

УДК 678.674:615.375:616-089.843

*Т.В. Руденчик, Р.А. Рожнова, Н.А. Галатенко, Л.Ю. Нечаєва***ВПЛИВ МОДЕЛЬНОГО БІОЛОГІЧНОГО СЕРЕДОВИЩА НА СТРУКТУРУ ТА ВЛАСТИВОСТІ КОМПОЗИЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ З ЛЕВАМІЗОЛОМ І НА ДИНАМІКУ ВИВІЛЬНЕННЯ ЛІКАРСЬКОЇ РЕЧОВИНИ****Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, м. Київ**

Досліджено вплив модельного біологічного середовища 199 на структуру та властивості композиційних матеріалів з левамізолом на основі олігооксипропіленфумарату, диметакрилового естеру триетиленгліколю та N-вінілпіролідону за різного вмісту в їх структурі N-вінілпіролідону (11,51; 20,62; 28,37; 34,14; 42,68 мас.%) при їх інкубації протягом 1, 3 і 6 місяців. За результатами фізико-механічних та ІЧ-спектроскопічних досліджень під впливом біологічного середовища 199 відбувається біодеградація композитів, про що свідчить зменшення модуля пружності при стисненні (у 2,9–3,9 рази для кополімерів та у 4,5–16,9 рази для композиційних матеріалів з левамізолом) та зниження інтенсивності смуги поглинання валентних коливань С=О-груп лактамного циклу N-вінілпіролідону. Біодеградація супроводжується змінами просторового положення С–О-груп поверхневого шару композитів, перерозподілом системи водневих зв'язків, що пов'язано зі структуруванням полімерних композицій в умовах *in vitro* та вивільненням лікарської речовини з полімерної матриці композиційних матеріалів. Спектрофотометричним методом здійснені дослідження динаміки вивільнення левамізолу, яке становить 4,13–6,17% від загальної кількості введеного препарату за 14 діб експерименту. В подальшому композиційні матеріали з левамізолом після позитивних результатів доклінічних випробувань можуть бути запропоновані для використання як імплантатів кісткової тканини з пролонгованою дією імуномодулятора та проявом у місці імплантації лікувальної дії.

Ключові слова: композиційний матеріал, олігооксипропіленфумарат, левамізол, біодеградація, біологічне середовище 199.

Вступ

Композиційні матеріали створені на основі естерів, зокрема фумаратів у комбінації з іншими ненасиченими мономерами, такими як вінілові, є перспективними біоматеріалами. Основними перевагами даних лінійних естерів є подвійні зв'язки фумарової кислоти завдяки яким відбувається зшивання полімеру з утворенням ковалентної полімерної сітки з високими фізико-механічними властивостями і формування біосумісних продуктів біодеградації при гідролізі естерних зв'язків [1], що зумовлює їх поширене використання при виготовленні імплантатів кісткової тканини [2–5].

Полімери та кополімери на основі N-вінілпіролідону (ВП) широко використовують при створенні полімерних лікарських форм пролонгованої дії завдяки біосумісності, відсутності

токсичності, високій гідрофільності, що сприяє виходу лікарських речовин з полімерної матриці, чим і зумовлено їх широке використання [6,7].

Поєднання різних за властивостями компонентів при створенні біоматеріалів дозволяє одержувати полімерні матеріали з покращеними властивостями для різного медичного призначення. На основі олігомерів олігооксипропіленфумарату (ООПФ) і диметакрилат триетиленгліколю (ТГМ-3) та мономеру ВП розроблено композиційні матеріали, які містять у своєму складі імуномодулятор левамізол (рис. 1) [8]. Оскільки левамізол є активатором клітинного ланцюга імунної системи і стимулює тканинну регенерацію і диференціацію клітинних елементів, що беруть участь в остеогенезі з проявом у місці імплантації стійкої лікувальної дії [9,10], зазначені полімерні матеріали запропоно-

вані для створення імплантатів кісткової тканини.

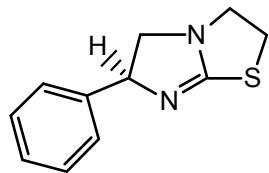


Рис. 1. Структурна формула левамизолу

Одним із необхідних етапів при створенні біологічно активних матеріалів, призначених для використання як імплантатів є дослідження їх здатності до біодеградації за умов, наближених до середовища організму людини, оскільки за умов імплантації полімерного матеріалу відбуваються зміни його структури, які супроводжуються зміною властивостей.

Авторами [11,12] показана можливість регулювання клітинного шляху біодеградації за допомогою введення у склад композиції імуномодулятора левамизолу, що приводить до стимулювання фагоцитарих функцій чим і буде сприяти виведенню продуктів біодеградації з тканин, які оточують імплантат.

Проте існує необхідність у вивченні неклітинного (гідролітичного) шляху біодеградації композиційних матеріалів з левамизом на основі ООПФ, ТГМ-3 та ВП, що являє собою гідроліз під впливом тканинних рідин і проміжної речовини сполучної тканини. Отримані результати *in vitro* в комбінації з результатами дослідів на експериментальних тваринах дадуть змогу в подальшому спрогнозувати «поведінку» досліджуваних композиційних матеріалів при їх застосуванні як імплантатів кісткової тканини.

Тому метою роботи є дослідження впливу модельного біологічного середовища 199 на структуру та властивості композиційних матеріалів з імуномодулятором левамизолом, одержаних на основі ООПФ, ТГМ-3 та ВП за різного вмісту ВП.

Експериментальна частина

Матеріали

Були досліджені зразки композиційних матеріалів з левамизолом, синтезовані за різного вмісту ВП у їх структурі [8] (табл. 1).

