

STEREOKOMPLEKSOWANIE JAKO UNIKATOWA METODA MODYFIKACJI WŁAŚCIWOŚCI MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH

**(Krótki przekrój badań prowadzonych w zespole Polimerów
Reaktywnych i Supramolekularnych w Centrum Badań Molekularnych
i Makromolekularnych, Polskiej Akademii Nauk)**

STEREOCOMPLEXATION: A UNIQUE TOOL FOR TAILORING POLYMER MATERIALS PROPERTIES

(A brief overview of recent studies by the Reactive and Supramolecular
Polymers Group at the Centre of Molecular and Macromolecular Studies,
PAS)

**Marek Brzeziński,* Przemysław Kubisa, Bartłomiej
Kost, Melania Bednarek, Tadeusz Biela**

*Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych, Polskiej Akademii Nauk
ul. Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź
e-mail: marek.brzeziński@cbmm.lodz.pl

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Stereokompleksowanie

1.1. Stereokompleksowanie (R)-PLA i (S)-PLA

1.2. Metody badania stereokompleksowania

2. Badania własne

2.1. Stereokompleksowanie liniowych i gwiazdzistych PLA

2.2. Stereokompleksowe cząstki

2.2.1. Mikrocząstki otrzymane poprzez stereokompleksowanie

2.2.2. Stereokompleksowe nanocząstki jako systemy dostarczania leków

2.3. Żele i filmy polimerowe wzmocnione stereokompleksowaniem

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane



Dr hab. Marek Brzeziński, prof. CBMiM PAN uzyskał stopień doktora nauk chemicznych w 2014, tytuł rozprawy: „Modyfikowane polilaktydy zdolne do samoorganizacji. Synteza i właściwości”. W latach 2015–2017 odbył dwuletni staż w ramach stypendium Humboldta na Wolnym Uniwersytecie w Berlinie (opiekun stażu: prof. Sebastian Seiffert/prof. Marcelo Calderón). W 2021 uzyskał stopień doktora habilitowanego za zbiór osiągnięć naukowych zatytułowany: Mikro- i nano-cząstki polilaktydowe, jako potencjalne nośniki leków w terapiach przeciwnowotworowych.

Główne zainteresowania naukowe to polimerowe systemy dostarczania leków i w tej dziedzinie był lub jest kierownikiem grantów NCN (Sonata, Preludium BIS, Sonata BIS). Jest autorem 70 artykułów naukowych, cytowanych łącznie 1570 razy (indeks H = 22). Lubi jeździć na rowerze, spacerować z psem, grać w siatkówkę i czytać fantastykę.



<https://orcid.org/0000-0001-7620-4438>



Prof. dr hab. Przemysław Kubisa jest emerytowanym profesorem w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych (CBMM PAN) w Łodzi. Jego głównymi zainteresowaniami badawczymi były badania kinetyki i mechanizmów kationowej polimeryzacji z otwarciem pierścienia cyklicznych acetalu, eterów i estrów oraz polimeryzacji w cieczach jonowych, w tym polimeryzacji z przeniesieniem atomu (ATRP). Jest autorem 155 oryginalnych artykułów badawczych oraz 22 artykułów przeglądowych lub rozdziałów w książkach, cytowanych łącznie 7530 razy (indeks H = 44). W latach 1996–2011 był członkiem Wydziału Polimerów IUPAC, w tym w latach 2000–2005 jako członek rzeczywisty (Titular Member).



<https://orcid.org/0000-0001-9823-3045>



Dr Bartłomiej Kost, specjalista w dziedzinie chemii polimerów. Stopień doktora nauk chemicznych uzyskał w 2021 roku w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi na podstawie rozprawy pt. „Supramolekularne polilaktydy jako potencjalne nośniki substancji biologicznie aktywnych. Od początku swojej kariery zawodowej związany jest z Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi. Jego zainteresowania badawcze koncentrują się na syntezie i modyfikacji polimerów biodegradowalnych, chemii supramolekularnej, materiałach funkcjonalnych oraz opracowywaniu nowoczesnych nośników substancji biologicznie aktywnych. Szczególnie

miejsce w jego działalności naukowej zajmuje projektowanie polimerów o przyspieszonej degradowalności.



<https://orcid.org/0000-0002-7654-3162>



Dr hab. Melania Bednarek w latach 2000-2007 odbyła krótkoterminowe staże na Uniwersytecie w Lyngby (Dania), zaś w latach 2008-2015 realizowała wspólne projekty z grupą polimerów na Uniwersytecie w Gandawie (Belgia). Zajmuje się polimeryzacją z otwarciem pierścienia cyklicznych eterów i estrów, prowadzącą do dobrze zdefiniowanych produktów. Ostatnio jej badania koncentrują się na (bio)degradowalnych poliestrach i ich wykorzystaniu do syntezy inteligentnych materiałów, takich jak dynamiczne sieci polimerowe. Lubi podróżować i teatr.



<https://orcid.org/0000-0003-1445-9878>



Dr hab. Tadeusz Biela prof. CBMM PAN w latach 1995–96 odbył staż podoktorski na University of Southern California, USA w grupie prof. Hogen-Escha. W latach 2001–2004 odbył miesięczne pobyty w Deutsches Kunststoff-Institut w Darmstademie, w Niemczech, w grupie prof. Haralda Pasch (realizacja wspólnych projektów badawczych). Główne zainteresowania naukowe: polimeryzacja cyklicznych estrów alifatycznych, polimery silnie rozgałęzione i supramolekularne, polimery biozgodne i biodegradowalne, materiały polimerowe do zastosowań biomedycznych, zastosowanie metody SEC-MALLS w analizie polimerów. Zainteresowania: kolekcjonowanie sztuki.



<https://orcid.org/0000-0003-3898-5098>

ABSTRACT

Stereocomplexation between enantiomeric counterparts is a versatile tool for tailoring the properties of polymer-based materials. The Reactive and Supramolecular Polymers (RSP) group has developed an approach to control polylactide self-assembly by leveraging various supramolecular interactions. In this work, the stereocomplexation between enantiomeric PLLA and PDLA was enhanced via end-group interactions, yielding novel material morphologies and properties. Our primary focus was the preparation of micro- and nano-particles for targeted drug delivery.

We elucidated the conditions under which PLLA and PDLA spontaneously form microparticles in various solvents, including THF, 1,4-dioxane, or their mixtures. These particles were subsequently loaded with vitamins or anticancer drugs as biologically active ingredients. Alternatively, a microfluidic method was employed to prepare stereocomplexed microparticles with stimuli-responsive properties. In parallel, we investigated the therapeutic efficacy of stereocomplexed nanoparticles—obtained via nanoprecipitation or spray-drying—against cancer cells and HIV-infected cells. Finally, the thermal stability of the resulting stereocomplexes was enhanced by incorporating star-shaped polylactides or polylactides grafted onto the surface of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs). Additionally, reversible gels in N-methylpyrrolidone were achieved by mixing enantiomeric star-shaped PLLA and PDLA.

Building on these principles, we design micro- and nanoparticles with enhanced stability and stimuli-responsive properties for on-demand cargo release. This approach serves as a robust platform for engineering a new class of polymeric materials for versatile biomedical applications.

Keywords: stereocomplex, polylactide, microparticles, nanoparticles, polymeric materials

Słowa kluczowe: stereokompleks, polilaktyd, mikrocząstki, nanocząstki, materiały polimerowe

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

PLA – polilaktyd
ROP – ang. ring opening polymerization, polimeryzacja z otwarciem pierścienia
FTIR – spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera
WAXD – szerokokątowa dyfrakcja rentgenowska
DSC – skaningowa kalorymetria różnicowa
AP – 2-aminopirydyna
IC – izocysteina
U – urydyna
UPy – 2-ureido-4[1H]-pirymidynon
UPy-OH – 2-ureido-4[1H]-pirymidynon
PTMC – poli(węglan trimetyleny)
PCL – poli(ϵ -kaprolakton)
TMC – węglan trimetyleny
CL – ϵ -kaprolakton
GA- kwas glikolowy (kwas 2-hydroksyoctowy)
EG – glikol etylenowy
BHPA – kwas 2,2-bis(hydroksymetylo)propionowy
DIOX- 1,4-dioksan
NPs – nanocząstki
NBD – nitrobenzoksadiazol
PBS – bufor fosforanowy
EDS – spektroskopia rentgenowska z dyspersją energii
THF – tetrahydrofuran
XPS – rentgenowska spektroskopia fotoelektronów
AT – atropina
 β -CD – β -cyklodekstryna
M β -CD – metylowana - β -cyklodekstryna
PC3 – komórki raka prostaty
HeLa – komórki raka szyjki macicy
Q – kwercetyna
SEM – skaningowa mikroskopia elektronowa
AFM – mikroskopia sił atomowych
TBARS – wskaźnik poziomu substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym
A459 – komórki raka płuc
K562 – rak przewlekłej białaczki szpikowej
TAF – fumaran alafenamidu tenofowiru
AGS – komórki raka żołądka
CHI – chitozan
Jurkat E6 – komórki ludzkich limfocytów typu T
sc-PLA – streokompleks PLA
¹H ROESY NMR – spektroskopia NOE w rotującym układzie współrzędnych (z ang. Rotation Frame Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)
DOX – dokсорubicyna
(S)-PLA/(R)-PLA/CHI – nanocząstki złożone z sc-PLA oraz CHI

NMP – N-metylopirolidon

PLA-OH – PLA zakończony grupami hydroksylowymi

PLA-COOH – PLA zakończony grupami karboksylowymi

MWCNTs – wielościenne nanorurki węglowe

MWCNT-g-PLA – PLA zaszczipiony na MWCNT

RAFT – polimeryzacji z odwracalnym addycyjno-fragmentacyjnym przeniesieniem łańcucha

WPROWADZENIE

Zespół Polimerów Reaktywnych i Supramolekularnych powstał w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk w 2014 roku. W zespole realizowane są projekty badawcze ukierunkowane na modyfikację właściwości materiałów polimerowych: (1) poprzez wprowadzanie do łańcucha makrocząsteczek ugrupowań zdolnych do oddziaływań supramolekularnych, (2) poprzez otrzymanie sieci polimerowych zawierających zarówno odwracalne, jak i nieodwracalne wiązania chemiczne. Ma to na celu kontrolę uwalniania substancji aktywnych, sterowanie szybkością ich degradacji czy też otrzymanie materiałów samonaprawiających. Najdłużej rozwijaną tematyką badawczą w zespole jest synteza poliestrów z ukierunkowaniem na otrzymywanie polilaktydu (PLA). Nowatorskim podejściem w modyfikacji PLA było połączenie dwóch lub więcej oddziaływań supramolekularnych w jednym materiale polimerowym. Wśród tych oddziaływań stereokompleksowanie stanowi rodzaj klamry tematycznej, która – przynajmniej w dużej mierze – spaja większość realizowanych projektów badawczych. W początkowym etapie badań skupiono się na zrozumieniu wpływu tych oddziaływań na finalne właściwości materiałów, jednakże z czasem skupiono się na ich wykorzystaniu w kontrolowanym uwalnianiu różnego rodzaju substancji aktywnych z zaprojektowanych mikro- i nano-cząstek polimerowych. Tego typu materiały supramolekularne znajdują się w centrum zainteresowania wielu grup badawczych na całym świecie. Zastosowanie stereokompleksowania PLA oraz wprowadzenie dodatkowych oddziaływań supramolekularnych doprowadziło do możliwości kontrolowanej degradacji i hydrolizy takich materiałów, co pozwala na kontrolowane uwalnianie substancji aktywnych. Można przypuszczać, że materiały te mogą stanowić uniwersalne nośniki leków.

