován signál detekující azid (2100 cm^{-1}).

Cyklodextrinové nanohouby jsou běžně připravovány metodou „shora dolů“, tedy po syntéze je nutné redukovat velikost částic až na kýžené rozměry. V rámci experimentů byl využit vysokotlaký homogenizátor, jenž se ukázal jako nevhodná volba vzhledem k počáteční velikosti částic a tvrdosti

materiálu. Účinnějším nástrojem pro drcení připravených nanohub byl kryomlýnek, jenž úspěšně zmenšil částice materiálu, což potvrdily snímky SEM. V dalších experimentech bude mlecí čas dále prodloužen za účelem dosažení velikosti částic v nanorozměrech.

Závěr

Cyklodextrinové nanohouby funkcionalizované manózou byly připraveny v celkem čtyřech syntetických krocích. Pro úspěšnou funkcionalizaci bylo nutné připravit vhodný derivát manózy. Za použití kryomlýnku byly připraveny mikročástice nanohub, které budou podrobeny dalším experimentům.

Dalším pokračováním bude testování cytotoxicity materiálů a jejich schopnosti inkorporace a uvolňování léčiv. Mimo to proběhnou experimenty s cílem redukovat velikost částic do velikosti „nano“. Výsledný materiál bude testován pro použití jako nosič pro cílenou dopravu léčiv.

Poděkování

Tato práce byla podpořena z projektů Studentské grantové soutěže (SGS) na Technické univerzitě v Liberci v roce 2021.

Reference

- [1] KRABICOVÁ, I., S. L. APPLETON, M. TANNOUS, G. HOTI, F. CALDERA, A. RUBIN PEDRAZZO, C. CECONE, R. CAVALLI a F. TROTTA. History of Cyclodextrin Nanosponges. *Polymers* [online]. 2020, **12**(5), 1122. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12051122
- [2] CALDERA, F., M. TANNOUS, R. CAVALLI, M. ZANETTI a F. TROTTA. Evolution of Cyclodextrin Nanosponges. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2017, **531**(2), 470–479. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2017.06.072
- [3] TIWARI, S. Mannosylated Constructs as a Platform for Cell-Specific Delivery of Bioactive Agents. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* [online]. 2018, **35**(2), 157–194. ISSN 0743-4863. Dostupné z: doi:10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.2018020313
- [4] YE, Z., Q. ZHANG, S. WANG, P. BHARATE, S. VARELA-ARAMBURU, M. LU, P. H. SEEBERGER aj. YIN. Tumour-Targeted Drug Delivery with Mannose-Functionalized Nanoparticles Self-Assembled from Amphiphilic β -Cyclodextrins. *Chemistry - A European Journal* [online]. 2016, **22**(43), 15216–15221. ISSN 09476539. Dostupné z: doi:10.1002/chem.201603294
- [5] CAVALLI, R., F. TROTTA a W. TUMIATTI. Cyclodextrin-based Nanosponges for Drug Delivery. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry* [online]. 2006, **56**(1), 209–213. ISSN 1573-1111. Dostupné z: doi:10.1007/s10847-006-9085-2