

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ «ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

СТАСЮК АННА ВАСИЛІВНА

УДК 541.64; 544.773.432; 66.095.26-922.3

ДИСЕРТАЦІЯ

Фосфоровмісні поліестери L-глутамінової кислоти
біомедичного призначення

102 – Хімія

10 – Природничі науки

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ А. В. Стасюк

Науковий керівник

Самарик Володимир Ярославович
доктор хімічних наук, професор

Львів – 2023

АНОТАЦІЯ

Стасюк А. В. Фосфоровмісні поліестери L-глутамінової кислоти біомедичного призначення. – Кваліфікована наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 Хімія. – Національний університет «Львівська політехніка», Міністерство освіти та науки України, Львів, 2023.

Дисертаційна робота стосується розроблення методики одержання фосфоровмісних поліестерів побудованих на основі похідних двохосновних природних α -амінокислот та поліетиленгліколів, в структуру яких попередньо введена етилфосфатна, або фосфатна, група, методом незворотної активованої поліконденсації за реакцією естерифікації Стегліха, встановлення їхньої структури та дослідження колоїдно-хімічних властивостей, як перспективних матеріалів для створення дисперсних полімерних систем транспорту лікарських препаратів, зокрема, антибактеріальних засобів. Наявність в структурі макроланцюга поліестера фосфатних груп, робить їх придатними для іонного зв'язування органічних речовин, що проявляють основні властивості. Колоїдно-хімічні властивості фосфоровмісних поліестерів регулюються молекулярною масою поліетиленгліколю, що дає можливість для побудови на їх основі стабільних дисперсних систем.

У першому розділі наведено вимоги, які висувають до матеріалу носія систем доставки лікарських препаратів, їх класифікація та сфери застосування. Проаналізовано переваги та недоліки кожного типу наноносія. Полімерні наночастинки на основі поліестерів забезпечують введення терапевтичної речовини, яку вбудовано або кон'юговано з полімером, в конкретне місце доставки. Завдяки біодеградабельності та біосумісності поліестерів, а також здатності захищати активний компонент лікарського засобу від деградації та контролювати його вивільнення, вони є одними з найперспективніших матеріалів для систем доставки лікарських препаратів для медичного призначення. Крім того, на основі поліестерів можна створити системи, які би реагували на зміну водневого показника середовища та контролювано піддавалися б розкладанню, тим самим забезпечуючи контрольоване вивільнення фармацевтичної сполуки.

Введення в структуру поліестерів фосфатної групи ще більше розширяє сферу медичного застосування як систем доставки лікарських препаратів, даючи можливість іонного зв'язування наноносія-транспортера з органічними сполуками. Наведено методи одержання поліфосфатестерів, розглянуто складнощі, які виникають під час проведення синтезу. Розглянуто процес деградації поліфосфатестерів в умовах кислого та лужного водневого показника середовища. Також розглянуто механізм ензиматичного гідролізу поліфосфатестерів. Ґрунтуючись на проведеному огляді сучасних літературних українських та зарубіжних джерел інформації, визначені мета та завдання дослідження.

Другий розділ присвячений розробленню методики синтезу фосфоровмісних поліестерів побудованих на основі дикарбонових α -амінокислот та поліетиленгліколів, в структуру яких попередньо введено етилфосфатну групу, за реакцією естерифікації Стегліха. Для цього були проведені дослідження взаємодії N-стеароїлглутамінової кислоти та діолів поліоксиетиленового ряду, в структуру яких введено етилфосфатну групу – ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфат. Так, в структурі поліестера, в її гідрофільному фрагменті, локалізована функційна група, що здатна зв'язувати різні за типом органічні молекули. На основі ретельного вивчення структури отриманих фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою було виявлено особливості перебігу реакції активованої поліконденсації за реакцією Стегліха та основні чинники, які впливають на ступінь поліконденсації та молекулярну масу отриманих фосфоровмісних поліестерів.

Розроблено методику регулювання кількості фосфатних груп на одну макромолекулу за збереження молекулярної маси фосфоровмісного поліестеру. «Складні» фосфоровмісні поліестери одержували за розробленою методикою активованої поліконденсації за реакцією Стегліха, в яких частина фосфоровмісного мономеру, (ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфат)у, замінена на поліетиленгліколь з молекулярною масою наближеною до відповідного мономеру, з дотриманням мольного співвідношення карбоксильних та гідроксильних груп реагентів близьких до еквімолярних.

Підтверджено структури та охарактеризовано ряд отриманих фосфоровмісних поліестерів N-стеароїлглутамінової кислоти і діолів поліоксиетиленового ряду, в

структуру яких введено етилфосфатну групу. Методами IR, ^1H , ^{13}C , ^{31}P NMR спектроскопії, гель-проникної хроматографії досліджено особливості структури фосфоровмісних поліестерів залежно від умов одержання та природи мономерів.

Значний вплив на проведення реакції активованої поліконденсації за реакцією Стегліха та зниження ступеня поліконденсації фосфоровмісних поліестерів має взаємодія фосфоровмісного мономеру з нуклеофільною добавкою – 4-диметиламінопіридином. Для встановлення цієї взаємодії були проведені дослідження з використанням IR-спектроскопії.

Розроблено методику гідролізу етилфосфатної групи поліестеру, методом газової хроматографії підтверджено виділення етанолу як побічного продукту реакції, встановлено оптимальні умови проведення гідролізу бічного ланцюга поліестеру, зі збереженням основного ланцюга фосфоровмісного поліестеру.

Третій розділ присвячено результатам дослідження колоїдно-хімічних властивостей нових фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною та фосфатною групою. Показано, що такі фосфоровмісні поліестери знижують поверхневий натяг у водних розчинах та ізотерми поверхневого натягу поліестерів з етилфосфатною групою характеризуються одним перегином, а з фосфатною – двома. Обидва типи фосфоровмісних поліестерів здатні утворювати у водному середовищі самостабілізовані дисперсії з нанометричними розмірами частинок дисперсної фази.

Проведені комплексні дослідження залежності розміру частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною та фосфатною групами залежно від концентрації дисперсної фази, зміни температури дисперсії та розчинника в якому був проведений їх синтез. Встановлено, що гістограми середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою, синтезованих в диметилформаміді, мають бімодальний характер, згідно якого розмір «першої» моди лежить в межах 40-100 нм, що співпадає з даними середньочислового розподілу розміру частинок дисперсної фази, «другої» – 350-550 нм. Показано, що зі збільшенням концентрації дисперсної фази та підвищенні температури дисперсії такі частинки проявляють агрегатну нестабільність. Стабілізаційна здатність системи фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою, отриманих в дихлорметані, вища, їхній гідродинамічний діаметр не залежить

від концентрації дисперсної фази чи зміни температури дисперсії, та становить від 6 до 10 нм.

Встановлено, що в діапазоні концентрації фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою 0,2-1,0 % гідродинамічний діаметр дисперсної фази не змінюється та дозволяє формувати водні дисперсії за високих концентрацій. Підвищення температури дисперсії з 40 до 50 °С приводить до зменшення гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази, що підтверджує стабілізаційну здатність системи. Показано вагомість стабілізації за рахунок структурно-механічного бар'єру для частинок, що сформовані поліестерами з фосфатною групою в гідрофільних ланцюгах та формування подвійного електричного шару, як додаткового фактору стабілізації системи.

У четвертому розділі наведено результати досліджень фосфоровмісних поліестерів побудованих на основі N-стеароїлглутамінової кислоти та поліетиленгліколів, макромолекули яких містять фосфатну групу, *in vitro* на культурі клітин, які свідчать про відсутність цитотоксичної дії отриманого поліестеру.

Крім того, стабілізаційна здатність системи була досліджена шляхом додавання розчину хлоридної кислоти, натрій гідроксиду та амінів з різними значеннями константи кислотної дисоціації (pK_a), таких як триетиламін, піридин, 4-диметиламінопіридин. Досліджена солюбілізація судану III дисперсіями фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною та фосфатною групами. Показано, що введення фосфатних груп приводить до значного збільшення солюбілізаційної здатності дисперсії фосфоровмісних поліестерів обох типів.

Проведено дослідження щодо впливу сорбції бичачого сироваткового альбуміну на стійкість самостабілізованих водних дисперсій фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою. Встановлено, що вже при масовому співвідношенні альбуміну до поліестеру 1:1, відбувається зменшення частинок дисперсної фази до розміру $5 \div 20$ нм, а саме їх дезагрегування. Альбумін вносить додаткову стабілізацію дисперсії фосфоровмісних поліестерів та сорбується на частинках дисперсної фази.

Розроблено методика одержання комплексів на основі фосфоровмісного поліестеру з фосфатною групою з антибактеріальними препаратами, такими як

доксидциклін, окситетрациклін, амоксицилін, бензилпеніцилін. Показано, що використання бензилпеніциліну та амоксициліну в формі кон'югату, порівняно з їх традиційними формами, не мають вагомego впливу на антибактеріальну активність проти кишкової і синьогнійної паличок та золотистого стафілококу.

Кон'югати доксицикліну та окситетрацикліну проявляли вагоме збільшення антибактеріальної активності проти кишкової палички та золотистого стафілококу. Отже, антибактеріальну дію традиційних форм антибіотиків можна підвищувати через комплексне їх використання з системами загальної доставки терапевтичних засобів. Проведені дослідження показують, що цей шлях є перспективним лише для антибіотиків, механізм дії яких пов'язаний з порушенням синтезу протеїнів у клітинах мікроорганізмів.

У п'ятому розділі наведено характеристики вихідних речовин, матеріалів, які використовуються у роботі, описано методики проведення синтезів етилдихлорфосфату, тритилового естеру поліетиленгліколю, ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфату, фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною та фосфатною групою, «складних» фосфоровмісних поліестерів, а також методики проведення аналізів, які були використані для досягнення мети дисертаційної роботи.

Ключові слова: фосфоровмісні поліестери, системи доставки, полімерні наносистеми, полімеризація, реакція Стегліха, ступінь поліконденсації, псевдополіамінокислоти, полімерні наночастинки, хемосорбція, самостабілізовані дисперсії, поверхнево-активні властивості, амфіфільні кополімери, антимікробна активність, гідроліз.

ABSTRACT

Stasiuk A. V. Phosphorus-containing polyesters of L-glutamic acid for biomedical application. – Qualified scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation for the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 102 Chemistry. - Lviv Polytechnic National University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Lviv, 2023.

The dissertation is devoted to developing a method for obtaining phosphorus-containing polyesters based on derivatives of dibasic natural α -amino acids and polyethylene glycols; an ethyl phosphate or phosphate group was previously introduced in the structure of diols. The phosphorus-containing polyesters were obtained by the method of irreversible activated polycondensation according to the Steglich esterification reaction. They were also establishing their structure and studying colloidal-chemical properties as promising materials for creating dispersed polymer systems for the transport of medicinal products, particularly antibacterial agents. The presence of phosphate groups in the polyester macrochain makes them suitable for ionic binding of organic substances exhibiting basic properties. The colloidal-chemical properties of phosphorus-containing polyesters are regulated by the molecular weight of polyethylene glycol, which makes it possible to build stable dispersed systems on their basis.

The first section discusses the requirements for the carrier material of drug delivery systems, their classification, and application areas. The advantages and disadvantages of each type of nanocarrier are analysed. Polymeric nanoparticles based on polyesters allow the introduction of a therapeutic substance, which is embedded or conjugated with a polymer, to a specific delivery site. Due to the biodegradability and biocompatibility of polyesters and the ability to protect the active component of the drug from degradation and control its release, they are the most promising materials for drug delivery systems for medical purposes. In addition, based on polyesters, it is possible to create systems that would respond to a change in the hydrogen index of the environment and would be subjected to controlled decomposition, thereby providing a controlled release of a pharmaceutical compound.

Introducing a phosphate group into the structure of polyesters further expands the scope of medical applications as drug delivery systems, enabling ionic binding of the

nanocarrier-transporter with organic compounds. The methods of obtaining polyphosphate esters are presented, and the difficulties that arise during the synthesis are considered. The process of degradation of polyphosphate esters in acidic and alkaline environments is considered. The mechanism of enzymatic hydrolysis of polyphosphate esters is also considered. Based on the review of modern literary Ukrainian and foreign sources of information, the purpose and tasks of this research are defined.

The second chapter is devoted to developing the methodology for synthesizing phosphorus-containing polyesters according to the Steglich esterification reaction. For this purpose, studies of the interaction of N-stearoyl-L-glutamic acid and diols of the polyoxyethylene series, in the structure of which an ethyl phosphate group was introduced - di(poly(oxyethylene))(ethyl)phosphate, were conducted. Thus, the polyester's hydrophilic structure has a localized functional group capable of different binding types of organic molecules. Based on a careful study of the structure of the obtained phosphorus-containing polyesters. The peculiarities of the activated polycondensation reaction obtained by phosphorus-containing polyesters were revealed. The main factors affecting the degree of polycondensation and the molecular weight of the obtained phosphorus-containing polyesters were considered.

A method of regulating the number of phosphate groups per macromolecule while maintaining the molecular weight of phosphorus-containing polyester has been developed. "Complex" phosphorus-containing polyesters were obtained by the developed method of activated polycondensation according to the Steglich reaction, in which a part of the phosphorus-containing monomer, di(poly(oxyethylene))(ethyl)phosphate, is replaced by polyethylene glycol with a molecular weight close to the corresponding monomer, in order to maintain the molar ratio of carboxyl and hydroxyl groups reagents close to equimolar.

The structures of the obtained phosphorus-containing polyesters of N-stearoyl-L-glutamic acid and diols of the polyoxyethylene series, into which introduced an ethyl phosphate group, were confirmed and characterized. Using the methods of IR, ^1H , ^{13}C , ^{31}P NMR spectroscopy, and gel permeation chromatography, the peculiarities of the structure of phosphorus-containing polyesters were investigated, depending on the synthesis conditions and the nature of the monomers.

The interaction of a phosphorus-containing monomer with a nucleophilic additive - 4-dimethylaminopyridine - significantly impacts the reaction activated polycondensation of the Steglich and the reduction of the degree of polycondensation of phosphorus-containing polyesters. The studies were conducted using IR spectroscopy to establish this interaction.

The method of hydrolysis of the ethyl phosphate group of polyester was developed, the formation of ethanol as a by-product of the reaction was confirmed by gas chromatography, and the optimal conditions for the hydrolysis of the side chain of polyester, while preserving the main chain of phosphorus-containing polyester, were established.

The third chapter is devoted to the results of research into the colloidal-chemical properties of new phosphorus-containing polyesters with ethyl phosphate and phosphate groups. It is shown that such phosphorus-containing polyesters lower the surface tension in aqueous solutions, and the surface tension isotherms of polyesters with an ethyl phosphate group are characterized by one inflection and with a phosphate group by two. Both types of phosphorus-containing polyesters are capable of forming self-stabilized dispersions with nanometer-sized particles of the dispersed phase in an aqueous medium.

Complex studies of the dependences of the particle size of the dispersed phase of phosphorus-containing polyesters with ethyl phosphate and phosphate groups were carried out depending on their concentration, temperature changes and the solvent in which their synthesis was carried out. It was found that the histograms of the average volume distribution of the hydrodynamic diameter of particles of the dispersed phase of phosphorus-containing polyesters with an ethyl phosphate group, synthesized in dimethylformamide, have a bimodal character according to which the size of the "first" mode lies within 40-100 nm, which coincides with the data of the average numerical distribution of the particle size dispersed phase, "second" - 350-550 nm. It is shown that with an increase in the concentration of the dispersed phase and an increase in temperature, such particles exhibit aggregate instability. The stabilizing ability of the system of phosphorus-containing polyesters with an ethyl phosphate group obtained in dichloromethane is higher; their hydrodynamic diameter does not depend on concentration or temperature increase and is from 6 to 10 nm.

It is shown that in the concentration range of phosphorus-containing polyesters with a phosphate group of 0.2-1.0 %, the hydrodynamic diameter of the dispersed phase does not

change and allows the formation of aqueous dispersions at high concentrations. An increase in temperature from 40 to 50 °C leads to a decrease in the hydrodynamic diameter of the particles of the dispersed phase, which confirms the stabilization ability of the system. The importance of stabilization due to the structural-mechanical barrier for particles formed by polyesters with a phosphate group in hydrophilic chains and the formation of an electric double layer as an additional factor of system stabilization has been confirmed.

The fourth chapter presents the results of research on phosphorus-containing polyesters based on N-stearoyl-L-glutamic acid and polyethylene glycols, the macromolecules containing a phosphate group in vitro on living cells, which indicate the absence of cytotoxic effects of the obtained polyester.

In addition, the stabilization ability of the system was investigated by adding a solution of hydrochloric acid, sodium hydroxide, and amines with different values of the acid dissociation constant (pK_a), such as triethylamine, pyridine, 4-dimethylaminopyridine. Solubilization of Sudan III by dispersions of phosphorus-containing polyesters with ethyl phosphate and phosphate groups was studied. It is shown that the introduction of phosphate groups leads to a significant increase in the solubilization ability of the dispersion of phosphorus-containing polyesters.

The influence of bovine serum albumin sorption on the stability of self-stabilized aqueous dispersions of phosphorus-containing polyesters with a phosphate group was studied. It is shown that already at a mass ratio of albumin to polyester of 1:1, the particles of the dispersed phase decrease to the size of 5÷20 nm, that is, their disaggregation. Albumin provides additional stabilization of the dispersion of phosphorus-containing polyesters and was sorb on the particles of their dispersed phase.

A technique for obtaining complexes based on phosphorus-containing polyester with a phosphate group with antibacterial drugs, such as doxycycline, oxytetracycline, amoxicillin, benzylpenicillin, has been developed. It is shown that the use of benzylpenicillin and amoxicillin in the form of a conjugate does not significantly affect the antibacterial activity on the growth of cultures of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*.

Doxycycline and oxytetracycline conjugates significantly increased antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Therefore, a way to increase

the antibacterial capacity of commercial antibiotics can be sought through their use with systems of general delivery of therapeutic agents. Conducted studies show that this path is only promising for antibiotics, the mechanism of action of which is associated with disruption of protein and RNA synthesis of cells of microorganisms.

The fifth chapter gives the characteristics of the starting substances and materials used in work and describes the methods of synthesizing ethyl dichlorophosphate, trityl ester of polyethylene glycol, di(poly(oxyethylene))(ethyl)phosphate, phosphorus-containing polyesters with ethyl phosphate and phosphate groups, as well as the methods of conducting analyzes of the used when performing dissertation research.

Key words: phosphorus-containing polyesters, drug delivery systems, polymer nanosystems, polymerization, Steglich reaction, degree of polycondensation, pseudopolyamino acids, polymer nanoparticles, chemisorption, self-stabilized dispersions, surface-active properties, amphiphilic copolymers, antimicrobial activity, hydrolysis.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових періодичних виданнях іноземних держав та у виданнях України, що індексовані в міжнародних наукометричних базах даних (Scopus Web of Science)

1. **Stasiuk, A. V.**, Fihurka, N. V., Tarnavchyk, I. T., Nosova, N. G., Pasetto, P., Varvarenko, S. M., & Samaryk, V. Y. (2022). Influence of structure and nature of pseudo-poly(amino acid)s on size and morphology of their particle in self-stabilized aqueous dispersions. *Applied Nanoscience*. <https://doi.org/10.1007/s13204-022-02664-7>. (**Scopus, Web of Science**). *Особистий внесок: синтез фосфоровмісних поліестерів, проведення експериментальних досліджень, підготовка матеріалів до публікації.*

2. **Stasiuk, A.**, Fihurka, N., Vlizo, V., Prychak, S., Ostapiv, D., Varvarenko, S., & Samaryk, V. (2022). Synthesis and properties of phosphorus-containing pseudo-poly(amino acid)s of polyester type based on n-derivatives of glutaminic acid. *Chemistry & Chemical Technology*, 16(1), 51–58. <https://doi.org/10.23939/chcht16.01.051>. (**Scopus, Web of Science**). *Особистий внесок: синтез фосфоровмісних поліестерів, дослідження їхніх властивостей, обробка даних, підготовка статті до публікування.*

Статті у наукових фахових виданнях України

3. **Стасюк, А.В.**, Лях, В.І., Капаціла, С.М., Фігурка, Н.В., Самарик, В.Я. (2022). Дослідження розміру дисперсної фази самостабілізованої водної дисперсії фосфоровмісних поліестерів. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*, 4(2), 208–212. <https://doi.org/10.23939/ctas2022.01.208>. *Особистий внесок: синтез фосфоровмісних поліестерів, обговорення результатів, підготовка статті до публікування.*

4. **Стасюк, А.В.**, Причак, С.П., Фігурка, Н.В., Варваренко, С.М., Самарик, В.Я. (2021). Синтез фосфоровмісних псевдополіамінокислот поліестерного типу. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*, 4(1), 224–229. <https://doi.org/10.23939/ctas2021.01.224>. *Особистий внесок: синтез фосфоровмісних поліестерів, обговорення результатів, підготовка статті до публікування.*

5. **Стасюк, А.В.**, Дронь, І.А., Хом'як, С.В., Гевусь, О.І., Самарик, В.Я. (2019). Синтез деяких фосфоровмісних похідних поліетиленгліколів. *Хімія*,

технологія речовин та їх застосування, 2(2), 18–25.
<https://doi.org/10.23939/ctas2019.02.018>. *Особистий внесок: синтез фосфоровмісних похідних поліетиленгліколів, проведення досліджень, підготовка статті до публікування.*

Патент України

6. **Стасюк, А.В.**, Фігурка, Н.В., Дронь, І.А., Букартик, Н.М., Причак, С.П., Лях, В.І., Остапів, Д.Д., Носова, Н.Г., Варваренко, С.М., Влізло, В.В., Самарик В.Я. (08.12.2021). Патент України на винахід № 124918 «Фосфоровмісні поліестеретери похідних двоосновних природних α -амінокислот та поліетиленгліколів». Бюл. № 49. *Особистий внесок: синтез фосфоровмісних поліестерів, обговорення результатів, участь у написанні патенту.*

Тези доповідей та матеріали конференцій

7. **Stasiuk A.V.**, Dron I.A., Pasetto P., Samaryk V.Y. Impact of albumin sorption on the morphology of the dispersed phase of aqueous dispersions of phosphorus-containing polyesters. *Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2022): abstract book of international research and practice conference, 25-27 August 2022, Lviv, Ukraine* – P. 126. *Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів, участь у конференції.*

