

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. М.В.
ЛОМОНОСОВА»
ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ МГУ**

Курсовая работа

на тему:

«Полимерные микрогели для адресной доставки лекарств»

выполнила студентка 2-го курса: Шайхулова Алиса Рашидовна
научный руководитель: д.ф.-м.н., проф. Потемкин Игорь Иванович

Москва, 2017 г.

Оглавление

Введение.....	3
Микрогели для адресной доставки лекарств.....	6
Микрогели типа «ядро- оболочка».....	9
Полные микрогели типа «оболочка- оболочка».....	12
Заключение.....	17
Список литературы.....	18
Благодарности.....	21

1. Введение

В последнее время объектом пристального внимания ученых в области полимеров являются так называемые "умные полимеры" : гели, способные претерпевать обратимые изменения объема в ответ на небольшое изменение внешних параметров, таких как температура, рН, или состав растворителя, электрохромные полимеры, способные менять цвет или коэффициент преломления/рассеяния в зависимости от приложенного напряжения, эластомеры с магнитными частицами, откликом на изменение магнитного поля которых является контролируемая деформация.

Одним из наиболее активных направлений, развивающихся в области полимеров, являются микрогели. Микрогели относятся к классу микро- и нано-структурированных материалов. Состав, размеры, морфологию, восприимчивость микрочастиц возможно варьировать в широких пределах в зависимости от области применения. Микрогели обладают свойствами, характерными для гелей макроразмеров: чувствительность к изменениям параметров внешней среды, способность набухать в растворителях и абсорбировать различные вещества. Однако их время отклика на изменение окружающей среды существенно ниже их макроскопических аналогов.[1] Микрогели имеют огромный потенциал в тканевой инженерии и регенеративной медицине, клеточной иммобилизации, разделении биомолекул или клеток, создании барьерных материалов для регулирования биологических адгезий.[2]

Но особый интерес гели представляют в качестве капсул, используемых для проведения ряда реакций: биокатализа, транспортировки и удерживания лекарственного средства при адресной доставке в организм. Перспективными в этой области являются многооболочечные микрогели : микрогели типа "ядро-оболочка" и полые микрогели типа «оболочка-оболочка». Благодаря наличию слоёв разного химического состава, микрогели обладают множественным откликом, способны удовлетворять различным требованиям,

необходимым при транспортировке, поглощении и целевом выпуске фармацевтических молекул, и могут предложить улучшенную стратегию для доставки лекарств.

В качестве таких транспортных средств уже были использованы мицеллы, дендримеры, липосомы и ядра кремнезема, но они имеют ряд существенных минусов. Универсальность мономерных звеньев, соотношение длины блоков и модификация поверхности способствуют многофункциональности полимерных мицелл. Однако, к сожалению, у полимерных мицелл есть два основных недостатка: низкая способность загрузки лекарств и низкая стабильность в водных средах. Липосомы во многом схожи с мицеллами: они страдают от тех же недостатков, при этом их стоимость существенно выше [3]. Дендримеры также обладают маленькой вместительностью, их сложно синтезировать в высокой генерации, и точный контроль за выпуском гостевых молекул из матрицы дендримера до сих пор представляет большую проблему. Есть серия работ, в которых описаны преимущества использования мезопористых наночастицы кремнезема. Авторы отмечают их биосовместимость, то есть отсутствие реагирования с другими веществами, сравнительную простоту и дешевизну синтеза и модификации поверхности, а главное высокую ёмкостную нагрузку внутри мезопористых каналов. Однако значительным недостатком, ограничивающим их возможности в качестве наноконтейнера, является проблема неконтролируемого преждевременного выпуска гостевых молекул [4-5].

Микрогели на основе полимеров имеют ряд существенных особенностей, которые делают их характерным образом отличными от других коллоидных и полимерных систем. Они характеризуются собственной проницаемостью, чувствительностью к растворителю, температурой фазового объёмного перехода и могут быть функционированы. Тот факт, что они являются мягкими и пористыми (как мицеллы и липосомы) и одновременно имеют стабильную сшитую сетчатую структуру, позволяет вводить

функциональные группы в различные области в микрогель [6-7]. В отличие от жестких коллоидных наночастиц, микрогели имеют возможность адаптировать свои размеры и форму под условия среды, подстраивая при этом массообмен. Таким образом, мягкие наногели могут приспосабливать свои свойства и функции независимо от того, располагаются они в объеме или на границе раздела фаз [8].

