



<https://doi.org/10.15407/polymerj.42.02.125>
УДК 678.664:615.4

І.І. ГЛАДИР,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
ORCID: 0000-0002-6248-2709

Г.А. КОЗЛОВА,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
ORCID: 0000-0001-8114-4812

Л.Ф. НАРАЖАЙКО,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
ORCID: 0000-0001-7031-9998

Н.А. ГАЛАТЕНКО,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
e-mail: politoks@merlin.net.ua
ORCID: 0000-0002-5961-5750

РОЗРОБКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІМЕРНИХ КОМПОЗИЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ МЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ З ІФОСФАМІДОМ НА ОСНОВІ ПОЛІУРЕТАНІВ З ІЗОЦІАНУРАТНИМИ ФРАГМЕНТАМИ

Синтезовано поліуретан з ізоціануратними фрагментами (ПУ) на основі поліоксипропіленгліколю (ПОПГ 1000), ТДІ (2,4:2,6:толуїлендіізоціанату) та 2,4,6-триізоціанат(трисгексаметилен)ізоціанурату (ІЦК, Tolonate™ HDT-LV, ММ 1200) за співвідношення $\text{NCO:OH}=1:1$ у середовищі N,N' -диметилацетаміду (ДМАА). Міцність при розриві (σ) синтезованого ПУ становила $2,6 \pm 0,2$ МПа; відносне подовження при розриві (ϵ) – $58,0 \pm 5,5$ %. Проведено іммобілізацію Іфосфаміду (ІФО) на ізоціануратвмісному поліуретані шляхом введення розчину ІФО у ДМАА в реакційну суміш з розрахунку 1 мг ІФО на 1 cm^2 плівки ПУ. Синтезований полімер (ПУ+ІФО) характеризується $\sigma = 3,4 \pm 0,3$ МПа; $\epsilon = 53,0 \pm 6,6$ %. Встановлено, що модифікація ПУ, синтезованого за мольного співвідношення ПОПГ:ІЦК=3:2, Іфосфамідом не приводить до істотних змін фізико-механічних характеристик. За даними ІЧ-спектроскопії ІФО іммобілізовано на полімерній матриці за рахунок міжмолекулярних водневих взаємодій. Досліджено здатність до біодеградації ізоціануратвмісних поліуретанових композицій з ІФО за змінами структури та властивостей під впливом біологічного середовища 199 (БС 199) протягом 1-го та 6-ти місяців. Встановлено, що після інкубації у БС 199, зразки ПУ та ПУ+ІФО не зазнають значних змін структури. Біодеградація зразків ПУ+ІФО після 6-ти місяців інкубації супроводжується незначним збільшенням мікросегрегації гнучких (поліефірних) і жорстких (уретанових, ізоціануратних) блоків, що посилює рухливість гнучкого блока, відповідно до збільшення кількості водневих зв'язків і, як наслідок, зростання температури склування. Дослідження методом культури тканин цитотоксичності ізоціануратвмісних поліуретанів з ІФО дає змогу зробити висновок про відсутність гістотоксичного впливу ІФО в складі ПУ на ріст і розвиток культури тканин. Згідно з експрес методом токсикологічної оцінки, розроблені композиційні матеріали з ІФО біосумісні.

Ключові слова: поліуретани (ПУ), ізоціанурати, Іфосфамід (ІФО), біодеградація, біосумісність.

Цитування: Гладир І.І., Козлова Г.А., Наражайко Л.Ф., Галатенко Н.А. Розробка та дослідження полімерних композиційних матеріалів медичного призначення з іфосфамідом на основі поліуретанів з ізоціануратними фрагментами. *Полімерний журнал*. 2020. № 2. С. 125—135. <https://doi.org/10.15407/polymerj.42.02.125>

Вступ

Лікування раку молочної залози – важлива проблема науки і медицини. Як один із можливих шляхів її вирішення було запропоновано створення нових полімерних імплантаційних матеріалів з місцевим пролонгованим вивільненням лікарських препаратів з протипухлинною і цитостатичною дією, оскільки для лікування раку широко використовуються такі протипухлинні препарати як доксорубіцин і вінкристин [1, 2], зокрема і для іммобілізації на полімерних носіях.

Відомі полімерні матеріали з іммобілізованим вінкристином [3], епоксиполіуретанові конструкції з доксорубіцином [4] як полімерні матеріали з протипухлинною та цитостатичною дією. Як полімерні матриці для отримання полімерних імплантаційних матеріалів такого типу варті уваги поліуретани (ПУ) з ізоціануратними фрагментами [5, 6].

Відомі композиційні біологічно активні полімерні матеріали з пролонгованим вивільненням доксорубіцину синтезовані на основі олігооксипропіленгліколю (ООПГ, ММ = 1002), та ізоціанатів — толуїлендіізоціанату (ТДІ 80/20) та 2,4,6-триізоціанат(трисгексаметилен)ізоціанурату та дигідрозиду адипінової кислоти за варіювання вмісту ізоціанатних складових при синтезі полімерної матриці [7, 8]. За варіювання вмісту ізоціанатних складових при синтезі полімерної матриці, зокрема толуїлендіізоціанату (ТДІ) та 2,4,6-триізоціанат (трисгексаметилен)ізоціанурату, було отримано нові полімерні матеріали з різною структурою та властивостями, наповнені доксорубіцином [9].

Іфосфамід ((RS)-N-Біс(2-хлоретил)-1,3,2-оксазафосфінан-2-амін-2-оксид), діюча речовина препарату з торговою назвою Холоксан[®], застосовується при лікуванні неоперабельних злоякісних пухлин, таких як рак легень, яєчників, молочної залози, рак шийки матки, саркоми м'яких тканин. Іфосфамід – це цитостатична речовина з групи оксазафосфоринів, синтетичний аналог циклофосфаміду. Цитостатичний ефект Іфосфаміду є наслідком взаємодії між його алкілюючими метаболітами і ДНК. Відомо, що пухлини, які можуть бути резистентними до циклофосфаміду чи рецидивувати після лікування циклофосфамідом, часто відповідають на лікування Іфосфамідом [10].

