

Изучение свойств полимерной композиции на основе сетчатого полиуретана с пролонгированным антинаркотическим действием

М.В. Григорьева, Л.М. Мазур, Н.А. Галатенко, Т.И. Мнышенко, Т.Е. Закашун

Институт химии высокомолекулярных соединений НАН Украины

Украина, 02160, Киев-160, Харьковское шоссе, 48

*В работе описана модификация ПУ-композиций поли-N-винилпирролидоном (ПВП) с целью создания депо-формы антинаркотического препарата – антаксона. Определены сорбционные свойства ПУ-композиций с разным содержанием ПВП. Методом ИК-спектроскопии изучено взаимодействие ПУ-матрицы, ПВП и антаксона. Методом ВЭЖХ изучена динамика высвобождения антаксона из созданной ПУ-композиции в опытах *in vitro* и исследовано терапевтическое действие пролонгированной формы антаксона в опытах *in vivo*. Результаты проведенных исследований могут быть использованы для разработки теоретических и практических подходов при создании полимерных депо-форм антинаркотических ЛВ.*

Благодаря своей биосовместимости и физико-химическим свойствам, полиуретаны (ПУ) уже не одно десятилетие привлекают к себе внимание разработчиков композиционных материалов, применяемых в медицине.

Наряду с многообразными имплантатами, клеями и покрытиями, полиуретаны хорошо показали себя в качестве носителей лекарственных веществ (ЛВ). Особенно тогда, когда необходимо обеспечить длительное поступление ЛВ в организм, т.е. при создании депо-форм, макромолекулярных терапевтических систем (МТС). МТС – это новые лекарственные формы, представляющие собой полимерную основу (матрицу) с введенными в нее низкомолекулярными физиологически активными веществами (ФАВ): антибиотиками, биорегуляторами, препаратами с антибактериальной, противоопухолевой и другими видами активности.

В ранее опубликованных работах описан синтез ПУ-композиций разного состава, обладающих пролонгированным лекарственным действием, и изучена зависимость процесса высвобождения иммобилизованного ЛВ от его природы, от структуры и свойств полимерных матриц, их гидрофильности, подверженности к биодеструкции [1-4].

Данная работа посвящена поиску возможностей модификации ПУ-композиций поли-N-винилпирролидоном (ПВП) с целью создания депо-формы антинаркотического препарата – антаксона, изучению динамики высвобождения антаксона из созданной

ПУ-композиции в опытах *in vitro* и исследованию терапевтического действия пролонгированной формы антаксона в опытах *in vivo*.

Антаксон (налтрексона гидрохлорид) имеет явно выраженную противорецидивную направленность и особенно незаменим для профилактики рецидивов, причем как наркомании, так и алкоголизма [5]. Механизм действия антаксона основан на блокировании опиатных рецепторов. Препарат блокирует фармакологическое действие экзогенно введенных опиатов путем конкурентного связывания опиатных рецепторов. Таким образом, наркотик, введенный в организм, как бы не находит себе места и выводится из организма не оказав наркотического воздействия.

Объектами исследований были ПУ-композиции, синтезированные форполимерным способом, на основе смеси полиоксипропиленгликолей с ММ 1002 и 2002 в соотношении 1:1 и смеси 2,4 и 2,6-толуилендиизоцианата (ТДИ) 80:20. МТС получали, как описано ранее [6], введением ПВП в количестве 10 % и антаксона в количестве 1 % от массы полимерной матрицы. Схема разветвленной структуры полиуретанового композита с антаксоном представлена на рис. 1.

Существенным при создании МТС является их гидрофильность, т.е. способность к набуханию, которая влияет на высвобождение ЛВ из МТС, а также скорость биодеструкции МТС. Известно, что введение ПВП в полимерную композицию может увеличить ее способность к набуханию [7]. Для определения сорбционных свойств ПУ-композиций делали

Таблица 1. Состав полимерных губок

№ 1	МДИ
№ 2	МДИ + 10 % ПВП от массы МДИ
№ 3	МДИ + 10 % ПВП от массы МДИ + 1 % ЛВ от массы МДИ
№ 4	МДИ + 15 % ПВП от массы МДИ + 1 % ЛВ от массы МДИ
№ 5	МДИ + 20 % ПВП от массы МДИ + 1 % ЛВ от массы МДИ

Таблица 2. Водопоглощение полимерных губок (%) в зависимости от состава

Опыт	№ 1		№ 2		№ 3		№ 4		№ 5	
	М	α	М	α	М	α	М	α	М	α
1	15,93	±0,99	20,66	±1,60	18,79	±1,99	35,26	±3,82	31,61	±1,86
2	13,89	±1,05	21,33	±0,93	18,95	±1,83	30,39	±1,05	32,54	±0,86
3	15,02	±0,08	24,10	±1,84	25,06	±4,28	28,68	±2,76	36,25	±2,78

М – среднее значение, α – стандартное отклонение.

