

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра материаловедения, технологии
и управления качеством

**ФОРМИРОВАНИЕ КОМПОЗИТНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ДОСТАВКИ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 2 курса 203 группы
направления 22.04.01 «Материаловедение и технологии материалов»,
профиль «Нанотехнологии, диагностика и синтез современных материалов»
факультета нано- и биомедицинских технологий

Кутиковой Анны Юрьевны

Научный руководитель

доцент, к.х.н.

должность, уч. степень, уч. звание

подпись, дата

О.А. Иноземцева

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой

профессор, д.ф.-.м.н.

должность, уч. степень, уч. звание

подпись, дата

С.Б. Вениг

инициалы, фамилия

Саратов 2017

Актуальность темы исследования. В настоящее время значительное внимание исследователей привлекают микрообъекты, которые могут избирательно накапливаться внутри организма и высвободить биологически активные вещества, инкапсулированные в их объеме. Такие «умные» контейнеры могут быть чувствительны к внешним воздействиям. Для реализации загрузки биологически активных соединений можно использовать контейнеры на основе диоксида кремния. Такие инновационные капсулы, чувствительные к внешним воздействиям, могут быть перспективными в областях, где требуется контролируемое высвобождение инкапсулированных веществ.

Целью работы является формирование композитных систем на основе диоксида кремния для доставки биологически активных веществ.

Для реализации поставленной цели планируется выполнить следующие **задачи:**

- провести аналитический обзор современной периодической литературы по формированию композитных систем на основе диоксида кремния;
- создать покрытие диоксида кремния на темплатных частицах карбоната кальция различного размера
- провести инкапсуляцию модельного вещества в полученные оболочки на основе диоксида кремния.

Краткая характеристика материалов исследования. В работе получены темплатные частицы карбоната кальция микронного и субмикронного размера, исследовано влияние условий формирования наноразмерных оболочек диоксида кремния на их поверхности (условия золь-гель синтеза, в том числе влияние концентрации кремнийсодержащего прекурсора) на их морфологию с помощью сканирующей электронной микроскопии, а также проведена капсуляция модельных веществ и оценена эффективность загрузки ДНК-плазмиды.

Описание структуры. Магистерская работа включает введение, три главы, в которых обсуждается основное содержание работы, заключение и список литературы из 39 источников, изложена на 48 страницах, содержит 29 рисунков. Во введении представлена актуальность темы исследования, а также сформулированы цель и задачи исследования. **В первой главе** приведен обзор современной периодической литературы по формированию различных композитных систем для доставки веществ, подходов к инкапсуляции, методик получения капсул на основе диоксида кремния, а также рассмотрены методы исследования таких объектов.

Вторая глава посвящена методам получения микронных и субмикронных частиц ватерита, формированию покрытия диоксида кремния на поверхности полученных частиц ватерита, а также способам инкапсуляции модельных веществ.

В третьей главе обсуждаются полученные результаты и проводится их анализ.

В заключении сформулированы основные выводы по результатам проведенного исследования.

Научная новизна. Разработаны методики получения полых капсул на основе диоксида кремния микронного и субмикронного размера, включая исследование влияния условий формирования наноразмерных оболочек диоксида кремния на их морфологию. Кроме того, разработаны подходы к капсуляции модельного вещества (ДНК плазмиды) в полученные носители, проведен их сравнительный анализ и оценена эффективность загрузки.

Положения, выносимые на защиту. Свойства полученных капсул на основе диоксида кремния определяются аликвотой кремнийорганического прекурсора – например, с ее увеличением до 10 мкл полые субмикронные капсулы приобретают способность сохранять сферическую форму при высушивании.

Модельное вещество (ДНК-плазида) может быть загружено в пористые темплаты ватерита с последующим формированием покрытия на

основе диоксида кремния с эффективностью 2.67% на навеску в 10 мг частиц (27% иммобилизованной ДНК от исходного содержания ДНК в растворе).

Загрузка ДНК-плазмиды в поры капсул на основе диоксида кремния определяется поверхностным зарядом – так, для немодифицированных частиц количество иммобилизованной ДНК составило всего 5.1% от исходной концентрации ДНК, а в случае аминированной поверхности (положительно заряженная поверхность) - 25.5% от исходного содержания ДНК, что сопоставимо с пористыми частицами карбоната кальция.

Основное содержание работы. Частицы диоксида кремния являются одними из наиболее распространенных и широко используемых синтетических материалов, применяемых в катализе, зондировании, визуализации и адресной доставке лекарственных средств. Преимущества данного материала:

- биосовместимость и биodeградируемость;
- способность удерживать вещества внутри капсул;
- возможность биофункционализации поверхности.

