

**БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ АЛИФАТИЧЕСКИХ СЛОЖНЫХ ПОЛИЭФИРОВ В КАЧЕСТВЕ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ****Синицына Е.С.<sup>1,2</sup>, Коржиков-Влах В.А.<sup>1</sup>, Беспалов В.Г.<sup>3</sup>, Тенникова Т.Б.<sup>1</sup>**<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, институт химии*Университетский пр., 26, г. Санкт-Петербург, 198504, РФ*<sup>2</sup> Институт высокомолекулярных соединений Российской Академии наук*Большой пр. В.О., 31, г. Санкт-Петербург, 199004, РФ*<sup>3</sup> ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова"

Министерства здравоохранения Российской Федерации

*ул. Ленинградская, 68, г. Санкт-Петербург, 197758, РФ*

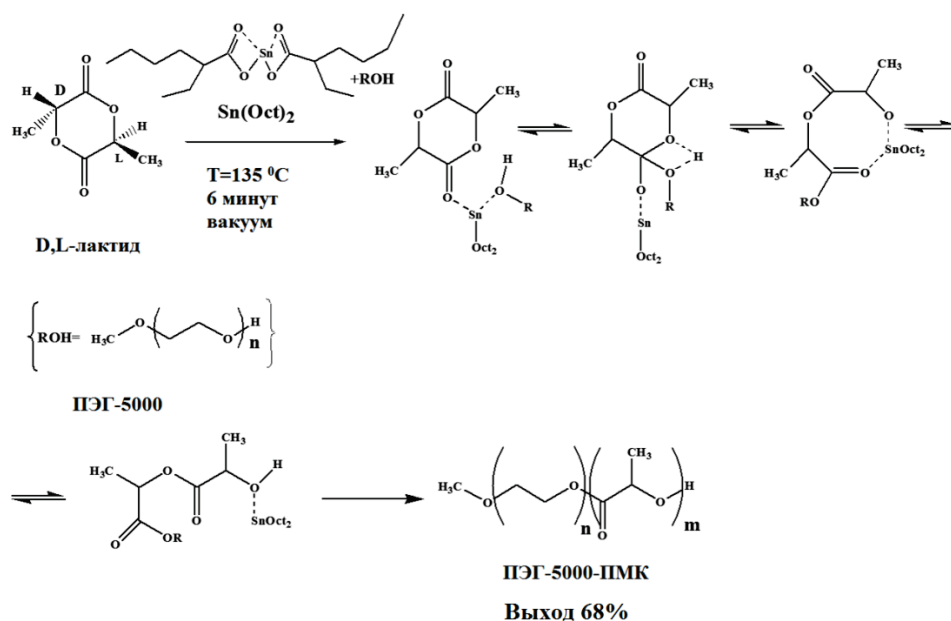
Поступила в редакцию: 01.07.2018.

**Аннотация.** Разработка наноконтейнеров для адресной доставки лекарственных препаратов в соответствующие органы является одним из активно развивающихся направлений биомедицинской химии. В представляемой работе был проведен синтез биodeградируемого блок-сополимера на основе лактида молочной кислоты (ПМК) с метиловым эфиром поли(этиленгликоля)-5000. Полимеризацию проводили по ионно-координационному механизму в расплаве. Для характеристики образцов использовали методы <sup>1</sup>H-ЯМР и гель проникающей хроматографии. Полимерные частицы с размером от 40 до 200 нм были получены методом наноосаждения. В процессе формирования в полимерные биodeградируемые контейнеры инкапсулировали цитостатический препарат диоксадэт, который применяется для лечения рака яичников. Эффективность инкапсулирования для разработанных систем варьировалась от 46 до 83 %, максимальное количество инкапсулированного препарата составило 230 мкг/мг полимерных частиц.