губки с разным количеством ПВП толщиной 2 см. Губки получали добавлением к матрице ускорителя 2,4,6-трис-(диметиламинометил)фенола (УП-606/2) и дистиллированной воды. Состав полимерных губок представлен в табл. 1.

Определение водопоглощения проводили по методу [8]. Образцы полимерных губок №1–5 были взвешены и помещены в стаканчики с дистиллированной водой, которые ставили в термостат при температуре 37 °С на 24 ч. Затем образцы промокали между двумя листами фильтровальной бумаги, после чего взвешивали. Водопоглощение рассчитывали по формуле:

$$(m_1 - m_0) \cdot m_0^{-1} \cdot 100\%$$

где m_0 – вес сухого образца, m_1 – вес набухшего образца.

Как видно из табл. 2, водопоглощение полимерных губок, модифицированных ПВП, в среднем выше, чем полимерных образцов без ПВП. В соответствии с экспериментальными данными, увеличение ПВП в составе композиций приводит к росту водопоглощения в образцах 3–5 (рис. 2), что, вероятно, связано с гидратационными особенностями ПВП [9].

Процесс химического взаимодействия МДИ, ПВП и антаксона изучали с помощью метода ИК-спектроскопии. ИК-спектры записывали на спектрофотометре UR-20 в области 700 – 3600 см^{-1} , методом МНПВО

(на отражение), кристалл KRS-5, $n=4$. Были исследованы образцы МДИ с добавлением ПВП и антаксона, а также исходные образцы МДИ, ПВП и антаксона для сравнения.

Как видно (рис. 3), ПВП (спектр 1) имеет две полосы 1310 и 1470 см^{-1} (δCH), интенсивную полосу с пиком в 1700 см^{-1} ($\nu\text{C}=\text{O}_{\text{своб}}$) и характерные интенсивные пики в области 3400–3600 см^{-1} (νOH). МДИ (спектр 2) представляет собой типичный спектр ПУ с его характерными полосами (νCH , νNH , δCH , δNH , $\nu\text{C}=\text{O}$, $\delta\text{C}_6\text{H}_6$ и т.д.). По данным ИК-спектра МДИ+10 % ПВП (спектр 3) можно обнаружить появление

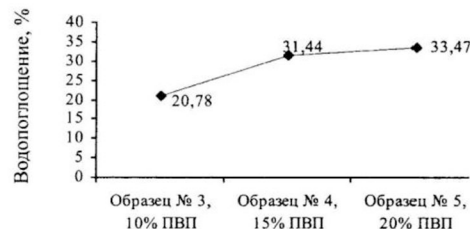


Рис. 2. Зависимость водопоглощения от содержания ПВП в полимерной губке.

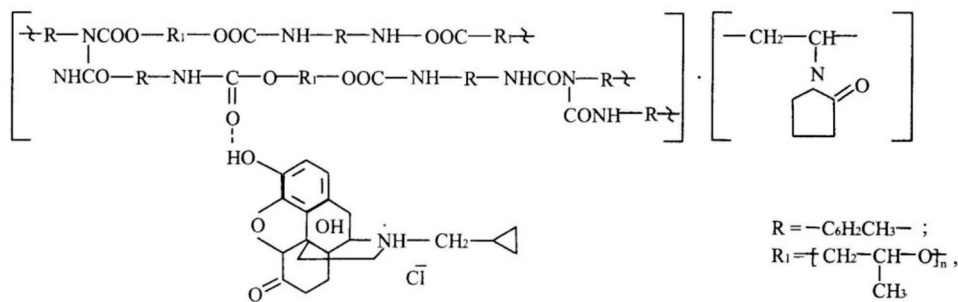


Рис. 1. Разветвленная структура полиуретановой композиции с антаксонам.

