



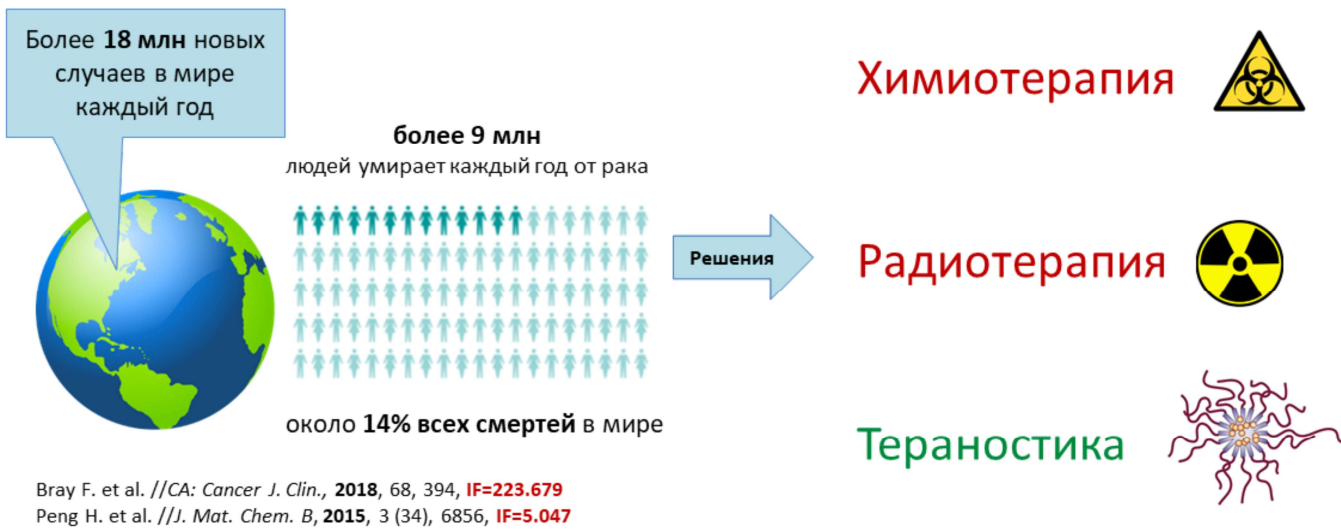
# Полимерные системы для тераностики рака

Степанова Кира  
Тюфтяков Николай  
Яковлева Екатерина  
1 курс магистратуры ИХ СПбГУ

Добрый день, нас зовут Степанова Кира, Тюфтяков Николай и Яковлева Екатерина.  
Позвольте представить наш доклад на тему: «Полимерные системы для тераностики рака».



## Рак: статистика и подходы к лечению



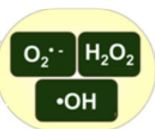
Как известно, на сегодняшний день рак, от которого ежегодно умирает более 9 млн человек, является одной из основных мировых проблем в сфере здравоохранения. При этом онкология зачастую выявляется лишь на поздних стадиях, а традиционные методы лечения – хирургия, лучевая и химиотерапия – неспецифичны, эффективны далеко не во всех случаях, а также обладают существенными побочными эффектами. В связи с этим интерес множества исследователей по всему миру привлекает новый медицинский подход, получивший название «тераностика».



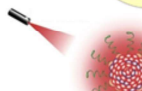
# Тераностика: основные принципы

## ТЕРАПИЯ

Фотодинамическая терапия (ФДТ)



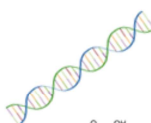
Фототермическая терапия (ФТТ)



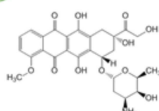
Радиотерапия



Генная терапия



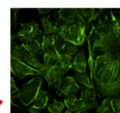
Химиотерапия



2-100 нм

## диагНОСТИКА

Оптическая флуоресценция



Фотоакустическая визуализация



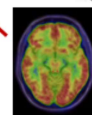
Магнитно-резонансная томография (МРТ)



Компьютерная томография (КТ)



Позитрон-эмиссионная томография (ПЭТ)



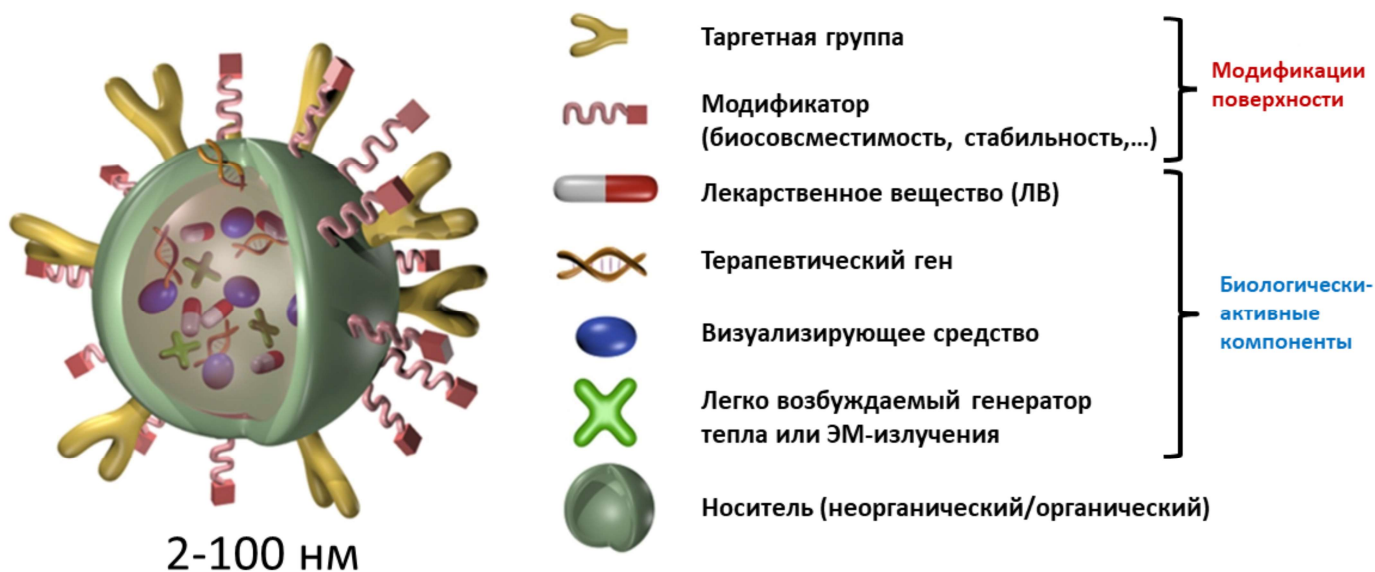
3 Wang D. et al. // *Theranostics*, 2018, 8 (18), 4925, IF=8.063