W ramach niniejszego artykułu przedstawione zostały metody syntezy enancjomerycznych PLA o różnej architekturze i dodatkowo wyposażonych w odpowiednie ugrupowania supramolekularne, które pozwalają na sterowanie morfologią i właściwościami otrzymanych z nich materiałów.

1. STEREOKOMPLEKSOWANIE

Stereokompleksy polimerowe są wynikiem stereoselektywnych oddziaływań pomiędzy dwoma komplementarnymi stereoregularnymi łańcuchami polimerowymi. Wytworzone w ten sposób kompleksy wykazują właściwości fizyczne różniące się od właściwości wyjściowych stereoregularnych polimerów. Siłą napędową tworzenia polimerowych kompleksów są słabe oddziaływania pomiędzy jednostkami powtarzalnymi występującymi w obu typach makro-

cząsteczek. Jakkolwiek indywidualne oddziaływania są słabe, ich zwielokrotnienie sprawia, że składniki polimerowych kompleksów mogą być stosunkowo silnie ze sobą związane. Stereokompleksy powstają w wyniku oddziaływań pomiędzy makrocząsteczkami o przeciwnej chiralności (S- i R-) lub makrocząsteczkami izo- i syndiotaktycznymi.

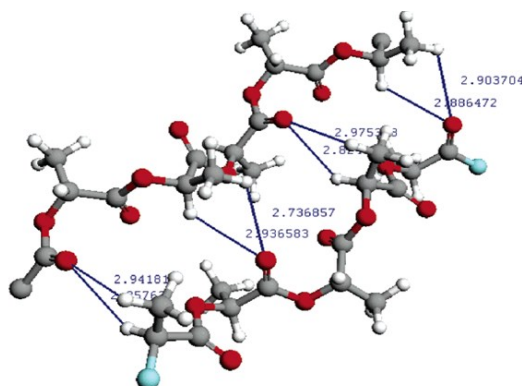
Typowymi przypadkami układów stereokompleksowych są stereokompleksy izotaktycznego i syndiotaktycznego poli(metakrylanu metylu) oraz poli(S-laktydu)((S)-PLA) i poli(R-laktydu)((R)-PLA). Warunkiem koniecznym wystąpienia zjawiska taktyczności jest istnienie centrum stereogenicznego w każdym merze polimeru. W polimerze izotaktycznym podstawniki są ułożone we wszystkich merach jednakowo, tzn. występują zawsze po jednej stronie głównego łańcucha, natomiast w polimerze syndiotaktycznym podstawniki są ułożone ściśle naprzemiennie. W sytuacji, gdy nie ma tego rodzaju regularności, polimer jest ataktyczny.

Stereokompleksy izotaktycznego i syndiotaktycznego poli(metakrylanu metylu) zostały odkryte w 1958 r. przez Foxa i współpracowników [1] z kolei Hideto Tsuji w 1987 r. odkrył powstawanie stereokompleksów pomiędzy enancjomerycznymi łańcuchami polimerów (R)-PLA i (S)-PLA [2]. Jakkolwiek istnieje stosunkowo duża grupa polimerów mogących tworzyć stereokompleksy, np. niektóre poliestry, poliwęglany czy poliimidy [3], nie mają one większego praktycznego zastosowania ze względu na to, że trudno jest otrzymać enancjomerycznie czyste makrocząsteczki. Obecnie największe zainteresowanie budzą stereokompleksy polilaktydu ze względu na dobrą dostępność obu enancjomerycznych monomerów oraz ich biogodność.

1.1. STEREOKOMPLEKSOWANIE (R)-PLA i (S)-PLA

Laktyd, cykliczny monomer stosowany w polimeryzacji z otwarciem pierścienia (ROP) prowadzącej do polilaktydu, zawiera w cząsteczce dwa asymetryczne atomy węgla. Istnieją zatem trzy różne diastereoizomery tego monomeru: (R,R) – laktyd, (S,S) – laktyd oraz izomer mezo (R,S) – laktyd. Polimeryzacja poszczególnych diastereoizomerów prowadzi w dwóch pierwszych przypadkach do izotaktycznych, optycznie czynnych częściowo krystalicznych polilaktydów, odpowiednio do (R)-PLA (PDLA) i (S)-PLA (PLLA), zaś w trzecim przypadku do ataktycznego, racemicznego polilaktydu amorficznego. Wykazano, że równomolowa mieszanina izotaktycznych, enancjomerycznych polilaktydów o przeciwnych konfiguracjach prowadzi do stereokompleksu, który charakteryzuje się wyższą o ~ 50 °C temperaturą topnienia ($T_m = 230$ °C), w porównaniu z T_m tworzących go składników ($T_m = 180$ °C)[4]. Początkowo sądzono, że za tworzenie stereokompleksów odpowiedzialne są oddziaływania van der Waalsa między

dipolami grup karbonylowych [5]. Wykazano jednak, że rzeczywistą siłą napędową powstawania stereokompleksów PLA jest tworzenie słabych wielocentrowych wiązań wodorowych $C-H\cdots O-C$ pomiędzy grupami metylowymi i metinowymi a grupami karbonylowymi. Energia tych wiązań jest niższa niż w przypadku typowych wiązań wodorowych np. $N-H\cdots O-C$ lub $O-H\cdots O$ i wynosi 1–2 kcal/mol ($\sim 4\text{--}8$ kJ/mol) [6]. Oddziaływania pomiędzy grupami metylowymi (oraz metinowymi) a karbonylowymi są silniejsze w przypadku makrocząsteczek o przeciwnej chiralności niż w przypadku tych o identycznej konfiguracji. Ta różnica w energii oddziaływania sprawia, że termodynamicznie uprzywilejowane jest powstawanie stereokompleksów (tworzonych przez enancjomery S- i R-), a nie homokompleksów składających się z łańcuchów o tej samej chiralności. W swoim wyczerpującym artykule przeglądowym H. Tsuji [7], powołując się na pracę nad widmami spektroskopii w podczerwieni (FTIR), potwierdza, że oddziaływanie pomiędzy łańcuchami w stereokompleksach polilaktydu jest wynikiem wiązania wodorowego $CH_3\cdots O$ i to stanowi siłę napędową tworzenia stereokompleksu. Niezwykle istotny jest fakt, że tworzenie stereokompleksów korzystnie wpływa na właściwości termiczne i mechaniczne otrzymanych materiałów, a także zwiększa odporność na hydrolizę. Stymuluje to ich biomedyczne zastosowania, np. rusztowania w inżynierii tkankowej i w konstrukcji nośników leków o kontrolowanej szybkości dozowania [8]. Duże zainteresowanie materiałami opartymi na stereokompleksie PLA zaowocowało również intensywnymi badaniami nad układami o bardziej złożonej architekturze makrocząsteczek. W literaturze szeroko opisano m.in. stereokompleksy polilaktydów gwiazdzistych o różnej liczbie ramion, a także kopolimerów szczepionych, cyklicznych czy szczotkowych [9].



Rysunek 1. Oddziaływania pomiędzy enancjomerycznymi (R)-PLA (PDLA) i (S)-PLA (PLLA) (grafika z pracy: *Macromolecules* 38 (2005) 8362–8371).

Figure 1. The interactions between (R)-PLA (PDLA) and (S)-PLA (PLLA) enantiomeric chains (image from: *Macromolecules* 38 (2005) 8362–8371).

1.2. METODY BADANIA STEREOKOMPLEKSOWANIA

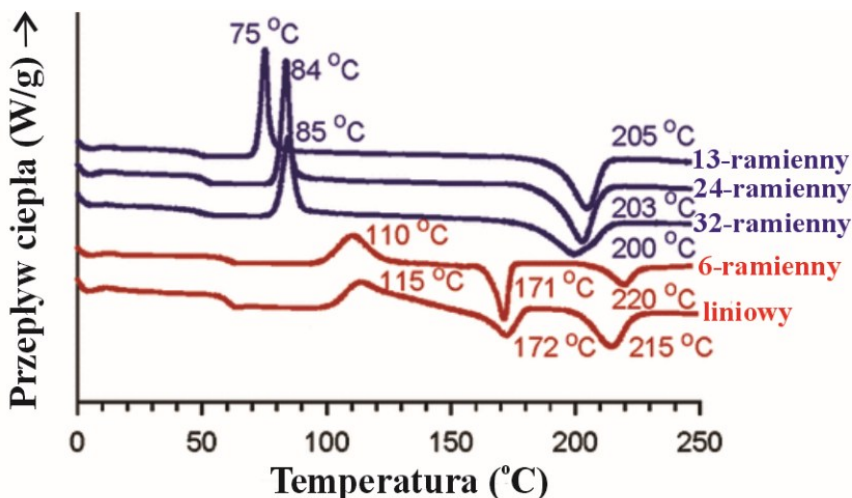
W celu potwierdzenia utworzenia stereokompleksu PLA metodą pierwszego wyboru jest spektroskopia w podczerwieni, w której po otrzymaniu stereokompleksu pojawia się charakterystyczne pasmo przy $908\text{--}909\text{ cm}^{-1}$ pochodzące od β -helisy stereokompleksu. Drugą najczęściej stosowaną metodą jest skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC), ze względu na fakt, że temperatura topnienia stereokompleksu jest o około $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ wyższa niż temperatura topnienia enancjomerycznych (R)-PLA i (S)-PLA. Dodatkowo stosuje się szerokokątową dyfrakcję rentgenowską (WAXD), ponieważ stereokompleks PLA charakteryzuje się pikami dyfrakcyjnymi przy $2\theta = 12, 21$ oraz 24° , co odróżnia go od enancjomerycznych PLA, które wykazują piki dyfrakcji przy $2\theta = 15, 17, 19$ oraz $22,5^{\circ}$ [6]. Metody te pozwalają również stwierdzić obecność homokrystalitów w badanym stereokompleksie, czyli jednorodność otrzymanego materiału. Rzadziej stosuje się spektroskopię magnetycznego rezonansu jądowego (^{13}C NMR) w ciele stałym, w której obserwuje się przesunięcie pików grupy karbonylowej od $169,7\text{ ppm}$ do $173,3\text{ ppm}$ (krystality stereokompleksu PLA (sc-PLA))[10].

