

ПОЛИМЕРНЫЕ МИЦЕЛЛЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ ДЕКСАМЕТАЗОНА
**Коржикова-Влах Е.Г.^{1,2}, Вдовченко А.А.¹, Стулова Е.Г.¹, Зашихина Н.Н.², Левит М.Л.²,
Тенникова Т.Б.¹**

¹ Институт химии, Санкт-Петербургский государственный университет
Университетский проспект, 26, Петергоф, г. Санкт-Петербург, 198504, РФ

² Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук
Большой пр. В.О. 31, г. Санкт-Петербург, 199004, РФ; e-mail: vlakh@mail.ru

Поступила в редакцию: 13.07.2018.

Аннотация. Полимерные наночастицы различного состава и морфологии находят все более широкое применение для создания систем доставки лекарств. В данной работе обсуждается получение полимерных мицелл на основе амфифильных сополимеров, таких как поли(*N*-метакриламидо-*D*-глюкоза)-*б*-поли(*O*-холестерилметакрилат) и поли(*L*-лизин-*co*-*L*-фенилаланин) с различным соотношением аминокислот. Указанные сополимеры были синтезированы с использованием метода контролируемой полимеризации с обратимой передачей цепи и метода полимеризации с раскрытием цикла *N*-карбоксиянгидридов α -аминокислот, соответственно, и охарактеризованы методами ГПХ, ЯМР и аминокислотного ВЭЖХ анализа. На основе синтезированных амфифильных сополимеров были получены сферические наночастицы, гидродинамический диаметр которых лежал в пределах от 110 до 200 нм в зависимости от состава сополимера. Морфология полученных наночастиц была исследована методом просвечивающей электронной микроскопии. Для всех синтезированных полимеров наблюдалось формирование сферических мицелл. Эффективность инкапсулирования дексаметазона в полимерные мицеллы составила 70-90 %. Полученные системы характеризовались стабильностью в отношении самопроизвольного высвобождения дексаметазона в модельных физиологических условиях.

Ключевые слова: амфифильные сополимеры, наночастицы, полимерные мицеллы, инкапсулирование лекарств, дексаметазон.

ВВЕДЕНИЕ

Полимерные микро- и наночастицы различного состава и морфологии представляют собой мощный инструмент для создания систем доставки широкого круга лекарств [1]. К преимуществам инкапсулированных лекарственных форм на основе полимерных частиц относятся (1) пролонгированное действие лекарства, (2) защита лекарственной субстанции от преждевременной инактивации и/или (3) снижение нежелательного системного действия.

Одной из перспективных групп полимеров для создания систем доставки лекарств являются амфифильные сополимеры. Данные сополимеры обладают способностью к самоорганизации в водных средах с образованием наноматериалов с требуемыми морфологией, размером, стабильностью и многими другими параметрами [2]. Благодаря уникальной структуре амфифильные макромолекулы способны аккумулироваться на границе органической и водной фаз, а в водных растворах ориентация макромолекул осуществляется таким образом, чтобы гидрофобные участки удалялись из водной окружающей среды для достижения минимального уровня энергии. При этом, вследствие неблагоприятных взаимодействий между молекулами воды и гидрофобным фрагментом макромолекулы происходит самоагрегация гидрофобных участков, что приводит к структурированию окружающей воды и уменьшению энтропии системы. В ходе самоорганизации амфифильные сополимеры способны образовывать ряд структур различной морфологии, а именно сферические и цилиндрические мицеллы, а также полимеросомы. Мицеллы и полимеросомы являются перспективными системами для инкапсулирования гидрофобных веществ. Инкапсулирование происходит после растворения амфифильного полимера вместе с низкомолекулярным соединением в органической фазе и самоорганизации частиц при введении водного раствора в систему. Гидрофобное лекарство при этом локализуется в гидрофобном ядре мицелл или гидрофобном бислое мембраны полимеросом.