**Ключевые слова:** биodeградируемые частицы, доставка лекарств, наноосаждения.

Разработка наноконтейнеров для адресной доставки лекарственных препаратов в соответствующие органы является одним из активно развивающихся направлений биомедицинской химии. Для формирования биосовместимых частиц был проведен синтез биodeградируемого блок-сополимера на основе лактида молочной кислоты (ПМК) с метиловым эфиром поли(этиленгликоля)-5000 (ПЭГ-5000). Выбор мономеров определялся способностью под действием ферментов к деградации блока ПМК, а также стабилизирующей ролью ПЭГ в водной среде для сформированных частиц. Образцы сополимера были получены полимеризацией с раскрытием цикла по ионно-координационному механизму в расплаве при 135 °С и соотношении мономер (лактид молочной кислоты) / катализатор равном 1000 (рис. 1). Соотношение лактида молочной кислоты к ПЭГ-5000 варьировали от 300 до 1500. Время реакции составило 6 минут. Для определения химического состава и подтверждения структуры блок-сополимера был использован метод <sup>1</sup>H-ЯМР. В полученном протонном спектре зарегистрировано наличие сигналов при 1,6 м.д., относящийся к протонам метильной группы ПМК, 3,75 м.д., отвечающих за метиленовые группы ПЭГа, а также мультиплет при 5,25 м.д., соответствующий наличию в образце энантиомерных групп во фрагменте полимолочной кислоты. Определение среднечисловой и среднемассовой молекулярной массы и константы полидисперсности ПМК-ПЭГ-5000 проводились методом гель проникающей хроматографии. Измерения были проведены на установке Shimadzu LC-20 Prominence с рефрактометрическим детектором RID 10-A (Япония). Для построения калибровочной зависимости использовали полистирольные стандарты. По данным гель проникающей хроматографии среднечисловая молекулярная масса образцов сополимера составили: 42000 и 96000; среднемассовая молекулярная масса образцов полимера 52000 и 133000, а индексы полидисперсности 1,2 и 1,4 соответственно.

В начале 90-х годов была разработана технология наноосаждения как простой одностадийный процесс получения полимерных частиц [1]. Как правило, система для наноосаждения состоит из трех основных компонентов: полимера (синтетического или природного), органического растворителя и осадителя (чаще всего воды). Подбор исходных соотношений компонентов происходит на основании растворимости полимера в выбранном растворителе, степени смешивания растворителя с водой, а также легкости его удаления из системы. Типичные органические растворители, которые чаще всего используются для наноосаждения: ацетон, ацетонитрил и тетрагидрофуран [2]. Процесс наноосаждения заключается в осаждении растворенного полимера в виде наноразмерных частиц в результате смешения органической фазы, в которой был растворен полимер с фазой, в которой полимер имеет плохую растворимость. При определенных концентрациях полимера, растворителя и воды в системе образуется термодинамически метастабильная область – «область узо», что приводит к образованию стабильных полимерных наноразмерных частиц [3]. «Эффект узо» возникает между границами кривой бинодали (граница предельного перехода, соответствующая пределу смешиваемости в зависимости от состава системы) и границ спинодали (границы предела устойчивости, которая разделяет область осаждение полимера из-за его нерастворимости в водной фазе) [4]. Схема получения полимерных частиц методом наноосаждения представлена на рисунке 2. Применение метода наноосаждения имеет ряд



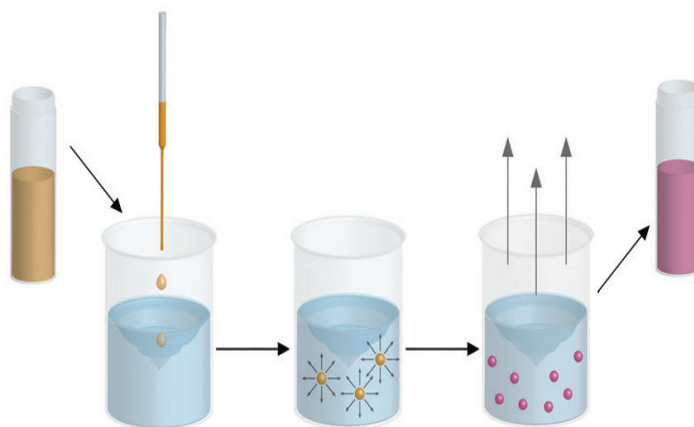
**Рисунок 1.** Получение сополимера ПМК-ПЭГ-5000 полимеризацией с «раскрытием цикла»

существенных преимуществ перед другими методами формирования частиц: во-первых, процесс nanoосаждения происходит без внешних затрат энергии, необходимых для формирования наночастиц другими методами (не требуется ультразвуковая обработка), а также без использования поверхностно-активных веществ и характеризуется относительно простой и воспроизводимой техникой для приготовления наноконтейнеров.

В рамках представляемого исследования изучали влияние изменения концентрации компонентов в системе, соотношения доли органической фазы к водной фазе, скорости ввода органической фазы и скорости перемешивания в водной фазе на физико-химические свойства получаемых полимерных частиц. Концентрацию полимера в органической фазе варьировали от 0,5 до 10%. Соотношение органической фазы к водной было 1:2 и 1:5. Скорость перемешивания изменяли от 500 до 1000 об/мин, а скорость введения органической фазы в водную составляла от 0,5 до 5 мл/мин. Средний размер частиц и индекс полидисперсности оценивали методом динамического рассеивания света. В результате были получены полимерные частицы с размером от 40 до 200 нм, индекс полидисперсности имел значения от 0,05 до 0,18. Выход полимерных частиц в исследованных системах соответствовал от 70 до 98 %.

Разрабатываемые биodeградируемые полимерные контейнеры могут быть использованы для доставки лекарственных препаратов к органам – мишеням. В настоящее время рак яичников является одним из наиболее распространённых онкологических заболеваний.