Актуальним залишається розробка нових біологічно активних полімерних імплантаційних матеріалів з місцевою протипухлинною та цитостатичною дією шляхом структурної модифікації ПУ з ізоціануратними фрагментами лікарським препаратом Іфосфамідом.

Одним з етапів при розробці полімерних матеріалів медичного призначення, зокрема поліуретанів, є дослідження здатності до біодеградації [11].

Дослідження цього процесу важливе при створенні біологічно активних полімерних матеріалів, призначених для використання як імплантаційного матеріалу. При розробці такого полімерного матеріалу необхідне дослідження його структури та властивостей після перебування в модельних середовищах [12, 13], гістотоксичності методом культури тканин як експрес методу токсикологічного оцінювання [14, 15]. За отриманими результатами досліджень можна дійти висновку щодо можливого подальшого впровадження розроблених матеріалів.

Отже, метою роботи була розробка поліуретанових плівкотвірних матеріалів з ізоціануратними фрагментами як носіїв лікарських речовин та отримання на їх основі композиційних матеріалів з протипухлинним препаратом Іфосфамідом для подальшого використання як імплантаційних матеріалів, дослідження їхньої структури та властивостей за умов *in vitro*.

Експериментальна частина

Матеріали.

Іфосфамід (фарм., Холоксан[®] Baxter) був використаний без додаткового очищення.

Поліоксипропіленгліколь (ПОПГ) (Rokopol M 1000) для синтезу поліуретану було отримано від PPC Rokita SA (Poland). ПОПГ сушили за залишкового тиску 3 мм рт. ст. за температури 80±5 °С у потоці сухого аргону протягом 8 год. безпосередньо перед синтезом.

2,4:2,6-толуїлендіізоціанат (ТДІ, 86,7 %) було використано для синтезу поліуретану (Merck, суміш 2,4-;2,6-ізомерів за співвідношення 80/20 % мас.).

2,4,6-триізоціанат(трисгексаметилен)ізоціанурат (Tolonate™ HDT-LV) з ММ 1200 використовували без додаткового очищення.

N,N'-диметилацетамід, (ДМАА, Merck, 99,8 %)

застосовували без додаткового очищення.

Всі інші хімічні реактиви та розчинники, використані в роботі, були аналітично чистими.

Для дослідження біодеградації отриманих ПУ було використано біологічне середовище 199 (Pharmacia Ltd., Київ, Ukraine).

Метод інкубації в біологічному середовищі 199.

Зразки ПУ у вигляді смужок розміром 0,5 x 5,0 см поміщали в стерильні бюкси, заливали 25 мл модельного БС 199 і витримували в термостаті за температури 37 ± 1 °C протягом 1, 3 і 6 міс. Розчини модельного середовища змінювали щоденно. БС 199 являє собою складну суміш білків, амінокислот, вуглеводів, жирів, солей, гормонів, ферментів і розчинних газів (рН = 7,4). Після визначених термінів перебування у модельному середовищі зразки виймали, промивали дистильованою водою та сушили до постійної маси за температури 70 °C.

Методи дослідження

ІЧ-спектроскопічні дослідження (ATR FT-IR).

ІЧ-спектри поглинання були зняті на ІЧ-спектрометрі з Фур'є-перетворенням „Tensor-37” фірми «Bruker» методом порушеного повного внутрішнього відображення в області 600–4000 cm^{-1} , з використанням призми-трапеції кристалу алмаза (число відображень $N = 1$, кут падіння $\varphi = 39^\circ$). Віднесення смуг поглинання зроблено відповідно до [16, 17].

Диференціальна сканувальна калориметрія (ДСК).

Теплофізичні властивості синтезованих ПУ з Іфосфамідом вивчали методом диференціальної сканувальної калориметрії (ДСК) за допомогою приладу Q2000 (TA Instruments, США) в атмосфері повітря за температури від -90 до +200 °C, за швидкості нагрівання 20 °C/хв. З метою нівелювання впливу умов синтезу зразків прогрівання здійснювали 2 рази. Термограми досліджуваних зразків наведені на рис. 1, 2.

Термагравіметричний аналіз (ТГА).

Дослідження методом ТГА проводили у діапазоні температур від кімнатної до +700 °C (прилад TA Instrument Q50), за швидкості нагрівання 20 °C/хв, в атмосфері повітря.

Фізико-механічні випробування.

Міцність при розриві (σ , МПа) та відносне подовження при розриві (ϵ , %) синтезованих

ПУ визначали за ISO 527-3 на модернізованій машині 2166 P-5 зі швидкістю розширення захватів 50 ± 5 мм/хв. і швидкістю фіксації результатів 0,01 с.

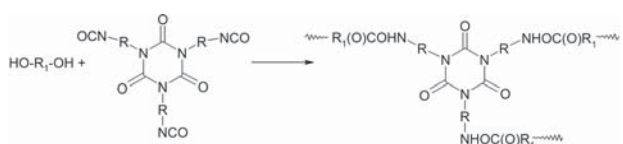
Метод культури тканин.

Випробування щодо вивчення біосумісності зразків ізоціануратвмісних поліуретанів з іммобілізованим Іфосфамідом виконували відповідно до вимог гармонізованого стандарту ДСТУ EN ISO 10993-5:2015 з використанням методу клітинної культури, який є модельною тест-системою у токсикологічному експерименті. Як джерело клітин використовували підшкірну клітковину білих лабораторних щурів, що за умов культивування викликає ріст фібробластичних і фібробластоподібних елементів.

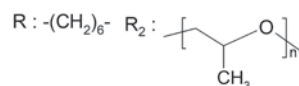
Результати дослідження та їх обговорення

Синтез ПУ на основі ПОПГ (ММ 1000) й ІЦК за співвідношення $\text{NCO}:\text{OH} = 1:1$.