Наиболее часто используемые для получения наноматериалов амфифильные сополимеры являются блок-сополимерами. В качестве гидрофильных блоков широко используются как синтетические полимеры, например, полиэтиленгликоль (ПЭГ), поли-(*N*-(2-гидроксипропил)метакриламид), поливинилпирролидон, так и природные полимеры, такие как декстран, декстрин, хитозан или полиаминокислоты [3]. Среди наиболее часто обсуждаемых гидрофобных фрагментов можно упомянуть такие биodeградируемые полимеры, как полилактид и поликапролактон, а также гидрофобные полипептиды. Также из литературы известны амфифильные сополимеры, содержащие в качестве гидрофобных блоков небiorазлагаемые полимеры, например, полистирол, полиэтилен, полибутадие и др. [4, 5].

Дексаметазон является эффективным гормональным противовоспалительным лекарственным веществом. В частности, этот препарат хорошо зарекомендовал себя в лечении острых и хронических офтальмологических, дерматологических заболеваний, а также лейкемии и заболеваний среднего уха [6, 7]. Однако использование данного глюкокортикостероида сопряжено с рядом побочных эффектов, особенно при системном введении.

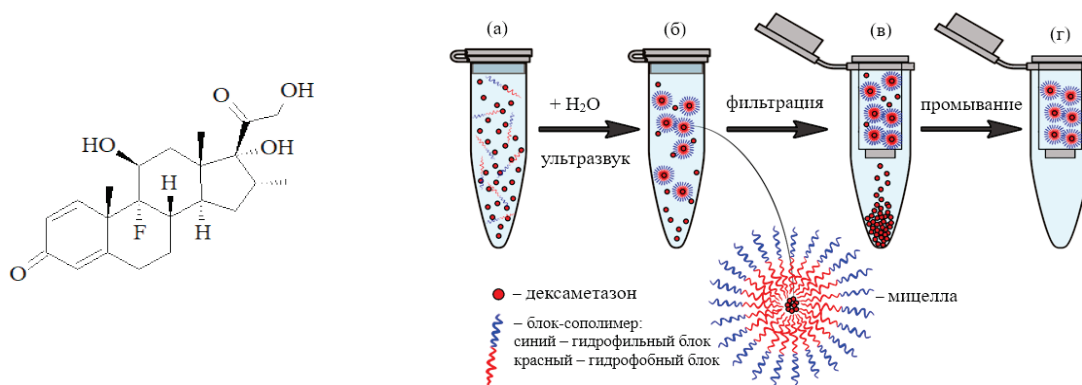


Рисунок 1. Структура дексаметазона и схема его инкапсулирования в полимерные мицеллы на основе амфифильного сополимера: (а) – амфифильный сополимер и дексаметазон в ацетонитриле; (б) – суспензия наночастиц с инкапсулированным и свободным дексаметазоном в смеси ацетонитрил/вода; (в) – ультрафильтрация суспензии наночастиц от низкомолекулярного препарата; (г) – полимерные мицеллы с инкапсулированным препаратом после промывания.

Несмотря на предпочтительность местного применения дексаметазона при таком способе введения не всегда удается достичь удовлетворительного проникновения лекарства через стекловидное тело при терапии глазных заболеваний. В офтальмологии инъекции помогают достичь терапевтических уровней препарата в стекловидном теле или сетчатке и минимизировать побочные эффекты, однако в данном случае возрастает риск повреждения глазного яблока, что может приводить к периокулярному фиброзу и птозу, отслоению сетчатки или кровоизлиянию стекловидного тела, особенно при повторяющихся инъекциях. Обойти перечисленные проблемы позволяет использование систем доставки лекарств, обеспечивающих более длительное удержание лекарства в витреальной полости глаза, что позволит снизить частоту инъекций с сохранением преимуществ местного применения лекарства [8]. Таким образом, создание полимерных систем доставки имеет высокую практическую значимость.