spbu.ru

Тераностика основывается на использовании наноразмерных препаратов различной природы, объединяющих в одном модуле диагностические и терапевтические агенты. Это позволяет обнаруживать рак уже на ранних стадиях и уничтожать опухоль, одновременно отслеживая местоположение лекарственного вещества (ЛВ) и визуализируя результаты лечения. Многообразие вариантов реализации препаратов для тераностики позволяет использовать различные способы визуализации и терапевтические подходы. Так, добавление к лекарственному средству флуоресцентных либо магнитных маркеров или радионуклидов позволяет использовать оптическую флуоресценцию, магнитно-резонансную (МРТ) или позитрон-эмиссионную томографию (ПЭТ) для отслеживания биораспределения препарата. В свою очередь, терапевтические подходы в тераностике не ограничиваются классической химиотерапией: например, распространенными и надежными методами являются фотодинамическая (ФДТ) и фототермическая терапия (ФТТ), которые заключаются в разрушении раковых клеток под действием генерируемых при воздействии на препарат БИК излучения Активных Форм Кислорода и тепла, соответственно.



## Принципиальная схема препарата



4 Lim E.-K. et al. // *Chem. Rev.*, 2015, 115, 327, IF=54.301

spbu.ru

На данном слайде представлена принципиальная схема препарата для различных комбинаций терапевтических и диагностических методов в тераностике. Важным преимуществом настоящего метода в сравнении с хирургическим вмешательством, химио- и радиотерапией является специфичность: активный компонент препарата воздействует преимущественно на опухоль, что сводит к минимуму число побочных эффектов на организм в ходе лечения. Это достигается за счет направленной доставки наночастиц (НЧ) в опухолевую ткань с их последующим накоплением в ней и контролируемым высвобождением ЛВ. Активный перенос препарата к пораженному участку происходит благодаря модификации поверхности частиц препарата соответствующими биомаркерами и таргетными лигандами. Однако накопление НЧ в тканях опухоли возможно и без введения дополнительных модификаторов. Поскольку быстро растущие раковые ткани образуют вокруг себя сеть неплотных сосудов, наблюдается так называемый «эффект повышенной проницаемости и удержания»: молекулы и частицы определенных размеров (обычно везикулы, мицеллы и прочие макромолекулярные препараты) имеют тенденцию накапливаться в опухолевой ткани гораздо больше, чем в нормальных тканях. Таким образом реализуется так называемый «пассивный» механизм доставки.

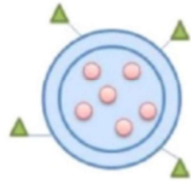


# Основные виды полимерных систем в тераностике

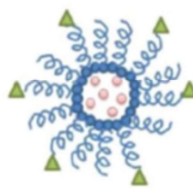
Конъюгаты полимера с ЛВ



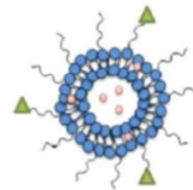
Полимерные нанокомпозиты



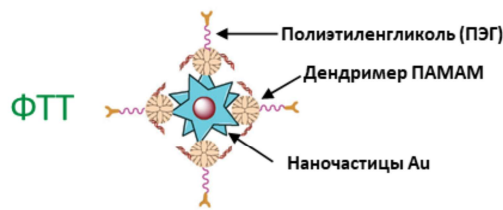
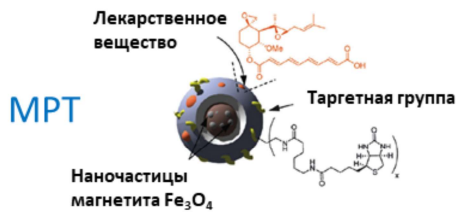
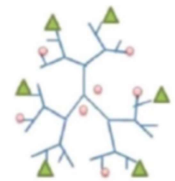
Полимерные мицеллы



Полимеросомы



Дендримеры



● - Лекарственное вещество

▲ - Таргетная группа

Peng H. et al. // *J. Mat. Chem. B*, 2015, 3 (34), 6856-6870, **IF=5.047**

Wei P. et al. // *Adv. Healthc. Mater.*, 2019, 5, 3203, **IF=5.949**

**5** Ali I. et al. // *Polymers*, 2020, 12 (3), 598, **IF=3.164**

spbu.ru

Отдельный класс материалов для тераностики составляют различные системы на основе полимеров. Биосовместимость и биоразлагаемость подобных материалов выгодно отличает их от неорганических аналогов и объясняет обилие публикаций в данной области за последние годы. Все используемые в тераностике полимерные системы можно разделить на несколько групп в соответствии с их структурой:

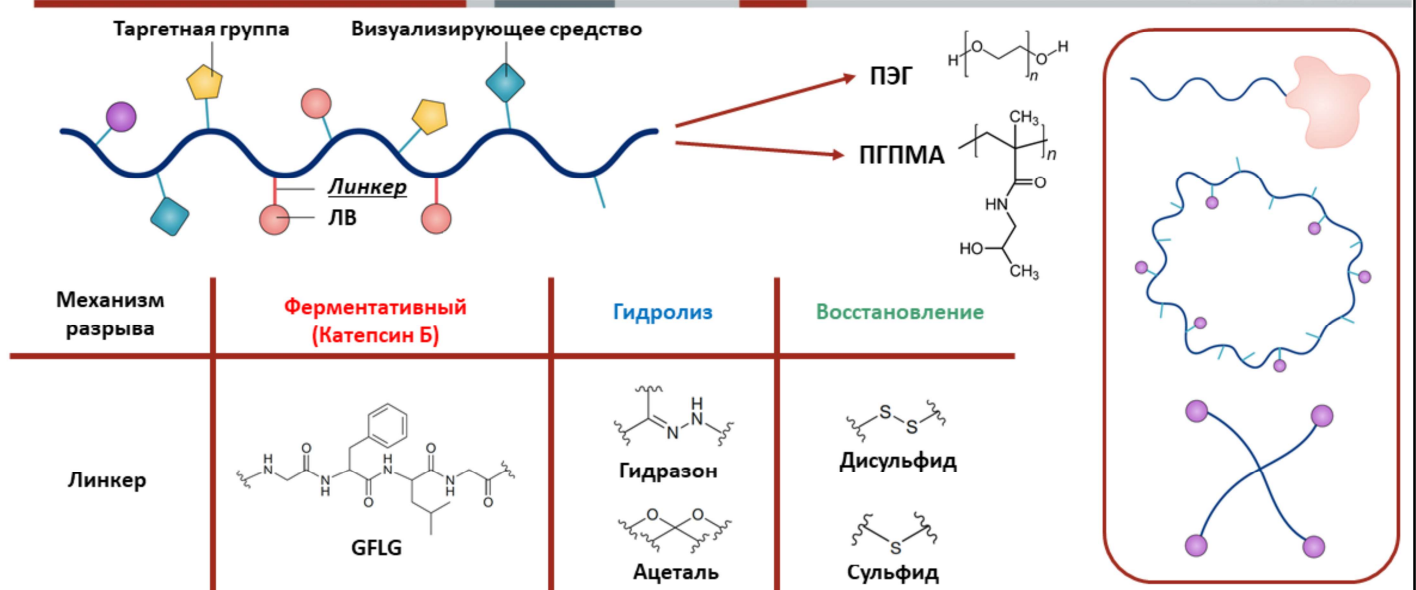
- Конъюгаты ЛВ с полимерной основой, получаемые простым привитием низкомолекулярного цитотоксина к полимеру
- Полимерные НЧ, получаемые совместным осаждением полимера и ЛВ
- Полимерные мицеллы с амфифильными свойствами
- Разветвленные структуры - дендримеры
- Полимеросомы – бислойные сферические частицы из амфифильного блок-сополимера