8. **Стасюк А. В.**, Лях В. І., Сачук А. В., Шабікова В. І., Самарик В. Я. Колоїдно-хімічні властивості фосфоровмісних поліестерів отриманих за реакцією Стегліха. *Перспективи хімії в сучасному світі: матеріали II Інтернет-конференції молодих вчених, 23 листопада 2022 року, м. Житомир, Україна* – С. 80–82. *Особистий внесок: планування експериментальних досліджень, обговорення результатів, участь у конференції.*

9. **Stasiuk A.**, Dron I., Ostapiv D., Samaryk V., Liakh V. Study of the particle distribution of the dispersed phase of phosphoruscontaining polyesters. *EPF European Polymer Congress 2022: book of abstracts, 26 June – 1 July 2022, Prague, Czech Republic* – P. 491. *Особистий внесок: планування експериментальних досліджень, обговорення результатів, написання тези, участь у конференції.*

10. Остапів Р.Д., Стасюк А. В., Шабікова В. І., Самарик В. Я., Остапів Д. Д. Структура і склад комплексів антибіотиків з полімерами-транспортерами. *Біологія тварин* (Т. 24, № 2.): тези доповідей XX Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича, 19 травня 2022 року, м. Львів, Україна – С. 54. *Особистий внесок: приготування комплексів поліестерів з антибіотиками, обговорення результатів, написання тези.*

11. **Stasiuk A.**, Lyakh V., Fihurka N., Dron I., Samaryk V. Influence of phosphate group introduction on properties of pseudo-poly(amino acid)s of polyester type. *Open readings 2022: abstract book of the 65th international conference for students of physics and natural sciences, 15th–18th March 2022, Vilnius, Lithuania* – P. 405. *Особистий внесок: планування експериментальних досліджень, обговорення результатів, написання тези, участь у конференції.*

12. Лях В. І., Сачук А. В., Король І. Я., Боцула Д. М., Стасюк А. В. Одержання та властивості кон'югатів фосфоровмісних псевдополіамінокислот з антибіотиками. *Сучасні проблеми хімії: тези доповідей XXIII Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених, 18–20 травня 2022 року, м. Київ, Україна* – С. 112. *Особистий внесок: планування експериментальних досліджень, обговорення результатів, написання тези.*

13. **Stasiuk A.**, Lyakh V., Kapatsila S., Ostapiv D., Samaryk V. Synthesis of phosphorus-containing polyesters by the steglich reaction and their surface-active properties. *Поступ в нафтогазопереробній та нафтохімічній промисловості: матеріали XI Міжнародна науково-технічної конференції, 16–20 травня 2022 року, м. Львів, Україна* – С. 168–169. *Особистий внесок: планування експериментальних досліджень, обговорення результатів, участь у конференції.*

14. **Stasiuk A. V.**, Fihurka N. V., Prychak S. P., Ostapiv D. D., Varvarenko S. M., Samaryk V. Y. Influence of structure and nature of pseudopolyamino acids on size and morphology of their particle in self-stabilized aqueous dispersions. *Nanotechnology and nanomaterials (NANO–2021): book of astract International research and practice*

conference, 25–27 August 2021, Lviv, Ukraine – P. 157. *Особистий внесок: планування експериментальних досліджень, обговорення результатів, участь у конференції.*

15. **Stasiuk A. V.**, Ilkov O. O., Dron I. A., Fihurka N. V., Ostapiv R. D., Ostapiv D. D., Nosova N. G., Samaryk V. Y., Vlizlo V. V. Application of pseudo-polyamino acids to create antibacterial drugs with high antimicrobial effect. *Полімери спеціального призначення: тези доповідей X Українсько-польської наукової конференції, 21–24 вересня 2020 року, м. Львів, Україна – С. 108–109. Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів, написання тези.*

16. Fihurka N. V., **Stasiuk A. V.**, Prychak S. P., Varvarenko S. M., Samaryk V. Y. Pseudo-polyamino acids of polyester type as promising polymers for medical and biomedical application. *Полімери спеціального призначення: тези доповідей X Українсько-польської наукової конференції, 21–24 вересня 2020 року, м. Львів, Україна – С. 28–29. Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів, написання тези.*

17. Фігурка Н. В., Самарик В. Я., Варваренко С. М., Тарнавчик І. Т., **Стасюк А. В.** Наносистеми на основі псевдополіамінокислот поліестерного типу для біології та медицини. *Нанорозмірні системи: будова, властивості, технології: тези VI Наукової конференції НАНСИС-2019, 4–6 грудня 2019 року, м. Київ, Україна – С. 205. Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів.*

18. Nagorniak M. I., Vynnytska S. I., **Stasiuk A. V.**, Dron I. A., Samaryk V. Y. Polysaccharide based microhydrogels synthesized using Steglich esterification. *Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2019): book of abstract International research and practice conference, 27–30 August 2019, Lviv, Ukraine – P. 156. Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів.*

19. **Стасюк А. В.**, Букартик М. М., Самарик В. Я. Синтез поліетиленглікольетилфосфату з оксихлориду фосфора // *Актуальні питання хімії та інтегрованих технологій: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 80-річчю кафедри хімії ХНУМГ ім. О. М. Бекетові, 7–8 листопада 2019 року, м. Харків, Україна – С. 58. Особистий внесок: планування і проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів, написання тези.*

ЗМІСТ

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1	26
ПОЛІМЕРНІ СИСТЕМИ ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ	26
1.1 Системи доставки лікарських препаратів	26
1.1.1 Полімерні міцели.....	27
1.1.2 Ліпосоми та наноемульсії	28
1.1.3 Дендримери	28
1.1.4 Тверді ліпідні наночастинки.....	29
1.1.5 Нанокапсули	30
1.1.6 Металеві наночастинки.....	31
1.1.7 Наносії на основі мезопористого кремнію.....	31
1.1.8 Нанокристали	32
1.1.9 Наногелі	33
1.2 Поліестери як носії для систем доставки лікарських препаратів	34
1.2.1 рН-чутливі поліестери	35
1.2.2 Відновно-чутливі поліестери.....	36
1.2.3 Ферментативно-чутливі поліестери	37
1.3 Поліестери фосфатної кислоти як перспективні матеріали для біомедичного призначення.....	38
1.3.1 Методи одержання поліфосфатестерів	40
1.3.1.1 Синтез поліфосфатестерів шляхом поліконденсації	41
1.3.1.2 Синтез поліфосфатестерів шляхом поліприєднання.....	42
1.3.1.3 Синтез поліфосфатестерів шляхом полімеризації з розкриттям циклу	42
1.3.2 Механізми гідролізу поліфосфатестерів	44

1.3.3 Ензиматична деградація.....	45
РОЗДІЛ 2	47
СИНТЕЗ ФОСФОРОВМІСНИХ ПОЛІЕСТЕРІВ ЗА РЕАКЦІЄЮ ЕСТЕРИФІКАЦІЇ СТЕГЛІХА.....	47
2.1 Синтез фосфоровмісних поліестерів.....	50
2.1.1 Підтвердження структури отриманих фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою	52
2.1.2 Вплив умов синтезу на вихід та склад фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою	56
2.2 Отримання «складних» фосфоровмісних поліестерів.....	62
2.3 Вплив фосфатного фрагменту в складі мономеру на перебіг реакції поліконденсації	70
2.4 Дослідження гідролізу етилфосфатної групи фосфоровмісних поліестерів	74
РОЗДІЛ 3	78
КОЛОЇДНО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ФОСФОРОВМІСНИХ ПОЛІЕСТЕРІВ	78
3.1 Дослідження поверхнево-активних властивостей фосфоровмісних поліестерів	80
3.2 Дослідження розміру частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою методом динамічного світлорозсіювання	82
3.3 Дослідження розміру частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою методом динамічного світлорозсіювання	90
3.4 Дослідження розміру частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів методом трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ)	99
РОЗДІЛ 4	103
НАПРЯМКИ ПРАКТИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ОДЕРЖАНИХ ФОСФОРОВМІСНИХ ПОЛІЕСТЕРІВ	103
4.1 Дослідження стабілізаційної здатності фосфоровмісних поліестерів методом динамічного світлорозсіювання	104
4.2 Дослідження солюбілізаційної здатності фосфоровмісних поліестерів	107

4.3 Дослідження адсорбції альбуміну на стійкість дисперсії фосфоровмісних поліестерів	108
4.3 Дослідження цитотоксичності дисперсій фосфоровмісних поліестерів	110
4.4 Дослідження кон'югатів фосфоровмісних поліестерів з антибактеріальними препаратами.....	112
РОЗДІЛ 5	122
ВИХІДНІ РЕЧОВИНИ, МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕННЯ СИНТЕЗІВ ТА АНАЛІЗІВ.....	122
5.1 Вихідні речовини, матеріали та їх характеристики.....	122
5.2 Методики проведення синтезів	124
5.2.1 Методика одержання етилдихлорфосфату (EDP)	124
5.2.2 Методика одержання тритилового естеру поліетиленгліколю (PEG-Tr).....	125
5.2.3 Методика одержання ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфату (DEP)	126
5.2.4 Методика одержання фосфоровмісних поліестерів (ЕФП)	127
5.2.5 Методика одержання «складних» фосфоровмісних поліестерів	128
5.2.6 Методика одержання фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою (ФП)	129
5.3. Методики проведення аналізів	129
5.3.1 IR-спектроскопія з перетворенням Фур'є.....	129
5.3.2 NMR-спектроскопія	129
5.3.3 Гель-проникна хроматографія.....	130
5.3.4 Визначення молекулярної маси методом ізотермічної перегонки	130
5.3.5 Визначення молекулярної маси віскозиметричним методом	131
5.3.6 Визначення поверхневого натягу та критичної концентрації міцелоутворення водних дисперсій ЕФП і ФП	131
5.3.7 Визначення ефективного гідродинамічного радіусу та ζ -потенціалу частинок у дисперсіях ЕФП і ФП методом динамічного світлорозсіювання (DLS).....	131
5.3.8 Дослідження сорбції альбуміну дисперсіями фосфоровмісних поліестерів.	132

5.3.9	Визначення розмірів частинок фосфоровмісних поліестерів методом релеевського світлорозсіювання	132
5.3.10	Дослідження солубілізаційних властивостей у дисперсіях ЕФП і ФП	132
5.3.11	Потенціометричний метод аналізу для визначення загальної кислотності ФП	133
5.3.12	Визначення кількості гідроксильних груп	134
5.3.13	Хроматографічний аналіз	134
5.3.14	Визначення вмісту антибіотика в дисперсії ФП.....	135
5.3.15	Дослідження антимікробної дії кон'югатів фосфоровмісних поліестерів з антибіотиками	135
5.3.16.	Дослідження цитотоксичності фосфоровмісних поліестерів	136
ВИСНОВКИ	137
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	139
ДОДАТКИ	154
ДОДАТОК А	155
ДОДАТОК Б	156

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

СДЛ	системи доставки лікарських препаратів
ТЛН	тверді ліпідні наночастинки
МПК	мезопористого кремнію
ДНК	дезоксирибонуклеїнова кислота
ПФ	поліфосфатестери
ЕФП	фосфоровмісні поліестери з етилфосфатною групою
ФП	фосфоровмісні поліестери з фосфатною групою
ППАК	псевдополіамінокислоти
GluSt	2-(октадеканоїламіно)пентандіова кислота або N-стеароїлглутамінова кислота
PEG	поліетиленгліколь
PPG	поліпропіленгліколь
TrCl	трифенілметил хлорид або тритил хлорид
PEG-Tr	третиловий естер поліетиленгліколю
DEP	ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфат
TEA	триетиламін
TsOH	p-толуолсульфо кислота
DCC	N,N'-дициклогексилкарбодимід
DCU	N,N-дициклогексилсечовина
DMAP	4-диметиламінопіридин
DCM	дихлорметан
DMF	N,N-диметилформаїд
THF	тетрагідрофуран
NA	нуклеофільна добавка
EDP	етилдихлорфосфат
pH	водневий показник
pK_a	константа кислотної асоціації
ККМ	критична концентрація міцелоутверення
ККА	критична концентрація агрегатоутверення
IR	інфрачервона спектроскопія
NMR	ядерний магнітний резонанс
GPC	гель-проникна хроматографія
DLS	динамічне світлорозсіювання
TEM	трансмісійна електронна мікроскопія

ВСТУП

Впродовж останніх двох десятиліть особливу увагу було зосереджено на розробленні, дослідженні та використанні систем доставки лікарських препаратів на основі полімерних матеріалів поліестерного типу, які визнані дуже поширеними носіями як гідрофільних, так і ліпофільних фармацевтичних речовин, та є біосумісними, біодеградабельними і не токсичними. Сучасні досягнення в хімічній, медичній, фармацевтичній, біологічній та інших пов'язаних галузях дають змогу створювати системи для доставки ліків, вакцин, генів і багатьох інших біомолекул до конкретного місця в організмі (клітині) з контрольованим його вивільненням. Нові препарати для доставки лікарських препаратів та їхнє застосування вивчаються впродовж тривалого часу, причому, на сьогодні, основна увага приділяється системам на основі полімерних наночастинок та їхнім перевагам.

Останні досягнення в біомедицині вимагають критичного та систематичного перегляду сучасних тенденцій у розробці та модифікації біоматеріалів для медичних застосувань. Існує нагальна й економічна потреба в нових функціональних полімерах, які можна використовувати в численних біомедичних застосуваннях, зокрема як носії в системах доставки лікарських препаратів/вакцин/генів. Тому введення в структуру макроланцюга поліестера, побудованого на основі дикарбонових α -амінокислот та поліетиленгліколів, іоногенної групи, зокрема, фосфатної, є актуальним завданням, оскільки дає можливість створення комплексів з органічними сполуками завдяки іонного зв'язку та їх транспорту в організмі.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації відповідає науковому напрямку кафедри органічної хімії: “Розробка реакційноздатних і ініціюючих систем для функціоналізації (пероксидації) міжфазних поверхонь та формування на них спеціальних полімерних наночастинок і конструювання наповнених композитів та біосумісних, біодеградабельних полімерних матеріалів, модифікації природних речовин”

Дисертація виконана в межах науково-дослідних робіт: “Функціональна мімікрія людської шкіри прищепленими до полімерної поверхні гібридними гідрогелями біополімерів для лікування її ушкоджень великої площі” (2018-2020), № держреєстрації 0118U000262; “Синтез магніточутливих модифікованих дисперсій

гідрогелів з частинками типу ядро-оболонка як носіїв для біомедичних застосувань” (2019), № держреєстрації 0119U101956; “Синтез магніточутливих модифікованих дисперсій гідрогелів з частинками типу ядро-оболонка як носіїв для біомедичних застосувань” (2020), № держреєстрації 0120U103816; “Створення гідрогелевих засобів для воєнно-польової медицини і медицини катастроф та технології їх виробництва” (2021-2022), № держреєстрації 0121U109521.

Автор дисертаційної роботи є одним з виконавців цих тем. Частина експериментального дослідження була проведена здобувачем під час стажування у Інституті Молекул і Матеріалів в м. Ле Ман (у рамках програми ERASMUS+ та міжуніверситетської угоди між Національним університетом «Львівська політехніка» та Університетом Ле Ман (Франція).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є розроблення дисперсійних систем доставки на основі псевдополіамінокислот поліестерного типу, що здатні хемосорбувати біологічно активні сполуки.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- Розробити методику синтезу фосфоровмісних мономерів, встановити та підтвердити їхню структуру, на його основі синтезувати новий клас полімерів – фосфоровмісні поліестери, встановити та підтвердити їхню структуру.
- Дослідити особливості перебігу реакції активованої поліконденсації за реакцією естерифікації Стегліха в синтезі фосфоровмісних поліестерів при різних співвідношеннях реагентів та у різних розчинниках.
- Дослідити процес гідролізу етилфосфатної групи фосфоровмісних поліестерів та підтвердити їхню структуру.
- Дослідити поверхнево-активні властивості одержаних фосфоровмісних поліестерів, гідродинамічний діаметр частинок дисперсної фази самостабілізованих водних дисперсій на основі отриманих фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною та фосфатною групою та їхню стабілізаційну здатність.
- Провести дослідження цитотоксичності фосфоровмісних поліестерів, їхніх комплексів з антибактеріальними препаратами, оцінити ступінь їхнього впливу на культуру клітин.

- Продемонструвати шляхи практичного використання фосфоровмісних поліестерів, як нанотранспортерів фармацевтичних речовин, та дослідити ефективність комплексів з антибактеріальними речовинами порівняно з традиційним застосуванням.

Об'єкт дослідження. Об'єктами дослідження є синтез фосфоровмісних поліестерів на основі N-стеароїлглутамінової кислоти та діолів поліоксиетиленової природи, в яких введена етилфосфатна група, за реакцією Стегліха, гідроліз етилфосфатної групи, їхні поверхнево-активні властивості та стабілізаційну здатність водних дисперсій на основі отриманих нових фосфоровмісних поліестерів L-глутамінової кислоти.

Предмет дослідження. Предметом дослідження є фосфоровмісні поліестери на основі N-стеароїлглутамінової кислоти та діолів поліоксиетиленового ряду, в структуру яких введена фосфатна група.

Методи дослідження. IR-спектроскопія з Фур'є перетворенням, ^1H , ^{13}C та ^{31}P NMR-спектроскопія, гель-проникна хроматографія, динамічне світлорозсіювання, визначення поверхневого натягу (методом Дю-Нуї), функціональний аналіз, газова хроматографія, об'ємні методи аналізу.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що:

- вперше запропоновано та розроблено методику синтезу фосфоровмісних поліестерів методом незворотньої активованої поліконденсації за реакцією Стегліха;
- вперше досліджено закономірності перебігу реакції отримання фосфоровмісних поліестерів за реакцією Стегліха та вплив умов синтезу на їхні колоїдно-хімічні властивості;
- вперше створено комплекси на основі отриманих нових фосфоровмісних поліестерів та антибактеріальних препаратів та доведено їхню ефективнішу дію порівняно з антибіотиками у традиційному вигляді.

Практичне значення отриманих результатів. За результатами встановлених закономірностей та розробленої методики синтезу отримано нові поверхнево-активні фосфоровмісні поліестери L-глутамінової кислоти. Наведені в роботі результати цілеспрямованих досліджень з формування на основі отриманих фосфоровмісних поліестерів водних дисперсій, їхні колоїдно-хімічні властивості, здатність сорбувати

альбумін, антибактеріальні препарати, солюбілізувати малорозчинні у воді сполуки – дозволяють вважати їх перспективними матеріалами для застосування у медичних та біохімічних дослідженнях.

Перспективність використання нових фосфоровмісних поліестерів для медичного застосування підтверджено дослідженнями, проведеними в Інституті біології тварин НААН України, публікаціями, які не ввійшли в перелік фахових, та патентами на корисну модель.

Особистий внесок здобувача полягає в аналізі літературних джерел, обґрунтуванні мети та завдань досліджень, виконанні експериментальної роботи щодо одержання фосфоровмісних поліестерів L-глутамінової кислоти з етилфосфатною та фосфатною групами, розробленні методів аналізу складу поліестерів та комплексного дослідження властивостей отриманих поліестерів та дисперсних систем на їх основі. Обговорення та узагальнення одержаних експериментальних результатів, вибір напрямків практичного застосування та формулювання висновків проводилось автором спільно з науковим керівником д.х.н., проф. Самариком В.Я., а також д.х.н., проф. Варваренком С.М., д.т.н., с.н.с. Носовою Н.Г. Спектральні та молекулярно-масові характеристики фосфоровмісних поліестерів досліджувались в Інституті молекул та матеріалів (м. Ле Ман, Франція). Біохімічні дослідження проводились в Інституті біології тварин НААН та обговорювались з д.с.-г.н. Остапівим Д.Д.

Апробація результатів дисертації. Основні положення і результати дисертаційної роботи доповідалися й обговорювалися на: X International conference «Nanotechnology and nanomaterials» (NANO-2022) (Lviv, 2022); II інтернет-конференція молодих вчених «Перспективи хімії в сучасному світі» (Житомир, 2022); EPF European Polymer Congress (Prague, Czech Republic, 2022); XX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича (Львів, 2022); 65th International conference for students of physics and natural sciences Open readings 2022 (Vilnius, Lithuania); XXIII Міжнародна конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» (Київ, 2022); XI Міжнародна науково-

технічна конференція «Поступ в нафтогазопереробній та нафтохімічній промисловості» (Львів, 2022); IX International conference «Nanotechnology and nanomaterials» (NANO-2021) (Lviv, 2021); X Українсько-польська наукова конференція «Полімери спеціального призначення» (Львів, 2020); VI Наукова конференція «Нанорозмірні системи: будова, властивості, технології» (НАНСИС-2019) (Київ, 2019); VII International conference «Nanotechnology and nanomaterials» (NANO-2019) (Lviv, 2019); міжнародна науково-практична конференція, присвячена 80-річчю кафедри хімії ХНУМГ ім. О. М. Бекетова «Актуальні питання хімії та інтегрованих технологій» (Харків, 2019).

Публікації. Основні положення дисертації відображені у 19 друкованих працях, з них 3 статті у наукових фахових виданнях України, 2 статті у наукових періодичних виданнях іноземних держав та у виданнях України, що індексовані в міжнародних наукометричних базах даних, 1 патент України на винахід, 13 тез доповідей на міжнародних і всеукраїнських конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел літератури (169 найменувань) та 2-ох додатків. Загальний обсяг дисертації становить 156 сторінок, містить 12 таблиць та 77 рисунків.

РОЗДІЛ 1

ПОЛІМЕРНІ СИСТЕМИ ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

1.1 Системи доставки лікарських препаратів

Системи доставки лікарських препаратів (СДЛ) — це сконструйовані пристрої, які використовуються для транспортування фармацевтичної сполуки по всьому організму з метою контрольованого вивільнення її терапевтичного вмісту [1]. Завдяки інкапсуляції молекул лікарських препаратів у структуру, подібну до захисної оболонки, зменшуються фізико-хімічні або ферментативні руйнування активної сполуки в організмі [2]. Такі руйнування можуть призводити до інактивації шляхом утворення молекулярних комплексів, або синергетичних чи антагоністичних взаємодій [3]. Своєю чергою, інкапсуляція молекул із захисною оболонкою не тільки підвищує біодоступність активної сполуки, але й також зменшує небажані побічні ефекти, які спричинені неспецифічним системним розподілом [2]. Нанокансуляція фармацевтичних біоактивних сполук допомагає не лише зменшити частоту введення доз, які необхідні під час лікування, але також може забезпечити фізичний захист препарату під час зберігання до його контрольованого вивільнення [4]. Завдання СДЛ полягає в тому, щоб здійснити вивільнення фармацевтичної сполуки у потрібний час безпечним і відтворюваним способом, як правило, до конкретного цільового місця [5]. Наночасії, які призначені для СДЛ, можуть бути виготовлені з різноманітних матеріалів, наприклад, білків, полісахаридів, синтетичних полімерів та неорганічних солей металів [6, 7]. Вибір матеріалів матриці залежить від багатьох факторів. До них відносять [1]:

- 1) розмір необхідних наночастинок;
- 2) фізичні властивості препарату, наприклад, розчинність у воді та стабільність;
- 3) характеристики поверхні, такі як заряд і проникність;
- 4) ступінь біодеградабельності, біосумісності та токсичності.