Дексаметазон представляет собой синтетический глюкокортикостероид (рис. 1), малорастворимый в воде. Растворимость в воде при температуре 25 °С составляет 89 мг/л. Несмотря на то, что и полимерные мицеллы и полимеросомы могут быть использованы для инкапсулирования гидрофобных веществ, использование первых является более предпочтительным. В частности, полимерные мицеллы, внутреннее ядро которых является гидрофобным, позволяют инкапсулировать большее количество гидрофобного лекарства, без значительного увеличения размера частицы. В то же время, локализация гидрофобного лекарства в полимерном бислое полимеросомы обычно сопровождается заметным увеличением размера последней.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В данной работе для создания систем доставки дексаметазона были выбраны два типа амфифильных сополимеров. В первом случае это был блок-сополимер, содержащий в качестве гидрофильного блока поли(*N*-деоксиметакриламида-*D*-глюкозу) (ПМАГ), а в качестве гидрофобного – поли(*O*-холестерилметакрилат) (ПХМАК). Во втором случае были использованы статистические амфифильные сополимеры на основе *L*-аминокислот, а именно лизина (Lys) (гидрофильные звенья) и фенилаланина (Phe) (гидрофобные звенья). В первом случае синтез сополимера осуществляли методом контролируемой радикальной полимеризации с обратимой передачей цепи (RAFT-полимеризация) с использованием дитиобензоата (ДТБ) в качестве RAFT-агента и динитрил-азо-*bis*-изомаасляной кислоты (ДИНИЗ) в качестве инициатора. Для этого первоначально синтезировали и охарактеризовали ПМАГ-ДТБ, который затем использовали как макроRAFT агент для наращивания блока ПХМАК. ПМАГ-ДТБ был получен с использованием следующего мольного соотношения компонентов: [МАГ]:[ДТБ]:[ДИНИЗ] = 20:1:0,25. Процесс полимеризации проводили в течение 16 ч и температуре 70 °С при непрерывном перемешивании. Гомополимер имел следующие молекулярно-массовые характеристики (метод гелепроникающей хроматографии): $M_n = 4600$; $M_w = 4800$; $D = 1,05$.

Получение ПМАГ-*b*-ПХМАК проводили в смеси диметилформамида и толуола в течение 40 часов при температуре 60 °С. В силу того, что полученный сополимер характеризовался плохой растворимостью в органических и водных средах, определение структуры и состава методами ЯМР и ГПХ представлялось нецелесообразным. Состав полученного сополимера был определен методом ИК-спектроскопии. После проведения реакции сополимеризации в ИК-спектре появляется характеристическая полоса при 1728 см⁻¹, отвечающая валентным колебаниям С=О группы в сложных эфирах. Кроме того, появление характеристических полос при 2868, 1463 и 1384 см⁻¹ свидетельствует о наличии валентных симметричных, деформационных ассиметричных и симметричных колебаний СН₃-групп, соответственно, присутствующих у ПХМАК в значительно большем количестве по сравнению с гомополимером ПМАГ-ДТБ. Определение содержания звеньев

Таблица 1. Характеристики полученных амфифильных сополимеров

| Образец № | Исходное соотношение [Lys]/[Phe] | ГПХ | | | Состав сополимера | | Установленное соотношение [Lys]/[Phe] |
|-----------|----------------------------------|-------|-------|------|-------------------|-----|---------------------------------------|
| | | M_n | M_w | D | Lys | Phe | |
| 1 | 1/1 | 34660 | 45430 | 1,31 | 119 | 132 | 0,8/1,0 |
| 2 | 4/1 | 46200 | 62190 | 1,35 | 259 | 88 | 3,4/1,0 |
| 3 | 8/1 | 50700 | 63350 | 1,25 | 352 | 38 | 8,6/1,0 |

ХМАК в блок-сополимере ПМАГ- δ -ПХМАК было проведено методом ИК-спектроскопии по предварительно построенной калибровочной зависимости для смеси гомополимеров ПМАГ и ПХМАК. Правильность использования смесей гомополимеров для анализа состава блок-сополимеров была показана в нескольких работах на примере блок-сополимеров этилена и пропилена, и др. [9, 10]. Соотношение интенсивностей полос поглощения, характерных для гомополимеров ПМАГ и ПХМАК, позволило определить мольную долю гидрофобного участка ПХМАК в блок-сополимере. На основании полученных данных и молекулярной массы ПМАГ, определенной методом ГПХ, было рассчитано число звеньев ХМАК в сополимере и среднечисленная молекулярная масса ПХМАК. Значения указанных параметров составили приблизительно 18 и 8100, соответственно. Таким образом, полученный блок-сополимер имел следующий состав и молекулярную массу: ПМАГ₁₈- δ -ПХМАК₁₈, $M_n \approx 12700$.

