



УДК 678.664:577.164.1:615.262

© 2011

О. С. Андришина, Т. Є. Закашун, І. Б. Демченко, Р. А. Рожнова

Дослідження динаміки вивільнення фолієвої кислоти з фолатвмісних поліуретансечовин

(Представлено академіком НАН України Є. В. Лебедєвим)

Досліджено динаміку вивільнення фолієвої кислоти (ФК) з полімерної лікарської форми на основі макродізоціанату, діамінів (ДА) різної хімічної будови та ФК при різних мольних співвідношеннях ДА : ФК відповідно 1 : 1, 3 : 1. Високий вихід фолієвої кислоти з усіх полімерних зразків дає змогу використовувати ці матеріали як імплантати з місцевою лікувальною дією.

Створення для лікування ран та опіків нових біологічно активних плівкових покриттів, здатних стимулювати процеси загоєння, є дуже перспективним напрямом, що привертає увагу дослідників в області хімії і медицини [1, 2]. Фолієва кислота (ФК, N-птероіл-L-глутамінова кислота) приваблива як речовина, що у складі полімерного носія буде сприяти стимулюванню процесів регенерації. Ця лікарська речовина (ЛР) проявляє свою біологічну активність за рахунок наявності птеридинового циклу шляхом приєднання атомів водню до атомів вуглецю й азоту в положеннях С-6, С-7 й N-5, N-8 з утворенням тетрагідрофолієвої кислоти, яка виконує біохімічну функцію коферменту в міжмолекулярному транспорті одновуглецевих груп різного ступеня окиснення [3], що є дуже важливим для подальшого синтезу нуклеїнових кислот (РНК й ДНК).

Відомі [4] шляхи надання біологічної активності полімерам за рахунок хімічних та фізичних взаємодій лікарської речовини з полімерною матрицею. На вивільнення ЛР з плівкових покриттів впливають фізико-хімічні властивості, хімічна природа полімеру та ЛР [5]. Тому виявляється доцільним вивчення динаміки вивільнення ФК з поліуретансечовин (ПУС) та дослідження впливу хімічної будови полімерного носія на перебіг цього процесу.

Раніше було синтезовано ряди ПУС на основі макродізоціанату (МДІ), діамінів (ДА) (1,6-гексаметилендіаміну (ГМДА), 4,4'-діамінодифенілметану (ДАДФ)) та фолієвої кислоти при різних мольних співвідношеннях ДА : ФК як 1 : 1 й 3 : 1 відповідно [6]. На першій стадії синтезу було отримано МДІ на основі поліоксипропіленгликолю та 2,4;2,6-толуїлендізоціанату (80 : 20, $NCO_{\text{вільн}} = 6,0\%$). На другій — проведено реакцію між вільними ізоціанатними групами МДІ та амініними групами ДА у середовищі N,N'-диметилацетаміду (ДМАА).

Імобілізацію фолієвої кислоти здійснювали таким чином: окремо готували розчин ФК у ДМАА. Для того щоб заблокувати кислотні групи ФК, додавали триетиламін (ТЕА) при мольному співвідношенні ФК : ТЕА = 1 : 2. Потім розчин ФК вводили до реакційної маси ($\tau = 1$ год). Хід реакції контролювали методом ІЧ спектроскопії ($\nu_{\text{NCO}} = 2250 \text{ см}^{-1}$). Розчини полімерів виливали на тефлонові підкладки та сушили при $(70 \pm 5)^\circ\text{C}$ до постійної маси. Полімери отримували у вигляді жовтих прозорих плівок.

Зазвичай динаміку вивільнення водорозчинних лікарських препаратів із полімерних носіїв вивчають з використанням методик, де за модельне середовище вивільнення використовували дистильовану воду або фізіологічний розчин [7]. Дослідження цього процесу в умовах *in vitro* неможливе у зв'язку з його нерозчинністю у воді [8], оскільки вивільнення ФК з полімерної матриці при імплантації відбувається під впливом внутрішнього середовища організму, та з підключенням складних ферментативних систем.

Враховуючи зазначене вище, кількість ФК, що може вийти з синтезованих ПУС, вивчали шляхом спектрофотометричного визначення ФК у ПУС після їх імплантації експериментальним тваринам. Кількість препарату, що вийшов в оточуюче імплантат середовище, розраховували за різницею між відомою кількістю ФК, введеної у полімер до імплантації, та її кількістю після імплантації, знайденої за калібрувальним графіком.

Об'єкти дослідження — зразки на основі ПУС з іммобілізованою ФК: МДІ-ФК, МДІ-ГМДА-ФК (ГМДА : ФК = 1 : 1), МДІ-ДАДФ-ФК (ДАДФ : ФК = 1 : 1), МДІ-3 ГМДА-ФК (ГМДА : ФК = 3 : 1), МДІ-3 ДАДФ-ФК (ДАДФ : ФК = 3 : 1) (*дослідні*) (табл. 1; рис. 1) та зразки МДІ-ГМДА, МДІ-ДАДФ (*контрольні*).

