

本科生毕业论文



|  |  |
| --- | --- |
| 题　　目 | 还原敏感聚合物 Py-ss-PEG-ss-Py  作为药物缓释载体的胶束化研究 |
| 学　　院 | **化学工程学院** |
| 专　　业 | **制药工程专业** |
| 学生姓名 | **何雨航** |
| 年　　级 | **2013级** |
| 指导老师 | **李赛** |

还原敏感聚合物 Py-ss-PEG-ss-Py

作为药物缓释载体的胶束化研究

**摘要：**癌症，一直是人类文明心中永远挥之不去的阴影。还原敏感聚合物 Py-ss-PEG-ss-Py 就是一个优秀的具有癌细胞特异性的药物缓释载体的单体。该单体因其具有还原敏感特性的二硫键，可以特异性地在癌细胞中的强还原性环境分解，释放出包含的药物，同时，载体两端的芘也会脱落变为游离态从而对癌细胞产生协同的破坏。该单体也因其两段具有芘的大π键，可以与大量药物产生共轭效应，提高载药量。

本课题成功合成了 Py-ss-PEG-ss-Py 单体并制成了胶束，并且对胶束的各项性质进行了检测和评估，并且对其用来作为药物载体的基本性质进行了探究。

**关键词：**还原敏感 缓释 药物载体 胶束

English Title

Abstract: [Abstract Text English]

Key words: [Key-words Text English]

目录

**未找到目录项。**

**前言**

癌症，一直是人类文明心中永远挥之不去的阴影。目前，癌症的预防、诊断与治疗已经成为世界卫生相关领域中最为火热的话题之一。而这种疾病因其症状不明显，癌细胞繁殖能力强，变异能力强且极易产生抗药性，而为癌症的治疗设置了许多的障碍。而近年来，随着我国老龄化社会的情况在逐年地加剧，癌症的发病率也为我国现有的公共卫生环境施加了极大的压力。攻克癌症成为了我们的必由之路。

本文阐述了一种用于癌症治疗药的具有还原敏感型的新型靶向高分子胶束药物载体的合成与表征。

癌症与缓/控释药物

一般认为，癌症是因为正常体细胞在分裂分化的过程中由于产生了基因突变导致细胞开始不受控制地快速分裂增殖。并且由于其细胞表面大多缺乏糖蛋白，而容易在体内扩散，最后变成难以根治的病症。

抗癌现状

据调查[World Cancer Report 2014.. World Health Organization. 2014: Chapter 1.1. ISBN 9283204298. 14.0 14.1]，在2012年仅一年中，就有大约1400万的新病例和800万次与癌症有关的死亡时间，影响着所有国家和地区的人民。几乎每一年的每十万人中，就有约182人被新确诊为癌症，就有102人死于癌症。

癌症治疗方法及其特点

目前来说，常用的方法有外科手术，放射性治疗，化学治疗等，然而这些疗法各有各的优缺点。外科手术比较简单，但是不容易完全清除体内的癌变组织，而且也没办法资料已扩散的癌症；放射性治疗和化学疗法能够阻止癌细胞的快速分裂，但其对身体伤害极大。

除去以上的几种常用癌症治疗方法之外，近几年也有几种新型治疗技术崭露头角，如免疫疗法、基因疗法、靶向疗法等。这几种在传统的癌症治疗方法之上，具有自己独特的优点。而其中，缓释靶向治疗就因其疗法同时具有有极高的抗癌特异性，患者依从性，高效性，而备受科研人员青睐。

缓/控释药物的特点及分类

缓/控释药物系指药物口服后缓慢地非恒速、恒速或接近恒速释放，其与相应的普通药物比较，给药次数比普通药物至少减少一半，能够减少给药次数，服用方便，提高患者的依从性，减少血药浓度波动，减少不良反应等。

缓/控释药物一般可借由特殊的剂型或是特殊的药物载体实现，常见的缓释剂型有骨架分散型缓释制剂，膜控型缓释制剂，缓释乳剂，缓释膜剂等。而药物缓释载体中，纳米颗粒就是一个重要的类别。

