

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ “ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА”

РЯБЦЕВА АННА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 547.64; 66.095.26-922.3; 544.77.051.62

**Синтез полімерних носіїв ліків з поліетиленгліколевыми та поліелектролітними
бічними ланцюгами на основі епоксидовмісних поліпероксидів**

02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата хімічних наук

Львів – 2013

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Національному університеті “Львівська політехніка”
Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник: кандидат хімічних наук
Заіченко Олександр Сергійович,
провідний науковий співробітник кафедри органічної хімії
Національного університету “Львівська політехніка”

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, старший науковий співробітник
Алексєєва Тетяна Трохимівна,
провідний науковий співробітник відділу фізикохімії
полімерів Інституту хімії високомолекулярних сполук НАН
України

доктор хімічних наук, професор
Шибанов Володимир Вікторович,
завідувач кафедри поліграфічного матеріалознавства і хімії
Української академії друкарства

Захист відбудеться “17” червня 2013 р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.052.01 у Національному університеті “Львівська політехніка” за адресою 79013, Львів-13, пл. Св. Юра $\frac{3}{4}$, корпус 8, аудиторія 240.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного університету “Львівська політехніка” (79013, Львів-13, вул. Професорська,1)

Автореферат розісланий “16” травня 2013 р.

*Учений секретар
спеціалізованої вченої ради
Д 35.052.01, д.х.н.*

Будішевська О.Г.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Впровадження в протипухлинну терапію багатьох ефективних препаратів обмежується зазвичай їх низькою стійкістю, загальною токсичністю та нерозчинністю у воді. Створення та використання нових поверхнево-активних носіїв та стабільних водних систем цільової доставки ліків в орган-мішень відкривають перспективні шляхи подолання цих та інших ключових проблем хіміотерапії. Головними завданнями, на які сфокусовані сучасні методи хімії та фармації, є: 1) створення нетоксичних носіїв та стабільних систем для цільової доставки препаратів в орган-мішень; 2) прискорення доставки та одночасно пролонгація дії ліків; 3) подолання резистентності до препаратів, яка розвивається у ракових клітинах, що обумовлює втрату ефективності лікування; 4) розроблення нових систем доставки ліків, що можуть бути використані для альтернативних шляхів застосування препаратів. На особливу увагу як носії заслуговують поверхнево-активні гребенеподібні полімери, що містять ланцюги різної природи, в тому числі, поліетиленгліколь (ПЕГ). Однак, досі недостатньо досліджені можливості контрольованого синтезу нетоксичних полімерних носіїв, здатних зв'язувати лікарські препарати, в тому числі нерозчинні у воді, забезпечувати їх цільову доставку в організмі, долати біологічні бар'єри та набуту резистентність до дії ліків. Отже, розробка нових шляхів синтезу та дослідження властивостей поверхнево-активних ПЕГ-вмісних полімерних носіїв і стабільних водних систем цільової доставки ліків з контрольованими колоїдно-хімічними характеристиками та терапевтичною активністю є важливою та **актуальною** задачею.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана за планом науково-дослідних робіт Національного університету "Львівська політехніка" на кафедрі органічної хімії Інституту хімії і хімічних технологій - в межах проекту НТЦУ №4953 "Нанорозмірні системи доставки протиракових субстанцій на основі новітніх люмінесцентних та рентгеноконтрастних олігоелектролітів", і, відповідно до тематики кафедри, згідно ДБ/ "Протеїн" (№ держреєстрації 0110U001099).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є синтез поверхнево-активних полімерних носіїв ліків з поліетиленгліколевыми та поліелектролітними бічними ланцюгами на основі епоксидовмісних поліпероксидів (ЕПП), а також отримання водних систем доставки лікарських препаратів на їх основі.

Для досягнення мети необхідно було виконати наступні завдання:

1. Встановити закономірності синтезу, будову і властивості кополімерів, що поєднують у своїй структурі пероксидні та епоксидні групи.

2. Дослідити особливості взаємодії монометилового етеру ПЕГ (мПЕГ) з ЕПП, а також встановити будову та властивості нових гребенеподібних ПЕГ-вмісних полімерів.

3. Вивчити кінетичні закономірності розкладу пероксидних груп у складі ПЕГ-вмісних поліпероксидів та ініційованої ними прищеплювальної полімеризації; дослідити будову та властивості полімерів з бічними ПЕГ та поліелектролітними ланцюгами.

4. Дослідити продукти зв'язування протипухлинних препаратів з новими полімерними носіями, встановити колоїдно-хімічні властивості та біологічну активність водних систем доставки.

Об'єкт дослідження. Реакції радикальної кополімеризації функціональних мономерів з 5-(трет-бутилперокси)-5-метил-1-гексен-3-іном (ВЕП), реакції мПЕГ з ЕПП, реакції полімеризації, ініційованої ПЕГ-вмісними поліпероксидами, процеси зв'язування протипухлинних препаратів з полімерними носіями та формування водних систем цільової доставки продуктів зв'язування.

Предмет дослідження. Закономірності кополімеризації функціональних мономерів з ВЕП та залежності між будовою кополімерів і їх властивостями. Закономірності реакцій епоксидних груп ЕПП з мПЕГ; закономірності розкладу пероксидних груп у молекулах ПЕГ-вмісних поліпероксидів та ініціювання ними прищеплювальної полімеризації. Закономірності зв'язування лікарських сполук з полімерними носіями та залежності між будовою, колоїдно-хімічними властивостями та біологічною активністю водних систем доставки їх продуктів.

Методи дослідження. Кінетику полімеризації досліджено дилатометричним та гравіметричним методами. Молекулярно-масові характеристики кополімерів визначено гель-проникною хроматографією. Структуру функціональних лінійних та гребенеподібних кополімерів підтверджено методами ІЧ та ЯМР спектроскопії. Склад кополімерів встановлено елементним аналізом, потенціометричним титруванням та визначенням продуктів термічного розкладу газорідною хроматографією. Утворення продуктів взаємодії полімерів та лікарських речовин досліджено кондуктометричним титруванням, методами Раман, УФ спектроскопії та люмінесцентного аналізу. Розмір міцелоподібних структур (МПС) досліджували методами динамічного світлорозсіювання (ДСР), ТЕМ та СЕМ мікроскопії. Токсичність та терапевтичну дію водних систем доставки протипухлинних препаратів досліджували *in vitro* та *in vivo*.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше запропоновано нові шляхи та розроблено методи синтезу функціональних полімерних носіїв з бічними поліетиленгліколевыми та поліелектролітними ланцюгами шляхом послідовних реакцій радикальної полімеризації та полімераналогічних перетворень отриманих на першій стадії ЕПП різного функціонального складу і мікроструктури.

Встановлено вплив мікроструктури ЕПП, співвідношення реагентів та довжини ланцюгів мПЕГ на швидкості їх взаємодії з епоксидними групами та вміст прищеплених ланцюгів мПЕГ.

Встановлено, що введення фрагментів ПЕГ у структуру ЕПП знижує енергію активації розкладу пероксидних груп ПЕГ-вмісних поліпероксидів на 30 кДж/моль, що пояснюється зменшенням сегментних ступенів свободи молекул в розчині.

Вперше встановлено залежність кінетичних параметрів полімеризації, ініційованої ПЕГ-вмісними макроініціаторами в розчині, від їх концентрації та природи мономерів в результаті утворення клубків - клітин та перебігу елементарних стадій полімеризації в них.

Синтезовано та досліджено нові поверхнево-активні полімери з бічними ПЕГ та поліелектролітними ланцюгами, міцелоподібні структури, утворювані ними, в тому числі з ліпідосумісними компонентами, та продуктами зв'язування

протипухлинних препаратів з носіями, а також формування і властивості водних систем доставки отриманих препаратів.

Встановлено відсутність токсичності нових полімерних носіїв *in vitro* та *in vivo*. Виявлено підвищення терапевтичної ефективності та долання набутої резистентності клітин до ліків при застосуванні систем доставки протипухлинних препаратів на основі нових полімерних носіїв.

Практичне значення одержаних результатів. Практична цінність роботи полягає у створенні теоретично обґрунтованої і експериментально підтвердженої основи для конструювання нових полімерних носіїв, здатних зв'язувати протипухлинні препарати, та створенні стабільних водних систем їх доставки в орган-мішень. Водні препарати доксорубіцину та комплексу рутенію на їх основі, досліджені *in vitro* та *in vivo*, показали високу терапевтичну ефективність при зменшеній дозі та здатність долати набуту резистентність ракових клітин. Успішно проведено лабораторні та доклінічні випробування нових систем доставки.

Особистий внесок здобувача. Пошук та аналіз джерел літератури з наукової проблеми, підготовка і здійснення експериментів та оброблення експериментальних даних виконані автором особисто. Постановка завдань, планування, аналіз та обговорення результатів дослідження, формування основних положень та висновків роботи здійснювались разом з науковим керівником – к.х.н, п.н.с. О.С. Заїченком та к.х.н, с.н.с. Н.Є. Мітіною. Дослідження практичного застосування нових ПЕГ-вмісних носіїв для доставки ліків вивчалось сумісно з працівниками Інституту біології клітини НАН України під керівництвом проф., д.б.н., чл.-кор. НАН України Р. С. Стойки.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційного дослідження доповідались і обговорювались на таких конференціях: 37 Forum des Jeunes Chercheurs «Vers les innovations therapeutiques et technologiques» (Франція, Страсбург, 2010), «NanoBioMed – 2011» (Іспанія, Більбао, 2011), III Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання – 2011» (Україна, Харків, 2011), V Українському з'їзді біофізичного товариства (Україна, Луцьк, 2011), 4th International Symposium “Methods and Applications of Computational Chemistry” (Україна, Львів-Харків, 2011), XII Всеукраїнській конференції з міжнародною участю студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії» (Україна, Київ, 2011), XIII науковій конференції “Львівські хімічні читання – 2011” (Україна, Львів, 2011), Міжнародній конференції «Пластмассы со специальными свойствами» (Росія, Санкт-Петербург, 2011), VI Науково-технічній конференції «Поступ в нафтогазопереробній та нафтохімічній промисловості» (Україна, Львів, 2012), World Forum on Advanced Materials “Polychar 20” (Хорватія, Дубровнік, 2012), III Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Україна, Запоріжжя, 2012), VII Polish-Ukrainian Conference “Polymers of Special Application” (Польща, Радом, 2012), Німецько-Український симпозіум “Physics and Chemistry of Nanostructures and Nanobiotechnology” (Німеччина, Ільменау, 2012 р.)

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 8 статей у фахових наукових журналах і 16 тез доповідей на наукових конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 170 сторінках, містить 28 таблиць і 90 рисунків. Робота складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел (170 найменувань) і додатків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У першому розділі розглядається література, присвячена синтезу та властивостям полімерних носіїв ліків, в тому числі, ПЕГ-вмісних, та їх застосуванню в системах доставки лікарських препаратів.

