

acrylamide containing L-proline moiety // *Reactive & Functional Polymers*. – 2007. 67. –P. 916–927. 9. Тутце Л., Айхер Т. *Препаративная органическая химия; пер. с нем.* – М.: Мир, 1999, – 704 с. 10. Стецишин Ю., Жолобка О., Дончак В., Гаргай Х. Модифікація поверхні скла гетерофункціональними пероксидними олігоестерами // *Вісник Нац. ун-ту “Львівська політехніка”, Хімія, технологія речовин та їх застосування*. – 2010. – №667. – С.351–356. 11. Gu Y. Contact angle measurement techniques for determination of wettability // *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*. – 2002. –P. 1213–1227. 12. Cassie A.B.D. Contact angles // *Discuss. Faraday Soc.* –1948. – 3. – P. 11–16.

УДК 541.64

А. Рябцева¹, Н. Мітіна¹, Д. Гаврилюк², Р. Лесик², Б. Зіменковський²,
З. Надашкевич¹, О. Заїченко¹

¹Національний університет “Львівська політехніка”, кафедра органічної хімії

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

НАНОРОЗМІРНІ СИСТЕМИ ДОСТАВКИ ПРОТИРАКОВИХ ПРЕПАРАТІВ, ІММОБІЛІЗОВАНИХ НА ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЬВМІСНОМУ ПОЛІМЕРНОМУ НОСІЇ

Ó Рябцева А., Мітіна Н., Гаврилюк Д., Лесик Р., Зіменковський Б., Надашкевич З., Заїченко О., 2012

Подано результати досліджень нових нанорозмірних систем доставки протиракових препаратів на основі гребенеподібних ПЕГ-вмісних полімерних носіїв. Досліджено утворення комплексів між препаратами та носієм, а також їхні фізико-хімічні властивості.

Ключові слова: полімерні носії, системи доставки ліків, протиракові препарати.

The results of study of novel nanosized anticancer drug delivery systems based on comb-like PEGylated polymeric carriers are presented in the article. The formation of the drug conjugates with the carrier via various mechanisms as well as their physical-chemical properties were studied.

Key words: polymeric carriers, drug delivery systems, anticancer preparations.

Вступ

В останні десятиліття розроблено багато нових систем цільової доставки ліків (СДЛ) в орган-мішень, оснований на полімерних носіях природного та синтетичного походження [1]. Серед них важливе місце займають спеціально сконструйовані поверхнево-активні полімерні носії, які не лише здатні іммобілізувати лікарські сполуки, а і містять спеціальні вектори, що забезпечують цільову доставку до патологічних клітин, та фрагменти (наприклад, фосфатиділ холін, фолієва кислота, поліетиленгліколь), які полегшують подолання клітинної ліпідної мембрани [2]. Однак і досі залишаються проблеми, які необхідно вирішувати під час створення систем цільової доставки ліків, такі як зменшення токсичності ліків, подолання набутої резистентності до них та подолання ними гематоенцефалічного бар'єра [3]. Тому молекулярне конструювання водорозчинних полімерів, які б, окрім таких характеристик, як нетоксичність та біодеградабельність, були універсальними носіями для лікарських засобів різної природи та могли долати природні бар'єри в організмі, є актуальним завданням.

Відомо, що амфіфільні поліетиленглікольвмісні полімери у водних розчинах утворюють міцелоподібні структури. Важливою для таких міцел є їх здатність солюбілізувати погано розчинні ліки, підвищуючи їх біосумісність. Окрім того, перебуваючи у кон'югованій міцелярній формі, лікарські речовини захищені від можливих взаємодій з навколишнім біологічним середовищем, тому можуть довше перебувати у організмі, не втрачаючи стабільності, накопичуватись в органі-мішені, і не спричиняти небажаних побічних ефектів [4].

Метою роботи є розроблення та дослідження структурних та колоїдно-хімічних властивостей водних систем доставки протипухлинних речовин різної природи, іммобілізованих через різні механізми на водорозчинних поліетиленгліколь (ПЕГ) вмісних гребенеподібних полімерах [5].

Новизна. Вперше здійснено комплексне дослідження структурних та колоїдно-хімічних характеристик водних систем, які містять кон'югати лікарських сполук та нових гребенеподібних носіїв, з використанням сучасних спектральних методів та динамічного світлорозсіювання, що дало змогу запропонувати різні механізми іммобілізації ліків на ПЕГ-вмісних полімерних носіях.