Отже, насамперед, матеріали, що використовуються як носії, не мають викликати будь-якої реакції в організмі реципієнта та не лише матеріал матриці мають бути біосумісними, але й продукти його розпаду. Крім того, механічні властивості полімеру мають забезпечувати тривалий захист його фармацевтичної

сполуки, забезпечуючи хімічну стабільність з часом. Також, процеси, які використовуються для розробки наноносіїв, мають давати послідовні результати від партії до партії, такі як розмір, полідисперсність, ефективність інкапсуляції та стабільність [8]. Залежно від природи, агрегатного стану і морфологічних особливостей носія СДЛ бувають на основі полімерних наночастинок, міцел, ліпосом, наноемульсій, дендримерів, твердих ліпідних наночастинок, нанокристалів, наногелів та пористого кремнезему [9].

1.1.1 Полімерні міцели

Полімерні міцели (рис. 1.1) — це наноструктури, які будуються з амфіфільних блок-кополімерів та збираються самі по собі, утворюючи структуру ядра-оболонки у водному розчині [10]. Гідрофобне ядро можна завантажувати як гідрофобними, так і гідрофільними сполуками, залежно від конструкції, водночас гідрофільна оболонка робить всю систему розчинною у воді та стабілізує ядро.

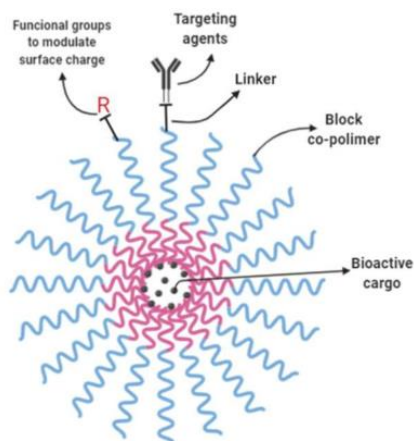


Рис. 1.1 Схематичне зображення полімерної міцели, що складається з кополімеру (червоні та сині хвилясті лінії). Оболонка ядра утворена інкапсуляцією біоактивного вантажу всередині. Поверхня може бути функціоналізована молекулами-лінкерами та додатково декорована націлюючими лігандами для забезпечення цільової доставки [11]

Полімерні міцели мають розмір менше 100 нм і зазвичай мають вузький розподіл, щоб уникнути швидкого виведення нирками. Крім того, їх полімерна оболонка стримує неспецифічні взаємодії з біологічними компонентами [12, 13]. На формування міцели впливає розмір гідрофобного ланцюга в амфіфільній молекулі, концентрація блок-кополімерів, система розчинників і температура [14]. Створення міцели починається, коли амфіфільні молекули блок-кополімерів досягають мінімальної концентрації, відомої як критична концентрація міцелоутворення (ККМ).

1.1.2 Ліпосоми та наноемульсії

Ліпосоми (рис. 1.2а) — це сферичні везикули з, принаймні, одним ліпідним подвійним шаром, а наноемульсії (рис. 1.2б, в) — це гомогенні суспензії нанорозмірних крапель дисперсної фази з поверхнево-активною речовиною в безперервній фазі. Вони мають сферичну форму [15] і сприяють контрольованому вивільненню фармацевтичної сполуки [16]. Крім притаманної їм біосумісності, їхню поверхню можна модифікувати та функціоналізувати для кон'югації з фрагментами, що забезпечують націлювання на конкретні ділянки, покращуючи ефективність і дію СДЛ [17].



Рис. 1.2 Схематичне зображення а) ліпосоми, що містить гідрофільний вантаж у своєму ядрі, гідрофобний вантаж, розподілений у подвійному шарі. Поверхнева функціональність може бути досягнута шляхом закріплення націлюючих лігандів, таких як антитіла, білки [11]; б) емульсії олія-у-воді та в) вода-в-олії [18]

Загалом ліпосоми використовуються для інкапсуляції водорозчинних сполук, оскільки вони складаються з ліпідного подвійного шару, що відокремлює водну внутрішню частину від основної водної фази, тоді як наноемульсії олії у воді використовуються для інкапсуляції гідрофобних сполук [19].

Застосування ліпосом і наноемульсій включає інкапсуляцію погано розчинних у воді біоактивних молекул для подальшого введення у водне середовище. Наприклад, для біомедичних цілей доступна велика кількість різних типів наноемульсій із лікарським препаратом, включаючи пероральне, місцеве, назальне та очне введення [20]. У харчовій промисловості декілька різних типів наноемульсій використовували як носії природних, але погано розчинних ароматизаторів, барвників, консервантів і антиоксидантів [21].

1.1.3 Дендримери

Структура дендримерів складається з трьох компонентів: центрального ядра, дендронів і порожнин, утворених між дендронами [22].

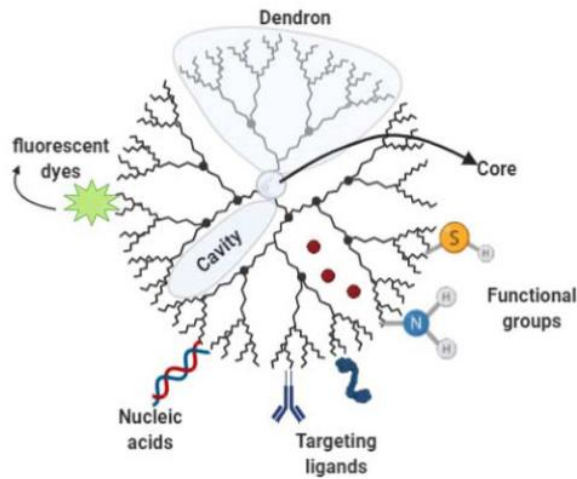


Рис. 1.3 Схематичне зображення дендримерів, що складається з гілок дендрону, що розгалужуються від фокального ядра, розділеного порожнинами. Біоактивний вантаж можна інкапсулювати в порожнини. Кінці дендронів можуть бути функціоналізовані, дозволяючи націлюватися на приєднання ліганду, молекули флуорофора, нуклеїнової кислоти та інших молекул [11]

Основними перевагами дендримерів є їхня однорідна молекулярна маса та тривимірна структура з периферійними групами, які визначають розчинність та робить їх відносно легкими компонентами для проектування до конкретних вимог. Крім того, вони мають менший гідродинамічний і молекулярний об'єм порівняно з лінійними полімерами подібної молекулярної маси [23]. Вільні кінцеві групи в дендримерних частинках переважно контролюють їх хімічну взаємодію з молекулярним середовищем. Завдяки їхнім властивостям, таким як нанометричний розмір, легкість приготування, функційність, а також велика кількість груп на поверхні, що демонструють стабільність, вони є привабливим матеріалом як носій для СДЛ. Однак, незважаючи на всі переваги їхньої структури, наразі існують серйозні побоювання щодо цитотоксичності катіонних дендримерів. Токсичність дендримерів переважно пов'язана з високою щільністю катіонного заряду на периферії, де заряди взаємодіють з біологічною клітинною мембраною, а потім призводять до її руйнування [24]. Основним застосуванням дендримерів є біомедична галузь [25], та сільськогосподарська промисловість [26].

1.1.4 Тверді ліпідні наночастинки

Тверді ліпідні наночастинки (ТЛН) (рис. 1.4) є сферичними, що робить їх ідеальними кандидатами для інкапсуляції ліпофільних біоактивних фармацевтичних сполук. ТЛН були успішно реалізовані в широкому діапазоні застосувань.

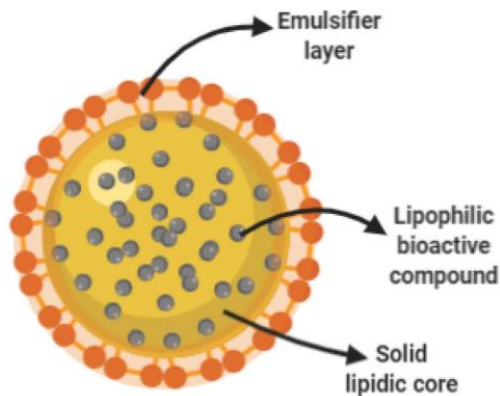


Рис. 1.4 Схематичне зображення твердих ліпідних наночастинок. Під час виготовлення ТЛН ліпофільний біоактивний вантаж розчиняється в рідкій гарячій ліпідній матриці. За належної формули та робочих умов наночастинок утворюються за допомогою емульгатора, коли ліпідне ядро твердіє при кімнатній температурі [11]

У біомедицинській галузі ТЛН використовували для підвищення розчинності декількох погано розчинних препаратів [27], у косметичній промисловості – для інкапсуляції блокаторів ультрафіолетового випромінювання, таких як 3,4,5-триметоксибензоилхітин, 2-гідрокси-4-метоксибензофенон та вітамін Е для використання в сонцезахисному кремні [28], у харчовій промисловості – для інкапсуляції антиоксидантних молекул, таких як токоферол [29], природні протимікробні сполуки [30], а також гідрофобні ароматизатори [31].

1.1.5 Нанокапсули

Нанокапсули (рис. 1.5) — це нановезикулярні системи, в яких лікарські речовини поміщені у порожнину всередині унікальної полімерної мембрани [32]. Їхньою основною перевагою є високоефективність при використанні як СДЛ. Проте при конструюванні нанокапсули необхідно враховувати терапевтичні концентрації та методи їх приготування, щоб уникнути створення дисперсій з низьким вмістом лікарських препаратів [33].

Застосування нанокапсул поширюється від фармацевтичного сектору [34] для інкапсуляції та доставки ліків до харчової промисловості [35] та сільського господарства [36], а також застосування в косметичці [37].

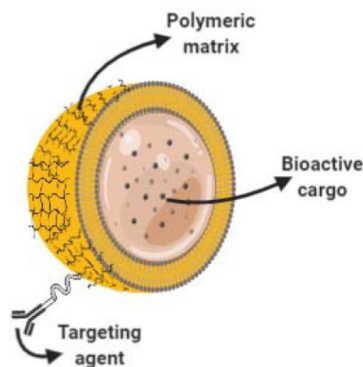


Рис. 1.5 Схематичне зображення нанокapsули. Біоактивний вантаж інкапсульовано в полімерну матрицю ядро-оболонка. Полімерна поверхня може бути функціоналізована та декорована націлюючими агентами, що забезпечує цільову доставку лікарського препарату [11]

1.1.6 Металеві наночастинки

Металеві наночастинки (золото, срібло) завдяки своїй хімічній природі демонструють покращені фізико-хімічні властивості. Тому використовуючи переваги цих властивостей, основні зусилля були зосереджені на розробці та вдосконаленні пристроїв для виявлення та лікування, переважно в біомедичній галузі. Хімічні сенсори є одними із найвдаліших біомедичних застосувань металевих наночастинок [38]. Наприклад, наночастинки золота, кон'юговані зі специфічними олігонуклеотидами, можуть відчувати комплементарні ланцюги дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК), які можна виявити за змінами кольору [39]. Крім того, наночастинки золота можна легко функціоналізувати за допомогою антитіл і олігонуклеотидів [40, 41], ферментів [42]. Ці гібридні наноструктури також є активними елементами ряду біосенсорних аналізів для виявлення генних продуктів у рослинах [43] та систем доставки лікарських препаратів [44]. Хоч і металеві наночастинки широко використовуються для виявлення, вони мають обмежене застосування як системи доставки.

1.1.7 Наносії на основі мезопористого кремнію

Мезопористі матеріали на основі кремнію (МПК) (рис. 1.6) належать до групи неорганічних наносіїв, які широко застосовують як СДЛ. Цей підхід передбачає використання високостабільної пористої поверхні кремнієвих мезопористих матеріалів для заповнення біоактивними фармацевтичними сполуками. Згідно з ідеєю, пори, після їх завантаження вантажем, закриваються, а фармацевтична сполука вивільняється внутрішньоклітинно [45]. Однією з основних переваг МПК є їх

стабільність, яка дозволяє справлятися з фізичними умовами, таким як коливання температури та водненого показника у навколишньому середовищі. Крім того, завдяки великій площі поверхні та великому об'єму пор, регульований і рівномірний розмір пор МПК (3–50 нм) надає їм можливість завантажувати відносно велику кількість фармацевтичної сполуки [46].

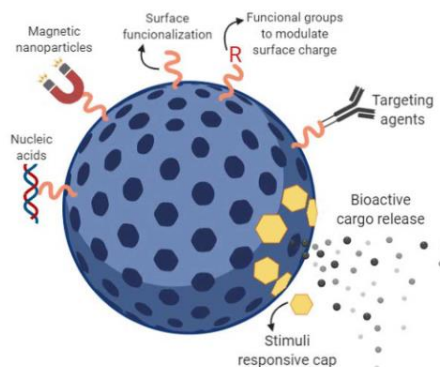


Рис. 1.6 Схематичне зображення наноносія на основі мезопористого кремнію

Біоактивний вантаж можна завантажувати в пористі порожнини за допомогою пасивної адсорбції або активного закріплення. Кришки, що реагують на подразники, можуть бути розроблені так, щоб запобігти передчасному вивільненню вантажу та від'єднатися від пори, дозволяючи контрольоване вивільнення. Цільова доставка вантажу може бути виконана шляхом приєднання націлюючих агентів до попередньо функціоналізованої поверхні частинок.

Одним із недоліків використання МПК в біомедичній галузі є відсутність здатності до біодеградабельності. Також відсутні дані про біонакопичення, фармакокінетичних і фармакодинамічних досліджень щодо біорозподілу, терапевтичної ефективності та безпеки [47].

Однак, завдяки їхнім внутрішнім фізико-хімічним властивостям, сфера використання МПК включає широкий спектр застосувань, таких як: дезактивація води шляхом адсорбції радіоактивних забруднюючих речовин [48], розділення барвників [49], каталіз [50], хроматографія [51].

1.1.8 Нанокристали

Нанокристали є ще одним нанотехнологічним підходом для доставки погано розчинних лікарських препаратів. На відміну від згаданих раніше матеріалів для носіїв СДЛ, нанокристали мають декілька унікальних рис. Нанокристали – це колоїдні системи доставки без носіїв, тобто вони майже на 100 % складаються з

лікарських препаратів. Таким чином, лікарські нанокристали мають переваги покращення пероральної біодоступності нерозчинних у воді сполук, зменшення введеної дози, уникнення аномального всмоктування, тим самим зменшуючи використання допоміжних речовин, збільшення швидкості розчинення, підвищення адгезії до поверхневих клітинних мембран і підвищення стабільності частинок [52]. Проте варто зазначити, що недостатньо досліджень щодо цитотоксичності нанокристалів [53].

1.1.9 Наногелі

Наногелі – це гідрофільні зшиті мережі, що утворюють полімерні ланцюги, які здатні поглинати значні кількості водних розчинів. Завдяки своїй конформаційній тривимірній структурі, гідрогелі здатні вбирати біологічно активні молекули, розчинені у воді або водних розчинах. Наявність хімічних поперечних зв'язків, (зв'язувальних точок або з'єднань) або фізичних поперечних зв'язків, відповідає за їхню характерну конформаційну структуру та розмір [54], які можна точно налаштувати за допомогою хімічного контролю формулювання, а також процес отримання наночастинок гідрогелю. Основними перевагами гідрогелів, при використанні як систем доставки ліків, є їхня повна біосумісність завдяки високому вмісту води [55]. З іншого боку, одним із головних недоліків цих типів частинок є варіація від партії до партії через неоднорідність самого полімеру, як, наприклад, у випадку систем доставки лікарських препаратів на основі хітозану.

Типове застосування гідрогелів стосується біомедичної галузі, включаючи інкапсуляцію, транспортування та доставку лікарських препаратів; тканинна інженерія для ранозагоювального лікування; і 3-D культура клітин [1]. Крім того, гідрогелі також можна використовувати як антимікробні засоби. Хітозан, наприклад, є полімером, який зазвичай використовується для виготовлення наноносіїв, виявляє антимікробну активність. Введення деяких іонів металів також може надати гідрогелям каталітичні, фоточутливі, фотохімічні, окисно-відновні та провідні властивості [56]. У сільському господарстві використання наночастинок хітозану становить особливий інтерес через його імуномодулюючу активність, що виявляється в рослинах [57].

1.2 Поліестери як носії для систем доставки лікарських препаратів

Сучасний технологічний прогрес систем доставки лікарських препаратів, переважно, залежить від структури та функційності носія-транспортера, його взаємодії та поведінки з лікарським препаратом та способом доставки [58, 59, 60]. У полімерній СДЛ терапевтичну речовину, як правило, вбудовано або кон'юговано з полімером, який забезпечує введення конкретного препарату в певне місце доставки [61]. В результаті взаємозв'язку між деградацією полімеру-носія, а також процесом дифузії терапевтичних агентів, лікарський засіб вивільняється контрольовано впродовж днів або місяців [62]. Найбільш важливу роль у регульованому та контрольованому пролонгованому вивільненні як гідрофільних, так і гідрофобних препаратів, мають біодеградабельні та біосумісні полімерні матеріали [63].

Поліестери завдяки таким властивостям як високий захист активного компонента лікарського засобу від деградації та контроль його вивільнення, здатність модулювати активну дифузію лікарського засобу та деградацію полімеру, з утворенням інертних побічних продуктів деградації, є найбільш перспективними кандидатами для СДЛ у біомедичному застосуванні [64, 65]. Це безпосередньо пов'язано з розчинністю препарату з полімерною матрицею і навпаки. Також може відігравати важливу роль для інкапсуляції, вивільнення та деградації терапевтичних препаратів, кристалічність полімеру. Деякі дослідження показали, що завантаження препарату зменшувалося зі збільшенням кристалічності полімеру та температури склування [66, 67]. Також дослідження показали, що здатність завантажувати фармацевтичні сполуки у наночастинки поліестеру може бути значно збільшена через гідрофобні ефекти між полімером і препаратом, та в поєднанні з водневими зв'язками, електростатичною взаємодією та диполь-дипольними взаємодіями, що змінюють профіль вивільнення ліків [68]. Крім того, деградація поліестерної матриці є важливою передумовою для потенційного вивільнення ліків. Існує два основні механізми, за якими може відбуватись деградація поліестерів, і вони залежать від відносної швидкості дифузії води в полімерну матрицю та від швидкості деградації полімеру [64]. У випадку, коли швидкість руйнування полімеру є вищою, ніж швидкість дифузії води в полімерну матрицю, механізм називається поверхневою деградацією. Навпаки, коли дифузія води в матрицю відбувається швидше, ніж

розкладання полімеру, і вся матриця піддається розкладанню та ерозії, процес називається об'ємною деградацією. Загалом, у біологічних умовах (*in vitro* та *in vivo*) деградація складних поліестерів, без специфічного відповідного зв'язку, відбувається шляхом випадкового гідролітичного розщеплення складних естерних зв'язків [65].

1.2.1 рН-чутливі поліестери

рН-чутливі поліестери знайшли широкий спектр застосування у біомедичній галузі при захворюваннях, коли спостерігається певний зсув рН від фізіологічного. Тоді як у здорових тканинах значення рН становить близько 7,4, у ракових і запалених тканинах значення рН значно нижче — близько 6,5 [69]. Крім того, деякі клітини, такі як лізосоми або ендосоми, мають нижчий рН, до 5-6 [70]. Дотепер розроблено багато рН-чутливих систем, в структурі яких присутня рН-чутлива функційна група. Найпоширенішими зв'язками з такими властивостями є гідразиновий зв'язок [71], амін/імінні групи [72], ацеталі/кеталі [73], ортоестери [74] тощо. Деякі приклади полімерних структур з такими зв'язками наведено на рис. 1.7.

Одним із найпопулярніших рН-чутливих зв'язків у СДЛ є зв'язок гідрозид/гідрозон. Чутливість до рН у біодеградабельному аліфатичному поліестерному дендримері спостерігалася за допомогою ближньої інфрачервоної (БІЧ) флуоресценції [75]. Гідрозоновий зв'язок стабільний при нейтральному рН, тому барвник сидить на дендримері. Активація флуоресценції БІЧ відбувається, коли барвник відщеплюється від дендримера в кислому рН. Крім того, дендримерний каркас може бути ферментативно розщеплений естеразою.

рН-чутливість ортоестерного зв'язку була описана в роботі [76]. Сучасна тенденція розробки дуже специфічних систем для індивідуальних застосувань спонукала дослідницьку групу в Університеті Мінесотти створити кополімер із подвійною чутливістю, де поряд із чутливістю до рН через ортоестерну групу включено амідну групу, щоб також представити чутливість до температури. Температура золь-гель переходу, значною мірою, залежить від структури полімеру, тому її можна встановити точно, а рН-лабільність у кислому середовищі підтримується [74].