Було синтезовано ряд поліуретанів з ізоціануратними фрагментами на основі поліоксипропіленгліколю (ПОПГ) з молекулярною масою 1000 та 2,4,6-триізоціанат(тригексаметилен)ізоціанурату (Tolonate™ HDT-LV) (ІЦК) з ММ 1200 за за мольного співвідношення $\text{NCO}:\text{OH} = 1:1$ в середовищі $\text{N,N}'$ -диметилацетаміду (ДМАА) за загальною схемою:



де:



В тригорлий реактор, обладнаний мішалкою та відводом для подачі аргону, помістили 8,7 г (0,0087 моль) ПОПГ з ММ 1000, при перемішуванні додали 7 г (0,0058 моль) ІЦК за кімнатної температури. За 10 хв. додали 0,0031 г (0,02 % від маси полімеру) каталізатора ферум ацетилацетонату, попередньо розчиненого у 2 мл диметилацетаміду. Реакцію проводили за температури 65–70 °C при постійному

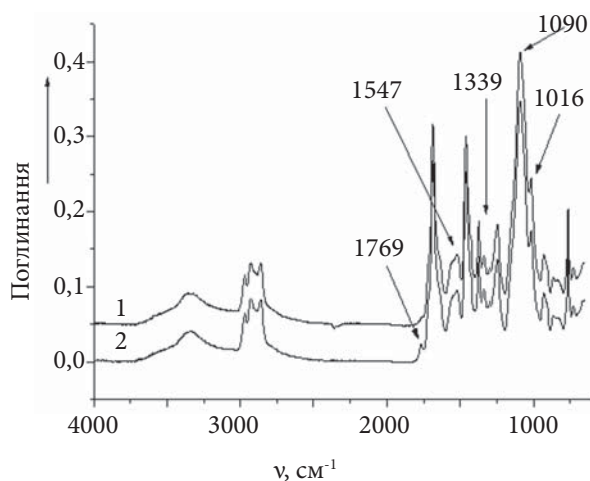


Рис. 1. Фрагменти ІЧ-спектрів ПУ+ІФО після інкубації у БС 199 протягом: 6 (1) і 1 міс. (2)

перемішуванні протягом 4,5 годин. Хід реакції контролювали методом ІЧ-спектроскопії за зміною інтенсивності профілю смуги валентних коливань ν_{NCO} груп за 2275 cm^{-1} (рис. 1) до досягнення 45–50 % конверсії вільних NCO-груп. Розчин полімеру вакуумували, поміщали у тефлонові форми і витримували у сушильній шафі за температури $50\text{--}55 \text{ }^\circ\text{C}$ протягом 7 діб до повної конверсії вільних NCO-груп.

Синтезований полімерний матеріал представляє собою прозору плівку жовтого кольору з фізико-механічними характеристиками: $\sigma = 2,6 \pm 0,2 \text{ МПа}$; $\epsilon = 58,0 \pm 5,5 \%$.

Синтез ПУ на основі ПОПГ (ММ 1000) й ІЦК за співвідношення NCO:OH = 1:1 та Іфосфаміду.

У тригорлий реактор, обладнаний мішалкою та відводом для подачі аргону, помістили 8,7 г (0,0087 моль) ПОПГ з ММ 1000, при перемішуванні додали 7 г (0,0058 моль) ІЦК за кімнатної температури. За 10 хв. додавали 0,0031 г (0,02 % від маси полімеру) каталізатора ферум ацетилацетанату, попередньо розчиненого у 2 мл ДМАА. Реакцію проводили за температури $65\text{--}70 \text{ }^\circ\text{C}$ при постійному перемішуванні протягом 4,5 год. Хід реакції контролювали методом ІЧ-спектроскопії за зміною інтенсивності профілю смуги валентних коливань ν_{NCO} груп за 2275 cm^{-1} до досягнення 45–50 % конверсії вільних NCO-груп.

Імобілізацію Іфосфаміду на поліуретановому носії здійснювали безпосередньо під час синтезу поліуретану шляхом додавання розчину 0,191 г Іфосфаміду (у розрахунку 1 мг Іфосфаміду на 1 cm^2 плівки) у 5 мл ДМАА і

перемішування протягом 15 хв. Розчин полімеру вакуумували, поміщали у тефлонові форми і витримували у сушильній шафі за температури $30 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ протягом 7 діб до повної конверсії вільних NCO-груп.

Синтезований полімерний матеріал представляє собою прозору плівку жовтого кольору з фізико-механічними характеристиками: $\sigma = 3,4 \pm 0,3 \text{ МПа}$; $\epsilon = 53,0 \pm 6,6 \%$.

Отримані полімерні плівки були досліджені методом ІЧ-спектроскопії. ІЧ-спектри були зняті на ІЧ-спектрометрі з Фур'є перетворенням „Tensor-37” фірми «Bruker» методом порушеного повного внутрішнього відображення (ППВВ) в області $600\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$ з використанням призми-трапеції кристала алмазу (число відображень $N = 1$, кут падіння $\phi = 39^\circ$). Віднесення смуг поглинання зроблено відповідно до [8, 9].

На рис. 1 наведено ІЧ-спектри ПУ, синтезованого на основі ПОПГ та ІЦК, і ПУ з іммобілізованим Іфосфамідом (ПУ+ІФО).

На ІЧ-спектрі зразка ПУ, отриманого на основі ПОПГ та ІЦК (рис. 3) наявні смуги $\nu_{\text{C=O}}$ за 1723 cm^{-1} , деформаційних коливань δ_{NH} за 1530 cm^{-1} і $\delta_{\text{C-O-C}}$ за 1241 cm^{-1} уретанового фрагмента. На спектрах наявні смуги валентних коливань NH-груп, які відповідають за валентні коливання зв'язаних (3345 cm^{-1}) та вільних NH-груп (3540 cm^{-1}). На ІЧ-спектрі зразка ПУ+ІФО істотних змін у порівнянні з ПУ не спостерігали. Зросла інтенсивність смуг поглинання, які відповідають за валентні коливання вільних (3545 cm^{-1}) та деформаційні коливання NH-груп (1530 cm^{-1}). Імобілізація Іфосфаміду на ПУ матриці фізична за рахунок міжмолекулярних водневих взаємодій.