У другому розділі подано інформацію про синтез та очищення матеріалів, наведено методики експериментів та аналізів, а також структури та властивості протипухлинних препаратів та інших біологічно-активних речовин, які використовували у дослідженнях (рис. 1).

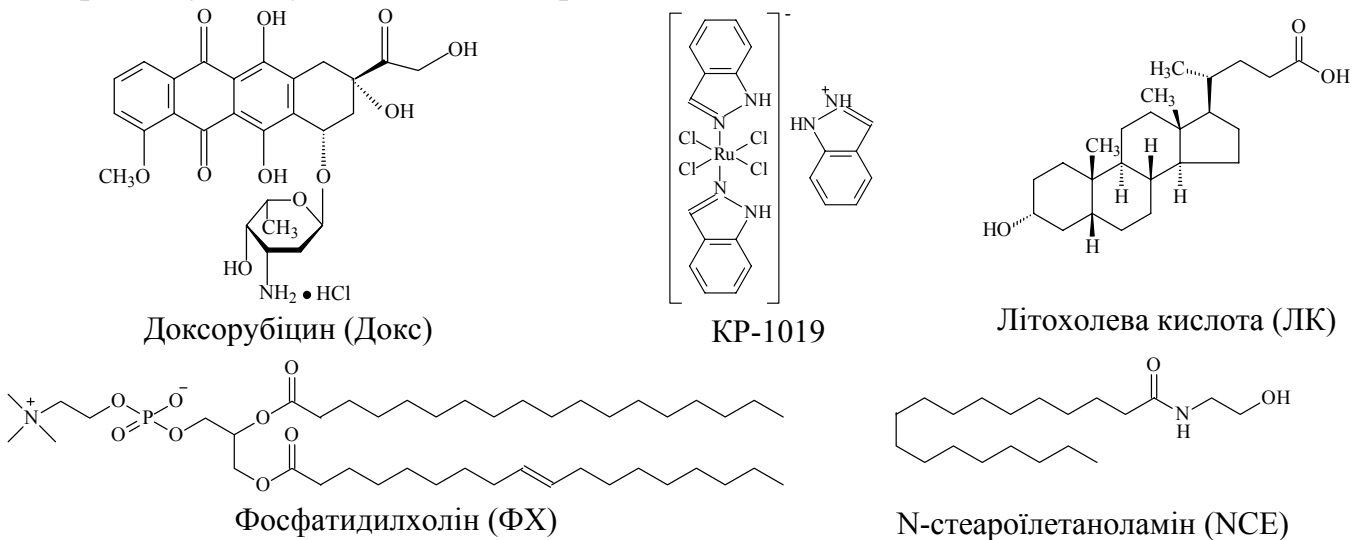


Рис. 1. Біологічно-активні та ліпідосумісні речовини, використані у системах доставки

Синтез кополімерів здійснювали радикальною кополімеризацією пероксидного мономеру ВЕП з функціональними мономерами в етилацетаті та диметилформаміді при температурі 70°C з N,N'-азо-ізобутиронітрилом як ініціатором. Синтез ПЕГ-вмісних гребенеподібних поліпероксидів здійснювали реакцією мПЕГ з епоксидними групами ЕПП у діоксані або хлороформі при 40°C, каталізатор – $\text{VF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ ($0,56 \times 10^{-2}$ моль/л). Ініціювання полімеризації ПЕГ-вмісними поліпероксидами та синтез гребенеподібних кополімерів з ПЕГ та бічними поліелектролітними ланцюгами досліджували в середовищі діоксану в інтервалі температур 70-90°C.

У третьому розділі наведено результати дослідження бінарної та потрійної кополімеризації ВЕП з гліцидилметакрилатом (ГМА) та іншими функціональними мономерами, структур і молекулярно-масових характеристик ЕПП, реакцій їх взаємодії з мПЕГ, розкладу пероксидних груп вихідних та ПЕГ-вмісних поліпероксидів та ініціювання ними прищеплювальної полімеризації.

Синтез та властивості полімерів з бічними ПЕГ та поліелектролітними ланцюгами

Запропоновано нові шляхи конструювання поверхнево-активних полімерних носіїв, що полягають у послідовних реакціях: 1) синтезу бінарних та потрійних кополімерів з епоксидними та пероксидними реакційними фрагментами на основі ГМА та ВЕП; 2) синтезу ПЕГ-вмісних поліпероксидів взаємодією епоксидних груп ЕПП з мПЕГ; 3) полімеризаційного прищеплення функціональних полімерних ланцюгів, ініційоване пероксидними групами ПЕГ-вмісних поліпероксидів (рис.2).

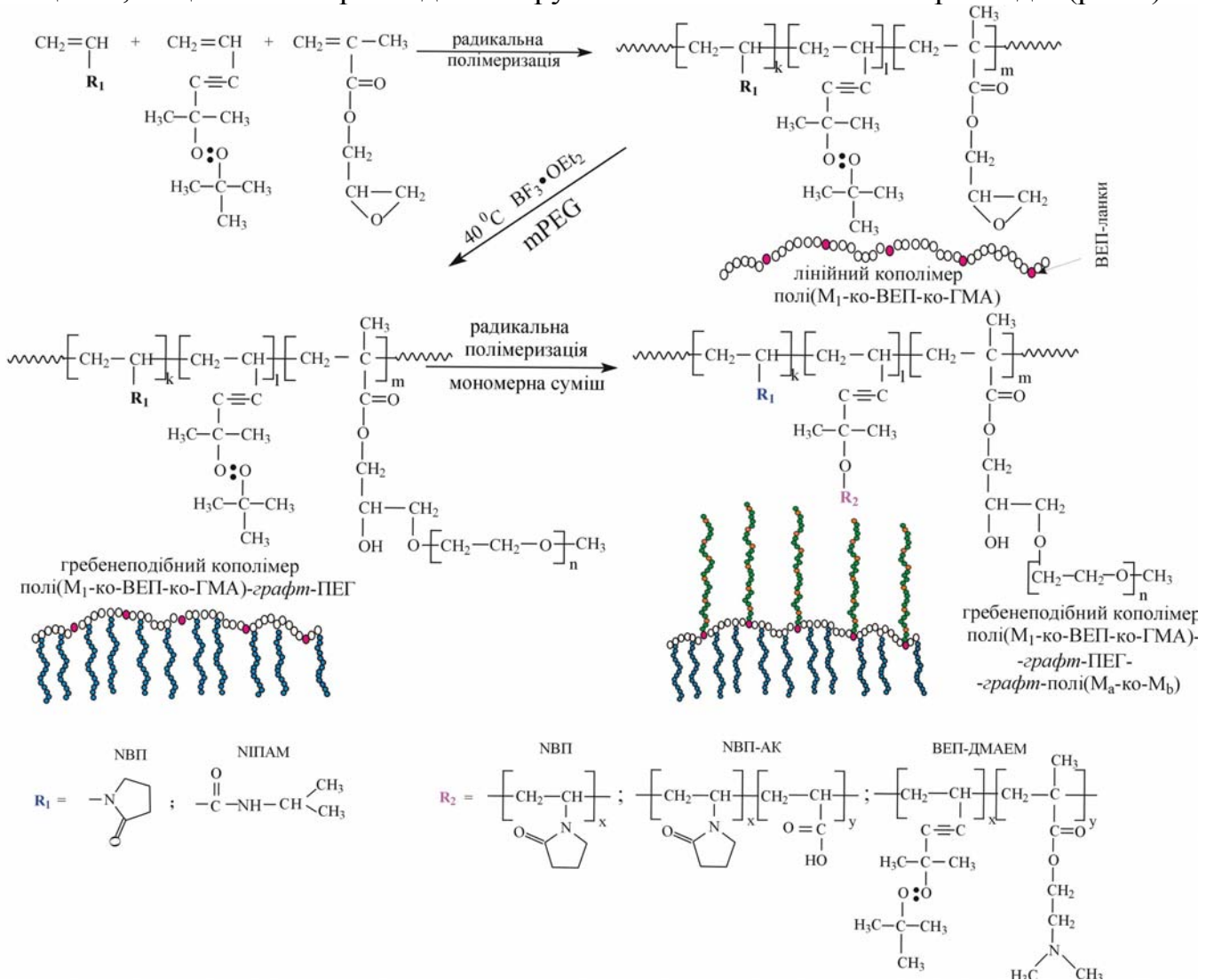


Рис. 2. Загальна схема синтезу гребенеподібних полімерних носіїв з ПЕГ та поліелектролітними бічними ланцюгами

Синтез та характеристики епоксидовмісних поліпероксидів

Кополімеризація ГМА та інших функціональних мономерів з ВЕП підпорядковується закономірностям слабоінгібованої полімеризації, що супроводжується передачею та обривом кінетичних та матеріальних ланцюгів за участю ВЕП і приводить до зменшення швидкості полімеризації та молекулярних мас кополімерів із збільшенням його вмісту у мономерній суміші (рис.3).

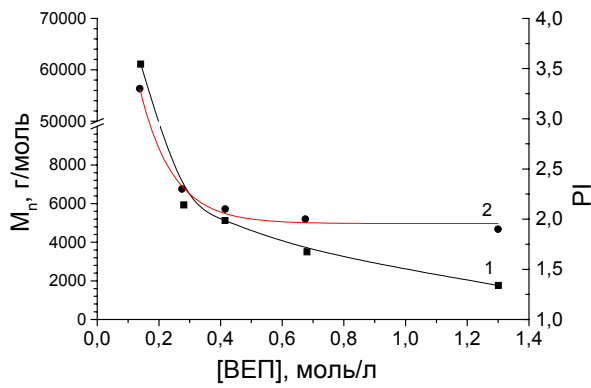


Рис. 3. Залежність середньочисельної молекулярної маси кополімерів полі(ВЕП-ко-ГМА) (1) та полідисперсності полімерів (2) від концентрації ВЕП у вихідній реакційній суміші

Однак, незважаючи на участь ВЕП у побічних реакціях передачі та обриву, його полімеризація та кополімеризація відбувається селективно за подвійним зв'язком і підпорядковується відомим закономірностям цих процесів. Це дозволяє досліджувати відносну реакційну здатність мономерів при кополімеризації та мікроструктуру кополімерів за відомими методами. На основі складів кополімерів полі(ВЕП-ко-ГМА), виділених на конверсії мономерних сумішей до 15%, за диференціальним методом Файнемана–Росса розраховано константи кополімеризації. Значення констант кополімеризації ($r_{1\text{ВЕП}}=0,10$; $r_{2\text{ГМА}}=1,13$; $r_1*r_2=0,11$) свідчать про більшу активність ГМА, що обумовлює збагачення кополімерів його ланками в широкому діапазоні складів мономерної суміші з утворенням коротких блоків з його ланок, розділених поодинокими ланками ВЕП.