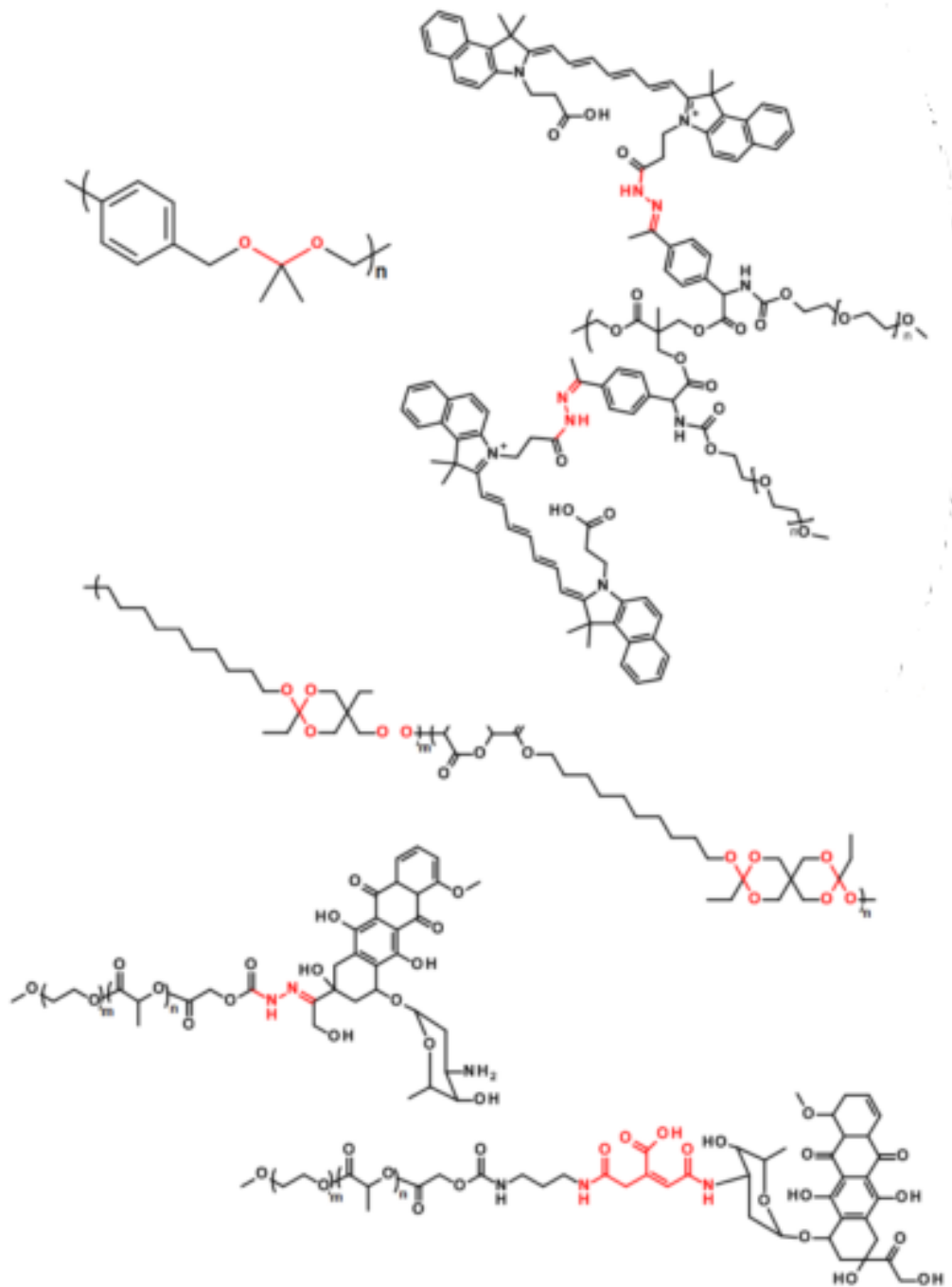


Рис. 1.7 Полімерні структури з рН-чутливими зв'язками [77]

1.2.2 Відновно-чутливі поліестери

Існують два основні підходи до побудови СДЛ, здатних до відновного розкладання. Вони використовують відновлення дисульфідного зв'язку глутатіоном (рис. 1.8), особливо в ракових клітинах, і бактеріальне відновлення ароматичного азобарвника, що забезпечує селективну деградацію в товстій кишці [78].

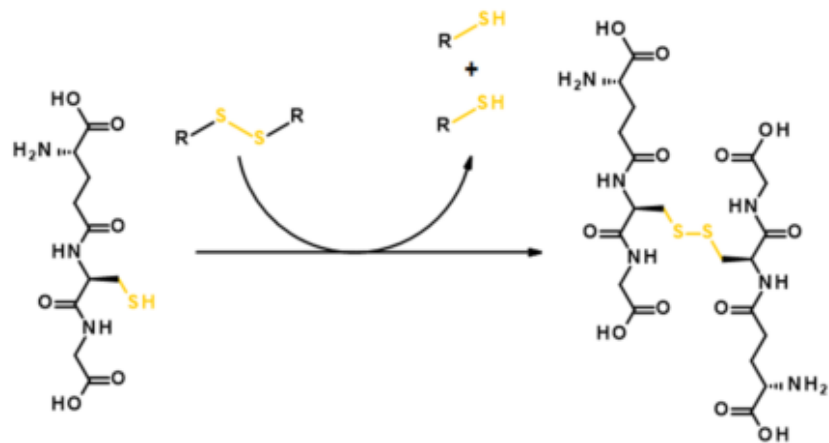


Рис. 1.8 Схема відновної деградації дисульфідного зв'язку з глутатіоном [77]

Азогрупа відома своїми світлочутливими властивостями в органічній хімії. *Z*-конфігурація може бути легко переключена на більш стабільну *E*-конфігурацію шляхом опромінення певною довжиною хвилі [79]. Ця властивість азогрупи широко використовується у хімії полімерів та для систем доставки ліків. Азозв'язок, який включений у полімерну основу, розкладається повільніше, ніж коли він знаходиться в бічному ланцюзі [78]. При порівнянні ароматичних (рис. 1.9) та аліфатичних полімерів було виявлено, що аліфатичні азосполуки, такі як азобіс(ізобутиронітрил), піддаються термічному або фотоіндукованому розкладанню з вивільненням азоту, а не біовідновленню [80].

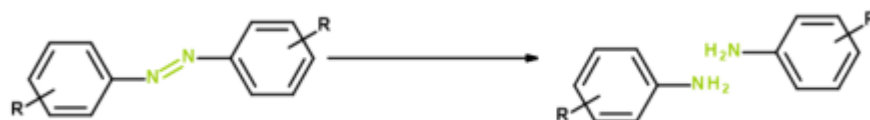


Рис. 1.9 Відновне розщеплення зв'язку азобарвника [77]

1.2.3 Ферментативно-чутливі поліестери

Серед полімерів аліфатичні поліестери відзначаються процесами біодеградації. Це обумовлено природою хімічної структури, оскільки складноестерний зв'язок легко піддається реакції гідролізу. Швидкість процесу дуже повільна в легких умовах, але вона зростає при підвищенні температури, зміні рН розчину від нейтрального або, особливо, при наявності в розчині певних ферментів — естераз. Цей хімічний процес може спричинити проблеми у застосуванні матеріалів через втрату механічних властивостей [81]. Однак, розглядаючи застосування як полімерів, що реагують на подразники, де бажаний процес деградації, гідроліз може відігравати вирішальну роль у системі. Полімерні матеріали для доставки лікарських препаратів, що

навмисно створені з полімерів, що розкладаються, тому інкапсульований препарат вивільняється з урахуванням втрати маси, що визначається швидкістю розкладання [81].

Швидкість ферментативного гідролізу можна регулювати хімічною структурою та фізичними властивостями поліестеру. Здатність до розкладання аліфатичних поліестерів, як правило, збільшується з меншим вмістом кристалічної структури [82].

Швидкість деструкції буде відрізнятися в різних середовищах. Тому полімери на основі поліестерів стали дуже популярними в розумних системах доставки ліків. Підвищена концентрація гідролаз із поєднанням зниженого рН у деяких біологічних середовищах, таких як, наприклад, в ендосомах або лізосомах, призведе до підвищеної швидкості деградації складноестерного зв'язку. Швидкість ферментативного гідролізу дуже індивідуальна через специфічність ферменту [83].

1.3 Поліестери фосфатної кислоти як перспективні матеріали для біомедичного призначення

Поліфосфатестери (ПФ), тобто складні поліестери на основі похідних фосфатної кислоти, присутні всюди в природі та всіх живих клітинах. Все життя покладається на здатність С-О-Р-зв'язку бути стабільним протягом тривалого часу, але зрештою розкладатися за потреби [84]. Ангідриди фосфору у вигляді аденозинтрифосфату (АТФ) є універсальним природнім накопичувачем енергії. Контрольоване розщеплення цього зв'язку забезпечує енергію для більшості біохімічних реакцій. Ця структура зберігалася протягом еволюції у всіх прокариотів і еукаріотів. Структурно подібна, але важлива для окисно-відновних біопроцесів, нікотинамідаденіндинуклеотид ($\text{NAD}^+/\text{NADH}+\text{H}^+$) також містить дифосфат. Дифосфат використовується для з'єднання двох функціонально різних частин більшої молекули разом, щоб утворити функціональну єдність, яка використовується в процесах перенесення електронів. Також неорганічні поліфосфати відіграють важливу роль у згортанні крові, запаленні та регенерації кісткової тканини [85]. При фізіологічному рН кожна внутрішня фосфатна одиниця несе одновалентний негативний заряд. Він повсюдно поширений у біології та може варіюватися в довжині полімеру від кількох фосфатів до кількох тисяч фосфатних одиниць, залежно від організму та тканини, в якій він синтезується [86].

ПФ можуть бути тривалентними, тобто незарядженими, або двовалентними з негативним зарядом. Найвидатнішими і, безумовно, найважливішими прикладами є рибонуклеїнові кислоти та їх полімерні форми, ДНК і РНК. Ці макромолекули, як ПФ, кодують генетичну інформацію про життя та необхідні для вищих і нижчих форм життя. І РНК, і ДНК є ПФ, які побудовані з фосфатної кислоти та похідних вуглеводнів рибози або дезоксирибози. На відміну від ДНК, РНК гідролізується набагато швидше, завдяки близькості додаткової ОН-групи рибози, що каталізує швидку деполімеризацію РНК. Негативний заряд фосфатного фрагмента також забезпечує взаємодію з позитивно зарядженими білками, найбільш відомими з яких є білки-гістони. Вони використовуються для зберігання та стабільності. Зниження позитивного заряду цих білків відіграє важливу роль у відкритті ДНК для інших білково-подібних факторів транскрипції або трансляції [87].

Фосфорилювання є загальним шляхом регуляції активності ферментів у клітинах, і тому відомо безліч ферментів, фосфатаз, єдиною метою яких є розщеплення кількох різних заміщених фосфатестерів. Крім того, синтетичний фосфатестер ферментативно мав би розкладатися всередині живої системи, на додаток до внутрішньої сприйнятливості складноестерних зв'язків до (кислого чи основного) гідролізу [87].

Повсюдність і величезне біологічне значення естерів фосфатної кислоти робить синтетичні ПФ дуже перспективними об'єктами дослідження. Вони демонструють високу сумісність з біологічними системами та потенційно низьку токсичність. Порівняно з поліестерами на основі естерів карбонової кислоти, фосфор у фосфатній кислоті може утворювати три стабільні та розбіжні зв'язки на додаток до подвійного зв'язку $P=O$. Це робить універсальну платформу для модифікації основного та бічного ланцюгів синтетичних полімерів, явну перевагу над естерами карбонових кислот [88]. Прищеплення функціональних можливостей бічного ланцюга та міток, а отже, зміна властивостей матеріалу можлива простим способом через підвісну групу. Це дозволяє уникнути функціоналізації головного ланцюга, яку необхідно проводити для інших естерів або амідів полікарбонових кислот, наприклад, у функціональних лактонах або лактамах. Крім того, внутрішню здатність до біодеградабельності ПФ можна регулювати за допомогою модифікацій бічного чи основного ланцюга [89].

1.3.1 Методи одержання поліфосфатестерів

Фосфоровмісні сполуки відіграють важливу роль у природі, такі як ДНК, РНК, АТФ (аденозинтрифосфат), НАДН (нікотинамідаденіновий нуклеотид), фосфоліпіди, є прикладами молекул, які беруть участь у метаболізмі [90]. Менш поширеними, але не менш важливими в живих організмах є сполуки зі зв'язком P-C, присутні в так званих фосфоліпідах, гліканах і протеїнах, які відіграють важливу роль у метаболічних шляхах [91]. Впродовж багатьох років такі сполуки стимулювали інтерес наукової спільноти можливістю синтезувати ПФ, які могли б імітувати деякі властивості їхніх природних аналогів. Перші дослідження синтетичних фосфоровмісних полімерів були проведені в 1950-х роках [92].

Використання синтетичних полімерів у біомедичних цілях досліджується понад 50 років. Різноманітність хімічних модифікацій навколо центрального атома фосфору дає доступ до полімерів з різними властивостями та хімічною функціональністю. ПФ залежно від хімічного зв'язку у бічному ланцюзі поділяють на підкласи: поліфосфати, поліфосфіти, поліфосфорамідати, поліфосфонати відповідно з -OR, -H, -NR₂ (або -NHR), і -R групу як бічну групу (рис. 1.10) [93].

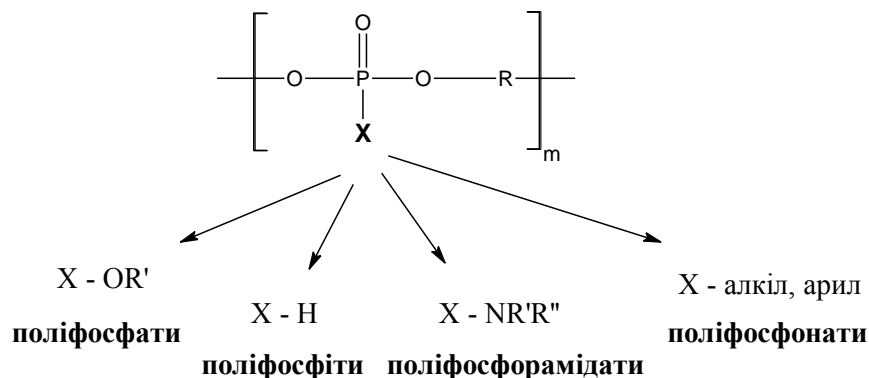


Рис. 1.10 Підкласи поліфосфатестерів

Більшість ПФ гідрофобні та виготовлені за допомогою класичної хімії поліконденсації. Однак роботи Пенчека та його співробітників у 1970-х роках щодо полімеризації з розкриттям кільця циклічних фосфоровмісних мономерів проклали шлях для широкого сімейства ще й гідрофільних ПФ [94, 95, 96]. Основною перевагою хімії ПФ є наявність п'ятивалентного фосфору, що дозволяє синтезувати полімери з широким спектром функціональних груп у бічному або основному ланцюзі, що також дозволяє контролювати такі властивості полімерів, як

біосумісність, гідрофільність, здатність до розкладання, кристалічність, термостабільність тощо [97].

З аналізу літератури [93] можна оцінити понад 100 різних ПФ, синтезованих на сьогодні за допомогою різних стратегій таких як поліконденсація, поліпрієднання, полімеризація з розкриттям кільця циклічних мономерів, і кількість доступних структур швидко зростає, якщо взяти до уваги всі постмодифікаційні проведені реакції.

1.3.1.1 Синтез поліфосфатестерів шляхом поліконденсації

Поліконденсація є одним із найстаріших методів отримання ПФ. Зазвичай здійснюється між аліфатичними або ароматичними дигідроксисполуками та арил- або алкілфосфорними дигалогенідами (рис. 1.11) [98, 99].

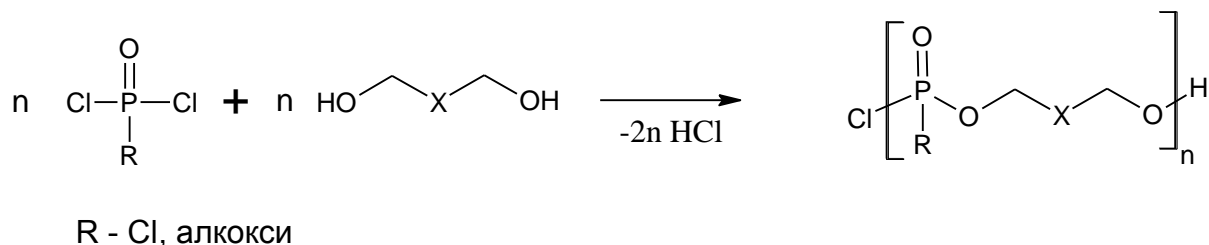


Рис. 1.11 Загальна схема отримання ПФ шляхом поліконденсації

Молекулярні маси ПФ отримані шляхом поліконденсації між алкілфосфорними дихлоридами та аліфатичними діолами, часто обмежені побічними реакціями, такими як хлорування діолу, ацидоліз бічного ланцюга та конкурентне утворення циклічних фосфорних естерів у випадку 1,2- та 1,3-діолу [100, 101].

Поліконденсацію фосфорної кислоти з етиленгліколем досліджували у різних умовах: у присутності каталізатора Sc(OTf)₂ або без, у масі або з додаванням розчинника (гептан або толуол). В результаті поліконденсації утворювалися низькомолекулярні полімери з різними кінцевими групами [102]. Поліконденсація алкіл/арилфосфорних дихлоридів з гідроксителехелевими олігомерами (полігліколева кислота, полілактид і кополімери) використовувалася для отримання різних ПФ для біомедичного застосування, таких як нервові канали [103] та мікросфери для СДЛ [104, 105].

1.3.1.2 Синтез поліфосфатестерів шляхом поліприєднання

Типовими підходами до синтезу ПФ шляхом поліприєднання є реакції дихлоридів фосфорної кислоти з біс-епоксидами з використанням онієвих солей як каталізаторів [106], ароматичних та аліфатичних біс-епоксидів з дихлорангідрідами фосфорної та фосфатної кислот з отриманням кінцевих реакційноздатних хлорметильних груп (рис. 1.12) [107]. Полімери отримували з молекулярною масою до 23000 г/моль і дисперсністю 1,24 до 1,59. Пенчек та його співробітники досліджували реакцію поліприєднання між фосфорною кислотою та біс-епоксидами та пов'язані з цим побічні реакції [107, 108]. Ретельний підбір реагентів, а саме 3,4-епоксициклогексилметил-3,4-епоксициклогексанкарбоксилату і етилфосфатної кислоти дозволив усунути побічні реакції та успішно синтезувати ПФ з високою молекулярною масою до 10^4 г/моль. Однак через обмеження вихідних матеріалів, необхідних для поліприєднання, цей підхід має лише незначне значення.

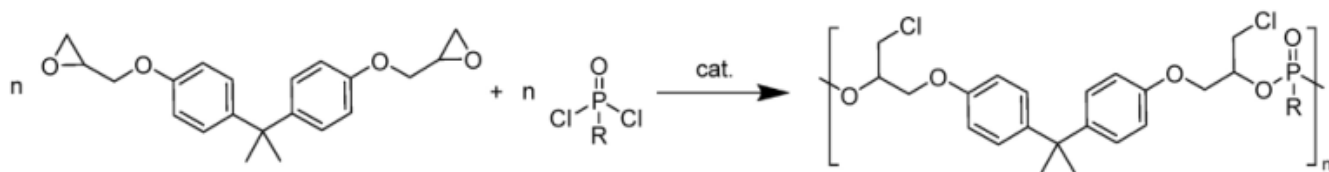
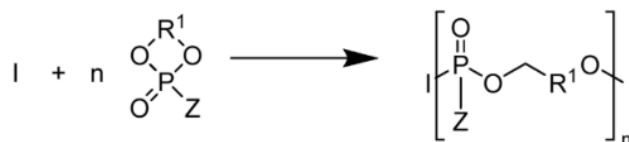


Рис. 1.12 Загальна схема синтезу ПФ шляхом поліприєднання [93]

Ліав і співавтори синтезували поліфосфати шляхом приєднання дигліцидилового ефіру бісфенолу S до арилфосфородихлоридатів, які містять реакційноздатні хлорметильні групи [109].

1.3.1.3 Синтез поліфосфатестерів шляхом полімеризації з розкриттям циклу

Полімеризація з розкриттям кільця мономерів циклічного фосфоестеру з ініціатором, що містить гідроксил, є найпоширенішим способом синтезу ПФ (рис. 1.13) [110]. Перевагами цього методу над описаними вище є можливість контролювати структуру отриманих полімерів і контролювати молекулярну масу, включаючи її розподіл.



Z = alkyl, aryl, Oalkyl, Oaryl

R¹ = (-CH₂-)_{2,3}

Рис. 1.13 Загальна схема синтезу ПФ шляхом полімеризації з відкриттям циклу [93]

Полімеризація може бути каталізована або ферментами [111], металевими сполуками, або органокаталізаторами. Катіонна полімеризація циклічних мономерів з CF₃SO₃CH₃, CF₃SO₃C₂H₅, (CF₃SO)₂O₂ або Ph₃C⁺AsF₆⁻ як ініціатори призвела до отримання полімерів з низькою молекулярною масою [112]. При використанні n-C₄H₉Li, (i-C₄H₉)₃Al, (C₂H₅)₂Mg або t-C₄H₉OK як ініціаторів аніонної полімеризації з розкриттям циклу, полімери були отримані з молекулярною масою до 10⁵ г/моль [113].

Івасакі використовував металоорганічний каталізатор триізобутилалюміній для кополімеризації етилетиленфосфату та 2-ізопропокси-2-оксо-1,3,2-діоксафосфолану [110]. Ванг і його співробітники використовували октоат олова для полімеризації етилетиленфосфату і змогли довести, що полімеризація спільно ініціюється каталізатором і додеканолом, який використовувався як гідроксильний ініціатор [114]. З тривалістю реакції, перенесення бічного ланцюга призводить до розгалужених полімерних структур через присутність складноестерних бічних груп вздовж ланцюга. Контролюючи умови полімеризації, ці побічні реакції можна придушити та отримати ідеально лінійні поліфосфати з чітко визначеною структурою [114].

Полімеризація з розкриттям кільця є найефективнішим способом приготування ПФ із контрольованою структурою. Перші спроби полімеризувати циклічні естери фосфору були зроблені з використанням води, металевого натрію, аміаку, хлористого водню або алюмогідриду літію як каталізаторів, що призвело до низькомолекулярної маси та досить погано визначених структур [115]. Хоча при полімеризації з відкриттям циклу, яку каталізують ферментами, як каталізатор використовують ліпазу підшлункової залози свиней [116]. Аніонні ініціатори є найбільш корисними системами для синтезу ПФ із чітко визначеними структурами [117].