Кроме того, распространено применение нанокомпозитов, сочетающих в себе полимерную и неорганическую составляющую, что позволяет совместить различные диагностические и терапевтические методы с достоинствами полимерных систем. Так, для диагностики с помощью МРТ часто используются неорганические магнитные наночастицы (чаще всего из магнетита), помещенные в полимерную оболочку, а для ФТТ – композиты на основе НЧ золота.

Рассмотрим подробнее некоторые типы полимерных систем и примеры их использования в тераностике.



# Конъюгаты полимер – ЛВ



6 Ekladios I. et al. // *Nat. Rev. Drug Discov*, 2019, 18, 273, IF=57.618

spbu.ru

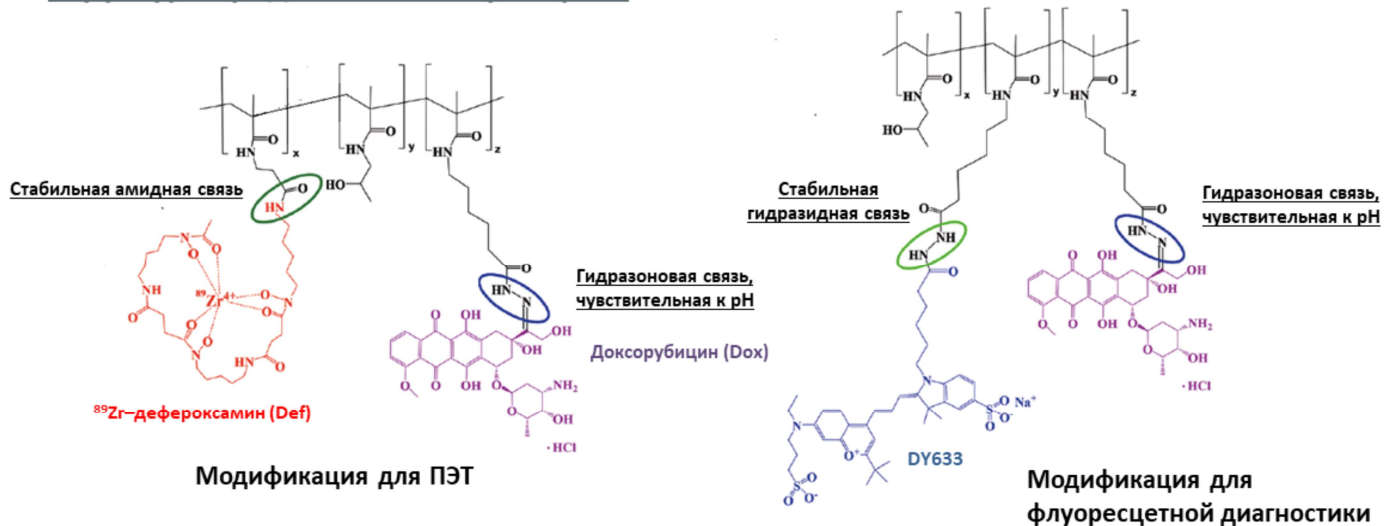
Одним из простейших примеров полимерных систем для тераностики являются ковалентные конъюгаты противораковых препаратов с различными полимерными носителями. В качестве основы подобных частиц обычно выступают водорастворимые полимеры – чаще всего полиэтиленгликоль (ПЭГ) или поли(*N*-(2-гидроксипропил)метакриламид (ПГПМА) – к которым путем сополимеризации или реакций боковой цепи могут быть привиты таргетные группы и визуализирующие средства, а также ЛВ, связанные с полимером через активный линкер. На сегодняшний день предложены конъюгаты различной структуры: это не только линейные молекулы полимера с привитыми к ним низкомолекулярными веществами, но и конъюгаты с пептидами, а также циклические и звездообразные структуры. Особенно важным структурным элементом рассматриваемых систем является линкер, связывающий ЛВ с полимерной основой. Для обеспечения селективного высвобождения ЛВ в опухолевой ткани используются различные лабильные линкеры, чувствительные к среде или наличию определенных веществ. Так, распространенными являются ферментативно разлагаемые линкеры, гидразоновые и ацетальные линкеры, подверженные гидролизу в слабокислой среде раковой опухоли, сульфидные и дисульфидные, а также тиоэфирные группы, восстанавливающиеся при проникновении в клетки опухоли.