Данная работа будет посвящена всестороннему обзору таких микрогелей как ядро-оболочка и полых наногелей типа "оболочка-оболочка" с двумя полимерными оболочками, которые имеют разные температуры фазового объемного перехода.

2. Микрогели для адресной доставки лекарств

Ключевой задачей в сфере современных биомедицинских исследований является разработка систем-носителей, которые позволяют накапливать, хранить, управляемым образом высвободить лекарственное средство в поражённую ткань. Препараты для лечения злокачественных, инфекционных или аутоиммунных заболеваний, такие как химиотерапевтические лекарственные средства, антибиотики или иммунодепрессанты могут иметь серьезные побочные эффекты из-за токсичности, индивидуальной непереносимости или вызывании инфекционных осложнений из-за системного воздействия на иммунную систему. Одной из главных проблем является систематическое высвобождение лекарств, несмотря на то, что большинство заболеваний локализируются в отдельных органах или участках тела. Носители лекарственных средств (доставщики лекарств) для целенаправленного высвобождения могут специфически увеличивать концентрации препарата в поражённой ткани или клетках, что приводит к улучшению эффективности лечения и уменьшению побочных эффектов лекарств. Терапевтическая ДНК или РНК, которая непосредственно влияет на экспрессию генов в патологических клетках требует специфических векторов для внутриклеточной доставки. Наночастицы предлагают хорошую альтернативу вирусным или бактериальным векторным системам. Несколько антибиотиков и белковых препаратов, таких как инсулин или терапевтические антитела (Моноклональные антитела) (биологические препараты) должны быть введены парентерально. Системы наночастиц, которые улучшают биодоступность при пероральном приеме таких препаратов, будут способствовать обработке в амбулаторных условиях. Таким образом, развитие наноконтейнеров, которые позволяют поглощение, хранение и высвобождение функциональных агентов одно из ключевых задач в области наномедицины.

Существуют различные задачи, которые наноносители должны выполнить для того, чтобы улучшить оральную биодоступность и целевое высвобождение. Во-первых, лекарства должны быть защищены от суровой и разнообразной среды при прохождении желудочно-кишечного тракта (например, рН от 2 до 10, пищеварительных ферментов, различных концентраций соли). Во-вторых, препараты должны преодолеть серию барьеров с существенно различным поведением, например, слизистую оболочку кишечника, состоящую из слизистого слоя и жесткого клеточного эпителиального монослоя, эндотелии кровеносных сосудов, чтобы достигнуть и выйти из системного кровообращения и клеточных мембран для лекарств с внутриклеточным способом действия. В-третьих, наночастицы должны иметь коллоидную стабильность в крови для того, чтобы обеспечить достаточную транспортировку и предотвращение эмболических осложнений в небольших сосудах. В-четвёртых, наночастицы должны предпочтительно высвобождать полезное вещество в поражённых тканях или клетках. Конкретные физико-химические условия на барьерах органов, клеточных поверхностей и внутри поражённой ткани, такие, как различия в рН, концентрации соли, заряды, окислительно - восстановительный потенциал, активность протеазы и различные размеры пор, а также внешние воздействия, такие как свет, тепло и холод могут быть использованы в качестве триггеров для поглощения наноносителей и выпуска грузов [9-10] Кроме того, покрытие поверхностей наночастиц специфическими лигандами усиливает взаимодействие с клеточными мембранами или внеклеточным матриксом и, следовательно, облегчает целенаправленный барьерный переход и клеточное поглощение.[11]

Возможным способом преодолеть неконтролируемый выброс лекарства является использование чувствительных материалов, которые позволяют блокировать пути высвобождения посредством контроля размера полимерной матрицы. В этом отношении многооболочечные микрогели

представляют собой весьма перспективную структуру для разработки эффективной системы доставки лекарственных средств, поскольку их различные слои могут выполнять различные требования. Препараты могут быть сохранены во внутренней области и окружены оболочкой, защищающей их от внешних воздействий, но также возможно и контролируемое высвобождение лекарств внешними раздражителями. Использование термочувствительной полимерной сетчатой оболочки позволяет изменять размер сетки и, таким образом, проницаемость оболочки при изменении температуры.

