

1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

Υπερδιακλαδισμένα αμφίφιλα συμπολυμερή P(MAA-co-LMA): Σύνθεση, αυτο-οργάνωση και εφαρμογή τους ως νανοφορείς βιοδραστικών ενώσεων

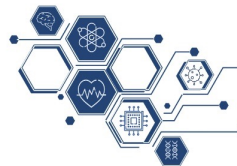
Αναστασία Μπαλαφούτη¹, Στέργιος Πίσσας¹

¹Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας, Εθνικό ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα, Ελλάδα

Διοργανωτές

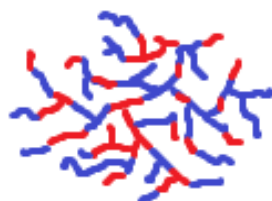


1. Εισαγωγή-Σκοπός



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

Τα **βιοσυμβατά αμφίφιλα συμπολυμερή** αποτελούν καινοτόμα υλικά τα οποία δύναται να αξιοποιηθούν σε μια σειρά από βιο-εφαρμογές. Οι **ιδιότητες αυτο-οργάνωσής** τους σε υδατικά μέσα και τα χαρακτηριστικά των δομών που προκύπτουν από αυτές με διαστάσεις στη νανοκλίμακα, τα καθιστούν ως μια ελκυστική εναλλακτική στη στοχευμένη **μεταφορά φαρμακευτικών ενώσεων** στο ανθρώπινο σώμα.



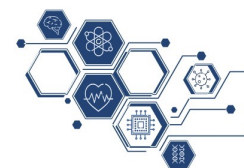
Υπερδιακλαδισμένα συμπολυμερή με τυχαία κατανομή μονομερών



Αυτο-οργάνωση σε μικκυλιακές δομές στο υδατικό μέσο

Η παρούσα εργασία αφορά τη μελέτη **αμφίφιλων υπερδιακλαδισμένων συμπολυμερών πολυηλεκτρολυτικού χαρακτήρα** με τυχαία κατανομή μονομερών του υδρόφιλου ανιοντικού μεθακρυλικού οξέος (MAA) και του υδρόφοβου μεθακρυλικού εστέρα της λαυρικής αλκοόλης (LMA) (**P(MAA-co-LMA)**) όσον αφορά την σύνθεση και την αξιολόγησή τους ως **νανοφορείς** ουσιών βιοϊατρικού ενδιαφέροντος.

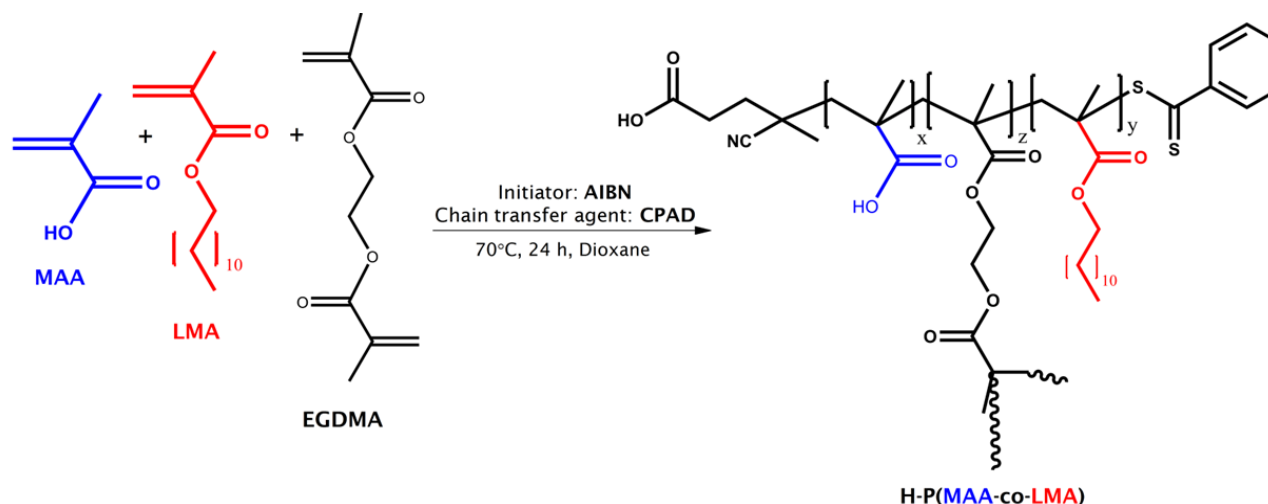
2. Μέθοδοι και Υλικά



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

Χημική σύνθεση :