В зависимости от степени пористости, аморфный диоксид кремния может быть загружен активными молекулами различными методами. Если система адресной доставки основана на мезопористом оксиде кремния, то гидрофильные и гидрофобные препараты могут быть размещены внутри пор. Эти поры, как правило, имеют диаметр в диапазоне от 2 до 10 нм. Диоксид кремния может быть растворен в биологической среде при контролируемых условиях в щелочной среде. Продуктом деградации таких частиц является нетоксичная кремниевая кислота, которая может действовать как источник кремния и является полезной в формировании соединительной ткани (например, сухожилий и костей).

Как правило, полые микросферы на основе диоксида кремния получают с использованием темплатов, например, капелек масла в воде или пузырьков воздуха в воде. Однако данные темплаты имеют низкую стабильность в растворе и высокую полидисперсность. Таким образом,

получаемые в результате сферы на основе диоксида кремния часто полидисперсны и не гомогенны по форме. Кроме того, затруднительно контролировать толщину оболочки диоксида кремния с использованием «мягких темплатов». Для решения указанных проблем используют «жесткие темплаты», в качестве которых применяют полимерные или неорганические частицы. Однако недостатком этих темплатов, является необходимость их приготовления и удаления путем селективного растворения или отжига, что обычно приводит к временным и экономическим затратам.

В качестве темплатов для покрытия диоксидом кремния могут быть использованы пористые частицы карбоната кальция (ватерит), благодаря возможности их загрузки различными биологически активными веществами, биосовместимости, легкой деградации в мягких условиях, а также простоте получения.

Тем не менее, использование частиц карбоната кальция микронного размера, несмотря на свои преимущества и легкость манипуляции, имеют ряд ограничений для биомедицинских применений, обусловленных их размером. При исследовании биораспределения микронных носителей в кровотоке мышей показано их быстрое накопление в течение первых часов в органах выведения, таких как печень, почки, кишечник, где отмечается максимальная концентрация. Кроме того, вследствие микронных размеров таких носителей существует реальная опасность нарушения циркуляции кровотока. Также важно и то, что химическая адресация для направленной доставки лекарств на поверхности таких носителей трудно реализуема, так как их средний размер составляет от 2 до 5 микрометров, что значительно больше размера целевого лиганда (белки, пептиды, полисахариды и др.), что и приводит к эффекту «паруса». Это означает, что сила взаимодействия между органическим лигандом на поверхности микрокапсулы и мишенью меньше, чем сила вязкости, действующая на капсулу.

Синтез частиц карбоната кальция осуществляли путем медленной кристаллизации в среде глицерина при смешении равных объемов

эквимольярных растворов хлорида кальция (CaCl_2) и карбоната натрия (Na_2CO_3) при перемешивании в течение 3 часов. После кристаллизации частицы промывали этиловым спиртом и сушили при 45°C . На данном этапе исследований были приготовлены несколько серий субмикронных частиц карбоната кальция размером от 600-800 нм. Полученные частицы были охарактеризованы сканирующей электронной микроскопией (рисунок 1).