1.3.2 Механізми гідролізу поліфосфатестерів

Деградація полімерів є важливою властивістю, яка має сильний вплив на їхнє застосування, зокрема в біомедичній галузі [118]. Згідно з визначенням IUPAC, деградація полімеру – це хімічна зміна, яка призводить до зміни його властивостей, пов'язаної зі зменшенням молярної маси [119]. Процес називається біодеградацією, коли розщеплення речовини ініціюється ферментами *in vitro* або *in vivo* [120]. Здатність до розкладання є бажаною для будь-якого полімеру, який хоче використовуватися як білковий модифікатор, лікарські препарати або транспортно-носій у лікуванні захворювань. Поступова зміна його структури необхідна для того, щоб уникнути ускладнень, пов'язаних з тривалим перебуванням в організмі чужорідного матеріалу, внаслідок його накопичення. Регулювання швидкості деградації лежить на тонкій межі між бажаною функціональністю полімеру та необхідним його виведенням з організму, тому це являє собою важливу проблему при розробці нових полімерних структур для біомедичних застосувань [121]. ПФ мають перспективні властивості в цій галузі, оскільки дозволяють контролювати швидкість деградації за допомогою точного вибору замісника в бічному ланцюзі.

Важливі дослідження кінетики та механізму деградації ПФ були проведені Пенчек та Баран у 1995 році [122]. Вони вивчали гідроліз полі(метилетилфосфат)у та біс(2-метоксиетил)метилфосфату за допомогою NMR-спектроскопії та титрування, оцінюючи константи швидкості розпаду головного ланцюга (k_m) або бічного ланцюга (k_s) при різних значеннях pH середовища (рис. 1.14).

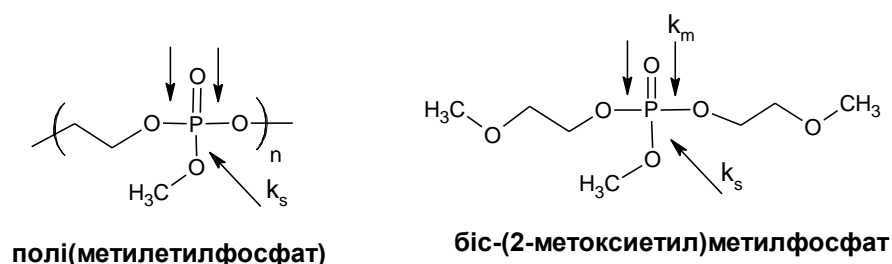


Рис. 1.14 Визначення констант швидкості гідролізу k_s і k_m для полі(метилетилфосфат)у та біс(2-метоксиетил)метилфосфату

Дослідження показали, що в кислих умовах гідроліз бічного ланцюга протікає швидше порівняно з основним ланцюгом (k_s/k_m більше 1), тоді як у лужному середовищі бічний або основний ланцюг статистично відщеплюється. Автори пояснили ці результати появою різних механізмів деградації: у кислих умовах α -

вуглецевий атом атакує нуклеофільна молекула води, тому атака на бічний ланцюг сприяє меншим стеричним перешкодам (рис. 1.15). За основних умов, OH^- атакує фосфатний центр і індукує утворення тригональної біпірамідальної геометрії, в якій осьове положення (яке може бути зайнято або бічним, або основним ланцюгом замісника) є переважно порушеним (рис. 1.16).

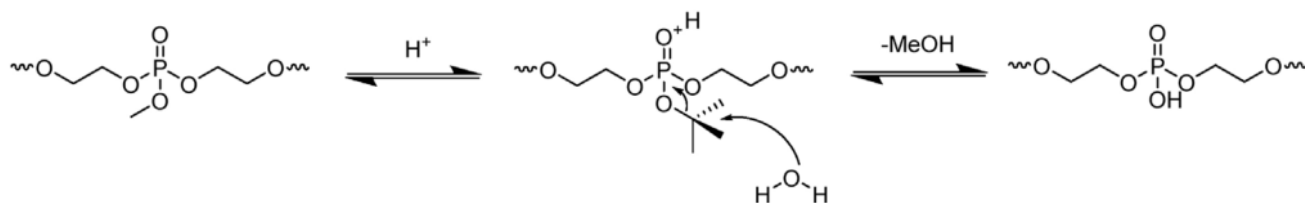


Рис. 1.15 Гідроліз полі(2-метокси-1,3,2-діоксафосфолану) в кислому середовищі

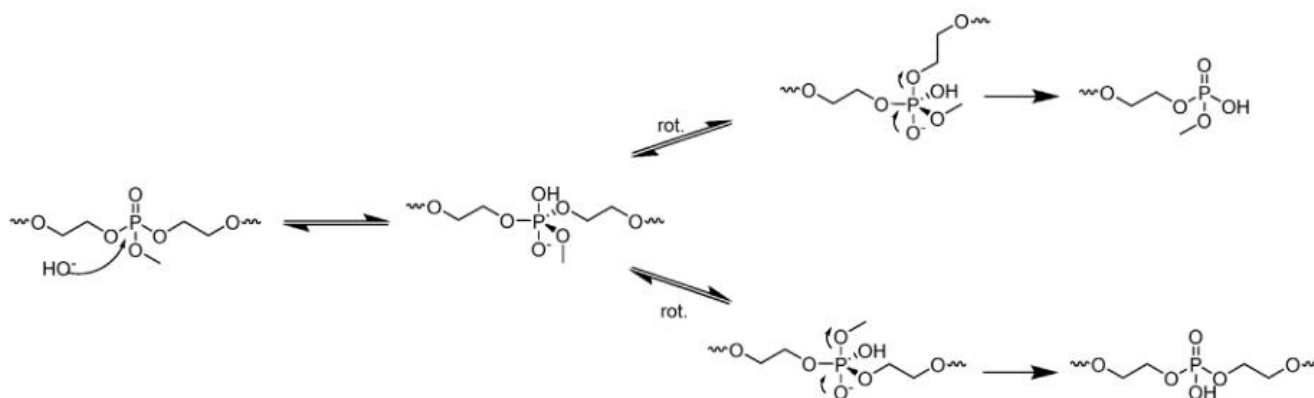


Рис. 1.16 Гідроліз полі(2-метокси-1,3,2-діоксафосфолану) в основних середовищі

1.3.3 Ензиматична деградація

Ферментативну деградацію синтетичних ПФ важливо оцінити, оскільки вона може дати підказки щодо поведінки полімерного матеріалу у фізіологічному середовищі. Деякі приклади ензимів, які сприяють деградації ПФ, описані в літературі, наприклад, фосфодіестераза I [123, 124], лужна фосфатаза [125, 126] і фосфотриестераза [127].

Прискорена швидкість деградації ензимами може призвести до більш високоорганізованого вивільнення лікарського препарату, інкапсульованого в міцелах/наночастинках. В роботі Ванг та інші [128] показали, що за використання ензиму фосфодіестерази I можна отримати вивільнення 83,8 % доксорубіцину з транспортерів-наноносіїв на основі ПФ через 140 годин, порівняно з вивільненням 30 % з наноносія, отриманого без використання ферменту.

На сьогоднішній день гідролітичну та ензиматичну деградацію ПФ досліджували переважно *in vitro*, і повідомлялося про дуже малу кількість досліджень оцінки деградації *in vivo*. Чаубал та ін. вивчали профіль розпаду лінійного полілактиду з фосфатними одиницями, вставленими в ланцюг, порівнюючи відсоток втрати маси полімеру з часом, отриманий *in vitro* (після розчинення полімеру в PBS при 37 °C) та *in vivo* (після ін'єкції мишам) [129]. Вони виявили значно швидку деградацію *in vivo* без будь-якої фази затримки.

Основними проблемами при розробленні СДЛ є погана розчинність більшості ліків у воді, короткий час їх циркуляції в крові та неможливість отримати доступ до місця дії у відповідній дозі [192,193]. Однією з можливостей подолання цих проблем є використання наноносіїв, таких як полімерні наночастинки. Полімерні наночастинки утворені амфифільними блок-кополімерами, демонструють структури з гідрофобним ядром, яке служить середовищем для гідрофобних ліків, і гідрофільною оболонкою для стабілізації у водному розчині. З розвитком методів контрольованої полімеризації ПФ стали перспективними матеріалами для систем доставки ліків.

ПФ представляють сьогодні клас легкодоступних і універсальних біодеградабельних та біосумісних полімерів з широким діапазоном властивостей і застосувань, включаючи системи доставки лікарських препаратів. Завдяки поєднанню різних методологій, ПФ знаходять нові застосування в галузі полімерних матеріалів зі специфічними та регульованими властивостями. Для подальшого коригування властивостей матеріалів використовується потенціал контролю властивостей матеріалів шляхом варіації моделей зв'язування навколо центрального фосфору.

РОЗДІЛ 2

СИНТЕЗ ФОСФОРОВМІСНИХ ПОЛІЕСТЕРІВ ЗА РЕАКЦІЄЮ ЕСТЕРИФІКАЦІЇ СТЕГЛІХА

Поліестери на основі дикарбонових α -амінокислот, які відомі ще під назвою псевдополіамінокислоти (ППАК), представляють значний інтерес для науковців [130, 131, 132, 133,] завдяки їхнім властивостям. Особливістю їх структури є з'єднання амінокислотних ланок у основному ланцюзі макромолекул через естерний зв'язок, а не пептидний [134]. Така структура забезпечує низку переваг ППАК над синтетичними поліамінокислотами та їх амфіфільними кополімерами, наприклад, відсутність імунної відповіді з боку організму. Крім того, спорідненість до природних полімерів забезпечує біодеградабельність, біосумісність та нетоксичність [135]. Отримані ППАК поліестерного типу мають поверхнево-активні властивості, здатні утворювати самостабілізовані дисперсії у воді [130, 135] та псевдоміцели завдяки наявності в структурі гідрофільних і ліпофільних фрагментів [130, 135] та солюбілізувати малорозчинні у воді речовини [136, 137].

В роботах [136, 137, 138, 139, 140] було описано спосіб отримання ППАК поліестерного типу при взаємодії N-похідних дикарбонових амінокислот з ди- чи багатоатомних спиртів за реакцією естерифікації Стегліха. Особливістю проведення реакції естерифікації Стегліха є отримання поліестерів в м'яких умовах, що складно забезпечити використовуючи реакції прямої естерифікації та переестерифікації, оскільки такі реакції проводяться в жорстких температурних умовах при яких ймовірність протікання побічних реакцій декарбоксілювання та циклізації дикарбонових α -амінокислот кислот досить висока.

Реакція естерифікації Стегліха добре описана в літературі [130, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147]. Згідно з узагальнюючою схемою представленої на рис. 2.1, першим етапом реакції є утворення активованої форми карбоксильної групи (A-GluSt) при її взаємодії з N,N'-дициклогексилкарбодіімідом (DCC). Відповідно до загальноприйнятої схеми, яка пояснює перебіг реакції естерифікації Стегліха при отриманні низькомолекулярних естерів, активована карбоксильна група (A-GluSt) при взаємодії з гідроксильною групою, вивільняє N,N'-дициклогексилсечовину (DCU) та утворює естерний зв'язок. При тому, реакція утворення естеру є конкуруючою з

реакцією перегрупування в пасивну форму карбоксильної групи (P-GluSt) згідно з схемою наведеної на рис. 2.2.

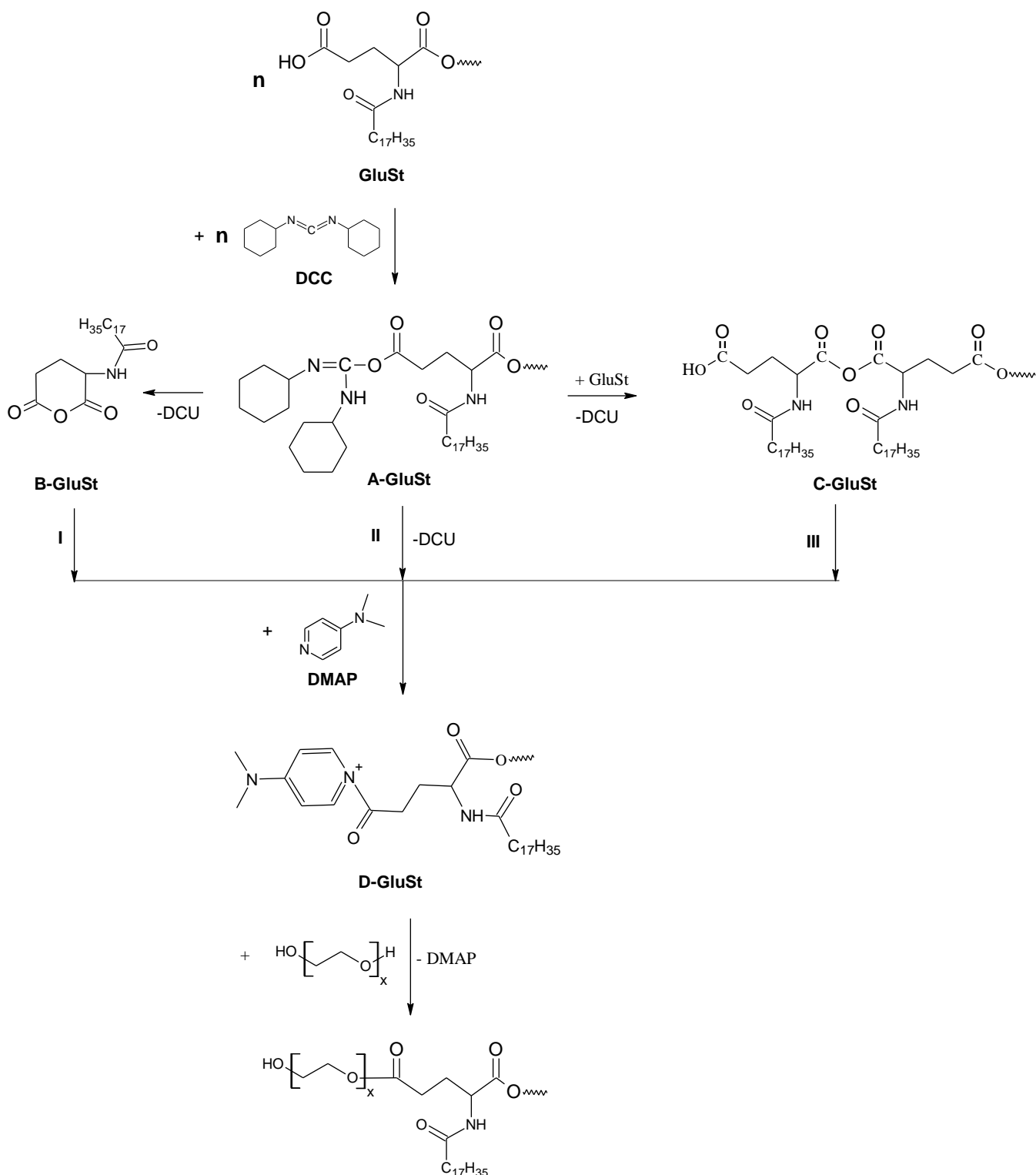


Рис. 2.1 Узагальнений механізм проміжних стадій при синтезі ППАК поліестерного типу через реакцію естерифікації Стегліха

Значну роль в зміщенні напрямку перебігу реакції в бік цільового естеру відіграє нуклеофільна добавка— 4-диметиламінопіридин (DMAP). Його взаємодія з активованою формою карбоксильної групи A-GluSt сприяє реакції естерифікації і зміщує її в напрямку утворення естерної групи.

Крім того, при одержанні низькомолекулярних естерів за схемою естерифікації Стегліха, реакцію проводять в умовах надлишку гідроксильних груп. В такому випадку, концентраційний фактор сприяє перетворенню активованої форми в естер. В умовах проведення реакції поліестерифікації використовувати надлишок гідроксильних груп не можна. Їх надлишок призведе до утворення лише естерифікації дикарбонової кислоти без утворення поліестеру. Тому концентраційне зміщення напрямку реакції застосовувати не можна і реакцію активованої поліконденсації необхідно проводити в умовах співвідношення реагентів близьких до еквімолярних.

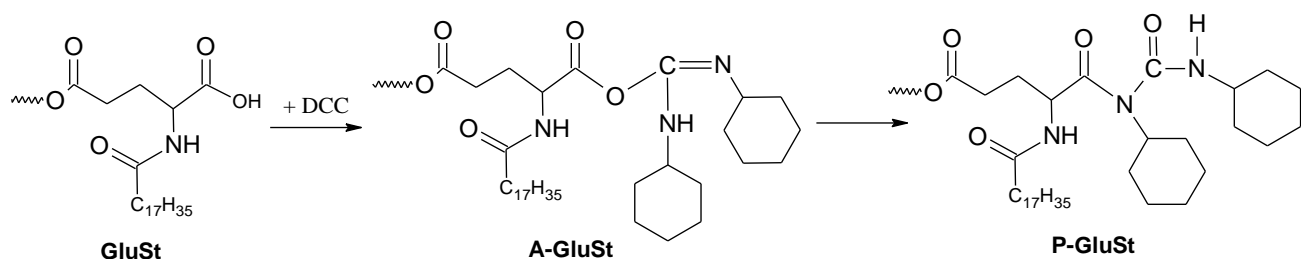


Рис. 2.2 Активування карбоксильної групи GluSt та її дезактивування з утворенням пасивної форми

Певну особливість перебігу реакції вносить і той факт, що у ролі дикарбонової кислоти в цих дослідженнях, використовується N-похідні глутамінової кислоти. Відомо [148], що взаємодія глутамінової кислоти з DCC (при відсутності спирту) є препаративним методом одержання її ангідриду. В роботі [136], на основі ¹H і ¹³C NMR аналізу продуктів в реакційній масі, показано утворення ангідридів N-похідних глутамінової кислоти. Таким чином, загальну схему перебігу реакції поліконденсації доцільно поповнити маршрутом II, через утворення внутрішнього ангідриду (B-GluSt) (рис. 2.1). Важливість цього факту полягає в тому, що формування внутрішнього ангідриду B-GluSt з активованої форми A-GluSt однозначно запобігає реакції перегрупування, хоча б на першій ступені поліестерифікації, оскільки ангідрид здатний в присутності нуклеофільного додатку взаємодіяти з гідроксильною групою.

Цей маршрут реакції доречний на перших стадіях реакції, коли в реакційній суміші присутня вихідна дикарбонова α-амінокислота. При досягненні конверсії близькій до 50 % і значному вичерпуванню карбоксильних груп, зрозуміло, що перебіг реакції за цим маршрутом вироджується. Разом з тим, при проведенні реакції в умовах еквімолярного співвідношення з гідроксильними групами, не виключається

також її перебіг через утворення міжмолекулярних ангідридних груп (C-GluSt), тобто перебіг реакції за маршрутом III (рис. 2.1).

Через те, що відбувається перегрупування активованої форми карбоксильної групи в пасивну (рис. 2.2), і враховуючи той факт, що при проведенні реакції активованої поліестерифікації немає можливості використовувати надлишок гідроксильних груп, реакція Стегліха не рекомендувалась для одержання поліестерів, хоча доволі широко використовувалась для отримання низькомолекулярних естерів. Слід думати, що особливості карбоксильних груп дикарбонових α -амінокислот, що схильні до утворення ангідридів, створюють додаткові маршрути перебігу реакції, що приводить до можливості використання цих дикарбонових кислот в реакції активованої поліестерифікації. Такий висновок підсилюється тим фактом, що використання глутарової кислоти, в умовах, що досліджується, не приводить до утворення поліестерів з аналогічною ступеню поліестерифікації [139].

Використання дикарбонових α -амінокислот в реакції естерифікації Стегліха можливо лише при умові захисту аміногрупи. При відсутності такого захисту, буде спостерігатись взаємодія DCC з аміногрупою, оскільки ця реакція є значно швидшою, ніж взаємодія DCC з карбоксильною групою. В роботі [141] було показано можливість проведення реакції з різними формами захисту аміногрупи. В цій же роботі було показано, що форма захисту суттєво впливає на ступінь поліконденсації отриманих поліестерів.

При отриманні поверхнево-активних ППАК є привабливим захист аміногрупи в глутаміновій кислоті через її N-ацилювання вищими аліфатичними кислотами. Крім того, що такі похідні дозволяють отримати поліестери з достатньо високими ступенями поліестерифікації, вони вводять сильно ліпофільні фрагменти в структуру поверхнево-активних ППАК, гідрофільно-ліпофільний баланс яких, значною мірою, можна регулювати молекулярною масою алкільного фрагменту.

2.1 Синтез фосфоровмісних поліестерів

Метою даної роботи є отримання фосфоровмісних поліестерів на основі N-стероїлглутамінової кислоти та діолів поліоксиетиленового ряду, в структуру яких включено фосфатну групу. Таким чином, в структуру поверхнево-активної ППАК

поліестерного типу, в її гідрофільному фрагменті, буде локалізована функційна група, що здатна зв'язувати різні за типом органічні молекули, що проявляють властивості основ. Для цього була розроблена методика отримання похідних поліетиленгліколів, що містять в своїй структурі етилфосфатну групу [149, 150]. Присутність в цих сполуках кінцевих гідроксильних груп дозволяє використовувати їх для одержання поліестерів за реакцією Стегліха згідно з описаним вище механізмом, проте присутність етилфосфатної групи вносить ряд особливостей в перебіг процесу. Тому виникла необхідність в проведенні досліджень для оптимізації умов синтезу фосфоровмісних поліестерів та виявленню цих особливостей. Для цього було проведено ряд синтезів з отримання ЕФП взаємодією N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфату (DEP) за схемою наведеною на рис. 2.3.

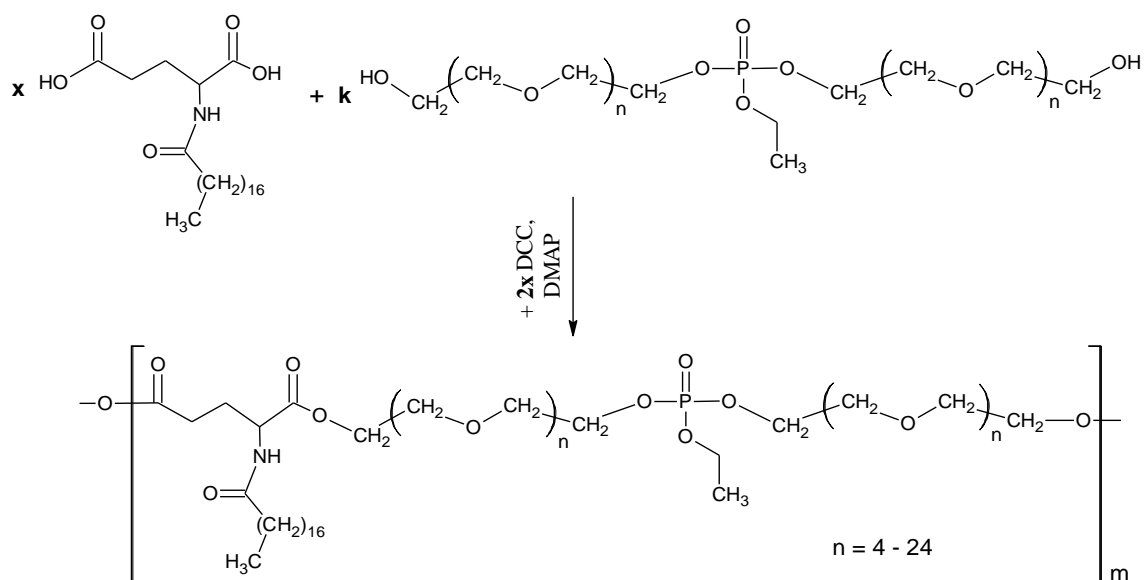


Рис. 2.3 Синтез фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою за реакцією поліконденсації за Стегліхом

Синтез проводили за методикою описаній в розділі 5.2.4 в температурному діапазоні 8-25 °C при загальній концентрації реагуючих речовин 0,08 г/г реакційної суміші впродовж 24 години. Повноту перебігу реакції контролювали за кількістю виділеного DCU (гравіметричний аналіз після завершення синтезу). Склад і структуру виділених з реакційної маси ЕФП встановлювали за IR-, ¹H, ¹³C, ³¹P NMR спектроскопією.