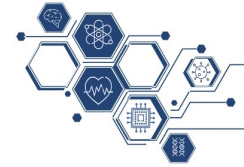
Τα υπερδιακλαδισμένα συμπολυμερή P(MAA-co-LMA), συντέθηκαν μέσω της τεχνικής πολυμερισμού RAFT με χρήση της διμεθακρυλικής αιθυλενογλυκόλης (EGDMA) ως παράγοντα διακλάδωσης.



Μοριακός χαρακτηρισμός:

- χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (SEC) για τον προσδιορισμό της κατανομής των μοριακών βαρών των συμπολυμερών
- φασματοσκοπικές τεχνικές ($^1\text{H-NMR}$, FTIR) για τον προσδιορισμό της σύστασης και την ταυτοποίηση της χημικής δομής

2. Μέθοδοι και Υλικά



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

Μελέτη των νανοσυστημάτων σε υδατικά διαλύματα:

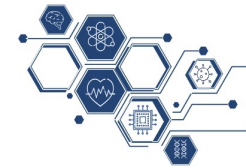
- Χρήση τεχνικών σκέδασης φωτός και φασματοσκοπικών μεθόδων για τη μελέτη υδατικών διαλυμάτων των συμπολυμερών με σκοπό τη διερεύνηση της συμπεριφοράς αυτο-οργάνωσής τους υπό ποικίλες συνθήκες, όπως μεταβολές του pH ή της συγκέντρωσης.
- Παρασκευή μικτών διαλυμάτων με τις φθορίζουσες ενώσεις κουρκουμίνη (CUR) ως πρότυπη υδρόφοβη φαρμακευτική ουσία και λυσοζύμη (LYZ) ως πρότυπη κατιοντική πρωτεΐνη προκειμένου να διερευνηθούν οι υδρόφοβες και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις των νανοσυστημάτων, αντίστοιχα. Μελέτη των μικτών υδατικών διαλυμάτων με τις ανάλογες τεχνικές.

Φασματοσκοπία φθορισμού (FS) → προσδιορισμός κρίσιμης συγκέντρωσης συσσωμάτωσης (CAC) και μελέτη των ιδιοτήτων των φθορίζουσών ουσιών στα μικτά διαλύματα.

Δυναμική σκέδαση φωτός (DLS) → προσδιορισμός μεγέθους (μέση υδροδυναμική ακτίνα (R_h)) και ομοιογένειας των νανοδομών που σχηματίζονται.

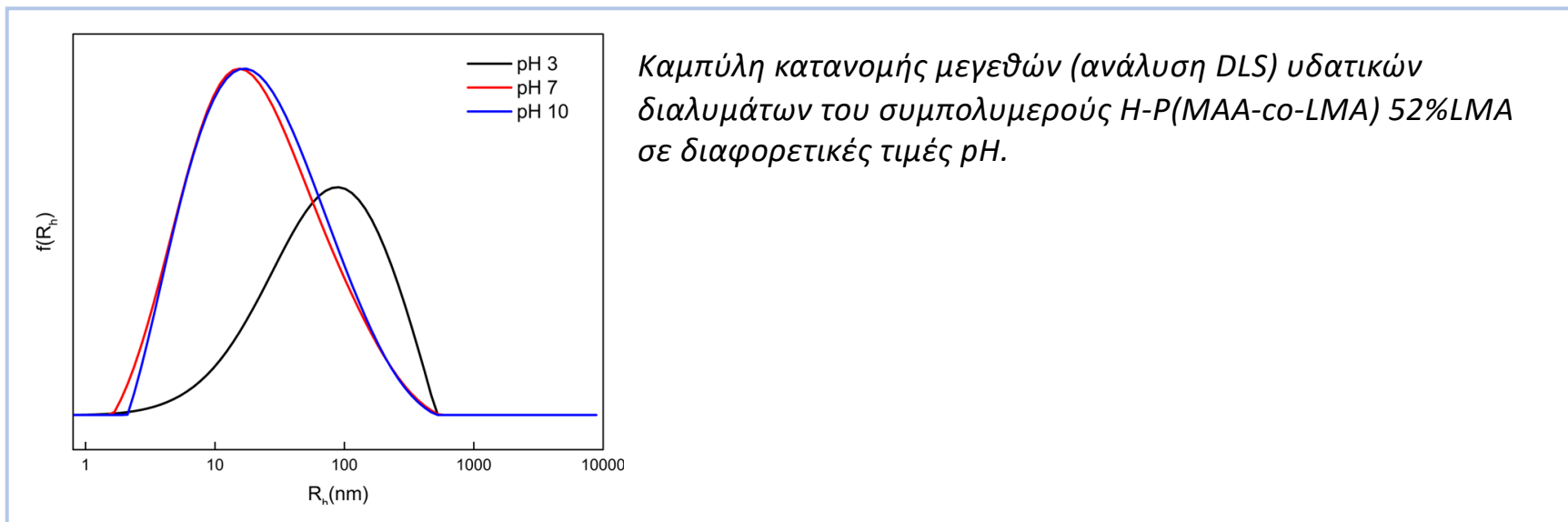
Ηλεκτροφορητική σκέδαση φωτός (ELS) → προσδιορισμός επιφανειακού φορτίου των νανοδομών