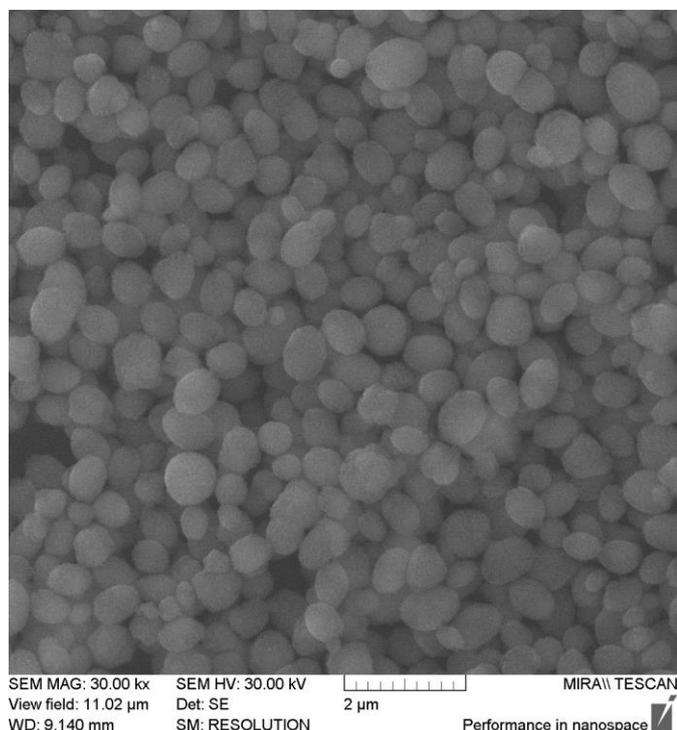


Рисунок 1 – Электронные микрофотографии субмикронных частиц карбоната кальция

Для формирования оболочки диоксида кремния на поверхности частиц ватерита на их поверхность адсорбировали ПВП (поливинилпиролон) (1мл, 2мг/мл) при перемешивании в течение 10 минут, в слое которого в дальнейшем происходило образование зародышевых наночастиц диоксида кремния и формирование сплошного слоя аморфного диоксида кремния. Силанизацию осуществляли в смеси изопропилового спирта и воды (9:1) в присутствии основания (аммиак, 250 мкл) и ТЕОСа (тетраэтоксиртосиликат) в течение 20 часов при комнатной температуре. Химическая схема процесса силанизации темплатных частиц ватерита с использованием золь-гель прекурсора (ТЕОС) представлена на рисунке 2.

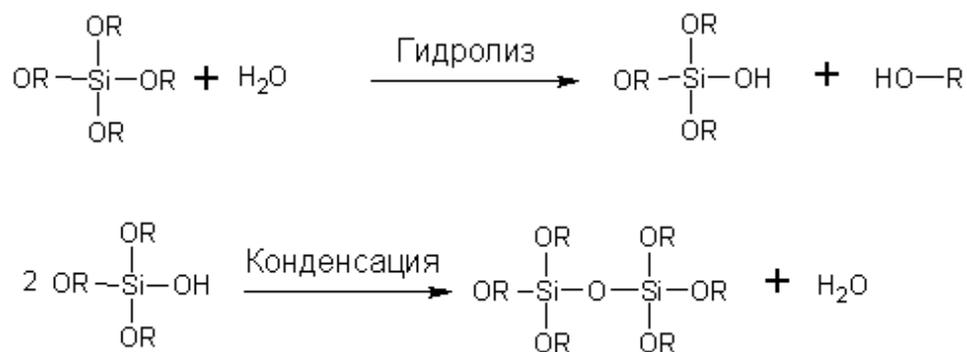


Рисунок 2 – Схема процесса силанизации

После завершения процесса формирования оболочки диоксида кремния темплатные «ядра» растворяли путем комплексообразования ионов кальция с динатриевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) в течение суток. Затем полученные частицы промывали два раза в этаноле (центрифугировали в течение 1 минуты при 10000 rpm), характеризовали сканирующей электронной микроскопией (рисунок 3).

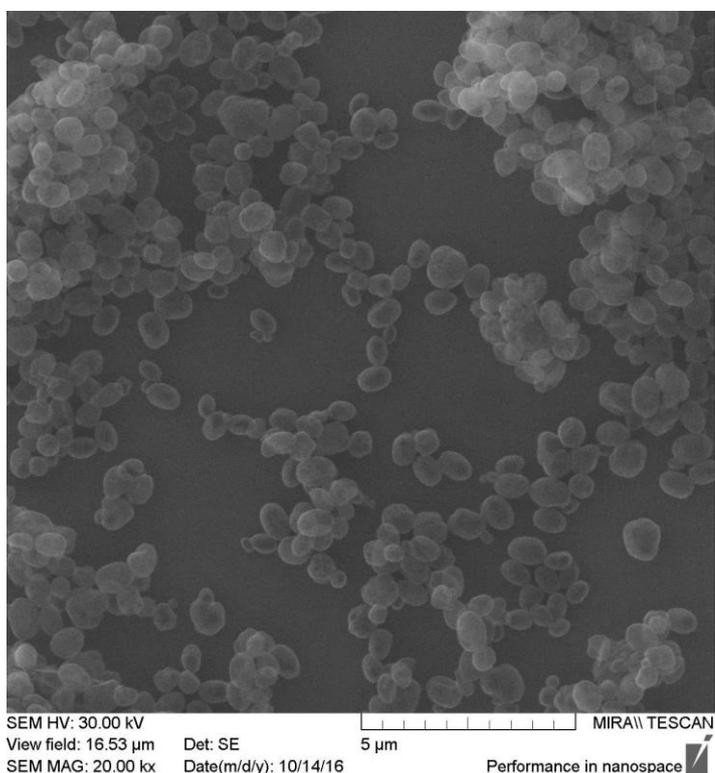


Рисунок 3 – Электронные микрофотографии субмикронных пустотелых капсул на основе диоксида кремния, полученные после растворения темплатных частиц ватерита

Было исследовано влияние условий формирования наноразмерных оболочек диоксида кремния (условия золь-гель синтеза, в частности влияние

концентрации кремнийсодержащего прекурсора) на их структурно-поверхностные характеристики. Установлено, что использование поливинилпирролидона (ПВП) с молекулярной массой 10 кДа и 40 кДа не оказывает существенного влияния на морфологию получаемых микрокапсул с оболочкой диоксида кремния. Можно сравнить образцы ПВП 10 кДа и 40 кДа на представленных ниже рисунках 4А и 4Г.