В случае статистических сополимеров синтез проводили путем полимеризации с раскрытием цикла N-карбоксиангидридов соответствующих α -L-аминокислот [11, 12] с использованием гексисламина как инициатора. Синтез осуществляли при температуре 25 °С в течение 48 часов. Определение молекулярно-массовых характеристик сополимеров П(Lys-co-Phe) проводили методом гелепроникающей хроматографии (ГПХ). Состав сополимеров определяли методом хроматографического аминокислотного анализа после полного кислотного гидролиза сополимеров. Исходное соотношение аминокислот и характеристики полученных сополимеров представлены в таблице 1.

Получение наноматериалов за счет самоорганизации амфифильных сополимеров осуществляли методом инверсии фаз, т.е. заменой органического растворителя (ДМФА, ацетонитрил) на воду. При этом замена растворителя приводит к прогрессирующей агрегации полимера вследствие потери растворимости и формированию суспензии наночастиц. Для хранения и последующего приготовления суспензии наночастиц в различных средах с нужной концентрацией исходную суспензию лиофильно высушивали. Перед исследованием физико-химических характеристик и биологических свойств к навеске высушенных частиц добавляли необходимый объем буферного раствора и проводили редиспергирование под кратковременным воздействием ультразвука (30 с).

Морфология полученных частиц была установлена методом сканирующей просвечивающей микроскопии (СПЭМ). Согласно представленным на рисунке 2 микрофотографиям полученные наночастицы представляют собой сферические мицеллы. Размер наночастиц в сухом состоянии (СПЭМ) лежал в пределах 10-50 нм.

Гидродинамический диаметр (D_H) полученных полимерных мицелл и их распределение по размеру (индекс полидисперсности, PDI) определяли методом динамического рассеяния света (ДРС). Характеристики полученных образцов, определенные в 0,01 М Na-фосфатном буферном растворе (рН 7,4), представлены в таблице 2. Из полученных данных видно, что формирование самых маленьких по размеру частиц наблюдалось для холестерин-содержащего полимера. При этом сильно гидрофобная природа данного полимерного блока, обуславливающая плохую растворимость данного образца, как в водных, так и в органических растворителях, приводила к формированию коллоидной системы с высоким индексом полидисперсности. Для полимеров на основе аминокислот наблюдалось увеличение среднего гидродинамического диаметра, а также уменьшение индекса полидисперсности при увеличении содержания гидрофильной аминокислоты (лизин). Увеличение размера частиц объясняется большим отталкиванием одноименно заряженных звеньев лизина при увеличении их доли в сополимере. Снижение полидисперсности при уменьшении содержания гидрофобной аминокислоты обусловлено лучшей растворимостью таких сополимеров. Положительный заряд наночастиц на основе

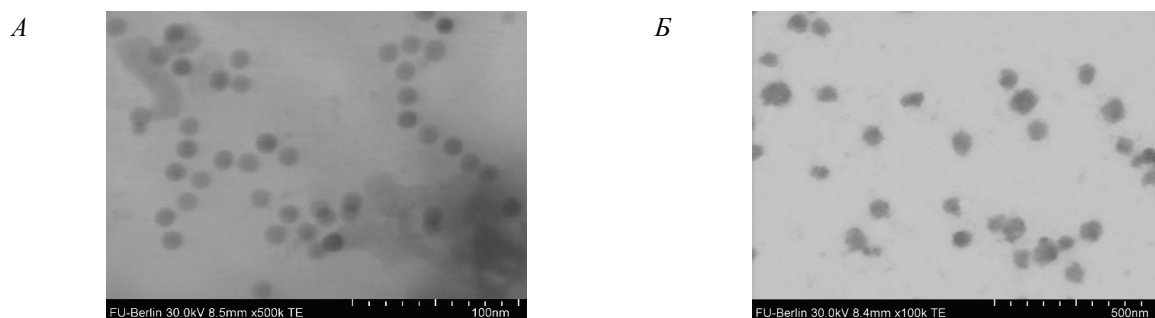


Рисунок 2. Микрофотографии полученных наночастиц (ТЭМ): А – полимерные мицеллы на основе сополимера ПМАГ- δ -ПХМАК; Б – полимерные мицеллы на основе сополимера П(Lys-co-Phe) (1/1)