Обговорення результатів

Об'єктами дослідження у роботі були водні системи доставки протипухлинних речовин доксорубіцину (Dox) (рис. 2, а), 5-[2-Хлоро-3-(4-нітрофеніл)-аліліден]-4-[5-(4-метоксифеніл)-3-феніл-4,5-дигідропіразол-1-іл]-5Н-тіазол-2-ону (Les-3661) (рис. 2, б), іммобілізованих на полімерному гребенеподібному ПЕГвмісному носії, який є кополімером 2-трет-бутилперокси-2-метил-5-гексен-3-ін (ВЕП) і гліцидил метакрилату (ГМА), модифікованого монометиловим етером поліетиленгліколю (мПЕГ) – полі(ВЕП-ГМА)-графт-мПЕГ [5]. Утворення міцелоподібних кон'югатів між носієм та лікарським препаратом підтверджено за допомогою УФ-спектроскопії (прилад Nanodrop ND-1000, Thermo Scientific, США), кондуктометрії (кондуктометр CON 2700, США). Колоїдно-хімічні властивості визначали за допомогою вимірювання поверхневого натягу водних розчинів на приладі ППНЛ-1 за методом Ребіндера. Спектри люмінесценції реєстрували за допомогою автоматизованої спектральної установки. Люмінесценція збуджувалась світлом з довжиною хвилі 260 нм, яке виділялось за допомогою первинного монохроматора МДР-2 (ЛОМО, Росія). Реєстрували світло за допомогою фотопомножувача ФЭУ-100 ("MELZ FEU", Ltd., Росія). Сигнал фотопомножувача реєструвався за допомогою ЕОМ. Розмір частинок визначали за допомогою динамічного світлорозсіювання, використовуючи фотокореляційний спектрометр Zetasizer Nano (Malvern) Ver.6.20, за температури 25 °С. Концентрація зразків під час вимірювання становила 0,4 мг/мл.

1. Синтез та характеристики водорозчинного носія полі(ВЕП-ГМА)-графт-мПЕГ

Водорозчинний полімерний носій для отримання СДЛ (полі(ВЕП-ГМА)-графт-мПЕГ) синтезували за описаною раніше методикою [5]. Гідрофобний кополімер полі(ВЕП-ГМА) одержано полімеризацією 2-трет-бутилперокси-2-метил-5-гексен-3-ін (ВЕП) і гліцидил метакрилату (ГМА) в етилацетаті. Полімеризацію доводили до конверсії 60 – 65 %, контролюючи процес дилатометричним та гравіметричними методами. Отриманий кополімер очищали багаторазовим переосадженням із розчинів в ацетоні в надлишок осаджувача гексану. Одержаний кополімер мав середньочислову молекулярну масу 61000г/моль і відрізнявся широким молекулярно-масовим розподілом за даними гель-проникної хроматографії. Прищеплення ланцюгів мПЕГ здійснювали взаємодією епоксидних груп ГМА фрагментів з гідроксильною групою монозаміщеного ПЕГу молекулярної маси 750 г/моль. Процес проводили у середовищі діоксану при 313К в присутності каталізатора – етерату трифтористого бору. Одержаний водорозчинний пастоподібний продукт концентрували з розчину, переосаджували в гексан, промивали толуолом та сушили до постійної маси. Загальна схема утворення олігопероксиду з ковалентно зв'язаними ПЕГ-вмісними фрагментами наведена на рис.1.

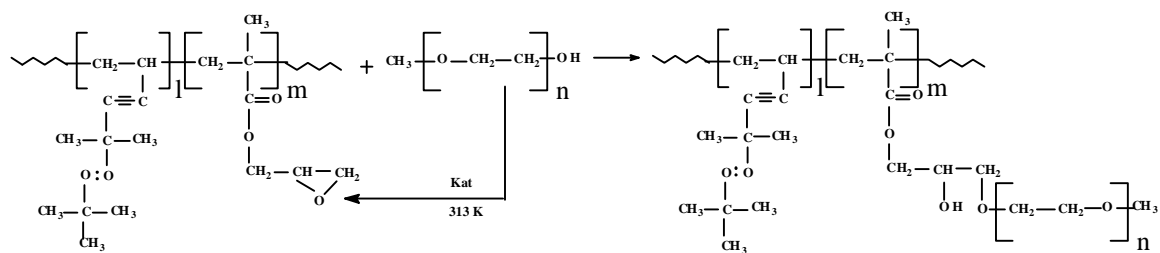


Рис. 1. Схема взаємодії мПЕГ з кополімером полі(ВЕП-ГМА)