Дослідження змін структури та властивостей ізоціануратвмісних поліуретанових композицій з Іфосфамідом під впливом БС 199.

Важливим етапом дослідження нових полімерних матеріалів медичного призначення є вивчення їхньої здатності до біодеградації за умов, наближених до організму людини. Вплив модельного середовища на властивості ПУ оцінювали методом ІЧ-спектроскопії, а також за зміною теплофізичних властивостей зразків після інкубації у БС 199.

При порівнянні ІЧ-спектрів зразків ПУ після інкубації у БС 199 протягом 1 та 6 міс. (рис. 2) зі збільшенням терміну інкубації

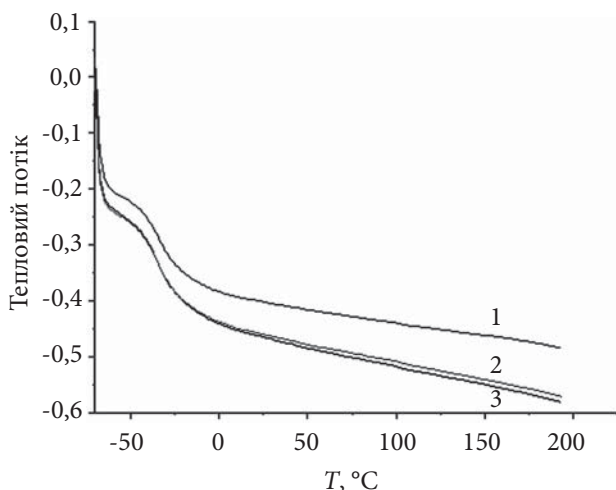


Рис. 2. Термограми зразків ПУ до (1) та після інкубації у БС 199 протягом: 6 (2) та 1 міс. (3)

спостерігали незначний перерозподіл інтенсивності коливань смуг валентних коливань $\nu_{C=O}$ за 1684 см^{-1} , незначне зниження інтенсивності деформаційних коливань $\delta C-O-C$ за 1065 см^{-1} , зростання інтенсивності валентних коливань ν_{CH} за 2925 см^{-1} .

На ІЧ-спектрах зразка ПУ+ІФО після інкубації у БС 199 протягом 6 міс. (рис. 3) спостерігали незначне зниження інтенсивності смуги деформаційних коливань $\delta C-O-C$ за 1090 і 1016 см^{-1} та незначне зростання інтенсивності валентних коливань $\nu_{C=O}$ за 1769 см^{-1} у порівнянні зі зразками, які витримували у БС 199 протягом 1 міс. При порівнянні ІЧ-спектрів зразків ПУ+ІФО, витриманих у БС 199 протягом 1 та 6 міс., помітний незначний перерозподіл інтенсивності смуг поглинання NH-груп за 1547 і 1339 см^{-1} .

За результатами теплофізичних досліджень (табл. 1) на термограмах зразків як ПУ (рис. 4), так і ПУ з Іфосфамідом (рис. 5), спостеріга-

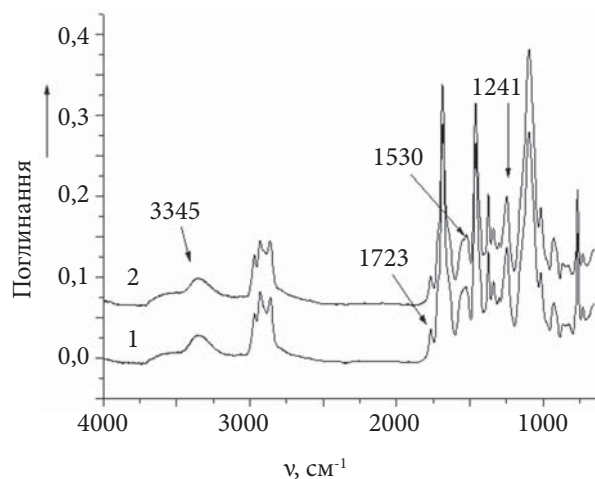


Рис. 3. Фрагменти ІЧ-спектрів синтезованих: ПУ (1); ПУ+ІФО (2)

ли один температурний перехід і, відповідно, одну температуру склування (T_g), тобто системи однофазні. Для зразків ПУ зі збільшенням терміну інкубації в БС 199 спостерігали незначне поступове зростання стрибка теплоємності (ΔC_p) і поступове незначне зниження температури склування та температури початку розкладу. Отриманий результат може бути пояснений розпушенням упаковки макромолекул ПУ під впливом модельного біологічного середовища, що приводить до зменшення кількості міжмолекулярних зв'язків і, як наслідок, зменшення T_g .

Для зразків ПУ+ІФО після 6 місяців інкубації в БС 199 спостерігали незначне підвищення значень T_g і зниження ΔC_p (табл. 1), що може бути пояснено посиленням мікросегрегації гнучких (поліефірних) і жорстких (уретанових, ізоціануратних) блоків, що приводить до посилення рухливості гнучкого блока, відповідно до збільшення кількості водневих

Таблиця 1. Зміна теплофізичних характеристик зразків ПУ після інкубації у БС 199

Зразок	T_g , °C	ΔC_p , Дж/(г·°C)	$T_{\text{поч. розкл.}}$, °C
ПУ до інкубації	-34	0,3734	344
ПУ після 1 міс. інкубації	-36	0,3988	325
ПУ після 6 міс. інкубації	-35	0,4404	330
ПУ+ІФО до інкубації	-36	0,3960	329
ПУ+ІФО після 1 міс. інкубації	-35	0,4007	338
ПУ+ІФО після 6 міс. інкубації	-35	0,3350	338