Як модельне середовище використовували біологічне середовище 199 (БС 199) (BioTestLab, Україна, рН 7,4–7,7).

Для дослідження динаміки вивільнення левамизолу використані: 0,001 М водний розчин бромфенолового синього (БФС); 0,1 М ацетат-

ний буфер рН 3,6 (містить ацетат натрію і оцтову кислоту); хлороформ (ММ=119,38 г/моль; $\rho=1,483$ г/см³; $T_{\text{кип}}=61,2^{\circ}\text{C}$; $n_D=1,4467$).

Таблиця 1

Склад композиційних матеріалів

Зразок	Вміст компонентів, мас.%			
	ООПФ	ТГМ-3	ВП	Левамізол (від маси композиту)
1	43,75	43,75	11,51	6,0
2	39,19	39,19	20,62	6,0
3	35,32	35,32	28,37	6,0
4	32,43	32,43	34,14	6,0
5	28,15	28,15	42,68	6,0

Методи дослідження

Зразки композицій поміщали в стерильні бюкси з 25 мл БС 199 і витримували в термостаті за температури $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ протягом 1, 3 і 6 місяців, після чого виймали, промивали дистильованою водою та сушили до постійної маси за температури 70°C .

ІЧ-спектри поглинання на ділянці 400–4000 см⁻¹ були зняті на ІЧ-спектрометрі з Фур'є перетворенням "Tensor-37" методом порушеного повного внутрішнього відображення з використанням призми-трапедії кристала алмазу (число відображень $N=1$, кут падіння $\varphi=39^{\circ}$). Віднесення смуг поглинання відповідно до даних [13].

Фізико-механічні характеристики, а саме модуль пружності при стисненні (E , МПа) досліджували методом випробування на стиснення згідно з ГОСТ 23206 на розривній машині Р-5 зі швидкістю переміщення захватів 10 мм/хв. Даний показник обчислювали за формулами:

$$E = \frac{\Delta P}{S} \cdot \frac{h_0}{\Delta h}, \quad (1)$$

$$S = \frac{\pi \cdot 14^2}{4}, \quad (2)$$

де ΔP – навантаження, кН; S – площа поперечного перерізу, мм²; h_0 – висота зразків до випробування, мм; Δh – деформація зразків при навантаженні, мм.

Дослідження вивільнення левамизолу з полімерної матриці здійснювали спектрофотометричним методом за екстракційно-фотометричною методикою [8,14]. У ділянку лійку поміщали 1 мл розчину (досліджуваного розчину, або розчину порівняння, або розчину левамизолу), 2 мл ацетатного буферу, 3 мл розчину БФС, 6 мл хлороформу. Лійку струшували протягом

3 хв. Після відстоювання протягом 5 хв, органічний шар фільтрували через паперовий фільтр у пробірку із притертою пробкою. Одержані екстракти фотометруються.

Отримання розчинів левамізолу

Для побудови калібрувального графіка готували серію розчинів левамізолу різної концентрації ($1 \cdot 10^{-4}$, $2 \cdot 10^{-4}$, $3 \cdot 10^{-4}$, $4 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л). Отримані розчини аналізували за екстракційно-фотометричною методикою.

Отримання розчинів порівняння

Контрольні зразки (зразки композитів без левамізолу) поміщали в бюкси з притертою пробкою, додавали по 20 мл дистильованої води. Бюкси витримували в термостаті за температури $37 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 1, 3, 7 та 14 діб. З отриманих розчинів контрольних зразків відбирали проби (1 мл) та проводили аналіз за екстракційно-фотометричною методикою. Одержані контрольні екстракти, використовували як розчини порівняння при фотометруванні досліджуваних розчинів.

Отримання досліджуваних розчинів

Досліджувані зразки поміщали в бюкси з притертою пробкою, додавали по 20 мл дистильованої води. Бюкси витримували в термостаті за температури $37 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 1, 3, 7 та 14 діб. З отриманих розчинів відбирали проби (1 мл) та проводили аналіз за екстракційно-фотометричною методикою.

Спектр поглинання екстракту визначали на приладі «SPECORD M-40» при 430–432 нм у кюветі з товщиною шару 1 см відносно розчину порівняння, одержаного при екстракції з контрольного розчину, що не містить левамізол. Кількість левамізолу, що вийшов у розчин з полімерних зразків (Л, %), обчислювали за формулами:

$$L (\%) = \frac{m}{m_0} \cdot 100\%, \quad (3)$$

$$m = \frac{C \cdot M \cdot V}{1000}, \quad (4)$$

де Л (%) – кількість левамізолу, що вийшов у розчин з полімерних зразків, %; m (г) – кількість левамізолу, що вийшов із полімеру за даний період часу, г; m_0 – маса введеного в полімер левамізолу, г; C – концентрація левамізолу в досліджуваному розчині, знайдена за калібрувальним графіком, моль/л; M – молекулярна

маса левамізолу (M=241); V – об'єм розчину, в якому здійснювали вимивання, мл.

Результати та їх обговорення

Здатність до біодеградації зшитих систем вивчали за зміною їх структури та фізико-механічних властивостей (модуль пружності при стисненні) під впливом БС 199 протягом 1, 3 та 6 місяців інкубації.

Зняті в частотному інтервалі $4000\text{--}600\text{ см}^{-1}$ ІЧ-спектри композитів з левамізолом, що містять у своїй структурі 42,68 (рис. 2), 28,37 (рис. 3) та 11,51 мас.% ВП (рис. 4) до (контроль) та після інкубації їх у модельному середовищі протягом 1, 3 і 6 місяців. Порівнюючи наведені спектри, спостерігали наступні зміни.