2.1.1 Підтвердження структури отриманих фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою

На рис. 2.4 наведено IR-спектр ЕФП на прикладі зразка AS-43 (табл. 2.2, поз. 3). Дуже слабо проявлена широка смуга в області 3200-3700 cm^{-1} , яка характерна для коливання гідроксильної групи свідчить про залишкову кількість карбоксильних груп в складі поліестеру як кінцевих. Зміщення смуги поглинання карбонільної групи до 1733 cm^{-1} підтверджує утворення естерних груп та поява сильної смуги поглинання при 1106 cm^{-1} – наявність естерних груп поліетиленгліколів.

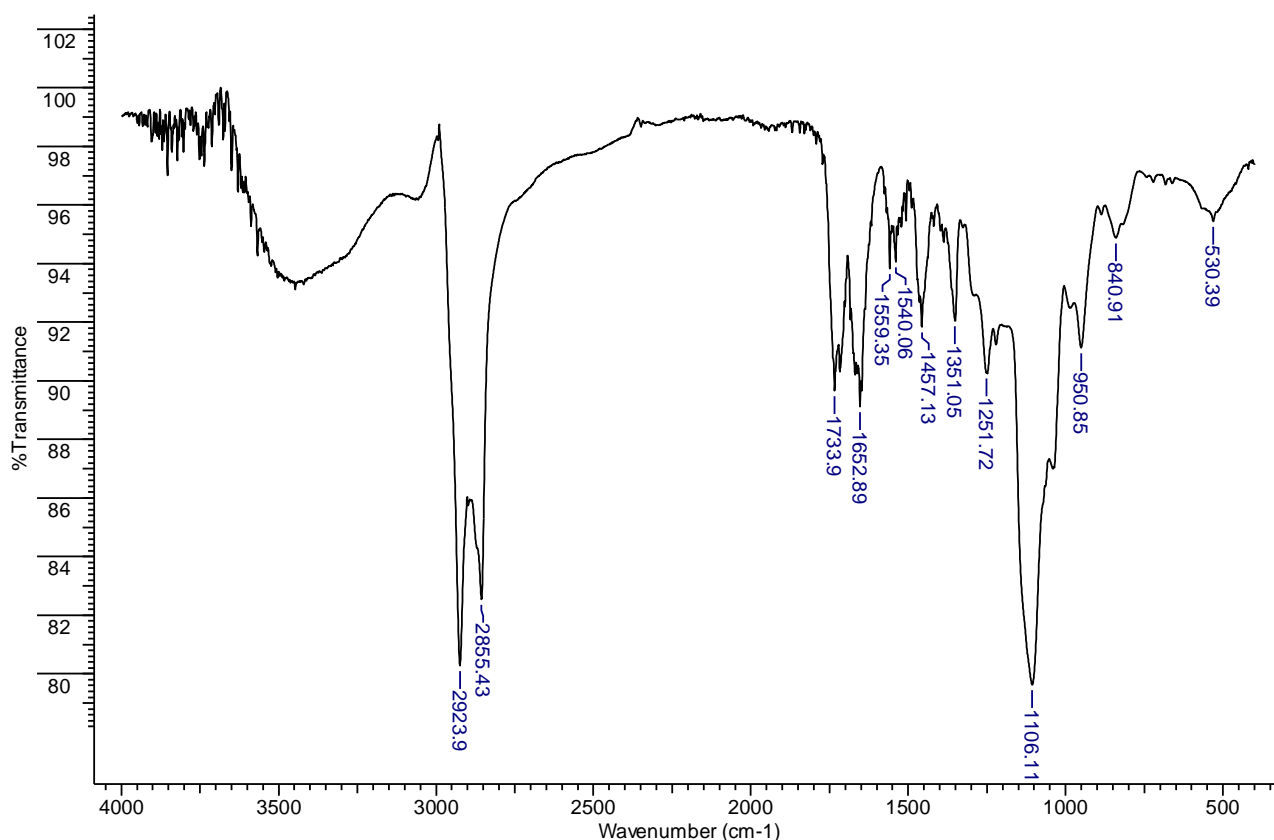


Рис. 2.4 IR-спектр ЕФП зразка AS-43 (табл. 2.2, поз. 3)

На рис. 2.5 наведено ^1H NMR спектр ЕФП на прикладі зразку AS-43 (табл. 2.2, поз. 3) та в таблиці 2.1 – віднесення його сигналів протонів. Співвідношення між інтенсивністю сигналів від протонів PEG фрагментів F (3,49-3,74) і аліфатичних фрагментів похідної глутамінової кислоти A, B (0,83-0,85 та 1,21-1,34) підтверджують структуру поліестеретера. Сигнали протонів глутамінової кислоти C, D та стероїлового залишку B', B'' проявляються в області 1,5-2,6. Відповідно до співвідношення до метилової групи стероїлового фрагменту A (0,83-0,85), яке має становити 3,3, сумарна інтенсивність сигналів в області 1,5-2,6 має бути 8. Перевищення цього значення на 3,3 слід віднести до збільшення інтенсивності через

присутність сигналів від 20 протонів циклогексанових кілець зі складу залишків DCU, що ввійшли в структуру поліестеру (рис. 2.2, P-GluSt). Це дає можливість оцінити частку фрагментів з дезактивованими карбоксильними групами як кінцевих в складі поліестеру та розрахувати молекулярну масу.

Таблиця 2.1

Віднесення сигналів ^1H NMR спектру протонів ЕФП на прикладі зразку AS-43 (табл. 2.2, поз. 3)

Позн.	Зсув, ppm	Тип	Віднесення	Фрагмент	Кількість протонів	Інтеграл
A	0,83-0,85	T	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$	Steroyl	3	3,3
B	1,21-1,34	M	$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	Steroyl	28	30,83
I			$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-$	Ethyl	3	
B'	1,57-2,85	ШМ	$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-$	Steroyl	2	11,3
B''			$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-$	Steroyl	2	
C			$-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$	Glu	2	
D			$-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu	2	
G	3,98-4,49	ШМ	$-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$	PEG	4	16,53
E			$-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$	PEG	4	
J			$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu	1	
F	3,49-3,74	ШМ	$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-$	PEG	64	69,98
H			$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-$	Ethyl	2	
K	11,0-12,0	ШС	$\text{H}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$	COOH		0,05

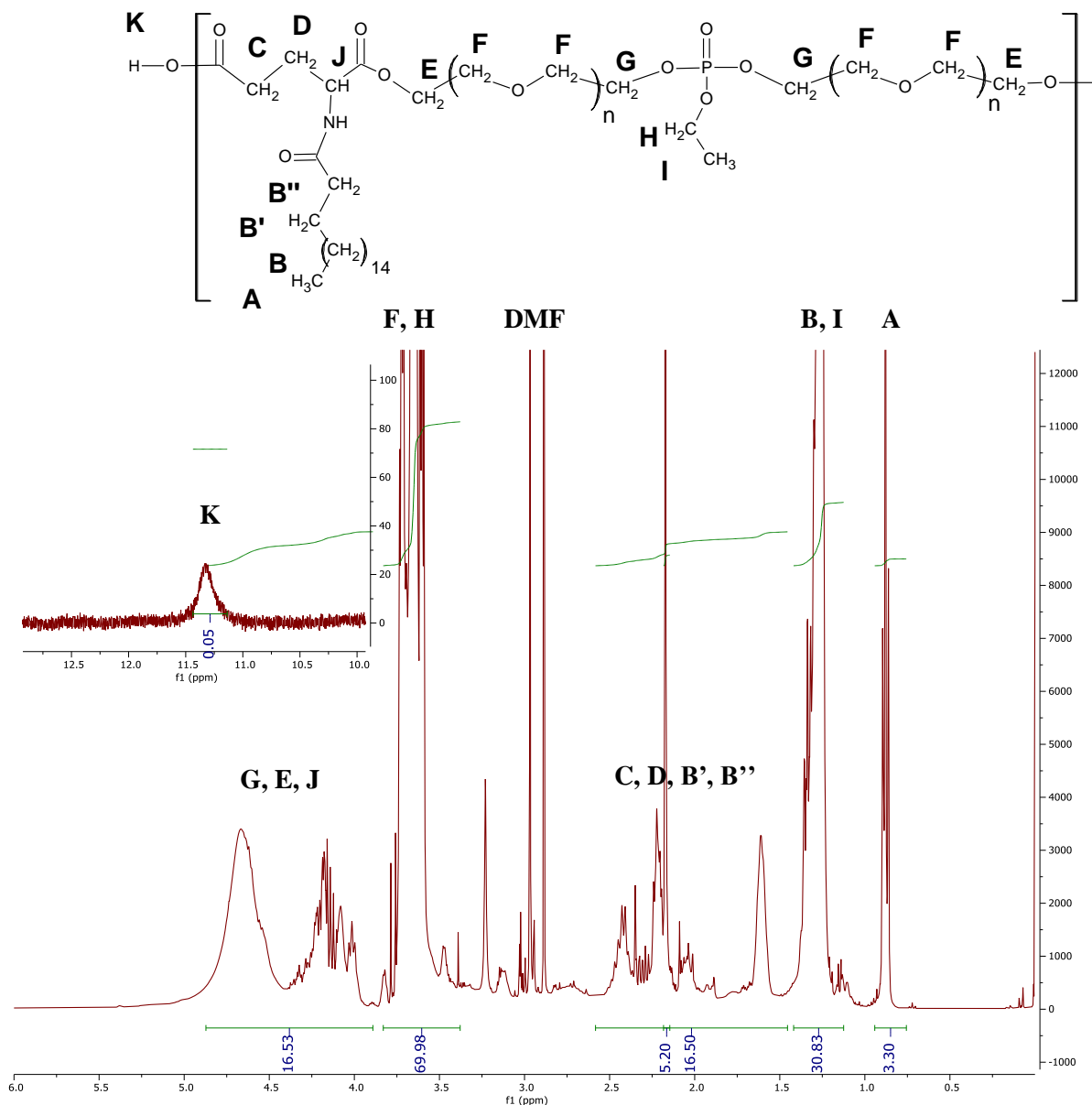


Рис. 2.5 ^1H NMR спектр ЕФП зразка AS-43 (табл. 2.2, поз. 3)

На рис. 2.6а наведено ^{13}C NMR спектр ЕФП на прикладі зразка AS-43 (табл. 2.2, поз. 3) та віднесення його сигналів карбону в додатку Б у таблиці Б1. Сигнали в області 20-35 м.ч. слід віднести до карбонів в стероїловому фрагменті. Сигнали карбонів зі складу PEG проявляються в області 60-75 м.ч. Карбони естерної групи поліестеру знаходяться в області 160-180 м.ч. Карбони кінцевої карбоксильної групи слабо проявились в області 170-189 м.ч. Всі ці сигнали підтверджують структуру ЕФП. На рис. 2.6б наведено ^{31}P NMR спектр ЕФП на прикладі зразка AS-43 (табл. 2.2, поз. 3). Наявність в макромолекулі атому фосфору підтверджується сигналами в області -1,10; -11,88 аналогічно до сигналів фосфору в вихідному DEP (спектри наведені в додатку Б на рис.Б9).

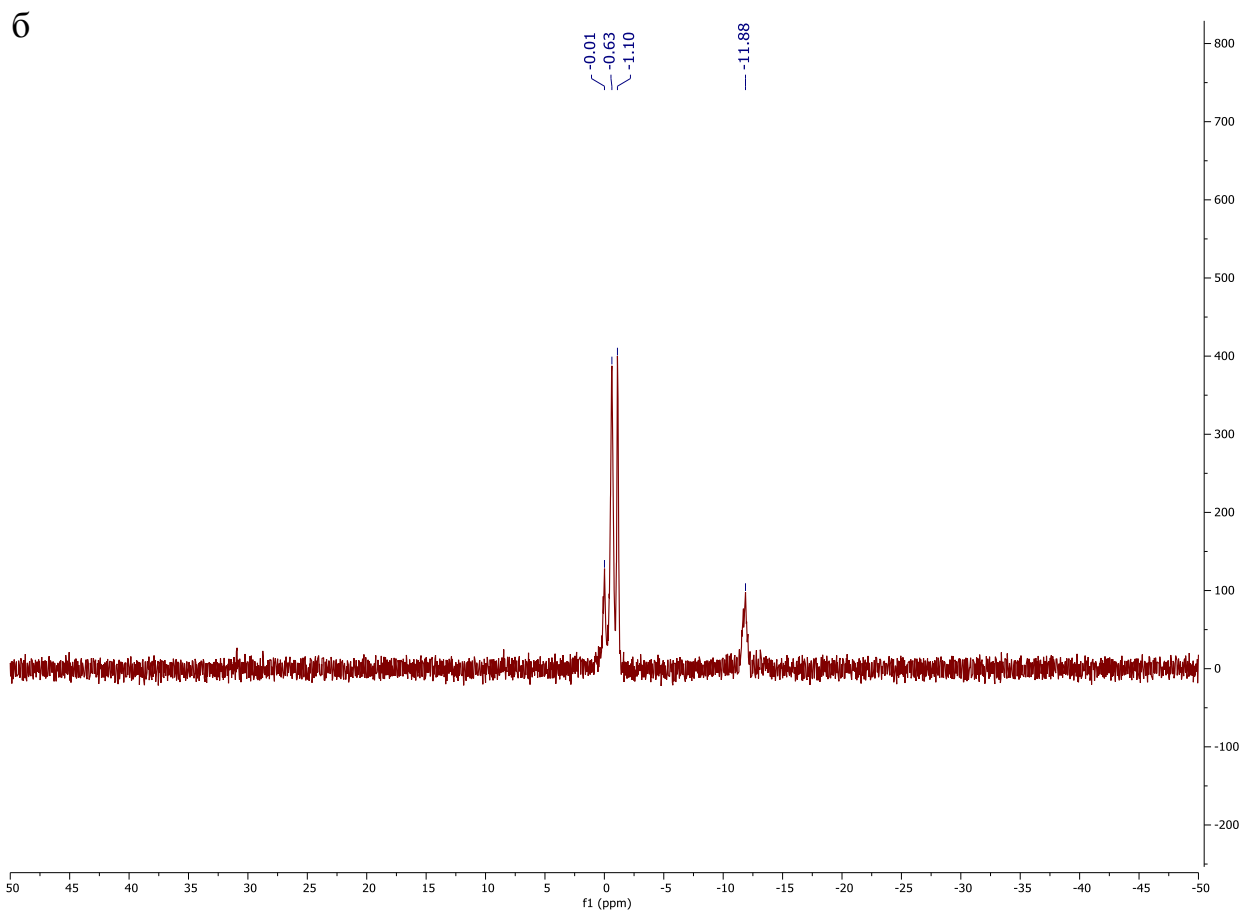
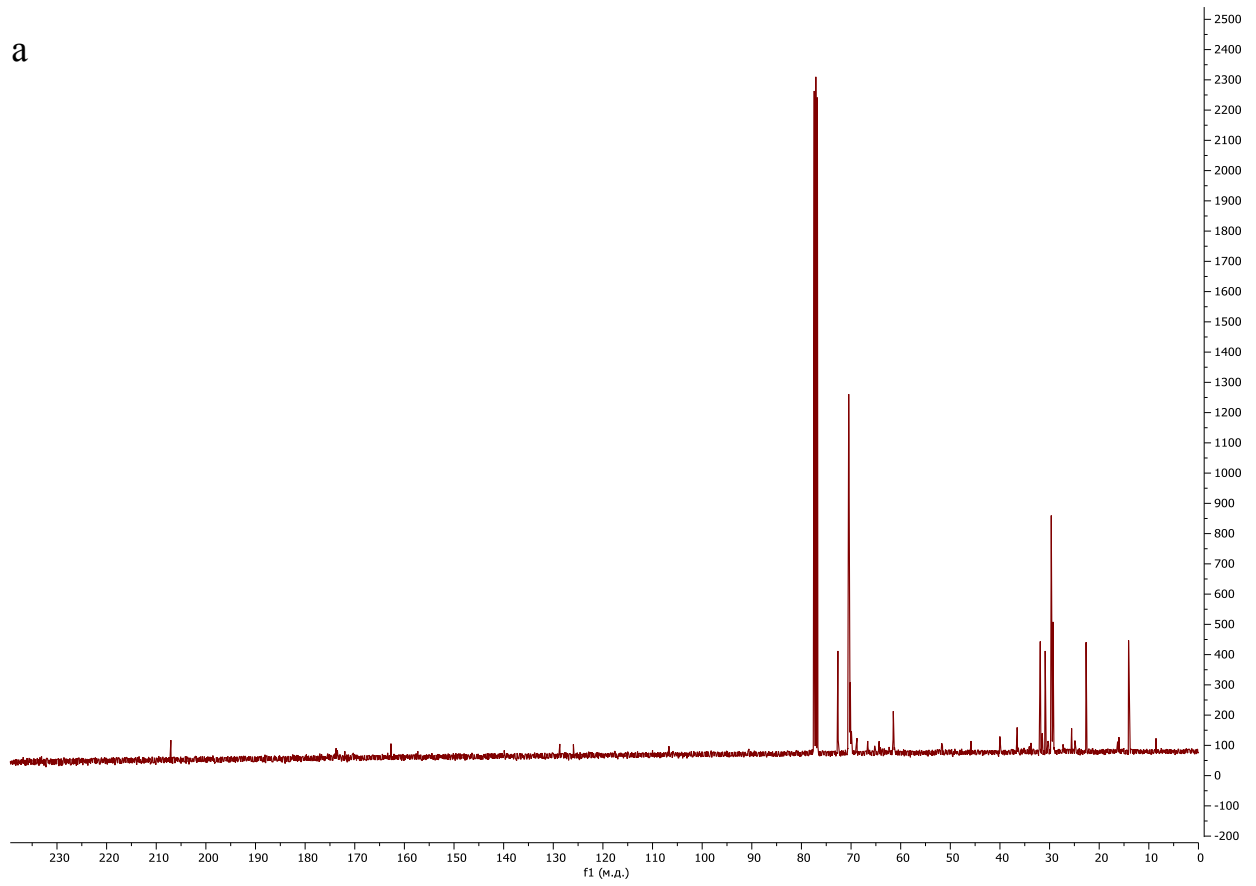


Рис. 2.6 а) ^{13}C NMR, б) ^{31}P NMR спектри ЕФП зразка AS-43 (табл. 2.2, поз. 3)

2.1.2 Вплив умов синтезу на вихід та склад фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою

В таблиці 2.2 наведені дані умов ряду проведених синтезів та їх результати.

Таблиця 2.2

Дані синтезів ЕФП за реакцією естерифікації Стегліха

№	Шифр синтезу	DEP	Співвідношення COOH / OH	Розчинник	Вихід DCU, %	Вихід ЕФП після виділення, %	Ступінь поліконденсації ЕФП P_{NMR}^1	Ступінь поліконденсації ЕФП P_k^2	Ступінь поліконденсації ЕФП $P_{k,max}^3$	Молекулярна маса ЕФП M_n^4	Молекулярна маса ЕФП M_n^5	Молекулярна маса ЕФП M_n^6	Характеристична в'язкість ЕФП μ
1	AS-41	DEP-4	9/8	DMF	75,2	99,0	8,9	3,4	16,0	5809			
2	AS-42	DEP-4	10/9	DMF	99,7	99,3	10,5	18,0	19,0	6849			
3	AS-43	DEP-4	10/9	DMF	100	98,5	4,7	19,0	19,0	3026			
4	AS-47	DEP-4	10/10	DMF	94,5	98,6	7,9	16,6	175,7	5164			
5	AS-480	DEP-4	10/10	DCM	91,7	93,9	7,3	11,8	553,1	4767	2555	2468	0,0779
6	AS-481	DEP-4	9/8	DCM	96,0	80,4	87,0	10,3	17,0	56579	2587	2155	0,0411
7	AS-482	DEP-4	8/7	DCM	90,9	94,4	5,5	6,6	14,9	3565	2656	2239	0,0312
8	AS-483	DEP-4	10/9	DCM	99,4	96,6	21,1	17,4	19,3	13698	2470	2023	0,0469
9	AS-484	DEP-4	9/10	DCM	92,4	94,3	6,1	8,0	18,8	3943	2613		
10	AS-61	DEP-6	10/9	DMF	91,4	99,1	6,0	7,8	21,3	5271			
11	AS-62	DEP-6	10/9,3	DMF	92,4	75,5	5,9	8,8	24,9	5239			
12	AS-63	DEP-6	8/7	DMF	96,0	96,5	7,8	9,0	13,6	6918			
13	AS-64	DEP-6	10/9	DMF	94,4	97,5	8,5	9,4	18,5	7536			
14	AS-65	DEP-6	9/8	DMF	99,2	97,1	11,7	15,9	18,1	10356			
15	AS-660	DEP-6	9/8	DCM	96,9	96,8	7,1	11,8	18,1	6302			
16	AV-202	DEP-2	10/9,8	DCM	97,8	92,2	4,5	24,3	51,1	2041	2878		
17	AV-409	DEP-4	10/9,8	DCM	97,0	93,4	2,6	23,2	73,8	1675	3803		
18	AV-603	DEP-6	10/9,8	DCM	90,9	95,9	4,8	9,1	49,0	4206	3573		
19	AV-1001	DEP-10	10/9,7	DCM	98,6	96,2	3,1	32,5	58,7	3825	5587		

¹Ступінь поліконденсації ЕФП розраховано за кінцевими групами згідно з спектром ¹H NMR за формулою 2.1;

²Ступінь поліконденсації ЕФП з врахування досягнутої конверсії розраховано за рівнянням Карозерса за формулою 2.2;

³Максимально можливий ступінь поліконденсації ЕФП, при конверсії рівній 1, розраховано за рівнянням Карозерса згідно з формулою 2.3;

⁴Молекулярна маса ЕФП розраховано за кінцевими групами згідно з спектром ¹H NMR за формулою 2.4, г/моль;

⁵Молекулярна маса ЕФП за даними GPC, г/моль;

⁶Молекулярна маса ЕФП визначена методом ізотермічної перегонки, г/моль.