2. Одержання та характеристики систем доставки лікарських препаратів

Носій та лікарський препарат розчиняли у спільному органічному розчиннику, одержану суміш переводили у фізіологічний розчин, перемішуючи, та диспергували за допомогою ультразвуку.

Співвідношення носія та речовини, за якого відбувається оптимальне зв'язування останньої, визначали кондуктометричним титруванням. Як видно з графіка (рис. 3) залежності електропровідності від кількості доданого до розчину носія доксорубіцину, спочатку спостерігається зміна електропровідності, очевидно, внаслідок того, що відбувається утворення комплексу – кількість незв'язаного препарату у розчині постійно змінюється. Однак у точці, яка відповідає масовому співвідношенню $\text{Dox}:\text{носій}=1:30$, електропровідність починає зростати. Це пояснюється насиченням розчину доксорубіцином, електропровідність якого набагато вища, ніж носія.

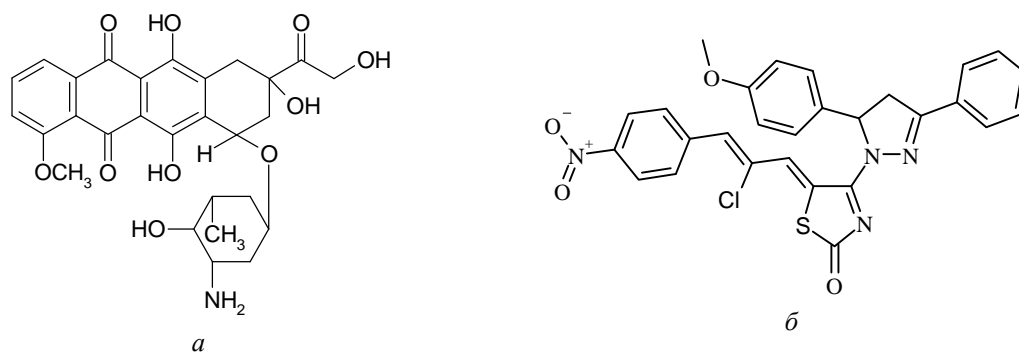


Рис. 2. Структурна формула: *a* – доксорубіцину; *б* – Les-3661

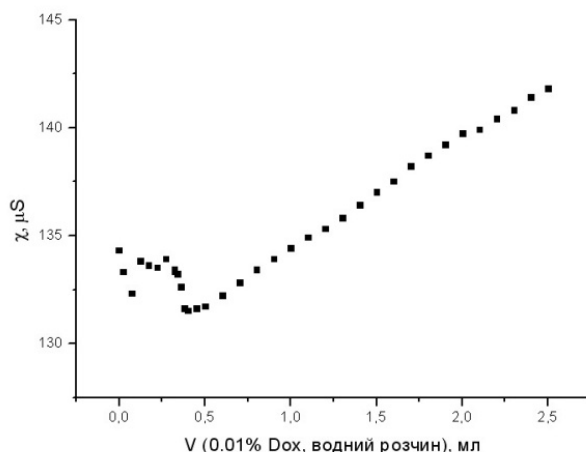


Рис. 3. Залежність електропровідності водного розчину полімерного носія від кількості іммобілізованого доксорубіцину

Спектри в ультрафіолетовій та видимій областях водних систем, що містять кон'югати іммобілізованого на носії Dox (рис. 4), підтверджують його наявність в системі, а суттєвий зсув смуги поглинання Dox при 190 нм в батохромну область свідчить про утворення його кон'югатів із полі(ВЕР-ГМА)-графт-мПЕГ.

