

для такого полімераналогічного перетворення є концентрація трифтороцтової кислоти 40–75 % та час деблокування 7–9 год.

1. *Poly(amino acid)s: Promising enzymatically degradable stealth coatings for liposomes / Romberg B., Metselaar J., Baranyi L., Snel C., Bonger R., Hennink W., Szebeni J., Storm G // International Journal of Pharmaceutics. – 2007. – V. 331. – P. 186–189.* 2. *Синтез пептидов. Реагенти и методы / А.А. Гершкович, В.К. Кубишев. – К.: Наук. думка, 1987. – 264 с.* 3. *Stereocontrolled total synthesis of (+-)-cyanocycline A / Fukuyama T., Li L., Laird A., Frank R. / J. Am. Chem. Soc. – 1987. – V. 109. – P. 1587–1589.* 4. *Effect of trifluoroacetic acid upon Boc-aminoacyl- and Boc-peptidyl-resins. Description of a new polymeric support for solid phase peptide synthesis / Giralt E., Andreu D., Rafecas L. // Tetrahedron Letters. – 1979. – V. 20. – P. 3587–3590.* 5. *Comparison of 55 % TFA/CH₂Cl₂ and 100 % TFA for Boc group removal during solid-phase peptide synthesis / Blondelle S.E., Houghten R.A. // Int. Journal of Peptide and Protein Research. – 1993. – V. 41. – P.522–527.* 6. *Синтез поликатионного пептидного аналога олигодезокситимидилової кислоти / Кван Чул Хюн // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. “Химия”. – 2001. – № 2. – С. 128–130.* 7. *Solid Phase Peptide Synthesis. A Study on the Effect of Trifluoroacetic Acid Concentration on the Removal of the tert-Butyloxycarbonyl Protecting Group / Reid R.E. // J. Org. Chem. – 1976. – Vol. 41. – P. 1027–1031.* 8. *1. Direct Esterification Of Poly (Ethylene Glycol) With Amino Acid Hydrochlorides / Lele B.S., Gore M.A., Kulkarni M.G. // Synthetic Communications. – 2000. – V. 29. – P.1727–1739.* 9. *Капельный анализ органических веществ / Ф. Файгель. – М.: Гостхимздат, 1962. – 836 с.*

УДК 541.64

А. Рябцева¹, Ю. Остапчук², Н. Мітіна¹, М. Москвін¹, Н. Бойко², Р. Стойка², О. Заїченко¹

¹Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра органічної хімії,

²Інститут біології клітини НАН України

ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЬВМІСНІ ОЛІГОМЕРНІ НОСІЇ ТА НАНОРОЗМІРНІ СИСТЕМИ ДОСТАВКИ АНТИМІКРОБНИХ РЕЧОВИН НА ЇХ ОСНОВІ

О Рябцева А., Остапчук Ю., Мітіна Н., Москвін М., Бойко Н., Стойка Р., Заїченко О., 2011

Подано результати досліджень цілеспрямованого синтезу нових поліетиленглікольвмісних олігомерних носіїв, а також їхня властивостей хімічними та фізико-хімічними методами. Показана можливість отримання нанорозмірних водних систем кон'югатів нових олігомерних носіїв з антимікробними речовинами.

Ключові слова: полімерні носії, олігопероксидації, ПЕГілювання, системи доставки лікарських препаратів.

The results of purposeful synthesis of new oligomeric PEGylated carriers and their properties studied by chemical and physical-chemical methods are presented in the article. It is shown the opportunity to obtain nanoscale water systems of conjugates of novel oligomeric carriers with antimicrobial substances.

Key words: polymeric carriers, oligoperoxides, PEGylation, drug delivery systems.