Полые капсулы представляют собой весьма перспективную структуру для разработки эффективных систем доставки лекарственных средств. Полость предоставляет дополнительное пространство, в котором могут быть сохранены препараты, а оболочка защищает их от внешних воздействий, и при этом контролирует высвобождение лекарств внешними раздражителями.

3. Микрогели типа «ядро-оболочка»

В работе были рассмотрены рН-чувствительные микрогели. Катионное ядро с нейтральной оболочкой и нейтральное ядро с анионной оболочкой представляют собой состояния микрогелей при низких ($pH = 2$) и высоких ($pH = 10$) рН соответственно. Комплексообразование происходит при промежуточных значениях рН. Микрогели показывают квазиполую структуру сильно набухшего ядра и плотной периферии, особенно в случае высокой доли заряженных групп. Для этого есть несколько физических причин. Микрогели с катионным ядром с нейтральной оболочкой при $pH = 2$ набухают вследствие электростатического отталкивания одноименно заряженных групп, так и благодаря осмотическому давлению противоионов, которые локализуются внутри ядра.

В результате ядро сильно набухает, в то время как нейтральная оболочка выполняет роль корсета, ограничивающего набухания: граничные субцепи ядра проникают в оболочку, образуя плотную периферию. Кроме того, такое проникновение обусловлено электростатическим отталкиванием заряженных групп: более высокая концентрация заряженных групп на периферии уменьшает электростатическую энергию. При промежуточных значениях рН квазиполая структура является следствием комплексообразования противоположно заряженных подцепей, $pH = 6$. Однородное набухание микрогелей (сходное набухание ядра и оболочки) наблюдается при высоком рН ($pH = 10$). Из-за пространственного разделения заряда внутри микрогеля, они коллоидно стабильны во всем диапазоне значений рН, включая изоэлектрическую точку. Таким образом, микрогель типа «ядро-оболочка» может быть эффективным в качестве носителя нейтральных молекул-гостей, чей захват, хранение и высвобождение контролируются с помощью рН.

Компьютерное моделирование и метод измерения малоуглового рентгеновского рассеяния выявили образование плотного поверхностного

слоя в полиамфолитных микрогелях типа «ядро-оболочка». Этот слой формируется за счет электростатического комплексообразования подцепей вблизи границы раздела ядро-оболочка при условии, что ядро и оболочка противоположно заряжены. Толщина слоя определяется глубиной взаимопроникновения подцепей, которая контролируется их длиной, фракцией заряженных групп и составом ядро-оболочка. Плотность слоя в основном контролируется фракцией заряженных групп: чем выше фракция, тем плотнее слой [12].