# Препараты на основе ПГПМА



## Структура предложенного препарата



7 Koziolová E. et al. // *Nanoscale*, 2017, 9, 10906, IF=6.970

spbu.ru

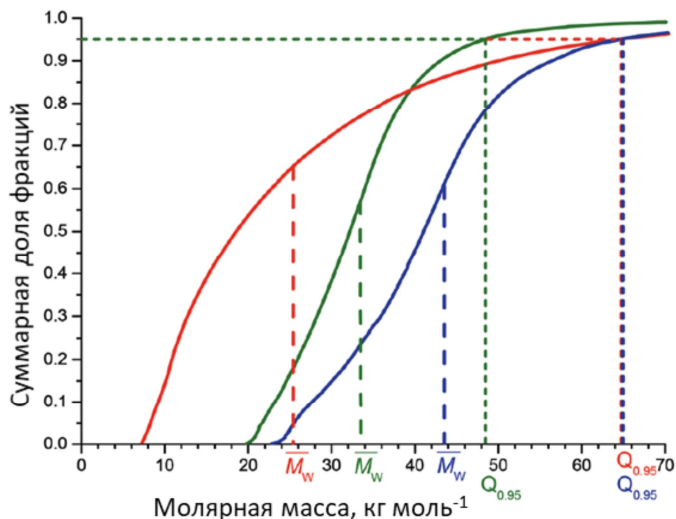
Рассмотрим на конкретном примере эффективность применения конъюгатов вида полимер – ЛВ в тераностике, а также влияние молекулярной массы и дисперсности полимера на его накопление в раковой опухоли. В данной работе были предложены две структуры на основе ПГПМА для двух методов диагностики: флуоресцентной визуализации и ПЭТ. В качестве действующего вещества был выбран противораковый препарат Доксорубин. Рассмотренные конъюгаты были получены привитием к сополимеру с ГПМА лигандов для диагностики (хелат изотопа циркония-89 дефероксамин или флуоресцентные маркеры) и действующего вещества. Дефероксамин был связан с полимерным носителем через гидразоновый фрагмент, устойчивый в плазме крови (pH ~ 7.4), но гидролизующийся в слабокислой среде раковых клеток (pH ~ 5-6).



# Препараты на основе ПГПМА: влияние ММ



## Молекулярно-массовое распределение



Сополимер	Тип полимеризации	$M_w$ (кг моль <sup>-1</sup> )	$D$	Содержание Dox (мол.%)
HD-P(Dox)	Радикальная	27.8	1.74	5.1
LD-P(Dox)-30	RAFT	32.6	1.12	7.7
LD-P(Dox)-45	RAFT	45.2	1.13	6.9

HD – High Dispersion (Высокодисперсный)  
LD – Low Dispersion (Низкодисперсный), 30/45 – молекулярная масса

## Исследования *in vitro*

Сополимер	Значение $IC_{50}$		
	Jurkat (мкг мл <sup>-1</sup> )	MCF-7 (мкг мл <sup>-1</sup> )	4T1 (мкг мл <sup>-1</sup> )
HD-P(Dox)	0.37 ± 0.09	1.94 ± 0.75	20.72 ± 2.14
LD-P(Dox)-30	0.32 ± 0.13	1.90 ± 0.42	19.55 ± 4.59
LD-P(Dox)-45	0.29 ± 0.08	1.44 ± 0.11	16.66 ± 3.91
Dox	0.03 ± 0.01	0.09 ± 0.03	0.70 ± 0.33

8 Koziolová E. et al. // *Nanoscale*, 2017, 9, 10906, IF=6.970

spbu.ru

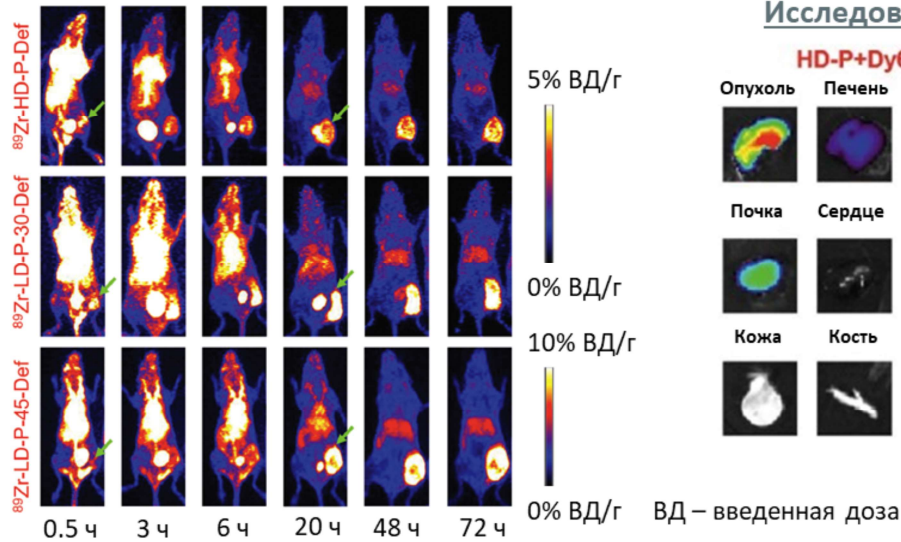
Синтез рассмотренных сополимеров осуществлялся методами радикальной и RAFT-полимеризации с получением трех фракций с различными значениями средней молекулярной массы и дисперсности. Примеры кривых молекулярно-массового распределения для исследованных сополимеров представлены слева, в таблице справа представлены характеристики полученных фракций полимеров. Влияние молекулярной массы и дисперсности полимерного носителя на цитотоксическую активность было оценено *in vitro* для трех клеточных культур: клеток мышиноного (4T1) и человеческого (MCF-7) рака молочной железы, а также белых клеток крови при Т-клеточной лейкемии (Jurkat). Между модифицированными препаратами проявилась заметная разница в эффективности: концентрация вещества, необходимая для замедления деления клеток на 50% ( $IC_{50}$ ), оказалась ниже для менее дисперсных сополимеров с большей молекулярной массой, что авторы объясняют более эффективным переносом препарата в эндосомы.