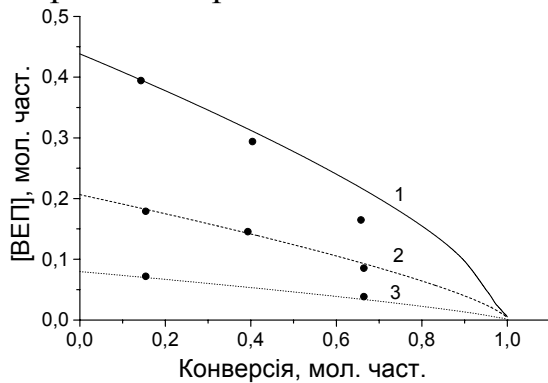


Рис. 4. Залежності концентрації ВЕП у мономерній суміші ВЕП-ГМА від конверсії. $[\text{VEP}]_0 = 0,438$ (1); $0,206$ (2); $0,0798$ (3) мол.част. (● – експериментальні точки)

Розрахунки мікроструктури кополімерів свідчать, що блоки з ланок ГМА розділені поодинокими ланками ВЕП. Розраховані за інтегральним рівнянням залежності витрати мономерів від конверсії (рис.4) узгоджуються з експериментально визначеними складами кополімерів.

Для прогнозованого синтезу водорозчинних потрійних ЕПП, які, крім ланок ВЕП та ГМА, містять ланки гідрофільних мономерів N-вінілпіролідону (НВП) або N-ізопропілакриламід (НІПАМ), досліджено закономірності їх кополімеризації з ВЕП, визначено константи кополімеризації в

бінарних системах та параметри мікроструктури кополімерів. В системах ВЕП–НІПАМ ($r_{1\text{ВЕП}}=1,25$; $r_{2\text{НІПАМ}}=0,35$; $r_1*r_2=0,43$) та ВЕП–НВП ($r_{1\text{ВЕП}}=15,70$; $r_{2\text{НВП}}=0,05$; $r_1*r_2=0,71$) ВЕП є більш активним мономером. Бінарні кополімери збагачені ланками ВЕП, який утворює блоки різної довжини, розділені короткими блоками з ланок НІПАМ або поодинокими ланками НВП. Комономери при кополімеризації в цих системах утворюють полімери із статистичним розподілом ланок. Швидкість витрати ВЕП при кополімеризації з НВП або НІПАМ вища за швидкість його витрати при кополімеризації з ГМА. Витрата комономерів при кополімеризації в потрійних системах є більш рівномірною ніж в бінарних (рис. 5а, 5б), очевидно, внаслідок участі ГМА, який добре кополімеризується як з ВЕП, так і з НВП та

НПАМ, в реакціях перехресного росту ланцюгів. Утворювані потрійні ЕПП збагачені ланками ГМА та ВЕП.

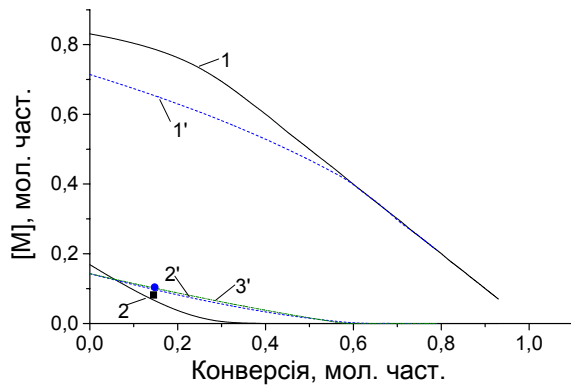


Рис. 5а. Залежності концентрації NBП (1, 1'), ВЕП (2, 2'), ГМА (3') у суміші NBП-ВЕП (1, 2) та NBП-ВЕП-ГМА (1', 2', 3') від конверсії, склад, мол.част: 0,83:0,17 (1, 2); 0,72:0,14:0,14 (1', 2', 3') (експериментальні точки ■ - NBП-ВЕП, ● - NBП -ВЕП-ГМА).

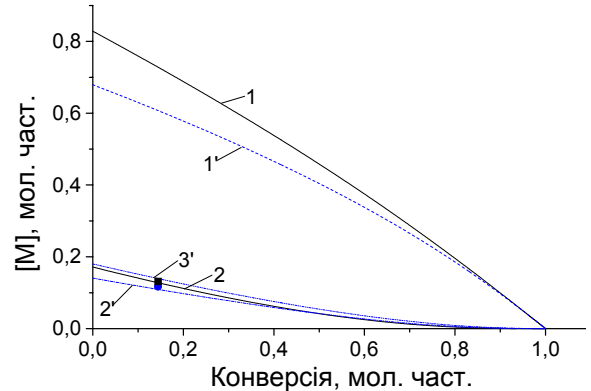


Рис. 5б. Залежності концентрації NПАМ (1, 1'), ВЕП (2, 2'), ГМА (3') у суміші NПАМ-ВЕП (1, 2) та NПАМ-ВЕП-ГМА (1', 2', 3') від конверсії, склад, мол.част: 0,83:0,17 (1, 2); 0,68:0,14:0,18 (1', 2', 3') (експериментальні точки ■ - NПАМ-ВЕП, ● - NПАМ -ВЕП-ГМА).

Експериментально визначені та розраховані з використанням визначених констант кополімеризації складу ЕПП добре узгоджуються (табл. 1).

Таблиця 1

Характеристики кополімерів полі(NBП-ко-ВЕП-ко-ГМА) та полі(NПАМ-ко-ВЕП-ко-ГМА)

Склад мономерної суміші, мол.%			Конверсія, %	Склад кополімерів (експериментальні дані), мол.%			Склад кополімерів (розраховані дані), мол.%			M _n , г/моль	D
NBП	ВЕП	ГМА		NBП	ВЕП	ГМА	NBП	ВЕП	ГМА		
78,3	4,4	17,4	63,4	68,8	6,5	24,7	76,4	6,8	16,8	4800	1,7
85,7	4,8	9,5	62,7	75,6	7,3	17,1	77,3	7,6	15,2	3500	1,8
81,8	9,1	9,1	60,3	69,4	12,1	18,5	69,9	15,1	15,0	2500	1,8
77,8	11,1	11,1	60,9	67,2	13,2	19,6	63,6	18,2	18,2	3000	1,8
71,4	14,3	14,3	58,7	59,1	18,7	22,2	52,7	23,6	23,7	2000	1,9
NПАМ	ВЕП	ГМА		NПАМ	ВЕП	ГМА	NПАМ	ВЕП	ГМА		
85,7	4,8	9,5	63,8	79,0	7,8	13,2	81,0	6,8	12,2	-	-
76,0	6,7	17,3	61,7	72,3	7,2	20,5	71,3	9,7	19,0	2050	1,3
67,9	14,1	18,0	59,4	62,9	15,1	22,0	57,0	18,9	24,1	1100	1,3

Швидкість кополімеризації в потрійних системах та молекулярні маси кополімерів також залежать від концентрації пероксидного мономеру. Але задовільна рівність добуток ймовірностей утворення потрійних кополімерів, розрахованих з використанням відомих з літератури та експериментально визначених констант кополімеризації $P_{M1M2} \cdot P_{M2M3} \cdot P_{M3M1} = P_{M1M3} \cdot P_{M3M2} \cdot P_{M2M1}$ для всіх потрійних систем, свідчить про її підпорядкування відомих закономірностям радикальної кополімеризації. Параметри мікроструктури потрійних кополімерів, а саме довжини блоків з однакових ланок, розраховані з використанням

експериментальних та літературних констант кополімеризації, свідчать про утворення ЕПП з вираженою тенденцією до чергування ланок комономерів.

Синтез та характеристики поліпероксидів з бічними поліетиленгліколевыми ланцюгами

Взаємодію мПЕГ з епоксидними групами бінарних та потрійних ЕПП здійснювали в попередньо встановлених оптимальних умовах: при 40°C, концентрації каталізатора $\text{VF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2 - 0,56 \times 10^{-2}$ моль/л, в діоксані або хлороформі протягом 8 годин, - що забезпечувало утворення ПЕГ-вмісних кополімерів з максимальним ступенем перетворення епоксидних груп. Із кінетичних залежностей взаємодії епоксидних груп поліпероксидів з мПЕГ (рис.6) видно, що швидкість реакції та гранична величина конверсії епоксидних груп визначаються переважно концентрацією мПЕГ в розчині. Але при певному співвідношенні реагуючих епоксидних груп та мПЕГ швидкість реакції та частка ланок ГМА, що приєднали ПЕГ, досягають граничних значень і не залежать від концентрації мПЕГ в розчині, що пояснюється, на нашу думку, обмеженням концентрації мПЕГ в зоні реакції внаслідок «ефекту сусіда». «Ефект сусіда» пояснює також залежність вмісту приєднаних ПЕГ ланцюгів від мікроструктури ЕПП. При збільшенні довжини блоків з ланок ГМА збільшується частка ланок ГМА, які взаємодіють з молекулами мПЕГ (рис.7).

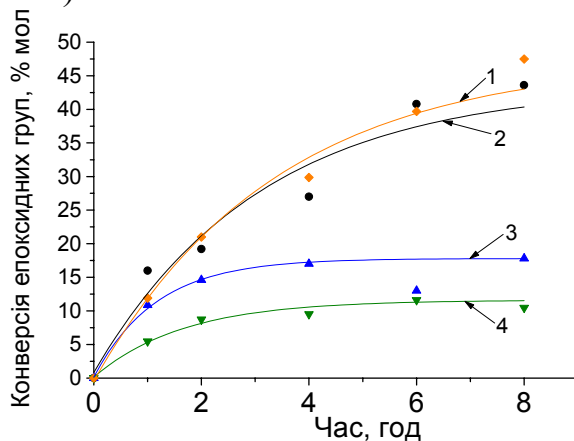


Рис. 6. Кінетичні криві реакції мПЕГ з епоксидними групами ЕПП. Мольне співвідношення епоксидних фрагментів ЕПП до ко-ГМА) мПЕГ = 1:1 (1), 2:1 (2), 4:1 (3), 6:1 (4).