Під час дослідження ізотерм поверхневого натягу розчинів носія та його кон'югату з доксорубіцином (рис. 5) видно, що поверхнева активність кон'югату збільшується, а зменшення величини, при якій спостерігається перетин на ізотермі і який можна віднести до критичної концентрації утворення мицелоподібних гідрофобних зон, – про утворення достатньо стабільного поверхнево-активного кон'югату зі збільшенням гідрофобної складової внаслідок кон'югації. Утворення системи доставки, яка містить стабільний кон'югат, є дуже важливим, адже багато систем доставки ліків непридатні для використання через їхню нестабільність [6].

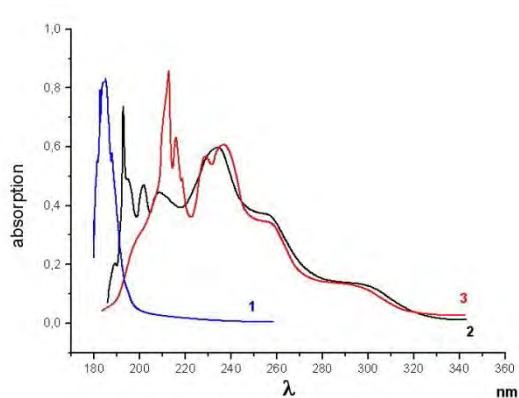


Рис. 4. УФ спектри розчинів полі(ВЕП-ГМА)-графт-мПЕГ (1), доксорубіцину (2), та кон'югату доксорубіцину та полі(ВЕП-ГМА)-графт-мПЕГ (3) у воді

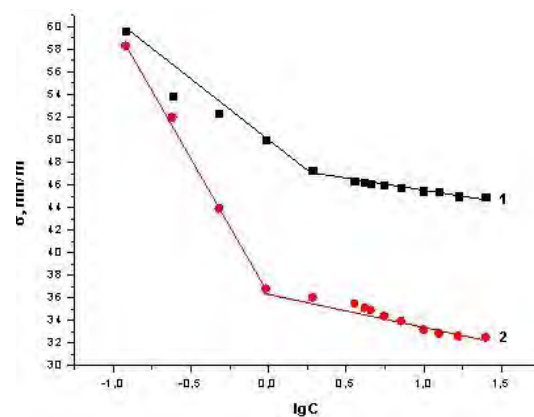


Рис. 5. Ізотерми поверхневого натягу водних розчинів полімеру полі(ВЕП-ГМА)-графт-мПЕГ (1) та кон'югату полі(ВЕП-ГМА)-графт-мПЕГ і доксорубіцину (2)

На рис. 6 показано спектри збудження та люмінесценції водних розчинів доксорубіцину та кон'югату доксорубіцину та полімерного носія. Як видно, їх основні піки збігаються, оскільки люмінесцентні властивості в дослідженій області має лише доксорубіцин, однак у результаті іммобілізації речовини на полімерному носії суттєво зростає інтенсивність її люмінесценції. Це пояснюється тим, що вода має здатність знижувати люмінесценцію, а полімерний носій «захищає» лікарську речовину від контакту з водним середовищем, усуваючи тим самим дезактивуючу дію молекул води. Це свідчить про утворення ізольованих гідрофобних зон, які містять іммобілізований доксорубіцин, і збігається з результатами дослідження колоїдно-хімічних характеристик кон'югатів.

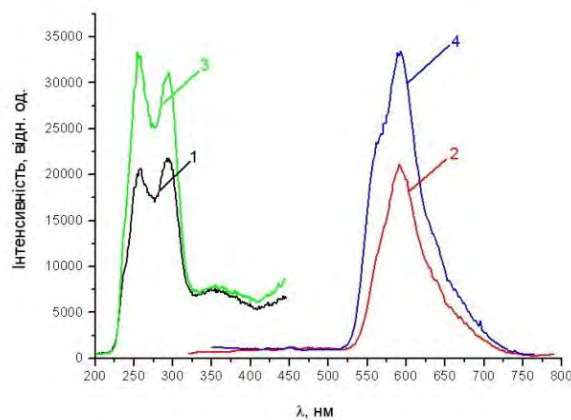
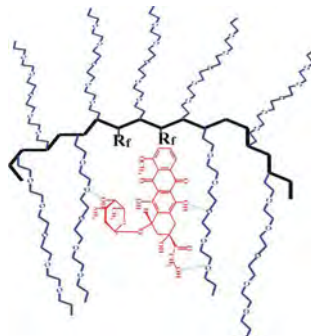