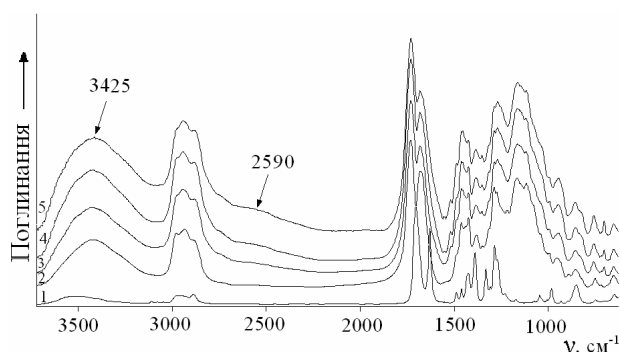


Рис. 2. ІЧ-спектри композиційних матеріалів з левамізолом, що містять у структурі 42,68 мас.% ВП до та після інкубації в БС 199: 1 – ВП; 2 – контроль; 3 – 1 місяць; 4 – 3 місяці; 5 – 6 місяців

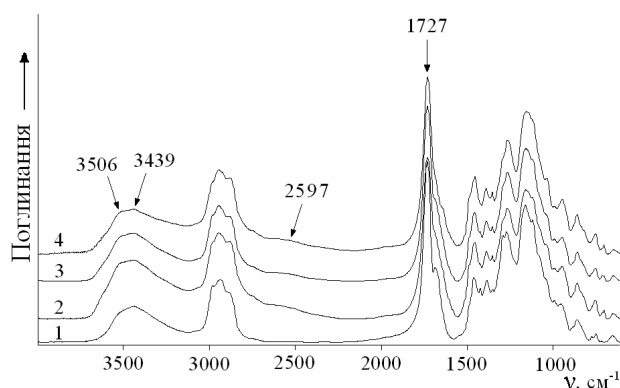


Рис. 3. ІЧ-спектри композиційних матеріалів з левамізолом, що містять у структурі 11,51 мас.% ВП до та після інкубації в БС 199: 1 – контроль; 2 – 1 місяць; 3 – 3 місяці; 4 – 6 місяців

У частотному інтервалі спектрів $3700\text{--}3100\text{ см}^{-1}$ валентні (ν) коливання ОН-груп на ІЧ-спектрах композиційних матеріалів з левамі-

золом, що містять у своїй структурі 42,68 мас.% ВП проявляються широкою смугою з максимумом 3425 см^{-1} (рис. 2). Зі збільшенням терміну інкубації спостерігається розширення цієї смуги як у високочастотний, так і у низькочастотний діапазон спектра, що свідчить про появу більшої неоднорідності в структурі кополімерів під впливом БС 199.

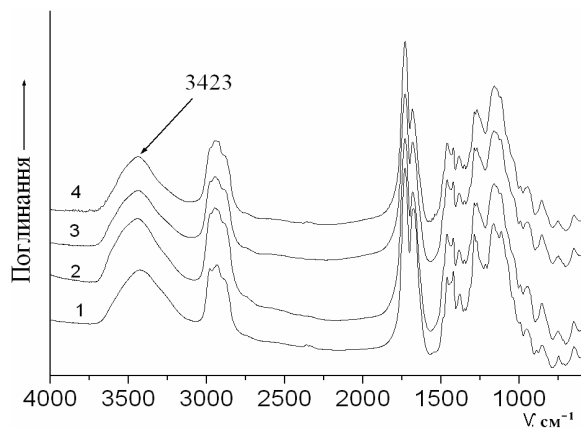


Рис. 4. ІЧ-спектри композиційних матеріалів з левамізолом, що містять у структурі 28,37 мас.% ВП до та після інкубації в БС 199: 1 – контроль; 2 – 1 місяць; 3 – 3 місяці; 4 – 6 місяців

Валентні коливання ОН-груп на ІЧ-спектрах композиційних матеріалів з левамізолом, що містять у своїй структурі 11,51 мас.% ВП (рис. 3) проявляються широкою смугою з двома максимумами 3506 і 3439 см^{-1} . Після інкубації в БС 199 інтенсивність смуги поглинання 3506 см^{-1} зростає, тобто спостерігається збільшення кількості ОН-груп менш зв'язаними водневими зв'язками.

Для композиційних матеріалів з левамізолом, що містять у своїй структурі 28,37 мас.% ВП ν коливання ОН проявляються широкою смугою з максимумом 3423 см^{-1} , яка звужується як у високочастотному так і у низькочастотному інтервалі спектра (рис. 4).

В інтервалі спектра $2700\text{--}2400\text{ см}^{-1}$ спостерігається підняття фону з підвищенням інтенсивності смуги поглинання з приблизним максимумом 2590 см^{-1} (для композиційних матеріалів з левамізолом, що містять у своїй структурі 42,68 мас.% ВП) (рис. 2) та 2597 см^{-1} (для композиційних матеріалів з левамізолом, що містять у своїй структурі 11,51 мас.% ВП) (рис. 3), що говорить про появу нових ОН-груп сильно зв'язаних водневими зв'язками, які відповідають ОН

групам кислоти (COOH), що ймовірно, пов'язано з адсорбцією амінокислот (що є компонентами БС 199) на поверхні полімеру.

На спектрах ВП ν коливання С=О групи проявляються смугою 1705 см^{-1} (рис. 5, крива 1), а на спектрах всіх композиційних матеріалів ця смуга поглинання зміщується в діапазон менших частот 1679 см^{-1} (рис. 5, крива 2, рис. 6, крива 1, рис. 7, крива 1), що пов'язано з перерозподілом електронної густини в молекулі ВП у результаті розкриття подвійних зв'язків вільної групи під час хімічної взаємодії, яка відбувається при термоотвердненні композиційних матеріалів.