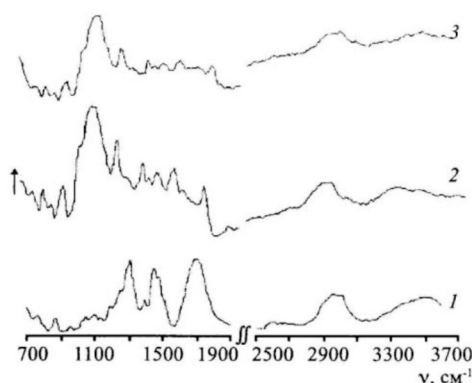


Рис. 3. ИК-спектры: 1 – ПВП; 2 – МДИ; 3 – МДИ + 10 % ПВП.

новой полосы в области 1600–1800 cm^{-1} в результате смещения $\text{C}=\text{O}_{\text{своб}}$ в положение 1780 cm^{-1} $\text{C}=\text{O}_{\text{свз}}$, характерной для образования водородной связи с группами NH. Присутствие ПВП в композиции вызвало увеличение интенсивности полосы 1470 cm^{-1} (δ_{CH} ПВП) и уширение полосы с max 3380 cm^{-1} в области 3450 cm^{-1} за счет OH-групп ПВП.

Следует отметить, что добавление возрастающего количества ПВП (15 и 20 %) в составе композиции приводит к увеличению интенсивности полос валентных колебаний CH (ν_{CH} – 2800–3000 cm^{-1}), деформационных CH (δ_{CH} – 1310, 1470 cm^{-1}), увеличению полосы $\text{C}=\text{O}_{\text{свз}}$ (ν_{CO} – 1680 cm^{-1}). Стандартом для сравнения изменения интенсивности полос служила полоса (ν_{COO} – 1740 cm^{-1}). Гидроксильные группы ПВП связываются с функциональными группами МДИ, в частности с NH-группами, а частично остаются несвязанными, при этом, чем больше ПВП в композиции, тем больше OH-групп, отличающихся по энергии связей, в результате мы наблюдаем уширение полосы в области 3400–3600 cm^{-1} .

Сопоставляя ИК-спектры образцов МДИ + 10 % ПВП и МДИ + 10 % ПВП + 1 % АНТ, мы не обнаружили изменений в спектральных характеристиках этих композиций.

Полученные данные показывают, что присутствующие в ПВП концевые OH-группы, наличие которых связано с традиционным способом синтеза ПВП для медицины [7], образуют водородные связи с функциональными группами МДИ при формировании ПУ-губок.

Известно, что простейшая программа для МТС заключается в равномерной подаче ЛВ в течение необходимого времени. Часто целесообразен кратковременный повышенный выброс ЛВ из системы в начале ее работы с последующим переходом к равномерной подаче, или, если потребность в ЛВ со

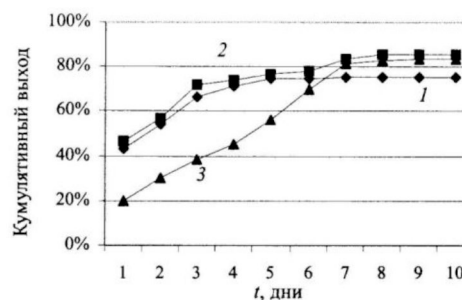


Рис. 4. Выход антаксона в модельную среду из образцов ПУ-композиций: 1 – без ПВП, 2 – с 10 % ПВП, 3 – с 10 % ПВП.

временем уменьшается, можно использовать программы с постепенно уменьшающимся высвобождением ЛВ.

В связи с этим представляло интерес оценить процесс высвобождения депонированного антаксона из ПУ-губки, модифицированной ПВП, в модельную среду. Динамику высвобождения антаксона из ПУ-композиции в физиологический раствор изучали с помощью метода обращенно-фазовой ВЭЖХ. Для этих исследований была отобрана ПУ-композиция с 10 % ПВП, которая обеспечивала однородную структуру при формировании губок и имела наилучшие физико-химические характеристики.