2. BADANIA WŁASNE

2.1. STEREOKOMPLEKSOWANIE LINIOWYCH I GWIAŹDZISTYCH PLA

Opracowanie metod otrzymywania polilaktydów o strukturze gwiaździstej z wykorzystaniem wielofunkcyjnych inicjatorów polimeryzacji LA, takich jak np. dipentaerytrytol czy dendrymerów, pozwoliło wykorzystać je do syntezy stereokompleksów o nieliniowej strukturze. W badaniach nad stereokompleksami polilaktydów gwiaździstych wykorzystano oddzielnie zsyntetyzowane poli(S)- i poli(R)-laktydy gwiaździste o liczbie ramion 6, 13, 24 i 32. Zsyntetyzowano również stereokompleksy mieszane polilaktydów gwiaździstych i liniowych, zbudowane z 6-ramiennego (S)-PLA i liniowego (R)-PLA oraz 13-ramiennego (S)-PLA i liniowego (R)-PLA. Stereokompleksy otrzymywano przez zmieszanie równomolowych roztworów enancjomerycznych polilaktydów w dichlorometanie, a następnie powolne wytrącenie uzyskanej mieszaniny do metanolu lub przez bezpośrednie zmieszanie stopionych komponentów. Stereokompleksy analizowano metodą DSC. Jak pokazano na Rys. 2, trwałość termiczna uzyskanych stereokompleksów zależy od struktury PLA, z którego są zbudowane. Na termogramach DSC większości badanych próbek zarejestrowano wyłącznie dwa efekty termiczne: pik egzotermiczny zimnej krystalizacji (w zakresie $75\text{--}85\text{ }^{\circ}\text{C}$) oraz pik topnienia stereokompleksu (w temperaturze $200\text{--}205\text{ }^{\circ}\text{C}$). Wyjątek stanowiły makrocząsteczki liniowe i 6-ramienne, dla których na krzywej DSC pojawił się

dodatkowy pik topnienia krystalitów homochiralnych w temperaturze 171 i 172 °C. Również, w przypadku stereokompleksów otrzymanych przez bezpośrednie mieszanie w stopie w temperaturze 220 °C (tj. o 50 °C powyżej T_m wyjściowych składników (R)-PLA i (S)-PLA), układy o liczbie ramion równej lub większej niż 13 wykazywały już tylko jeden pik topnienia [11].



Rysunek 2. Termogramy DSC stereokompleksów gwiaździstych PLA o różnej liczbie ramion. Opis wykorzystanych enancjomerycznych PLA bezpośrednio na rysunku. Drugi przebieg w DSC po stopieniu próbek i wygrzewaniu ich przez 2 min w temp. 250 °C, a następnie szybkim schłodzeniu do temperatury pokojowej w celu zachowania struktury amorficznej. Szybkość ogrzewania wynosiła 10 °C min⁻¹, szybkość chłodzenia 20 °C min⁻¹ (grafika z pracy: *Macromolecules* 39 (2006) 3710–3713).

Figure 2. DSC thermograms of star-shaped PLA stereocomplexes with different numbers of arms. The characteristics of the enantiomeric PLA samples used are provided directly in the figure. Thermograms were recorded during the second DSC heating run after melting the samples, annealing them at 250 °C for 2 min, and subsequently quenching them to room temperature to preserve the amorphous structure. The heating rate was 10 °C·min⁻¹, while the cooling rate exceeded 20 °C·min⁻¹ (image from: *Macromolecules* 39 (2006) 3710–3713).

Powód zwiększonej stabilności stereokompleksów może wynikać z istnienia szczególnej geometrii oddziaływań pomiędzy ramionami w makrocząsteczkach gwiaździstych. W makrocząsteczkach gwiaździstych ramiona tworzące stereokompleksy mogą oddziaływać głównie w sposób antyrównoległy, ze względu na architekturę polimerów. Natomiast równoległe oddziaływanie ramion struktur gwiaździstych jest trudniejsze z powodu przeszkód sterycznych. Jeśli liczba ramion jest dostateczna (>6), obserwujemy wzrost ich stabilności termicznej. Cantow i współpracownicy obliczyli energie oddziaływań (E_{int}) pomiędzy liniowymi łańcuchami PLA (helisami) w komórce elementarnej. Wyniki tych obliczeń wyniosły: dla helis ułożonych równolegle $E_{int} = -119$ kcal·mol⁻¹, a dla antyrównoległych $E_{int} = -111$ kcal·mol⁻¹ [5]. Dane te wskazują, że dla obu sposobów

upakowania energia oddziaływań jest większa niż w przypadku kryształów enancjomerycznych (złożonych z homochiralnych makrocząsteczek), dla których $E_{\text{int}} = -96 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$. Według tych obliczeń helisy równoległe oddziałują nieco silniej niż antyrównoległe. To nie zgadza się z hipotezą wyjaśniającą przyczynę większej stabilności struktur gwiazdzistych. Warto zauważyć, że obliczenia te, wskazujące jedynie kilkuprocentową różnicę między dwoma strukturami liniowymi, mogą jednak nie w pełni odnosić się do struktur gwiazdzistych. Aby upewnić się, że obliczenia energii oddziaływań w stereokompleksach równoległych i antyrównoległych są poprawne, przeprowadzono badania na liniowych modelowych układach, w których łańcuchy oligomerycznych (S)-PLA i (R)-PLA były wyposażone w sondy fluorescencyjne, odpowiednio w pozycjach „głowa” i „ogon” [12].

Obserwowano wzrost fluorescencji w obu wypadkach tworzenia się stereokompleksów. Oznacza to, że sondy w tworzących się stereokompleksach są po tej samej stronie łańcuchów (tworzą ekscimery). Zatem stereokompleksy PLA równoległe i antyrównoległe tworzą się z takim samym prawdopodobieństwem, co w zasadzie potwierdza wyniki otrzymane przez Cantova [5]. Niestety powtórzenie takiego eksperymentu z sondami fluoroscencyjnymi dla PLA gwiazdzistych, jest niemożliwe ze względów sterycznych. Można natomiast przypuścić, że stopienie stereokompleksu gwiazdzistego o liczbie ramion większej niż 6 nie prowadzi do pełnej izotropizacji składników stopu. Na skutek kooperatywnych oddziaływań wielu ramion gwiazd polilaktydowych, tworzą one w stanie stopionym nie w pełni zdysocjowane agregaty („prekursory” krystalizacji) złożone z kilku makrocząsteczek. Duża liczba ramion uczestniczących w tworzeniu takiego stereokompleksowego agregatu sprawia, że nawet przy dynamicznym zrywaniu się i ponownym tworzeniu wiązań wodorowych w stanie stopionym, zawsze jakaś liczba makrocząsteczek utrzymywana jest w stanie zagregowanym. Stereokompleksy liniowych polilaktydów wykazują większą odporność na hydrolityczną degradację w porównaniu ze strukturami homochiralnymi [13]. Zwiększenie tej odporności jest spodziewane również w stereokompleksach polilaktydów gwiazdzistych. Możliwość kontrolowania szybkości degradacji poprzez użycie stereokompleksów sc-PLA o odpowiedniej strukturze jest bardzo pożądana wszędzie tam, gdzie polilaktyd stanowi materiał, np. na implanty lub “rusztowania” (ang. scaffolds), które mają bioresorbować się w organizmie po zadanym czasie. Skład materiału może decydować o czasie resorpcji.

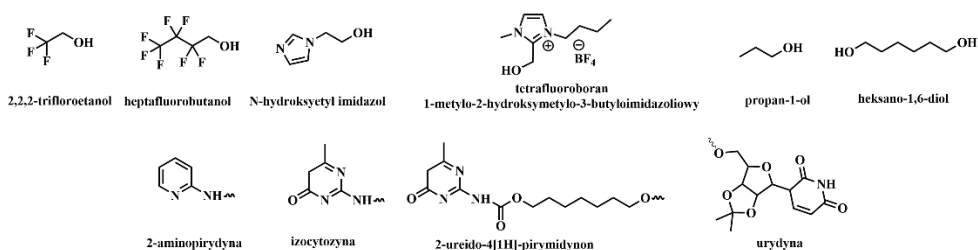
2.2. STEREOKOMPLEKSOWE CZĄSTKI

2.2.1. Mikrocząstki otrzymane poprzez stereokompleksowanie

Po raz pierwszy mikrocząstki z sc-PLA otrzymał H. Tsuji [14] poprzez zmieszanie roztworów (R)-PLA i (S)-PLA w acetonitrylu. W naszym zespole skupiono się na wpływie grup końcowych makrocząsteczek na samoorganizację enancjomerycznych PLA podczas tworzenia mikrocząstek w różnych rozpuszczalnikach organicznych. Na Rys. 3 przedstawiono grupy końcowe wprowadzone do struktury PLA i w tym rozdziale omówiony zostanie ich wpływ na morfologię i właściwości mikrocząstek sc-PLA. W pierwszej pracy wykazano, że morfologia cząstek różni się znacząco w zależności od rodzaju grupy końcowej (hydroksylowej, butoksylowej, trifluorometoksylowej, heptafluorobutoksylowej, oksyetyloimidazolowej, oraz pochodzącej od imidazoliowej cieczy jonowej) oraz zastosowanego rozpuszczalnika i stężenia [15]. Regularne sferyczne mikrocząstki otrzymano w 1,4-dioksanie (DIOX) z enancjomerycznych PLA funkcjonalizowanych pochodną cieczy jonowej, co sugeruje, że oddziaływania jonowe sprzyjają utworzeniu tego typu morfologii cząstek. W kolejnym etapie postanowiono zbadać wpływ architektury makrocząsteczki na samoorganizację stereokompleksowych mikrocząstek. W tym celu wykorzystano sześcioramienny (S-)-PLA i liniowy (R)-PLA wyposażony w grupy pochodzące od cieczy jonowej. Poprzez prostą zmianę jednego ze składników mieszaniny stereokompleksującej, udało się po raz pierwszy otrzymać kryształy koloidalne mikrocząstek [16], czyli mikrocząstki ułożone w regularną, periodyczną strukturę, jak przedstawiono na Rys. 4. Dodatkowo, niewielka zmiana grup końcowych gwiaździstego polilaktydu, z hydroksylowych na karboksylowe, skutkowała zmianą wielkości cząstek sc-PLA z kilku mikrometrów na 400 nm [17], jednakże cząstki te, pomimo uporządkowanej struktury, nie utworzyły kryształów koloidalnych. Za pomocą techniki AFM wykazano, że składnikami budulcowymi mikrosfer sc-PLA są nanoziarna o wielkości około 30 nm, które następnie agregują do odpowiedniej wielkości i podlegają sedymentacji. Postulowano, że mechanizm nukleacji i wzrostu jest odpowiedni do opisu obserwowanego zjawiska.