纳米颗粒及其分类

纳米颗粒（nanoparticle），指纳米量级的微观颗粒。 它被定义为至少在一个维度上小于100纳米的颗粒。 小于10纳米的半导体纳米颗粒，由于其电子能级量子化，又被称为量子点。 纳米颗粒具有重要的科学研究价值，它搭起了大块物质和原子、分子之间的桥梁。常见的纳米颗粒有：纳米脂质体，固体脂质纳米粒，树枝状大分子，纳米囊和纳米球，聚合物胶束，纳米药物等。其中，聚合物胶束就因其具有不可替代的优秀性能而成为当前纳米颗粒缓释药物载体的研究热点。

胶束及其特点

胶束（Micelle）是表面活性剂在溶液中的浓度到达临界胶束浓度CMC并超过该值后，其分子或离子自动缔合成的胶体大小的聚集体质点微粒，这种胶体质点与离子之间处于平衡状态。胶束因其因其两亲性聚合物单体的结构而具有以下特别的特点：

制备简单。胶束的单体一般是两亲性聚合物，它能在单体浓度较高的水溶液中自发地组装成为粒径大小较为均一的胶束，并且能够在水溶液的环境中形成亲脂性的微环境，从而具有可以包埋亲脂性药物的性质

粒径优势。聚合物胶束的粒径一般小于100nm，且粒径的分布非常集中，十分容易穿透血管壁进入组织从而能够有效地避免肾小球的滤过作用，延长了载药药物载体在体内保留的时间，更利于药性的发挥。同时，其合适的尺寸利于病变细胞通过胞吞的方式吸收载药纳米载体进入其胞内，从而为药物的特异性是方提供了前提条件，克服了药物释放所引起的多药耐药。

有效药量更多。聚合物胶束与小分子表面活性剂相比，其CMC（临界胶束浓度）更低，更能够抵御稀溶液的稀释，稳定性相对较强，且因其分解速率相对较低，所以其所包药物就能够获得相对更长的体内滞留时间，就更能够提升被相关细胞吞入地概率，从而提升药物地有效量。

易修饰。与小分子表面活性剂相比，聚合物胶束的疏水端相对作用力更大，有益于聚合物胶束的稳定性，增强了其抵御稀溶液稀释的能力，且其较大的分子量为胶束单体的结构修饰提供了更大的修改潜力，从而我们可以通过对单体或胶束进行官能团的增加，结构的修改，为聚合物胶束赋予新的功能，如光敏/磁敏性，氧化还原敏感，特异性吸收等性质。

生物兼容性。聚合物胶束的单体常采用生物兼容性好的材料，如PEG（聚乙二醇），PEO（聚氧乙烯），PCL（聚己内酯）等。其具有安全，无毒，非过敏源，生物可降解等特性，为药物载体的医用提供了前提条件。

Py-ss-PEG-ss-Py的结构与性质

本课题所要研究的聚合物胶束的单体即为Py-ss-PEG-ss-Py其结构如下：

是PEG与芘通过二硫键进行连接，这种结构具有如下性质：

单体两端连接有带有大π键的芘，能够与具有双键等结构的药物产生共轭效应降低体系能量，从而提高胶束的稳定性，提升药物的载药量。

芘与聚乙二醇通过具有还原敏感性的二硫键进行连接，从而能够使聚合物胶束具有还原敏感的特性。而且在癌变组织中，其环境也是具有还原性的，所以该胶束可以特异性地在癌变组织处分解释放出抗癌药物并且载体分解时产生的游离芘也会对癌变细胞产生协同性的杀伤效果，进一步地提高药物的药效。以上的这些性质与其他其他纳米颗粒药物载体相比及其有研究价值。

本课题通过把Py-ss-PEG-ss-Py和相似聚合物单体Py-PEG-Py进行各项性质的比照，来具体说明Py-ss-PEG-ss-Py所具有的各项特性。Py-PEG-Py的分子结构如下：