Таблица 2. Характеристики полученных полимерных мицелл (ДРС)

| Полимер | D_H , нм | PDI | ξ -потенциал, мВ |
|----------------------|------------|-------|----------------------|
| ПМАГ- β -ПХМАК | 110 | 0,60 | -31 |
| П(Lys-co-Phe), 1/1 | 114 | 0,39 | +31 |
| П(Lys-co-Phe), 1/4 | 171 | 0,27 | +31 |
| П(Lys-co-Phe), 1/8 | 193 | 0,15 | +35 |

полиаминокислот является следствием ионизации ϵ -аминогрупп лизина в выбранных условиях (рН 7,4), а отрицательный заряд мицелл на основе сополимера ПМАГ- β -ПХМАК – ионизацией концевых карбоксильных групп, вводимых в ПМАГ за счет RAFT-агента на стадии полимеризации. Считается, что коллоидная система является стабильной, если абсолютные значения ξ -потенциала превышают 30 мВ [13]. Действительно, мониторинг размеров полученных наносистем в 0,01 М натрий-фосфатном буферном растворе (рН 7,4) методом ДРС в течение трех недель подтвердил стабильность коллоидной системы, что выразилось в отсутствии агрегации и преципитации наночастиц.

В случае частиц на основе полиаминокислот, содержащих лизин, была также изучена зависимость гидродинамического размера и электрокинетического потенциала от рН. Поскольку тенденция в изменении размера и заряда для наночастиц на основе всех образцов П(Lys-co-Phe) была идентична, в таблице 3 представлены данные только для образца с наибольшим содержанием ионизируемой аминокислоты. Измерения проводили в среде фонового электролита (вода + 1 М HCl/NaOH до нужного рН + 0,001 % NaCl). Как и ожидалось, максимальный размер и ξ -потенциал регистрировались в сильноокислой среде (рН 3). В этих условиях степень ионизации аминогрупп боковой цепи была максимальна, вследствие чего происходило отталкивание одноименно-заряженных полимерных цепей. Переход к нейтральной и щелочной средам, вплоть до рН 10, характеризовался стабильностью заряда и небольшой компактизацией частиц. При рН 11 наблюдалось резко снижение значения ξ -потенциала с 31-35 до 8 мВ, что было вызвано депротонированием ϵ -аминогрупп лизина и, как следствие, приводило к резкой агрегации частиц.

Применение полученных наночастиц в качестве систем доставки лекарств или диагностических инструментов ставит задачу определения биосовместимости наноматериалов. Одним из первичных тестов на «биосовместимость» является анализ цитотоксичности частиц по отношению к клеткам человека. Поскольку размер, форма и агрегация частиц могут заметно повлиять на результаты клеточных экспериментов, перед их проведением было необходимо исследовать агрегационную устойчивость частиц в культуральной среде. Такие параметры как рН, ионная сила раствора и присутствие белков могут оказывать значительное влияние на стабильность суспензии наночастиц по сравнению с буферным раствором и приводить к искажению результатов клеточных экспериментов [14]. Данные предварительного определения изменений размера частиц методом ДРС в течении 24 ч по сравнению с результатами, полученными в фосфатно-натриевом буферном растворе (рН = 7.4), представлены в таблице 4. Видно, что инкубирование частиц в культуральной среде приводило к частичному увеличению гидродинамического размера частиц. Однако дальнейшее измерение цитотоксичности получаемых частиц (МТТ-тест) на клетках кератиноцитах человека в течение 48 часов не выявило токсического эффекта вплоть до концентрации частиц в системе равной 1 мг/мл.