W kolejnym etapie badania makrocząsteczki PLA sfunkcjonalizowano ugrupowaniami zdolnymi do tworzenia wiązań wodorowych: 2-aminopirydyną (AP), izocytozyną (IC), urydyną (U) oraz 2-ureido-4[1H]-pirymidynonem (UPy) [18]. Szczególnie istotna była modyfikacja grupami UPy zdolnymi do tworzenia czterokrotnych wiązań wodorowych i szeroko stosowanych do poprawy właściwości materiałów polimerowych [19–21]. Po raz pierwszy wbudowano to ugrupowanie do struktury PLA poprzez zastosowanie odpowiedniego inicjatora (UPy-OH) na jedną

stronę łańcucha oraz poprzez sprzężanie odpowiednim diizocyjanianem na oba końce łańcucha. Makrocząsteczki (S)-PLA i (R)-PLA z ugrupowaniem UPy na jednym końcu łańcucha spontanicznie tworzyły stereokompleksowe mikrosfery w 1,4-dioksanie, ale poprzez ich wytrącenie z roztworu *N*-metylo-2-pirolidonu do metanolu otrzymano najbardziej jednorodne mikrocząstki. Z kolei wkraplanie (S)-PLA i (R)-PLA z grupami UPy na obu końcach łańcuchów rozpuszczonych w chloroformie do metanolu prowadziło do otrzymania materiału o morfologii fibrylarnej [18].

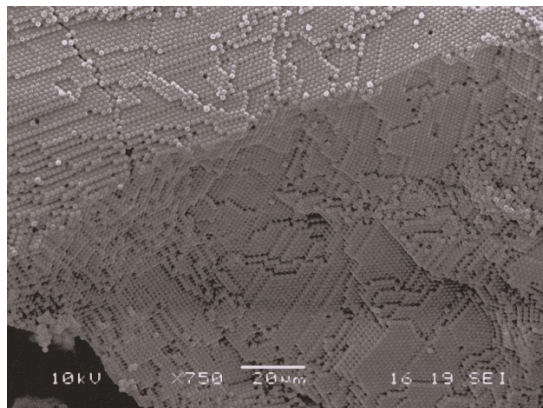


Rysunek 3. Rodzaje grup końcowych zastosowanych do modyfikacji struktury PLA.

Figure 3. The type of end groups used for the modification of the PLA structure.

Kontynuacją tych badań była synteza kopolimerów laktydu z węglanem trimetyleny (TMC) oraz ϵ -kaprolaktonem (CL) z ugrupowaniami UPy na obu końcach łańcucha. Otrzymano je poprzez reakcję hydroksylowych grup końcowych poli(węglanu trimetyleny) (PTMC) oraz poli(ϵ -kaprolaktonu) (PCL) z wcześniej otrzymanym PLA z grupą UPy na jednym końcu łańcucha i izocyjanianową na drugim końcu łańcucha, która umożliwia sprzężanie z PTMC i PCL. W przypadku makrocząsteczek z TMC zarówno kopolimery z grupami UPy, jak i ich stereokompleksy tworzyły mikrocząstki po zastosowaniu odwrotnego nanowytrącania (do roztworu (S)-PLA i (R)-PLA w 1,4-dioksanie dodawano powoli metanol). Sytuacja zmieniała się jednak diametralnie, gdy w kopolimerze blok TMC zastąpiono CL; ze względu na ich krystalizację i separację fazową nie utworzyły się cząstki sferyczne, tylko cząstki o morfologii płatkowej.

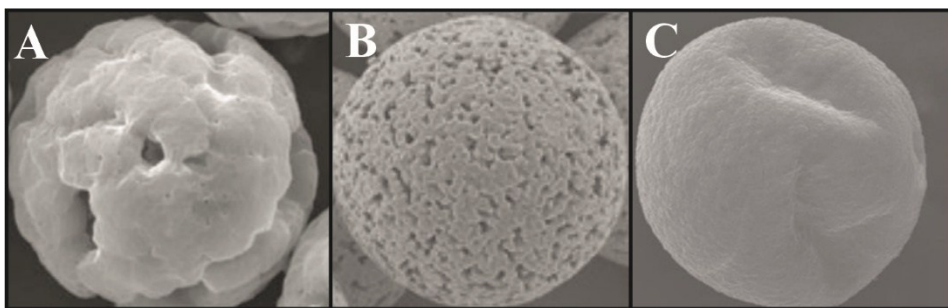
Do modyfikacji morfologii cząstek sc-PLA zastosowano również metodę polimeryzacji matrycowej (templatowej). Polegała ona na polimeryzacji (R)-LA w obecności (S)-PLA z zablokowanymi grupami końcowymi, co miało na celu zapobieganie powstawaniu polimerów stereoblokowych [22]. Polimeryzację prowadzono w tetrahydrofuranie w 80 °C w próżni przez 24 h. Stosując te warunki, udało się otrzymać mikrocząstki o strukturze płatka w płatku, w których grubość jednego płatka wynosiła około 900 nm, a średnica cząstek wynosiła około 5 μ m.



Rysunek 4. Zdjęcie SEM kryształów koloidalnych sc-PLA (opisane w pracy: *Macromol. Chem. Phys.* 215 (2014) 27–31).

Figure 4. SEM microphotographs of sc-PLA colloidal crystals (described in: *Macromol. Chem. Phys.* 215 (2014) 27–31).

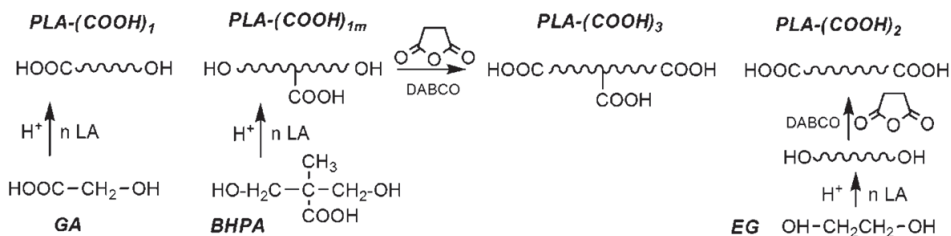
Metodę mikroprzepływów wykorzystano do otrzymania kropli emulsji pojedynczej oraz podwójnej z polilaktydów funkcjonalizowanych ugrupowaniami zdolnymi do tworzenia oddziaływań supramolekularnych, z których następnie usunięto rozpuszczalnik organiczny w celu otrzymania mikrocząstek o średnicy między 40 a 160 μm . Za pomocą tej metody otrzymano mikrocząstki stereokompleksowe o relatywnie regularnej strukturze [23] oraz puste w środku [24] zbudowane z polilaktydów funkcjonalizowanych ugrupowaniem UPy (Rys. 5). Z kolei zastosowanie polilaktydów z ugrupowaniami terpirydynowymi i kompleksowanie ich odpowiednimi jonami metali (Ni^{2+} , Co^{2+} oraz Fe^{2+}) prowadziło do otrzymania porowatych mikrosfer [25], jak pokazano na Rys. 5. W otrzymanych mikrosferach zamknięto modelowy związek fluorescencyjny nitrobenzoksadiazol (NBD), a jego uwalnianie w PBS nie różniło się znacząco pomiędzy regularnymi a porowatymi strukturami i wynosiło około 10 % w ciągu kilku lub kilkunastu dni. Nieznacznie szybciej związek ten uwalniał się w kwasowym pH ze względu na czułość ugrupowań UPy na zmiany pH. Najciekawszy efekt zaobserwowano dla mikrosfer pustych w środku, które kurczyły się w silnie zasadowym środowisku, powodując uwalnianie modelowego związku w ciągu 10 minut, podczas gdy cząstki te były stabilne w środowisku kwasowym. Postulowano, że jest to związane z deprotonacją grup końcowych UPy lub ewentualną degradacją matrycy polimerowej.



Rysunek 5. Mikrosfery sc-PLA otrzymane metodą mikroprzepływów: (A) o regularnej strukturze, (B) porowate, (C) puste w środku. (grafika na podstawie: Mater. Lett. 161 (2015) 471-475; Macromol. Chem. Phys. 218 (2017) 1700018, Macromol. Rapid Commun. 38 (2017) 1600790)

Figure 5. Microspheres of sc-PLA prepared via microfluidic technique (A) with regular structure, (B) porous, (C) hollow. (image based on: Mater. Lett. 161 (2015) 471-475; Macromol. Chem. Phys. 218 (2017) 1700018, Macromol. Rapid Commun. 38 (2017) 1600790)

Tworzenie mikrocząstek sc-PLA w obecności jonów metali wykorzystano dodatkowo do enkapsulacji wybranych witamin, co wskazuje na możliwość ich zastosowania w jednoczesnej suplementacji witaminami i mikroelementami. W tym celu zsyntetyzowano polilaktydy zawierające różną liczbę grup karboksylowych rozmieszczonych wzdłuż łańcucha. W wyniku kationowej polimeryzacji S-LA i R-LA inicjowanej kwasami takimi jak kwas glikolowy (GA) i kwas 2,2-bis-(hydroksyetylo)propionowy (BHPA), a także glikolem etylenowym (EG) i późniejszej funkcjonalizacji bezwodnikiem kwasu bursztynowego otrzymano polilaktydy ((S)-PLA i (R)-PLA) o niewielkich ciężarach cząsteczkowych ($M_n = 2000 - 4300$), w różny sposób podstawione grupami karboksylowymi [26] jak to przedstawiono na Rys. 6.

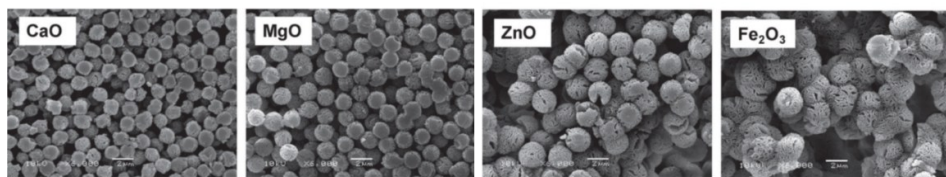


Rysunek 6. Schemat syntezy PLAs zawierających różną liczbę grup karboksylowych w wyniku kationowej polimeryzacji z otwarciem pierścienia oraz dalszej funkcjonalizacji (grafika z pracy: Polym. Int. 66 (2017) 108–118).

Figure 6. Schematic representation of the synthesis of PLAs containing carboxyl end groups by cationic ROP and post-polymerization functionalization (image from: Polym. Int. 66 (2017) 108–118).