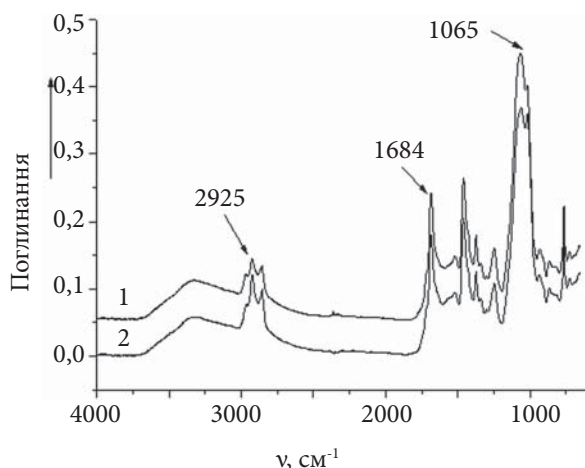


Рис. 4. Фрагменти ІЧ-спектрів ПУ після інкубації у БС 199: 1 (1) і 6 міс. (2)

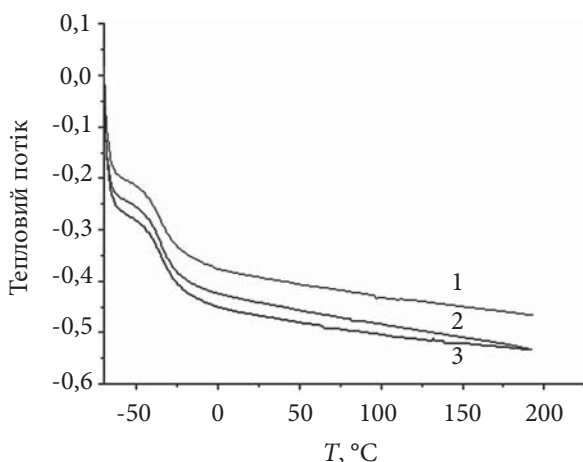


Рис. 5. Термограми зразків ПУ+ІФО до (2) та після інкубації у БС 199 протягом: 6 (1) і 1 міс. (3)



Рис. 6. Початок росту в культурі підшкірно-жирової клітковини щурів. Контроль. Об'єктив 10, окуляр 16х

зв'язків і, як наслідок, зростання T_c . Спостерігали підвищення $T_{\text{поч. розкл}}$ після 6 міс. інкубації у БС 199.

Дослідження впливу Іфосфаміду в складі полімерних матеріалів на основі ізоціануратвмісних поліуретанів на ріст і розвиток культури тканин.

Культури були досліджені методом експлантації в згустку плазми у флаконах Карреля. Досліджували дві експериментальні групи: дослідна і контрольна. У контрольній групі проводили культивування тканини на плазмі з подальшою зміною БС 199 протягом 3, 7, 10 і 14 днів культивування. У дослідній групі – впродовж 3, 7, 10 і 14 днів культивування БС 199 замінювалося приготовленими витяжками. Витяжки готували за співвідношення ваги дослідних зразків і об'єму модельного середовища, рівного 100:1 мг/мл. Як модельне використовували БС 199 для культур тканин. Час контакту зразків з модельним середовищем – 1 доба. Температурний режим екстракції 37 °С.

Для визначення впливу досліджуваної речовини на ріст культури тканини витяжку з нього вносили в середовище культивування на 3 добу інкубації.

На 5, 7, 10 і 14 добу проводили спостереження за ростом компактної, сіткоподібної зони і зони мігруючих фібробластичних елементів, використовуючи мікроскоп AMPLIVAL (Німеччина). Критерієм для виділення цих зон є характер розташування зростаючих фібробластичних елементів. До компактної зони належать ділянки щільного розташування клітин, що ростуть. До сіткоподібної – ділянки розташування клітинних тяжів, що анастомозуються і галузяться. По вершинах ізольованих клітинних тяжів, що врастають у тверду фазу живильного середовища до місця розташування одиничних клітин, визначають зону мігруючих елементів.

Об'єктами дослідження були ізоціануратвмісний поліуретан (ПУ) та ізоціануратвмісний поліуретан з іммобілізованим Іфосфамідом (ПУ + Іфосфамід).

Перші ознаки росту, які проявлялися міграцією одиничних клітин витягнутої форми, а також поодинокими мігруючими фібробластичними елементами, що мали веретеноподібну форму, в контролі спостерігали до кінця 3 доби (рис. 6).

Надалі активність росту фібробластичних елементів збільшувалася. На 5 добу у флаконах Карреля площі росту в основному мали

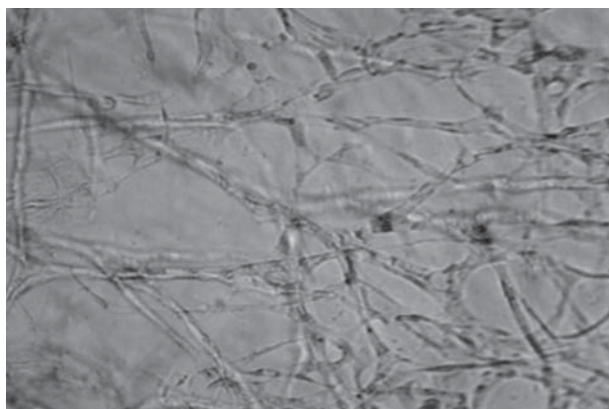


Рис. 7. Компактна та сіткоподібна зони культури фібробластів на 7 добу Контроль. Об'єктив 10, окуляр 16х

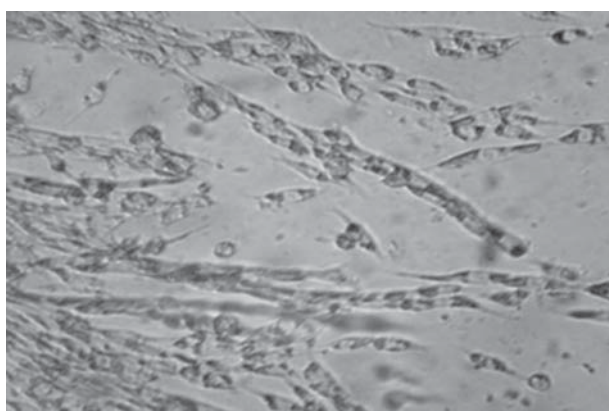


Рис. 8. Міграція фібробластичних елементів на 5 добу культивування при дослідженні витяжки із полімерного зразка. Об'єктив 10, окуляр 16х

дві зони: сіткоподібну, що складалася з пучків і тяжів клітин, розташованих сіткоподібно, та зону мігруючих елементів, що мали веретеноподібну та полігональну форму.