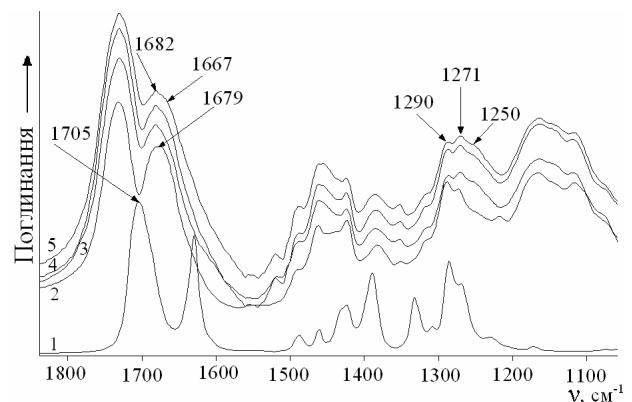


Рис. 5. Фрагменти ІЧ-спектрів композиційних матеріалів з левамізолом, що містять у структурі 42,68 мас.% ВП до та після інкубації в БС 199 у діапазоні частот $1000\text{--}1800\text{ см}^{-1}$: 1 – ВП; 2 – контроль; 3 – 1 місяць; 4 – 3 місяці; 5 – 6 місяців

Після інкубації у БС 199 відбувається зменшення інтенсивності та зміна положення смуги поглинання валентних коливань С=О групи лактамного циклу ВП 1679 см^{-1} , а також поява максимуму при 1667 см^{-1} на ІЧ-спектрах композитів, що містять у структурі 42,68 мас.% ВП (рис. 5, крива 3, 4, 5) та максимуму при 1657 см^{-1} на спектрах композитів, що містять 11,51 мас.% ВП (рис. 6, крива 3, 4, 5). Із збільшенням терміну інкубації спостерігається зменшення максимуму 1679 см^{-1} у бік більших частот для всіх досліджуваних композиційних матеріалів: 1682 см^{-1} для композитів, що містять 42,68 і 28,37 мас.% ВП (рис. 5, рис. 7) та 1686 см^{-1} для композитів, що містять 11,51 мас.% ВП (рис. 6), що пов'язано з появою другого типу зв'язку С=О груп у структурі композитів.

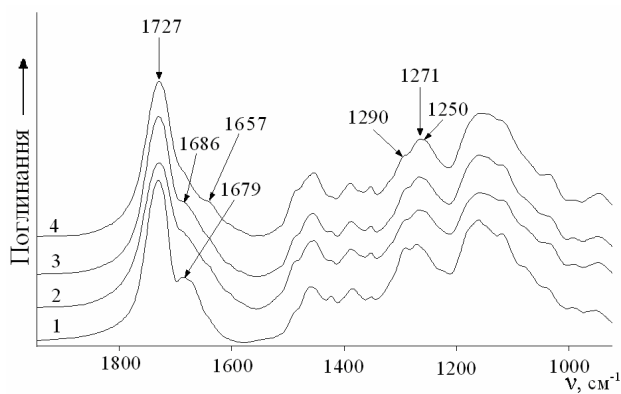


Рис. 6. Фрагменти ІЧ-спектрів композиційних матеріалів з левамізолом, що містять у структурі 11,51 мас.% ВП до та після інкубації в БС 199 у діапазоні 1000–1800 cm^{-1} : 1 – контроль; 2 – 1 місяць; 3 – 3 місяці; 4 – 6 місяців

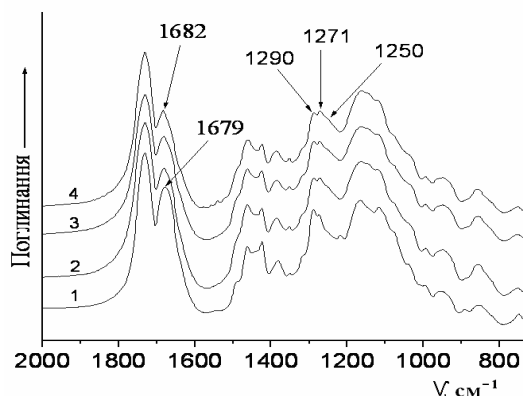


Рис. 7. Фрагменти ІЧ-спектрів кополімерів, що містять у структурі 28,37 мас.% ВП до та після інкубації в БС 199 у діапазоні 1000–1800 cm^{-1} : 1 – контроль; 2 – 1 місяць; 3 – 3 місяці; 4 – 6 місяців

У частотному інтервалі спектрів 1200–1300 cm^{-1} в коливання С–О зв'язків естерної групи для всіх композиційних матеріалів проявляються трьома смугами з максимумами 1290, 1271 і 1250 cm^{-1} . Після інкубації у модельному середовищі відбувається перерозподіл інтенсивностей цих смуг поглинання: в контрольному зразку (рис. 5, крива 2, рис. 6, крива 1, рис. 7, крива 1) інтенсивність смуги поглинання 1250 cm^{-1} дуже мала, а у зразках інкубованих у БС 199 (рис. 5, криві 3, 4, 5, рис. 6 та рис. 7, криві 2, 3, 4) інтенсивність цієї смуги зростає пропорційно терміну перебування, тоді як інтенсивність смуги 1290 cm^{-1} – зменшується. Оскільки С–О зв'язки є скелетними коливаннями ланцюга макромолекул, можна зробити

висновок, що після інкубації в БС 199 відбуваються просторові зміни положення С–О-груп скелетних коливань ланцюга відносно одна одної в молекулах поверхневого шару кополімерів (так як ІЧ-спектри зняті з поверхні полімерних матеріалів).