Otrzymane (S)-PLA i (R)-PLA użyto do stereokompleksowania poprzez zmieszanie roztworów obu stereoizomerów o analogicznej budowie w obecności tlenków metali (CaO, MgO, ZnO, Fe₂O₃); mieszanie zawiesin przez pewien czas umożliwiło jonizację tlenków i związanie jonów metali z grupami karboksylowymi

obecnymi w łańcuchu PLA (na końcu lub w środku). Wprowadzanie jonów metali w celu uzyskania lepszej stabilności nano(mikro)cząstek wykorzystanych do enkapsulacji jest często stosowane w przypadku metod emulsyjnych ich wytwarzania z PLA [27]. Po określonym czasie ze zmieszanych roztworów wypadały osady stereokompleksów składające się ze sferycznych mikrocząstek o średnicy 0,7–3 μm , jak pokazano na Rys. 7. Średnica i postać mikrocząstek były zróżnicowane w zależności od użytego tlenku metalu, a także zależały od liczby grup karboksylowych związanych z PLA, nadmiaru jonów metali w stosunku do tych grup, a także od użytego rozpuszczalnika. Tak jak można by się spodziewać, PLA zawierający większą liczbę grup karboksylowych oddziaływał silniej z jonami metali, skutkując zmniejszeniem średnicy mikrocząstek (od 1,5 μm dla PLA-(COOH)₁ do 0,7 μm dla PLA-(COOH)₃) otrzymanych wobec CaO z roztworu tetrahydrofuranu (THF). Rozmiar cząstek wzrastał również ze wzrostem promienia jonu metalu użytego do stereokompleksowania. Obecność jonów metali wewnątrz mikrocząstek potwierdzono metodą EDS, która również umożliwiła oszacowanie ich zawartości na 2,5–6 % wag. oraz równomierne rozproszenie wewnątrz cząstki.



Rysunek 7. Zdjęcia SEM mikrocząstek otrzymanych w wyniku stereokompleksowania PLA-(COOH)₁ ($M_n \sim 2000$) z roztworu THF w obecności tlenków metali; $[\text{MtO}]/[-\text{COOH}]=1$ (grafika z pracy: Polym. Int. 67 (2018) 1523–1534).

Figure 7. SEM pictures of PLA-(COOH)₁ ($M_n \sim 2000$) stereocomplex microparticles prepared from THF solutions in the presence of metal oxides: $[\text{MtO}]/[-\text{COOH}]=1$ (image from: Polym. Int. 67 (2018) 1523–1534).

Regularne sferyczne mikrocząstki zawierające wewnątrz jony metali wykorzystano dalej do enkapsulacji hydrofobowych witamin D₃, A i E [28]. Przeprowadzono enkapsulację wymienionych witamin w obecności modelowego CaO jako źródła jonów wapnia. W badaniach enkapsulacji do stereokompleksowania zastosowano PLA z jedną grupą karboksylową oraz równomolowy stosunek $[\text{CaO}]/[-\text{COOH}]$. Uzyskano załadowanie 5,6–22% w przypadku witaminy D₃, 8–9% w przypadku witaminy E i 12% załadunku witaminą A (na podstawie widm ¹H NMR). Analiza załadowanych cząstek metodą XPS pozwoliła stwierdzić, że witaminy ulokowane są głównie na ich powierzchni. Stabilność cząstek z załadowanymi witaminami D₃ i A można przypisać oddziaływaniom jonów wapnia z podwójnymi wiązaniami obecnymi w cząsteczkach tych witamin, które to oddziaływania potwierdzono metodą spektroskopii UV. Badanie uwalniania witamin w 37 °C,

w środowisku buforu o pH = 7.4 pokazało, że w ciągu 4 tygodni eksperymentu uwolniło się 60% początkowej ilości witaminy D₃ oraz 35% początkowej ilości witaminy E. Uwalnianie zachodziło bez początkowego wyrzutu, co jest istotne dla dozowania środków farmaceutycznych i następowało raczej na skutek degradacji matrycy PLA [28], a nie dyfuzji witaminy do środowiska wodnego.

Mikrocząstki sc-PLA zostały opracowane jako nośnik ekstraktów z *Salvia cadmica*. Cząstki załadowane ekstraktem o wielkości 1-2 µm charakteryzowały się dobrą stabilnością w szerokim zakresie pH (5.5, 7.4 i 8.0) oraz biozgonnością *in vivo* na modelu kawy domowej. Ekstrakty z *Salvia cadmica* uwalniane z mikrocząstek zwiększały aktywność fagocytarną makrofagów osłabioną przez *Helicobacter pylori*, a także neutralizowały indukowaną przez ten patogen nadmierną produkcję cytokiny prozapalnej TNF-α oraz interleukiny 10 (IL-10). Ze względu na obiecujące właściwości immunomodulujące, mikrocząstki sc-PLA z ekstraktami z *S. cadmica* są rekomendowane do dalszych badań *in vivo* na modelu świnek morskich zakażonych *Helicobacter pylori* [29].

Mikrocząstki sc-PLA o rozmiarze 2 µm wykorzystano również do enkapsulacji atropiny (AT), czyli związku stosowanego do spowolnienia progresji krótkowzroczności u dzieci [30]. W celu silnego związania atropiny otrzymano gwiaździste PLA z rdzeniem z dipentaerytryolu oraz z β-cyklodekstryny (β-CD). Zdolność β-CD do tworzenia kompleksów inkluzyjnych z AT została potwierdzona metodą ¹H ROESY NMR. Po otrzymaniu mikrocząstek sc-PLA zbadano uwalnianie AT w buforze o fizjologicznym pH. Wykazano, że obecność β-CD w strukturze PLA znacząco obniżyła szybkość uwalniania AT z otrzymanych cząstek w porównaniu z cząstkami zbudowanymi z PLA z rdzeniem z dipentaerytryolu (13 % versus 8 % po 20 dniach, przy jednoczesnym obniżeniu wyrzutu leku po pierwszym dniu). Ponadto zbadano również cytotoksyczność względem komórek PC3 oraz HeLa i zaobserwowano, że w zależności od stężenia niektóre formułacje były cytotoksyczne dla komórek, jednakże przeżywalność komórek dla cząstek z PLA z rdzeniem z β-CD z zamkniętą atropiną w znakomitej większości przekraczała 70 %, co spełnia normę ISO dla systemów dostarczania leków.

Z kolei kwercetyna (Q) posiada nie tylko właściwości przeciwutleniające, ale również wspomaga wzrost roślin. Postanowiono wykorzystać tę cechę, zamykając ją w mikrocząstkach sc-PLA. Miało to na celu zapewnienie jej równomiernego uwalniania do gleby, co pozwala na obniżenie stresu biotycznego i abiotycznego u roślin [31]. Rośliną modelową w badaniach był zielony groszek, a matrycą do otrzymania cząstek stanowiły PLA zainicjowane na heksano-1,6-diolu, a otrzymane mikrocząstki różniły się zawartością Q. Rozmiar mikrocząstek był największy dla tych z największą zawartością Q, a ponadto dodatek tej substancji aktywnej powodował zmianę morfologii cząstek z jednorodnej z małą ilością porów na wysoce porowatą. Z tak otrzymanych mikrosfer uwalniało się między 28 a 31%

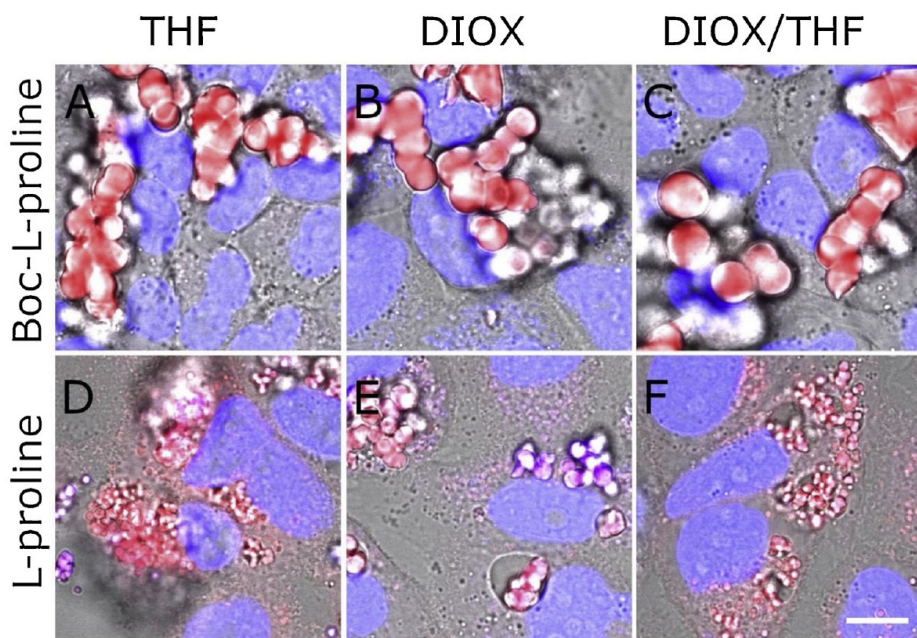
Q przez 18 dni, co było spowodowane ich porowatą strukturą. Dzięki zastosowaniu otrzymanych mikrocząstek sc-PLA w trakcie wzrostu modelowej rośliny poddanej stresowi solnemu udało się stymulować jej rozwój. Efektywność zastosowanych mikrocząstek została potwierdzona obniżeniem wartości wskaźnika TBARS, który pokazuje zawartość produktów wtórnego utleniania lipidów.

Ze względu na rosnące zachorowania na raka płuc poszukuje się nowych rozwiązań, aby dostarczać leki przeciwnowotworowe bezpośrednio w okolice nowotworu. Stosuje się w tym celu mikrocząstki o wielkości kilku μm , ale najbardziej efektywne są cząstki o wielkości w granicach 0,5 do 1 μm ponieważ są w stanie dotrzeć do pęcherzyków płucnych albo dodatkowo może zachodzić ich fagocytoza przez makrofagi pęcherzykowe [32]. W celu uzyskania kontroli nad wielkością mikrocząstek sc-PLA oraz zwiększenia wydajności enkapsulacji doksorubicyny (DOX) zastosowano dwa rodzaje grup końcowych z zablokowaną i odblokowaną L-proliną oraz proces tworzenia cząstek przeprowadzono w THF, 1,4-dioksanie oraz w ich mieszaninie [33]. W rezultacie zmiany tych wszystkich parametrów udało się otrzymać mikrocząstki załadowane DOX o wielkości od 0.5 do 3 μm dla mikrocząstek z odblokowaną grupą L-proliny (dla tych z zablokowaną grupą L-proliny wielkość mieściła się w granicach od 5 do 10 μm). Wielkość uzyskanych mikrocząstek znacząco wpłynęła na szybkość uwalniania DOX, a wartości te wahały się od 41 do 81% dla mikrocząstek sc-PLA zbudowanych z PLA z odblokowaną grupą L-proliny, podczas gdy od 5 do 10% uwalniało się dla tych z zablokowaną grupą L-proliny. Z kolei procent uwolnionej DOX miał znaczący wpływ na efektywność względem komórek raka płuc (A459) i największe obniżenie ich żywotności obserwowano dla najmniejszych cząstek otrzymanych w THF lub jego mieszaninie z DIOX. Dodatkowo mikrocząstki o wielkości zbliżonej do 1 μm oddziaływały z błoną komórkową i wnikały do cytoplazmy, podczas gdy większe mikrocząstki praktycznie nie oddziaływały na komórki raka płuc, jak pokazano na Rys. 8.

