



Международный онлайн семинар
«Проблемы использования наночастиц в тераностике»



Самособирающиеся структуры на основе гидрофобизированной гиалуроновой кислоты для тераностики

Антонова М. М.¹, Бейгуленко Д.В.¹, Никитин А.А.^{1,2}, Ермоленко Ю. В.¹,
Гельперина С. Э.¹

¹ Научно-образовательная лаборатория СДЛВ, *Российский химико-технологический университет
им. Д. И. Менделеева, Москва, Россия*

² *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
"Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»*

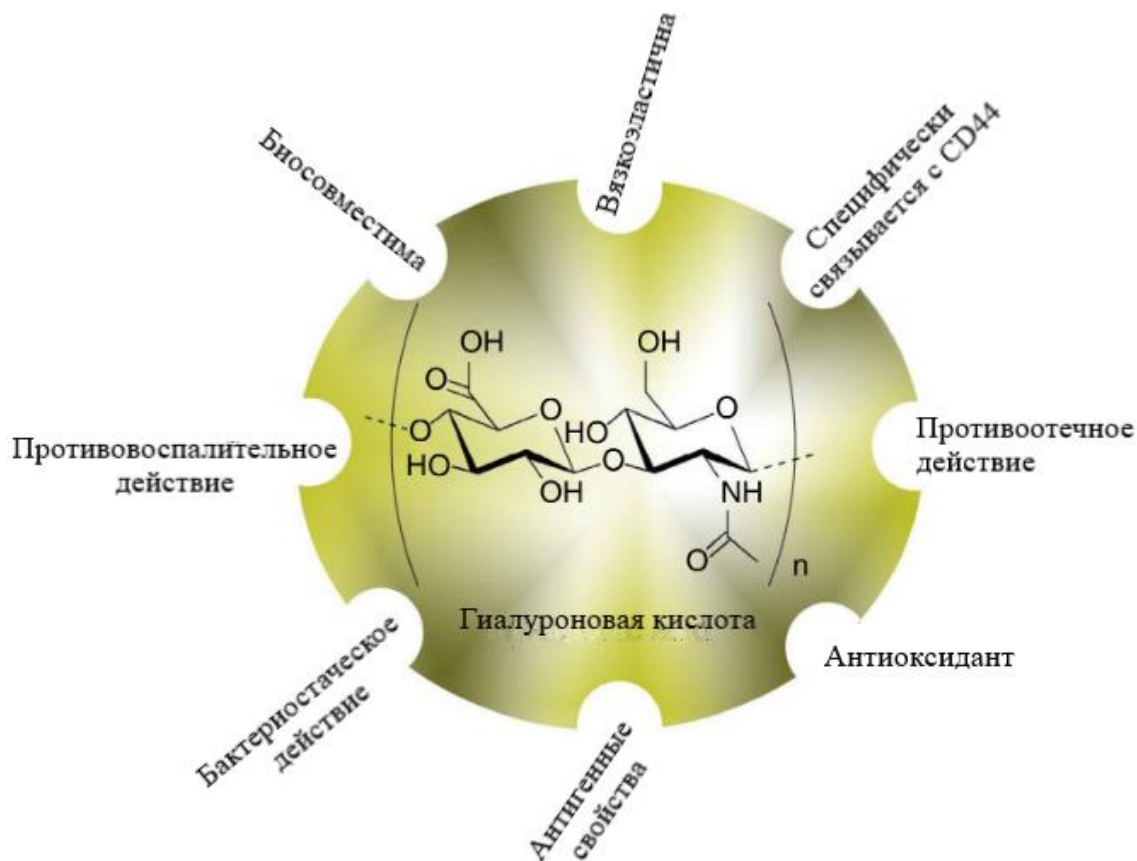


Москва, 2023

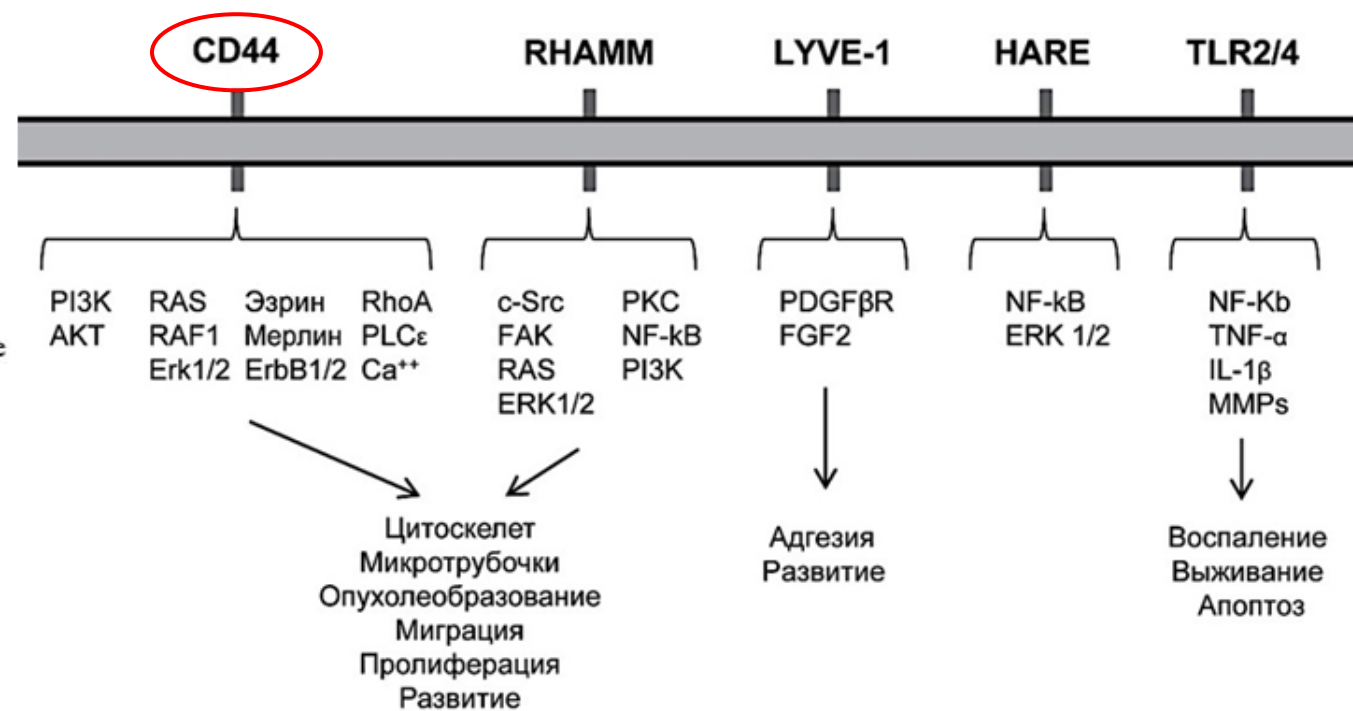


Гиалуроновая кислота (ГК) является одним из наиболее перспективных биополимеров-носителей для направленной доставки лекарственных