

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA  
ȘCOALA DOCTORALĂ

**TEZĂ DE DOCTORAT**

**REZUMAT**

**LIPOZOMI FUNCTIONALIZATI: NOI SISTEME DE VECTORIZARE**

**CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:**

**Prof.Univ.Dr.JOHNY NEAMTU**

**STUDENT- DOCTORAND:**

**Mondea (Rizea) Cristina Simona**

**CRAIOVA 2013**

## Cuprins

Abrevieri.....	1
Introducere.....	2
<b><u>PARTEA I: STADIUL ACTUAL AL CUNOASTERII.....</u></b>	<b>4</b>
<b>CAPITOLUL I: NOȚIUNI INTRODUCTIVE: FORME FARMACEUTICE CU ROL DE VECTORIZARE.....</b>	<b>5</b>
I.1. PRICIPIILE ACTIVE. Noțiuni generale.....	5
I.2. Transportul țintit al principiilor active –vectorizarea.....	7
I.3.LIPOZOMI.....	9
I.3.1. Generalități .....	9
I.3.2. Clasificare, metode de preparare, metode de analiză și stabilire a calității.....	9
I.3.3. Includerea principiilor active în lipozomi.....	13
I.3.4. Transportul lipozomilor în organism.....	14
I.3.5. Eficacitate și limitare în utilizarea lipozomilor.....	17
I.3.6. Domeniile de aplicabilitate a lipozomilor.....	19
I.3.7. Factori ce influențează comportamentul lipozomilor <i>in vivo</i> .....	21
<b>CAPITOLUL II: NOI SISTEME OSTEOTROPE.SINTEZE ȘI COMPARAȚII.....</b>	<b>23</b>
II.1. GENERALITĂȚI PRIVIND NOȚIUNEA DE SISTEME OSTEOTROPE.....	23
II.2. Sistemul osos.....	24
II.3. Grupări osteotrope raportate în literatură.....	25
II.4. Țintirea osului cu lipozomi funcționalizați cu grupări osteotrope.....	29

II.5. Scopul tezei de doctorat.Originalitatea tezei de doctorat.....	31
<b>CONCLUZII.....</b>	<b>33</b>
<b><u>PARTEA A II<sup>a</sup>: CONTRIBUȚII PERSONALE.....</u></b>	<b><u>36</u></b>
<b>CAPITOLUL III: PARTEA EXPERIMENTALĂ.....</b>	<b>37</b>
<b>Metode generale.....</b>	<b>37</b>
<b>SINTEZE.....</b>	<b>41</b>
<b>REZULTATE ȘI DISCUȚII.....</b>	<b>68</b>
<b>Teste .....</b>	<b>68</b>
<b>CAPITOLUL IV. REZULATATE ȘI DISCUȚII. CALEA DE SINTEZĂ A COMPUSULUI 6.....</b>	<b>73</b>
IV.1. Metoda de sinteză aleasă.....	73
IV.1.1. Sinteza acidului 13-colesteriloxi-4,7,10-trioxadodecanoic (7).....	75
IV.1.2. Sinteza acidului hidroxibisfosfonic (6).....	75
<b>CAPITOLUL V. REZULATATE ȘI DISCUȚII. CALEA DE SINTEZĂ A COMPUSULUI 10.....</b>	<b>77</b>
V.1. Metoda de sinteză aleasă.....	77
V.1.1. Sinteza acidului 1-hidroxi-(12-colesteriloxi-4,7,10-trioxa)dodecan-1,1- biscarboxilic (10).....	79

V.1.2. Sinteza compusului acid (13-colesteriloxi-5,8,11-trioxa)-2-hidroxitridecanoic (9).....	80
--	----

V.1.3. Sinteza compusului acid 12-colesteriloxi-(4,7,10-trioxadodecan)-1,1-biscarboxilic (8).....	82
--	----