2.2.2. Stereokompleksowe nanocząstki jako systemy dostarczania leków

W tym rozdziale omówione zostaną stereokompleksowe nanocząstki jako systemy kontrolowanego dostarczania leków, ich synteza oraz charakterystyka. W pracach naszego zespołu skupiono się na wpływie stereokompleksowania na szybkość uwalniania substancji biologicznie aktywnych, takich jak doksorubicyna czy fumaran alafenamidu tenofowiru (TAF), oraz na poprawę ich enkapsulacji wewnątrz polimerowych nanocząstek. W pierwszych pracach opracowano wydajny sposób enkapsulacji doksorubicyny wewnątrz polilaktydowych nanocząstek zawierających rdzeń β -CD lub wewnątrz kopolimerów polilaktydu z blokową bądź odblokowaną poliproliną. W pierwszym przypadku w wyniku zastosowania częściowo metylo-

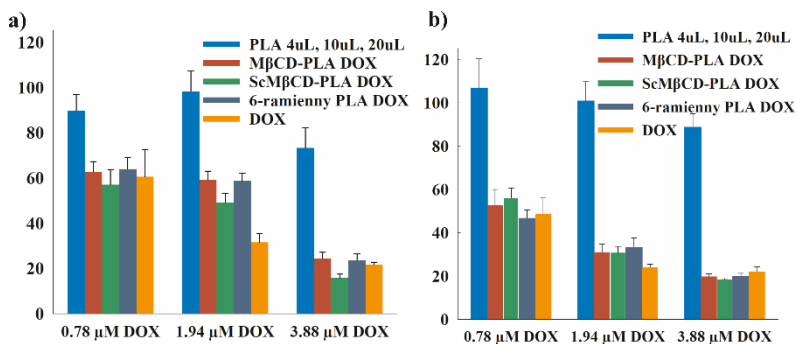
wanej β -cyklodekstryny ($M\beta$ -CD) otrzymano serie gwiazdzistych (S) - i (R) - PLA, które w dalszym etapie zostały wykorzystane jako matryce do otrzymywania polimerowych nanocząstek. Obecność rdzenia cyklodekstryny korzystnie wpłynęła na stopień enkapsulacji DOX wewnątrz nanocząstek, a dodatkowo synergiczny efekt stereokompleksowania spowodował jej bardziej kontrolowane uwalnianie. Wykazano, że zastosowanie tych dwóch słabych interakcji – tworzenie kompleksu inkluzyjnego między $M\beta$ -CD a stereokompleksowanie – zwiększyło skuteczność terapii przeciwnowotworowej, powodując 80% redukcję żywotności komórek raka jajnika oraz komórek raka przewlekłej białaczki szpikowej w ciągu 48 godzin [34], jak pokazano na Rys. 9.



Rysunek 8. Obrazy uzyskane za pomocą konfokalnego mikroskopu skaningowego żywych komórek A549 po 24 godzinach inkubacji z mikrosferami o różnych rozmiarach zawierającymi DOX (grafika z pracy: *Colloids Surf. B Biointerfaces* 184 (2019) 110544).

Figure 8. Confocal laser scanning microscopy images of live A549 cells after 24 h of incubation with the differently formulated DOX-loaded microspheres (image from: *Colloids Surf. B Biointerfaces* 184 (2019) 110544).

Enkapsulacja doksorubicyny wewnątrz kopolimerów blokowych laktydu i proliny doprowadziła do otrzymania nanocząstek pH-czułych. Wprowadzenie proliny do makrocząsteczek polilaktydu miało na celu spowodowanie dezorganizacji nanocząstek w obrębie lekko kwasowego pH komórki nowotworowej i selektywne uwalnianie leku. W tym celu zsyntetyzowano kopolimer S- lub R-LA oraz L-proliny poprzez połączenie polimeryzacji z otwarciem pierścienia i polimeryzacji z odwracalnym addycyjno-fragmentacyjnym przeniesieniem łańcucha (RAFT).



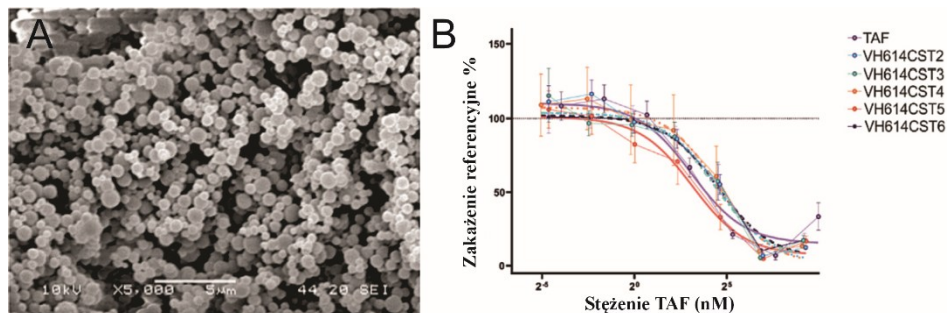
Rysunek 9. Żywotność komórek po 48 godzinach inkubacji w obecności nanocząstek załadowanych doksorubicyną (DOX-loaded NPs) z komórkami HeLa (po lewej) oraz K562 (po prawej) (grafika z pracy: Eur. Polym. J. 120 (2019) 109271).

Figure 9. Cell viability after incubation of DOX-loaded NPs with HeLa (left) and K562 (right) cells after 48 h (image from: Eur. Polym. J. 120 (2019) 109271).

Kopolimery te wykorzystano do przygotowania enancjomerycznych i stereokompleksowanych nanocząstek, które charakteryzowały się średnią wielkością około 160–210 nm. Wyniki badań uwalniania leku wykazały, że dzięki obecności bloku poli(L-proliny) nanocząstki charakteryzowały się wrażliwością na pH w kwasowym środowisku guza, jednakże zjawisko to było mniej wyraźne w przypadku nanocząstek stabilizowanych stereokompleksowaniem. Ponadto, nanocząstki zawierające DOX wykazały skuteczne działanie przeciwko komórkom raka żołądka (HeLa) oraz raka nabłonka jelita grubego (Lovo), niemniej jednak ich cytotoksyczność silnie zależy od składu nanonośnika. Wysoka stabilność nanocząstek, wynikająca z supramolekularnego usieciowania makrocząsteczek PLA, sprawiła, że stereokompleksowe nanonośniki lepiej wnikały do wnętrza komórek nowotworowych. Połączenie czułości na zmiany pH oraz stereokompleksowania wskazuje, że nanocząstki przygotowane z kopolimerów laktydu oraz proliny mogą być zastosowane w leczeniu różnych typów nowotworów [35].

Terapia antyretrowirusowa stanowi podstawową metodę leczenia zakażenia wirusem HIV i zespołu AIDS, jednak wiąże się z wieloma ograniczeniami, takimi jak niska biodostępność leków, cytotoksyczność oraz szybkie usuwanie nanocząstek przez nerki. W celu ograniczenia wyżej wymienionych wad leki mogą być enkapsulowane wewnątrz biokompatybilnych polimerowych nanonośników. W tej pracy skupiono się na przygotowaniu nanocząstek zbudowanych z mieszaniny enancjomerycznych (S)-PLA i (R)-PLA oraz chitozanu (CHI) metodą suszenia rozpyłowego (spray-drying). Tak otrzymane nanocząstki załadowano lekiem antyretrowirusowym – TAF. Proces suszenia rozpyłowego został zoptymalizowany tak, aby uzyskać sferyczne nanocząstki o gładkiej powierzchni, co zostało

potwierdzone za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej, jak pokazano na Rys. 10. Ostatecznie wykazano, że otrzymane formułacje nie wykazują toksyczności, a ich skuteczność przeciwwirusową oceniono z wykorzystaniem linii komórkowej ludzkich limfocytów typu T (Jurkat E6) zakażonych wirusem HIV [36]. W celu wydłużenia uwalniania TAF, otrzymane polilaktydowo-chitozanowe nanocząstki o średnicy około 91 nm wprowadzone do oleożeli złożonych z oleju sezamowego oraz etylocelulozy.



Rysunek 10. Zdjęcia z mikroskopu elektronowego nanocząstek PLLA/PDLA/CHI (A), Aktywność przeciwwirusowa nanocząstek PLLA/PDLA/CHI w hodowli komórek T (B) (grafika z pracy: Advanced Powder Technology 34 (2023) 104205)

Figure 10. Scanning electron microscopic pictures of PLLA/PDLA/CHI (A) NPs, Antiretroviral activity of PLLA/PDLA/CHI NPs in T cell culture (B) (image from: Advanced Powder Technology 34 (2023) 104205).

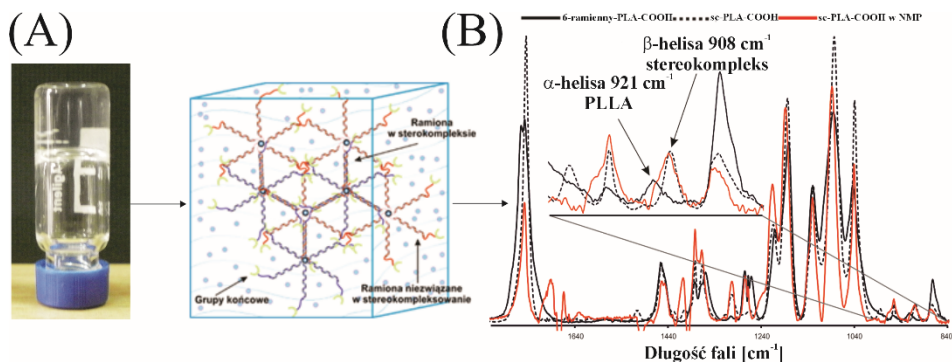
Dodatkowo układ wzbogacono o komercyjnie dostępne nanocząstki tlenku glinu o rozmiarze 78 nm w celu poprawy właściwości iniekcyjnych formułacji. Zaproponowany stereokompleksowy system dostarczania TAF wykazał przedłużone i kontrolowane uwalnianie leku przez okres do 12 dni w buforze fosforanowym o pH 7,4. Co istotne, oleożele zawierające nanocząstki załadowane przeciwwirusowym lekiem wykazywały lepsze przenikanie *ex vivo* przez tkankę. Uzyskane wyniki potwierdzają, że nanonośniki (S)-PLA/(R)-PLA/CHI oraz nanonośniki (S)-PLA/(R)-PLA/CHI załadowane wewnątrz oleożeli mają duży potencjał jako systemy dostarczania leków i dlatego też formułacje te mogą stanowić odpowiednie systemy dostarczania leków przeciw wirusowi HIV o przedłużonym uwalnianiu [37].