Методом ІЧ-спектроскопії було досліджено вивільнення лікарської речовини левамізолу з полімерної матриці композиційних матеріалів.

При порівнянні ІЧ-спектрів композитів, що містять у своєму складі левамізол (6%) до та після інкубації у БС 199, встановлено, що смуги поглинання левамізолу при 1594, 1580 та 1534 cm^{-1} (рис. 8, крива 1) на спектрі композитів до інкубації в модельному середовищі (рис. 8, крива 2) мають низьку інтенсивність (через невеликий вміст імуномодулятора у складі полімерних матеріалів), тоді як після інкубації в БС 199 спостерігається зниження інтенсивності та зникнення цих смуг поглинання зі збільшенням терміну інкубації зразків у БС 199 (рис. 8, криві 3–5).

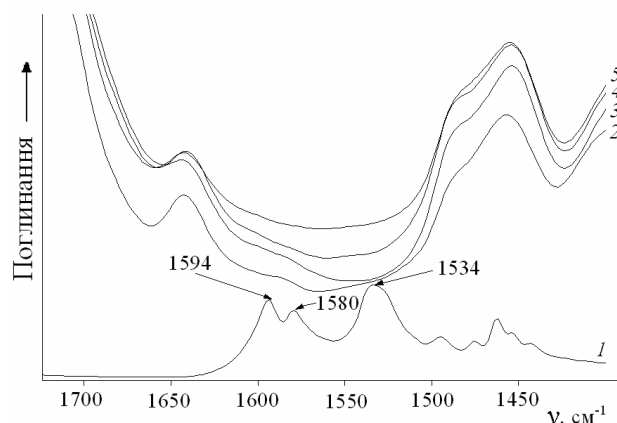


Рис. 8. Фрагменти ІЧ-спектрів левамізолу та композиційних матеріалів з левамізолом до та після інкубації в БС 199 у діапазоні частот 1700–1450 cm^{-1} : 1 – левамізол; 2 – контроль; 3 – 1 місяць; 4 – 3 місяці; 5 – 6 місяців

Отже, за результатами ІЧ-спектроскопічних досліджень встановлено, що зміни, які спостерігали на спектрах композитів різного складу після інкубації у БС 199 аналогічні і пов'язані зі змінами просторового положення С–О-груп відносно одна одної в макромолекулах або змінами відстані між макромолекулами поверхневого шару кополімерів у процесі набухання, яке в даному випадку є необоротним процесом і внаслідок вивільнення лікарської речовини з полімерної матриці, про що свідчить зниження інтенсивностей смуг поглинання левамізолу.

Таблиця 2

Зміна модуля пружності композитів різного складу під впливом БС 199

Зразок	Вміст левамізолу, %	Е, МПа			
		контроль	1 місяць	3 місяці	6 місяців
ООПФ+ТГМ-3+ВП(28,37)	–	13,9	9,5	7,8	3,6
ООПФ+ТГМ-3+ВП(42,68)	–	7,4	6,5	1,3	2,6
ООПФ+ТГМ-3+ВП(28,37)	6,00	5,9	2,5	4,1	1,3
ООПФ+ТГМ-3+ВП(42,68)	6,00	20,3	12,7	2,7	1,2

Крім того, спостерігається зниження інтенсивності смуги поглинання валентних коливань С=О групи лактамного циклу ВП, що свідчить про процеси біодеградації досліджуваних матеріалів під впливом модельного біологічного середовища.

Отримані результати ІЧ-спектроскопії не є кількісним доказом вивільнення левамізолу з полімерної матриці композиційних матеріалів, тому здійснені дослідження його вивільнення екстракційно-фотометричною методикою [8].

Оскільки відомо, що кополімери на основі ВП завдяки високій гідрофільності сприяють виходу лікарської речовини з полімерної матриці, було доцільно дослідити вплив присутності ВП у структурі досліджуваних композиційних матеріалів на динаміку вивільнення левамізолу. Тому проведено дослідження динаміки його вивільнення з композиційних матеріалів, які не містять у структурі ВП, та встановлено, що для даних зразків вихід левамізолу мінімальний і складає 2,98% від введеної кількості (рис. 9, крива 1). Це підтверджує те, що присутність ВП у структурі полімерної матриці сприяє вивільненню лікарської речовини.

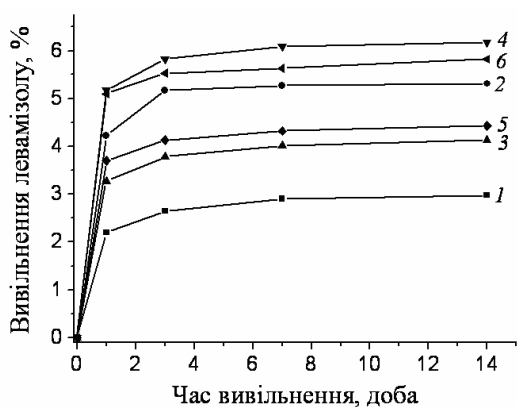


Рис. 9. Динаміка вивільнення левамізолу зі зразків, що містять у структурі різну кількість ВП, мас. %: 1 – 0; 2 – 11,51; 3 – 20,62; 4 – 28,37; 5 – 34,14; 6 – 42,68

Згідно з отриманими результатами, вивіль-

нення левамізолу з композитів, які містять у структурі ВП, у відбувається у межах від 4,13 до 6,17% від загальної кількості введеного препарату за 14 днів експерименту. Для зразків композиційних матеріалів, які містять у своїй структурі 28,37 мас.% ВП, спостерігається максимальне вивільнення лікарського препарату, що становить 6,17% за 14 днів вимивання. Графічно динаміка вивільнення левамізолу надана на рис. 9.