3. Αποτελέσματα

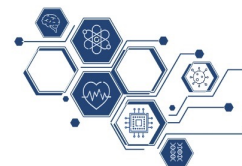


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

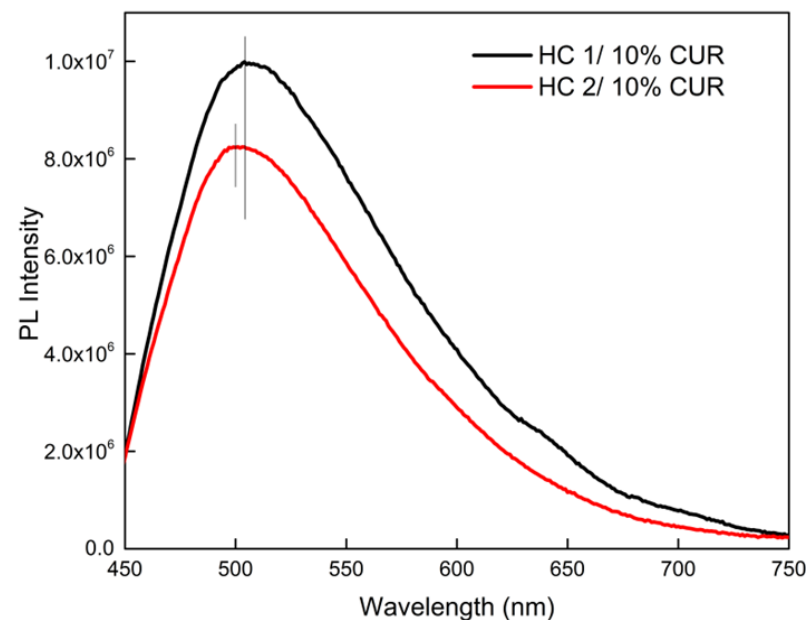
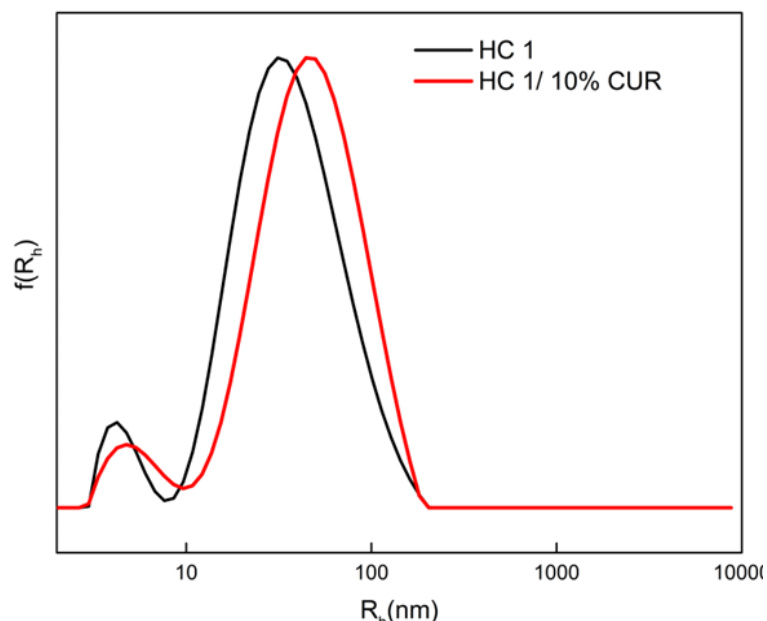
- Από τα αποτελέσματα της μελέτης μοριακού χαρακτηρισμού, αναδείχτηκε η επιτυχής σύνθεση δύο καινοτόμων συμπολυμερών με χαμηλές τιμές κατανομής μοριακών βαρών (<1.3) τα οποία διαφέρουν ως προς τη σύστασή τους (41 και 52% LMA).
- Τα συμπολυμερή παρουσιάζουν χαμηλές τιμές CAC ($\sim 10^{-6}$ g/ml).
- Κατά τη μελέτη της αυτο-οργάνωσης των συμπολυμερών παρατηρήθηκε εξάρτηση από την ισορροπία υδρόφιλου-υδρόφοβου συστατικού, τη συγκέντρωση συμπολυμερούς και το pH των υδατικών διαλυμάτων.