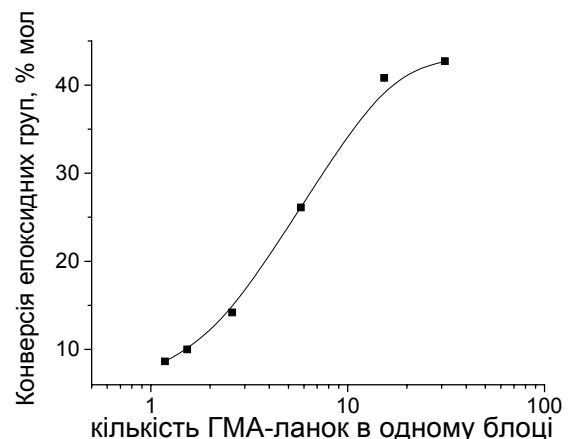


Рис. 7. Залежність конверсії епоксидних груп від мікроструктури кополімеру полі(ВЕП-співвідношення епоксидних фрагментів ЕПП до ко-ГМА)

Результати дослідження взаємодії мПЕГ з ГМА ланками потрійних ЕПП з мікроструктурою близькою до альтернантної, підтверджують залежність ступеня прищеплення ланцюгів ПЕГ від мікроструктури кополімерів. Оскільки довжина блоків не перевищує 2-3 ланок ГМА, навіть при надлишку мПЕГ до епоксидних груп, лише 15-18% його фрагментів у кополімері взаємодіють з молекулами мПЕГ (табл.2). Із збільшенням довжини ланцюга мПЕГ вміст його ланцюгів в ПЕГ-вмісних полімерах зменшується, очевидно, внаслідок меншої рухливості, зменшення їх концентрації в зоні реакції, а також, можливо, зростання впливу «ефекту сусіда» при збільшенні довжини бічного ланцюга.

Характеристики ПЕГ-вмісних кополімерів

Склад вихідного кополімеру, % мол.				Склад модифікованого кополімеру, % мол.					Величина конверсії епоксидних груп ЕПП, %
НВП	НІПАМ	ВЕР	ГМА	НВП	НІПАМ	ВЕР	ГМА	ПЕГ	
-	-	2,0	98,0	-	-	1,4	69,1	29,5	42,7
75,6	-	7,3	17,1	73,2	-	7,1	16,6	3,1	18,7
-	79,0	7,8	13,2	-	78,2	7,7	13,0	1,1	15,2

Полімери з прищепленими ПЕГ ланцюгами мають меншу характеристичну в'язкість та час утримання при гель-проникній хроматографії порівняно з вихідним лінійним полі(ВЕР-ко-ГМА), що пояснюється утворенням компактної конформації ПЕГ-вмісного поліпероксиду в розчині та свідчить про утворення розгалуженого кополімеру в результаті приєднання ПЕГ ланцюгів.

Синтез полімерів з бічними ПЕГ та поліелектролітними ланцюгами полімеризацією, ініційованою ПЕГ- вмісними поліпероксидами

Пероксидні фрагменти у молекулах вихідних ЕПП та ПЕГ-вмісних кополімерів здатні до утворення вільних радикалів, в тому числі, полімерних, в результаті їх термічного розкладу. Дослідження розкладу ПЕГ-вмісних поліпероксидів в діоксані показало, що, на відміну від вихідних ЕПП, індукований розклад пероксидних груп в них не спостерігається, а енергія активації гомолізу є меншою на 30 кДж/моль порівняно з розкладом вихідних ЕПП (табл.3). На нашу думку, ці факти пояснюються утворенням полімером з об'ємними ПЕГ ланцюгами активованих проміжних комплексів та зменшенням при цьому кількості сегментних ступенів кінетичної свободи, про що свідчить помітна зміна величини ентропії активації термічного гомолізу ВЕР ланок.

Таблиця 3

Характеристики термічного гомолізу пероксидних зв'язків поліпероксидів

Кополімер	$k_h \cdot 10^5, c^{-1}$ при температурах (К)		$E_a,$ кДж/моль	lgA	$\Delta H^\ddagger,$ кДж/моль	$\Delta S^\ddagger,$ Дж/(моль · К)
	383	453				
полі(ВЕР-ко-ГМА)	0,48	500,0	143,4	14,03	139,9	3,0
полі(НВП-ко-ВЕР-ко-ГМА)	0,70*	814,0	143,8	14,38	140,3	4,6
полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ	2,35	330,0	105,5	8,69	98,96	-21,5

- значення k_h отримане екстраполяцією із рівняння Ареніуса

Полімеризація, ініційована ПЕГ-вмісним поліпероксидом в діоксані, в певному діапазоні концентрацій підпорядковується відомим закономірностям радикальної полімеризації в розчині. Однак, полімерна природа ініціатора визначає концентраційну залежність кінетичних параметрів полімеризації при досягненні певної критичної концентрації макроініціатора в розчині, обумовлену утворенням молекулами гребенеподібного поліпероксиду клубків та перебігом елементарних

стадій полімеризації в просторово обмежених колоїдних зонах - «клітинах». Результатом цього є помітне зменшення ефективності ініціювання та константи швидкості полімеризації (рис. 8, 9). Зменшення величини співвідношення $K_p/K_t^{0.5}$ при цій концентрації ПЕГ-вмісного макроініціатора пояснюється, очевидно, збільшенням константи швидкості обриву ланцюгів.

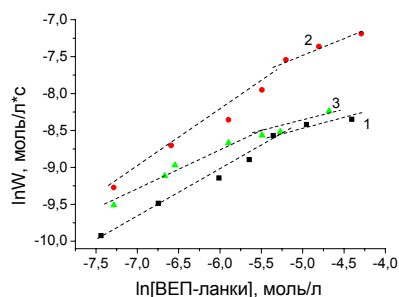


Рис. 8. Залежність швидкості полімеризації СТ (1), БМА (2) та НВП (3) від концентрації ПЕГ-вмісного поліпероксиду

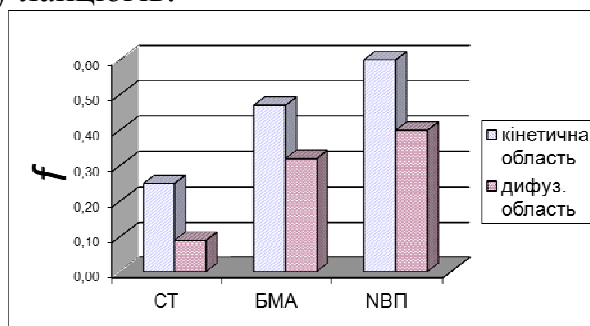


Рис. 9. Залежність ефективності ініціювання в кінетичній та дифузійній зонах полімеризації (діоксан, 353К)

Гібридні полімери, отримані в результаті прищеплювальної полімеризації, ініційованої ПЕГ-вмісним поліпероксидом, поєднують бічні ПЕГ та поліелектролітні ланцюги на основі кополімерів НВП та ДМАЕМ, довжину і кількість яких можна регулювати. Суттєве зменшення величини характеристичної в'язкості (в 6 разів) кополімеру з прищепленими поліелектролітними ланцюгами порівняно із вихідним лінійним полі(ВЕП-ко-ГМА) свідчить про надзвичайно високий вплив прищеплених бічних ланцюгів функціонального полімеру на конформаційний стан макромолекул в розчині.

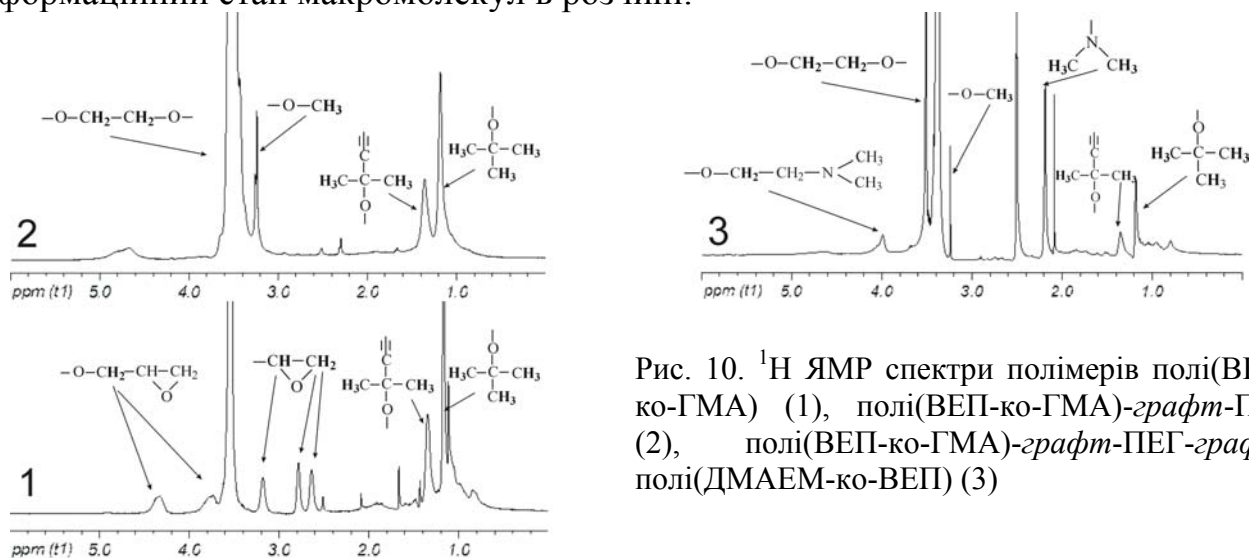


Рис. 10. ^1H ЯМР спектри полімерів полі(ВЕП-ко-ГМА) (1), полі(ВЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ (2), полі(ВЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ-графт-полі(ДМАЕМ-ко-ВЕП) (3)

Структури бінарних та потрійних кополімерів, а також їх похідних з бічними ПЕГ та ПЕГ і поліелектролітними ланцюгами підтверджено ІЧ та ^1H і ^{13}C ЯМР спектрами, елементним та функціональним аналізами. На ПМР спектрі полі(ВЕП-ко-ГМА) присутні сигнали, що відповідають протонам гем-диметильних груп ланок ВЕП (1,35 м.ч.), сигнали протонів гліцидильного фрагменту ГМА (2,64, 2,78, 3,18 м.ч.). Після взаємодії з мПЕГ зникають сигнали протонів гліцидильного фрагменту, з'являються сигнали, що відповідають протонам $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ланок (3.5 м.ч.) та метильної групи OCH_3 у ПЕГ-ланцюгах (3.24 м.ч.), а також залишаються сигнали

протонів ланок ВЕП. Після прищеплення ланок ДМАЕМ-ВЕП на спектрі кополімеру полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ-*графт*-полі(ДМАЕМ-ко-ВЕП) з'являються сигнали метильних груп біля атома Нітрогену та сигнал, що відповідає метиленовій групі $-O-CH_2-CH_2-N(CH_3)_2$ ланки ДМАЕМ. Сигнали з хім. зсувами 1,18 та 1,35 м.ч. належать протонам трет-бутилперокси групи та гем-диметильних груп ланок ВЕП у прищеплених ланцюгах ДМАЕМ-ВЕП та залишкових ВЕП-ланок основного ланцюга.

У четвертому розділі подано результати дослідження зв'язування протипухлинних препаратів з полімерними носіями, формування міцелярних водних систем з продуктів зв'язування, в тому числі, на основі змішаних міцел з ліпідосумісними речовинами, дослідження морфології міцел та колоїдно-хімічних характеристик систем доставки.