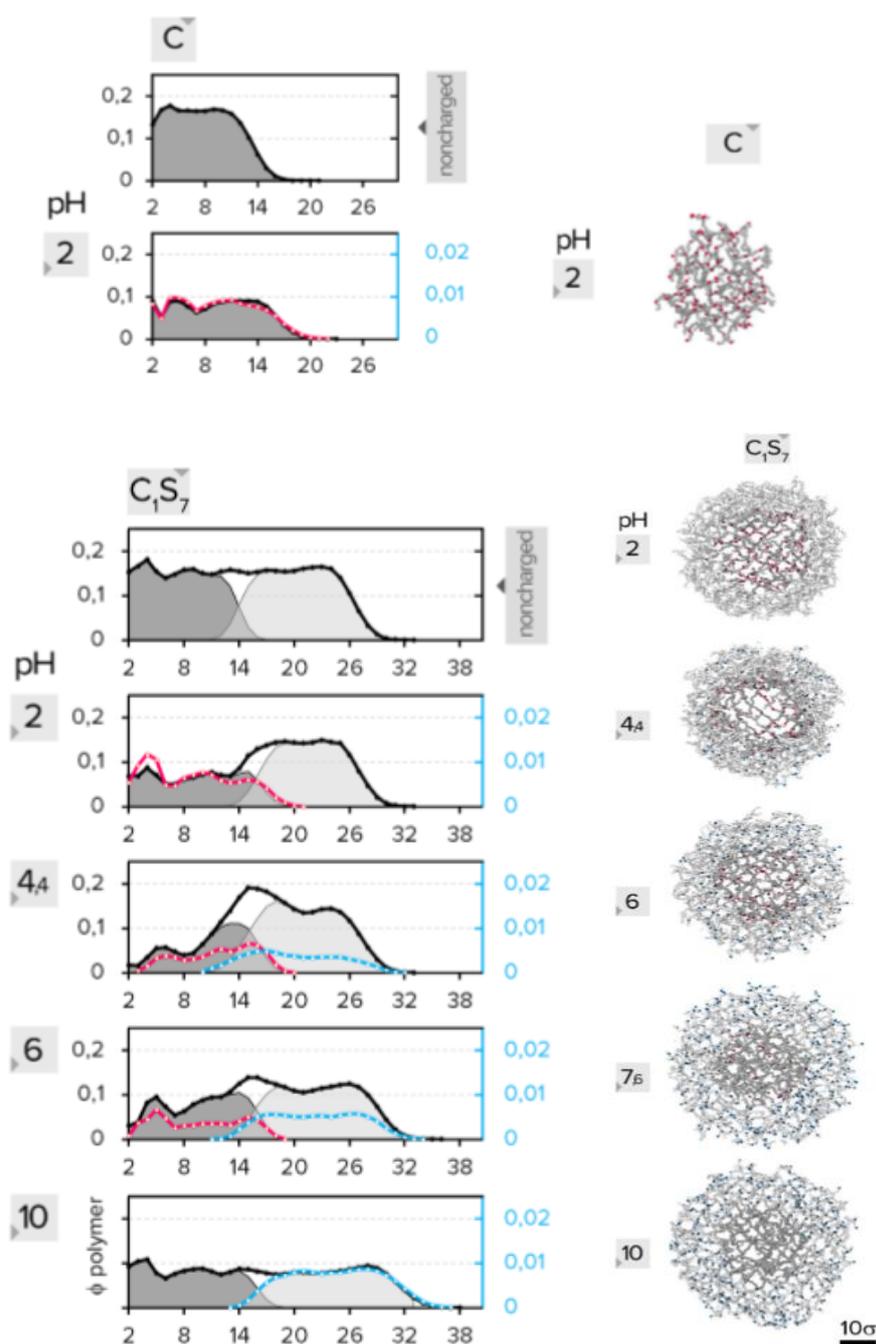


Рисунок 1. Объёмная доля полимера микрогеля как функция радиальной координаты r при $\epsilon_{LJ} = 0.01 k_B T$. Графики соответствуют различным микрогелям S и $S_1 - S_7$. Каждый график показывает отношение доли заряженных групп в ядре и оболочке, $\phi_+ - \phi_-$: 0% - 0% (незаряженные микрогели); 10% - 0% (pH=2); 7% - 3% (pH=4.4); 5% - 5% (pH=6); 0% - 10% (pH=10). Темно-серая и светло-серая области отображают объёмную долю полимера в ядре и оболочке соответственно. Черная кривая обозначает общую объёмную долю полимера. Объёмные доли катионных и анионных групп в микрогелях показаны красными и синими кривыми соответственно. Левая (черная) и правая (синяя) вертикальные оси измеряют объёмную долю полимера и объёмную долю заряженных групп соответственно.

4. Полые микрогели типа «оболочка-оболочка»

Полые наногели позволяют объединять характерные черты капсул, имеющих пустоту с адаптивностью мягких наногелей.

Получение полых частиц, как правило, процедура, состоящая из двух шагов: На первой стадии частицы «ядро-оболочка» синтезируются с ядром, а затем ядро может быть химически удалено на второй стадии. Наночастицы диоксида кремния часто используют в качестве таких ядер, так как они могут быть синтезированы в широком диапазоне размеров и с очень узким распределением по размерам [13]. Кроме того, ядра кремнезема могут быть легко растворены, что приводит к полым капсулам [14-17]. В прошлом структура полых PNIPAm наногелей в основном изучалась с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и размер пустот считался равным начальным размерам ядра. Недавно в группе профессора Рихтеринга была исследована внутренняя структура слабо сшитого геля PNIPAm методом малоуглового нейтронного рассеяния и эксперимента по вариации контраста [18]. Они изучали влияние температуры, плотности сшивки в оболочке и толщины оболочки на размер пустоты. Для слабо сшитых полимерных оболочек частицы проявили зависимость от температуры набухания, но почти не проявили какой-либо пустоты. В отличие от этого частицы с высокой степенью сшитости полимерной оболочки можно рассматривать как полые, но частицы были менее чувствительны к температуре. Тем не менее, для всех вариантов пустота в частицах была меньше по сравнению с размером исходного ядра. Хорошим способом решить этот компромисс между имеющимся свободным пространством и чувствительностью как раз и является введение второй внешней полимерной оболочки.

