

Raport stiintific sintetic

privind implementarea proiectului in perioada octombrie 2011–decembrie 2011

Acesta etapa a avut ca rezultate realizarea unei sinteze de documentare privind analiza dezvoltarii unor sisteme complexe purtatoare de medicamente bazate pe nanotuburi si stabilirea parametrilor de luat in considerare. De asemenea au fost analizate si selectate componentele potentiale ale noilor compusi (molecule de legatura, fotosensibilizatori, medicamente) si au fost stabiliti parametrii optimi ai sistemelor experimentale de spectroscopie rezolvata in timp pentru investigarea noilor compusi.

Radiatia vizibila in domeniul 600-800 nm este mult mai potrivita pentru utilizarea ca factor de declansare a eliberarii medicamentelor. Aceasta se poate utiliza atunci cand se realizeaza un complex (de tip "prodrug") intre medicament si un fotosensibilizator. Acesta absoarbe raditia optica si genereaza oxigen singlet care poate distruge moleculele de legatura intre medicament si fotosensibilizator. Moleculele de legatura care trebuie sa intre in alcatuirea complexului medicamentos trebuie sa contina grupuri foto-clivabile. Dintre acestea au fost evidentiata nitrobenzilul si dimerii de ciclodextrin care au fost utilizati pentru legarea unor medicamente antitumorale de fotosensibilizatori de tip porfirinic. O alta categorie importanta de molecule fotoclivabile care pot intra in alcatuirea unor compusi medicamentoși care se elibereaza prin activarea cu radiatie vizibila de energie mica sunt olefinele diheterosubstituite. Acestea, sub actiunea oxigenului singlet, formeaza compusi intermediari instabili de tip dioxetan, a caror legatura dubla intre atomii de carbon se rupe (Fig. . 4).

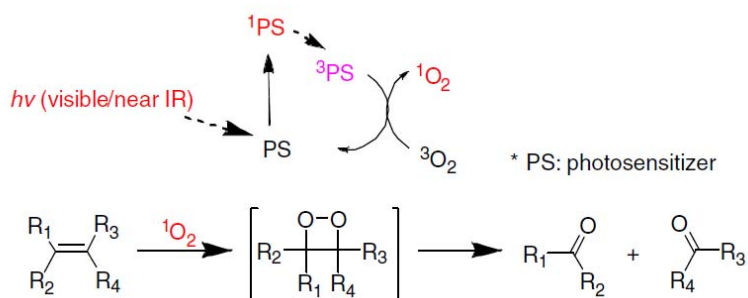


Fig. 4

Examinarea literaturii in domeniu arata ca cercetarile derulate pe plan mondial, arata avantaje potentiale majore pentru utilizarea nano-platforme, incluzand structurile CNT, mentionandu-se chiar "The Nanotech Revolution in Drug Delivery". Structurile CNT, cu stabilitate mare, cu dimensiuni aflate intr-o plaja mare de valori, cu mare capacitate de atasare a diverselor module functionale, permit, prin functionalizare adecvata, obtinerea de produsi stabili in medii cu concentratii mari de saruri si proteine, hidro-solubili si compatibili cu mediul biologic, cu o mare capacitate naturala de a patrunde prin bariere biologice (membrana celulara) si carora le pot fi atasate module de "tintire" a tumorii si medicamente. Capacitatea de a elibera compusul activ la tinta, prin stimuli exteriori controlabili imbunatateste si mai mult eficienta terapeutica a acestui tip de produs. Radiatia optica este, prin calitatile pe care le ofera in controlul precis al eliberarii de medicament, unul dintre stimulii cu perspectivele cele mai bune in utilizare.

Selectionarea particularitatilor dedicate ale sistemelor experimentale ce urmeaza a fi utilizate in etapele urmatoare, are la baza conceptia proiectului care implica interactia dintre nano-compusii fotoreactivi (cu diferite grade de complexitate a structurii) si radiatia optica

laser, incluzand caracterizarea succesiunii de procese rapide fotofizice si a speciilor tranziente generate prin reactii fotochimice, culminand cu foto-eliberarea controlata a medicamentului.

Avand in vedere acestea, datele disponibile despre precursorii noilor compusi ce urmeaza a fi dezvoltati si analizati cat si expertiza grupului de lucru, au fost stabilite urmatoarele in legatura cu parametrii sistemelor experimentale dedicate masuratorilor asupra compusilor propusi.

Sistemul experimental de masurare a fluorescentei, folosind ca sursa de excitatie un laser pulsant Nd:YAG cu triplare in frecventa (model Surelite II, Continuum, energie puls 120 mJ @ 355nm, frecventa 10Hz, durata pulsului 5 ns). Sistemul contine un modul de detectie cu dispersie spectrala (spectrograf SpectraPro 2750, Acton Research), si cuprinde ca fotodetector un fotomultiplicator rapid (H7732-10 Hamamatsu) si un element multicanal – CCD camera (ICCD – PIMAX 1024 RB, Princeton Instruments), functionand cu poarta temporala si trigerare controlata. Sistemul permite determinarea emisiei spectrale de fluorescenta, a randamentului cuantic de fluorescenta (fata de standarde acceptate IUPAC) si rezolvarea temporala a fluorescentei.