2.3. ŻELE I FILMY POLIMEROWE WZMOCNIONE STEREOKOMPLEKSOWANIEM

Badając samoorganizację gwiazdzistych (S)-PLA w rozpuszczalnikach organicznych, opracowano warunki, w których otrzymano żele w N-metylopirolidynie (NMP) [38]. NMP nie był wcześniej wykorzystywany jako medium stereokompleksujące, a wszystkie wcześniejsze prace pokazywały, że sc-PLA są nierozpuszczalne w większości rozpuszczalników i spontanicznie wytrącają

się w postaci mikrocząstek. Do badań wykorzystano polimery gwiaździste o sześciu ramionach wyposażone w grupy końcowe –OH (6-ramienny-PLA-OH) oraz w grupy końcowe –COOH (6-ramienny-PLA-COOH). W postaci enancjomerycznej wykazywały one umiarkowane zdolności do żelowania, a żele pojawiały się przy stężeniach roztworów około 12 % dla próbek 6-ramiennego PLA-OH. Po zmieszaniu roztworów enancjomerów (S)-PLA i (R)-PLA nie pojawiała się zmętnienie, a po około 4 godzinach próbka całkowicie żelowała. W celu potwierdzenia, że otrzymany materiał żelowy jest stereokompleksem, próbkę żelu osuszono i przeanalizowano jego właściwości termiczne w DSC oraz wykonano widma FTIR. Obydwie analizy potwierdziły powstanie stereokompleksu, a analiza SEM potwierdziła powstanie mikrocząstek sc-PLA, które w zależności od grup końcowych enancjomerycznych PLA tworzyły regularne lub zagregowane cząstki. Zbadano również żele w trakcie ich tworzenia. Widma FTIR wykazały absorpcję promieniowania IR w pasmie 908 cm^{-1} , które jest pasmem absorpcyjnym dla drgań szkieletowych β -helisy sc-PLA (Rys. 11 (B)), co wykazuje, że stereokompleks obecny jest już w otrzymanym żelu. Ponadto, zmierzone lepkości żeli były prawie dwukrotnie większe dla polimeru z grupami –COOH, osiągając wartość około 35 Pa/s, w porównaniu z żelami z polimeru z grupami –OH, około 20 Pa/s. Temperatura przejścia zolu w żel stereokompleksowego oscylowała w przedziale 100 – 103 °C dla układu, w którym makrocząsteczki PLA sfunkcjonalizowane były grupami karboksylowymi. Żele stereokompleksowe wyposażone w grupy –OH zaczynały płynąć w przedziale temperatur 79 – 83 °C. Co ważne, układ żelujący zapewniał całkowitą odwracalność, zachowując postać stereokompleksu po ponownym zżelowaniu [39].

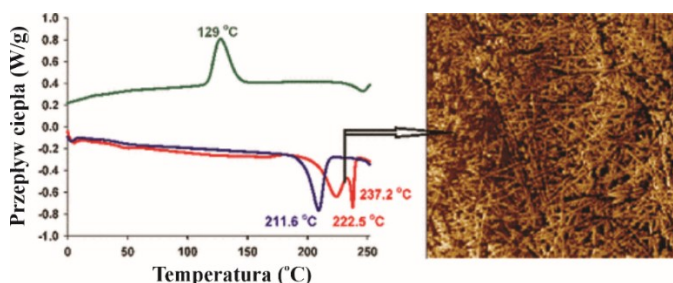
W żelu stereokompleksowym wszystkie rodzaje oddziaływań międzycząsteczkowych muszą brać udział w jego formowaniu, jak pokazano na Rys. 11 (A) ważny jest zarówno wpływ grup końcowych, jak i oddziaływania pomiędzy łańcuchami (S)-PLA i (R)-PLA. W celu poprawy stabilności termicznej sc-PLA zaproponowano zastosowanie wielościennych nanorurek węglowych (MWCNTs). W przeciwieństwie do standardowych nanokompozytów, do których dodaje się nanonapełniacze, MWCNTs modyfikowane związkami zakończonymi pierwszorzędowymi grupami –OH zastosowano jako inicjatory polimeryzacji z otwarciem pierścienia (ROP) enancjomerycznych S- i R-laktydów w masie w temperaturze 130 °C. Zawartość procentowa MWCNT w końcowych stereokompleksach wynosiła około 1% wag.



Rysunek 11. (A) Schematyczne przedstawienie żelu stereokompleksowego w NMP, widma FT-IR enancjomeru PLA; ksero-żelu stereokompleksu PLA oraz (B) widmo IR żelu stereokompleksowego w NMP (grafika z pracy: Macromol. Chem. Phys. 219 (2018) 1700607).

Figure 11. (A) Schematic representation of the stereocomplex gel in NMP, FT-IR spectra of the PLA enantiomer, PLA stereocomplex xerogel and (B) the IR spectrum of the stereocomplex gel in NMP (images from: Macromol. Chem. Phys. 219 (2018) 1700607).

Stereokompleksy PLA przygotowano z równomolowych mieszanin (S)-PLA i (R)-PLA zaszczipionych na MWCNTs (MWCNT-g-PLA), zarówno poprzez wytrącanie z roztworu, jak i, po raz pierwszy, w postaci folii poprzez powolne odparowywanie rozpuszczalnika. Otrzymane stereokompleksy wykazywały niezwykle wysokie temperatury topnienia w okolicach 230°C, a także entalpie topnienia zbliżone do wartości szacowanych dla stereokrystalitów o 100-procentowej krystaliczności. Krystalizacja stereokompleksów po stopieniu była, co nietypowe, całkowicie odwracalna i przebiegała bez tworzenia homochiralnych krystalitów, a to potwierdziło ich wysoką stabilność termiczną. W przypadku prostego dodania MWCNTs do równomolowej mieszaniny wielkocząsteczkowych (S)-PLA i (R)-PLA obserwowaliśmy powstanie homokrystalitów. Interesująca była obserwacja za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM) w foliach stereokompleksowych otrzymanych z MWCNT-g-PLA, w których zaobserwowano struktury typu shish-kebab (szaszłyk), jak pokazano na Rys.12 [40].



Rysunek 12. Termogramy DSC oraz zdjęcie AFM pokazujące strukturę shish-kebaba w otrzymanych foliach sc-PLA (grafika z pracy: Macromolecules 45 (2012) 8714–8721).

Figure 12. DSC thermograms and AFM pictures of shish-kebab morphology of sc-PLA thin films (images from: Macromolecules 45 (2012) 8714–8721).

UWAGI KOŃCOWE

W tym krótkim przeglądzie omówione są prace badawcze prowadzone w zespole Polimerów Reaktywnych i Supramolekularnych. Nasze prace skupiały się głównie wokół tematyki poprawy stabilności otrzymanych materiałów oraz ich zastosowania jako nośników leków. Jednakże, ze względu na rosnące zainteresowanie materiałami opartymi na biodegradowalnym PLA, badania naukowe skupiają się również na poprawie właściwości materiałów codziennego użytku „wzmocnionych” stereokompleksowaniem [41,42]. W 2018 roku firma Total Corbion PLA ogłosiła, że posiada technologie wytwarzania stereokompleksu PLA, a otrzymany materiał nosi nazwę Luminy® PLA. Pojawiają się też doniesienia o produktach firm chińskich czy niemieckich. Naszym zdaniem, otworzy to w przyszłości możliwość komercyjnego zastosowania materiałów opartych na sc-PLA. Jednocześnie rosnące zainteresowanie tematyką stereokompleksów PLA potwierdziło właściwy wybór tematyki badawczej przez nasz Zespół oraz nasz zauważalny wkład w jej rozwój.

PODZIĘKOWANIE

Uzyskanie opisanych wyżej osiągnięć naukowych Zespołu Polimerów Reaktywnych i Supramolekularnych byłoby niemożliwe bez wsparcia finansowego projektów ze środków zewnętrznych: „Supramolekularne struktury liniowych i gwiazdzistych polilaktydów oraz ich stereokompleksy poprzez oddziaływania funkcjonalizowanych grup końcowych ("lepkich końców"). Synteza i relacje między strukturą i właściwościami”, grant NCN, OPUS, DEC-2013/09/B/ST5/03616; „Mikrocząstki stereokompleksów polilaktydu zawierające jony metali i ich wykorzystanie do uwalniania substancji czynnych farmakologicznie”, grant NCN, OPUS 6, UMO-2013/11/B/ST5/01618; „Inteligentne nanocząstki na bazie kopolimerów i stereokompleksów polilaktydu jako potencjalne nośniki związków biologicznie aktywnych”, grant NCN, SONATA 12, DEC-016/23/D/ST5/02458, „Polymer microgel capsules from supramolecular polylactide networks”, stypendium i grant badawczy fundacji Alexandra Humboldta, POL 1159727 STP, „Anti-HIV drug-laden Chitosan-Polylactide composite nanoparticle as Long-acting injectable drug delivery system: In-vitro and in-vivo evaluation”, ULAM, NAWA, PPN/ULM/2020/1/00161/U/00001. Dziękujemy również wszystkim pracownikom, którzy mieli swój wkład w powstanie tych wyników badań.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] T. G. Fox, B. S. Garrett, W. E. Goode, Serge Gratch, J. F. KIncaid, Aldenlee Spell, J. D. Stroupe, Crystalline polymers of methyl methacrylate, *J. Am. Chem. Soc.* 80 (1958) 1768–1769. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- [2] Y. Ikada, K. Jamshidi, H. Tsuji, S.H. Hyon, Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactides), *Macromolecules* 20 (1987) 904–906. <https://doi.org/doi.org/10.1021/ma00170a034>.
- [3] G. Tutoni, M.L. Becker, Underexplored Stereocomplex Polymeric Scaffolds with Improved Thermal and Mechanical Properties, *Macromolecules* 53 (2020) 10303–10314. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.0c01468>.