Таким образом, сначала химически сшитая оболочка PNIPAm полимеризуется вокруг кварцевого ядра и вторая оболочка PNIPMAm

полимеризуется вокруг наночастицы ядро-оболочка, затем ядро кремнезема растворяют.

Что делает наногели особенными и почему они могли бы предложить новую стратегию для наномедицины? Прежде всего, "мембрана" состоит из двух химически связанных полимерных сеток, состоящих из различных полимеров. С одной стороны, это позволяет разделить различные соответствующие функции мембраны: набухание внутренней сетки позволяет регулировать проницаемость оболочки, в то время как набухание внешней оболочки обеспечивает коллоидную стабильность. Синтез двухоболочечных наноконтейнеров прост (показан на рисунке) и позволяет отдельно и контролируемо модифицировать свойства оболочек, например, внутренняя оболочка может быть модифицирована с помощью сополимеризации с функциональными молекулами, чтобы ввести, например, конкретные участки сшивки. Кроме того, плотность поперечных сшивок и, следовательно, размер ячейки и проницаемость можно контролировать. Внешняя оболочка обеспечивает коллоидную стабильность и дополнительную возможность изменения проницаемости и может быть легко изменена с помощью адсорбции макромолекул на наночастицах. Это можно сделать путём наслоения одного слоя на другой и добавления сшивок [19].

Важным аспектом двухоболочечных наноконтейнеров является то, что две сети связаны между собой. Таким образом, существует "механическое" сцепление двух оболочек. Другими словами, набухание внешних и внутренних сеток взаимно влияют друг на друга. Это позволяет изменять проницаемость внутренней оболочки двумя способами: непосредственно с помощью раздражителя, который влияет на набухание сетки полимера внутренней оболочки; и косвенно раздражителем, который влияет на набухание внешней оболочки.

Рассмотрим полые наногели с двумя оболочками различной чувствительности к внешним раздражителям. Эти две оболочки полых

наноконтейнеров показаны на рисунке, где изображены моментальные снимки наногелей, полученные при различных условиях с помощью компьютерного моделирования.

Рассмотрим это влияние с использованием поли (N-изопропилакриламид) (PNIPAm), который претерпевает фазовый объемный переход в водном растворе при температуре около 32°C и поли (N-изопропилметакриламида) (PNIPMAm), который показывает поведение, зависимое от температуры в воде, как PNIPAm, но с немного более высокой температурой фазового объёмного перехода около 42°C . Температуры фазового объёмного перехода этих полимеров можно легко регулировать путем добавления в цепь функциональных сомономеров, такие как слабокислотные или основные мономеры, которые также могут быть использованы для введения дополнительного раздражителя, например, pH[20]. Синтез полых наноконтейнеров двух оболочек следует простой схеме (рисунок 1), рассмотрим её поподробнее.

Структура этих наноконтейнеров в растворе изучена методом малоуглового рассеяния нейтронов с использованием экспериментов по вариации контраста и с помощью компьютерного моделирования [21]. Обе методики показали уникальное поведение двуболочечного микрогеля: при промежуточных температурах, внутренняя оболочка полимера коллапсирует и, таким образом, обеспечивает барьер для молекул; внешняя оболочка с другой стороны набухает и обеспечивает коллоидной стабильностью. Нижняя строка на рисунке соответствует снимкам компьютерного моделирования, которые демонстрируют способность наногелей к поглощению гостевых молекул (обе оболочки набухли), замыкаться и хранить их в пустоте (внутренняя и внешняя оболочки сколлапсированные и набухшие, соответственно) и освобождать молекулы в чистый растворитель при набухании внутренней оболочки.