На 7 добу зони росту розділялися на три: компактну, яка складається з клітин веретеноподібної і полігональної форми, сіткоподібну та зону одиничних мігруючих елементів. Найбільшу кількість клітин, що діляться, спостерігали в другій зоні. Фібробластичні елементи в основному мали веретеноподібну форму (рис. 7).

На 10 добу після експлантації відбувається збільшення зон росту. Але у компактній та сіткоподібній зонах виявлялися ознаки дегенеративних змін фібробластичних елементів. На 14 добу дослідження клітинна популяція вступає в стадію вираженої дегенерації.

Динаміка росту і розвитку клітинних елементів при внесенні витяжок із полімерного зразка ПУ у флакони Карреля у цілому

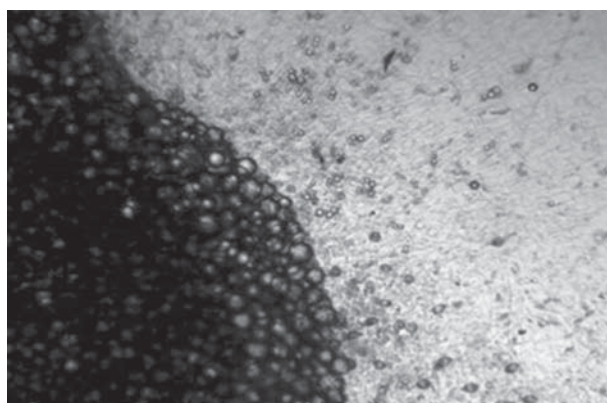


Рис. 9. Дегенеративні зміни в культурі фібробластів на 10 добу культивування при дослідженні зразка ПУ

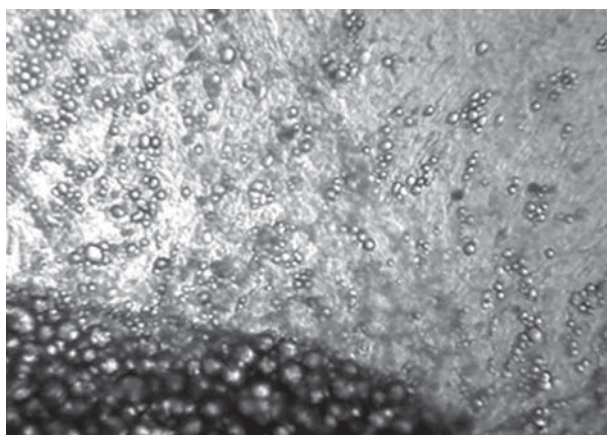


Рис. 10. Зернисте переродження цитоплазми на 14 добу в контролі

порівняна з контролем. На 5 добу спостерігали формування сіткоподібної та зони мігруючих елементів (рис. 8).

Спостереження за культурами тканин при внесенні витяжки зі зразка ПУ на 5 добу також показали формування двох зон росту, як у контролі. При дослідженні витяжки зі зразка ПУ + Іфосфамід фібробласти мали полігональну, продовугувату, веретеноподібну та округлу форми.

Надалі активність росту фібробластичних елементів збільшувалася. На 7 добу культивування спостерігали формування трьох зон росту – компактної, сіткоподібної та зони мігруючих фібробластичних елементів як у контрольних, так і в дослідних зразках.

На 10 добу випробувань збільшилися зони компактної, сіткоподібної та зони мігруючих клітин для всіх дослідних зразків. Як і в контролі, виявлено ознаки дегенеративних змін

фібробластичних та фібробластоподібних клітин у компактній та сіткоподібній зонах (рис. 9).

На 14 добу дослідження клітинна популяція вступає у фазу дегенерації, що проявляється значною вакуолізацією цитоплазми та зернистим переродженням її в клітинах як у всіх дослідних, так і в контрольних зразках, що характерно для такого терміну дії цієї культури (рис. 10).

Отже, динаміка і характер росту клітинних елементів у дослідних флаконах істотно не відрізнялися від контрольних культур. Це дає змогу зробити висновок про відсутність гістотоксичного впливу Іфосфаміду в складі полімерних матеріалів на основі ізоціануратвмісних поліуретанів на ріст і розвиток культури тканин.

Висновки

В результаті проведених досліджень було отримано поліуретан з ізоціануратними фрагментами на основі поліоксипропіленгліколю (ПОПГ 1000), ТДІ (2,4:2,6:толуїлендіізоціанату) та 2,4,6-триізоціанат(трисгексаметилен)ізоціанурату (ІЦК, Tolonate™ HDT-LV, ММ 1200) за співвідношення NCO:ОН=1:1 у середовищі N,N'-диметилацетаміду (ДМАА) та проведено іммобілізацію Іфосфаміду на цьому полімерному носії з метою створення нових полімерних імплантаційних матеріалів з місцевим пролонгованим вивільненням лікарських препаратів з протипухлинною і цитостатичною дією. Встановлено, що введення у склад полімерного матеріалу лікарського препарату Іфосфаміду не приводить до істотних змін фізико-механічних характеристик.

Згідно з даними ІЧ-спектроскопії, введення Іфосфаміду у склад полімерної матриці не

привело до утворення нових смуг поглинання, що свідчить про відсутність хімічної взаємодії ЛР з полімерною матрицею та про фізичну іммобілізацію останньої, за рахунок міжмолекулярних водневих взаємодій.