Из ПУ-губок готовили образцы весом 0,01 г и помещали в стеклянные стаканчики с притертой крышечкой, содержащие 1 мл 0,9 %-ного раствора хлорида натрия. Стаканчики ставили в термостат при температуре 37 °С. Через определенные промежутки времени брали пробу и анализировали ее на хроматографе. Растворы меняли каждый день. Содержание высвобождаемого антаксона в физиологическом растворе рассчитывали по методу внешнего стандарта [10]. Результаты обрабатывали методом наименьших квадратов. В работе использовали хроматограф LKB (Швеция) с УФ-детектором и монолитную колонку C_{18} с бимодальными порами Chromolith (Merk, Германия). Мобильная фаза содержала смесь метанола и воды, 60:40 (v/v), скорость потока 0,5 мл/мин, объем пробы – 100 мкл. Измерения проводили при комнатной температуре, длина волны – 220 нм.

Результаты представлены на рис. 4 в виде зависимости изменения концентрации антаксона, высвобождаемого в модельную среду, от времени инкубирования образцов. Как видно, введение в полимерную композицию ПВП приводит к пролонгации процесса высвобождения ЛВ, по сравнению с полимерными композициями, не модифицированными ПВП.

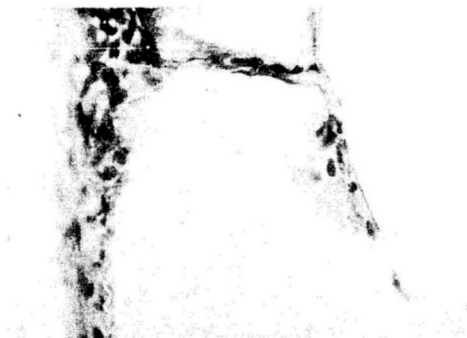


Рис. 5. Участок соединительно-тканной капсулы вокруг ПУ-композиции 2 через 1 мес. после имплантации. Окраска гематоксилин-эозином. x 200.

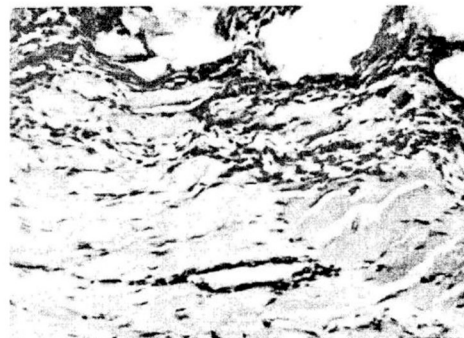


Рис. 6. Соединительная ткань вокруг ПУ-композиции 3 через 1 мес. после имплантации. Окраска гематоксилин-эозином. x 150.

Так, в первые трое суток антаксон высвобождался из ПУ-образцов с ПВП значительно быстрее. Около 50 % ЛВ, включенного в образцы, высвобождалось в модельную среду. Затем процесс заметно замедлялся и к концу 10 сут. концентрация антаксона достигала 85–90 % от введенного. Кумулятивный процент высвобождения антаксона из образцов без ПВП к концу 5-х сут. составлял около 70 %, дальнейшие наблюдения в течение последующих пяти суток показали отсутствие изменения концентрации антаксона в модельных средах.

Причина такого поведения полимерных композиций, на наш взгляд, в следующем. При высвобождении антаксона в модельную среду из образцов с ПВП, как более гидрофильных, за счет большего набухания антаксон диффундирует и с поверхности и изнутри образца, тогда как в образцах без ПВП, ЛВ высвобождается, в основном, с поверхности образца, а приблизительно 30% от включенного ЛВ остается «замкнутым» в толще образца. Кроме того, в образцах с ПВП процесс высвобождения антаксона пролонгируется за счет изменений в структуре самой губки, которые происходят при добавлении ПВП в композицию.

Выбор и оптимизация состава ПУ-композиции, исследование динамики высвобождения антаксона из губок, модифицированных ПВП, и определение продолжительности этого процесса в опытах *in vitro* позволило нам перейти к не менее важному этапу – исследованиям *in vivo*.

Известно [11], что для МТС важно как она будет влиять на окружающие ткани, и как ткани будут воздействовать на систему. С этой целью были проведены гистологические исследования образцов с ПВП и без него.

Образцы 2 и 3 (табл.1) были подсажены подкожно в область спины беспородным белым крысам на 2

недели и 1 месяц. Спустя эти сроки, животных усыпляли и извлекали имплантаты с окружающими тканями. Затем имплантаты с окружающими тканями фиксировали в 10 %-ном нейтральном формалине, проводили по обычной гистологической методике, окрашивали гематоксилином и эозином.