3. Αποτελέσματα

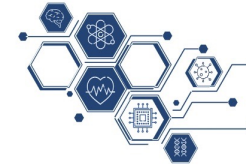


- Πραγματοποιήθηκε επιτυχής εγκλωβισμός κουρκουμίνης στον υδρόφοβο πυρήνα των πολυμερικών νανοδομών, ενώ παράλληλα τα μικτά νανοσωματίδια μικρού μεγέθους ($R_h < 100$ nm) εμφάνισαν ισχυρό φθορισμό.

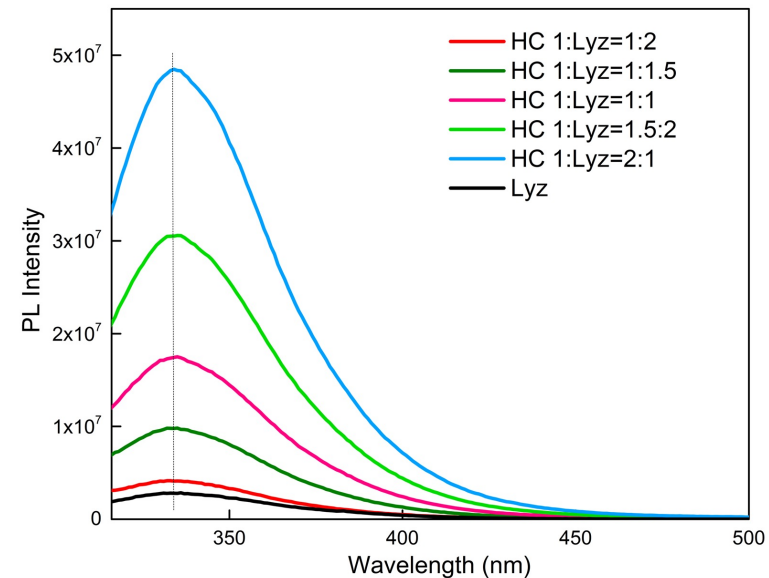
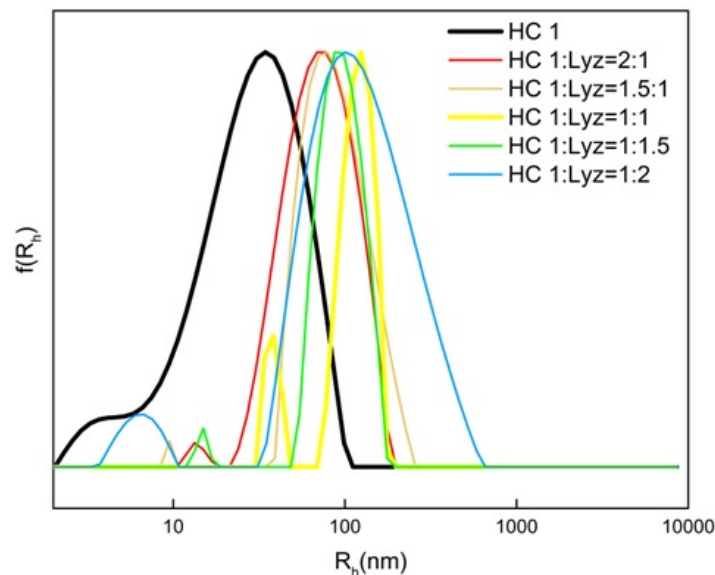