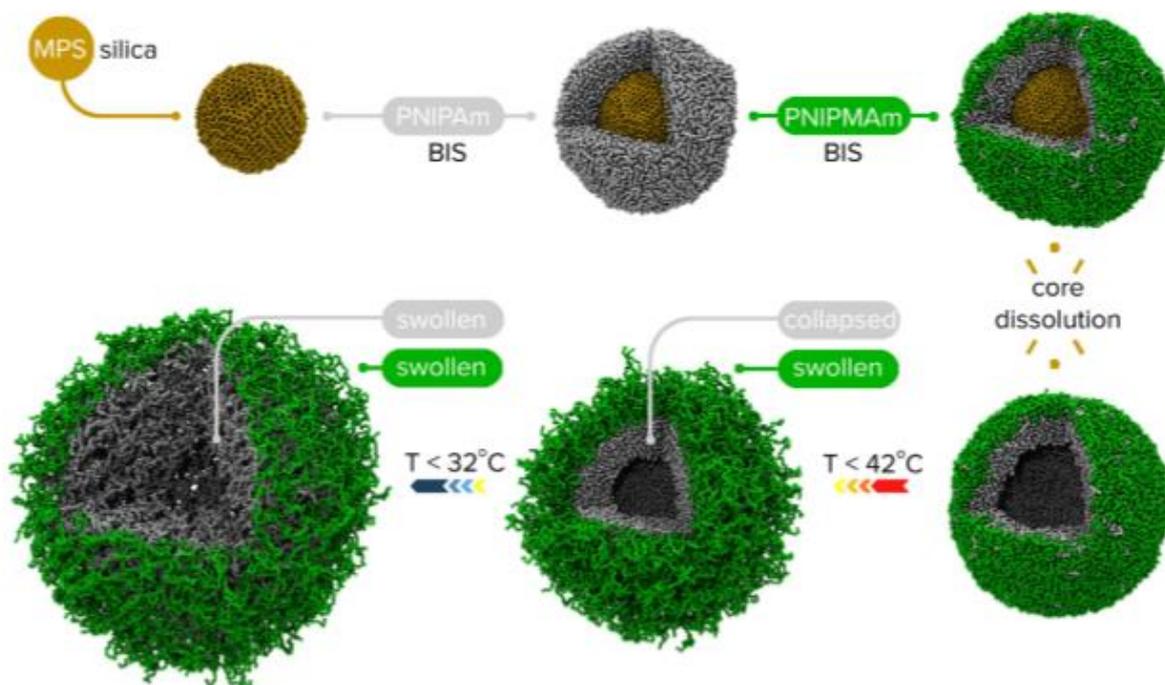


Рисунок 2. Схема процесса синтеза двойных термочувствительных наногелей с типа «оболочка-оболочка» и полых оболочечных наногелей. Коллапс ($T < 42^\circ\text{C}$) и набухание ($T < 32^\circ\text{C}$) внутренней оболочки наногеля. Блокирование гостевых молекул в пустоте через коллапс внутренней оболочки при $T > 32^\circ\text{C}$. Высвобождение гостевых молекул в чистый растворитель при $T < 32^\circ\text{C}$ за счет набухания внутренней оболочки.

Стоит отметить, что обе оболочки состоят из незаряженных полимеров и, таким образом, нечувствительны к добавлению соли. Поэтому набухание наногелей типа «ядро-оболочка-оболочка» и полых наногелей типа «оболочка-оболочка» также как и коллоидная стабильность при средних температурах не чувствительно к ионной силе водной среды. Это делает чувствительные к температуре полые наногели типа «оболочка-оболочка» заметно отличными от, например, нанокапсул на основе послойной адсорбции полиэлектролитов. Физическая причина поглощения и высвобождения нейтральных молекул полых наногелей имеет энтропийный характер.

