

ПОЛІУРЕТАНСЕЧОВИНИ З ФІЗИЧНО ІММОБІЛІЗОВАНИМ ФОЛАТ-КОН'ЮГОВАНИМ ФЕРОЦЕНОМ І ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

Макєєва Л.В., Гладир І.І., Закашун Т.Ю., Гриценко В.П.

Науковий керівник – *д.х.н. Рожнова Р.А.*

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України

lyudmila.makeeva@gmail.com

Важливим напрямком хімії високомолекулярних сполук є розробка полімерних матеріалів із заданими властивостями для потреб медицини, зокрема, полімерів із власною біологічною активністю.

Одним із шляхів надання біологічної активності є фізична іммобілізація на обраному полімерному носії лікарських речовин, вітамінів, металорганічних сполук, тощо. Як результат, отримані матеріали володіють здатністю пролонговано вивільняти біологічно активну речовину безпосередньо в місце використання, тим самим проявляючи свою лікувальну дію.

Поліуретансечовини (ПУС) є перспективними матеріалами, які можуть бути використані при створенні плівкових матеріалів, здатних стимулювати регенеративні процеси. Раніше нами був синтезований фолат-кон'югований фeroцен (ФКФ) [1], який володіє біологічною активністю фолієвої кислоти та імуностимулюючими властивостями фeroцену. ФКФ (схема 1) стимулює ріст фібробластичних і гістіоцитарних елементів в умовах тканинної культури [2]. Введення ФКФ до складу ПУС дозволить отримати нові плівкові матеріали, які будуть проявляти біологічну активність в місці використання.

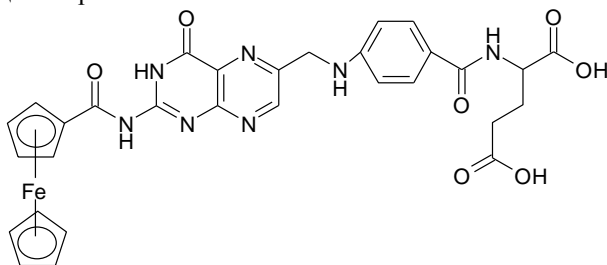


Схема 1. Фолат-кон'югований фeroцен

Метою роботи є синтез нових плівкових матеріалів, отриманих на основі поліуретансечовин шляхом фізичної іммобілізації ФКФ, та дослідження їх біологічної активності.

Полімерні матеріали з фізично іммобілізованим фолат-кон'югованим фeroценом отримували у дві стадії. На першій стадії синтезували діізоціанатний форполімер (ДФП) на основі поліоксипропіленгліколю (ПОПГ), з ММ 1000, і толуїлендіізоціанату (ТДІ, суміш ізомерів 2,4-/2,6 у співвідношенні 80/20 % мас.) за мольного співвідношення ПОПГ:ТДІ=1:2. На другій стадії проводили подовження

макроланцюга діамінами, а саме, 1,6–гексамінілендіаміном (ГМДА) або 4,4' – діамінодифенілметаном (ДАДФ). Плівковий матеріал отримували із 20 %-го розчину полімеру у ДМАА з подальшим висушуванням у сушильній шафі при (70 ± 5) °С до сталої ваги.

На другій стадії здійснювали фізичну іммобілізацію фолат-кон'югованого фероцену. Наважки кон'югату у кількості 0,5 % від маси полімеру розчиняли у ДМАА, додавали до 20 %-го розчину полімеру, виливали на тефлонові підкладинки та висушували у сушильній шафі при (70 ± 5) °С протягом 72 год.

Таким чином, були отримані полімерні матеріали у вигляді прозорих плівок жовтого кольору, розчинних у полярних розчинниках. Міцнісні характеристики синтезованих полімерів наведені у таблиці 1.

Таблиця 1.

Міцнісні характеристики синтезованих полімерів

№	Зразок	σ , МПа	ε , %
1	ДФП+ГМДА	4,69 \pm 0,08	139 \pm 3,5
2	ДФП+ГМДА+0,5%ФКФ	4,80 \pm 0,11	219 \pm 17
3	ДФП+ДАДФ	2,74 \pm 0,05	44 \pm 8,2
4	ДФП+ДАДФ+0,5%ФКФ	2,50 \pm 0,04	53 \pm 0,8

З метою дослідження біологічної активності розроблених матеріалів були проведені дослідження фармакокінетики пролонгованої форми ФКФ.

Для вивчення фармакокінетики поліуретансечовин з фізично іммобілізованим ФКФ була розроблена модель ураження печінки (жирова дистрофія) шляхом алкогольної інтоксикації [3]. Дослідження проводились на білих безпородних щурах-самцях вагою 150-200 г. Дослідних тварин розділили на 4 групи. Першій групі імплантували плівки на основі ДФП і ГМДА, які не містять ФКФ (контроль 1), другій групі – зразки ПУС на основі ДФП та ГМДА, що містять 0,5% ФКФ (дослід 1). Третій і четвертій групі тварин імплантували плівки на основі ДФП і ДАДФ, які не містять ФКФ (контроль 2) і містять 0,5% ФКФ (дослід 2) відповідно.

Тварин виводили з експерименту на 7, 14 та 30 добу методом декапітації. Сироватку крові одержували шляхом інкубування крові в термостаті протягом 30 хвилин за температури 37° С з наступним центрифугуванням при 3000 об/хв. Одержану сироватку використовували для визначення активності глутаматдегідрогенази (ГлДГ) спектрофотометричним методом [4].

Активність ферменту визначалась за зміною оптичної густини (ΔE) НАД-Н₂ при 340 нм за одиницю часу. Як субстрат використовували α -кетоглутарат та солі амонію.