Sistemul experimental de fotoliza flash laser (tehnica pompa – proba). Se adreseaza masurarii starilor moleculare metastabile (cu timpi de viata de ordinul 0.1-100 μ sec) ale compusilor studiatii ori studierii speciilor tranziente generate de acestia prin procese fotofizice sau reactii fotochimice. Contine ca elemente cheie ca sursa pompa, o sursa de radiatie optica pulsata in domeniul nanosecundelor (laser Nd:YAG dublat in frecventa, 300mJ@532nm) si ca sursa proba, o sursa optica in unda continua de banda larga (lampa Xe L10725-01 Hamamatsu). Sistemul de detectie dedicat contine ansamblul spectrograf-camera ICCD mentionat, care permite fie rezolvarea temporala (fereastra temporala minima 2 ns si declansare controlata) fie rezolvarea spectrala (0.01 nm). Acest sistem masoara timpul de viata al starilor de triplet implicate in fotogenerarea speciilor active, al radicalilor liberi tranzienti si cinetica de evolutie a acestora, caracterizand absorbtia tranzienta, foto-bleaching-ul ori anihilarea triplet-triplet a speciilor respective.

Au fost selectati parametrii de lucru ai unui sistem de masuratori de spectroscopie Raman in scopul determinarii evolutiei structurii compusilor (via benzi vibrationale) functie de parametrii de iradiere. Sistemul experimental are ca sursa de excitare a imprastierii Stokes in probele studiate un laser cu Nd:YAG dublat in frecventa, avand energie de 300mJ@532nm. Radiatia imprastiata este colectata cu un sistem cu fibra optica si filtre Notch (532 nm) si analizata cu sistemul de dispersie si detectie alcatuit de spectrograful SP2750 si camera ICCD PIMAX 1024.

Sistemul experimental de spectroscopie optoacustica. Permite caracterizarea rezolvata in timp a energiei emise ne-radiativ (prin conversie interna si intersystem crossing) de catre compusii studiatii in urma foto-excitarii. Foloseste ca sursa laser pulsata laserul pulsant Nd:YAG si un sistem sensibil de detectie ultrasonora tip PAS 1000 (Quantum NorthWest) cu traductor piezoceramic (Panametrics V103RM 1 MHz) si rezolvare temporala a undelor ultrasonore produse de relaxarea termica a compusilor (domeniu temporal nanosecunde – microsecunde). Permite masurarea energiei starilor de triplet, randamente cuantice intersystem crossing, energii de disociere.

Sistemul experimental de masurare a speciilor active. Realizeaza masurarea directa, prin monitorarea fosforescentei specifice ($\lambda = 1270$ nm) a oxigenului singlet fotogenerat, utilizand un modul fotomultiplicator NIR tip H 10330-45, Hamamatsu. Permite rezolvarea temporala a cineticii de evolutie a populatiei de specii active si masurarea randamentului

cuantic de generare a oxigenului singlet de catre compusii studiatii (fata de standarde general acceptate). Sistemul cuprinde un modul de achizitie si procesare a datelor care include osciloscop digital rapid tip Tektronix DPO 7254 si software dedicat).

Prin corelarea datelor obtinute cu sistemele experimentale descrise se obtine dinamica la nivelul supra-molecular implicat de compusii propusi, prin completa caracterizare - fotofizica si fotochimica - si analiza proceselor intermoleculare prin care se produce eliberarea controlata a medicamentului (foto-clivarea moleculei de legatura), permitand astfel optimizarea parametrilor de influenta.

Concluzii: Studiul literaturii confirma ca structurile concepute cu CNT ca purtator de medicamente prezinta un mare potential in eficientizarea actiunii acestora. In plus eliberarea cu ajutorul radiatiei laser in vizibil a medicamentelor direct la tinta se poate realiza in mod controlat si precis. Au fost selectate componentele de baza ale structurii arhitecturale a complexilor propusi spre studiu fotofizic si fotochimic prin metode de spectroscopie laser rezolvata in timp. Acestia vor avea in componenta structuri CNT functionalizate non-covalent cu fotosensibilizatori de tip porfirinic sau ftalocianinic, medicamentele antitumorale fiind legate de fotosensibilizator prin structuri olefinice. Eliberarea medicamentului se produce prin clivarea olefinei de catre oxigenul singlet foto-generat prin excitarea cu radiatie laser in vizibil a fotosensibilizatorului. Pana in prezent, nu a fost raportata in literatura o astfel de structura. In urmatoarea etapa a proiectului vor fi realizate masuratori de spectroscopie de fluorescenta, absorbtie tranzienta si Raman pe compusi intermediari fotosensibilizatori-molecule olefinice utilizand sistemele experimentale cu parametrii stabiliti.