<b>CAPITOLUL VI. REZULATATE ȘI DISCUȚII.SINTEZA, ANALIZA ȘI TESTAREA LIPOZOMILOR.....</b>	<b>88</b>
---	-----------

VI.1. Sinteza lipozomilor.....	88
--------------------------------	----

VI.2. Analiza lipozomilor.....	89
--------------------------------	----

VI.3. Testarea lipozomilor.....	111
---------------------------------	-----

<b>CONCLUZII ȘI PERSPECTIVE.....</b>	<b>116</b>
--------------------------------------	------------

<b>CAPITOLUL VII:CONCLUZII FINALE ȘI PERSPECTIVE.....</b>	<b>119</b>
---	------------

<b>Bibliografie.....</b>	<b>125</b>
--------------------------	------------

**Cuvinte cheie:** principii active, lipozomi, nanotehnologie, hidoxiapatită,  
afinitate

## REZUMAT

De actualitate în domeniul cercetării medicale sunt lipozomii. Formularea lor are la bază nanotehnologia. Necessitatea formulării acestora a apărut ca urmare a dorinței de a se realiza o vectorizare a principiilor active la locul de acțiune din organism.

Lucrarea de doctorat urmărește sinteza unor grupări chimice, cu care vom funcționaliza lipozomi cărora ulterior li se determină afinitatea față de hidroxiapatita din os.

Lucrarea este împărțită în două părți :

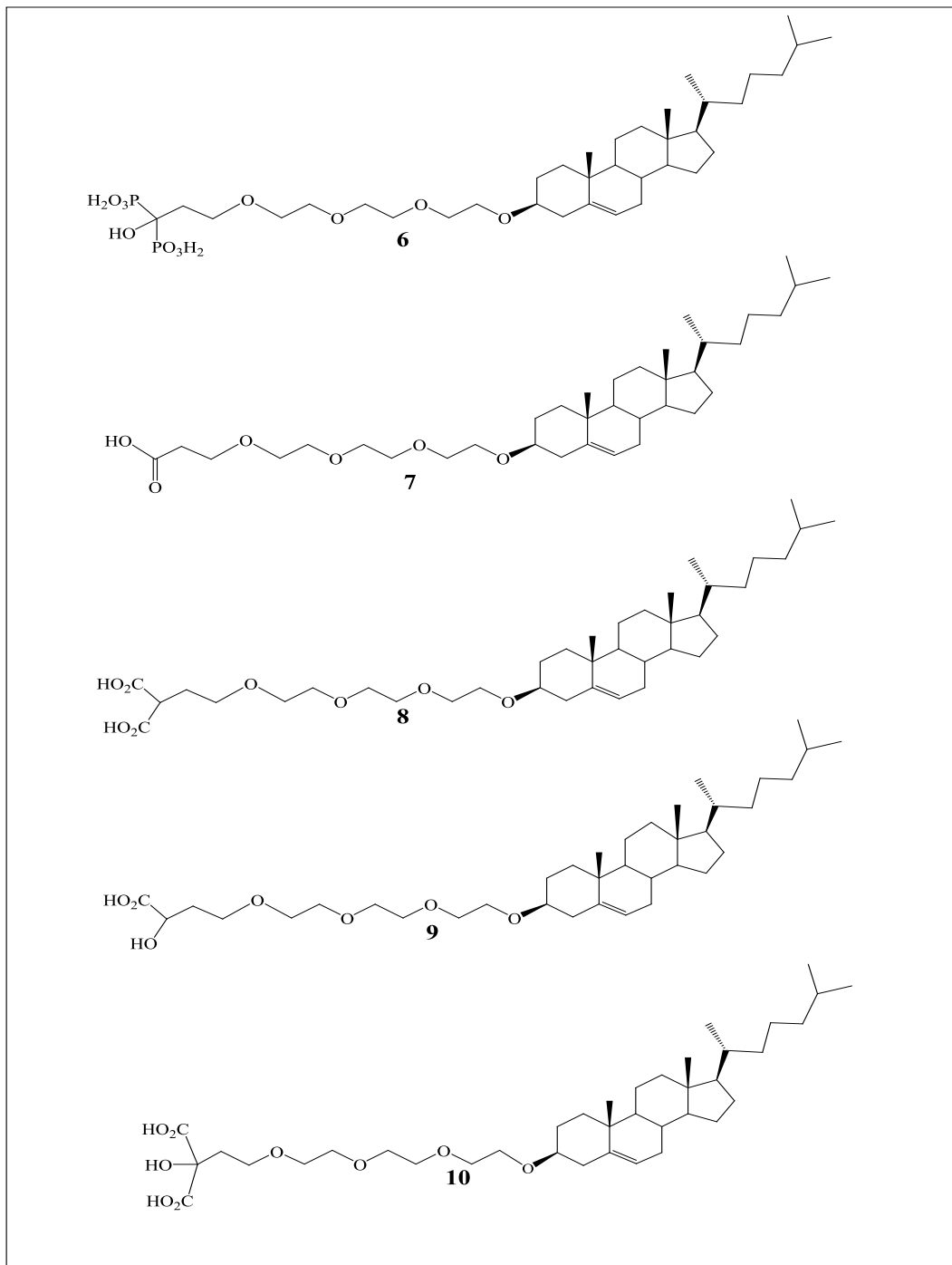
- 1. Partea întâi** conține informații cu privire la **stadiul actual al cunoașterii** și este structurată sub forma a două capitole:

**Capitolul I**, denumit **‘‘Noțiuni introductive: forme farmaceutice cu rol de vectorizare’’** cuprinde trei subcapitole. În cadrul acestora sunt prezentate informații generale cu privire la principiile active insistându-se pe o istorie a acestora și rolul lor de-a lungul timpului. De asemenea cuprind noțiuni despre procedeul de vectorizare al principiilor active către organele țintă descriindu-se transportul activ și pasiv. Formele farmaceutice cu rol de vectorizare pe care am pus accent sunt lipozomii. Informațiile care aduc cel mai mare aport la realizarea acestui capitol fac referire la lipozomi .

**Capitolul II** este intitulat **‘‘Noi sisteme osteotrope. Sinteze și comparații’’**. Odata cu începerea acestui capitol sunt oferite informații asupra scopului acestei teze de doctorat. Scopul este multiplu. Urmărim atât sinteza unor structuri chimice cu posibile proprietăți osteotrope cât și a unor lipozomi ce urmează să fie funcționalizați cu structurile chimice realizate, ca în final să efectuăm teste de determinare a afinității prin incubarea cu hidroxiapatita.

Sunt prezentate informații atât despre sistemul osos cât și despre sistemele osteotrope raportate de-a lungul timpului în literatura de specialitate.

Structurile chimice a căror sinteză constituie unul din scopurile tezei sunt prezentate în tabelul următor:



**2. Partea a doua** descrie contribuțiile personale aduse tezei și cuprinde partea experimentală și trei capitole de rezultate și discuții.

**Partea experimentală** reprezintă capitolul III al tezei, sintezele descrise în acest capitol fiind unul din scopurile lucrării de doctorat.

Sunt prezentate metodele generale utilizate în obținerea, analiza și purificarea compușilor dar și cele folosite pentru sinteza, analiza și testarea lipozomilor.

Partea de rezultate și discuții debutează cu prezentarea unor teste preliminare realizate pentru a cerceta afinitatea compușilor față de hidroxiapatită.

A fost urmărită geometria, distribuția de sarcină și potențialul electrostatic de la nivelul capetelor polare ale compușilor. Spunem că aceste capete polare sunt responsabile de afinitatea față de hidroxiapatita din os, ce le conferă în final proprietăți osteotrope lipozomilor.

**Capitolul IV** cuprinde rezultatele și discuțiile ce apar în urma sintezei compusului acid 1-hidroxi-(12-colesteriloxi-4,7,10-trioxa)dodecan-1,1-bisfosfonic (6).