Рис. 6. Люмінесцентні спектри водних розчинів чистого доксорубіцину (1 – спектр абсорбції; 2 – спектр емісії) та доксорубіцину, іммобілізованого на носії (3 – спектр абсорбції; 4 – спектр емісії)

Загальну схему кон'югації Дох з ПЕГ-вмісним носієм можна зобразити так:



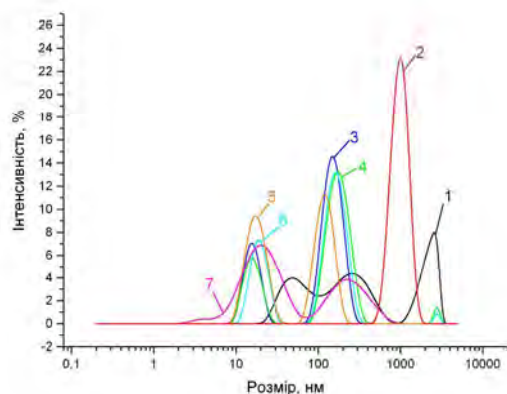


Рис. 7. Крива розподілу розміру частинок у водному розчині систем доставки за інтенсивністю залежно від вмісту доксорубіцину. Дох:носій=0:100(1), 100:0 (2), 1:100 (3), 1:50(4), 1:40 (5), 1:20 (6), 1:10 (7)

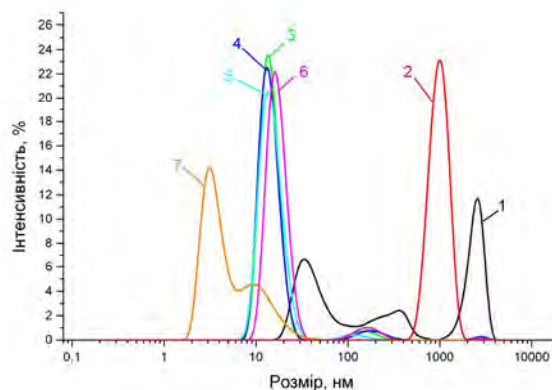


Рис. 8. Крива розподілу розміру частинок у водному розчині систем доставки за об'ємом залежно від вмісту доксорубіцину. Дох:носій=0:100(1), 100:0 (2), 1:100 (3), 1:50(4), 1:40 (5), 1:20 (6), 1:10 (7)

Вміст фракцій частинок різного розміру у водній системі доксорубіцин+носій залежно від вмісту доксорубіцину

		Розподіл розміру частинок за інтенсивністю					
Співвідношення Дох:Носій		Фракція I		Фракція II		Фракція III	
Дох	Носій	Розмір, нм	Кількість фракції, %	Розмір, нм	Кількість фракції, %	Розмір, нм	Кількість фракції, %
0	100	72,94	37,2	353,5	27,9	1832	34,9
100	0	32,59	11,7	371,2	88,3	0	0
1	100	20,80	33,7	301,4	66,2	0	0
1	50	16,18	26,9	181,0	73,1	0	0
1	40	13,43	38,9	59,16	61,1	0	0
1	20	19,48	32,2	167,8	67,8	0	0
1	10	23,30	65,8	297,5	34,2	0	0
		Розподіл розміру частинок за об'ємом					
Співвідношення Дох:Носій		Фракція I		Фракція II		Фракція III	
Дох	Носій	Розмір, нм	Кількість фракції, %	Розмір, нм	Кількість фракції, %	Розмір, нм	Кількість фракції, %
0	100	53,81	44,9	330,9	15,7	2289	39,3
100	0	32,01	35,6	379,0	64,4	0	0
1	100	15,24	94,5	315,7	5,5	0	0
1	50	14,22	95,5	183,5	4,4	0	0
1	40	12,17	97,3	55,55	2,7	0	0
1	20	17,19	94,4	168,9	5,6	0	0
1	10	3,8	72,7	12,86	27,3	0	0

Як видно з рис. 7, 8 та таблиці, в разі збільшення кількості доксорубіцину в системі розмір частинок переважно зменшується, очевидно, внаслідок гідрофобізації та ущільнення міцелоподібних структур, які містять кон'юговану з носієм речовину, в результаті утворення водневих зв'язків за вищенаведеною схемою. Витіснення молекул води та утворення водневих зв'язків кисневих атомів фрагментів $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ поліетиленгліколевих ланцюгів носія призводить до гідрофобізації останніх та утворення гідрофобних міцелоподібних структур у розчині, стабілізованих іншими ПЕГ ланцюгами, які не задіяні в кон'югації з доксорубіцином. Наявність іншої фракції частинок у розчині полімерного носія та в системах, що містять його кон'югат з доксорубіцином, пояснюється, очевидно, як полідисперсністю вихідного кополімеру (коефіцієнт полідисперсності – 3,5) так і наявністю вторинних структур, утворюваних молекулами носія або кон'югатів у результаті їх агрегації.