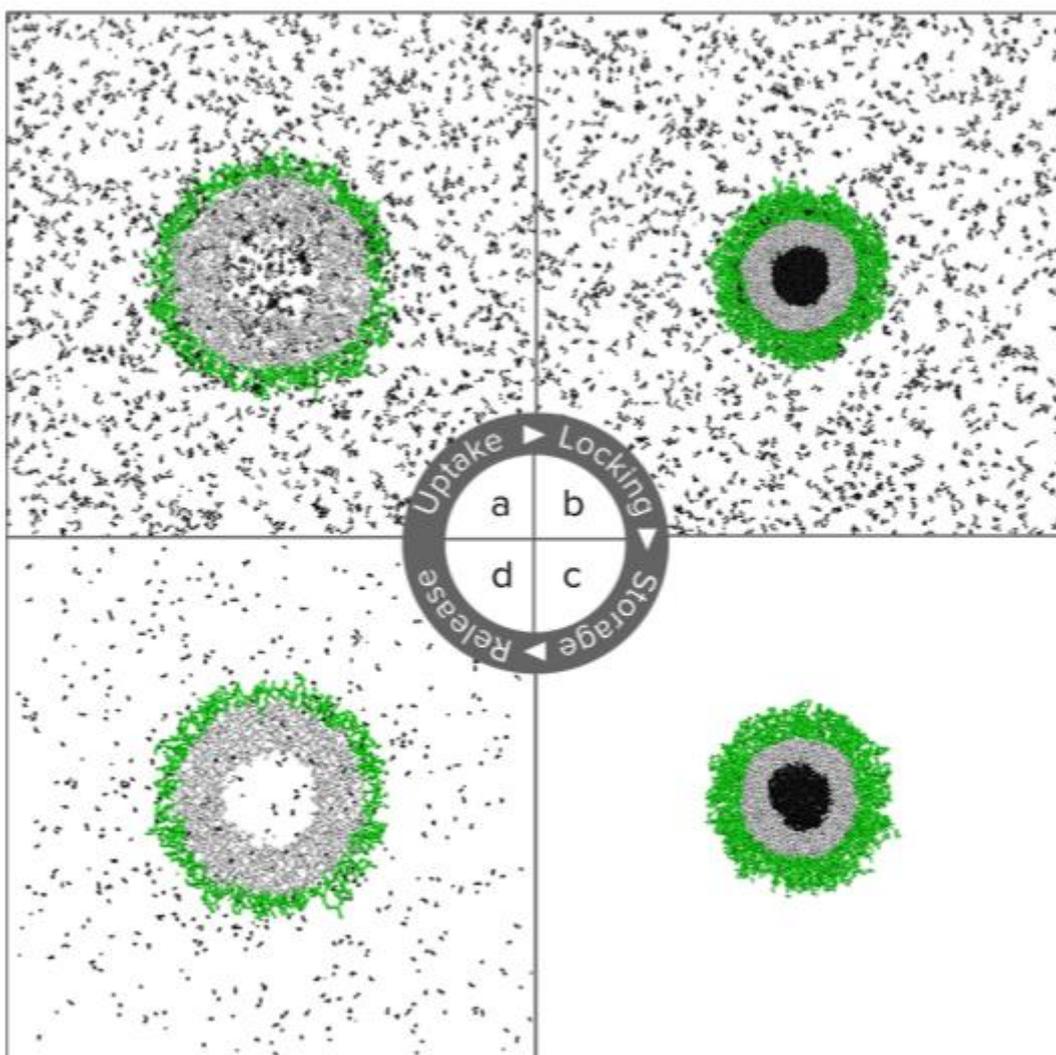


Рисунок 3. Равновесные структуры полых наноконтейнеров типа «оболочка-оболочка» с растворенными гостевыми цепями в различных условиях: (a) Диффузия гостевых цепей в набухший наногель ($\epsilon_1 = 0.1$, $\epsilon_2 = 0.1$); (b) Блокирование гостевых цепей в полости с помощью коллапса внутренней оболочки ($\epsilon_1 = 1$, $\epsilon_2 = 0.1$); (c) Способность полых наноконтейнеров типа «оболочка-оболочка» с коллапсирующей внутренней оболочкой удерживать цепи в полости ($\epsilon_1 = 1$, $\epsilon_2 = 0.1$); (d) Выпуск гостевых цепочек из наногеля после набухания внутренней оболочки ($\epsilon_1 = 0.1$, $\epsilon_2 = 0.1$). Число этапов моделирования было 50×10^6 .

5. Заключение

В данной курсовой работе был проведён всесторонний обзор литературы, посвящённой проблемам адресной доставки лекарств. В качестве наноконтейнеров были рассмотрены микрогели типа ядро-оболочка и полые микрогели типа "оболочка-оболочка" с двумя полимерными оболочками, которые имеют разные температуры фазового объёмного перехода.

Для доставки нейтральных макромолекул могут быть использованы полиамфолитные микрогели типа «ядро-оболочка», в то время как для заряженных макромолекул - термочувствительные полые микрогели типа «оболочка-оболочка».

