

Design and synthesis of micellar nanocarriers for internal radiotherapy

Mathilde Ponchelle

ABSTRACT

Among current approaches to cancer treatment, two therapeutic avenues are attracting growing interest: nuclear medicine and nanomedicine. The latter exploits the unique properties of nanostructures, particularly their ability to accumulate in tumors for targeted drug delivery. Nuclear medicine, on the other hand, relies on the use of ionizing radiation for diagnostic or therapeutic purposes. In oncology, internal radiotherapy stands out for its ability to target deep tissues. Its main objective is to develop radiopharmaceuticals capable of selectively destroying tumor cells while sparing healthy tissues, thereby limiting side effects. However, various mechanisms of radioresistance, particularly those linked to hypoxia, can reduce its effectiveness. The development of systems that promote tumor reoxygenation therefore, represents a promising strategy.

My doctoral work was carried out within this context, with the aim of designing micellar nanocarriers for internal radiotherapy. The developed nanocarrier was intended to combine multiple functions: tumor targeting, radionuclide delivery, oxygen supply, and radiosensitization. To this end, a fluorinated amphiphilic unit was designed, enabling the formation of perfluorinated micelles capable of solubilizing oxygen (to enhance cellular radiosensitivity) and encapsulating gold nanoparticles (to amplify radiation effects). In the absence of irradiation, both formulations - plain micelles and gold-loaded micelles - proved non-cytotoxic at all tested concentrations.

The micelles were then evaluated *in vitro* under irradiation, using external electron beams on murine melanoma (B16F10) and human breast cancer (SKBR3) cell lines. Results highlighted the radiosensitizing properties of both simple and gold-containing micelles, with a particularly marked effect on the more radiosensitive SKBR3 cells. The radio-enhancement effect of gold was also clearly demonstrated on these cell lines.

Subsequently, the radionuclide ^{177}Lu was incorporated into the micellar formulations for internal radiotherapy. Cytotoxicity assays on B16F10 and SKBR3 cells revealed a dose-dependent radiotoxicity of ^{177}Lu , with greater effects observed for micelles combining both gold and ^{177}Lu compared to those containing ^{177}Lu alone.

The ^{177}Lu /gold micelles were then intravenously injected into healthy mice for a biodistribution study, which showed a circulatory half-life of 2.5 h. Accumulation occurred mainly in the liver and spleen, with both hepatobiliary and renal excretion pathways identified. Due to this

suboptimal pharmacokinetic profile and the risk of radiotoxicity in healthy peripheral organs, intratumoral administration (nanobrachytherapy) was then prioritized.

A nanobrachytherapy protocol was implemented in tumor-bearing mice. Both ^{177}Lu micelles and ^{177}Lu /gold micelles were injected directly into the tumor. The micelles exhibited good tumor retention, although a slow diffusion into systemic circulation was observed. Tumor growth monitoring confirmed the radiosensitizing effect of gold, with marked inhibition observed seven days after treatment with ^{177}Lu /gold micelles.

The results obtained in this work highlight the therapeutic potential of micellar nanovectors combining lutetium-177, gold nanoparticles, and encapsulated oxygen to achieve radiosensitization and radio-enhancement. However, further studies are required to confirm these preliminary findings.

Projektowanie i synteza nanonośników micelarnych do radioterapii wewnętrznej

Mathilde Ponchelle

STRESZCZENIE

Wśród obecnych podejść do leczenia nowotworów rosnące zainteresowanie budzą dwa kierunki terapeutyczne: medycyna nuklearna oraz nanomedycyna. Ta druga wykorzystuje unikalne właściwości nanostruktur, w szczególności ich zdolność do akumulacji w guzach, co umożliwia celowane dostarczanie leków. Medycyna nuklearna natomiast opiera się na zastosowaniu promieniowania jonizującego do celów diagnostycznych lub terapeutycznych. W onkologii szczególnie wyróżnia się radioterapia wewnętrzna, ze względu na możliwość precyzyjnego oddziaływania na głęboko położone tkanki. Jej głównym celem jest opracowanie radiofarmaceutyków zdolnych do selektywnego niszczenia komórek nowotworowych przy jednoczesnym oszczędzaniu zdrowych tkanek, a tym samym ograniczaniu skutków ubocznych. Jednakże różne mechanizmy radiooporności, zwłaszcza związane z hipoksją, mogą zmniejszać jej skuteczność. Dlatego rozwój systemów sprzyjających reoksygenacji guza stanowi obiecującą strategię.