Структура композицій з лізоцимом під впливом модельного середовища залишається без змін, після 1 та 6 міс. інкубації спостерігається незначний перерозподіл інтенсивності смуг поглинання груп, які беруть участь в утворенні міжмолекулярних водневих зв'язків. За даними теплофізичних досліджень біодеградація зразків ПУ+ІФО після 6 міс. інкубації в БС 199 супроводжується незначним збільшенням мікросегрегації гнучких (поліефірних) і жорстких (уретанових, ізоціануратних) блоків, що приводить до посилення рухливості гнучкого блока, відповідно до збільшення кількості водневих зв'язків і, як наслідок, підвищення температури склування.

За результатами проведених досліджень встановлено, що після інкубації у БС 199 синтезовані зразки ПУ та ПУ+ІФО не зазнають значних змін структури та властивостей, що уможливить їх подальше використання за призначенням.

Дослідження методом культури тканин цитотоксичності ізоціануратвмісних поліуретанів з іммобілізованим Іфосфамідом встановили, що динаміка і характер росту клітинних елементів у дослідних флаконах істотно не відрізнялися від контрольних культур. Це дає змогу зробити висновок про відсутність гістотоксичного впливу Іфосфаміду в складі ізоціануратвмісного поліуретану на ріст і розвиток культури тканин. Згідно з експрес методом токсикологічної оцінки розроблені композиційні матеріали з Іфосфамідом біосумісні.

REFERENCES

1. L. Elbl, I. Vasova, M. Navratil [et al.] Late cardiotoxicity in patients with malignant lymphoma treated with doxorubicin chemotherapy. *J. VnitrLek.*, 2006, **52**, no. 4: 32–38.
2. Mashkovskiy M.D. *Lekarstvennyye sredstva*. 15-e izd. M.: Novaya Volna, 2005: 992–993.
3. Demchenko I.B., Rozhnova R.A., Halatenko N.A., Kebuladze I.M. Poliuretanove pokryttia z vinkrystynom dlia implantativ molochnykh zaloz z protypukhlynnymy vlastyvostyamy. *Plastychna ta rekonstruktyvna khirurgiia*, 2014, no. 1(3): 37–45.
4. Lukashevych S. A., Kuliesh D.V., Rozhnova R.A., Kozlova H.A., Kebuladze I.M. Vyvchennia vlastyvostei ta doslidzhennia biosumisnosti novykh epoksyepoliuretanovykh kompozytsii medychnoho pryznachennia z tsytostatychnymy vlastyvostyamy, *Plastychna, rekonstruktyvna i estetychna khirurgiia*, 2015, no. 3–4: 48–58.

5. Bakirova I.N., Zenitova L.A., Novoseltsev V.T. Sintez i svoystva poliuretanov pokrytiy s izotsianuratnymi koltsami v tsepi. Himiya i kompyuternoe modelirovanie. Butlerovskie soobscheniya. 2002, no. 11: 41–44.
6. Gite V.V., Mahulikar P.P., Hundiwale D.G., Kapadi U.R. Polyurethane coatings using trimer of isoporone diisocyanate. J. of Scientific & Industrial Research, 2004, **63**: 348–354.
7. Lukashovich S.A., Rozhnova R.A., Galatenko N.A., Kozlova G.A. Development of method for synthesis of polyurethanes branched structure containing isocyanurate fragments in macrochain. Study their structure and properties. Odesa National University Herald. Chemistry. 2016, **21**, no. 4(60): 48–56. DOI: 10.18524/2304-0947.2016.4(60).83667.
8. Lukashovich S.A., Rozhnova R.A., Kozlova G.A., Nechaeva L.Yu. Kompozytsiini materialy na osnovi izotsianuratvmisnogo poliuretanu z prolonhovanim vyvylnenniam doksorubitsynu. Polymer J. (Ukr), 2019, **41**, no. 2: 271–277. <https://doi.org/10.15407/polymerj.41.04.271>.
9. Lukashovich S. A., Kozlova G. A. Polyurethanes synthesized on the basis of di- and polyisocyanate filled with doxorubicin: a study of the structure and properties. Polymer J. (Ukr), 2019, **41**, no. 1:258–263. <https://doi.org/10.15407/polymerj.41.01.058>.
10. Bezuglyiy P.A., Bolotov V.V., Gritsenko I.S. i dr. Ot substantsii k lekarstvu: Uchebnoe posobie; Pod. red. V.P. Chernyih. Harkov, Izd-vo NFaU, Zolotyie stranitsyi, 2005: 1244.
11. Burenko G.V., Galatenko N.A., Kabak K.S. Morfologicheskie i biohimicheskie aspekty biodestruktsii polimerov. Kiev: Nauk. dumka, 1986:152.
12. Malanchuk V.O., Astapenko O.O., Galatenko N.A., Rozhnova R.A. The research of biodegradation of a composite material used in reconstructive and reparative surgery of maxillofacial area. Likars'ka sprava. Ministerstvo okhrony zdorov'ia Ukrainy, 2013, **6**: 83–88.
13. Rudenchyk, T.V., Rozhnova, R.A., Galatenko, N.A., Nechaeva, L.Y. The effects of the model biological medium on the structure and properties of composite materials with levamisole and the dynamics of the release of a drug substance. Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii, 2018, 5: 140–148. ISSN 0321-4095
14. Galatenko N.A., Yatsenko V.P., Pchakadze G.A. Determination of the cytotoxicity of polymers for medical purposes with the use of tissue culture. Doklady AN USSR. 1982. **9**: 54. [in Russian].
15. Yatsenko V.P., Galatenko N.A., Pchakadze G.A. The method of quantitative study of fibroblastic cells growth in tissue culture. Cytology and Genetics. 1984. 4: 280. [in Ukrainian].
16. Bellami L. Infrakrasnyie spektryi molekul. Moskva: Izdatelstvo inostrannoy literatury, 1957: 444.
17. Slivkin A.I., Sadchikova N.P. Funktsionalnyiy analiz organicheskikh lekarstvennyih veschestv. Pod red. akademika RAMN, prof. A.P. Arzamastseva. Voronezh: Voronezhskiy gosudarstvennyiy universitet, 2007: 426. ISBN 978-5-9273-1104-0.