Инкапсулирование препарата проводилось методом наноосаждения [15]. Для этого раствор амфифильного сополимера и дексаметазона в органическом растворителе (ацетонитрил) смешивали с натрий фосфатным буферным раствором (рН = 7,4) при интенсивном перемешивании. Принцип получения наночастиц методом наноосаждения основывается на межфазном высаживании полимера после вытеснения полуполярного растворителя, смешивающегося с водой, из липофильного раствора. Быстрая диффузия раствора в нерастворяющую фазу приводит к уменьшению поверхностного натяжения между двумя фазами и формированию малых капель органического растворителя. При этом происходит формирование частиц небольшого размера с узким распределением по размеру, содержащих в своем составе липофильное низкомолекулярное лекарство. После формирования частиц суспензия очищалась от низкомолекулярного препарата методом ультрафильтрации с отсекаемой молекулярной массой в 3000 и для полного удаления свободного препарата промывалась 30 % раствором ацетонитрила и, затем для удаления органического растворителя – буферным раствором. Количество неинкапсулированного препарата определяли методом

Таблица 3. Характеристики полимерных мицелл на основе П(Lys-co-Phe) (1/8) в зависимости от рН (ДРС)

| рН | D_H , нм | PDI | ξ -потенциал, мВ |
|----|------------|-------|----------------------|
| 3 | 195 | 0.18 | +43 |
| 5 | 176 | 0.18 | +35 |
| 7 | 160 | 0.19 | +35 |
| 9 | 157 | 0.21 | +34 |
| 10 | 154 | 0.23 | +31 |
| 11 | 2500 | 1.00 | +8 |

Таблица 4. Изменение размеров полимерных мицелл при инкубировании в культуральной среде

| Сополимер | D_H , нм (PDI) | |
|-----------------------|---------------------------|---------------------|
| | буферный раствор (pH 7.4) | культуральная среда |
| ПМАГ- δ -ПХМАК | 110 (0.6) | 300 (0.2) |
| P(Lys-co-Phe) (1/8) | 193 (0.2) | 310 (0.3) |

обращено-фазовой ВЭЖХ в изократических условиях с использованием 30 % раствора ацетонитрила в воде в качестве подвижной фазы. Загрузку частиц дексаметазоном (LC , $мкг/мг$ частиц) рассчитывали по формуле:

$$LC = (m_{dex}^0 - m_{dex}^1) m_c \quad (1)$$

где m_{dex}^0 – количество дексаметазона, взятого для инкапсулирования, $мкг$; m_{dex}^1 – количество свободного (неинкапсулированного) дексаметазона, $мкг$; m_c – масса полимерных частиц, $мг$.

В свою очередь, эффективность инкапсулирования (EE , %) рассчитывали по уравнению:

$$EE = m_{dex}^2 / m_{dex}^0 \times 100 \% \quad (2)$$

где m_{dex}^2 – количество инкапсулированного дексаметазона, $мкг$.

Исследование загрузки дексаметазона внутрь полимерных мицелл и эффективности его инкапсулирования было проведено при постоянной концентрации полимера (1 $мг/мл$) и дексаметазона (100 $мкг/мл$) (табл. 5). Для всех полимерных систем инкапсулирование проходило с высокой эффективностью (EE более 70 %). Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными по инкапсулированию дексаметазона в наночастицы, полученные на основе различных коммерчески доступных полимеров ($EE = 56-78$ %) [16].

Важной характеристикой систем доставки лекарств является стабильность инкапсулированных форм и отсутствие самопроизвольного высвобождения препарата. В нашем случае, стабильность инкапсулированных систем в отношении самопроизвольного высвобождения была оценена посредством инкубирования суспензий частиц, содержащих дексаметазон, в натрий фосфатном буферном растворе (pH = 7,4) при температуре 37 °C в течение 24 часов. Самопроизвольное высвобождение препарата достигало 5-7 % спустя 5 часов инкубирования. Дальнейшее инкубирование инкапсулированных систем не приводило к увеличению уровня свободного дексаметазона в растворе (рис. 3), следовательно, полученные системы могут быть охарактеризованы как стабильные.