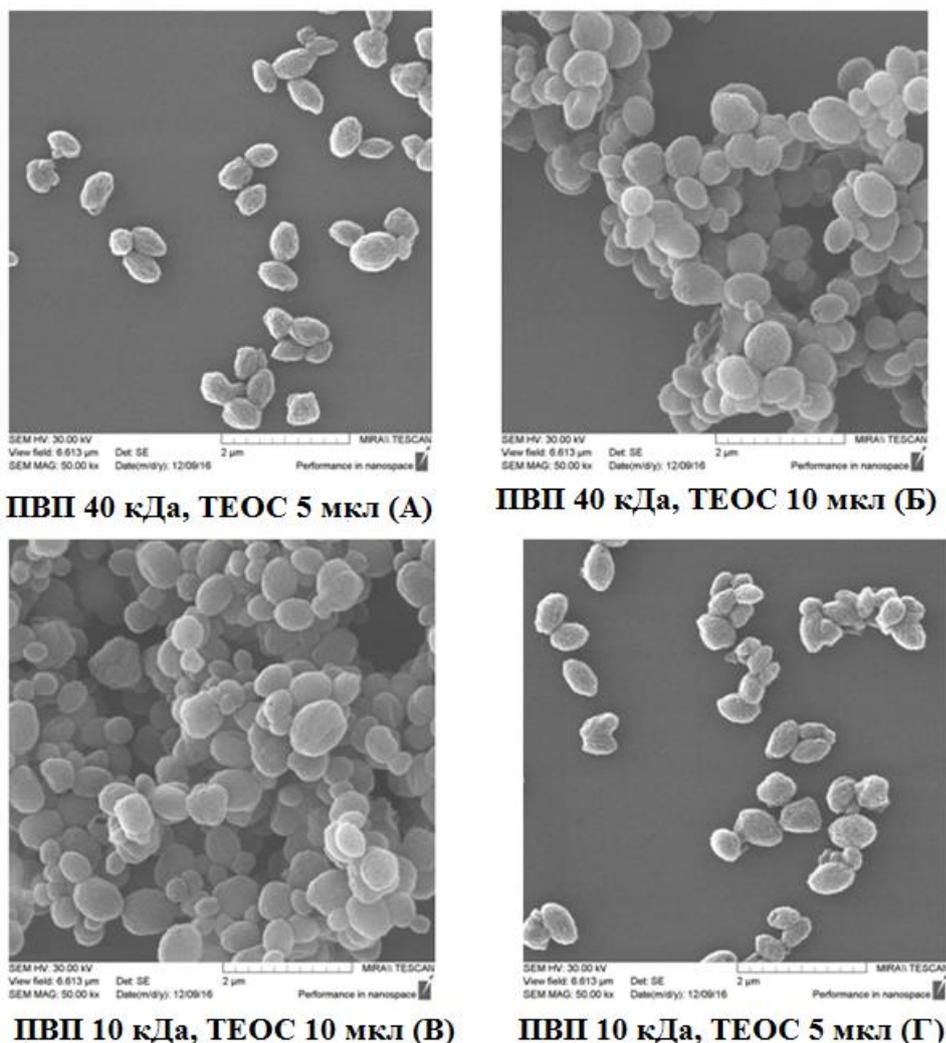


Рисунок 4 – СЭМ изображения микрокапсул с различным содержанием ТЕОС и различной молекулярной массой ПВП

Заключение. В ходе выполнения магистерской работы были освоены методы формирования: микрочастиц карбоната кальция и субмикронных частиц карбоната кальция. Проведен обзор способов формирования композитных структур на основе диоксида кремния.

В ходе исследований достигнуты следующие результаты:

- для микронных капсул на основе диоксида кремния установлено, что их морфология определяется аликвотой кремнийсодержащего прекурсора и типом полимера (его молекулярной массой);
- найдены оптимальные условия для формирования оболочек диоксида кремния путем конденсации кремний-содержащего прекурсора (ТЭОС) на поверхности темплатов ватерита, содержащих инкапсулированные биологические активные молекулы (ДНК-плазмиды, белки, маркированные флуоресцентным красителем);
- исследовано влияние условий формирования наноразмерных оболочек диоксида кремния (условия золь-гель синтеза, в частности влияние концентрации кремнийсодержащего прекурсора) на морфологию с помощью сканирующей электронной микроскопии;
- изучена эффективность капсулирования ДНК-плазмид как во внутренний объем субмикронных силикатных оболочек, так и на их поверхность в зависимости от ее поверхностного заряда (сравнительный анализ).