Зразки ПУС субкутально імплантували експериментальним тваринам (білим щурам-самцям масою 150–200 г) на термін 3, 7, 14 і 30 діб. Після зазначених термінів тварин виводили з експерименту після передозування їх сірчаним ефіром, зразки виймали, промивали дистильованою водою та висушували до постійної маси, розчиняли в 10 см^3 пе-

Таблиця 1. Динаміка вивільнення фолієвої кислоти із зразків досліджуваних поліуретансечовин

Дослідні зразки	$t_{\text{вих}}$, доба	Оптична густина	Концентрація ФК, мг/мл	Кількість вивільненої ЛР, %
МДІ-ФК	3	$0,329 \pm 0,006$	0,0143	38,1
	7	$0,310 \pm 0,016$	0,0136	41,0
	14	$0,230 \pm 0,012$	0,0099	56,9
	30	$0,124 \pm 0,002$	0,0054	76,8
МДІ-ГМДА-ФК	3	$0,092 \pm 0,007$	0,0037	73,3
	7	$0,084 \pm 0,004$	0,0035	74,8
	14	$0,065 \pm 0,009$	0,0028	79,9
	30	$0,037 \pm 0,008$	0,0016	88,3
МДІ-ДАДФ-ФК	3	$0,245 \pm 0,005$	0,0170	11,7
	7	$0,217 \pm 0,017$	0,0095	47,4
	14	$0,190 \pm 0,005$	0,0083	56,4
	30	$0,124 \pm 0,006$	0,0055	69,5
МДІ-3 ГМДА-ФК	3	$0,312 \pm 0,012$	0,0137	22,0
	7	$0,207 \pm 0,017$	0,0093	50,0
	14	$0,166 \pm 0,004$	0,0074	60,1
	30	$0,150 \pm 0,005$	0,0064	63,0
МДІ-3 ДАДФ-ФК	3	$0,202 \pm 0,001$	0,0087	5,0
	7	$0,186 \pm 0,004$	0,0079	12,1
	14	$0,156 \pm 0,002$	0,0070	23,4
	30	$0,135 \pm 0,005$	0,0063	34,8

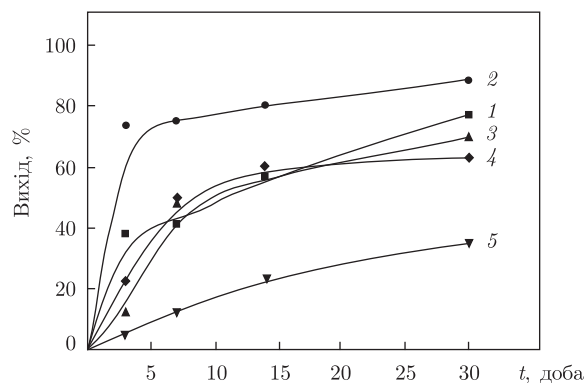


Рис. 1. Динаміка сумарного виходу ФК із зразків, %: 1 — МДІ-ФК; 2 — МДІ-ГМДА-ФК (ГМДА : ФК = 1 : 1); 3 — МДІ-ДАДФ-ФК (ДАДФ : ФК = 1 : 1); 4 — МДІ-3 ГМДА-ФК (ГМДА : ФК = 3 : 1); 5 — МДІ-3 ДАДФ-ФК (ДАДФ : ФК = 3 : 1)

регнаного ДМАА. Отриманий розчин ФК у ДМАА розбавляли в 100 разів. Кількість ФК, що залишилась у плівці після імплантації, визначали за калібрувальним графіком. Спектри поглинання цих розчинів реєстрували на спектрофотометрі СФ-46 у кюветах з товщиною шару 10 мм, розчином для порівняння слугував ДМАА.

Для перевірки виконання закону Бера та побудови калібрувального графіка залежності оптичної густини від концентрації провели аналіз серії розчинів ФК у ДМАА. УФ-спектр ФК має інтенсивний максимум поглинання при довжині хвилі $\lambda = 360$ нм. Залежність оптичної густини в максимумі смуги від концентрації розчинів ФК є прямою лінією, яка проходить через початок координат. Отже, нами підтверджено висновок закону Бера для даної сполуки в інтервалі робочих концентрацій.

Результати проведених дослідів демонструє табл. 1, з якої видно, що для зразків усіх досліджуваних ПУС характерне поступове вивільнення ФК. Сумарна кількість вивільненої ЛР із зразків ПУС в організм експериментальних тварин становить 34,8–88,3% загальної кількості іммобілізованого препарату.

Найбільш інтенсивно ФК вивільняється зі зразків ПУС на всіх термінах перебування *in vivo*, де як подовжувач макроланцюга був використаний ГМДА, що пояснюється більш гнучкими сегментами макромолекули. У випадку зразків ПУС, де подовжувачем макроланцюга є ДАДФ, інтенсивному вивільненню ФК перешкоджають жорсткі сегменти ароматичних кілець ДА.