Received 29.01.2020

І.І. Гладирь,

Інститут хімії високомолекулярних сполучень НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна
Г.А. Козлова,

Інститут хімії високомолекулярних сполучень НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна
Л.Ф. Наражайко,

Інститут хімії високомолекулярних сполучень НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна
Н.А. Галатенко,

Інститут хімії високомолекулярних сполучень НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
e-mail: politoks@merlin.net.ua

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ С ИФОСФАМИДОМ НА ОСНОВЕ ПОЛИУРЕТАНОВ С ИЗОЦИАНУРАТНЫМИ ФРАГМЕНТАМИ

Синтезирован полиуретан с изоциануратными фрагментами (ПУ) на основе полиоксипропиленгликоля (ПОПГ 1000), ТДИ (2,4;2,6: толуилендиизоцианата) и 2,4,6-триизоцианат(трисгексаметилен)изоцианурата (ИЦК, Tolonate™ HDT-LV, ММ 1200) при соотношении NCO: OH = 1: 1 в среде N,N'-диметилацетамида (ДМАА). Прочность при разрыве (σ) синтезированного ПУ составляла $2,6 \pm 0,2$ МПа; относительное удлинение при разрыве (ϵ) – $58,0 \pm 5,5$ %. Проведена иммобилизация Ифосфамида (ИФО) на изоциануратсодержащем полиуретане путем введения раствора ИФО в ДМАА в реакционную смесь из расчета 1 мг ИФО на 1 см^2 пленки ПУ. Синтезированный полимер (ПУ+ИФО) характеризуется $\sigma = 3,4 \pm 0,3$ МПа; $\epsilon = 53,0 \pm 6,6$ %. Установлено, что модификация ПУ, синтезированного при мольном соотношении ПОПГ: ИЦК = 3:2, Ифосфамидом не приводит к существенным изменениям физико-механических показателей. По данным ИК-спектроскопии ИФО иммобилизован на полимерной матрице за счет межмолекулярных водородных взаимодействий. Исследована способность к биодеструкции изоциануратсодержащих полиуретановых композиций с ИФО по изменению структуры и свойств под влиянием биологической среды 199 (БС 199) на протяжении 1-го и 6-ти мес. Установлено, что при инкубации в БС 199 образцы ПУ и ПУ+ИФО подвержены незначительным изменениям структуры. Биодеструкция образцов ПУ+ИФО после 6 мес. инкубации сопровождается незначительным увеличением микросегрегации гибких (полиэфирных) и жестких (уретановых, изоциануратных) блоков, что приводит к увеличению подвижности гибкого блока, соответственно к увеличению количества водородных связей и, как следствие, к повышению температуры стеклования. Исследование методом культуры тканей цитотоксичности изоциануратсодержащих полиуретанов с ИФО позволяет сделать вывод об отсутствии гистотоксического влияния ИФО в составе ПУ на рост и развитие культуры тканей. Согласно экспресс методу токсикологической оценки, композиционные материалы с ИФО являются биосовместимыми.

Ключевые слова: полиуретаны (ПУ), изоцианураты, Ифосфамид (ИФО), биодеструкция, биосовместимость.

I.I. Gladyr,

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

G.A. Kozlova,

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

L.F. Narazhayko,

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

N.A. Galatenko,

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine,

e-mail: politoks@merlin.net.ua

DEVELOPMENT AND RESEARCH OF POLYMERIC COMPOSITE MATERIALS OF MEDICAL PURPOSE WITH IFOSFAMIDE ON THE BASIS OF POLYURETHANES WITH ISOCYANURATE FRAGMENTS

Synthesized polyurethane with isocyanurate fragments (PU) based on polyoxypropylene glycol (POPG 1000), TDI (2,4; 2,6: toluene diisocyanate) and 2,4,6-triisocyanate (trishexamethylene) isocyanurate (ICC, Tolonate™ HDT-LV, MM 1200) with a ratio of NCO: OH = 1: 1 in N,N'-dimethylacetamide (DMAA). The tensile strength (σ) of the synthesized PU was 2.6 ± 0.2 MPa; elongation at break (ϵ) – $58.0 \pm 5.5\%$. The immobilization of Ifosfamide (IFO) on isocyanurate-containing polyurethane was carried out by introducing a solution of IFO in DMAA into the reaction mixture at the rate of 1 mg of IFO per 1 cm² of PU film. The synthesized polymer (PU+IFO) is characterized by $\sigma = (3.4 \pm 0.3)$ MPa; $\epsilon = (53.0 \pm 6.6)\%$. It was found that the modification of PU synthesized at a molar ratio of POPG: ICC = 3: 2, Iphosphamide does not lead to significant changes in physical and mechanical properties. According to IR spectroscopy, an IFO is immobilized on a polymer matrix due to intermolecular hydrogen interactions. The biodegradability of isocyanurate-containing polyurethane compositions with IFO was studied by changing the structure and properties under the influence of biological medium 199 (BM 199) for 1 and 6 months. It was found that during incubation in BM 199, samples of PU and PU+IFO are not subject to significant structural changes. The biodegradation of PU+IFO samples after 6 months of incubation is accompanied by a slight increase in the microsegregation of flexible (polyester) and rigid (urethane, isocyanurate) blocks, which leads to an increase in the mobility of the flexible block, respectively, to an increase in the number of hydrogen bonds and, as a result, to an increase in the glass transition temperature. A study of tissue cytotoxicity of isocyanurate-containing polyurethanes with Iphosphamide by tissue culture allows us to conclude that there is no histotoxic effect of IFO in the composition of PU on the growth and development of tissue culture. According to the express toxicology assessment method, composite materials with ifosfamide are biocompatible.

Key words: polyurethanes (PU), isocyanurates, Ifosfamide (IFO), biodegradation, biocompatibility.