При стандартных схемах химиотерапии рака яичников лекарственные препараты вводятся системно: внутривенно, реже – перорально. В качестве альтернативного подхода для проведения химиотерапии при рак яичников сегодня рассматривается возможность внутрибрюшинного введения полимерных частиц с инкапсулированным цитостатическим препаратом так называемая интраперитонеальная химиотерапия. Аргументами для назначения локальной химиотерапии является меньшая токсичность для организма, при сравнении системной химиотерапии проводимой внутривенно, а также характерная особенность рака яичников



**Рисунок 2.** Схема получения полимерных частиц методом nanoосаждения

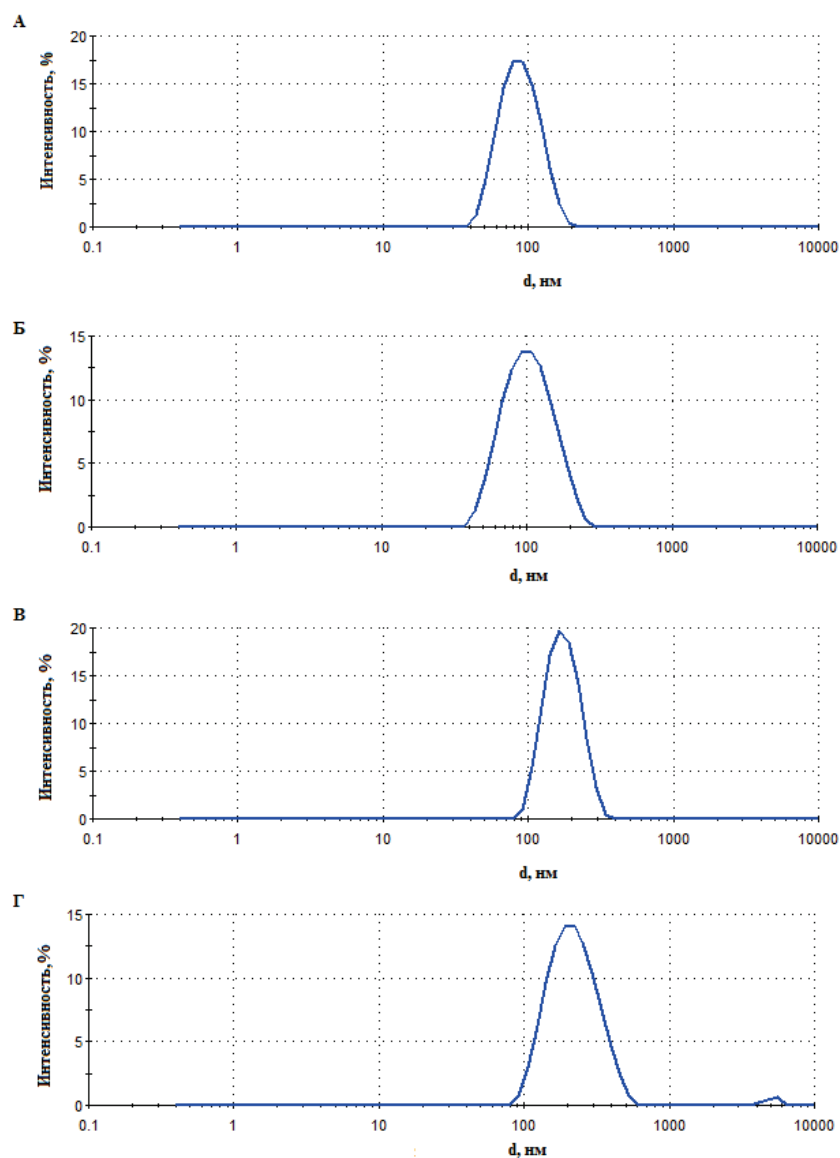
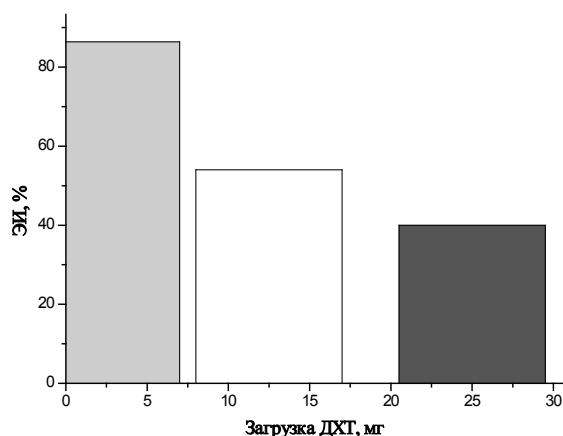