Формування та колоїдно-хімічні характеристики водних систем доставки

Кополімери полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ та кополімери з бічними ПЕГ та поліелектролітними ланцюгами є добре розчинними у воді. Поєднання гідрофобних та гідрофільних ланцюгів в молекулах обумовлює їх поверхневу активність та здатність утворювати у розчинах МПС. При збільшенні довжини ПЕГ поверхнева активність полімерів зростає, що пояснюється збільшенням гідрофобізуючого внеску біфільних ланцюгів ПЕГ в гідрофільно-ліпофільному балансі (ГЛБ). Навпаки, прищеплення гідрофільних ланцюгів НВП, а також НВП-АК та ДМАЕМ-ВЕП обумовлює зменшення поверхневої активності порівняно із вихідними ПЕГ-вмісними полімерами (рис.11).

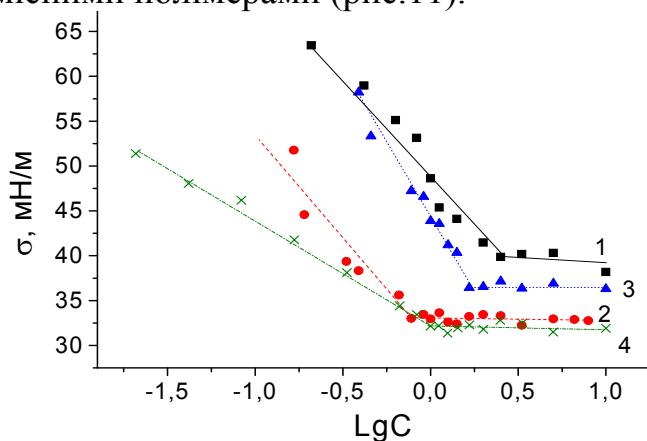


Рис. 11. Ізотерми поверхневого натягу кополімерів полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ-*графт*-НВП (1), полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ-*графт*-полі(НВП-ко-АК) (2), полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ-*графт*-полі(ДМАЕМ-ко-ВЕП) (3) та полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ (4).

Ізотерми поверхневого натягу водних розчинів полі(НВП-ко-ВЕП-ко-ГМА) та полі(НІПАМ-ко-ВЕП-ко-ГМА) (рис. 12) свідчать про їх більшу поверхневу активність у порівнянні з полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ та кополімерами з бічними поліелектролітними та ПЕГ ланцюгами. Ланцюги ПЕГ в їх молекулах мало впливають на поверхневу активність, що пояснюється несуттєвим їх внеском в ГЛБ порівняно з внеском основного ланцюга кополімеру.

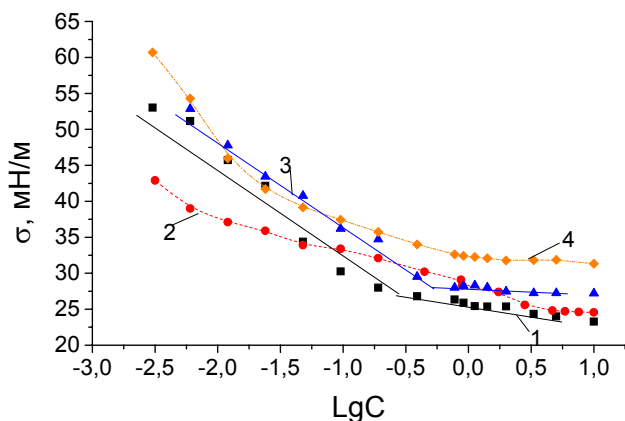


Рис. 12. Ізотерми поверхневого натягу водних розчинів полі(НВП-ко-ВЕП-ко-ГМА) (1), полі(НВП-ко-ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ (2) та полі(НІПАМ-ко-ВЕП-ко-ГМА) (3), полі(НІПАМ-ко-ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ (4)

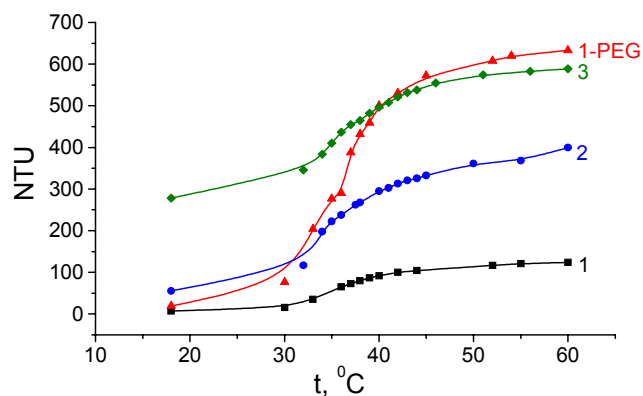


Рис. 13. Залежність мутності водних розчинів кополімеру складу полі(НІПАМ-ко-ВЕП-ко-ГМА): 79,0:7,8:13,2 (1), 72,3:7,2:20,5 (3), 62,9:15,1:22,0 (4) та полі(НІПАМ-ко-ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ (1-PEG) від температури

Наявність ланок НІПАМ в структурі полі(НІПАМ-ко-ВЕП-ко-ГМА), ланок НІПАМ та ПЕГ ланцюгів в молекулі полі(НІПАМ-ко-ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ обумовлює залежність колоїдно-хімічних характеристик цих кополімерів від температури (рис.13). Зміна розчинності ПЕГ-вмісного кополімеру в інтервалі 30-40°C обумовлена, очевидно, руйнуванням водневих зв'язків, утворених ними з молекулами води.

Поверхнево-активні полімерні носії, які утворюють у водному розчині МПС, здатні зв'язувати за різними механізмами фізіологічно активні сполуки, в тому числі нерозчинні у воді, та утворювати їх стабільні водні форми. Як видно з рис. 14, поверхнева активність продукту зв'язування носія з молекулами Докс є більшою за поверхневу активність вихідного полімеру і МПС у водному розчині утворюються при його меншій концентрації. Очевидно, це пояснюється зміною ГЛБ полімеру внаслідок утворення Докс водневих зв'язків з атомами етерного кисню ПЕГ ланцюгів.

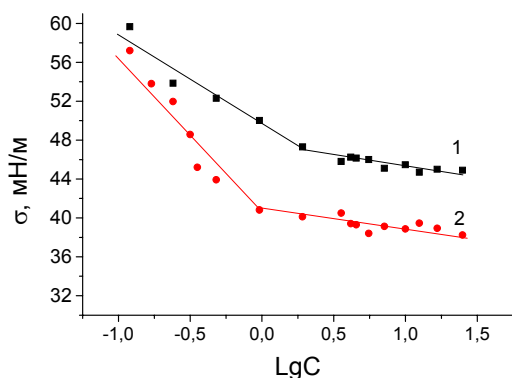


Рис. 14. Ізотерми поверхневого натягу водних розчинів полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ (1) та продукту зв'язування полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ і Докс (2)

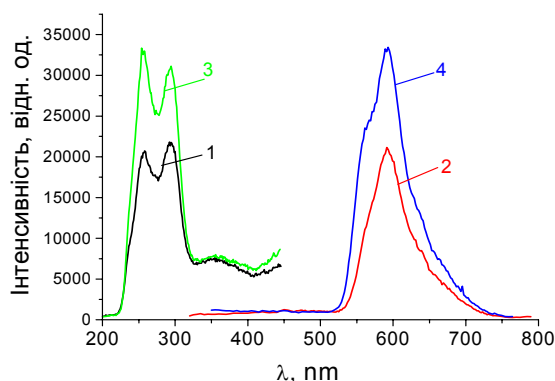


Рис. 15. Спектри люмінесценції водних розчинів Докс (1-спектр абсорбції, 2-спектр емісії) та продукту зв'язування Докс з полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ (3-спектр абсорбції, 4-спектр емісії)

Витіснення молекул води та утворення водневих зв'язків Докс з $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ланцюгами носія призводить до гідрофобізації останніх та утворення гідрофобного ядра МПС із гідрофільною оболонкою з незадіяних у зв'язуванні з Докс ПЕГ ланцюгів, яка стабілізує міцели у розчині. Із спектрів люмінесценції водних розчинів Докс та продукту, утвореного при його зв'язуванні з полімерним носієм, видно (рис.15) зростання інтенсивності люмінесценції Докс у результаті знаходження його у внутрішніх зонах МПС, що запобігає «гасінню» його люмінесценції молекулами води. Це погоджується з результатами дослідження колоїдно-хімічних характеристик продукту зв'язування. Із (рис. 16) видно, що в результаті зв'язування Докс з полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ утворюються МПС з середньочисельним розміром $49,6 \pm 8,5$ нм, менші за розмір МПС, утворених ПЕГ-вмісним носієм (59 ± 7 нм). Носії полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ-*графт*-полі(НВП-ко-АК) утворюють МПС розміром 397 ± 103 нм, тоді як їх продукти зв'язування з Докс мають розмір 273 ± 62 нм (рис.17). При збільшенні вмісту Докс розмір МПС зменшується, очевидно, внаслідок гідрофобізації та ущільнення МПС, що його містять. Зображення ТЕМ вказують на існування МПС сферичної форми. Полідисперсність МПС за розміром в системах, що містять полімерний носій та полімерний носій з Докс, пояснюється полідисперсністю вихідного кополімеру та наявністю вторинних структур, утворених в результаті агрегації первинних МПС.

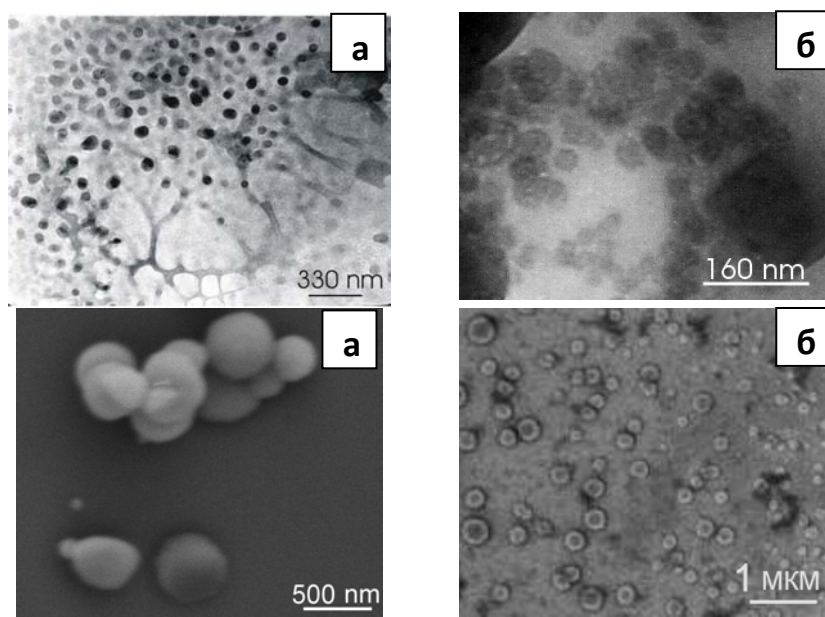


Рис.16. ТЕМ зображення МПС, утворених полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ (а) та продуктом зв'язування полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ з Докс (б) у фізіологічному розчині

Рис.17. СЕМ зображення МПС, утворених полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ-*графт*-полі(НВП-ко-АК) (а) та продуктом зв'язування полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ-*графт*-полі(НВП-ко-АК) з Докс (б) у фізіологічному розчині

Розроблені методи одержання змішаних полімерних міцел-носіїв з ліпідосумісними речовинами: фосфатидилхоліном (ФХ), N-стеароїлетаноламіном (NCE), літохолевою кислотою (ЛК), базуються на введенні цих компонентів в структуру міцел. На відміну від ізотерми поверхневого натягу розчину полімеру без ФХ, на ізотермах носіїв з ФХ спостерігаються дві точки перегину (рис.18). Це свідчить, очевидно, про агрегацію первинних МПС внаслідок взаємодії їх гідрофобізованих оболонок при більшій концентрації в системі. На користь існування в таких системах первинних МПС - носіїв та агрегатів з них, що містять в оболонці ФХ, свідчать результати ДСР (рис. 19).