Вокруг образцов на обоих сроках исследования обнаруживалась тонкая эластичная капсула без патологических особенностей. Следует отметить, что для образца 2 на раннем сроке (2 недели) исследований характерны выраженная неоднородность элементов, окружающих капсулу, и тяжи, доходящие на отдельных участках до незначительной дистрофии. Для образца 3 не были установлены выраженные отличия и капсула вокруг него была типичной для инертного тела пористой структуры. Анализ исследуемого материала спустя 1 мес. показал (рис. 5 и 6), что оба образца не проявили выраженной гистотоксичности, а также не способны вызывать атипию окружающих клеточных и тканевых структур.

В опытах *in vivo* определяли действие созданной депо-формы антаксона на уровень катехоламинов, участвующих в формировании патологической зависимости от наркотиков и алкоголя. Для этого использовали ранее разработанную методику определения влияния антаксона на уровень катехоламинов в крови крыс при алкогольной интоксикации [12]. Определяли 3,4-дигидроксифенилаланин (ДОФА) – первый метаболит катехоламинов. Белым беспородным крысам были подсажены образцы МТС с 10 % ПВП и 1 % антаксона (группа 1) и образцы МТС с 10 % ПВП без антаксона (группа 2) на сроки: 3, 7 и 10 сут. Перед хроматографическим определением уровня ДОФА крысам в/б вводили 25 %-ный раствор этанола, после чего, через 60 мин. брали кровь для анализа. Одновременно в опыт брали intactных крыс (группа 3, контроль), которым вводили терапевтическую дозу антаксона (0,71 мг в

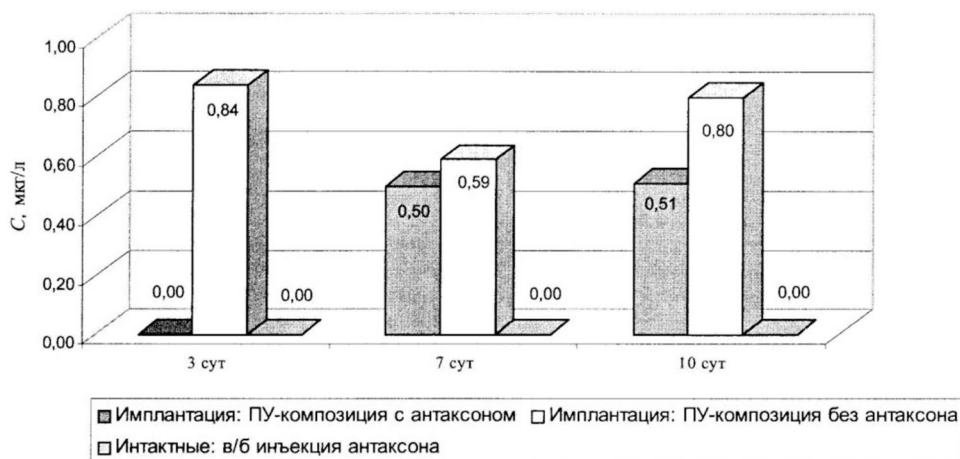


Рис. 7. Уровень ДОФА в крови крыс после имплантации образцов ПУ-композиции.

2 мл дист. воды), через 60 мин. в/б вводили 25 %-ный раствор этанола, спустя час брали кровь для анализа.

Как видно (рис. 7), на 3-и сутки ДОФА (0,84 мкг/л) определялся только в крови крыс группы 2 – там, где отсутствовало лекарство. На 7-е и 10-е сутки уровень ДОФА был 0,50 - 0,51 и 0,59 – 0,80 в группе 1 и 2 соответственно; в группе 3 ДОФА не определялся. Снижение уровня ДОФА при искусственно смоделированном состоянии острой алкогольной интоксикации, очевидно, связано с действием антаксона, который блокирует опиатные рецепторы и таким образом изолирует действие этанола, который сам по себе (острая стадия) вызывает повышенный выброс катехоламинов, приводящий к эффекту «алкоголь-удовольствие». Это согласуется с результатами эксперимента [13], где была произведена оценка влияния действия наркотиков и их антагонистов на синтез дофамина и эпинефрина в мозгу мышей. Результаты этих исследований показали существование корреляции между активностью наркотических лекарств и их способностью повышать синтез катехоламинов. Антагонисты блокировали и то и другое.