На першій фазі регенерації кісткової тканини (3 доби), яка характеризується запаленням, відбувається вивільнення левамізолу у більшій кількості (129-194 мкг/мл для композитів із різним вмістом ВП у структурі, зокрема 194 мкг/мл для композиційних матеріалів, що містять у структурі 28,37 мас.% ВП), що важливо для профілактики ускладнень гнійно-запального характеру та впливу на остеогенез в цей період [15].

Протягом наступних трьох днів, коли відбувається утворення і диференціювання тканинних структур, кількість вивільненого левамізолу зменшується і становить 6–15 мкг/мл для композитів із різним вмістом ВП у структурі (зокрема 15 мкг/мл для композиційних матеріалів, що містять у структурі 28,37 мас.% ВП). Далі триває пролонговане вивільнення лікарської речовини.

У клініці левамізол, зазвичай, застосовують всередину в порівняно невеликих дозах, при яких його концентрація в тканинах не перевищує 1 мкг/мл. Однак дані експериментальних досліджень свідчать про те, що нерідко ефективна імуномодуляція може бути здійснена тільки при застосуванні його значно вищих концентрацій. Зокрема, фагоцитарну активність мононуклеарних фагоцитів людини *in vitro* левамізол максимально стимулює в концентрації 15 мкг/мл [12].

Враховуючи отримані результати, композиційні матеріали які містять у структурі 28,37 мас.% ВП є більш оптимальними з точки зору вивільнення лікарського препарату.

Згідно з результатами досліджень, кількість вивільненого левамізолу не залежить від кількості ВП у структурі композиційних матеріалів, що,

ймовірно, пов'язано із характером розподілення ланок в макромолекулах. Адже відомо, що властивості кополімерів залежать не тільки від складу, а й від характеру розподілення ланок в макромолекулах та від композиційної однорідності [16]. Так, при однаковому складі кополімеру, його властивості можуть змінюватися залежно від характеру розподілення ланок в макроланцюзі кополімеру.

За результатами досліджень фізико-механічних властивостей після інкубації у БС 199 кополімерів і композиційних матеріалів на їх основі, що містять у своєму складі левамізол спостерігається зниження значення модуля пружності при стисненні (Е, МПа) уже через 1 місяць інкубації (табл. 2).

Після 3 місяців інкубації спостерігається деяке підвищення фізико-механічних показників отриманих полімерних матеріалів порівняно з 1 місяцем інкубації у БС 199 з наступним їх зменшенням після 6 місяців інкубації.

Значення модуля пружності при стисненні після 6 місяців інкубації для кополімерів зменшуються у 2,9–3,9 разів тоді як для композиційних матеріалів з левамізолом у 4,5–16,9 разів. Більш інтенсивніший перебіг біодеградації композитів із левамізолом (порівняно з кополімерами) пов'язаний із вивільненням лікарської речовини з полімерної матриці, внаслідок набухання останньої у БС 199, що приводить до більшого розрихлення композиційного матеріалу, збільшення його дефектності. Зазначені фактори (підвищена здатність до біодеградації та вивільнення левамізолу) будуть сприяти заміщенню імплантата регенованою кістковою тканиною з одночасною пролонгованою місцевою дією левамізолу.

Таким чином, зменшення модуля пружності при стисненні за результатами фізико-механічних досліджень свідчить про те, що, під впливом БС 199 відбуваються процеси біодеградації кополімерів на основі ООП, ТГМ–3 та ВП та композиційних матеріалів з левамізолом одержаних на їх основі, що в умовах імплантації дасть змогу уникнути повторного оперативного втручання для їх видалення.

Враховуючи отримані результати, композиційні матеріали з левамізолом, що містять у своїй структурі ВП після позитивних результатів доклінічних випробувань можуть бути запропоновані для використання як імплантатів кісткової тканини з пролонгованою дією імуномодулятора та проявом у місці імплантації стійкої лікувальної дії.

Висновки

Здійснені дослідження дозволили встановити, що при інкубації композиційних матеріалів з левамізолом у модельному біологічному середовищі 199 протягом 1, 3 і 6 місяців відбувається біодеградація, яка супроводжується зміною їх фізико-механічних властивостей і структури. За результатами фізико-механічних досліджень під впливом БС 199 спостерігається зменшення модуля пружності при стисненні композиційних матеріалів: у 2,9–3,9 разів для кополімерів та у 4,5–16,9 разів для композиційних матеріалів з левамізолом. За даними ІЧ-спектроскопії під дією модельного біологічного середовища відбуваються біодеградація, яка супроводжується вивільненням лікарської речовини з полімерної матриці композиційних матеріалів та структуруванням композицій, про що свідчать зміни просторового положення С–О груп відносно одна одної в макромолекулах або відстані між макромолекулами поверхневого шару кополімерів і перерозподіл системи водневих зв'язків, що пов'язано зі та зниження інтенсивності смуги поглинання валентних коливань С=О групи лактамного циклу ВП. Спектрофотометричним методом здійснені дослідження динаміки вивільнення левамізолу з композитів, що містять у своїй структурі різну кількість ВП та встановлено, що за 14 діб експерименту вивільняється від 4,13 до 6,17% левамізолу від загальної кількості введеного препарату.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Synthesis of poly(propylene fumarate)* / F.K. Kasper, K. Tanahashi, J.P. Fisher, A.G. Mikos // *Nature Protocols*. – 2009. – Vol.4. – No. 4. – P.518-525.
2. *Fisher J.P., Dean D., Mikos A.G.* Photocrosslinking characteristics and mechanical properties of diethyl fumarate/poly(propylene fumarate) biomaterials // *Biomaterials*. – 2002. – Vol.23. – No. 22. – P.4333-4343.
3. *Soft and hard tissue response to photocrosslinked poly(propylene fumarate) scaffolds in a rabbit model* / J.P. Fisher, J.W.M. Vehof, D. Dean, J.P. van der Waerden, T.A. Holland, A.G. Mikos, J.A. Jansen // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 2002. – Vol.59. – No. 3. – P.547-556.
4. *Bone formation in transforming growth factor beta-1 coated porous poly(propylene fumarate) scaffolds* / Vehof J.W.M., Fisher J.P., Dean D., van der Waerden J.P., Spauwen P.H.M., Mikos A.G., Jansen J.A. // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 2002. – Vol.60. – No. 2. – P.241-251.
5. *Bioresorbable bone graft substitutes of different*