- [4] H. Tsuji, S.H. Hyon, Y. Ikada, Stereocomplex Formation between Enantiomeric Poly(lactic acid)s. 5. Calorimetric and Morphological Studies on the Stereocomplex Formed in Acetonitrile Solution, *Macromolecules* 25 (1992) 2940–2946. <https://doi.org/10.1021/ma00037a024>.
- [5] D. Brizzolara, H.J. Cantow, K. Diederichs, E. Keller, A.J. Domb, Mechanism of the stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactide)s, *Macromolecules* 29 (1996) 191–197. <https://doi.org/10.1021/ma951144e>.
- [6] J.R. Sarasua, N.L. Rodriguez, A.L. Arraiza, E. Meaurio, Stereoselective crystallization and specific interactions in polylactides, *Macromolecules* 38 (2005) 8362–8371. <https://doi.org/10.1021/ma051266z>.
- [7] H. Tsuji, Poly(lactide) stereocomplexes: Formation, structure, properties, degradation, and applications, *Macromol. Biosci.* 5 (2005) 569–597. <https://doi.org/10.1002/mabi.200500062>.
- [8] M. Brzeziński, T. Biela, Micro- and nanostructures of polylactide stereocomplexes and their biomedical applications, *Polym. Int.* 64 (2015) 1667–1675. <https://doi.org/10.1002/pi.4961>.
- [9] R.M. Michell, V. Ladelta, E. Da Silva, A.J. Müller, N. Hadjichristidis, Poly(lactic acid) stereocomplexes based molecular architectures: Synthesis and crystallization, *Prog. Polym. Sci.* 146 (2023) 101742. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2023.101742>.
- [10] H. Tsuji, F. Horii, M. Nakagawa, Y. Ikada, H. Odani, R. Kitamaru, Stereocomplex Formation between Enantiomeric Poly(lactic acid)s. 7. Phase Structure of the Stereocomplex Crystallized from a Dilute Acetonitrile Solution As Studied by High-Resolution Solid-State ¹³C NMR Spectroscopy, *Macromolecules* (1992) 25 (16) 4114–4118. <https://doi.org/10.1021/ma00042a011>.
- [11] T. Biela, A. Duda, S. Penczek, Enhanced Melt Stability of Star-Shaped Stereocomplexes As Compared with Linear Stereocomplexes, *Macromolecules* 39 (2006) 3710–3713. <https://doi.org/10.1021/ma060264r>.
- [12] M. Danko, P. Hrdlovič, M. Brzezinski, A. Duda, T. Biela, Real-time monitoring of stereocomplex formation of poly(L-lactide) and poly(D-lactide) decorated with a pyrene derivative as a fluorescence probe, *Polymer (Guildf.)* 156 (2018) 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2018.09.041>.
- [13] S.R. Andersson, M. Hakkarainen, S. Inkinen, A. Södergård, A.C. Albertsson, Customizing the hydrolytic degradation rate of stereocomplex PLA through different PDLA architectures, *Biomacromolecules* 13 (2012) 1212–1222. <https://doi.org/10.1021/bm300196h>.
- [14] H. Tsuji, S.H. Hyon, Y. Ikada, Stereocomplex Formation between Enantiomeric Poly(lactic acid)s. 5. Calorimetric and Morphological Studies on the Stereocomplex Formed in Acetonitrile Solution, *Macromolecules* 25 (1992) 2940–2946. <https://doi.org/10.1021/ma00037a024>.
- [15] T. Biedroń, M. Brzeziński, T. Biela, P. Kubisa, Microspheres from stereocomplexes of polylactides containing ionic liquid end-groups, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 50 (2012) 4538–4547. <https://doi.org/10.1002/pola.26266>.
- [16] M. Brzeziński, T. Biedroń, A. Tracz, P. Kubisa, T. Biela, Spontaneous formation of colloidal crystals of PLA stereocomplex microspheres and their hierarchical structure, *Macromol. Chem. Phys.* 215 (2014) 27–31. <https://doi.org/10.1002/macp.201300491>.
- [17] A. Michalski, T. Makowski, T. Biedroń, M. Brzeziński, T. Biela, Controlling polylactide stereocomplex (sc-PLA) self-assembly: From microspheres to nanoparticles, *Polymer (United Kingdom)* 90 (2016) 242–248. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2016.03.049>.
- [18] M. Brzeziński, T. Biela, Supramolecular polylactides by the cooperative interaction of the end groups and stereocomplexation, *Macromolecules* 48 (2015) 2994–3004. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b00208>.

- [19] L. Yang, X. Tan, Z. Wang, X. Zhang, Supramolecular Polymers: Historical Development, Preparation, Characterization, and Functions, *Chem. Rev.* 115 (2015) 7196–7239. <https://doi.org/10.1021/cr500633b>. [20] D. Wang, G. Tong, R. Dong, Y. Zhou, J. Shen, X. Zhu, Self-assembly of supramolecularly engineered polymers and their biomedical applications, *Chem. Commun.* 50 (2014) 11994–12017. <https://doi.org/10.1039/C4CC03155E>.
- [21] J. Li, Z. Wang, Z. Hua, C. Tang, Supramolecular nucleobase-functionalized polymers: Synthesis and potential biological applications, *J. Mater. Chem. B* 8 (2020) 1576–1588. <https://doi.org/10.1039/c9tb02393c>.
- [22] M. Brzeziński, A. Michalski, B. Kost, M. Socka, M. Florczak, G. Łapienis, T. Biela, Simultaneous Stereocomplexation of Polylactides during Polymerization of d-LA in the Presence of a PLLA Template, *Macromol. Chem. Phys.* (2020) 1900571. <https://doi.org/10.1002/macp.201900571>.
- [23] M. Brzeziński, S. Seiffert, Monodisperse microspheres from supramolecular complexing polylactides, *Mater. Lett.* 161 (2015) 471–475. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2015.09.008>.
- [24] M. Brzeziński, Hollow Microcapsules with Enhanced Stability via Stereocomplex Assemblies, *Macromol. Chem. Phys.* 218 (2017) 1700018. <https://doi.org/10.1002/macp.201700018>.
- [25] M. Brzeziński, A. Kacprzak, M. Calderón, S. Seiffert, Metallo-Polymer Chain Extension Controls the Morphology and Release Kinetics of Microparticles Composed of Terpyridine-Capped Polylactides and their Stereocomplexes, *Macromol. Rapid Commun.* 38 (2017) 1600790. <https://doi.org/10.1002/marc.201600790>.
- [26] M. Bednarek, E. Wojtczak, M. Pluta, Spontaneous formation of polylactide stereocomplex microspheres containing metal ions, *Polym. Int.* 66 (2017) 108–118. <https://doi.org/10.1002/pi.5251>.
- [27] T. Ishihara, M. Takahashi, M. Higaki, M. Takenaga, T. Mizushima, Y. Mizushima, Prolonging the in vivo residence time of prostaglandin E1 with biodegradable nanoparticles, *Pharm. Res.* 25 (2008) 1686–1695. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9549-8>.
- [28] E. Wojtczak, M. Gadzinowski, T. Makowski, K. Maresz, P. Kubisa, M. Bednarek, M. Pluta, Encapsulation of hydrophobic vitamins by polylactide stereocomplexation and their release study, *Polym. Int.* 67 (2018) 1523–1534. <https://doi.org/10.1002/pi.5674>.
- [29] W. Gonciarz, M. Chmiela, B. Kost, E. Piątczak, M. Brzeziński, Stereocomplexed microparticles loaded with *Salvia cadmica* Boiss. extracts for enhancement of immune response towards *Helicobacter pylori*, *Sci. Rep.* 13 (2023) 7039. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34321-6>.
- [30] B. Kost, M. Brzeziński, M. Zimnicka, M. Socka, E. Wielgus, M. Słowianek, T. Biela, PLA Stereocomplexed Microspheres Modified with Methyl- β -Cyclodextrin as an Atropine Delivery System. Synthesis and Characterization, *Mater. Today Commun.* 25 (2020) 101605. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2020.101605>.
- [31] A. Kobylińska, B. Kost, K. Cichoń, I.I. Bąk-Sypień, M. Brzeziński, Stereocomplexed Microparticles as Quercetin Carriers for Improving Plant Growth During Salinity Stress, *J. Polym. Environ.* 31 (2023) 1209–1220. <https://doi.org/10.1007/s10924-022-02678-w>.
- [32] A. Costa, M. Pinheiro, J. Magalhães, R. Ribeiro, V. Seabra, S. Reis, B. Sarmiento, The formulation of nanomedicines for treating tuberculosis, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 102 (2016) 102–115. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.012>.
- [33] M. Brzeziński, B. Kost, S. Wedepohl, M. Socka, T. Biela, M. Calderón, Stereocomplexed PLA microspheres: Control over morphology, drug encapsulation and anticancer activity, *Colloids Surf. B Biointerfaces* 184 (2019) 110544. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110544>.

- [34] B. Kost, M. Brzeziński, M. Cieślak, K. Królewska-Golińska, T. Makowski, M. Socka, T. Biela, Stereocomplexed micelles based on polylactides with β -cyclodextrin core as anti-cancer drug carriers, *Eur. Polym. J.* 120 (2019) 109271. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.109271>.
- [35] M. Brzeziński, B. Kost, W. Gonciarz, A. Krupa, M. Socka, M. Rogala, Nanocarriers based on block copolymers of L-proline and lactide: The effect of core crosslinking versus its pH-sensitivity on their cellular uptake, *Eur. Polym. J.* 156 (2021) 110572. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110572>.
- [36] V.H. Narayanan, B. Kost, A. Lewandowski, R.D. Durai, P. Wawrzyniak, T. Biela, R. Wingenfeld, H.S. Sperber, R. Schwarzer, M. Brzezinski, PLA stereocomplex-chitosan nanoparticles loaded with tenofovir alafenamide as a long-acting antiretrovirals, *Advanced Powder Technology* 34 (2023) 104205. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.appt.2023.104205>.
- [37] V. H. B. Narayanan, R. Durai, W. Gonciarz, M. Brzezinski, Effect of aluminium oxide nanoparticles on long-acting oleogels laden with Sc-PLA-chitosan nanoparticles for anti-HIV therapy, *Int. J. Biol. Macromol.* 273 (2024) 132829. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132829>.
- [38] A. Michalski, M. Brzeziński, P. Kubisa, T. Biela, Supramolecular aggregates of linear and star-shaped polylactides with different number of hydroxyl or carboxyl end-groups, *React. Funct. Polym.* 128 (2018) 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2018.05.001>.
- [39] A. Michalski, M. Socka, M. Brzeziński, T. Biela, Reversible Supramolecular Polylactides Gels Obtained via Stereocomplexation, *Macromol. Chem. Phys.* 219 (2018) 1700607. <https://doi.org/10.1002/macp.201700607>.
- [40] M. Brzeziński, M. Bogusławska, M. Ilčíková, J. Mosnáček, T. Biela, Unusual thermal properties of polylactides and polylactide stereocomplexes containing polylactide-functionalized multi-walled carbon nanotubes, *Macromolecules* 45 (2012) 8714–8721. <https://doi.org/10.1021/ma301554q>.
- [41] M. Guo, W. Wu, W. Wu, R. Wang, L. Huang, Q. Gao, Recent advances in enhancing stereocomplexation between poly(lactide) enantiomeric chains, *Physical Chemistry Chemical Physics* 25 (2023) 17737–17758. <https://doi.org/10.1039/d3cp01003a>.
- [42] M. Raef, J.R. Sarasua, A. Etxeberria, J.M. Ugartemendia, Stereocomplexation: From molecular structure to functionality of advanced polylactide systems, *Polymer (Guildf)*. 280 (2023) 126066. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2023.126066>.

Praca wpłynęła do Redakcji 2 lipca 2026 r.