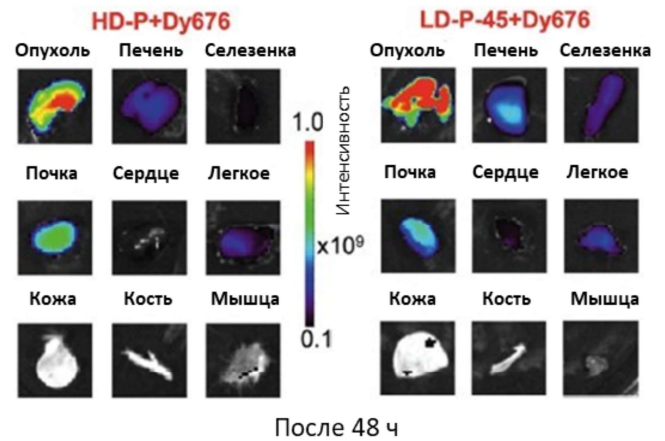


# Препараты на основе ПГПМА: биораспределение

## Исследования *in vivo* (ПЭТ)



## Исследования *ex vivo* (флуоресценция)



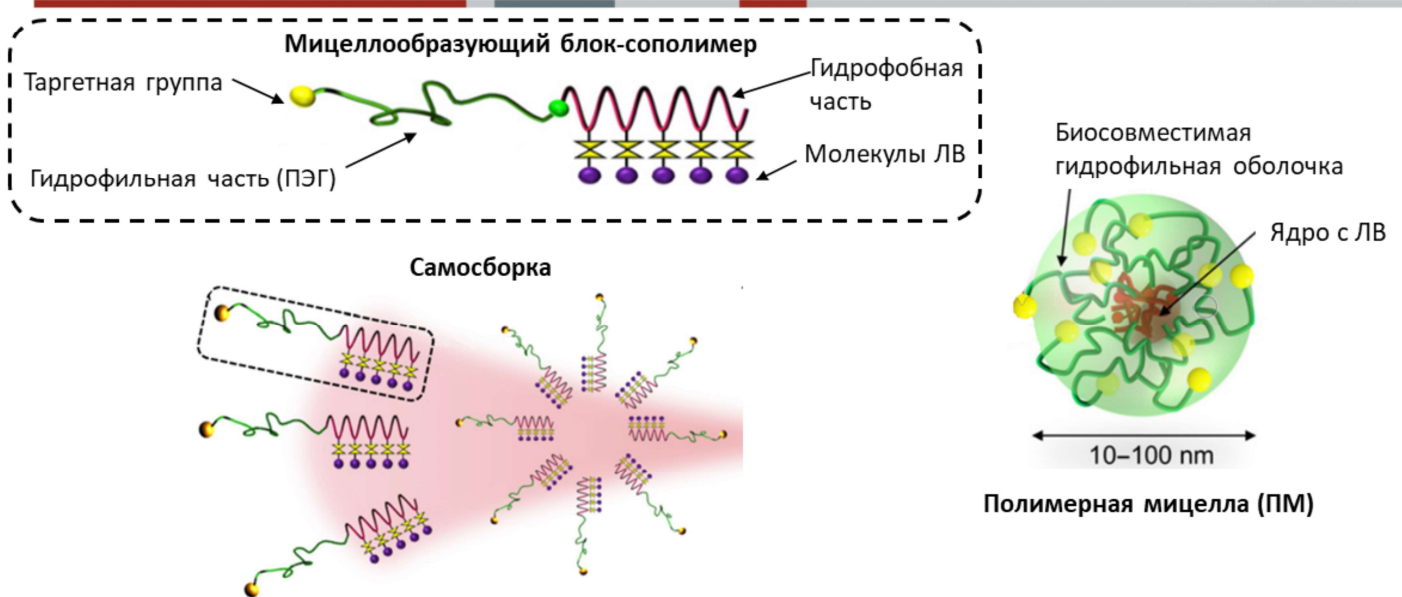
9 Koziolová E. et al. // *Nanoscale*, 2017, 9, 10906, IF=6.970

spbu.ru

Исследования *in vivo* также показали прямое влияние молекулярной массы конъюгатов на их биораспределение. Так, для малодисперсного препарата с большей молекулярной массой наблюдалось наиболее эффективное накопление в опухолевой ткани, что можно увидеть на результатах как ПЭТ здоровых мышей (опухоль обозначена стрелкой), так и флуоресцентного анализа *ex vivo* органов подопытных особей через 48 часов после введения препарата. Кроме того, более высокомолекулярные полимеры эффективнее выводятся из организма. Эти особенности указывают на предпочтительность использования более высокомолекулярных линейных конъюгатов в тераностике.



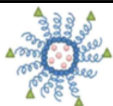
## Полимерные мицеллы



10 Nishiyama N. et al. // *Cancer Sci.*, 2016, 107 (7), 867, IF=4.751

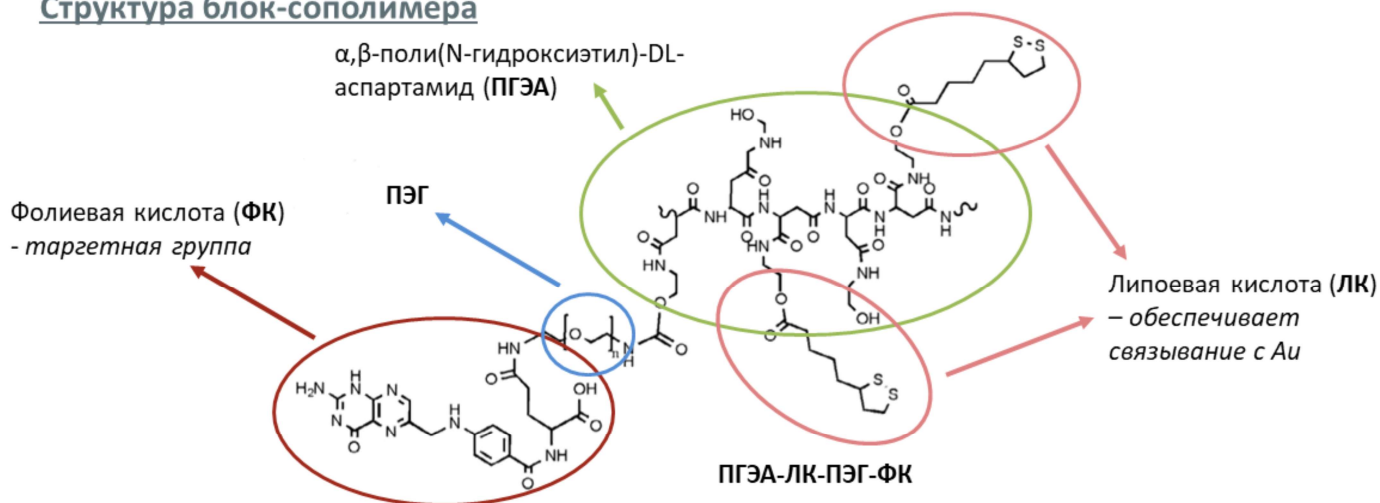
spbu.ru

Другим перспективным типом полимерных систем являются мицеллы. Полимерные мицеллы представляют собой самоорганизующиеся коллоидные структуры типа «ядро – оболочка», построенные из блок-сополимеров с гидрофобным и гидрофильным блоками, соответственно. В качестве последнего наиболее часто используется ПЭГ, который экранирует ядро и препятствует его распознаванию ретикулоэндотелиальной системой в крови, обеспечивая мицеллам длительную циркуляцию в организме. Кроме того, функционализация ПЭГ-цепи таргетными группами позволяет повысить точность доставки мицеллы к пораженному участку, где из нее под действием факторов среды высвобождаются терапевтические и/или диагностические средства, которые были инкорпорированы внутри мицеллы. Удерживание препаратов в гидрофобном ядре осуществляется за счет гидрофобных взаимодействий или ковалентного связывания и позволяет успешно транспортировать квантовые точки и магнитные НЧ.



