UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

DEPARTAMENT DE FARMÀCIA I TECNOLOGIA FARMACÈUTICA
Unitat de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica

TARGETING OF ANTILEISHMANIAL DRUGS PRODUCED BY NANOTECHNOLOGIES

GEORGINA PUJALS I NARANJO

Barcelona, 2007

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

DEPARTAMENT DE FARMÀCIA I TECNOLOGIA FARMACÈUTICA
Unitat de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica

Bienni 2003-2005

TARGETING OF ANTILEISHMANIAL DRUGS PRODUCED BY NANOTECHNOLOGIES

Directors de la tesi:

Dra. Montserrat Miñarro Carmona Dr. Josep Ramón Ticó i Grau

Dr. Jaume Carrió Díaz-Meco

Memòria presentada per **Georgina Pujals i Naranjo** per optar al títol de doctor per la Universitat de Barcelona:

Barcelona, Octubre del 2007

Als meus pares,

A finals del 2004 vaig prendre la decisió d'engegar aquest projecte, i sembla que fora ahir quan ma mare em va recordar la necessitat d'investigar la millora del tractament de la leishmaniosis. Em va sorprendre tant gratament la idea que vaig veure clara la línia d'investigació que seguiria. És per això que vull agrair als meus pares el fet d'haver-me motivat a iniciar aquest treball, haver estat des de el primer moment donant-me suport, aconsellant-me en moments d'indecisió, sent crítics quan calia, animant-me constantment i creient en les meves possibilitats.

Gràcies, als meus directors de tesi, en Josep Ramón, la Montse i en Jaume per confiar en el projecte i permetre'm desenvolupar una tesi multidisciplinar, per la seva orientació, per ensenyar-me, per escoltar-me, aconsellar-me, tant en allò professional com personal, per la confiança dipositada en mi, per donar-me la possibilitat de conèixer la recerca en un país com els E.E.U.U., en donar-me suport en altres projectes professionals, pel tracte de tu a tu, per la paciència... gràcies.

Agrair afectuosament en Josep Maria Suñé pels seus consells, per la seva ajuda en la protecció de la línia d'investigació, pels bons moments, les seves paraules d'ànims i la confiança mostrada.

Gràcies a la Dra. Portús per donar-me la possibilitat de desenvolupar part de la tesi dins del seu grup d'investigació: Parasitologia Clínica. Gràcies a la Silvia i en Jaume per ensenyar-me com manipular mostres biològiques i treballar amb cura amb els "bitxets", gràcies al grup per les estones tant divertides que he passat amb vosaltres.

Gràcies, a tots els companys que han passat pel Servei de Desenvolupament del Medicament pels bons moment compartits i la seva ajuda quan els he necessitat, i especialment, a l' Àngels, per la seva amistat, per les bones estones, la seva ajuda, les seves idees i llargues xerrades.

Vull agrair també l'ajuda rebuda per part de la gent dels serveis cientificotècnics; entre ells en Ricard de citometria, en Xavi de raigs X, l'Eva de microscopia electrònica, però especialment en Toni d'absorció atòmica. Moltes gràcies al Dr. Manich del CSIC per l'ajuda estadística i a la Dra.Pujol per l'espectroscopia d'infraroig. Gràcies als laboratoris Sanofi-Aventis i Bioiberica per la donació de matèries primeres per desenvolupar el projecte.

Thanks to Dr. Burgess for having left myself to be working at her laboratory at the Univeristy of Connecticut and to develop my project there. Thank her also for taking refuge in her house for three months. Thanks to the people who helped me so much professionally like personally in UConn; Archana, Upkar, Charu, Stephane, Ioannis, Mark, and David Grant. Thanks to Laurita, Lluis and Richard for being there.

Graças a Nelia de Cohimbra por ser uma magnifica aluna e ajudar-me tanto e como pôde na tesi.

Vull destacar el suport incondicional dels amics ja que ha estat un fonament primordial per tirar endavant aquest projecte. Li vull agrair de tot cor a la meva amiga, companya i "discípula" Berta, la seva presència en el laboratori, les llargues converses, les ploreres d'amagat, la confiança mostrada en mi, la seva sinceritat... Ha estat un plaer compartir coneixements, "tuppers", inquietuds, nervis, alegries, sessions d'esport, ajudar-te, rebre la teva ajuda, escoltar-te, mil gràcies de tot cor. A la sister, la prima, la Marion, en Joan, la Porti, en Jordi, la Julia i a la Judita, gràcies per estar sempre allà. Gracias a Ángel por su ayuda gráfica, apoyo y confianza.

OBJECTIVES

Leishmaniosis is a worldwide health problem that affects more than 12 million people. For the last 60 years, the pentavalent antimonials available, sodium stibogluconate and the meglumine antimoniate (MGA), have been considered first-line drugs for treatment for controlling leishmaniosis. Normally, they are administered by intramuscular route, inducing local pain. Furthermore, because of their quick elimination, a multidose program is required. Antimonials have several other disadvantages; toxic effects such as arthralgia, nausea, abdominal pain, chemical pancreatitis and cardiotoxicity. Treatment failures with those drugs are becoming a common problem in endemic areas with the emergence of drug resistance. Neither the traditional second-line drugs such as pentamidine and amphotericin B, which are more toxic and difficult to administer, nor the recent oral agent miltefosine, provide a clear alternative for the treatment of visceral leishmaniosis. For this reason, it to be of interest to continue searching for new options for treatment.

The aim of this work is to develop an effective new MGA delivery system by means of nanotechnology for the treatment of leishmaniosis which could be administered by parenteral or oral route in a future. Moreover, for ensuring the effectiveness of the formulations developed, their *in vitro* activities will be assessed against *L. infantum*. The intention is to prepare a target drug delivery system by means of different technological strategies like micro-nanoparticles by spray drying. These formulations should target the antileishmanial drug to the macrophages which are the host cells of *Leishmania* parasites. If this purpose was achieved the drug bioavaibility would be increased, therefore lower doses could be administered, reducing the side effects and improving the efficiency of the treatment.

The main objective can be summarized as to develop and characterize a new MGA formulation using nanotechnologies. It implies:

1. To study *in vitro* the effectiveness and cytotoxicity of formulations against *Leishmania*.
2. To develop preliminary *in vitro* uptake studies in macrophages using quantum dots assisted imaging.
3. To study MGA release profile from the new delivery device developed.