Треба зазначити, що більш повне вивільнення ФК спостерігається для ПУС складу МДІ-ГМДА-ФК (ГМДА : ФК = 1 : 1), яке впродовж 30 днів становить 88,3%, що пов'язане з більшою масовою кількістю ФК (23%) у складі полімеру в порівнянні з ПУС складу МДІ-3 ГМДА-ФК (ГМДА : ФК = 3 : 1), де масова кількість ФК становить 13%. Ця тенденція залишається і для ПУС, в яких як подовжувач макроланцюга виступає ДАДФ. Для ПУС складу МДІ-ДАДФ-ФК (ДАДФ : ФК = 1 : 1) вивільнення ФК впродовж 30 днів становить 69,5%, тоді як для ПУС складу МДІ-3 ДАДФ-ФК (ДАДФ : ФК = 3 : 1) — 34,8%. Отриманий результат може бути пояснений способом іммобілізації ФК, її кількістю.

Фолієва кислота хімічно іммобілізована на поліуретановому носії шляхом утворення сечовинних зв'язків при взаємодії вільних NCO-груп ПУС та NH₂-груп ФК [9]. Треба зазначити, що достатня її кількість іммобілізована за допомогою водневих зв'язків, які під дією середовища організму руйнуються більш легко. Це пояснює закономірність більш пов-

ного вивільнення ФК з ПУС, в яких мольне співвідношення ДА до ФК становить 1 : 1 (МДІ-ГМДА-ФК, МДІ-ДАДФ-ФК).

Таким чином, у результаті дослідження встановлено, що на повноту динаміки вивільнення ФК впливають способи іммобілізації (переважна кількість ковалентних або водневих уретансечовинних зв'язків) та хімічна будова ПУС. Отримані результати свідчать про можливість регулювання виходу ФК з ПУС шляхом варіювання мольного співвідношення ДА до іммобілізованої лікарської речовини.

1. Мышкина Л. А., Петухова Т. В., Левина О. И. Ранозаживляющие покрытия на основе хитозан-коллагенового комплекса // 1-й Рос. нац. конгр. "Человек и лекарство", 14-18 апр. 1992. – Москва: Просвещение, 1992. – С. 220. – <http://www.benran.ru/index.html>.
2. Кивман Г. Я., Левчук Т. Р., Рабинович Э. Э. Гидроколлоиды на основе природных полисахаридов – препараты нового поколения для лечения ран и ожогов // 1-й Рос. нац. конгр. "Человек и лекарство", 14-18 апр. 1992. – Москва: Просвещение, 1992. – С. 270. – <http://www.benran.ru/index.html>.
3. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ; Вінниця: Нова книга, 2009. – 664 с.
4. Полимеры в фармации / Под ред. А. И. Тенцовой, М. Т. Алюшина. – Москва: Медицина, 1985. – 256 с.
5. Мазур Л. М., Рожнова Р. А., Галатенко Н. А., Нечаева Л. Ю. Вивчення динаміки вивільнення протизапального препарату амізону з полімерної лікарської форми на основі гідрофільного блок-кополіуретану, який містить кополімер N-вінілпіролідону з вініловим спиртом // Доп. НАН України. – 2007. – № 5. – С. 141-147.
6. Андрушина О. С., Асмолова А. М., Рожнова Р. А., Галатенко Н. А. Біологічно активні поліуретансечовини з фоліевою кислотою: Матеріали III Міжнар. конф. "Актуальні проблеми біомедичної інженерії, інформатики, кібернетики і телемедицини", 12-13 берез. 2010 р., м. Київ. – Київ: НТУ України "Київський політехнічний інститут", 2010. – С. 12-15.
7. Patil S. D., Paradmitrakopoulos F., Burgess D. J. Concurrent delivery of dexamethasone and VEGF for localized inflammation control and angiogenesis // Controlled release. – 2007. – **117**. – P. 68-79.
8. Коренман И. М. Экстракция в анализе органических веществ. – Москва: Химия, 1997. – С. 177-181.
9. Андрушина О. С., Галатенко Н. А., Рожнова Р. А., Кисельова Т. О. Розробка шляхів хімічної модифікації поліуретанів фоліевою кислотою // Доп. НАН України. – 2010. – № 1. – С. 138-142.

Інститут хімії високомолекулярних сполук
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 01.02.2011

O. S. Andryushina, T. E. Zakashun, I. B. Demchenko, R. A. Rozhnova

Studying the dynamic release of folic acid from folate-containing polyurethane ureas

The dynamic release of folic acid (FA) from a polymeric medical form on the basis of macrodiisocyanate, diamines (DA) of different chemical structures, and FA after different molar correlations of DA : FA as 1 : 1 and 3 : 1, accordingly, has been investigated. The high release of folic acid from all polymeric samples enables one to use these materials as implants with local medicinal action.