веществ (ЛВ). В организме ГК связывается с клеточным рецептором CD44, гиперэкспрессия которого характерна для многих опухолевых клеток. Таким образом, ГК может выполнять роль не только носителя ЛВ, но и вектора для доставки его в опухолевые клетки.

Преимущества гиалуроновой кислоты



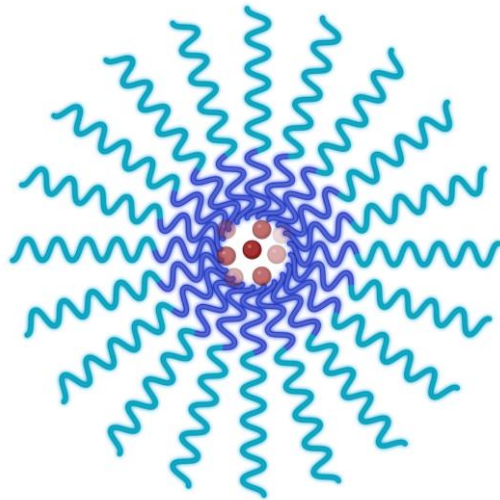
Сигнальные каскады «гиалуроновых» рецепторов и их участие в функциях клеток и тканей



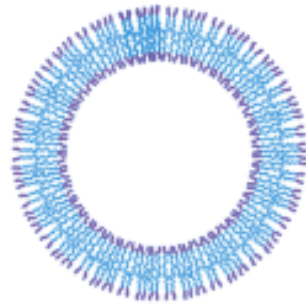
СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Системы наноносителей

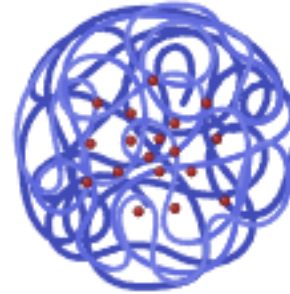
Мицелла



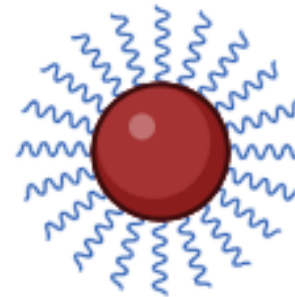
Полимерсома



Гидрогель



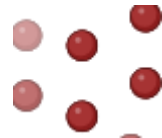
Модифицированная поверхность наночастицы