Вступ. Одним із сучасних напрямів розробки транспортних форм з контрольованим виділенням ліків є створення систем, які функціонують за принципом зворотного зв'язку і здатні відповідно до вимог внутрішнього середовища організму забезпечувати тривале рівномірне постачання фармакофору в активній формі в орган-мішень. Сьогодні інтенсивно досліджуються

нові полімерні форми з хімічно зв'язаним БАР, капсульовані форми лікарських речовин (ліпосоми, нано- і мікрокапсули), полімерні гідрогелі [1]. Відомо [2, 3], що біологічна толерантність, здатність іммобілізувати та вивільнювати певні лікарські сполуки в органі-мішені, утворювати стабільні водні системи для цільової доставки ліків, особливо погано розчинних у воді, можливість долати в організмі природні захисні бар'єри такі, як гемоенцефалічний, набуту резистентність до ліків та багато інших, є серед основних вимог до полімерних носіїв лікарських препаратів. Наявність у структурі полімерних носіїв функціональних груп, здатних до іонізації, та/або фрагментів поліетиленгліколю (ПЕГ), здатних взаємодіяти з клітинною мембраною та "маскувати" речовину від імунної системи, робить їх цікавими потенційними кандидатами для систем контрольованої доставки ліків. Введення в структуру полімерних носіїв фрагментів ПЕГу переважно досягається або шляхом кополімеризації з ПЕГ-вмісними мономерами малеїнатового або акрилатового типів або шляхом реакції ПЕГ з реакційно здатними ангідридними, ізоціанатними, епоксидними та іншими групами полімерів.

Мета роботи – синтез нового ряду біологічно толерантних ПЕГ-вмісних олігомерних носіїв та нанорозмірних систем доставки антимикробних та протипухлинних препаратів в орган-мішень на основі олігомерів з бічними пероксидними та епоксидними групами. Поєднання в структурі носіїв фрагментів ПЕГ з пероксидними групами зумовлює можливість їх використання для подальшого молекулярного дизайну носіїв реакціями радикальної прищепленої кополімеризації.

Новизна запропонованого підходу полягає у контрольованому синтезі бінарних кополімерів, які поєднують у своїй структурі пероксидні групи, здатні до утворення вільних радикалів у заданому температурному діапазоні, та епоксидні групи, що забезпечують взаємодію з поліоксиетиленгліколями, спиртами, амінами та іншими сполуками, зокрема продуктами природного походження, які містять рухливий атом водню.

Обговорення результатів. Об'єктами дослідження в роботі були кополімер ненасиченого пероксиду *2-трет*-бутилперокси-2-метил-5-гексен-3-ін (ВЕР) і гліцидил метакрилату (ГМА), отриманий методом розчинної полімеризації в етилацетаті за температури 343К, загальної структури, показаної на рис. 2.

Полімеризацію контролювали дилатометричним та гравіметричними методами і доводили до конверсії 60 – 65 %. Отримані олігоперокси очищали багаторазовим переосадженням із розчинів в ацетоні в надлишок осаджувача гексану. Структури отриманих функціональних олігопероксидів підтверджували ІЧ- та ЯМР-спектроскопією, склад визначали методами елементного та функціонального аналізу, вміст пероксидних фрагментів визначали методом газохроматографічного аналізу продуктів термічного розкладу олігомерів за температури 483 К. Молекулярну масу визначали методом гель-проникаючої хроматографії, використовуючи рідинний хроматограф „WatersGPC/HPLC” на стирогелевих колонках, елюент – тетрагідрофуран, швидкість елюювання – 0,3 мл/год. Поверхневий натяг розчинів олігомерів та їхніх кон'югатів з левоміцетином вимірювали на приладі ППНЛ-1 за методом Ребіндера.

1. Синтез та характеристики кополімерів ВЕР – ГМА. Із експериментально визначених складів кополімерів та розрахованих параметрів їх мікроструктури, наведених у табл. 1, зрозуміло, що в результаті полімеризації утворюються статистичні кополімери, збагачені пероксидовмісними ланками порівняно із вихідною системою мономерів. Це пояснюється більшою активністю ВЕР за кополімеризації з ГМА і погоджується із розрахованими за величинами Q і e значеннями їхніх констант кополімеризації: $r_1 = 1,32$ та $r_2 = 0,41$, ВЕР і ГМА відповідно. Однак параметри мікроструктури кополімерів, наведені у цій таблиці, свідчать про можливість контролю довжини блоків із ланок однакових мономерів і навіть отримання кополімерів, в яких поодинокі ланки ВЕР розділені блоками з ланок ГМА. Бачимо, що довжина блоків з ланок ВЕР зменшується зі збільшенням вмісту ГМА у мономерній суміші, а за певного співвідношення мономерів у вихідній суміші можна отримати кополімери із рівномірним розподілом бічних епоксидних та пероксидних ланок вздовж ланцюга.