osteoconductivities: a histologic evaluation of osteointegration of oly(propyleneglycol-co-fumaric acid)-based cement implants in rats / K.U. Lewandrowski, J.D. Gresser, D.L. Wise, D.J. Trantolo // *Biomaterials*. – 2000. – Vol.21. – No. 8. – P.757-764.

6. *N*-винилпирролидон как источник нового вспомогательного вещества для фармацевтической технологии / А.Г. Жаныбекова, З.Б. Сакипова, Г.А. Мун, П.И. Уркимбаева // *Вестник КазНМУ*. – 2013. – № 5(3). – С.101-103.

7. Галатенко Н.Б., Рожнова С.Б. Биологически активные полимерные материалы для медицины. – К.: Наукова думка, 2013. – 210 с.

8. Руденчик Т.В., Рожнова Р.А., Галатенко Н.А. Розробка композиційних матеріалів на основі олигооксипропіленфумарату, диметакрилат триетиленгліколю та *N*-вінілпіролідону, які містять імуномодулятор левамизол і дослідження динаміки його вивільнення // *Наукові записки НАУКМа*. – 2015. – Т.170. – С.53-58.

9. Біодеградуємий матеріал біоактивної дії на основі поліуретан-епоксидних композицій як носій лікарських речовин / Н.А. Галатенко, А.М. Куксін, Р.А. Рожнова, О.О. Астапенко // *Полімерний журнал*. – 2008. – Т.30. – № 2. – С.168-172.

10. Клеточный путь биодеструкции полиуретанов и его регуляция / Г.А. Пхакадзе, Л.Т. Терещенко, Н.А. Галатенко, А.К. Коломийцев // *Биосовместимость*. – 1993. – Т.1. – № 1. – С.33-41.

11. Регуляция клеточного пути биодеструкции полиуретанов левамизолом / Н.А. Галатенко, Е.С. Савицкая, Н.Н. Буфиус, Г.А. Пхакадзе // *Доклады АН УССР. Сер. Б*. – 1988. – № 2. – С.64-67.

12. Динаміка вивільнення левамизолу із зразків епоксиполіуретанової композиції *in vitro* / В.О. Маланчук, О.О. Астапенко, Н.А. Галатенко, С.Б. Рожнова // *Вісник стоматології*. – 2013. – № 2. – С.15-19.

13. *Pretsch E., Bellmann P., Affolter C.* Structure determination of organic compounds. Tables of spectral data. – Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. – 433 p.

14. Нечаева Л.Ю., Галатенко Н.А., Буфиус Н.Н. Экстракционно-фотометрическое определение выхода левамизола из препарата с пролонгированным иммуномодулирующим эффектом // *Фармация*. – 1989. – № 2. – С.24-27.

15. Астапенко О.О. Розробка та обґрунтування використання конструкцій з біодеградуємого матеріалу біоактивної дії в реконструктивно-відновній хірургії щелепно-лицевої ділянки (експериментально-клінічне дослідження): Автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.01.22 / Нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця МОЗ України. – К., 2015. – 34 с.

16. *Введение в химию высокомолекулярных соединений* / Музафаров А.М., Кузнецов А.А., Заремский М.Ю., Зеленецкий А.Н. – М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 47 с.

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

T.V. Rudenchyk, R.A. Rozhnova, N.A. Galatenko, L.Yu. Nechaeva
Institute of Macromolecular Chemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

*We studied the influence of the model biological medium 199 on the structure and properties of composite materials with levamisole based on oligooxypropylene fumarate, triethylene glycol dimethacrylate and N-vinylpyrrolidone during their incubation for 1, 3 and 6 months at various content of N-vinylpyrrolidone in their structure (11.51, 20.62, 28.37, 34.14 and 42.68 wt.%). According to the results of physical and mechanical, and IR spectroscopic studies, the biodegradation of composites is observed under the influence of the model biological medium 199, as evidenced by a decrease of the modulus of compression (2.9–3.9 times for copolymers and 4.5–16.9 times for composite materials with levamisole) and a decrease of the intensity of the absorption band of the stretching C=O groups in the lactam cycle of N-vinylpyrrolidone. Biodegradation is accompanied by the changes in the spatial position of the C–O groups in the surface layer of composites, the redistribution of the system of hydrogen bonds resulted from the structuring of polymer compositions *in vitro* and the release of the drug substance from the polymer matrix of composite materials. By the spectrophotometry technique, the dynamics of the release of levamisole has been studied, the release being 4.13–6.17% of the total amount of the introduced drug for 14 days of the experiment. In the sequel, the composite materials with levamisole should be tested in preclinical trials in order to be further used as implants of bone tissue with a prolonged immunomodulatory action and a therapeutic effect at the site of implantation.*

Keywords: composite material; oligooxypropylene fumarate; levamisole; biodegradation; biological medium 199.

