



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Design and application of dextran based cross-linked networks

Gao, Y.

Citation

Gao, Y. (2018, October 18). *Design and application of dextran based cross-linked networks*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/66265>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/66265>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/66265> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Gao, Y.

Title: Design and application of dextran based cross-linked networks

Issue Date: 2018-10-18

SAMENVATTING

Al in de jaren 50 van de vorige eeuw werden verschillende hydrogelen ontworpen, gekarakteriseerd en geëvalueerd voor biomedische toepassingen. Commerciële producten op basis van hydrogelen omvatten onder anderen contactlenzen, wondverbanden en hygiëneproducten, vanwege hun hoge wateropname, porositeit en unieke mechanische eigenschappen. In de laatste twee decennia is de focus verschoven om het potentieel van hydrogelen op het gebied van medicijnafgifte en weefselmanipulatie te onderzoeken. Als gevolg daarvan evolueerde het ontwerp van hydrogelen van relatief eenvoudige chemische of fysisch verknoopte netwerken naar complexe multicomponent-systemen met een hoge mate van ruimtelijke en temporele controle. De specifieke vraag naar multifunctionele en goed gecontroleerde hydrogelen resulteerde in de ontwikkeling van netwerken door gebruik te maken van nieuwe synthetische methodologieën en dynamische chemie en assemblagestrategieën.

In dit proefschrift werden nieuwe gecrosslinkte hydrogelen ontworpen en werden toepassingen van deze materialen op het gebied van drug delivery onderzocht. Deze hydrogelen bestaan voornamelijk uit het neutrale polysaccharide dextraan (Dex) vanwege de gunstige eigenschappen zoals de biologische afbreekbaarheid en biocompatibiliteit, relatief lage kosten, goede wateroplosbaarheid en het gemak van chemische modificatie.

Geïnspireerd door natuurlijke systemen werden nieuwe medicijnafgifte (drug delivery) platforms opgezet waarin humaan serumalbumine (HSA) gelijktijdig gebruikt werd als een affinity-based drug carrier en crosslinker. **Hoofdstuk 2** richt zich op de thiol-modificatie van HSA, om het vervolgens te crosslinken aan een maleïmide-gemodificeerd dextraan (Dex-Mal) polymeer, en de afgifte van laagmoleculaire medicijnen te bestuderen. Om het medicijn-bindend vermogen van albumine te behouden, werd 2-iminothiolaan gebruikt, wat denaturatie voorkomt door de verdeling van de oppervlaktelading te handhaven. Een verdere uitbreiding van deze studie aan hydrogelen op basis van affinity-based drugs kan zijn om gethioleerd albumine te gebruiken in combinatie met andere covalente polymeren die gefunctionaliseerd zijn met Michael-acceptoren om zo hydrogelmaterialen met verschillende materiaaleigenschappen te genereren.

In **Hoofdstuk 3** werden twee methoden onderzocht om de stabiliteit en mechanische eigenschappen van dextraan-albumine hydrogelen te verbeteren. In de eerste benadering werd de modificatie van dextraan met vinylsulfon bestudeerd om de hydrogel stabiel te maken. De tweede benadering bestond uit de toevoeging van een derde macromoleculaire precursor, poly(ethyleenglycol) met thiol eindgroepen, aan het dextraan-albumine hydrogel systeem om hiermee de kinetiek van hydrogelvorming en de resulterende fysische eigenschappen beter te controleren. Deze Dex(VS)-sHSA-PEG-hydrogelen vertoonden een verbeterde stabiliteit en

SAMENVATTING

verhoogde mechanische stijfheid, waardoor ze meer geschikt zijn voor langdurige afgifte van medicijnen.