Склад та мікроструктура кополімеру ВЕП-ГМА ($[ДАК]=5 \cdot 10^{-2}$ моль/л, етилацетат, 343 К, $[мономерів]=4$ моль/л; ступінь перетворення мономерної суміші – 60–65 %)

Склад мономерної суміші, %мол.		Склад кополімеру,. %мол		Довжина блоків з однакових ланок		R,
ВЕП	ГМА	ВЕП-ланки	ГМА-ланки	$L_{ВЕП}$	$L_{ГМА}$	
25	75	33,61	66,39	1,35	2,54	24,9
15	85	24,55	75,45	1,18	4,01	20,9
10	90	16,80	83,20	1,11	5,72	15,1
5	95	6,19	93,81	1,06	10,84	6,0

L – середня довжина блоків з мономерних ланок; R – кількість блоків з однакових ланок на 100 ланок кополімеру.

Молекулярно-масові характеристики кополімерів (табл. 2 і рис. 1) свідчать про очікуване зменшення величини молекулярної маси олігопероксидів та звуження їхнього розподілу із збільшенням вмісту пероксидного мономеру у вихідній реакційній суміші, що збігається із встановленим раніше [4] фактом участі ВЕП в реакціях передачі та обриву молекулярних ланцюгів.

Таблиця 2

Молекулярно-масові характеристики кополімерів ВЕП-ГМА

Склад мономерної суміші, %		M_n , г/мол	M_w , г/мол	D
ВЕП	ГМА			
25	75	3500	7250	2,05
15	85	5120	10810	2,11
10	90	5930	13950	2,35
5	95	61100	204680	3,35

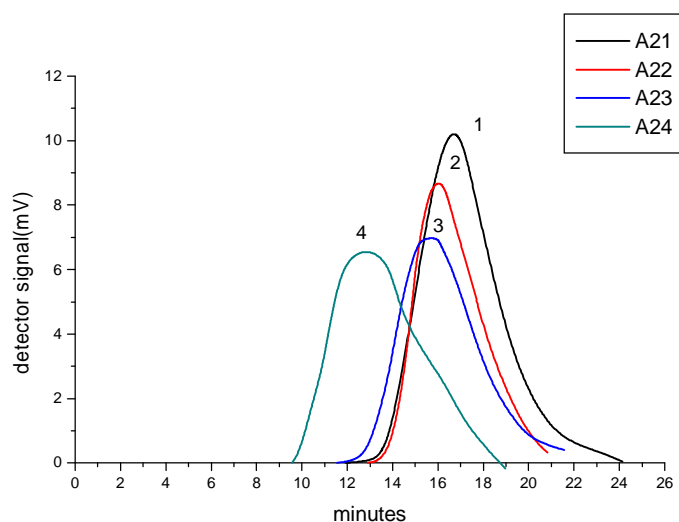


Рис. 1. Функції молекулярно-масового розподілу кополімеризацією ВЕП-ГМА отриманих за різного співвідношення мономерів: 1 – 25:75; 2 – 15:85, 3 – 10:90, 4 – 5:95

Кополімери ВЕП-ГМА містять контрольовану кількість реакційно здатних пероксидних і епоксидних фрагментів (табл. 1), добре розчиняються у полярних органічних розчинниках, але є нерозчинними у воді, що обмежує їхнє використання як носіїв для лікарських препаратів.

2. Синтез та характеристики поліоксетиленглікольовмісних кополімерів. З метою створення розчинних у воді олігомерних носіїв, а також покращання проникності їхніх кон'югатів з ліками через клітинну мембрану досліджено можливість введення в їх структуру молекул гідрофільного монозаміщеного поліетиленгліколю (м – ПЕГ) молекулярної маси 750 г/моль (Aldrich). Реакцію полімер аналогічного перетворення здійснювали взаємодією гідроксильної групи м – ПЕГ з бічними епоксидними групами кополімеру ВЕП – ГМА в середовищі сухого діоксану в присутності каталізатора – етерату трифтористого бору за температури 313 К. Отриманий в результаті пастоподібний продукт реакції є добре розчинним у воді або залежно від складу вихідного олігопероксиду утворює стабільні водні колоїдні системи.