Очевидно, гідрофобні ліпідofilні речовини (ФХ, NCE або ЛК) розташовуються таким чином у структурі міцел, що їх гідрофільні фрагменти знаходяться між зовнішніми гідрофільними ланцюгами ПЕГ, тоді як гідрофобні – занурені у гідрофобне ядро, яке утворюють гідрофобні фрагменти молекул полімеру та ПЕГ ланцюги, зв'язані з молекулами Докс.

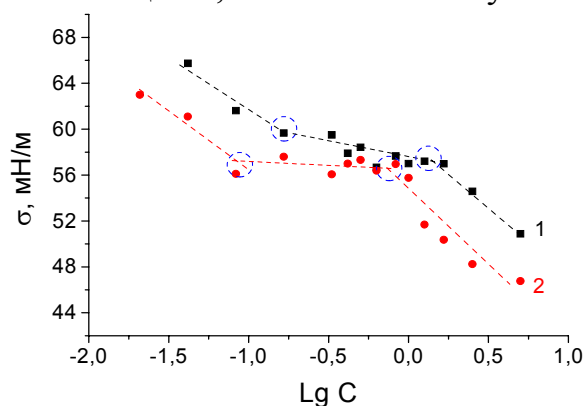


Рис.18. Ізотерми поверхневого натягу водних розчинів полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ з ФХ (1) та продукту зв'язування Докс і полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ з ФХ (2)

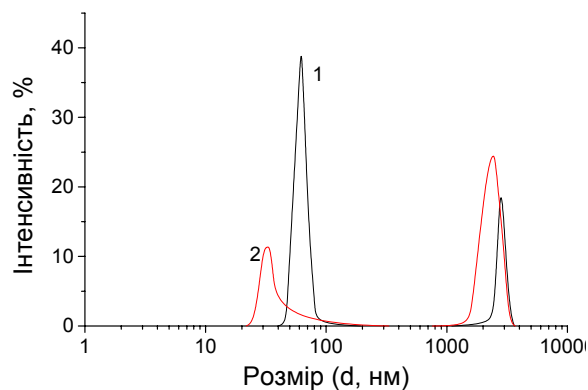


Рис.19. Розподіл за розміром МПС, утворених полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ з ФХ (1) та продукту зв'язування Докс та полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ з ФХ (2) у фізіологічному розчині

Формування нанорозмірних систем доставки нерозчинного у воді комплексу Ru^{+3} (КР1019) відбувається в результаті солюбілізації КР1019 МПС, утворюваними ПЕГ-вмісним полімером. Локалізація молекул КР1019 у гідрофобному ядрі МПС практично не впливає на розмір міцел. З порівняння результатів ДСР за інтенсивністю і числом (рис.20) видно, що основна частина міцел є розміром в діапазоні ~ 16 -20 нм, а незначна кількість агрегатів - розміром 40-70-нм. Результати досліджень TEM добре узгоджуються із дослідженнями ДСР (рис.21).

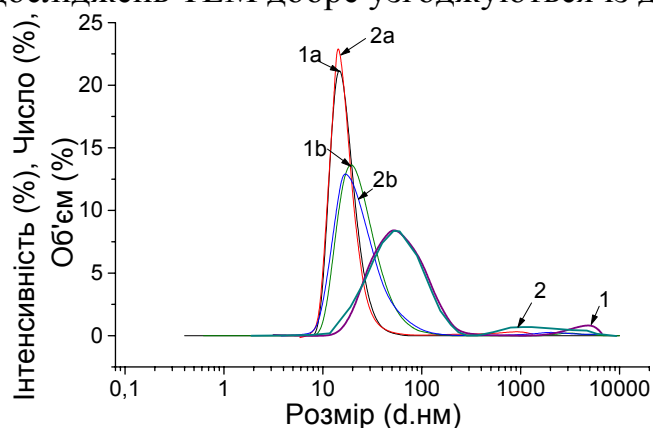


Рис. 20. Розподіл за розміром МПС, утворених полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ (1) та його солюбілізату з КР1019 (2) у фізіологічному розчині: розподіл за розміром – за інтенсивністю (1, 2), за числом (1а, 2а) та за об'ємом (1б, 2б)

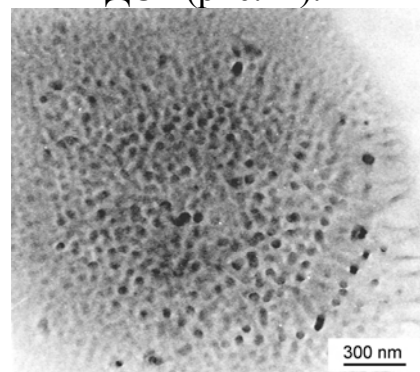


Рис. 21. TEM зображення солюбілізату полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ з КР1019

Вміст лікарських речовин в МПС, розрахований виходячи з розміру та кількості МПС та концентрації препаратів, складає: Докс в МПС без ФХ - $2,4 \cdot 10^{-18}$ г

на одну частинку, Докс в МПС з ФХ – $8,4 \cdot 10^{-16}$ г на одну частинку, КР1019 в МПС - $1,5 \cdot 10^{-19}$ г на одну частинку.

У п'ятому розділі представлені результати дослідження біологічної активності полімерів з ПЕГ та поліелектролітними ланцюгами і водних систем доставки протипухлинних препаратів на їх основі, а також результати дослідження їх протипухлинної дії *in vitro* та *in vivo*.

Шляхи практичного застосування

Дослідження власної цитотоксичності полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ та полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ-*графт*-полі(НВП-ко-АК) показали, що при введенні водних розчинів полімерів в середовище інкубації клітин кількість живих клітин ліній L1210, L929, Jurkat, НТС 116 wt, НТС 116 p53-/-, SW1573, MCF7 становила 90-100% порівняно з контролем (концентрація полімеру відповідала його кількості у системі доставки, коли концентрація лікарського препарату становила 1 мг/мл).

Дослідження протипухлинної дії систем доставки Докс на основі МПС з молекул полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ на лінії клітин гострого лімфолейкозу L1210 показали, що вони збільшують терапевтичну дію Докс у 2-3 рази порівняно з вільним препаратом. МПС, що містять Докс, утворювані цими носіями разом з ФХ, проявляли протипухлинну активність в концентрації в 10 разів меншій, ніж вільний Докс, при якій досягається ефективна терапія (рис. 22а). Зв'язування Докс з МПС, утворюваним полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ із ФХ, суттєво прискорює його проникнення через мембрану клітин трансформованих фібробластів миші лінії L929 у порівнянні з вільним препаратом.

Дія Докс, зв'язаного з полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ-*графт*-полі(НВП-ко-АК), була подібною до дії препарату в системі з полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ (рис. 22б). Вже при концентрації 0,1 мг/мл досягається такий самий ефект як при дії вільного Докс при концентрації в 10 разів більшій.

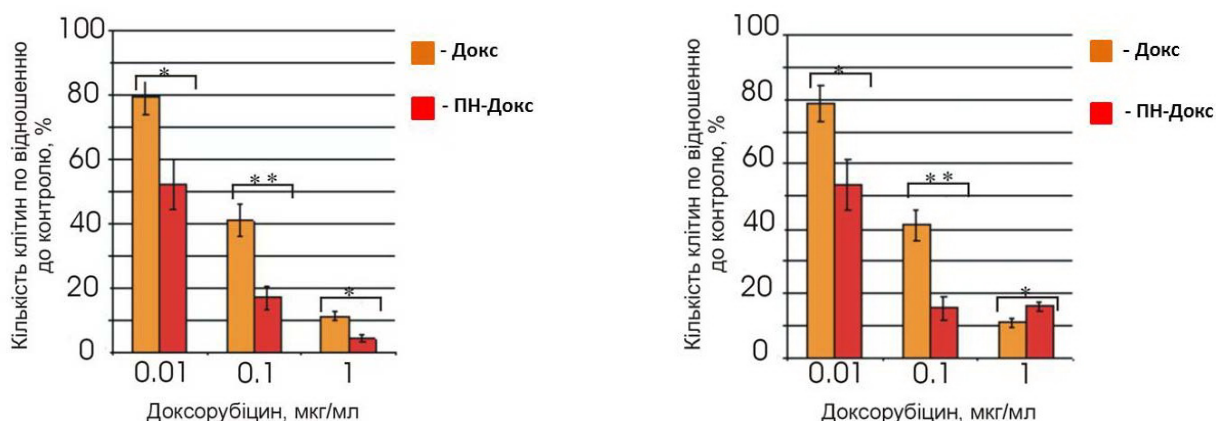


Рис. 22. Динаміка кількості клітин гострого лімфолейкозу L1210 у присутності в культуральному середовищі Докс, зв'язаного з полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ та вільного Докс (а) порівняно з системою доставки на основі полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ-*графт*-полі(НВП-ко-АК) (б) з включеним фосфоліпідом через 48 годин інкубації

Дослідження *in vivo* проводили на мишах лінії BALB/C, яким було прищеплено лімфому NK/Ly (лімфома Немет-Кельнера). Порівняння кривих виживання мишей-пухлиноносіїв з лімфомою NK/Ly при введенні Докс і Докс в системі на основі МПС з полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ із ФХ представлено на рис. 23. Видно, що при введенні МПС – носіїв з Докс у концентрації 0,1 мг/кг ваги миші одужували і залишалися живими, в той час, як при введенні Докс без носія у тій самій дозі миші вмирали протягом 40-50 днів.