Naast het gebruik van deze gels als drug delivery tool, werden andere toepassingen onderzocht. De opname van een laagmoleculair medicijn in een zebra-embryo met behulp van de op dextraan gebaseerde geconjugeerde drug carriers werd bestudeerd in **Hoofdstuk 4**. Het geneesmiddel valproaat werd met behulp van β -cyclodextrines ge-encapsuleerd in een dextraan-PEG-netwerk. Deze Dex-CD/PEG-carriers (zonder valproaat) werden succesvol opgenomen in het maagdarmkanaal van 4 dagen oude zebra-embryo's. Vervolgens werden zebra-embryo's blootgesteld aan valproaat, dat in deze nieuwe materialen was ge-encapsuleerd. Als gevolg hiervan werden de zebra-embryo's gevoeliger voor valproaat, wat laat zien dat de Dex-CD/PEG-carriers de opname van valproaat verbetert. Deze resultaten geven aan dat de Dex-CD/PEG-carriers kunnen helpen bij toxiciteitstesten met zebra-embryo's van geneesmiddelen die in staat zijn om een inclusiecomplex te vormen met β -cyclodextrine.

Grote unilamillaire vesicles (GUV) worden vaak gebruikt in de membraanbiofysica om membraangerelateerde processen te bestuderen. In **Hoofdstuk 5** wordt een nieuwe methode voor het vormen van GUV's met hydrogelfilm-geassisteerde hydratatie van een lipidefilm beschreven. Een dunne laag van een hydrogel werd gevormd door een Michael-additiereactie tussen maleïmide gemodificeerd dextraan en poly(ethyleenglycol) met thiol eindgroepen op een microscoop glaasje dat voorbehandeld was met thiolgroepen. Het covalent koppelen van de hydrogelfilm aan de glasplaatjes zorgt ervoor dat de gevormde GUV's niet verontreinigd zijn met hydrogel(fragmenten). Na hydratatie van de polymeerfilm met behulp van een buffer van fysiologische ionsterkte werden GUV's snel in een hoge opbrengst gevormd. De opbrengst en grootteverdeling van de gevormde GUV's werden systematisch onderzocht door de hydrogel-samenstelling te variëren. Om een hoge opbrengst van GUV's met eenzelfde diameter te verkrijgen, was het essentieel dat de hydrogelfilms een continue poriestructuur met een geschikte grootte hadden. Bovendien zijn de interacties tussen de lipide-componenten en hydrofiele polymeren een belangrijke factor voor succesvolle GUV-vorming. In tegenstelling tot andere methodes vereist deze methode geen speciale apparatuur en kan toegepast worden op elke lipide-formulering in buffers met hoge ionsterkte. Deze hydrogelfilm-ondersteunde hydratatiemethode genereert binnen enkele minuten GUV's in hoge opbrengst waardoor het een eenvoudig te gebruiken methode is.

In **Hoofdstuk 6** werden de heterodimeer coiled-coil vormende peptiden **E** en **K** gekoppeld aan dextraan om de zelfassemblage te controleren via niet-covalente interacties. De peptiden werden via de C- of N-terminus aan dextraan gekoppeld, wat resulteerde in vier verschillende multivalente peptide-dextraan conjugaten. Door binding aan dextraan veranderde de secundaire structuur van de peptides. Met behulp van dynamische lichtverstrooiingsmetingen werd duidelijk dat er grote

SAMENVATTING

aggregaten tussen dextraan-peptide **E** en dextraan-peptide **K**-conjugaten gevormd werden. Er kon echter geen specifieke coiled-coil interactie worden waargenomen met fluorescentieresonantie-energieoverdracht (FRET). Een mogelijke verklaring is de vorming van homocoil (**K/K**) complexen in dextraan-peptide **K** waardoor heteromeer coiled-coil (**E/K**)-vorming niet meer mogelijk is. Verder kan coiled-coil vorming belemmerd worden door sterische hindering als gevolg van polymeer-peptide-koppeling.

Samengevat beschrijft dit proefschrift de ontwikkeling van dextraan-gebaseerde hydrogelen waarvan de fysisch-chemische eigenschappen kunnen worden afgestemd voor iedere gewenste toepassing. Bovendien wordt in dit proefschrift ook nieuwe toepassingen van hydrogelen op het gebied van biofysica en toxicologie onderzocht en beschreven.