6. Список литературы

- [1]. Е.Ю. Кожунова. Термочувствительные полиэлектролитные гели: особенности перехода набухший-схлопсированный гель. *Диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук*
- [2]. О.Е. Филиппова «Умные» полимерные гидрогели. *Природа* (2008)
- [3]. Sungwon Kim and Kinam Park. Polymer Micelles for Drug Delivery
- [4]. 9. Liu, C. et al. Targeted intracellular controlled drug delivery and tumor therapy through in situ forming Ag nanogates on mesoporous silica nanocontainers. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7, 11930–11938 (2015).
- [5]. Yang, K. et al. Intracellular pH-triggered, targeted drug delivery to cancer cells by multifunctional envelope-type mesoporous silica nanocontainers. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7, 17399–17407 (2015).
- [5]. Andrey A. Rudov, Arjan P. H. Gelissen, Gudrun Lotze, Andreas Schmid, Thomas Eckert, Andrij Pich, Walter Richtering, and Igor I. Potemkin. Intramicrogel complexation of oppositely charged compartments as a route to quasi-hollow structures
- [6]. Berndt I, Pedersen JS, Richtering W. Temperature-sensitive core–shell microgel particles with dense shell. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 45, 1737 (2006).
- [7]. Keerl M, Pedersen JS, Richtering W. Temperature sensitive copolymer microgels with nanophase separated structure. *J. Am. Chem. Soc.* 131, 3093–3097 (2009).
- [8]. Kleinen J, Klee A, Richtering W. Influence of architecture on the interaction of negatively charged multisensitive poly(Nisopropylacrylamide)-co-methacrylic acid microgels with oppositely charged polyelectrolyte: absorption vs adsorption. *Langmuir* 26, 11258–11265 (2010).
- [9]. Chen X, Liu L, Jiang Ch. Charge-reversal nanoparticles: novel targeted drug delivery carriers. *Acta Pharm. Sin. B* 6, 261–267 (2016).

- [10]. Rabišková M, Koziolová E, Jirásková J. Nanoparticulates with drug release based on temperature change. *Ceska Slov. Farm.* 263, 239–247 (2014).
- [11]. Srinivasan M, Rajabi M, Mousa SA. Multifunctional nanomaterials and their applications in drug delivery and cancer therapy. *Nanomaterials* 5, 1690–1703 (2015).
- [12]. Walter Richtering, Igor I Potemkin, Andrey A Rudov, Gernot Sellge & Christian Trautwein. Could multiresponsive hollow shell-shell nanocontainers offer an improved strategy for drug delivery? *Nanomedicine* (2016)
- [13]. Stöber, W., Fink, A. & Bohn, E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *Journal of Colloid And Interface Science* 26, 62–69 (1968).
- [14]. Xing, Z. et al. Dual stimuli responsive hollow nanogels with IPN structure for temperature controlling drug loading and pH triggering drug release. *Soft Matter* 7, 7992 (2011).
- [15]. Lapeyre, V. et al. Multiresponsive hybrid microgels and hollow capsules with a layered structure. *Langmuir* 25, 4659–4667 (2009).
- [16]. Zha, L. S., Zhang, Y., Yang, W. L. & Fu, S. K. Monodisperse temperature sensitive microcontainers. *Adv. Mater.* 14, 1090–1092 (2002).
- [17]. Zhang, F., Hou, G., Dai, S., Lu, R. & Wang, C. Preparation of thermosensitive PNIPAM microcontainers and a versatile method to fabricate PNIPAM shell on particles with silica surface. *Colloid and Polymer Science* 290, 1341–1346 (2012).
- [18]. Dubbert, J. et al. How Hollow Are Thermoresponsive Hollow Nanogels? *Macromolecules* 47, 8700–8708 (2014).
- [19]. Wong JE, Richtering W. Layer-by-layer assembly on stimuli-responsive microgels. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 13, 403–412 (2008).

[20]. Pich A, Richtering W. Microgels by precipitation polymerization: synthesis, characterization, and functionalization. *Adv. Polym. Sci.* 234, 1–37 (2010).

[21]. Schmid AJ, Dubbert J, Rudov AA et al. Multi-shell hollow nanogels with responsive shell permeability. *Sci. Rep.* 6, 22736 (2016).

7. Благодарности

Автор выражает благодарность своему научному руководителю Игорю Ивановичу Потемкину и куратору Рудову Андрею Андреевичу за постановку задачи, обсуждение, предоставление литературы и поддержку, а также аспирантам кафедры полимеров и кристаллов Гумерову Рустаму Анриковичу, Портнову Ивану Владимировичу за терпение и внимание.