REFERENCES

1. Kasper F.K., Tanahashi K., Fisher J.P., Mikos A.G. Synthesis of poly(propylene fumarate). *Nature Protocols*, 2009, vol. 4, pp. 518-525.
2. Fisher J.P., Dean D., Mikos A.G. Photocrosslinking characteristics and mechanical properties of diethyl fumarate/poly(propylene fumarate) biomaterials. *Biomaterials*, 2002, vol. 23, pp. 4333-4343.
3. Fisher J.P., Vehof J.W.M., Dean D., van der Waerden J.P.C.M., Holland T.A., Mikos A.G., Jansen J.A. Soft and hard tissue response to photocrosslinked poly(propylene fumarate) scaffolds in a rabbit model. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002, vol. 59, pp. 547-556.
4. Vehof J.W.M., Fisher J.P., Dean D., van der Waerden J.P.C.M., Spauwen P.H.M., Mikos A.G., Jansen J.A. Bone formation in transforming growth factor β -1-coated porous poly(propylene fumarate) scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002, vol. 60, pp. 241-251.
5. Lewandrowski K.-U., Gresser J.D., Wise D.L., Trantolo D.J. Bioresorbable bone graft substitutes of different osteoconductivities: a histologic evaluation of osteointegration of oly(propylene glycol-co-fumaric acid)-based cement implants in rats. *Biomaterials*, 2000, vol. 21, pp. 757-764.

Надійшла до редакції 28.11.2017

6. Zhanybekova A.G., Sakipova Z.B., Mun G.A., Urkimbaeva P.I. N-vinylpirrolidon kak istochnik novogo vspomogatel'nogo veshchestva dl'ya farmatsevticheskoi tekhnologii [N-vinylpyrrolidone as a source of new excipients for pharmaceutical technology]. *Vestnik KazNMU*, 2013, no. 5(3), pp. 101-103. (in Russian).
7. Galatenko N.A., Rozhnova R.A., *Biologicheski aktivnye polimernye materialy dl'ya meditsyny* [Biologically active polymeric materials for medicine]. Naukova Dumka, Kyiv, 2013. 210 p. (in Russian).
8. Rudenchyk T.V., Rozhnova R.A., Galatenko N.A. Rozrobka kompozytsiinykh materialiv na osnovi oligooksypropilfenumaratu, dymetakrylat tryetylenglikolyu ta N-vinylpirolidonu, yaki mist'yat' imunomodulyator levamizol i doslidzhennya dynamiky yogo vyvylnennya [Elaboration of composite materials on the basis of oligooxypropylen fumarate, threethylenglicol-dimethacrylate and N-vinylpyrrolidone, containing immunomodulator levamisole, and research of dynamic of its release]. *Naukovi Zapysky NaUKMa*, 2015, vol. 170, pp. 53-58. (in Ukrainian).
9. Galatenko N.A., Kuksin A.M., Rozhnova R.A., Astapenko O.O. Biodegraduiemyi material bioaktyvnoi dii na osnovi poliuretan-epoksydnykh kompozytsii yak nosii likarskykh rehovyn [Biodegradable material of bioactive action on the basis of polyurethane-epoxy compositions as medicinal preparations carrier]. *Polimernyi Zhurnal*, 2008, vol. 30, no. 2, pp. 168-172. (in Ukrainian).
10. Pkhakadze G.A., Tereshchenko L.T., Galatenko N.A., Kolomiitsev A.K. Kletochny put' biodestruktsii poliuretanov i ego regul'yatsiya [Cellular pathway of biodegradation of polyurethanes and its regulation]. *Biosovmestimost'*, 1993, vol. 1, no. 1, pp. 33-41. (in Russian).
11. Galatenko N.A., Savitskaya E.S., Bufius N.N., Pkhakadze G.A. Reguliatsiya kletochnogo puti biodestruktsii poliuretanov levamizolom [Regulation of the cellular pathway of biodegradation of polyurethanes with levamisole]. *Doklady AN USSR. Ser. B.*, 1988, no. 2, pp. 64-67. (in Russian).
12. Malanchuk V.O., Astapenko O.O., Galatenko N.A., Rozhnova R.A. Dynamika vyvylnennya levamizolu iz zrazkiv epoksy poliuretanovoi kompozytsii in vitro [The dynamic of the release of levamisole from species of epoxy-polyurethane composition in vitro]. *Visnyk Stomatologii*, 2013, no. 2, pp. 15-19. (in Ukrainian).
13. Pretsch E., Bellmann P., Affolter C., *Structure determination of organic compounds. Tables of spectral data*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2009.
14. Nechaeva L.Yu., Galatenko N.A., Bufius N.N. Ekstraktsionno-fotometricheskoe opredeleniye vykhoda levamizola iz preparata s prolongirovannym immunomoduliruiushchim efektom [Extraction-photometric determination of the release of levamisole from the preparation with a prolonged immunomodulatory action]. *Farmatsiya*, 1989, no. 2, pp. 24-27. (in Russian).
15. Astapenko O.O., *Rozrobka ta obgruntuvannya vykorystannya konstrukttsii z biodegraduyuchogo materialu bioaktyvnoi diyi v rekonstruktyvno-vidnovnii khirurgii shchelepno-lytsevoi dil'ianky (eksperymentalno-klinichne doslidzhennya)* [Development and justification of the application of constructions made of biodegradable material with bioactive action in reconstructive surgery of maxillofacial area (experimentally-clinical research)]: thesis for the degree of Doctor of Medical Sciences, Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2015. (in Ukrainian).
16. Muzafarov A.M., Kuznetsov A.A., Zaremskyi M.Yu., Zelenetskyi A.N., *Vvedeniye v khimiyu vysokomolekulyarnykh soedinenii* [Introduction to chemistry of high-molecular compounds]. Lomonosov Moscow State University Publishers, Moscow, 2010. (in Russian).