Αποτελέσματα μετρήσεων DLS (αριστερά) και FS (δεξιά) στα μικτά νανοσωματίδια (όπου HC 1: $H-P(MAA-co-LMA)$ 41%LMA και HC 2: $H-P(MAA-co-LMA)$ 52%LMA)

3. Αποτελέσματα

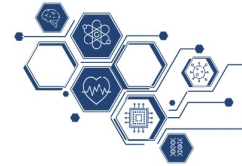


- Από τις μετρήσεις DLS των μικτών συστημάτων με λυσοζύμη αποδείχθηκε ο σχηματισμός συμπλόκων, ενώ μετρήσεις επιφανειακού φορτίου των μικτών συστημάτων (μέσω ELS) έδειξαν πως τα μόρια της λυσοζύμης καλύπτουν την επιφάνεια των αρνητικά φορτισμένων νανοδομών που προκύπτουν από την αυτο-οργάνωση των συμπολυμερών. Παράλληλα μετρήσεις φθορισμού έδειξαν πως η πρωτεΐνη δεν παρουσιάζει δομικές αλλαγές.



Αποτελέσματα μετρήσεων DLS (αριστερά) και FS (δεξιά) στα σύμπλοκα που σχηματίζονται από την ανάμιξη με διάλυμα λυσοζύμης σε διαφορετικές αναλογίες. (όπου HC : LYZ = αναλογίες φορτίων)

4. Συμπεράσματα



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- Μέσω της τεχνικής πολυμερισμού RAFT πραγματοποιήθηκε η σύνθεση καινοτόμων υπερδιακλαδισμένων τυχαίων αμφίφιλων συμπολυμερών με επιθυμητά μοριακά χαρακτηριστικά.
- Σε υδατικά διαλύματα, τα συμπολυμερή αυτο-οργανώνονται σε νανοδομές με υδρόφοβους πυρήνες, οι οποίες παρουσιάζουν μικρά μεγέθη και σχετική ομοιογένεια.
- Οι νανοδομές που σχηματίζονται παρουσιάζουν δυνατότητα εγκλωβισμού υδρόφοβων ενώσεων και δυνατότητα συμπλοκοποίησης με κατιοντικές πρωτεΐνες.
- Κατά συνέπεια, τα βιοσυμβατά συμπολυμερή P(MAA-co-LMA) μπορούν δυνητικά να χρησιμεύσουν ως πολυλειτουργικοί νανοφορείς για βιοδραστικές ενώσεις στον τομέα της θεραπευτικής και της διαγνωστικής ιατρικής.

5. Βιβλιογραφία



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- Yokoyama, M. Polymeric Micelles as Drug Carriers: Their Lights and Shadows. *J Drug Target* **2014**, *22*, 576–583.
- Osorno, L.L.; Brandley, A.N.; Maldonado, D.E.; Yiantsos, A.; Mosley, R.J.; Byrne, M.E. Review of Contemporary Self-Assembled Systems for the Controlled Delivery of Therapeutics in Medicine. *Nanomaterials* **2021**, *11*, 1–28.
- Kavand, A.; Anton, N.; Vandamme, T.; Serra, C.A.; Chan-Seng, D. Synthesis and Functionalization of Hyperbranched Pol-yomers for Targeted Drug Delivery. *Journal of Controlled Release* 2020, *321*, 285–311
- Kurmaz, S. v.; Ignatiev, V.M.; Emel'yanova, N.S.; Kurmaz, V.A.; Konev, D. v.; Balakina, A.A.; Terentyev, A.A. New Nanosized Systems Doxorubicin—Amphiphilic Copolymers of N-Vinylpyrrolidone and (Di)Methacrylates with Antitumor Activity. *Pharmaceutics* **2022**, *14*.
- Klinger, D.; Landfester, K. Dual Stimuli-Responsive Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate-Co-Methacrylic Acid) Microgels Based on Photo-Cleavable Cross-Linkers: PH-Dependent Swelling and Light-Induced Degradation. *Macromolecules* 2011, *44*, 9758–9772.