## ПМ с НЧ Au/оксид кремния/квантовые точки (QD)

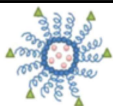
### Структура блок-сополимера



11 Nishiyama N. et al. // *Cancer Sci.*, 2016, 107 (7), 867, IF=4.751

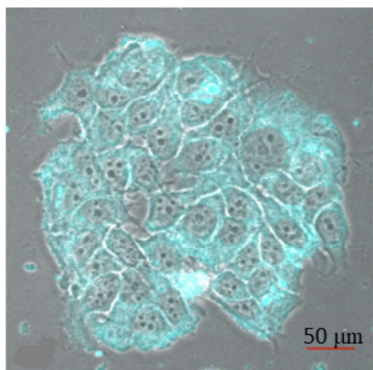
spbu.ru

Рассмотрим описанные структуры на конкретном примере. В данной работе авторы разработали мицеллы, в которые инкорпорировали доксорубин и квантовые точки, покрытые оксидом кремния и золотом. Мицеллообразующие полимеры были синтезированы в несколько стадий и состояли из модифицированного липоевой кислотой (ЛК) α,β-поли(N-гидроксиэтил)-DL-аспартамида (ПГЭА) в качестве гидрофобной части и ПЭГ в качестве гидрофильной. Кроме того, ПЭГ-цепи были модифицированы фолиевой кислотой (ФК) как таргетным лигандом, а серосодержащие концевые группы липоевой кислоты обеспечивали закрепление блок-сополимера на поверхности покрытой золотом НЧ. Таким образом, полученные полимерные мицеллы позволяют транспортировать неорганические НЧ и противораковый препарат незаметно для организма точно к раковым клеткам.

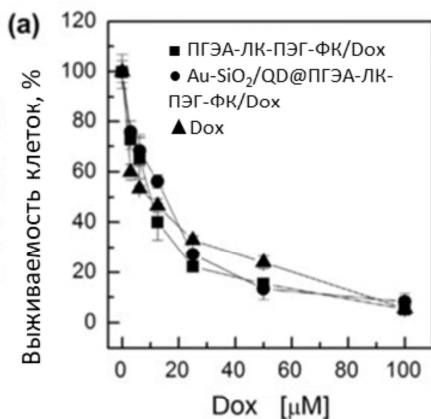


## ПМ с НЧ Au/оксид кремния/квантовые точки (QD)

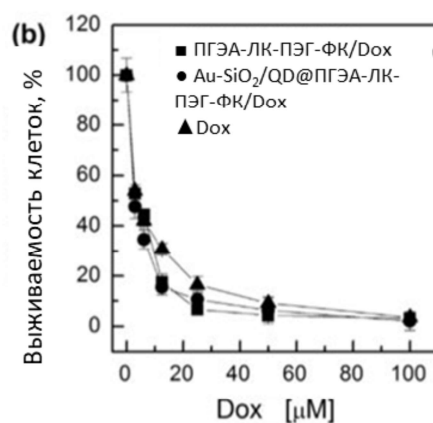
### Исследования *in vitro*



Флуоресцентный снимок клеток рака молочной железы человека (MCF-7)

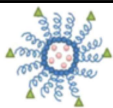


После 24 часов инкубации



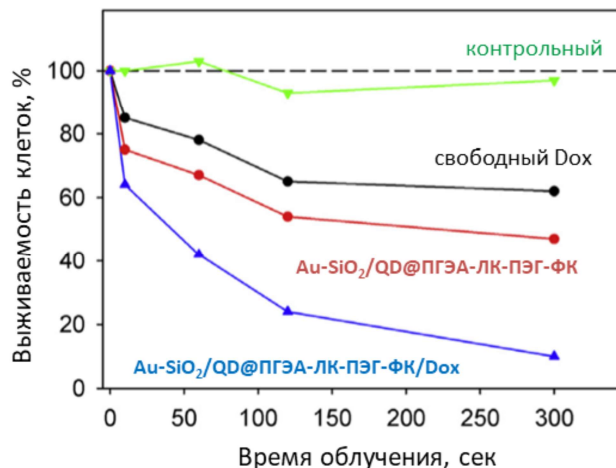
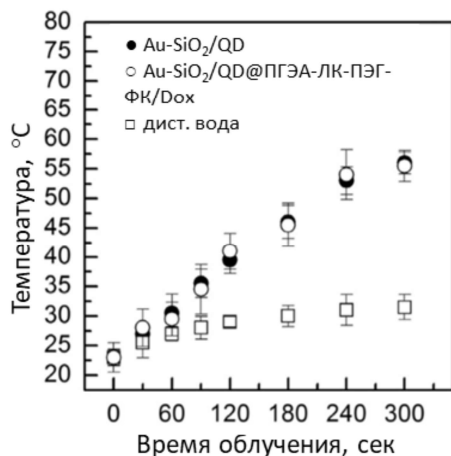
После 48 часов инкубации

Рассмотрим, как влияют полученные НЧ на клетки рака молочной железы человека (MCF-7) *in vitro*. Во-первых, флуоресцентная визуализация с помощью квантовых точек демонстрирует, что синтезированные НЧ проникают внутрь клеток и локализуются преимущественно в цитоплазме. Там они могут воздействовать на опухоль посредством ЛВ, высвобождающегося в слабнокислой среде раковых клеток. Исследование цитотоксичности НЧ, содержащих доксорубицин, показало, что она заметно увеличивается с ростом концентрации ЛВ и времени инкубации.



## ПМ с НЧ Au/оксид кремния/квантовые точки (QD)

### Исследования *in vitro*



13 Volsi A. L. et al. // *Eur. Polym. J.*, 2018, 105, 38, IF=3.621

spbu.ru

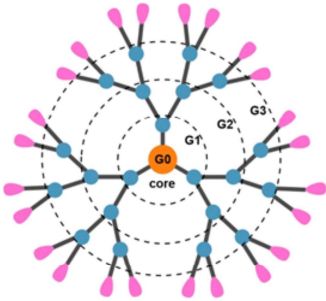
Другой механизм воздействия на пораженный участок, предложенный авторами, основан на гипертермическом эффекте золотой оболочки НЧ, заключающемся в следующем. Полоса поверхностного плазмонного резонанса золотосодержащих наноструктур находится в БИК области, а излучение на таких длинах волн легко проникает в ткани, вызывая повышение температуры в месте концентрирования НЧ. Локальный разогрев вызывает гибель раковых клеток. Авторы демонстрируют повышение температуры дисперсии рассматриваемых наноструктур на 30 °С после 5-минутного облучения по сравнению с чистой водой. Что касается влияния на клеточные культуры, то смертность клеток также увеличивается при облучении, причем сильнее, чем от свободного доxorубина. Однако наибольший эффект наблюдается при одновременном воздействии ЛВ и эффекта гипертермии. Представленные результаты доказывают, что рассматриваемые НЧ имеют хорошую перспективу для тераностики рака, так как способны проникать точно в раковые клетки и разрушать их с помощью двойного действия терапевтического модуля.