Як видно з результатів дослідження розмірів у системі доставки кон'югатів водонерозчинної речовини Les-3661, кон'югація її з тим самим носієм відбувається за іншим механізмом (рис. 9). З кривих розподілу розміру частинок, утворюваних кон'югатами Les-3661+носій за інтенсивністю, видно, що їх розмір більший (163 нм) за розмір частинок, які містили доксорубіцин. Це свідчить, на нашу думку, про те, що Les-3661 внаслідок солюбілізації міститься всередині ядра, утворюваною гідрофобною частиною носія, а бічні поліетиленгліколеві ланцюги утворюють зовнішню оболонку, яка стабілізує кон'югати у воді. Ці дані узгоджуються з УФ-спектрами чистого та солюбілізованого Les-3661, на яких видно, що чистий Les-3661 має інтенсивнішу смугу поглинання порівняно з кон'югованою речовиною, за однакових концентрацій Les-3661 в розчині, та спостерігається помітний гіпсхромний зсув у електронному спектрі речовини.

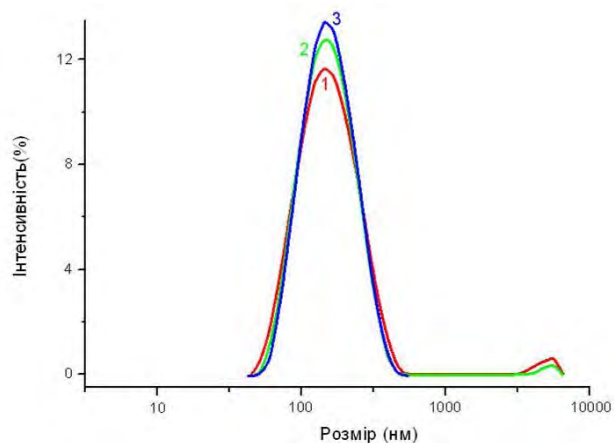


Рис. 9. Криві розподілу розміру частинок систем доставки Les-3661:носій=1:30 у водному розчині за інтенсивністю, записані з інтервалом часу 50 с: у початковий момент часу (1), через 50 с (2), через 100 с (3)

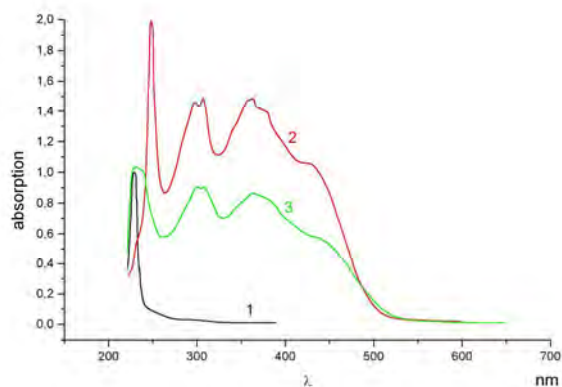


Рис. 10. УФ-спектри розчинів полі(БЕП-ГМА)-графт-мПЕГ (1), кон'югату Les-3661 та полі(БЕП-ГМА)-графт-мПЕГ (3) у воді та Les-3661 (2) у ДМСО

Висновки

У роботі досліджено нові стабільні нанорозмірні системи доставки протиракових речовин та показано можливості іммобілізації лікарських речовин – як водорозчинних, так і нерозчинних у воді. Запропоновано та вивчено різні механізми їх кон'югації з поверхнево-активним гребенеподібним поліетиленглікольовмісним полімерним носієм полі(БЕП-ГМА)-графт-мПЕГ.