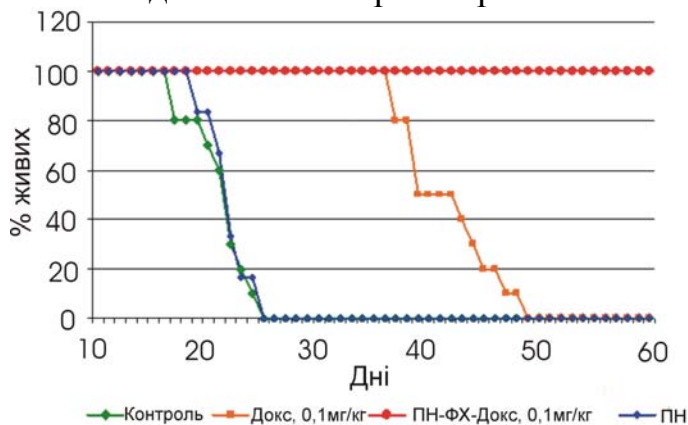


Рис. 23. Порівняння кривих виживання мишей - пухлиноносіїв з лімфомою NK/Ly при введенні Докс, Докс в системах з МПС з полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ з ФХ (ПН-ФХ-Докс) і полімеру (ПН).

Відомо, що кардіотоксичність Докс визначається співвідношенням активностей двох ізоформ ферменту лактатдегідрогенази (ЛДГ) в сироватці крові тварин. При введенні Докс в системі на основі МПС з полі(ВЕП-ко-ГМА)-*графт*-ПЕГ із ФХ співвідношення активностей двох ізоформ ЛДГ залишається на рівні контролю, що свідчить про кардіопротекторний ефект полімерних носіїв в системах доставки.

ВИСНОВКИ

1. Вперше розроблено нові підходи до конструювання поверхнево-активних гребенеподібних полімерних носіїв з поліетиленгліколевыми та поліелектролітними ланцюгами реакціями радикальної кополімеризації та полімераналогічних перетворень полімерів з епоксидними та пероксидними реакційними фрагментами.
2. Вперше визначено константи кополімеризації ВЕП з ГМА, НІПАМ та НВП та встановлено можливості контролю структурних, молекулярно-масових характеристик та реакційної здатності бінарних та потрійних поліпероксидів.
3. Встановлено, що конверсія епоксидних груп залежить від концентрації мПЕГ в розчині, довжини блоків з епоксидних ланок ЕПП та ланцюгів ПЕГ і досягає граничної величини внаслідок «ефекту сусіда».
4. Встановлено відсутність індукованого розкладу пероксидних груп ПЕГ-вмісних поліпероксидів та показано, що енергія активації їх гомолізу на 30 кДж/моль нижча за енергію активації гомолізу пероксидних груп ЕПП без ПЕГ фрагментів, що пояснюється зменшенням сегментних ступенів свободи молекул в розчині внаслідок утворення ним активованого комплексу.
5. Вперше встановлено зменшення ефективності ініціювання та константи швидкості полімеризації, ініційованої гребенеподібними ПЕГ-вмісними поліпероксидами при досягненні їх критичної концентрації в розчині, в результаті перебігу елементарних стадій у просторово обмежених зонах, утворюваних молекулами макроініціатора.
6. Встановлено утворення вперше синтезованими поверхнево-активними ПЕГ-вмісними полімерами стабільних нано- та мікророзмірних МПС, в тому числі, з

вбудованими ліпідосумісними речовинами, у водних розчинах та зв'язування ними за різними механізмами протипухлинних сполук різної хімічної будови, що обумовлює їх універсальність як носіїв.

7. В співпраці з Інститутом біології клітини НАНУ *in vitro* та *in vivo* встановлено, що полімерні носії та системи доставки протипухлинних препаратів є нетоксичними, забезпечують кардіопротекторний захист від дії доксорубіцину, пришвидшення доставки ліків в клітини, зниження терапевтичної дози в 2-10 разів та подолання набутої резистентності клітин до ліків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЇ ВИКЛАДЕНО В ТАКИХ ПУБЛІКАЦІЯХ

1. Поліетиленглікольвмісні олігомерні носії та нанорозмірні системи доставки антимікробних речовин на їх основі / **А.О. Рябцева**, Ю.В. Остапчук, Н.Є. Мітіна, М.М. Москвін, Н.М. Бойко, Р.С. Стойка, О.С. Заїченко // Вісник НУ “Львівська політехніка”. Хімія, технологія речовин та їх застосування. – Львів. – 2011. – № 700. – С.367-373. *(Особистий внесок автора полягає у синтезі та дослідженні епоксидовмісних поліпероксидів, поліетиленглікольвмісних полімерних носіїв на їх основі, синтезі та дослідженні колоїдно-хімічних характеристик систем доставки антимікробних ліків, написанні статті).*
2. Синтез нових поліетиленглікольвмісних носіїв для доставки лікарських засобів / **А.О. Рябцева**, Н.Є. Мітіна, Н.М. Бойко, З.Є. Надашкевич, Р.С. Стойка, О.С. Заїченко // Праці НТШ. Хем. Біохем. – Львів. – 2011. – Т.28. – С. 19-27. *(Особистий внесок автора полягає у синтезі та дослідженні епоксидовмісних поліпероксидів різного складу, поліетиленглікольвмісних полімерних носіїв на їх основі, написанні статті).*
3. Нанорозмірні системи доставки протиракових препаратів, іммобілізованих на поліетиленглікольвмісному полімерному носії / **А.О. Рябцева**, Н.Є. Мітіна, Д. Гаврилук, Р.Б. Лесик, Б. Зіменковський, З.Є. Надашкевич, О.С. Заїченко // Вісник НУ “Львівська політехніка” Хімія, технологія речовин та їх застосування. – Львів. – 2011. – № 726. – С.377-383. *(Особистий внесок автора полягає у синтезі та дослідженні колоїдно-хімічних характеристик систем доставки протиракових препаратів, написанні статті).*
4. Structural and Colloidal-Chemical Characteristics of Nanosized Drug Delivery Systems Based on Pegylated Comb-like Carriers / **A. Riabtseva**, N. Mitina, N. Boiko, S. Garasevich, I. Yanchuk, R. Stoika, O. Slobodyanyuk, A. Zaichenko // Chemistry and Chemical Technology. – Lviv. – 2012. – Vol.6. – № 3. – P.291-295. *(Особистий внесок автора полягає у синтезі та дослідженні колоїдно-хімічних характеристик систем доставки протиракових препаратів, написанні статті).*
5. Іммобілізація доксорубіцину на олігоелектролітному полімерному носії підвищує швидкість надходження цього протипухлинного препарату в ракові клітини та ефективність його цитотоксичної дії / Ю.В. Сеньків, **А.О. Рябцева**, П. Хеффетер, Н.М. Бойко, Є.А. Шляхтіна, Н.Є. Мітіна, В. Бергер, О.С. Заїченко, Р.С. Стойка // Біологічні студії – 2012. – Т.6. – № 2. – С.5-16. *(Особистий внесок автора полягає у синтезі систем доставки протипухлинного препарату доксорубіцину).*
6. Антиоксичні ефекти N-стеароїлетаноламіну в суспензії та у складі нанокompatитного комплексу в органах мишей з карциномою Льюїс за введення доксорубіцину / Є.А. Гудзь, Н.М. Гула, Т.О. Хмель, Т.М. Горідько, Ю.М. Башта, Р.Р. Панчук, Р.С. Стойка, **А.О. Рябцева**, О.С. Заїченко // Український біохімічний журнал. – 2012. – Т.84. – № 4. – С.61-69. *(Особистий внесок автора полягає у синтезі змішаних міцелярних систем доставки доксорубіцину).*
7. Vibrational properties of LaPO₄ nanoparticles in mid- and far-infrared domain / P. Savchyn, I. Karbovnyk, V. Vistovskyu, A. Voloshinovskii, V. Pankratov, M. Cestelli Guidi, C. Mirri, O. Myahkota, **A. Riabtseva**, N. Mitina, A. Zaichenko, A. I. Popov // Journal of Applied Physics. – 2012. – V.112. – №12. – P. 124309 –124309-6. *(Особистий внесок автора полягає у синтезі та дослідженні епоксидовмісних поліпероксидів).*

8. Синтез та дослідження нових термочутливих поліетиленглікольвмісних гребенеподібних олігопероксидів / **А.О. Рябцева**, Н.Є. Мітіна, З.Я. Надашкевич, О.С. Заіченко // Вопросы химии и химической технологии – Дніпропетровськ, 2013. – №1. – С.58-61. (*Особистий внесок автора полягає у синтезі та дослідженні термочутливих епоксидовмісних поліпероксидів та поліетиленглікольвмісних полімерних носіїв на їх основі, дослідженні їх колоїдно-хімічних характеристик, участі у написанні статті*).
9. Development of one of the most advanced methods for treatment of the vitreoretinal pathology – intravitreal drugs administration / E.Brazhnikova, N. Kashchak, N. Boiko, Y. Filyak, **A. Riabtseva**, N. Mitina, R. Stoika, A. Zaichenko // Збірник тез доповідей. 37 Forum des Jeunes Chercheurs “Vers les innovations therapeutiques et technologiques”, – Страсбург, Франція. – 14-17 грудня 2010 р. – С.Р29.
10. Nanoscale drug and gene delivery systems based on novel oligoelectrolytes and nanogels / A. Zaichenko, N. Mitina, M. Moskvina, **A. Ryabtseva**, S. Trotsenko, L. Ivanitska, E. Filyak, N. Boiko, R. Stoika // Збірник тез доповідей. International conference “ImagineNano2011 NanoBio&Med section” - Більбао, Іспанія. - 11-14 квітня 2011. - С.133.
11. Нові поліетиленглікольвмісні олігомерні носії для доставки лікарських засобів / **А.О. Рябцева**, Ю.В. Остапчук, Н.Є. Мітіна, Н.М. Бойко, Р.С. Стойка, О.С. Заіченко // Збірник тез доповідей III всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів “Хімічні Каразінські читання – 2011”. – 18-21 квітня 2011 р. – Харків, Україна. – С. 115.
12. Молекулярний дизайн нових поліоксидетиленглікольвмісних олігомерних носіїв для доставки лікарських засобів / **А.О. Рябцева**, Н.Є. Мітіна, Н.М. Бойко, Р.С. Стойка, О.С. Заіченко // Збірник тез доповідей XII всеукраїнської конференції з міжнародною участю студентів та аспірантів “Сучасні проблеми хімії”. - 18-20 травня 2011 р. - Київ, Україна. - С. 203.
13. Нанорозмірні системи доставки антимікробних препаратів на основі поліетиленглікольвмісних олігомерних носіїв / **А.О. Рябцева**, Ю.В. Остапчук, Н.Є. Мітіна, М.М. Москвін, Н.М. Бойко, Р.С. Стойка, О.С. Заіченко // Збірник тез доповідей XIII наукової конференції “Львівські хімічні читання – 2011”. - 28 травня-1 червня 2011 р. - Львів, Україна. - С. 052.
14. Biomedical application of functional nanophosphors for diagnostics and drug (gene) delivery systems / N. Boiko, E. Filyak, R. Panchuk, **A. Riabtseva**, N. Mitina, O. Klyuchivska, T. Konstantinova, A. Zaichenko, R. Stoika // Збірник тез доповідей. The Third International Workshop on Advanced Spectroscopy and Optical Materials (IWASOM'2011). - 17–22 липня 2011. - Гданськ, Польща. – С.128.
15. Bioactive nanoscale supramolecular assemblies of ionic and non ionic oligoperoxide based surfactants with drugs, DNA and RNA in water / O. Zaichenko, N. Mitina, T. Skorokhoda, E. Filyak, N. Boiko, L. Ivanytska, **A. Riabtseva**, M. Moskvina, V. Novikov, R. Stoika // Збірник тез доповідей. 4th International Summer School Supra Chem. - 12-15 вересня 2011. - Регенсбург, Німеччина – С. Т4.
16. Functional nanophosphors for diagnostics and drug (gene) delivery systems / A. Zaichenko, N. Mitina, N. Boiko, E. Filyak, R. Panchuk, **A. Riabtseva**, R.Stoika // Збірник тез доповідей другої міжнародної конференції “Nanobiophysics: fundamental and applied aspects”. - 6-9 жовтня 2011. - Київ, Україна. – С.96.
17. Наноразмерные системы доставки антимикробных и противоопухолевых препаратов на основе новых ПЭГ-содержащих олигомерных носителей / **А.А. Рябцева**, Н.Е. Митина, Н.Н. Бойко, Р.С. Стойка, А.С. Заіченко // “Пластмассы со специальными свойствами” Збірник наукових праць. / Під заг. ред. Лаврова Н.А. — СПб.: ЦОГ “Профессия“, 2011. — С.121-122.
18. Oligoperoxide based pegylated surfactants as carriers for nanoscale drug delivery systems / **A. Riabtseva**, N. Mitina, J. Senkiv, N. Boyko, R. Panchuk, R. Stoika, R. Lesyk, A. Zaichenko // Збірник тез доповідей. POLYCHAR 20 World Forum on Advanced Mater. - 26-30 березня, 2012 р. – Дубровнік, Хорватія. - С.133 -134.
19. Носії ліків та нуклеїнових кислот з альтернативними поліетиленгліколевіми та поліелектролітними ланцюгами / **А.О. Рябцева**, Н.Є. Мітіна, А.Р. Кузьмін, О.С. Заіченко //