Загальну схему утворення олігопероксиду з ковалентно зв'язаними ПЕГ-вмісними фрагментами показано на рис. 2.

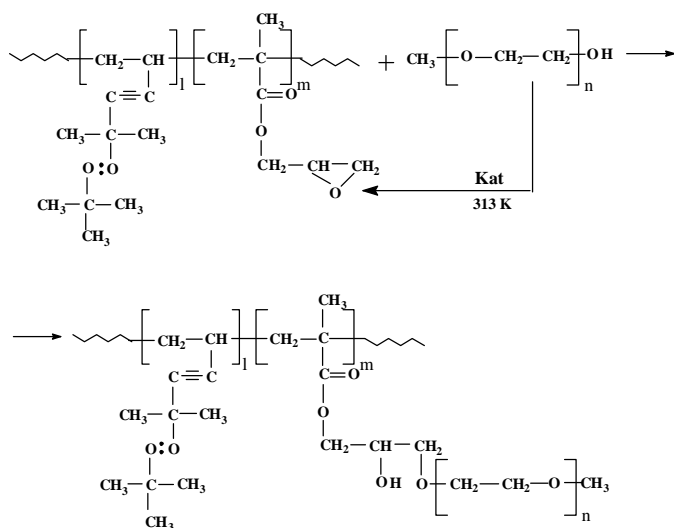


Рис. 2. Схема взаємодії ПЕГ з кополімером складу ВЕП-ГМА

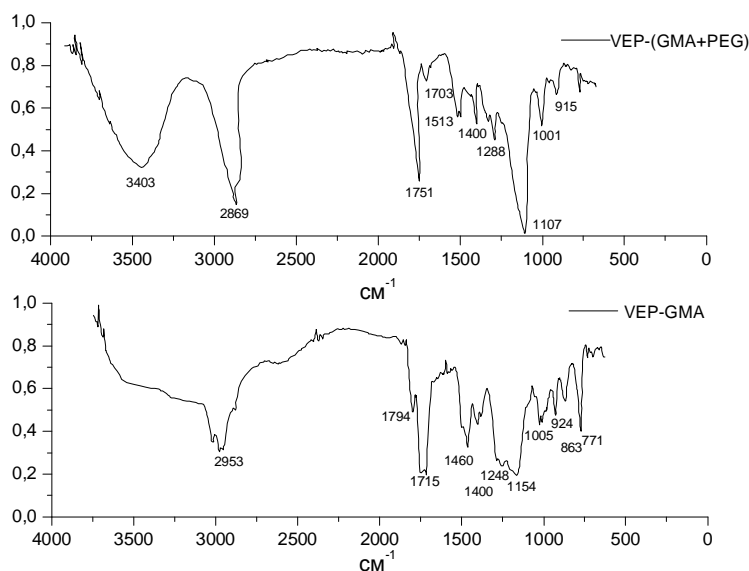


Рис. 3. ІЧ-спектри вихідного та модифікованого олігомерів

Отриманий в результаті цього полімер містить бічні ПЕГ- вмісні фрагменти внаслідок реакції з ланками ГМА 95 % від вихідного вмісту пероксидних груп та розчиняється у воді на відміну від вихідного олігопероксиду. У продукті полімер аналогічного перетворення кополімерів ВЕП – ГМА відсутні епоксидні групи. Структуру отриманого продукту взаємодії олігомеру з монозаміщеним ПЕГ підтверджено ІЧ-спектроскопією показано на рис. 3.