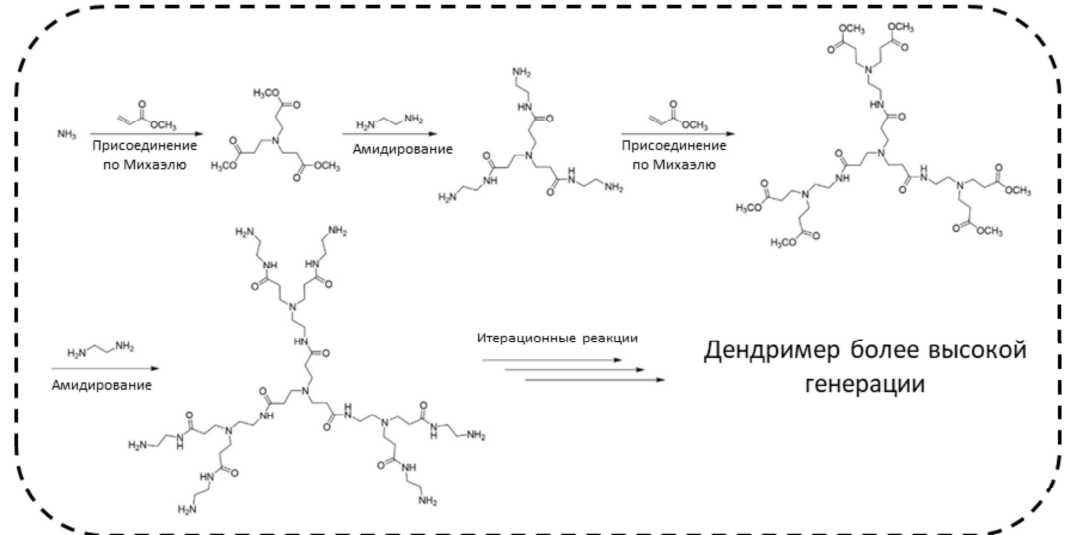
# Дендримеры в тераностике рака



## Синтез ПАМАМ дендримеров



- Ядро – G0
- Слой ветвления или генерации (G1 и т.д.)
- Терминальные функциональные группы



14 Uram Ł. et al. // *Biomolecules*, 2019, 9(9), 437, IF = 4.694

spbu.ru

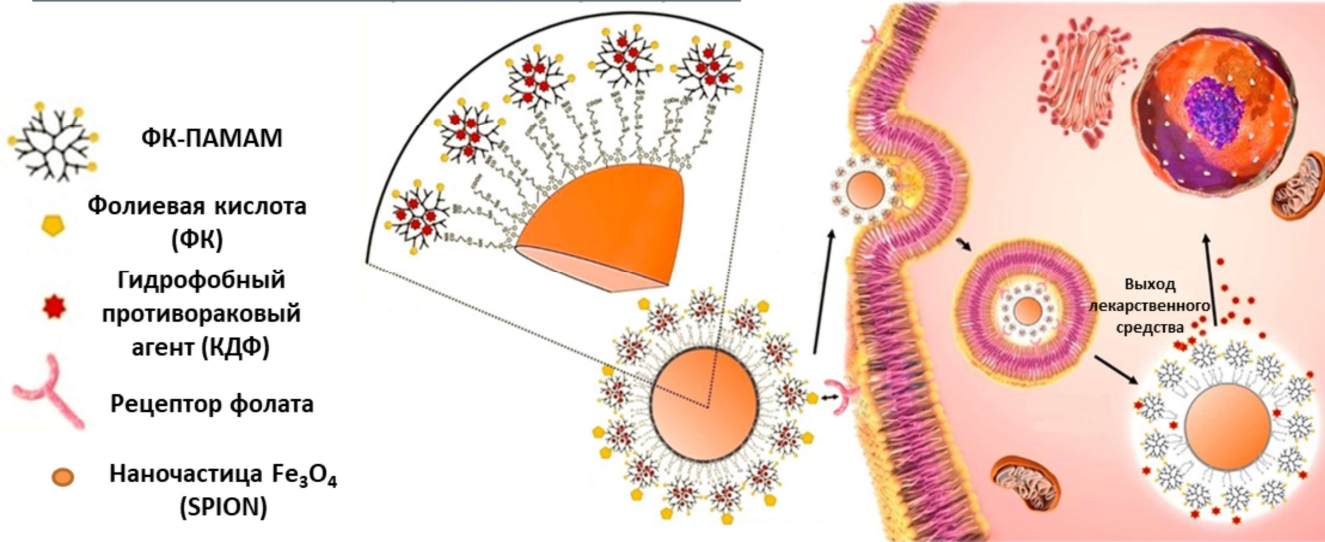
Дендримеры также являются перспективными материалами для тераностики рака. Дендримеры – это рутинно синтезируемые полимеры с симметричной древообразной структурой с регулярными ветвлениями. Ветви дендримера имеют общую центральную группу – ядро. Дендример первого поколения (первой генерации) имеет одну точку ветвления в каждой ветви, второго поколения — две точки ветвления и т. д. В последнее время особое внимание привлекают полиамидоаминные дендримеры (ПАМАМ). Их получают путём присоединения по Михаэлю метилакрилата к аммиаку. Они имеют сильно разветвленную монодисперсную структуру, которая имеет многочисленные гидрофильные реакционноспособные аминогруппы на периферии и липофильные внутренние полости. Эти свойства наделяют данные полимеры способностью инкапсулировать гидрофобные ЛВ внутри своей структуры.



# Дендримеры в тераностике рака



## НЧ оксида железа, покрытые дендримерами



15 Luong D. et al. // *Biomacromolecules*, 2017, 18 (4), 1197, IF=5.667

spbu.ru

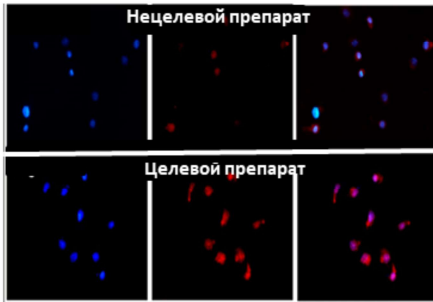
В качестве примера рассмотрим работу, в которой был изготовлен тераностический препарат на основе суперпарамагнитных наночастиц оксида железа (SPION), которые выступали в качестве визуализирующего агента; к ним были привиты ПАМAM дендримеры 4-ой генерации, выступавшие в качестве носителей противоракового вещества (3,4-дифторбензилиден-куркумин (КДФ)). К ПАМAM дендримерам также была привита фолиевая кислота для эффективного нацеливания на рецепторы мембран раковых клеток.