Активність ГлДГ в сироватці крові визначається з метою діагностики захворювань печінки. При захворюваннях печінки може спостерігатися незначне або сильне підвищення активності ферменту ГлДГ, залежно від ступеня залучення паренхіматозних клітин до патологічного процесу.

Активність ферменту визначається у нмоль субстрату (α -кетоглутарової кислоти) перетвореного за 1хв 1см³ сироватки крові. Розрахунки проводили за формулою:

$$\bar{A}(\text{нмольсубстрату/см}^3/\text{хв}) = \frac{(E_1 - E_2) \times 1000}{5 \times 1,95},$$

де E_1 E_2 – екстинції при першому і другому вимірюваннях,

1000 – коефіцієнт перерахунку у нмоль,

5 – коефіцієнт перерахунку на 1 хв інкубації,

1,95 – коефіцієнт екстинції 1 мкмоль НАД-Н₂, розчиненого в інкубаційній суміші.

Результати досліджень представлені у таблиці 2 та 3.

Таблиця 2.

Активність ГлДГ у сироватці крові дослідних тварин, яким імплантували плівки з ДФП+ГМДА і ДФП+ГМДА+0,5%ФКФ (нмоль/см³·хв)

Норма*	7 діб		14 діб		1 місяць	
	Контроль**	Дослід***	Контроль**	Дослід***	Контроль**	Дослід***
0,41	1,23	0,62	1,44	0,62	1,03	0,51
0,51	1,23	0,41	1,12	0,72	1,44	0,41
0,51	0,92	0,72	1,23	0,92	1,95	0,41
0,41	1,33	0,82	1,23	0,82	1,23	0,72
$\bar{A}=0,43 \pm 0,06$	$\bar{A}=1,18 \pm 0,089$	$\bar{A}=0,64 \pm 0,099$	$\bar{A}=1,26 \pm 0,014$	$\bar{A}=0,77 \pm 0,065$	$\bar{A}=1,41 \pm 0,198$	$\bar{A}=0,51 \pm 0,073$
Коефіцієнт Стьюдента						
	$t_{\text{табл}}=3,75$	$t=4,06$		$t=5,25$		$t=4,26$

Таблиця 3.

Активність ГлДГ в сироватці крові дослідних тварин, яким імплантували плівки з ДФП+ДАДФ і ДФП+ДАДФ+0,5%ФКФ (нмоль/см³·хв)

Норма*	7 діб		14 діб		1 місяць	
	Контроль**	Дослід***	Контроль**	Дослід***	Контроль**	Дослід**
0,41	1,74	0,92	1,44	0,72	1,65	0,41
0,51	2,05	0,41	1,44	0,51	1,74	0,62
0,51	1,65	0,41	1,03	0,62	2,26	0,41
0,41	1,74	0,41		0,62	1,23	0,41
$\bar{A}=0,43\pm$	$\bar{A}=1,80\pm$	$\bar{A}=0,54+$	$\bar{A}=1,30\pm$	$\bar{A}=0,62$	$\bar{A}=1,85\pm$	$\bar{A}=0,46\pm$
0,06	0,088	0,099	0,137	0,043	0,139	0,053
Коефіцієнт Стьюдента						
	$t_{\text{табл}}=5,84$	$t=8,03$	$t_{\text{табл}}=4,26$	$t=4,70$	$t_{\text{табл}}=5,84$	$t=9,36$

Примітки: * - Активність ГлДГ в сироватці крові здорових щурів

** - Активність ГлДГ в сироватці крові дослідних тварин, яким імплантували плівку без ФКФ (контроль).

*** - Активність ГлДГ в сироватці крові дослідних тварин, яким імплантували дослідну плівку.

За результатами проведених досліджень, активність ГлДГ в сироватці крові дослідних тварин, яким імплантували поліуретанові композиції з фолат-кон'югованим фероценом, значно нижча ніж у крові дослідних тварин, яким імплантували контрольну плівку. За даними таблиць 2 і 3, активність ГлДГ у сироватці крові дослідних тварин, яким імплантували ПУС, наповнені фолат-кон'югованим фероценом зменшується, наближається до контролю і на 30 добу імплантації становить 0,51 та 0,46 нмоль/см³·хв при нормі активності даного ферменту в крові тварин контрольної групи – 0,43 нмоль/см³·хв. Тобто, пролонгована форма фолат-кон'югованого фероцену у складі ПУС проявляє біологічну активність.

Таким чином, синтезовано нові поліуретансечовини з фізично іммобілізованим фолат-кон'югованим фероценом. Проведено фізико-механічні та фармакокінетичні дослідження отриманих полімерів. Результати досліджень фармакокінетики ФКФ, іммобілізованого на ПУС, свідчать про біологічну активність синтезованих полімерних матеріалів. Розроблені плівкотвірні ПУС можуть бути запропоновані як біологічно активні покриття для лікування ран та опіків.

Література

1. Макеєва Л.В., Гладир І.І., Рожнова Р.А., Демченко І.Б. Розробка методу синтезу фолат-кон'югованого фероцену – Доповіді НАН України. – 2013. – №1. – с. 132-137.

2. Демченко І.Б., Галатенко Н.А., Макеєва Л.В., Рожнова Р.А., Наражайко Л.Ф., Гладырь І.І. Биологическая активность фолат-коньюгированного ферроцена – Доповіді НАН України – №3. – с. 143-148.

3. Галатенко Н.А., Рожнова Р.А., Андриюшина Е.С., Демченко И.Б., Кебуладзе И.М. Новые биологически активные пленочные покрытия // Пластична та реконструктивна хірургія. – 2013. – №1. – с. 45-54.

4. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. Биохимические исследования в клинике. — Ленинград: «Медицина», 1976. — 383 с.