В області 3000–2800 cm^{-1} в спектрах вихідного та кінцевого продуктів є характерні смуги поглинання, які відповідають CH_2 -групам у вуглецевому скелеті. У спектрі ПЕГ-вмісного кополімеру з'являється широкий пік (3403 cm^{-1}), характерний для $-\text{OH}$ груп, відсутній у вихідному кополімері, що підтверджує присутність ПЕГ фрагментів у молекулі продукту реакції. Дуже вираженими є смуги поглинання за 1300–1050 cm^{-1} , властиві етерним групам. У спектрі вихідного олігопероксиду присутні смуги симетричних валентних коливань епоксидного кільця при 1248 cm^{-1} , характерні для епоксидів смуги поглинання за 950–810 та 840–750 cm^{-1} , які відсутні в продукті його взаємодії з м – ПЕГ.

Із порівняння функцій молекулярно-масового розподілу олігомера, що містить ПЕГ фрагменти, та вихідного олігопероксиду бачимо (рис. 4), що ПЕГ-вмісний олігомерний носій має істотно більший час затримки при елюванні в стирогелевій колонці, що пояснюється, як відомо [5], утворенням компактно упакованої конформаційної структури олігомеру у розчині в результаті утворення гребенеподібного кополімеру з полярними бічними ПЕГ-вмісними гілками.

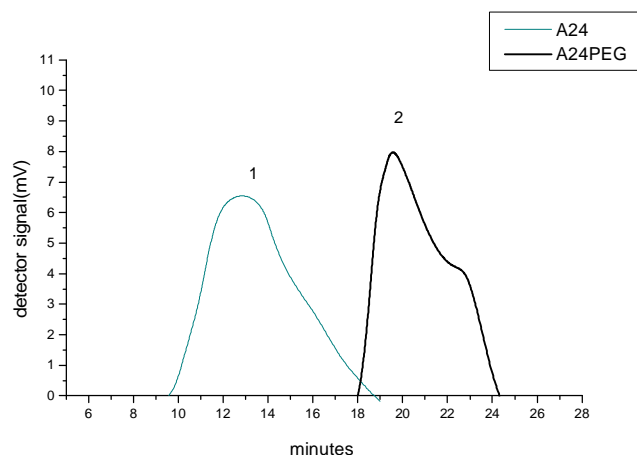


Рис. 4. Функції молекулярно-масового розподілу кополімеру ВЕП-ГМА (5:95)(1) та прищепленого кополімеру ВЕП-ГМА (5:95) – graft-ПЕГ (2)

3. Отримання та властивості кон'югатів левоміцетину та нанорозмірних водних препаратів. Левоміцетин – антибіотик широкого спектра дії, фактично нерозчинний у воді, що утруднює створення водних препаратів на його основі. Крім того, збудники багатьох захворювань, для яких він є ефективний, швидко набувають резистентності до його дії. Тому створення водних препаратів левоміцетину для цільової доставки, контрольованого вивільнення та долання набутої резистентності до його дії є надзвичайно актуальним завданням.

За взаємодії ПЕГ-вмісного олігомерного носія з левоміцетином у спільному розчиннику і подальшого ультразвукового диспергування суміші у фізіологічному розчині утворюється стабільна нанорозмірна система, яка містить кон'югат носій, – лікарська речовина. Методами УФ-спектроскопії та дослідженнями колоїдно-хімічних характеристик водних систем підтверджено існування стабільних нанорозмірних кон'югатів погано розчинного у воді левоміцетину з олігомерним носієм, очевидно, внаслідок утворення водневих зв'язків між ним та носієм, або в результаті його солюбілізації в міцелоподібних нанорозмірних структурах, утворюваних олігомерними молекулами носія у водному розчині. Погана розчинність левоміцетину у воді та наявність в його структурі функціональних гідроксильних та амідної груп свідчить про можливість його іммобілізації на ПЕГ-вмісному носії за такими механізмами.

Із досліджень спектрів водних препаратів кон'югатів левоміцетину в ультрафіолетовій та видимій областях на приладі SPECORD M-40 бачимо (рис. 5) утворення розчинних у воді міцелярних комплексів левоміцетину із ВЕП-(ГМА+ПЕГ), тоді як чистий левоміцетин є нерозчинним у воді.