- Збірник тез доповідей III міжнародної науково-практичної конференції “Сучасні проблеми біології, екології та хімії” - 11-13 травня 2012 р. - Запоріжжя, Україна. - С.334 -335.
20. Нові термочутливі ПЕГ-вмісні гребенеподібні олігомерні носії та системи доставки лікарських засобів / **А. Рябцева**, Н. Мітіна, Ю. Сеньків, Н. Бойко, О. Заїченко // Збірник тез доповідей VI науково-технічної конференції “Поступ в нафтогазопереробній та нафтохімічній промисловості” - 25-28 квітня 2012 р. - Львів, Україна. - С. 246
 21. Enhancement of Bioactivity of Anticancer Drugs by Their Delivery with Functionalized Polymeric Nanosized Composites / R. Stoika, N. Boiko, Yu. Senkiv, Ye. Shlyakhtina, R. Panchuk, L. Lehka, R. Bilyy, Yu. Kit, **A. Ryabceva**, N. Mitina, O. Zaichenko, P. Heffeter, W. Berger, T. Shagotova, D. Horak. // Збірник тез доповідей 4-ого Німецько-Українського симпозиуму “Physics and Chemistry of Nanostructures and Nanobiotechnology”. - 18-20 вересня 2012 р., Ільменау, Німеччина. – С. 12-13

АНОТАЦІЯ

Рябцева А.О. Синтез полімерних носіїв ліків з поліетиленгліколевыми та поліелектролітними бічними ланцюгами на основі епоксидовмісних поліпероксидів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук. – Національний університет “Львівська політехніка” Міністерства освіти і науки України, Львів, 2013.

Дисертаційна робота присвячена створенню нових поверхнево-активних полімерних носіїв ліків. Запропоновано та досліджено нову стратегію синтезу функціональних полімерів з бічними ПЕГ та поліелектролітними ланцюгами катіонної і аніонної природи шляхом послідовних реакцій радикальної полімеризації, полімераналогічних перетворень за участю епоксидних та пероксидних фрагментів полімерів різного функціонального складу і мікроструктури. Встановлено основні закономірності полімераналогічних перетворень за участю епоксидних фрагментів у складі поліпероксидів та монометилового етеру ПЕГ. Досліджено кінетичні закономірності розкладу пероксидних груп у складі ПЕГ-вмісних гребенеподібних полімерів в діоксані і встановлено, що енергія активації розкладу пероксидних груп в них є значно нижчою за енергію активації розкладу пероксидних груп їх аналогів без ПЕГ фрагментів. Встановлена концентраційна залежність кінетичних параметрів полімеризації, ініційованої ПЕГ-вмісними поліпероксидами, внаслідок утворення ними клубків - клітин та перебігу в них елементарних стадій полімеризації. Отримано та досліджено нові водорозчинні поверхнево-активні гребенеподібні полімери з ПЕГ та поліелектролітними бічними ланцюгами. Показано можливості зв'язування за різними механізмами протипухлинних ліків з носіями та утворення ними нано- та мікророзмірних водних систем доставки. Нові міцелярні носії і системи доставки ліків є малотоксичними, забезпечують пришвидшення доставки ліків в пухлинні клітини, зниження необхідної терапевтичної дози та подолання набутої резистентності клітин до ліків.

Ключові слова: гребенеподібні ПЕГ-вмісні та поліелектролітні носії, радикальна полімеризація, полімераналогічні перетворення, міцелярні системи доставки, протипухлинні препарати

АННОТАЦИЯ

Рябцева А.А. Синтез полимерных носителей лекарств с полиэтиленгликолевыми и полиэлектролитными боковыми цепями на основе эпоксисодержащих полипероксидов. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.06 – химия высокомолекулярных соединений. – Национальный университет “Львовская политехника” Министерства образования и науки Украины, Львов, 2013.

Диссертационная работа посвящена синтезу новых поверхностно-активных полимерных носителей лекарственных препаратов. Предложена и исследована новая стратегия синтеза функциональных полимеров с боковыми ПЭГ и полиэлектролитными цепями катионной и анионной природы путем последовательных реакций радикальной полимеризации, полимераналогичных превращений с участием эпоксидных и пероксидных фрагментов полимеров различного функционального состава и микроструктуры. Установлены основные закономерности полимераналогичных превращений с участием эпоксидных фрагментов в составе полипероксидов и монометилового эфира ПЭГ. Исследованы кинетические закономерности распада пероксидных групп в составе ПЭГ-содержащих гребнеобразных полимеров в диоксане и установлено, что энергия активации распада пероксидных групп в них значительно ниже энергии активации распада пероксидных групп их аналогов без ПЭГ фрагментов. Установлена концентрационная зависимость кинетических параметров полимеризации, инициированной ПЭГ-содержащими полипероксидами, вследствие образования ими клубков - клеток и протекания в них элементарных стадий полимеризации. Получены и исследованы новые водорастворимые поверхностно-активные гребнеобразные полимеры с ПЭГ и полиэлектролитными боковыми цепями. Показаны возможности связывания по различным механизмам противоопухолевых веществ с носителями и образование ими нано- и микроразмерных водных систем доставки. Новые мицеллярные носители и системы доставки лекарственных препаратов являются малотоксичными, обеспечивают ускорение доставки лекарств в опухолевые клетки, снижение необходимой терапевтической дозы и преодоление приобретенной резистентности клеток к лекарствам.

Ключевые слова: гребнеобразные ПЭГ-содержащие и полиэлектролитные носители, радикальная полимеризация, полимераналогичные превращения, мицеллярные системы доставки, противоопухолевые препараты

SUMMARY

Riabtseva A.O. Synthesis of polymeric carriers with polyethylene glycolic and polyelectrolyte grafted chains based on epoxy-containing polyperoxides. – Manuscript.

Thesis of a candidate's degree in chemical sciences by the specialty 02.00.06 – Macromolecular Chemistry. Lviv Polytechnic National University of Ministry of Education and Science of Ukraine, Lviv, 2013.

The thesis is devoted to the tailored synthesis and study of the properties of novel surface-active polymeric drug carriers combining side PEG and polyelectrolyte chains as well as to the development of derived waterborne delivery systems. The strategy of the

synthesis of PEG and polyelectrolyte based carriers via consequent reactions of radical polymerization, polymer-analogous transformations involving epoxy and peroxide fragments of epoxide-containing polyperoxides of various composition and microstructure were proposed and studied. The kinetic regularities of copolymerization of unsaturated peroxide 5-*tert*-butylperoxy-5-methyl-1-hexene-3-yne (VEP) with glycidyl methacrylate, N-isopropylacrylamide and N-vinylpyrrolidone in binary and ternary systems were studied, as well as monomer reactivity ratio and copolymers microstructures were determined. The main peculiarities of the interaction of PEG monomethyl ether with epoxy fragments of epoxide-containing polyperoxides were established. The dependences of the degree of PEG chain attachment on polyperoxide microstructure and PEG chain length explained by “neighbor effect” were observed. There was shown the dependence of PEG grafting degree on the length of GMA link blocks. Kinetic study of the decomposition of peroxide groups of PEGylated comb-like polyperoxide revealed the absence of VEP link induced decomposition as well as the sharp decrease of activation energy of the reaction in comparison with the decomposition of peroxide containing fragments of initial polyperoxide without PEG fragments in the same conditions. The dependences of kinetic parameters of polymerization initiated by PEGylated polyperoxides on their concentration were studied. Unexpected peculiarities of the polymerization, noticeable decrease of effectiveness of initiation and order by initiator are explained by the course of elementary stages in spatially confined zones formed by macromolecules in the solution at definite concentration. Novel water-soluble comb-like polymer surfactants combining PEG and polyelectrolyte chains of cationic and anionic type were synthesized. Their molecular weight characteristics, functionality, surface activity were studied using SEC and GPC techniques, FT-IR, NMR spectroscopy and elementary analysis. The binding anticancer drugs, doxorubicin and Ru⁽⁺³⁾ complex, using PEGylated and polyelectrolyte based carriers via distinct mechanisms or their combination was studied using luminescent, RAMAN, UV-spectroscopy, and surface tension measurement. Stable nano- and microscale water based drug delivery systems containing micelle-like structures loaded with drugs were developed and studied by TEM, SEM and DLS methods. The testing developed PEG and polyelectrolyte containing comb-like polymeric carriers and derived drug delivery systems *in vitro* and *in vivo* stationed that they are nontoxic, provide the acceleration of drug delivery to tumor cells, reduce the required therapeutic dose and overcome acquired resistance of cells to drugs.

Keywords: comb-like PEG-containing and polyelectrolyte carriers, radical polymerization, polymer-analogous transformations, micellar drug delivery systems, anticancer drugs