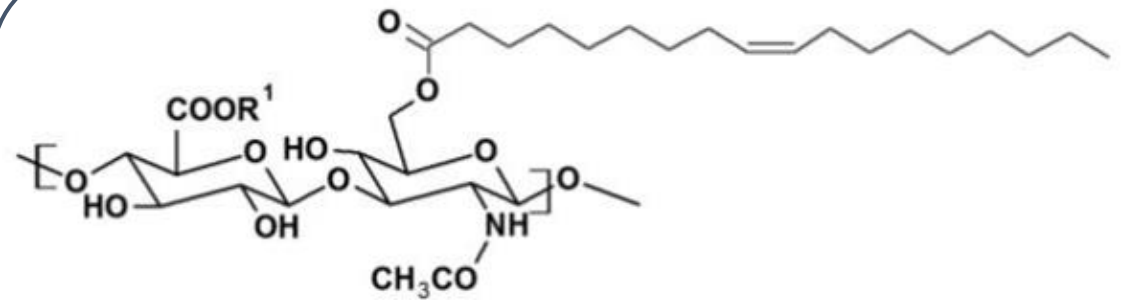
- Гидрофильная часть



- Гидрофобная часть

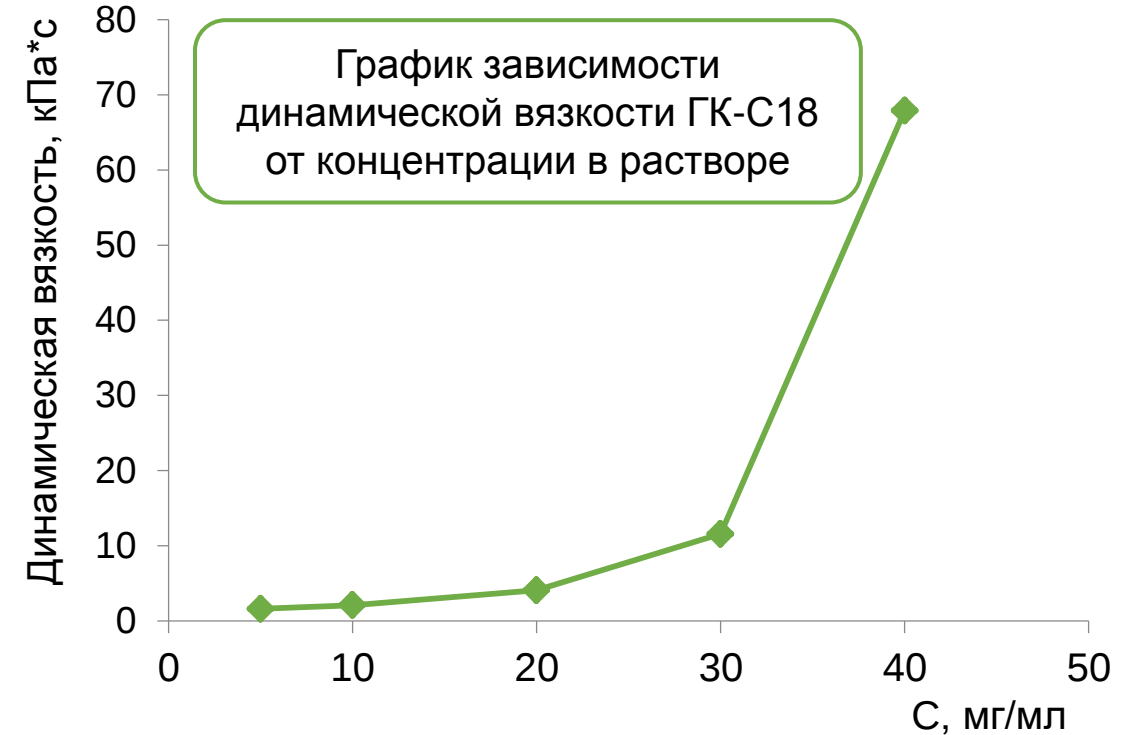
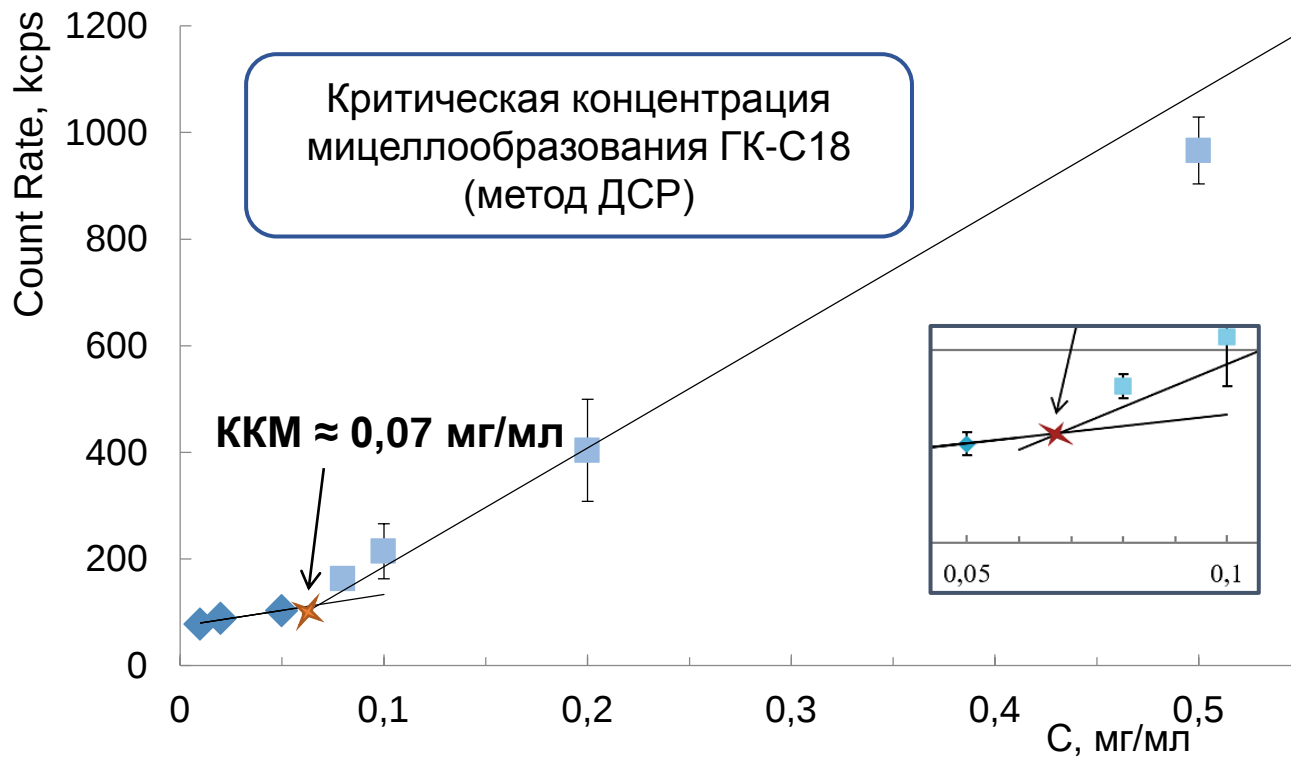


- Гидрофобное ЛВ



Гиалуроновая кислота,
гидрофобизированная олеиновой кислотой
(9кДа), степень замещения 17%

МИЦЕЛЛЯРНЫЕ ФОРМЫ НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ



Характеристики мицеллярных форм ГК-С18 в различных средах

Среда	Z-Ave, нм	PDI	Vol., нм	ZP, мВ
Вода(pH~6)	447,8 ± 11,5	0,348 ± 0,125	379,9 ± 84,9 (100%)	-54,4 ± 3,0
NaCl 0,9%	204,3 ± 14,7	0,549 ± 0,014	381,0 ± 68,4 (9,5%) 31,0 ± 2,4 (89,8%)	-
Фосфатный буфер 50мМ (pH~6)	339,3 ± 51,2	0,416 ± 0,011	396,5 ± 15,0 (76,8%) 30,47 ± 7,9 (23,2%)	-
HSA 4%*	47,6 ± 4,9	0,880 ± 0,068	508,0 ± 127,2 (0%) 52,6 ± 10,4 (0%) 4,4 ± 0,1 (100%)	-