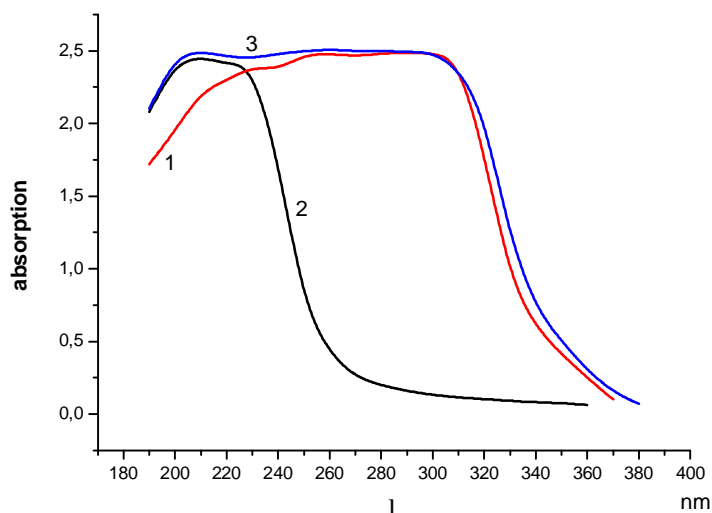


Рис. 5. УФ-спектри розчинів левоміцетину у ДМСО (1), ВЕП-(ГМА+ПЕГ) (2) та кон'югату левоміцетину та ВЕП-(ГМА+ПЕГ) (3) у воді

Ізотерми поверхневого натягу розчинів носія та його кон'югату з левоміцетином (рис. 6) також свідчать про утворення стабільного кон'югату олігопероксидного носія з левоміцетином. Причому бачимо, що в результаті кон'югації на носії погано розчинної у воді речовини на ізотермі поверхневого натягу з'являється перехід, який свідчить про утворення гідрофобних міцелоподібних зон в розчині, а концентрація, за якої спостерігається їх утворення, менша порівняно з вихідним носієм.

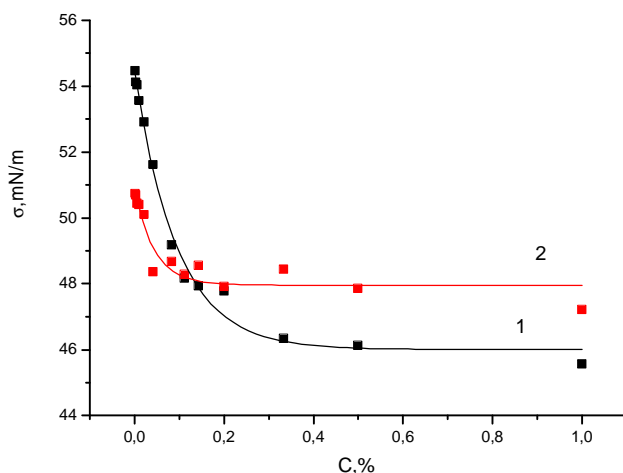


Рис. 6. Поверхневий натяг полімеру ВЕП-(ГМА+ПЕГ) у воді (1) та поверхневий натяг кон'югату ВЕП-(ГМА+ПЕГ) і левоміцетину у воді (2)

З одержаними кон'югатами левоміцетину були проведені біологічні дослідження. Порівнювали протимікробну дію антибіотика левоміцетину у вільному стані та після його іммобілізації на полімерному нанорозмірному носії ВЕП-(ГМА+ПЕГ) щодо клінічних штамів бактерій *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp.* і *Staphylococcus aureus*, які були виділені з організму хворих на різні інфекційні захворювання.

Виявлено, що клінічні штами *Proteus mirabilis* і *Klebsiella sp.* є резистентними до дії антибіотика левоміцетину. Дослідження впливу чистого полімеру ВЕП-(ГМА+ПЕГ) на ріст клінічних штамів *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp.*, *Staphylococcus aureus* не виявило інгібувальної дії цього носія на ріст досліджуваних бактерій, отже, цей полімер є нетоксичним щодо названих штамів бактерій.

Левоміцетин (160 мкг/мл), іммобілізований на полімерному нанорозмірному носії ВЕП-(ГМА+ПЕГ), інгібував ріст резистентного до левоміцетину клінічного штаму *Proteus mirabilis*. Дія чистого левоміцетину не приводила до утворення зони затримки росту бактерій цього штаму. У той

самий час левоміцетин, іммобілізований на носії ВЕП-(ГМА+ПЕГ), викликав появу вільної від бактерійних колоній зони діаметром 20 мм.