Met betrekking tot het gebruik van hydrogelen voor medicijnafgifte, werden de bindingspockets van albumine gebruikt om hydrogelen te ontwerpen voor ruimtelijke en temporele controle over de afgifte van therapeutische middelen. Langdurige afgifte werd aangetoond voor verschillende medicijnen in deze studie, maar verdere optimalisatie is vereist. Geneesmiddelafgifte van deze hydrogelen omvat twee stadia: de afgifte van het medicijn uit de bindingsholtes en daaropvolgende geneesmiddeldiffusie door het onoplosbare polymeernetwerk. Computersimulaties van het afgifteproces kan een dieper inzicht verschaffen in het afgifte-mechanisme. Uit deze studies kan de correlatie tussen geneesmiddel-albuminebindingscoëfficiënten en afgiftekinetiek van de hydrogel worden bepaald en bijdragen aan de verdere optimalisatie van deze materialen. Gelijktijdige afgifte van zowel hydrofobe als hydrofiele therapeutische middelen uit de verschillende delen van de hydrogel kan ook een interessante richting zijn voor verder onderzoek.

Met betrekking tot de nieuwe toepassingen van hydrogelen die in dit proefschrift worden beschreven, bieden de gecrosslinkte dextraan-PEG-hydrogelfilms een gemakkelijke methode om GUV's met en zonder lading te bereiden, terwijl de gecrosslinkte Dex-CD/PEG-dragers de opname-efficiëntie van medicijnen met een laag molecuulgewicht zoals valproaat verbeteren in een toxiciteit test. Naar verwachting is deze methode geschikt om de opname van elke verbinding die in staat is om een inclusiecomplex te vormen met β -cyclodextrine te verhogen. Naast het vaststellen van deze nieuwe benaderingen, werd in dit proefschrift een fundamenteel aspect van de polymeerwetenschap onderzocht: orthogonale methoden voor het crosslinken van polymeernetwerken en onderzoek van de resulterende fysisch-chemische eigenschappen. Door het zorgvuldig ontwerpen van de hydrogelbouwstenen kunnen defecten en inhomogeniteiten van het polymeer netwerk verminderd worden, resulterend in betere prestaties met betrekking tot reproduceerbaarheid en daadwerkelijke toepassing van deze materialen.

Met betrekking tot de ontwikkeling van nieuwe biomolecuul-dextraanderivaten is de conjugatie

SAMENVATTING

tussen dextraan en biomoleculen zoals peptiden, eiwitten en nucleïnezuren eenvoudig. Dit proefschrift laat echter zien dat de structuur, conformatie en functionaliteit van de resulterende multivalente biomolecuul-dextraan conjugaten complexer kunnen zijn dan aanvankelijk werd verwacht. Daarom is het in de toekomst noodzakelijk om de interacties van biomoleculen gekoppeld aan dextraan te bestuderen, aangezien de lokale omgeving invloed heeft op de functionaliteit van de biomoleculen.. Het ontwerpen van experimenten die deze interacties onthullen, is echter niet triviaal. Niettemin kan een grondig begrip van de nieuw ontwikkelde biomolecuul-dextraan-conjugaten helpen bij hun toekomstige ontwerp.

Door de jaren heen is er enorme vooruitgang geboekt in het ontwerp van hydrogelen, zoals blijkt uit de enorme hoeveelheid literatuur. Recente ontwikkelingen omvatten het ontwerp van multicomponent hydrogel-systemen om te voldoen aan de behoeften van steeds complexere materialen voor een breed scala van biomedische toepassingen. Voor dit doel zijn nieuwe hydrogelsystemen ontworpen voor het vergemakkelijken van eenvoudige en regelbare manipulaties zoals *in situ* vormende en 3D-geprinte hydrogelen. Door voortzetting van het onderzoek op dit gebied, liggen nieuwe grenzen en duurzame bijdragen aan polymeer- en biomedische wetenschappen binnen handbereik.