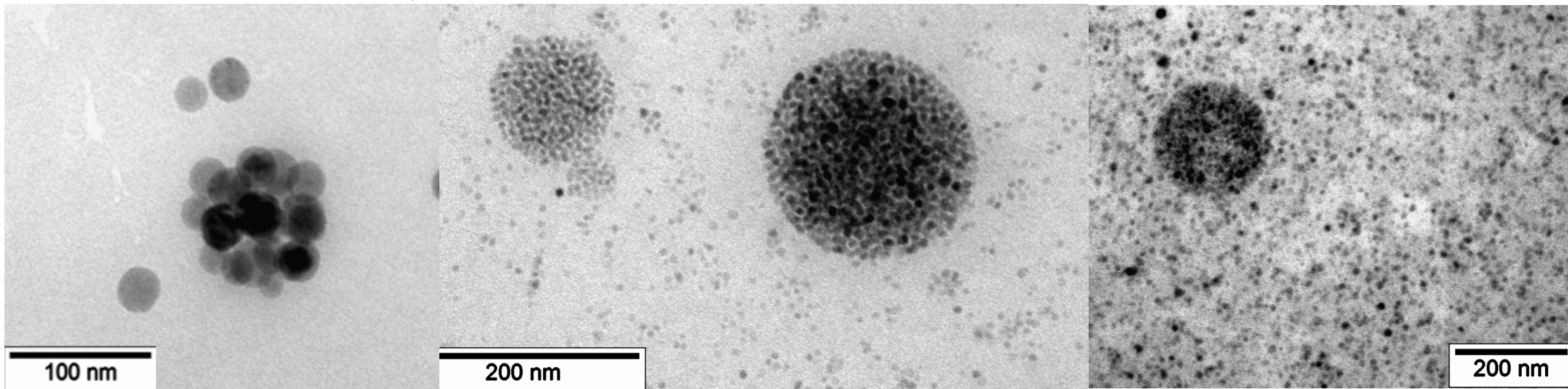
*Nesporova K. et al Influence of serum albumin on intracellular delivery of drugloaded hyaluronan polymeric micelles // International Journal of Pharmaceutics. – 2016. – Vol. 511, №1. – P. 638-647

МИЦЕЛЛЯРНЫЕ ФОРМЫ ГК-C18:SPION

Получение мицеллярных форм методом ультразвуковой гомогенизации:



ПЭМ изображения и SPION получены в МИСиС



ГК-C18:SPION 30nm (Fe₃O₄)

ГК-C18:SPION 10nm (CoFe₂O₄)

ГК-C18:SPION 13nm (Fe₃O₄)

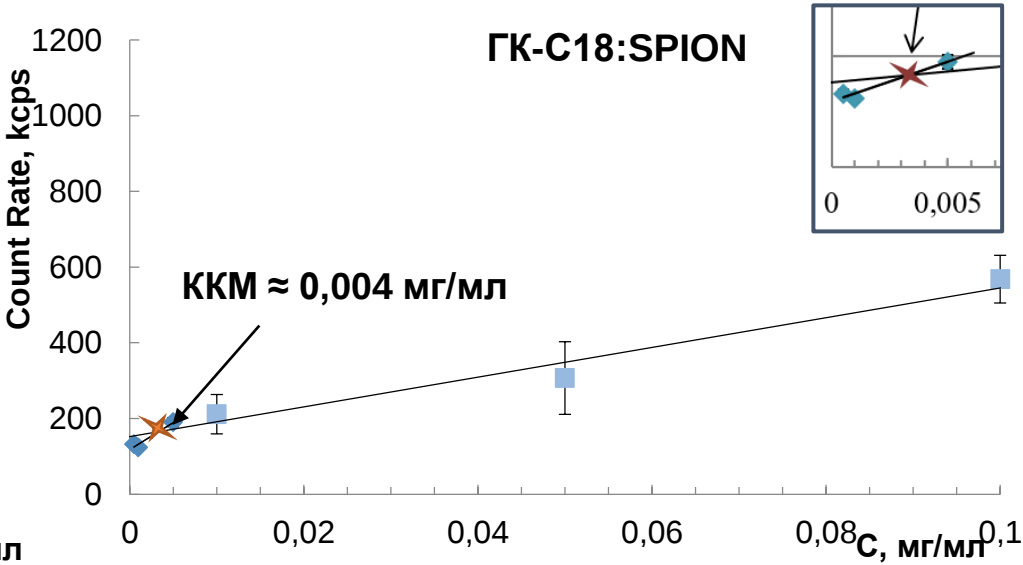
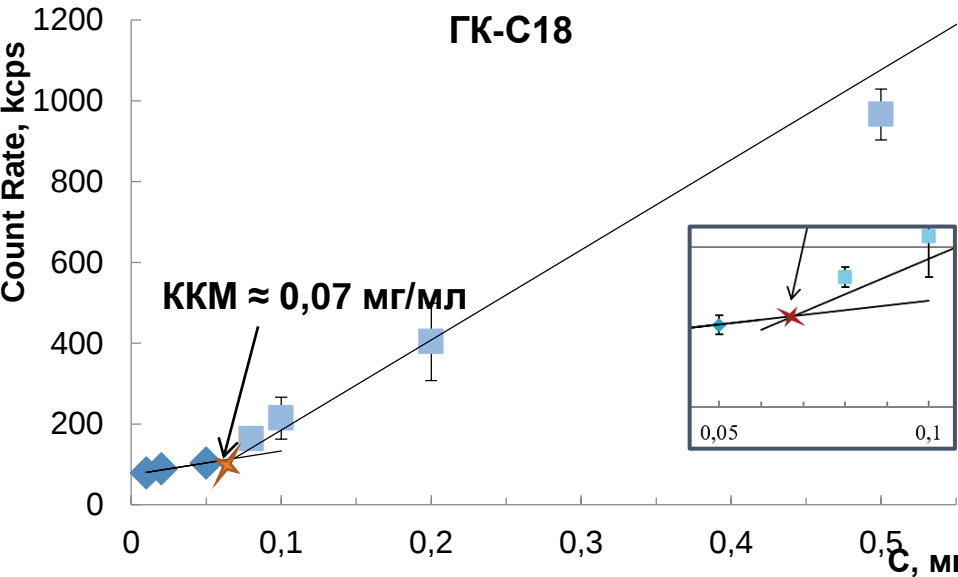
Характеристики полученных мицеллярных форм
ГК-C18:SPION