1. Ijeoma F. Uchegbu, *Polymers in drug delivery*. – 2006. – P. 243. 2. Barry R. Lentz, *PEG as a tool to gain insight into membrane fusion/European biophysics journal*. – Vol.36, №4–5. – 2007. – P. 315–326. 3. Garcia-Garcia E., Andrieux K., Gil S., Couvreur P. *Colloidal carriers and blood–brain barrier (BBB) translocation: A way to deliver drugs to the brain?* – *International Journal of Pharmaceutics*. – № 298. –

2005. –P. 274–292. 4. Glen S. Kwon, *Polymeric Drug Delivery Systems*. – 2005. – P. 653. 5. Рябцева А., Остапчук Ю., Мітіна Н., Москвін М., Бойко Н., Стойка Р., Заїченко О. Поліетиленглікольмісні олігомерні носії та нанорозмірні системи доставки антимікробних речовин на їх основі // Вісник Нац. ун-ту “Львівська політехніка”. – № 700. – 2011, – P. 367–373. 6. Jones M.-C., Leroux J.-C. *Polymeric micelles – a new generation of colloidal drug carriers*, – *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – № 48. – 1999. – P. 101–111.

УДК 541.64

Г.О. Огар, М.Р. Чобіт, В.С. Токарев
Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра органічної хімії

ДОСЛІДЖЕННЯ АДСОРБЦІЇ МАКРОФОТОІНІЦІАТОРА НА ОСНОВІ МЕТИЛМЕТАКРИЛАТ-КО-МАЛЕЇНОВОГО АНГІДРИДУ З ПРИЩЕПЛЕНИМИ ФРАГМЕНТАМИ БЕНЗОЇНУ НА ПОВЕРХНІ НАПОВНЮВАЧІВ НЕОРГАНІЧНОЇ ПРИРОДИ

© Огар Г.О., Чобіт М.Р., Токарев В.С., 2012

Викладено результати дослідження особливостей адсорбції макрофотоініціатора полі(метилметакрилат-ко-малеїновий ангідрид-ко-малеїнат бензоїну) (ПМФІ) та його прекурсора – коолігомеру полі(метилметакрилат-ко-малеїновий ангідрид) (ММА-МА) на поверхні дисперсних наповнювачів діоксиду титану та гідроксиапатиту. Різниця в будові полімерних адсорбатів неістотно впливає на особливості адсорбції, тоді як природа адсорбентів є важливим фактором, що визначає характеристики процесу адсорбції. Такі наповнювачі з іммобілізованим на поверхні макрофотоініціатором становлять інтерес, оскільки можуть використовуватись для створення фотополімерних композитів з покращеними фізико-механічними властивостями.

Ключові слова: макрофотоініціатор, адсорбція, діоксид титану, гідроксиапатит.

This work reports on features of an adsorption of PolyMacroPhotoInitiator poly(methyl methacrylate)-co-(maleic anhydride)-co-(benzoin maleate) (PMPI) and its precursor cooligomer namely poly(methyl methacrylate)-co-(maleic anhydride) (MMA-MA) onto the surfaces of disperse fillers titanium dioxide and hydroxyl apatite. Difference in the structure of these polymer adsorbates has a little influence on absorption features, while the adsorbent nature is a main factor determining characteristics of the adsorption process. The fillers with the surface-immobilized PMPI are of interest for the use in the photo-cured polymer compositions aimed at improving their physic-chemical properties.

Key words: macrophotoinitiator, adsorption, titanium dioxide, hydroxyl apatite.

Постановка проблеми

Фотополімерні композити є перспективним матеріалами, що широко застосовуються, зокрема у стоматології для пломбування зубів. До складу таких композицій входить, поряд з полімеризаційноздатними олігомерами, мономерами і фотоініціаторами, велика кількість мінеральних наповнювачів, які забезпечують необхідну міцність і абразивну стійкість кінцевого матеріалу. Фізико-механічні властивості отриманих композитів суттєво залежать від міжфазної взаємодії наповнювача з полімерною матрицею. Для регулювання такої взаємодії ми синтезували поліфункціональний макрофотоініціатор (ПМФІ), що одночасно має поверхнево-активні, адсорбційні та ініціувальні властивості. Синтез ПМФІ здійснювали прищепленням молекул фотоініціатора бензоїну до коолігомеру полі(метакрилат-ко-малеїновий ангідрид) [1, 2].