Висновки. Показано, що синтезований на основі олігопероксиду з бічними епоксидними групами ПЕГ-вмісний олігомер, є водорозчинною поверхнево-активною речовиною, здатною іммобілізувати не розчинний у воді антибіотик левоміцетин та утворювати нанорозмірні водні системи його цільової доставки, які забезпечують підвищену антимікробну активність препарату.

1. Masayuki Yokoyama, *Polymeric Micelles for the Targeting of Hydrophobic Drugs/ Polymeric Drug Delivery Systems*. – 2005. – Vol.148 – P. 533–576. 2. Vladimir P. Torchilin, *Polymeric Micelles as Pharmaceutical Carriers/ Polymers in Drug Delivery*. – 2006. – P. 111–125. 3. Alcantar N. A. ; Avdil E.S.; Israelachvili T. N. *Polyethylene glycol-coated biocompatible surfaces/ Journal of biomedical materials research*. – 2000. – Vol. 51, No3. – P. 343–351. 4. Токарев В.С., Минько С.С., Заиченко А.С., Воронцов С.А., Кучер Р.В., Рябова О.Я. *Об эффекте слабого ингибирования радикальной полимеризации пероксидами с сопряженными системами связей / Наука. Доклады Академии Навк СССР*. – 1987. – Т. 292, №6. – С.1434–1436. 5. Ташмухамедов С.А., Акбаров Х.И., Тиллаев Р.С. *Межмолекулярные взаимодействия в растворах привитых сополимеров / Успехи химии*. – 1986. – Вып. 11. – С. 1920–1935. 6. Roberto Solaro, Federica Chiellini and Antonella Battisti, *Targeted Delivery of Protein Drugs by Nanocarriers/ Material*. – 2010. – 3. – P.1928–1980.

УДК 678: 541.64

В.Я. Самарик, Н.Г. Носова, Н.В. Пузько, Р.С. Тарас, В.В. Тавокін
Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра органічної хімії

ОСОБЛИВОСТІ НАБУХАННЯ У ВОДІ ТА КОЛАПСУ У ВОДО-ЕТАНОЛЬНИХ РОЗЧИНАХ ПОЛІАКРИЛАМІДНИХ ГІДРОГЕЛІВ З ПОЛІМЕРНИМ КАРКАСОМ, ЗАКРІПЛЕНИМ НА ПОЛІПРОПІЛЕНОВІЙ СІТЦІ

© Самарик В.Я., Носова Н.Г., Пузько Н.В., Тарас Р.С., Тавокін В.В., 2011

Досліджено вплив на основні характеристики гідрогелів з полімерним каркасом, ковалентно закріпленим на поліпропіленовій сітці почергового колапсування у водних розчинах етилового спирту з подальшим набуханням у воді. Показано, що ці гідрогелеві композиції колапсують у водо-етанольних розчинах з концентрацією спирту більшою, ніж 45 %. Показано, що циклічне набухання і колапс можуть призвести до руйнування структури гідрогелю з визначеним складом гелеутворювального полімеру.

Ключові слова: гідрогель, поліакриламід, поліпропілен.

The influence of multiple swelling/deswelling in water and water-ethanol solutions of grafted to the polypropylene net hydrogels, on the basic properties thereof has been studied. It has been shown that hydrogel collapse occurs under the ethanol concentrations over 45 %. It has been shown that the cyclic hydrogel swelling/deswelling leads to hydrogel destruction depending on gel-forming polymer content.

Key words: hydrogel, polyacrylamide, polypropylene.

Постановка проблеми. В [1–4] були представлені дослідження з формування гідрогелів з полімерним каркасом, прищепленим до планарних полімерних поверхонь, зокрема поліпропілену. Якщо формувати гідрогель кополімеризацією акриламідів та акрилату калію з використанням як структуруючого кополімеру N,N'-метилен-біс-акриламід (бісакриламід), одночасно з ковалент-