	Z-Ave, нм	PDI	ZP, мВ
ГК-C18:SPION 30nm (Fe3O4)	158,4 ± 3,7	0,143 ± 0,025	-49,0 ± 1,3
ГК-C18:SPION 10nm (CoFe2O4)	186,4 ± 1,7	0,096 ± 0,012	-53,4 ± 1,8
ГК-C18:SPION 13nm (Fe3O4)	120,8 ± 6,2	0,147 ± 0,036	-50,6 ± 3,0
ГК-C18	447,8 ± 11,5	0,348 ± 0,125	-54,4 ± 3,0

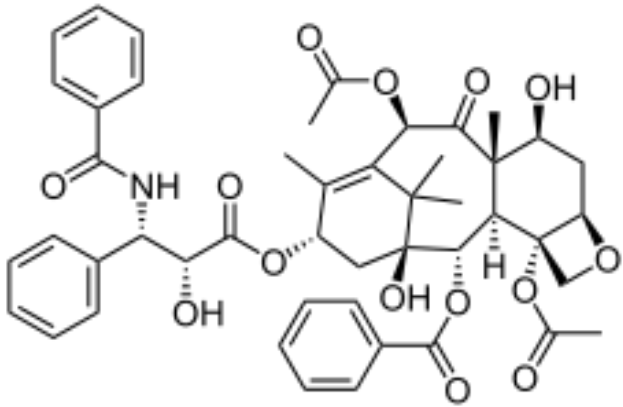
Влияние скорости центрифугирования на размер мицелл
ГК-C18, нагруженных SPION

Скорость центрифугирования, об/мин	Размеры мицелл в 1 день, нм	Размеры мицелл на 5 день, нм	Размеры мицелл на 30 день, нм
3000 об/мин	165,7 ± 6,225	175,2 ± 2,798	151,5 ± 0,755
4500 об/мин	155,8 ± 5,166	154,4 ± 1,745	144,7 ± 1,682
8000 об/мин	116,1 ± 2,027	126,3 ± 1,652	116,8 ± 1,744

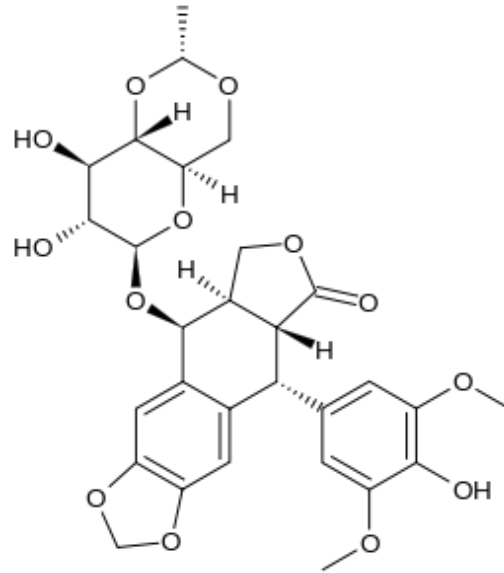
Сравнение критической концентрации мицеллообразования мицеллярных форм ГК-C18 и ГК-C18:SPION



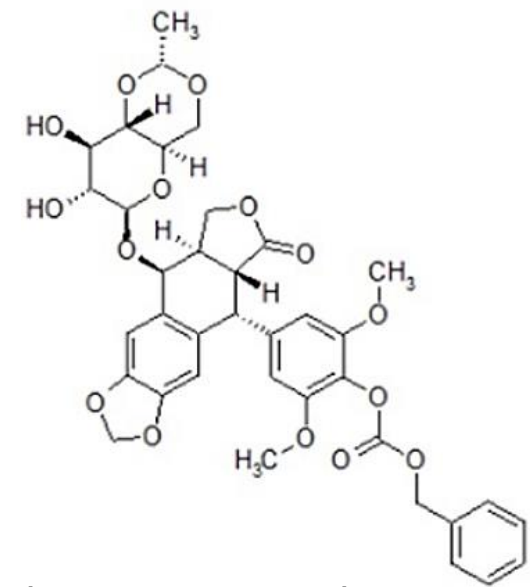
МИЦЕЛЛЯРНЫЕ ФОРМЫ НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ



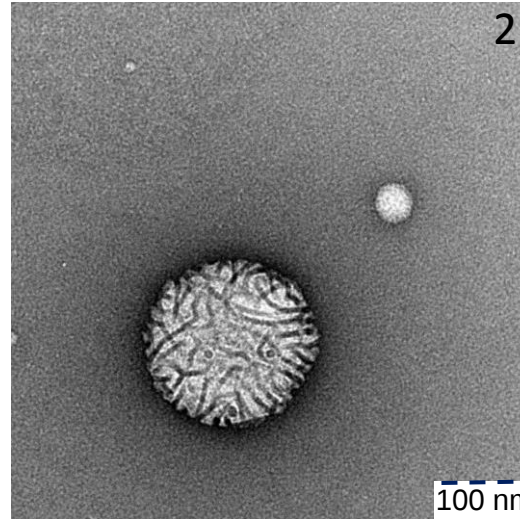
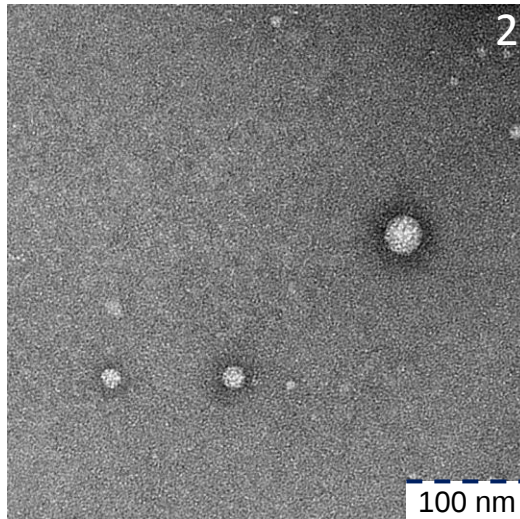
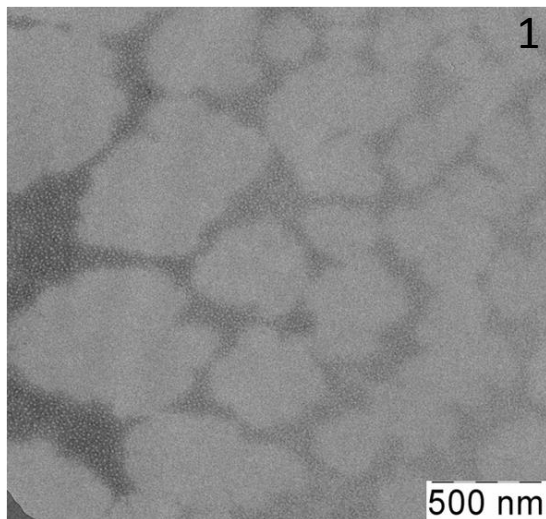
Паклитаксел (РТХ)
LogP = 3,96