Таблица 5. Данные по инкапсулированию дексаметазона в различные полимерные мицеллы ($n = 3$)

| Полимер | EE , % | D_H , нм | PDI |
|-----------------------|----------|------------|-------|
| ПМАГ- δ -ПХМАК | 90 | 130 | 0,35 |
| П(Lys-co-Phe), 1/1 | 70 | 80 | 0,28 |
| П(Lys-co-Phe), 1/4 | 86 | 124 | 0,21 |
| П(Lys-co-Phe), 1/8 | 86 | 180 | 0,13 |

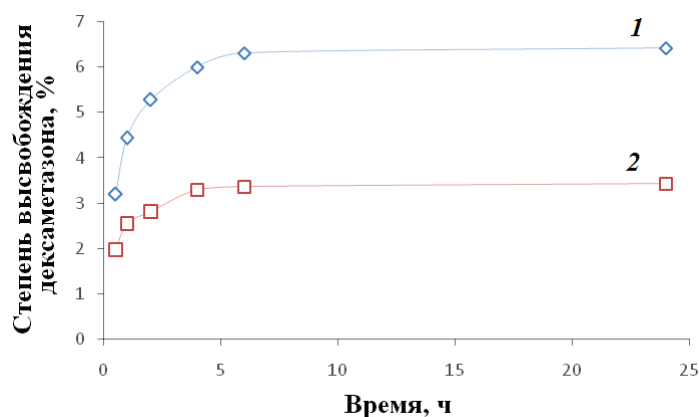


Рисунок 3. Зависимость степени высвобождения дексаметазона от времени инкубирования инкапсулированных форм препарата (0.01 М натрий фосфатный буферный раствор, pH 7,4; 37 °C): 1 – П(Lys-co-Phe) (1/8); 2 – ПМАГ- δ -ПХМАК

Таким образом, все полученные амфифильные полимеры характеризовались способностью к самоорганизации в стабильные сферические мицеллы, не обладали цитотоксическими свойствами, демонстрировали высокую эффективность загрузки дексаметазона, а также отсутствие самопроизвольного высвобождения препарата. В дальнейшем планируется детальное изучение кинетики высвобождения лекарственного вещества из полученных систем доставки в различных модельных средах, включая витреальную среду.

Работа поддержана грантом Правительства РФ договор 14.W03.31.0025 от 15.02.2018. В работе использовано оборудование научного парка СПбГУ: РЦ «Магнитно-резонансные методы исследования» и РЦ «Методы анализа состава вещества».

Список литературы / References:

1. Rozenberg B.A., Tenne R. Polymer-assisted fabrication of nanoparticles and nanocomposites. *Prog. Polym. Sci.*, 2008, vol. 33, pp. 40-112.
2. Letchford K., Burt H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2007, vol. 65, pp. 259-269.
3. Brinkhuis R.P., Rutjes F.P.J.T., van Hest J.C.M. Polymeric vesicles in biomedical applications. *Polym. Chem.*, 2011, vol. 2, pp. 1449.
4. Hadjesfandiari N., Parambath A. Stealth coatings for nanoparticles, in: *Eng. Biomater. Drug Deliv. Syst.*, Elsevier, 2018, pp. 345-361.
5. Saboktakin M., Akhyari S., Nasirov F. Synthesis and characterization of modified starch/polybutadiene as novel transdermal drug delivery system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, vol. 69, pp. 442-446.
6. Martín-Saldaña S., Palao-Suay R., Aguilar M.R., Ramírez-Camacho R., San Román J. Polymeric nanoparticles loaded with dexamethasone or α -tocopheryl succinate to prevent cisplatin-induced ototoxicity. *Acta Biomater.*, 2017, vol. 53, pp. 199-210.
7. Krishnan V., Xu X., Barwe S.P., Yang X., Czymmek K., Waldman S.A., Mason R.W., Jia X., Rajasekaran A.K. Dexamethasone-Loaded Block Copolymer Nanoparticles Induce Leukemia Cell Death and Enhance Therapeutic Efficacy: A Novel Application in Pediatric Nanomedicine. *Mol. Pharm.*, 2013, vol. 10, pp. 2199-2210.
8. Gomezgaete C., Tsapis N., Besnard M., Bochet A., Fattal E. Encapsulation of dexamethasone into biodegradable polymeric nanoparticles. *Int. J. Pharm.*, 2007, vol. 331, pp. 153-159.
9. Cole K.C., Thomas Y., Pellerin E., Dumoulin M.M. New Approach to Quantitative Analysis of Two-Component Polymer Systems by Infrared Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 1996, vol. 50, pp. 774-780.
10. Ralph I.S.B., Paroli M., Lara J., Hechler J.-J., Cole K.C. Quantitative Analysis of Monomer Composition in Ethylene-Propylene Block Copolymers by FT-IR Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 1986, vol. 41, pp. 319-320.
11. Cheng J., Deming T.J. Synthesis of Polypeptides by Ring-Opening Polymerization of α -Amino Acid N-Carboxyanhydrides. *Top. Curr. Chem.*, 2012, vol. 310, pp. 1-26.
12. Vlach E., Ananyan A., Zashikhina N., Hubina A., Pogodaev A., Volokitina M., Sharoyko V., Tennikova T. Preparation, Characterization, and Biological Evaluation of Poly(Glutamic Acid)-b-Polyphenylalanine Polymersomes. *Polymers.*, 2016, vol. 8, p. 212.
13. Prokop A., Iwasaki Y., Harada A. [et al.] *Intracellular Delivery II: Fundamentals and Applications*. Springer, The Netherlands, Dordrecht, 2014, 479 p.
14. Kong B., Seog J.H., Graham L.M., Lee S.B. Experimental considerations on the cytotoxicity of nanoparticles, *Nanomedicine*, 2011, vol. 6, pp. 929-941.
15. Rao J.P., Geckeler K.E. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Prog. Polym. Sci.*, 2011, vol. 36, pp. 887-913.
16. Sahle F.F., Gerecke C., Kleuser B., Bodmeier R. Formulation and comparative in vitro evaluation of various dexamethasone-loaded pH-sensitive polymeric nanoparticles intended for dermal applications. *Int. J. Pharm.*, 2017, vol. 516, pp. 21-31.

POLYMERIC MICELLES FOR DEXAMETHASONE DELIVERY

Korzhihova-Vlakh E.G.^{1,2}, Vdovchenko A.A.¹, Stulova E.G.¹, Zashikhina N.N.², Levit M.L.², Tennikova T.B.²¹ Institute of Chemistry, Saint-Petersburg State University,

Universitetskii pr, 26, Peterhof, St. Petersburg, 198504, Russia

² Institute of Macromolecular Compounds of Russian Academy of Sciences
Bolshoi pr. V.O., 31, St. Petersburg, 199004, Russia; e-mail: vlakh@mail.ru

Abstract. Polymer nanoparticles of various composition and morphology are increasingly used to create drug delivery systems. This paper discusses the preparation of polymeric micelles based on amphiphilic copolymers such as poly (*N*-methacrylamido-*D*-glucose)-*b*-poly(*O*-cholesteryl methacrylate) and poly (*L*-lysine-*co-L*-phenylalanine) with different amino acid ratios. These copolymers were synthesized using a controlled radical polymerization and a ring-opening polymerization of *N*-carboxyanhydrides of α -amino acids, respectively, and characterized by GPC, NMR and amino acid HPLC analysis. Based on the synthesized amphiphilic copolymers, spherical nanoparticles were obtained whose hydrodynamic diameter ranged from 110 to 200 nm, depending on the composition of the copolymer. The morphology of the obtained nanoparticles was studied by transmission electron microscopy. For all synthesized polymers, the formation of spherical micelles was observed. The efficiency of dexamethasone encapsulation in polymeric micelles was 70-90 %. The obtained systems were characterized by stability with respect to the spontaneous release of dexamethasone under model physiological conditions.

Key words: amphiphilic copolymers, nanoparticles, polymer micelles, drug encapsulation, dexamethasone.