# Дендримеры в тераностике рака

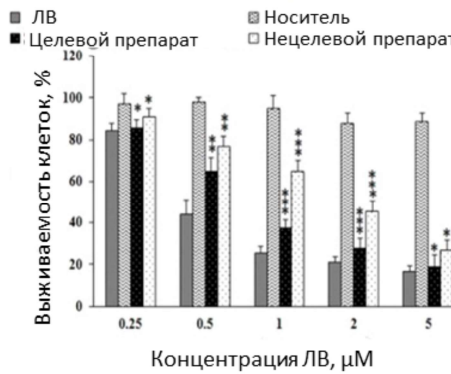


## Исследования *in vitro*

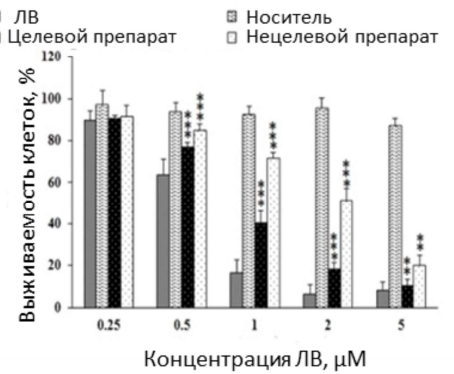


Сравнение флуоресцентных снимков раковых клеток яичников, обработанных нецелевым и целевым препаратом

Раковые клетки яичников



Раковые клетки шейки матки



Авторами статьи были проведены испытания разработанных НЧ на раковых клетках шейки матки и яичников *in vitro*. На слайде представлены флуоресцентные микроскопические снимки клеток яичников. Синей флуоресценции соответствуют раковые клетки с ядерным окрашиванием, красной флуоресценции соответствуют раковые клетки, меченные нецелевым и целевым препаратами и родамином В. На третьей паре снимков два предыдущих снимка наложены друг на друга для сравнения. Можно сделать вывод, что клетки, обработанные как целевым, так и нецелевым препаратом демонстрируют явную флуоресценцию, но в случае целевого препарата она значительно выше.

Цитотоксичность НЧ исследовалась на раковых клетках шейки матки и яичников в широком диапазоне концентраций противоракового средства (0,25-5 μM). Простой носитель без ЛВ показал незначительную цитотоксичность, что подтвердило его безопасность. Противораковую активность целевого и нецелевого препаратов изучали и сравнивали со свободным лекарственным средством. Результаты показали увеличение цитотоксичности с увеличением концентрации ЛВ. Также можно заметить, что при наличии в НЧ фолиевой кислоты процент апоптоза у клеток также увеличивается.

Таким образом, разработанные авторами НЧ имеют хороший потенциал для тераностики рака.





## Выводы

- Тераностика является альтернативой традиционным методам лечения рака
- Сочетание терапевтического и диагностического агентов в одном модуле позволяет добиться точного воздействия на опухоль и отслеживать результаты лечения
- Полимерные системы для тераностики перспективнее других типов НЧ
- Модификация полимерных НЧ таргетными группами позволяет повысить точность доставки ЛВ к опухоли

На основании всего вышесказанного можно заключить, что тераностика является достойной альтернативой традиционным методам лечения, поскольку тераностические препараты точно воздействуют на опухоль и, как следствие, практически лишены побочных эффектов. Различные комбинации функциональных модулей таких препаратов позволяют использовать наиболее подходящие методы диагностики и лечения. В особенности это относится к полимерным НЧ, так как они могут быть легко модифицированы для улучшения биосовместимости, устойчивости в физиологических средах, точности доставки препаратов и т. д. Стоит также отметить, что многие полимерные тераностические препараты находятся на стадии клинических испытаний либо уже прошли их и используются в медицинской практике. Это дает надежду на то, что благодаря тераностике смертность от рака может значительно снизиться.



## Список литературы

Спасибо за внимание!

1. Bray F. et al., Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **2018**, 68, 394–424, **IF=223.679**
2. Peng H. et al., Polymeric multifunctional nanomaterials for theranostics, *Journal of Materials Chemistry B*, **2015**, 3(34), 6856-6870, **IF=5.047**
3. Wang D. et al., Theranostics based on AlEgens, *Theranostics*, **2018**, 8(18), 4925-4956, **IF=8.063**
4. Lim E.-K. et al., Nanomaterials for Theranostics: Recent Advances and Future Challenges, *Chemical Reviews*, **2015**, 115, 327-394, **IF=54.301**
5. Ali I. et al., Progress in Polymeric Nano-Medicines for Theranostic Cancer Treatment, *Polymers*, **2020**, 12(3), 598-629, **IF=3.164**
6. Wei P. et al., Dendrimer-Stabilized Gold Nanostars as a Multifunctional Theranostic Nanoplatfom for CT Imaging, Photothermal Therapy and Gene Silencing of Tumors, *Advanced Healthcare Materials*, **2019**, 5(24), 3203-3213, **IF=5.949**
7. Ekladius I. et al., Polymer–drug conjugate therapeutics: advances, insights and prospects , *Nature Reviews Drug Discovery*, **2019**, 18, 273–294, **IF=57.618**
8. Koziolová E. et al., A tumor-targeted polymer theranostics platform for positron emission tomography and fluorescence imaging , *Nanoscale*, **2017**, 9, 10906-10918, **IF=6.970**
9. Nishiyama N. et al., Development of polymeric micelles for targeting intractable cancers, *Cancer science*, **2016**, 107(7), 867-874, **IF=4.751**
10. Volsi A. L. et al., Hybrid Gold/Silica/Quantum-dots supramolecular-nanostructures encapsulated in polymeric micelles as potential theranostic tool for targeted cancer therapy, *European Polymer Journal*, **2018**, 105, 38-47, **IF=3.621**
11. Uram Ł. et al., Synthesis and Different Effects of Biotinylated PAMAM G3 Dendrimer Substituted with Nimesulide in Human Normal Fibroblasts and Squamous Carcinoma Cells, *Biomolecules*, **2019**, 9(9), 437-456, **IF = 4.694**
12. Luong D. et al., Polyvalent Folate-Dendrimer-Coated Iron Oxide Theranostic Nanoparticles for Simultaneous Magnetic Resonance Imaging and Precise Cancer Cell Targeting, *Biomacromolecules*, **2017**, 18(4), 1197-1209, **IF=5.667**

Список литературы представлен на слайде. СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!