Этопозид (ЕТО)
LogP = 0,70



4'-О-бензилоксикарбонил-этопозид
(ЕТО-Cbz) LogP = 2,42



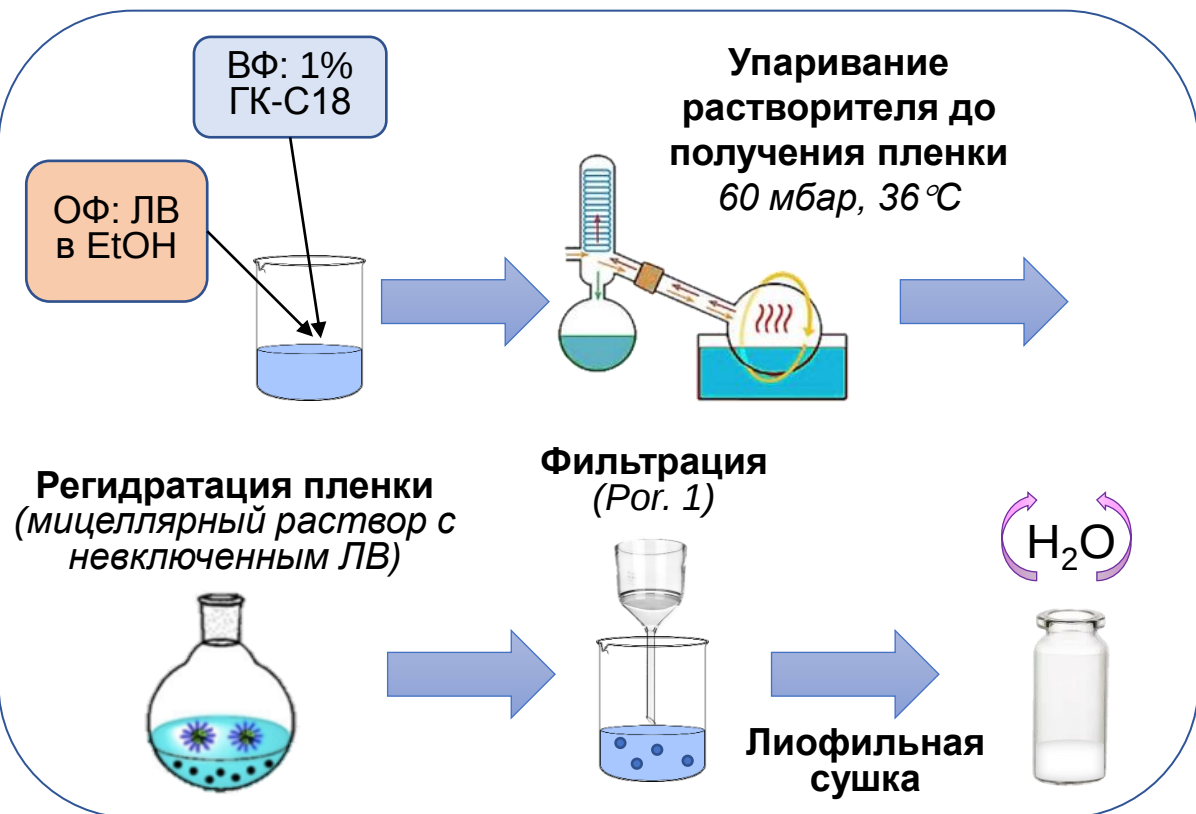
ТЭМ изображения мицелл ГК-С18:ЕТО-Cbz

1 - микроскоп JEM-1011 (JEOL Ltd., Япония) – МГУ им. М. В. Ломоносова

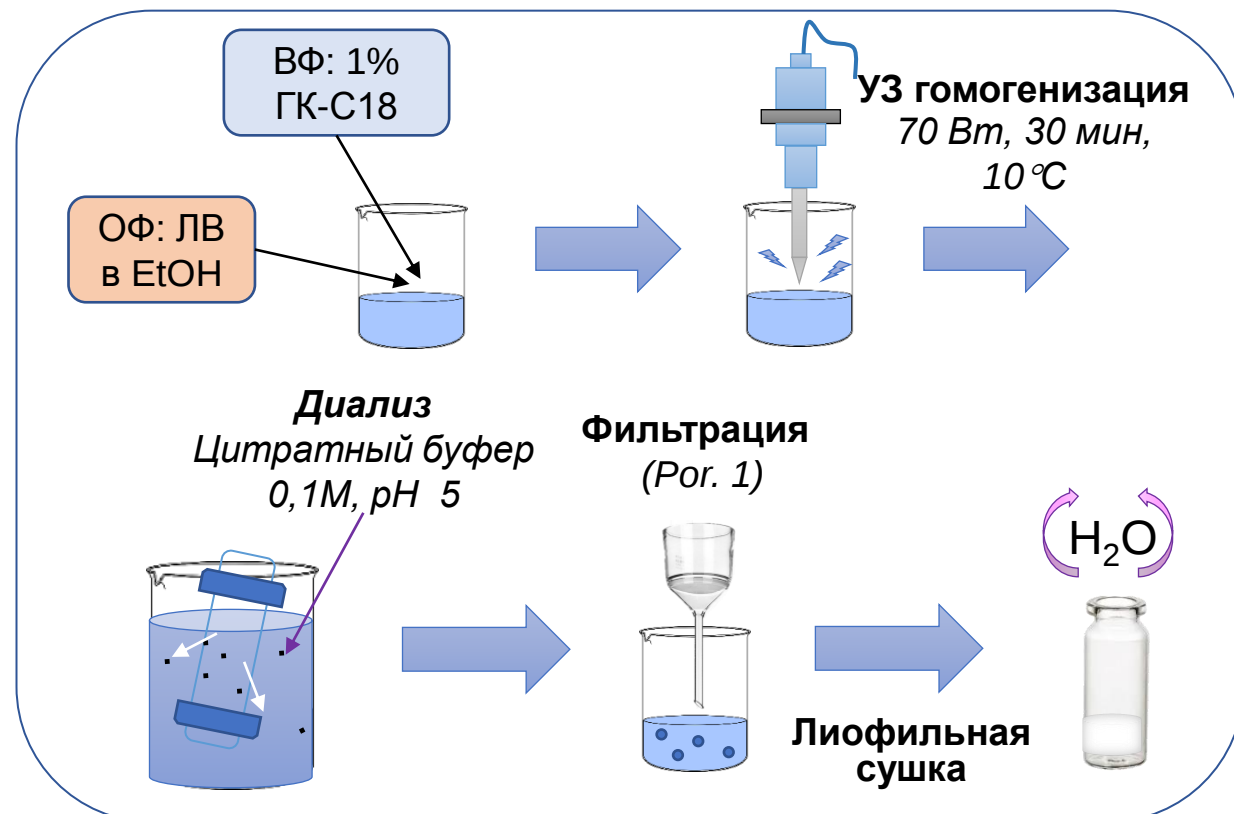
2 - микроскоп Tecnai™ 12 G2 BioTwin Spirit (ThermoFisher Scientific, США) –
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН

ПОЛУЧЕНИЕ МИЦЕЛЛЯРНЫХ ФОРМ

Метод гидратации тонкой пленки



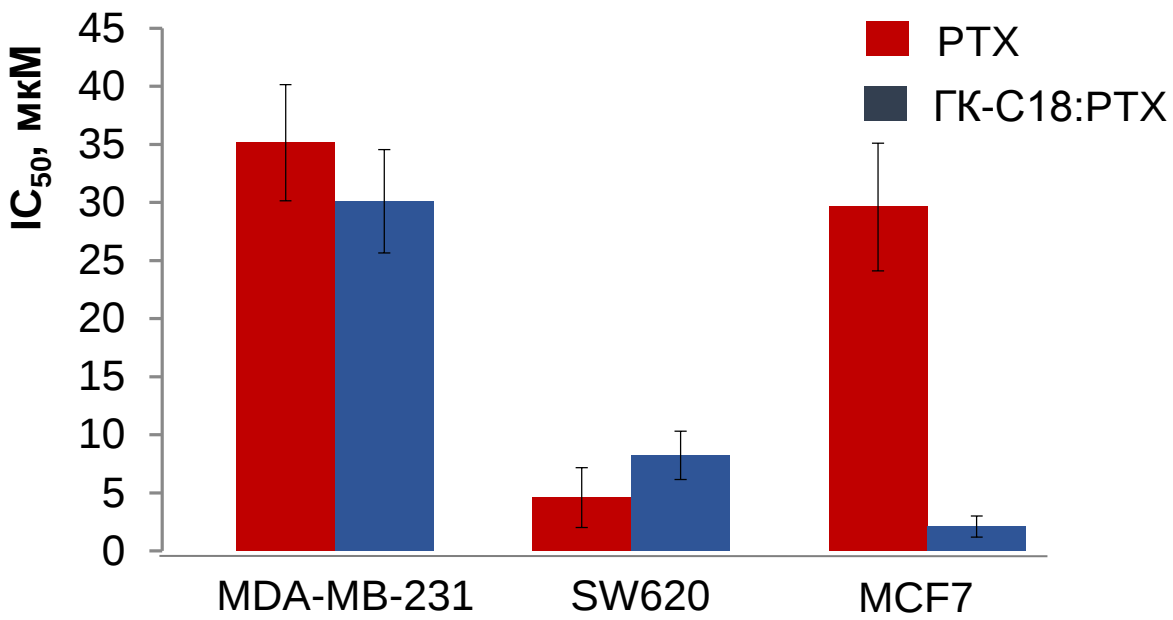
Метод ультразвуковой гомогенизации



Физико-химические параметры полученных мицеллярных форм

Структура	Метод получения	Средний размер частиц (нм)	ζ-потенциал (мВ)	PDI	% загрузки
ГК-C18:ЕТО	Гидратация тонкой пленки	232,4 ± 30,5 (100%)	-46,4±0,1	0,340 ± 0,070	74,1
ГК-C18:ЕТО-Cbz	Гидратация тонкой пленки	268,2 ± 47,5 (100%)	-39,8±2,6	0,250 ± 0,101	82,2
ГК-C18:РТХ	Ультразвуковая гомогенизация	310,6 ± 1,6 (100%)	-39,1 ± 3,2	0,205 ± 0,029	77,8