În urma studierii bibliografiei, metoda aleasă pentru calea de sinteză este aceea care presupune prepararea fragmentului de acidhidroxibisfosfonic-trietilenglicol, urmată de legarea de colesterol. Grupa reprezentată de acidul hidroxibisfosfonic a fost introdusă în etapa finală. Tot în acest capitol este prezentată și sinteza acidului 13-colesteriloxi-4,7,10-trioxadodecanoic (7) compus ce pare și el să aibe structură asemănătoare compușilor ce au proprietăți osteotrope.

**Capitolul V** prezintă rezultatele și discuțiile ce survin în urma sintezei compusului acid 1 –hidroxi-(12-colesteriloxi-4,7,10-trioxa)dodecan-1,1-biscarboxilic (10). Și în acest caz introducerea grupării de acid tartronic se realizează la final. În acest capitol sunt descrise și sintezele compușilor acid (13-colesteriloxi-5,8,11-trioxa)-2-hidroxitridecanoic (9) , respectiv acid 12-colesteriloxi-(4,7,10-trioxadodecan)-1,1-biscarboxilic (8). Compusul 9 se obține în ultima etapă a sintezei , alături de compusul 10, fiind analogul decarboxilat al acestuia. Sunt prezentate în cadrul acestui capitol multitudinea de

metodele de purificare încercate până la obținerea în stare pură a compusului 9. Obținerea sa în stare pură a reprezentat un alt scop al tezei de doctorat.

Sinteza compusului 8 a apărut ca o oportunitate, structura sa este una nouă, ce nu a fost raportată până acum în literatura de specialitate, fiind confirmată în urma interpretării spectrelor prezentate și ele în acest capitol.

**Capitolul VI** prezintă sinteza, analiza și testarea lipozomilor.

Lipozomii au fost obținuți prin metoda dispersării prin agitare. Pentru a analiza lipozomii, dintre toți parametrii ce îi caracterizează, noi am determinat dimensiunea și potențialul zeta.

Testarea lipozomilor se referă la determinarea afinității față de hidroxiapatită.

Au fost testați lipozomi, ce au fost funcționalizați cu acidul 1-hidroxi-(12-colesteriloxi-4,7,10-trioxa)dodecan-1,1-bisfosfonic.

S-au realizat două teste:

1. Primul constă în determinarea afinității lipozomilor ce au aceeași concentrație, față de hidroxiapatită, a cărei concentrație este crescută de la 0 la 10 mg/ml.

2. Al doilea urmărește determinarea afinității soluțiilor lipozomale cu cantități crescânde, față de hidroxiapatită a cărei concentrație este menținută constantă la 10 mg/ml.

Afinitatea este calculată după formula  $A\% = (x-y) \times 100/x$ , unde:

A= afinitatea

x= fluorescența inițială

y= fluorescența finală

Valorile obținute pentru afinitate demonstrează capacitatea de osteotropism a moleculelor sintetizate și sunt de același ordin de măsură cu cele raportate în literatură de alți autori.



## Perspective

Teza de doctorat a urmărit:

- sinteza unor grupări chimice cu posibile proprietăți osteotrope
- sinteza de lipozomi, ce urmau să fie funcționalizați cu aceste grupări chimice
- realizarea de teste *in vitro*, pentru determinarea afinității lipozomilor funcționalizați față de HA din os

Pe parcursul tezei funcționalizarea și testarea lipozomilor nu a fost realizată decât cu una din structurile chimice obținute.

Astfel, una din perspective este reprezentată de sinteza de lipozomi funcționalizați și cu restul de molecule, urmată de testarea *in vitro* a lor.

Testele de afinitate realizate au prezentat variații ale concentrației de HA și ale cantității de soluție lipozomală.

Pe viitor se pot realiza teste cu varierea procentelor de liganzi încorporați.

Datorită rezultatelor pozitive obținute în urma testării, adică compusul testat prezintă afinitate față de HA *in vitro*, se pot realiza și teste *in vivo*.

O ultimă perspectivă și cu implicații foarte importante în domeniul medical ar fi includerea unui medicament, de exemplu doxorubicina, în lipozomi și realizarea de teste pentru a vedea dacă are efect asupra stopării dezvoltării celulelor canceroase.