Moja praca doktorska została przeprowadzona w tym kontekście i miała na celu zaprojektowanie micelarnych nośników nanostrukturalnych do radioterapii wewnętrznej. Opracowany nośnik miał łączyć wiele funkcji: ukierunkowanie na guz, dostarczanie radionuklidów, dostarczanie tlenu oraz uwrażliwianie komórek na promieniowanie. W tym celu zaprojektowano fluorowaną jednostkę amfifilową, umożliwiającą tworzenie perfluorowanych miceli zdolnych zarówno do solubilizacji tlenu (w celu zwiększenia radiosensytywności komórek), jak i enkapsulacji nanocząstek złota (w celu wzmocnienia efektów promieniowania). W warunkach braku napromieniania obie formułacje - micle bez dodatków oraz micle zawierające nanocząstki złota - okazały się nietoksyczne dla komórek we wszystkich testowanych stężeniach.

Następnie micle zostały poddane ocenie *in vitro* w warunkach napromieniania z wykorzystaniem zewnętrznej wiązki elektronów na liniach komórkowych czerniaka mysiego (B16F10) oraz raka piersi człowieka (SKBR3). Uzyskane wyniki potwierdziły właściwości uwrażliwiające na promieniowanie zarówno prostych miceli, jak i miceli zawierających złoto, przy czym szczególnie wyraźny efekt zaobserwowano w przypadku bardziej radio-wrażliwych komórek SKBR3. Efekt wzmocnienia radiacyjnego wynikający z obecności złota został również jednoznacznie wykazany na tych liniach komórkowych.

Następnie do formulacji micelarnych wprowadzono radionuklid ^{177}Lu w celu zastosowania w radioterapii wewnętrznej. Testy cytotoksyczności przeprowadzone na liniach komórkowych B16F10 i SKBR3 wykazały zależną od dawki radiotoksyczność ^{177}Lu , przy czym silniejsze efekty obserwowano w przypadku miceli zawierających zarówno złoto, jak i ^{177}Lu , w porównaniu z micelami zawierającymi jedynie ^{177}Lu .

Micele zawierające ^{177}Lu i nanocząstki złota zostały następnie podane dożylnie zdrowym myszom w celu przeprowadzenia badania biodystrybucji, które wykazało okres półtrwania w krążeniu wynoszący 2,5 godziny. Akumulacja występowała głównie w wątrobie i śledzionie, a zidentyfikowane drogi wydalania obejmowały zarówno szlak poprzez wątrobę, jak i nerki. Ze względu na nieoptymalny profil farmakokinetyczny oraz ryzyko radiotoksyczności w zdrowych narządach obwodowych, priorytet nadano podaniu śródguzowemu (nanobrachyterapia).

Protokół nanobrachyterapii został wdrożony u myszy z guzami. Zarówno micele z ^{177}Lu , jak i micele z ^{177}Lu oraz złotem zostały wstrzyknięte bezpośrednio do guza. Micele wykazały dobrą retencję w guzie, choć zaobserwowano powolną dyfuzję do krążenia ogólnoustrojowego. Monitorowanie wzrostu guza potwierdziło efekt uwrażliwiający na promieniowanie wynikający z obecności złota - wyraźne zahamowanie wzrostu guza zaobserwowano siedem dni po podaniu miceli z ^{177}Lu i nanocząstkami złota.

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki podkreślają potencjał terapeutyczny micelarnych nanonośników łączących lutet-177, nanocząstki złota oraz enkapsulowany tlen w celu uzyskania radiouczulania i wzmocnienia efektów radiacyjnych. Niemniej jednak wymagane są dalsze badania w celu potwierdzenia tych wstępnych obserwacji.