Рисунок 3. Кривые распределения по размерам для полученных частиц

метастазировать по поверхности брюшины в пределах брюшной полости. Основными требованиями при интраперитонеальной химиотерапии являются следующие: противоопухолевый препарат, инкапсулированный в полимерные наноконтейнеры, должен пролонгированно высвобождаться из частиц и медленно выводиться из брюшной полости. Также при высвобождении лекарственный препарат должен проявлять активность в отношении конкретной опухоли. К полимерным частицам, предназначенным для описанной цели, выдвигается важное условие, они должны полностью подвергаться метаболизму с образованием нетоксичных метаболитов при прохождении через печень. В рамках проекта цитостатический препарат – диоксадэт инкапсулировали в процессе формирования частиц на основе ПЭГ-5000-ПМК. На рисунке 3 представлены данные о размерах частиц в зависимости от количества инкапсулированного лекарственного препарата. Установлено, что при исходной концентрации 5 мг/мл сополимера ПЭГ-5000-ПМК в ацетонитриле и соотношении органической фазы к водной 1:5, размер частиц без препарата составляет - 80 нм (рис. 3А), при загрузке 43 мкг/мг полимерных частиц – 95 нм (рис. 3Б), при 145 мкг/мг полимерных частиц -165 нм (рис. 3В), при введении 230 мкг/мг - 205 нм (рис. 3Г). Показано, что все полученные полимерные частицы характеризуются наличием унимодального распределения по размерам. Увеличение количества инкапсулированного диоксадэта приводит к уменьшению значения дзета-потенциала с -24 до -12 мВ.

На рисунке 4 представлена зависимость эффективности инкапсулирования (ЭИ) от первоначальной загрузки диоксадэта. Эффективность инкапсулирования в системе снижается при увеличении количества загружаемого лекарственного препарата. При первоначальной загрузке – 2,5 мг диоксадэта, ЭИ составила -83%, на 1 мг полимерных частиц составила - 43 мкг, при 12,5 мг - ЭИ была -58 %, при этом на 1 мг частиц было введено -145 мкг лекарства, при 25 мг ЭИ - 46 %, а загрузка на 1 мг полимерного носителя составила -230 мкг.



**Рисунок 4.** Зависимость эффективности инкапсулирования от загрузки диоксадэта

В предварительных экспериментах по инкапсулированию диоксадэта показано, что данный цитостатический препарат включается в разрабатываемые полимерные наноконтейнеры.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда проект №14-50-00069, направление 05-109.*

**Список литературы / References:**

1. Rao J.P., Geckeler K.E. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Prog. Polym. Sci.*, 2011, vol. 36, no. 7, pp. 887-913.
2. Makadia H.K., Siegel S.J. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers*, 2011, vol. 3, no. 3, pp. 1377-1397.
3. Lepeltier E., Bourgaux C., Couvreur P. Nanoprecipitation and the “Ouzo effect”: Application to drug delivery devices. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2014, vol. 71, pp. 86-97.
4. Beck-Broichsitter M. [et al.] Preparation of nanoparticles by solvent displacement for drug delivery: A shift in the “ouzo region” upon drug loading. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2010, vol. 41, no. 2, pp. 244-253.

**BIODEGRADABLE NANOPARTICLES BASED ON ALIPHATIC POLYESTER AS DRUG DELIVERY SYSTEM**

**Sinitsyna E.S.<sup>1,2</sup>, Korzhikov-Vlakh V.A.<sup>1</sup>, Bespalov V.G.<sup>3</sup>, Tennikova T.B.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Institute of Chemistry, Saint-Petersburg State University  
*Universitetskii pr. 26, St. Petersburg, 198504, Russia*

<sup>2</sup> Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences  
*Bolshoy pr. 31, St. Petersburg, 199004, Russia*

<sup>3</sup> N.N. Petrov Research Institute of Oncology of the Ministry of Health  
*Leningradskay Street 68, St. Petersburg, 197758, Russia*

**Abstract.** The preparation of nanocontainers for targeted drug delivery is a rapidly developing field of biomedical chemistry. The synthesis of biodegradable block copolymer of polyethylene glycol (PEG-5000) with polylactic acid (PLA) was performed via stannous octoate initiated ring-opening polymerization in bulk. Molecular weights and molecular weight distribution of obtained polymer were studied by Size exclusion chromatography (SEC). For the characterization of obtained samples <sup>1</sup>H-NMR was used. Polymer particles with the sizes from 40 to 200 nm were prepared by nanoprecipitation method. Dioxadeta was encapsulated in biodegradable polymer containers this cytotoxic drug used for the treatment of ovarian cancer. The encapsulation efficiency for the developed systems ranged from 46 to 83%, the loading content was equal to 230  $\mu\text{g mg}^{-1}$  of particles.

**Key words:** *biodegradable particles, drug delivery, nanoprecipitation.*