该结构与Py-ss-PEG-ss-Py相比，相同点有：两个疏水端都带有大π键的芘，中间的亲水端则是由PEG组成，都具有脂键；不同点有Py-ss-PEG-ss-Py的疏水端和亲水端是由二硫键连接起来的，并且还具有额外的酰胺键。所以，本课题在研究Py-ss-PEG-ss-Py的时候，通过使用Py-PEG-Py作为对照，两相比较，能够较为直观地说明Py-ss-PEG-ss-Py的与还原敏感方面的特性。

研究内容

本课题包括以下几个方面：

Py-ss-PEG-ss-Py 的合成与表征：

Py-ss-PEG-ss-Py的体外的聚集行为研究：通过挥发法制备 Py-ss-PEG-ss-Py 胶束，测定其 CMC（临界胶束浓度）并通过 DLS（动态光散射）和 AFM（原子力扫描镜）来分别研究胶束的粒径和表面结构。

Py-ss-PEG-ss-Py胶束的刺激响应性测试：为了探究Py-ss-PEG-ss-Py的还原敏感特性，本实验通过设置具有不同的还原性强度的恒温环境，通过检测Py-ss-PEG-ss-Py在该环境下分解时不同时间点胶束的荧光，来研究药物还原敏感特性。还原敏感实验结果表明，Py-ss-PEG-ss-Py胶束具有在还原性环境条件下胶束分解速度加快的特性。表明了该胶束材料本身具有针对癌症组织特异性的敏感性，为我们后来采用该材料进行药物包埋并进行体外释放实验提供了前提条件支持。

Py-ss-PEG-ss-Py的DOX 载药胶束的制备与表征：通过透析法制备Py-ss-PEG-ss-Py的DOX载药胶束，通过紫外分光光度法作标准曲线研究胶束的载药量，并在不同的pH条件和不同的还原性条件组合出的恒温环境中，通过荧光研究在不同还原强度和不同的pH环境下载药胶束的释放情况。

**实验部分**

Py-ss-PEG-ss-Py 的合成与表征

实验方法

Py-ss-PEG-ss-Py 的体外的聚集行为研究

实验方法

胶束的制备

使用挥发法制备胶束

分别称取10mg的Py-ss-PEG-ss-Py和Py-PEG-Py溶于约400μl 四氢呋喃中，并以每秒1滴的速度滴加到20ml蒸馏水中，避光通风隔夜，制成0.5mg/ml的样品胶束溶液。

DLS（动态光散射）测量胶束粒径

分别使用 DLS 对以上的两个样品进行测定，测定温度为25°C，结果见图

Py-ss-PEG-ss-Py 胶束的刺激响应性测试

实验方法

配置胶束溶液：分别称取10mg的 Py-ss-PEG-ss-Py 和 Py-PEG-Py 溶于约400μl 四氢呋喃中，并以每秒1滴的速度滴加到20ml蒸馏水中，避光通风隔夜，制成0.5mg/ml的样品胶束溶液。

称取 9.219mg GSH 溶于300μl蒸馏水中，并在特定的时间点（0h，1h，2h，3h，4h，6h，10h，24h，48h）分别配成1ml以下的溶液：

#1：Py-PEG-Py，0mM GSH

#2：Py-PEG-Py，15mM GSH

#3：Py-ss-PEG-ss-Py，0mM GSH

#4：Py-ss-PEG-ss-Py，0.5mM GSH

#5：Py-ss-PEG-ss-Py，15mM GSH

配制完成之后放置在37°C恒温摇床中，待测量时间到时取出1mL溶液，并测量其荧光和紫外特征。荧光的参数为激发波长390nm，接受范围为320-370nm处。分别得到图。

Py-ss-PEG-ss-Py 的 DOX 载药胶束的制备与表征

实验方法

使用透析法制备载药胶束

？

测试载药胶束的载药量

？

进行载药胶束的药物释放实验

？

结果与讨论

1. Py-ss-PEG-ss-Py 的合成与表征

2. Py-ss-PEG-ss-Py 的体外的聚集行为研究

3. Py-ss-PEG-ss-Py 胶束的刺激响应性测试

4. Py-ss-PEG-ss-Py 的 DOX 载药胶束的制备与表征

**结论**