Для синтезу фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою переважно використовували надлишок карбоксильних груп та наступні співвідношення COOH/OH: 8/7; 9/8; 10/9; 10/9,8; 10/10. Практично у всіх проведених синтезах отримання ЕФП вихід DCU перевищував 90 %, що однозначно вказує на перебіг процесу до глибоких стадій і є достатньою умовою протікання реакції поліконденсації. Оскільки методика виділення полімеру з реакційної маси передбачає подвійне переосадження розчинниками полімеру, то високі виходи поліестеру також підтверджують перебіг цієї реакції. Крім того, аналіз даних виходів DCU з таблиці 2.2 дозволяє стверджувати наступні факти.

По-перше, не спостерігається залежності виходу як DCU, так і поліестеру, від співвідношення карбоксильних груп до гідроксильних. По-друге, не спостерігається їх залежності від молекулярної маси DEP. З даних наведених в цій таблиці, спостерігається статистично значиме (але не більше 3÷4 %) зменшення виходу DCU у синтезах, що проводились в DMF у порівнянні з синтезами, що проводились в DCM. При тому, різниці виходу виділеного поліестеру в цих двох розчинниках не спостерігається. Це важливий факт, оскільки зниження виходу DCU може пояснюватись перебігом реакції перетворення активованої форми карбоксильної групи A-GluSt за реакцією перегруповання з утворенням пасивної форми P-GluSt (рис. 2.2). Більш інтенсивний перебіг цієї реакції не зменшує виходу поліестеру, а як буде показано нижче, призводить до зменшення ступеня поліконденсації.

Ступінь поліконденсації ЕФП розрахований за кінцевими групами згідно ^1H NMR спектру (P_{NMR}) за формулою

$$P_{\text{NMR}} = \frac{1}{\frac{(I_{1.5\div 2.5}) - 8}{20} + I_{11\div 12}}, \quad (2.1)$$

де $I_{1.5\div 2.5}$ – інтеграл в області зсуву 1,5÷2,5 м.ч.;

$I_{11\div 12}$ – інтеграл в області зсуву 11÷12 м.ч.;

8 – кількість протонів в області зсуву 1,5÷2,5 м.ч., які належать протонам глутамінової кислоти та стероїлового фрагменту;

20 – кількість протонів циклогексанових фрагментів зі складу DCU, що ввійшли в структуру ЕФП.

Ступінь поліконденсації ЕФП з врахуванням конверсії (P_k) описує рівняння Карозерса [151]:

$$P_k = \frac{1+r}{1+r-2rx}, \quad (2.2)$$

де r – мольне співвідношення карбоксильних груп дикарбонової кислоти до гідроксильних діолу (кількість реагента, який взятий у надлишку до кількості реагента в недостатчі);

x – конверсія, яка оцінена по кількості DCU, що випала в осад).

Максимальний ступінь поліконденсації ЕФП, при конверсії, яка рівна 1, (P_{k_max}) відображає рівняння Карозерса [151]:

$$P_{k_max} = \frac{1+r}{1-r}, \quad (2.3)$$

Аналіз ^1H NMR спектру ЕФП дозволяє провести оцінку молекулярної маси поліестерів за фрагментами дезактивованих карбоксильних груп як кінцевих. За співвідношенням до метильної групи стероїлового фрагменту (0,83-0,85 м.ч.), яка становить 3,3, сумарна інтенсивність сигналів протонів глютамінової кислоти та стероїлового фрагменту, що проявляються в області 1,5÷2,6 м.ч., має становити 8. Перевищення цього значення відносили до збільшення інтенсивності через присутність сигналів від 20 протонів циклогексанових кілець зі складу залишків DCU, що ввійшли в структуру макромолекули, як зображено на рис. 2.7.

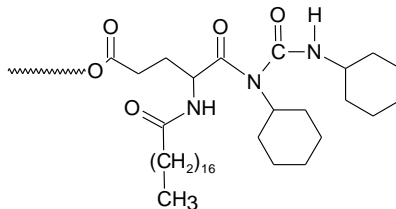


Рис. 2.7 Дезактивована форма карбоксильної групи в складі ЕФП

Молекулярну масу ЕФП розраховували за кінцевими групами згідно ^1H NMR спектру (M^{NMR}) за формулою:

$$M^{\text{NMR}} = \frac{1}{2 \left(\frac{I_{1.5 \div 2.5}}{20} + I_{11 \div 12} \right)} M_{\text{л}}, \quad (2.4)$$

де $I_{1.5 \div 2.5}$ – інтеграл в області зсуву 1,5÷2,5 м.ч.;

$I_{11 \div 12}$ – інтеграл в області зсуву 11÷12 м.ч.;

8 – кількість протонів в області зсуву 1,5÷2,5 м.ч., які належать глютаміновій кислоті та стероїлового фрагменту;

20 – кількість протонів циклогексанового фрагменту зі складу DCU, що ввійшло в структуру ЕФП (рис. 2.2, P-GluSt);

M_n – молекулярна маса однієї повторювальної ланки в макроланцюзі ЕФП, г/моль.

Завдяки отриманій залежності 2.4 було оцінено середню молекулярну масу ЕФП та ступінь поліконденсації для зразків, для яких було отримано результати ^1H NMR спектроскопії. Розраховані значення наведені в таблиці 2.2. В цій же таблиці для порівняння оцінки молекулярної маси наведені дані, які отримані методом гель-проникної хроматографії та ізотермічної перегонки, а також значення характеристичної в'язкості. Слід відмітити, що спостерігається достатньо задовільне співпадіння між оцінками молекулярної маси за проведеними методами визначення. Але результати, що отримані за допомогою гель-проникної хроматографії, слід вважати систематично заниженими. Слід думати, що систематичне заниження результатів спричинене специфічною взаємодією фосфоровмісних зразків поліестерів з поверхнею насадки, яка не передбачається при калібруванні колонки згідно з стандартом полістирену. Цей факт підтверджується заниженням результатів молекулярної маси фосфоровмісного мономеру DEP у порівнянні з молекулярною масою PEG з тією ж молекулярною масою, а також, суттєвим заниження молекулярної маси у випадку «складних» поліестерів, у яких питомий вклад фосфатних груп є суттєво меншим (аналіз буде наведено в наступному розділі). Разом з тим, дослідження отримані за допомогою гель-проникної хроматографії демонструють, що полідисперсність виділених зразків поліестерів не перевищує 1,2, що слід вважати добрим результатом для активованої поліконденсації. Винятком є зразок AV-202 (табл. 2.2, поз. 16), що отриманий на основі DEP-200. За умовами синтезу, його ступінь поліконденсації має становити 50 (по співвідношенню реагентів) та 24 (по співвідношенню реагентів та досягнутої конверсії). Але, загального висновку по цьому зразку робити не можна, оскільки на даному мономері не проводились широкі дослідження, через те, що на його основі не можна отримати ефективних поверхнево активних поліестерів через замалий вклад в гідрофільно-ліпофільний баланс поліоксиетиленового фрагменту.

З даних гель-проникної хроматографії (GPC) видно, що молекулярно-масовий розподіл, який характерний для всіх досліджуваних полімерів цього типу

представлений кількома фракціями з різною молекулярною масою (рис. 2.8, табл. 2.3).

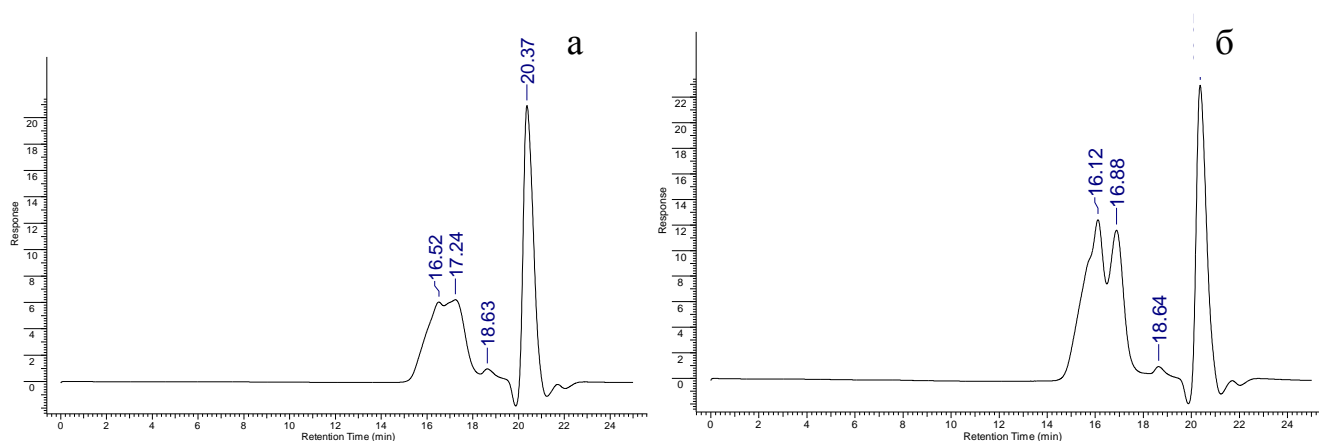


Рис. 2.8 Гель-проникні хроматограми ЕФП зразків а) AV-603 (табл. 2.2, поз. 18); б) AV-1001 (табл. 2.2, поз. 19)

Таблиця 2.3

Молекулярна маса ЕФП за даними GPC

№	Шифр зразку	Час виходу, хв	M_n , г/моль	M_w , г/моль	M_z , г/моль	M_{z+1} , г/моль	Полідисперсність
1	AV-603 (табл. 2.2, поз. 18)	16,52	3573	4369	5636	7470	1,22
2	AV-1001 (табл. 2.2, поз. 19)	16,12	5587	7255	10000	13998	1,30

Аналіз значень ступеня поліконденсації ЕФП, що наведені в таблиці 2.2, дозволяє зробити ряд спостережень. В системі, що досліджуються, утворюються поліестери зі ступенем поліконденсації в діапазоні від 3 до 18 в залежності від співвідношення реагентів та досягнутої конверсії. Слід відмітити, що ці значення помітно нижчі, ніж відповідні значення оцінені за рівнянням Карозерса (від 3 до 21, при оцінці з врахуванням конверсії та від 3 до 35 по максимально можливному ступені поліконденсації з врахуванням співвідношення реагентів та конверсії рівній 1). Також слід відмітити, що отримані значення є статистично значимо менші від ступенів поліконденсації отриманих в роботі [137], в якій описана активована поліконденсація за реакцією Стегліха між GluSt з поліоксиетиленами та поліоксипропіленами різної молекулярної маси.

Аналіз даних наведених в таблиці 2.2 показав, що найбільш вагомий вплив на ступінь поліконденсації має природа розчинника, в якому проводилась реакція. На

рис. 2.9 наведено діаграму розсіювання експериментальних значень ступеня поліконденсації ЕФП від прогнозованих за рівнянням Карозерса з врахування досягнутої конверсії.

Співставлення цих фактів дозволяє стверджувати, що поліконденсація GluSt з фосфоровмісними діолами за реакцією естерифікації Стегліха є більш ускладненою, ніж така ж реакція з відповідними молекулярними масами PEG. Насамперед, це проявляється в дещо нижчих значеннях конверсії, яка досягається в системі, що досліджується. Це зниження конверсії слід вважати незначним (практично на границі статистичної значимості), але в реакції поліконденсації значення ступеню поліконденсації є дуже чутливими до конверсії мономерів, особливо в області їх високих, граничних значень.

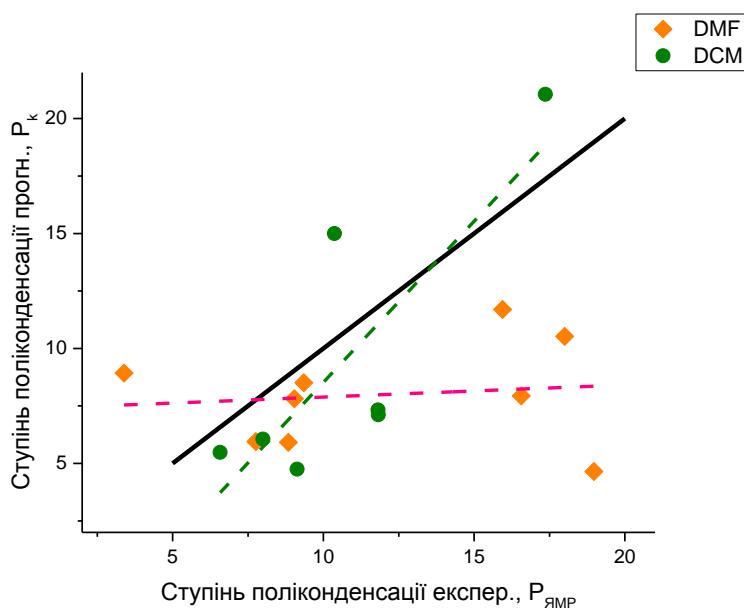


Рис. 2.9 Діаграма розсіювання експериментальних значень ступеня поліконденсації ЕФП від прогнозованих за рівнянням Карозерса з врахування досягнутої конверсії

Водночас, лише незначним зниженням конверсії, зниження ступеня поліконденсації пояснити не можна. При тому, на діаграмі розсіювання (рис. 2.9) наведені значення окремо для кожного розчинника, в якому проводились дослідження. З наведених даних можна побачити, що в обох розчинниках точки залежності суттєво відхиляються від діагоналі діаграми (при повному співпадінні значення має лежати на діагоналі). Але, для результатів синтезів отриманих в DCM відповідність є суттєво більша. Це підтверджує значення коефіцієнту лінійної кореляції, який становить 0,803 і свідчить про тісну кореляцію між цими даними. Це

означає, що співвідношення реагентів та конверсія має вагомий вплив на формування значення ступеня поліконденсації. Разом з тим, поряд з ними на це значення має вплив інший фактор, і його вплив також є вагомим. Це певною мірою усуває вплив співвідношення реагентів на молекулярну масу фосфоровмісних поліестерів.

Аналогічний аналіз результатів отриманих в DMF демонструє, що вплив цього останнього фактору настільки зріс, що вплив співвідношення карбоксильних груп до гідроксильних та конверсії оцінені за рівнянням Карозерса практично подавлені. Це підтверджує і невисоке значення коефіцієнту лінійної кореляції, яке в цьому випадку становить 0,126. Таке значення засвідчує або дуже слабку залежність ступеня поліконденсації отриманих зразків від співвідношення реагентів та їх конверсії, або, навіть, повну відсутність такого впливу.

Відомо, що роль такого фактору в умовах активованої поліконденсації за реакцією Стегліха відіграє реакція перегрупування активованої форми карбоксильної групи, що наведено на рис. 2.2. Цей фактор, за даними роботи [136], також має вагомий вплив, але не вирішальний, на формування значення ступеня поліконденсації при отриманні поліестерів з PEG і GluSt. Крім того, при дослідженні цієї полімеризації не спостерігалось суттєвого впливу природи розчинника.

У випадку дослідження одержання фосфоровмісних поліестерів, як показують проведені дослідження, роль розчинника має значний вплив. І слід зробити висновок, що проведення реакції в дихлорметані (або в інших хлорованих розчинниках) протікає з формуванням поліестерів з відносно вищим ступенем поліконденсації. За розробленою методикою реакція реалізується в температурному діапазоні від 12 до 18 °С, тоді найбільш вигідним, з хлорованих розчинників, є дихлорметан. Його температура кипіння є більшою ніж температура реакції, але недостатньо високою і видалення його з реакційної суміші не створює технологічних складнощів.

2.2 Отримання «складних» фосфоровмісних поліестерів

Описаний в попередньому розділі спосіб одержання фосфоровмісних поліестерів за реакцією Стегліха приводить до утворення олігомерних молекул зі ступенем поліконденсації від 6 до 16 залежно від умов отримання. Структуру цих молекул можна відобразити схемою на рис. 2.3. За цією схемою, в кожній ланці цих

макромолекул, що повторюється (від 3 до 8 залежно від ступеня поліконденсації), присутня фосфатна група. В структуру макромолекули фосфатна група вводиться з метою її функціоналізації для створення можливості хемосорбції на молекулах поліестеру в гідрофільних фрагментах біологічно активних сполук певної структури. Для вирішення певних завдань така кількість фосфатних груп на одну макромолекулу може бути надмірною, тому виникла необхідність розробити методику контрольованого регулювання середньої кількості фосфатних груп на одну макромолекулу при відносному збереженні ступені поліконденсації та молекулярної маси поліестерів.

Найбільш простим і привабливим методом вирішення цього завдання є одержання «складних» фосфоровмісних поліестерів за розробленою методикою, в яких частина фосфоровмісного мономера замінена поліетиленгліколем з приблизно тією ж молекулярною масою. В цьому випадку ланка макромолекули, що повторюється, може відображатися схемою наведеною на рис. 2.10.

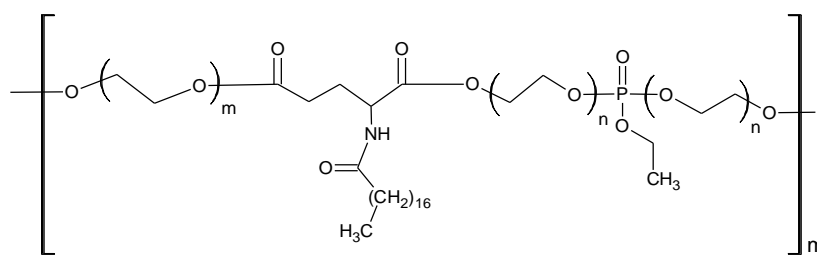


Рис. 2.10 Загальна структура «складних» ЕФП

Разом з тим, така суттєва зміна складу мономерної суміші вимагає додаткових досліджень, враховуючи особливості перебігу реакції поліконденсації, що були описані в попередньому розділі.

Для цього проведена серія досліджень з отримання «складних» фосфоровмісних поліестерів (табл. 2.5) взаємодією N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та суміші диполіетиленглікольетилфосфату (DEP) та поліетиленгліколю відповідної молекулярної маси найближчої до молекулярної маси мономера DEP, з врахуванням збереження співвідношення карбоксильних груп до гідроксильних (10/9, 9/8, 8/7, 10/9,8).

Оскільки набір функційних груп при такій заміні якісно не змінюється, то віднесення сигналів в NMR спектрах також не спостерігається. Разом з тим, зміна інтенсивності сигналів в ^1H NMR спектрах дозволяє підтвердити, що при високій

конверсії, що досягається в умовах реакції поліконденсації, в склад поліестеру фосфоровмісні мономери та поліетиленгліколь входять в тій же пропорції, що і завантажувались в реакційну масу. На рис. 2.11 наведені ^1H NMR спектри зразків AV-403 (табл. 2.5, поз. 3) з співвідношенням DEP до PEG 1:4 та AV-408 (табл. 2.5, поз. 8) з співвідношенням DEP до PEG 1:1. У таблиці 2.4 наведено їх порівняльний аналіз ^1H NMR спектрів.

Таблиця 2.4

Порівняльний аналіз ^1H NMR спектрів «складних» ЕФП

Позн.	Зсув, ppm	Тип	Віднесення	Фрагмент	AV-403 (табл. 2.5, поз. 3)	AV-408 (табл. 2.5, поз. 8)
A	0,8-0,9	T	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$	Steroyl	3,3	3,3
B	1,0-1,4	M	$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	Steroyl	29,55	30,54
I			$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-$	Ethyl		
B'	1,5-2,6	ШМ	$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-$	Steroyl	10,61	9,97
B''			$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-$	Steroyl		
C			$-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$	Glu		
D			$-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu		
F	3,5-3,9	ШМ	$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-$	PEG	80,44	90,77
H			$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-$	Ethyl		
E	3,9-4,1	ШМ	$-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$	PEG	0,99	1,43
G	4,1-4,4	ШМ	$-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$	PEG	3,84	3,84
J	4,5-4,7	ШМ	$-\text{CH}_2\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu	0,94	0,74

З даних таблиці, можна побачити, що відмінності між інтегралами є не значними, за винятком інтенсивності від етилфосфатної групи I та H. У зразку AV-408, в якому частка DEP є більшою порівняно зі зразком AV-403, інтеграли I та H є

більшими. Це свідчить про те, що в структуру складних ЕФП мономерна суміш входить зі контрольованим співвідношенням.