Вышеописанный пример ПУ-композиции – это биосовместимая сшитая МТС, модифицированная ПВП для повышения ее гидрофильности. Такие системы обычно помещают в полости организма или имплантируют под кожу. По окончании терапевтического действия систему необходимо извлечь из организма.

Таким образом, изучены свойства биосовместимой ПУ-композиции, модифицированной ПВП, с пролонгированным антинаркотическим действием. В опытах *in vitro* показано, что введение ПВП в состав композиций приводит к росту водопоглощения, что,

вероятно, связано с гидратационными особенностями ПВП. Чем выше процент ПВП в составе ПУ-губок, тем больше водопоглощение. Присутствующие в ПВП концевые ОН-группы образуют водородные связи с функциональными группами МДИ при формировании ПУ-губок. Исследована зависимость изменения концентрации антаксона, высвобождаемого в модельную среду, от времени инкубации образцов. В опытах *in vivo* 1% антаксона в составе ПУ-композиции обеспечивал терапевтический эффект до 3 суток, на 7-е и 10-е сутки терапевтический эффект антаксона не наблюдался.

Результаты проведенных исследований могут быть использованы для разработки теоретических и практических подходов при создании полимерных депоформ антинаркотических ЛВ.

Литература

1. Луговская Г.Г., Руденко А.В., Григорьева М.В. и др. // Доп. НАНУ.- 1999.- №3.- С.146-148.
2. Grigorieva M., Gladir I., Galatenko N. // J. of Bioactive and Compatible Polymers.- 2001.- 16.- P.161-168.
3. Grigorieva M., Gladir I., Galatenko N. // Conference Papers "Advances in Plastics Technology", Katowice, Poland, 18-20 Sept.-2001.- P. 241-247.
4. Жерновая Л.М., Руденко А.В., Луговская Г.Г. и др. // Доп. НАНУ.- 2002.- №5.- С.185-189.
5. Пакин Ю.В. Наркомания и алкоголизм: проблемы и новые возможности лечения. -Киев.- 2000.- 120 с.
6. Мазур Л.М., Будилова И.Ю., Нечаева Л.Ю., Галатенко Н.А. // Доп. НАНУ.- 2004.- № 2.- С. 157-160.
7. Кири Ю.Э. Поли-*N*-винилпирролидон и другие поли-*N*-виниламиды.: Синтез и физико-химические свойства. - М.: Наука, 1998. - 252 с.

8. Практикум по полимерному материаловедению / под ред. П.Г.Бабаевского. - М.: Химия.-1980.- 254 с.
9. Якимов С.А., Шумский В.И., Кири Ю.Э. и др. // Журн. физ. химии.-1986.- 60, вып. 5, 1986.- С.1291-1294.
10. Кэц Э. Количественный анализ хроматографическими методами.- М.:Мир.-1990.- 310 с.
11. Пхакадзе Г.А. Биодеструктурируемые полимеры. – Киев: Наук. думка, 1990.- 159 с.
12. Григор'єва М.В., Мнышенко Т.И., Закашун Т.Ю., Галатенко Н.А. // Доп. НАНУ.- 2004.- №11.- С. 154-158.
13. Bloom A.S., Dewey W.L., Harris L.S., Brosius K.K.// J. Pharm. and Experim. Therap.- 1976.- 198, No. 1.- P. 33-41.

Поступила в редакцию 13 сентября 2004 г.

Вивчення властивостей полімерної композиції на основі сітчастого поліуретану з пролонгованою антинаркотичною дією

М.В. Григор'єва., Л.М. Мазур, Н.А. Галатенко, Т.І.Мнышенко.,Т.Ю. Закашун

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України
Україна, 02160, Київ, Харківське шосе, 48

*Вивчено властивості ПУ-композицій, модифікованих полі-*N*-вінілпіролідом. Утворена, на основі однієї з таких композицій, депо-форма антинаркотичного препарату антаксону досліджена *in vitro* та *in vivo*.*

A Study on the Properties of a Polymeric Composite Based on Network Polyurethane Having a Long-Lasting Effect of Narcotic Drug Antagonist

M. Grigorieva, L. Mazur, N. Galatenko, T. Mnyshenko, T. Zakashun

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

*Properties of polyurethane composites modified by poly-*N*-vinylpyrrolidone were studied, as was a depot form of Antaxon®, a drug antagonist, based on one of such composites.*