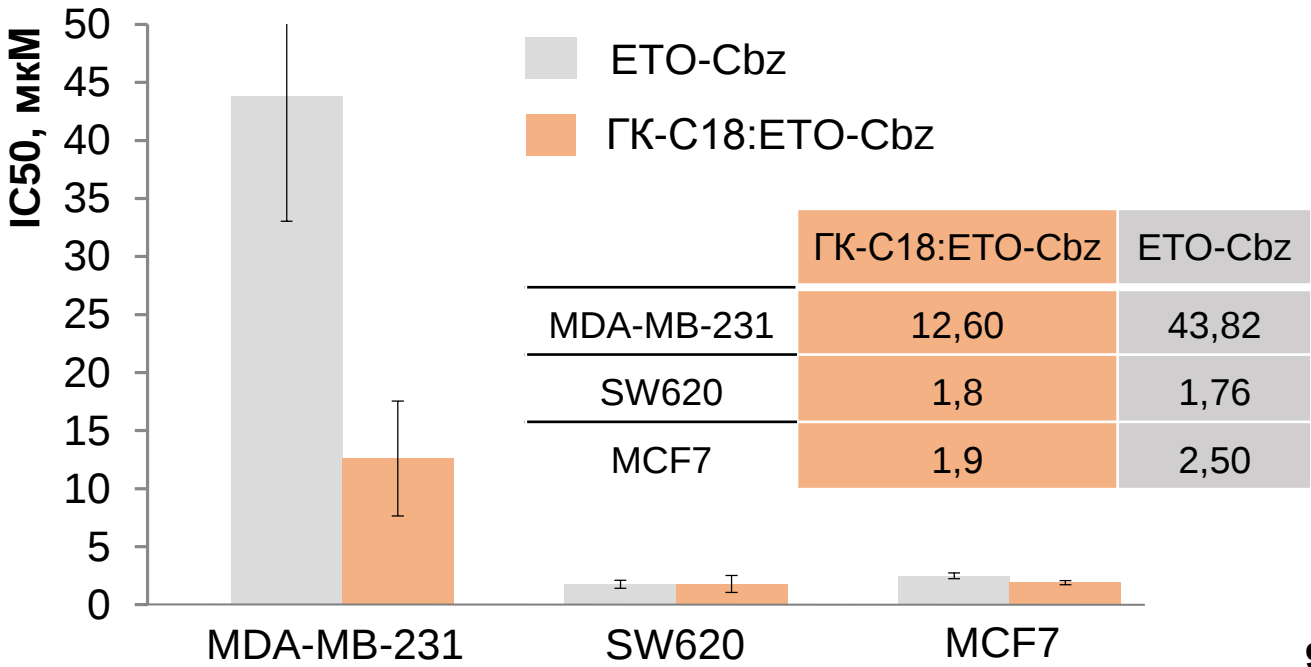
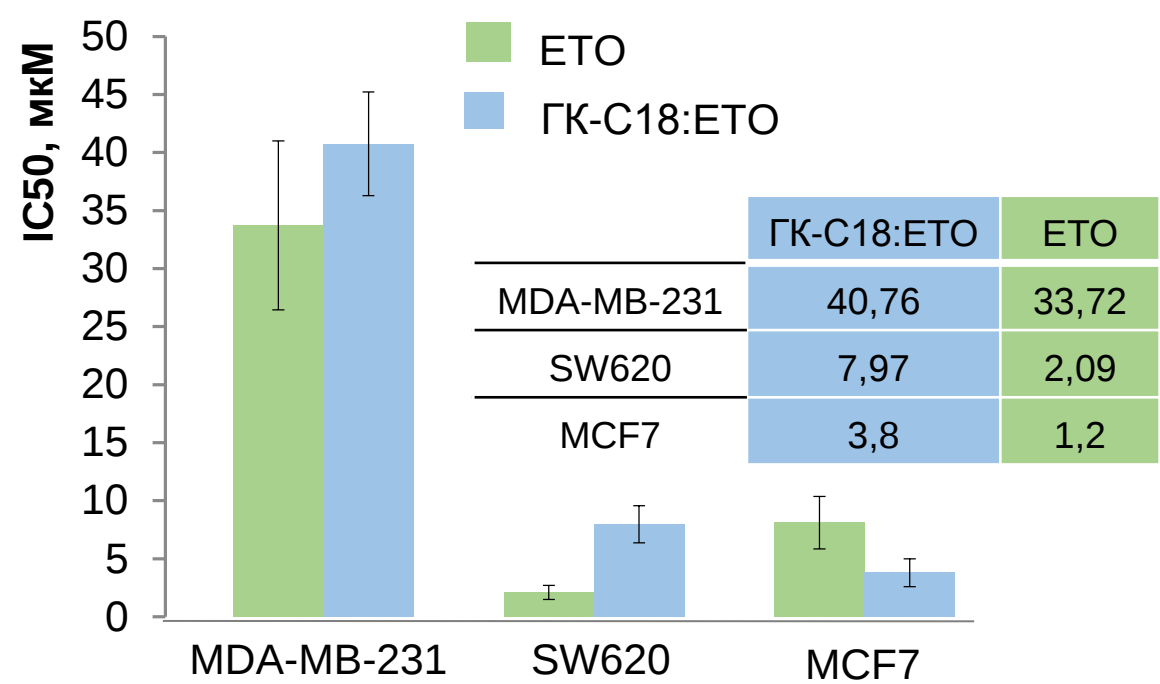
ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ПОЛУЧЕННЫХ МИЦЕЛЛЯРНЫХ ФОРМ (МТТ-ТЕСТ)



Полученные значения IC₅₀ (μM)

Полученные значения IC₅₀, μM
(48 ч инкубации)

Культура клеток	ГК-C18:PTX	PTX
MDA-MB-231	30,10	35,15
SW620	8,23	4,59
MCF7	29,61	2,1



РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

1. Используя методы гидратации тонкой пленки и ультразвуковой гомогенизации, получены образцы мицеллярных форм ГК-С18 с противоопухолевыми лекарствами: паклитаксел, этопозид и его 4'-О-бензилоксикарбонильное производное. Полученные мицеллы характеризуются полидисперсностью (индекс полидисперсности PDI не менее 0,25). Исследована цитотоксичность полученных мицеллярных форм. Сравнен показатель IC50 полученных мицелл и индивидуальных фармацевтических субстанций, установлено, что мицеллярные формы вызывали дозозависимое снижение выживаемости клеток опухолевых линий и не уступали препаратам сравнения.
2. Методом гомогенизации получены самособирающиеся структуры на основе ГК-С18 и наночастиц SPION, отработаны методики их получения с использованием НЧ разного размера и состава, а также получены ПЭМ-изображения структур. Загрузка в мицеллярные структуры НЧ SPION привела к уменьшению их размера и индекса полидисперсности по сравнению с незагруженными (с 350 нм до ~150 нм и с 0,320 до 0,096, соответственно), а также к увеличению стабильности при разбавлении в 18 раз (с ККМ 0,07 до 0,004 мг/мл) в водной среде.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 23-25-00194

Is there life ?

50 nm



Спасибо за внимание!

antonova.maria.m@mail.ru