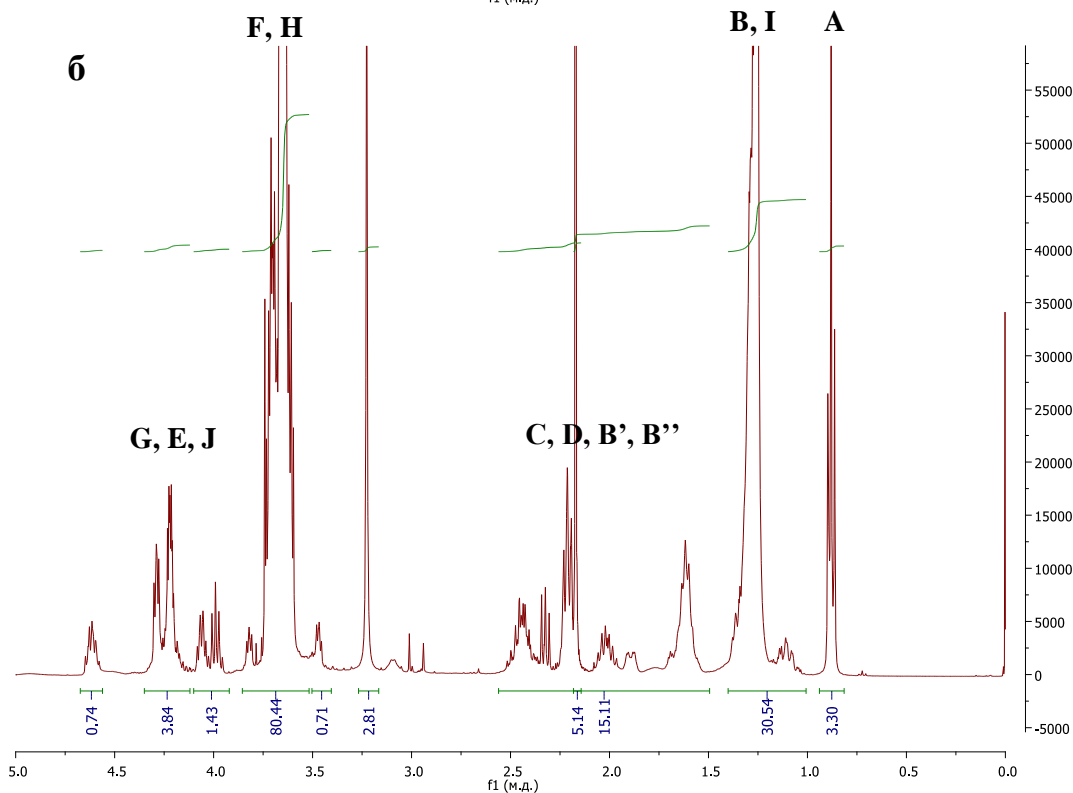
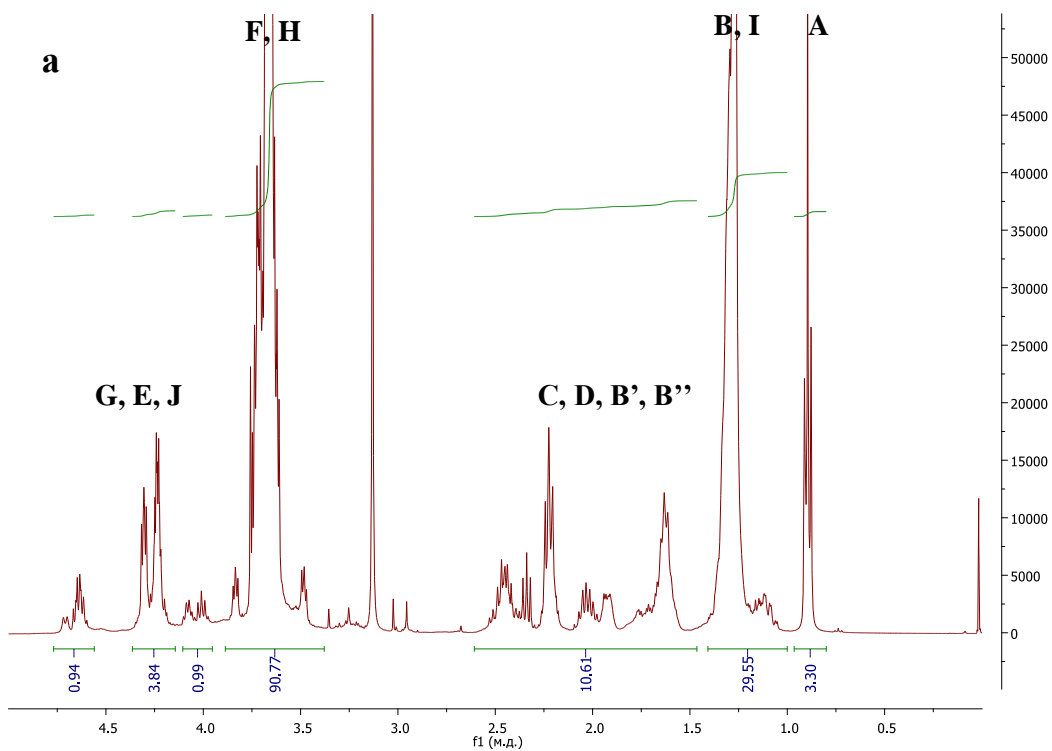
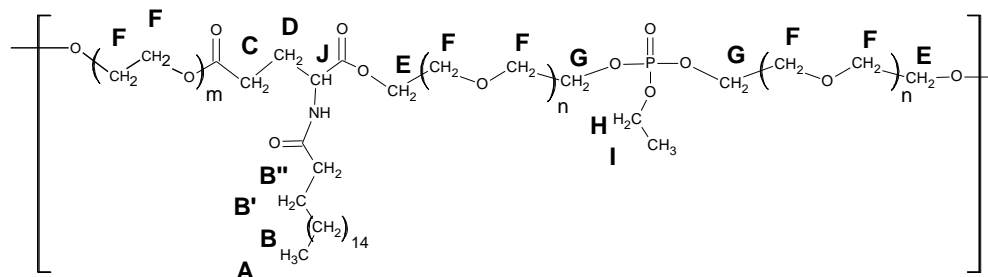


Рис. 2.11 ¹H NMR спектри «складних» ЕФП а) зразка AV-403 (табл. 2.5, поз. 3), співвідношення DEP до PEG 1:4, б) зразка AV-408 (табл. 2.5, поз. 8), співвідношення DEP до PEG 1:1

Таблиця 2.5

Результати синтезу «складних» ЕФП

№	Шифр синтезу	DEP	Молекулярна маса PEG	Співвідношення COOH / OH	Співвідношення DEP/PEG	Розчинник	Вихід DCU, %	Вихід ЕФП після виділення, %	Ступінь поліконденсації «складних» ЕФП P _{NMR} ¹	Ступінь поліконденсації «складних» ЕФП P _k ²	Молекулярна маса «складних» ЕФП M _n ³	Молекулярна маса «складних» ЕФП M _w ⁴
1	AV-401	DEP-4	PEG-1000	9,8/10	1,1	DCM	93,5	95,3	6,8	13,5	4633	3309
2	AV-402	DEP-4	PEG-1000	10/9,8	0,3	DCM	94,2	93,9	12,4	15,2	8257	6140
3	AV-403	DEP-4	PEG-1000	10/9,8	0,2	DCM	92,5	98,8	7,7	12,1	5072	4968
4	AV-404	DEP-4	PEG-1000	9/10	0,3	DCM	97,8	84,8	16,3	13,6	10808	5861
5	AV-405	DEP-4	PEG-1000	8/9	0,3	DCM	95,6	95,8	8,7	10,0	5805	5401
6	AV-406	DEP-4	PEG-1000	9/8	0,3	DCM	93,6	95,8	6,6	8,3	4359	5069
7	AV-407	DEP-4	PEG-1000	10/9	0,3	DCM	91,2	98,3	5,1	7,4	3357	4444
8	AV-408	DEP-4	PEG-1000	10/9,8	1,0	DCM	95,9	77,9	10,2	16,4	6891	3841
9	AS-492	DEP-4	PEG-1000	10/9	1,0	DCM	100,0	99,2	83,3		56561	3481
10	AS-493	DEP-4	PEG-1000	10/9	0,3	DCM	98,0	93,7	16,9	15,5	11742	4941
11	AS-10p	-	PEG-1000	9/8	-	DCM	97,4	99,5	10,6	11,9	7519	6378
12	AV-601	DEP-6	PEG-1500	10/9,8	1,0	DCM	94,8	97,6	10,2	15,3	9351	7441
13	AV-602	DEP-6	PEG-1500	10/9,8	3,0	DCM	91,1	97,1	8,5	9,7	7720	8682
14	AV-201	DEP-2	PEG-400	10/9,9	1,0	DCM	100,0	60,9	7,5	12,8	3229	4384
15	AV-1002	DEP-10	PEG-1500	10/9,7	1,0	DCM	9,50	95,4	10,6	14,6	11669	6771

¹Ступінь поліконденсації «складних» ЕФП розраховано за кінцевими групами згідно з ¹H NMR спектру за формулою 2.1;

²Ступінь поліконденсації «складних» ЕФП з врахування досягнутої конверсії розраховано за рівнянням Карозерса за формулою 2.2;

³Молекулярна маса «складних» ЕФП розраховано за кінцевими групами згідно з ¹H NMR спектру за формулою 2.4, г/моль;

⁴Молекулярна маса «складних» ЕФП за даними GPC, г/моль.

Аналіз результатів синтезу «складних» ЕФП наведених в таблиці 2.5, насамперед, дозволяє підтвердити висновок, зроблений в попередньому розділі, що використання фосфоровмісного мономеру приводить до утворення поліестерів з відносно меншими ступенями поліконденсації, ніж це передбачається співвідношенням реагентів та глибиною перебігу процесу (конверсією). Графічно цей

факт ілюструє крива, що наведена на рис.2.12, де продемонстрована залежність молекулярної маси від співвідношення DEP/PEG.

Розсіювання точок на кривій викликано тим, що зразки «складних» фосфоровмісних поліестерів були отримані при різних (але достатньо близьких до еквімолярних) співвідношеннях. Власне кажучи, в такому вигляді наведені дані демонструють, що на ступінь поліконденсації в системі, що досліджується, природа діолу має співрозмірний вплив разом з співвідношенням реагентів, що було обговорено в попередньому розділі.

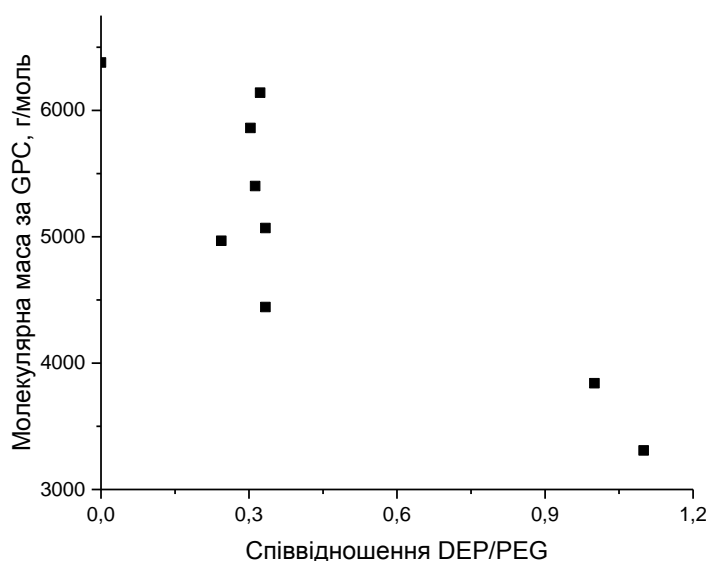


Рис. 2.12 Залежність молекулярної маси «складних» ЕФП від співвідношення DEP/PEG

На рис. 2.13 наведена залежність молекулярної маси зразків «складних» фосфоровмісних поліестерів визначених за даними ^1H NMR спектрів (по кінцевих групах) від молекулярної маси цих же зразків, які визначені методом гель-проникної хроматографії. З наведеної залежності можна побачити, що відповідність визначення молекулярної маси за цими двома методами узгоджується значно краще, ніж у випадку простих фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою, які описані у попередньому розділі. Якщо врахувати, що підвищення узгодженості реалізувалось завдяки зменшенню питомої частки фосфатних груп в макромолекулі, тоді цей факт підтверджує раніше зроблений висновок: використана колонка гель-проникної хроматографії, або її калібрування згідно з стандартом полістирену, не достатньо адекватно визначає молекулярну масу цього класу сполук. Тоді, в межах даної

роботи, визначення молекулярної маси ЕФП за кінцевими групами за даними ^1H NMR спектроскопії слід вважати більш адекватним.

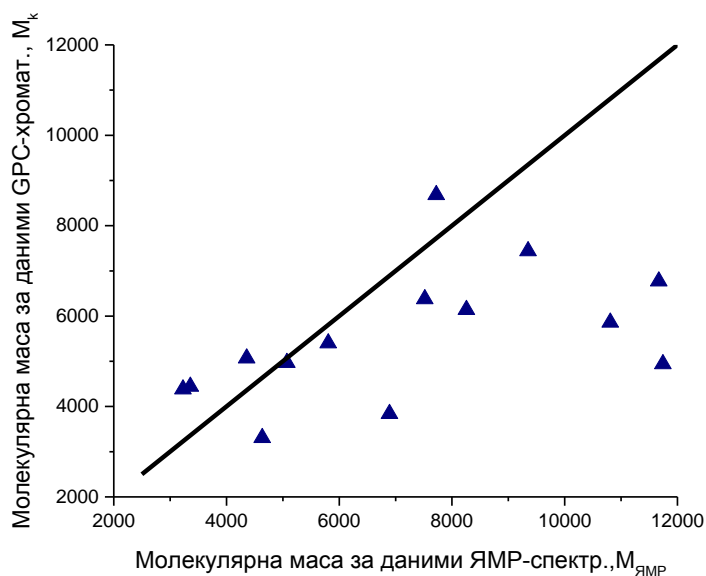


Рис. 2.13 Залежність молекулярної маси «складних» ЕФП оцінена за даними ^1H NMR спектроскопії та гель-проникної хроматографії

У випадку аналізу методами гель-проникної хроматографії «складних» ЕФП, їх адекватність суттєво підвищується. Для ілюстрації, на рис. 2.14 наведені гістограми молекулярно-масового розподілу, що отримані методом GPC, а в таблиці 2.6, його числові оцінки для зразків AV-405 (табл. 2.5, поз. 5) та AV-601 (табл. 2.5, поз. 12). З наведених даних можна побачити, що полідисперсність зразків знаходиться в межах 1,15 до 1,35. Ці дані узгоджуються з даними отриманими для простих фосфоровмісних поліестерів (див. розділ 2.1.5). Останнє дозволяє зробити припущення, що послаблення впливу фосфатної групи на процес формування докорінно не змінило її основні закономірності.

Таблиця 2.6

Молекулярна маса «складних» ЕФП за даними GPC

№	Шифр зразків	Час виходу, хв	M_n , г/моль	M_w , г/моль	M_z , г/моль	M_{z+1} , г/моль	Полідисперсність
1	AV-405 (табл. 2.5, поз. 5)	16,09	5401	6464	8150	10517	1,19
2	AV-601 (табл. 2.5, поз. 12)	15,86	8682	11764	17369	26021	1,35

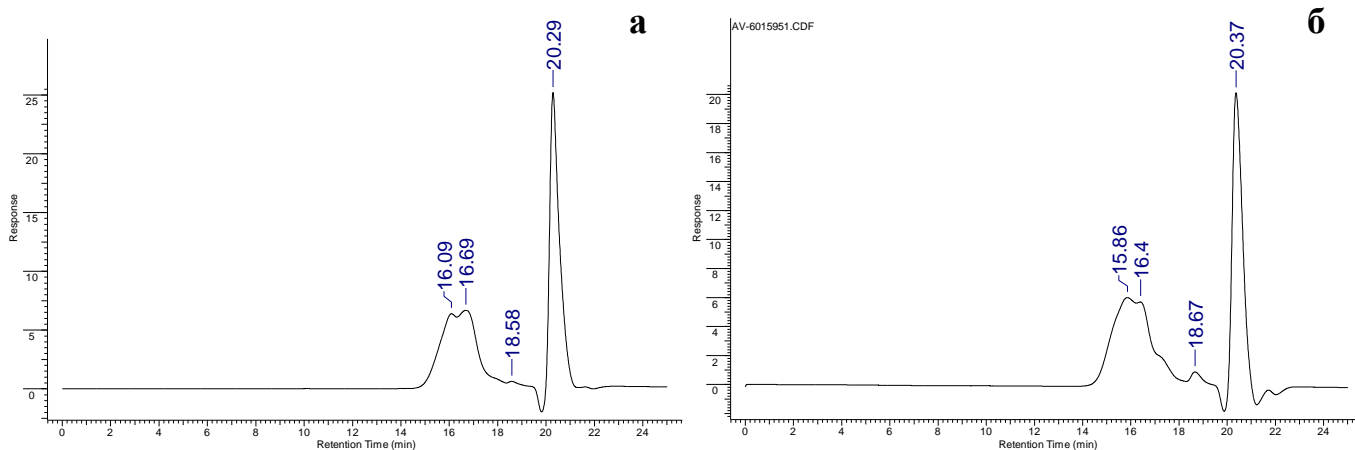


Рис. 2.14 Гель-проникні хроматограми «складних» ЕФП на прикладі зразків а) AV-405 (табл. 2.5, поз. 5) ; б) AV-601 (табл. 2.5, поз. 12)

Це підтверджується і діаграмою залежності ступеня поліконденсації «складних» ЕФП оціненими за рівнянням Карозерса з врахуванням ступеня перетворення та експериментально визначеним ступенем поліконденсації згідно з даними ^1H NMR спектроскопії на рис. 2.15 (для простих фосфоровмісних поліестерів аналогічна діаграма наведена на рис. 2.9). Порівняння цих діаграм підтверджує той факт, що у випадку одержання складних поліестерів процес відбувається більш ефективно і прогнозовано, виходячи з загальноприйнятих положень реакції поліконденсації.

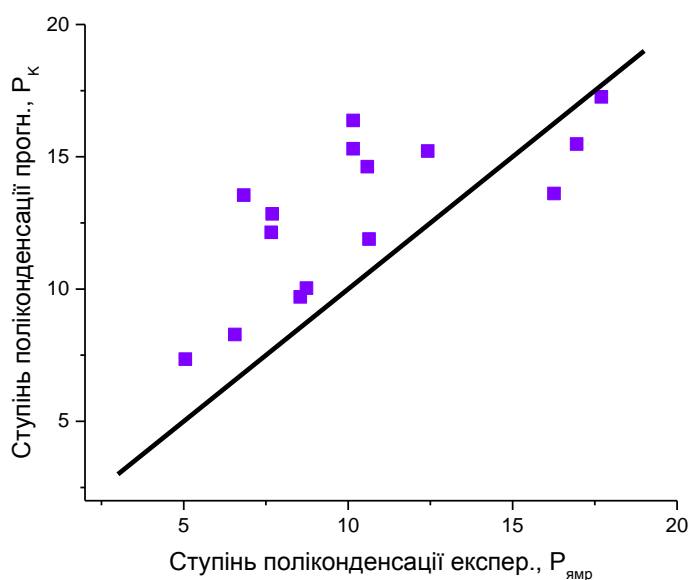


Рис. 2.15 Діаграма розсіювання експериментальних значень ступеня поліконденсації від прогнозованих за рівнянням Карозерса з врахування досягнутої конверсії

2.3 Вплив фосфатного фрагменту в складі мономеру на перебіг реакції поліконденсації

В межах даного дослідження реалізовувалось завдання функціоналізувати поліестери, що отримані шляхом активованої поліконденсації за реакцією Стегліха, N-похідних глутамінової кислоти з діолами поліоксиетиленового ряду, в їхніх гідрофільних фрагментах. Для цього в структуру поліоксиетилену було введено етилфосфатну групу і було проведено ряд досліджень поліконденсації такого мономеру, результати яких описано в попередніх розділах. Підсумовуючи ці результати, можна стверджувати, що введення етилфосфатної групи в структуру мономеру значною мірою вплинуло на перебіг цієї реакції. В роботі [136] проводились дослідження реакції поліконденсації N-стеароїлглутамінової кислоти з поліоксиетиленами різної молекулярної маси за цим же механізмом. Порівнюючи отримані результати, однозначно можна стверджувати два факти. Реакція поліконденсація за участю поліоксиетиленового мономеру з етилфосфатною групою в порівняльних умовах реалізується з вагомим зниженням ступеня поліконденсації ЕФП (вдвічі-втричі нижча). Причиною зниження є більша частка перегрупування активованої форми карбоксильної групи (P-GluSt) за реакцією наведеній на рис. 2.2. Друга відмінність в дослідженні, що описується, в межах цієї роботи, виявлено доволі вагомий вплив на ступінь поліконденсації ЕФП природи розчинника. Зокрема, в попередніх розділах показано, що ступінь поліконденсації ЕФП в DCM протікають з реалізацією вищих ступенів поліконденсації, ніж DMF, а самі закономірності переважно відповідають закономірностям реакції поліконденсації, зокрема залежності ступеня поліконденсації розраховані за рівнянням Карозерса від умов отримання ЕФП. Як показали дослідження, причиною досягнення більш високих ступенів поліконденсації, у випадку проведення реакції в DCM, є менша частка реакції перегрупування активованої карбоксильної групи (рис. 2.2). В роботі [136] відповідного впливу природи розчинника не спостерігалось. При тому, в цій роботі описано, що на ступінь поліконденсації ППАК вагомий вплив має природа замісника в N-положенні глутамінової кислоти. Власне, використання стероїлу у вигляді захисної групи забезпечує реалізацію високих ступенів поліконденсації поліестерів, близьких до прогнозованих за рівнянням Карозерса.

За механізмом реакції Стегліха (схема на рис. 2.1) передбачається, що досягнення високих ступенів поліконденсації, значною мірою, забезпечується використанням каталізатором Стегліха – нуклеофільної добавки, а саме DMAP. Його роль полягає у взаємодії з активованою формою карбоксильної групи A-GluSt зі зміщенням перебігу реакції в бік утворення естеру. Проведені дослідження показали, що необхідна кількість нуклеофільної добавки знаходиться в межах 12,5-15 % мольн. від завантаженого в реакційну суміш DCC.

Зниження ступеня поліконденсації ЕФП, що спостерігається в межах даних досліджень, слід пояснювати зниженням впливу на перебіг реакції цієї нуклеофільної добавки. Причиною зниження впливу слід шукати в присутності в реакційній масі молекул з етилфосфатною групою.

Для встановлення взаємодії між фосфоровмісним мономером і DMAP були проведені дослідження з використанням ІР-спектроскопії. Для цього були приготовлені розчини фосфоровмісного мономеру і DMAP у дихлорметані та їх суміші у співвідношенні 1:1, 2:1, 2,7:1, 3,5:1 відповідно. На рис. 2.16 наведено їх фрагменти ІР-спектрів. Смуга поглинання в області 1600-1610 cm^{-1} належить зв'язку N-C, який містить 4-диметиламінопіридин. У розчині DMAP чітко спостерігаємо даний пік. Відповідно у розчині мономеру, в цій області, не спостерігається жодних піків. У розчинах з різним співвідношенням DEP/DMAP в смузі поглинання 1650-1660 cm^{-1} спостерігається новий пік, який не характерний для індивідуальних розчинів DEP і DMAP. Це свідчить про те, що у системі утворився новий зв'язок, швидше за все, з аміном. При співвідношенні DEP/DMAP 2,7/1 та 3,5/1, пік, який властивий DMAP, не проявився. Це може означати, що при такому надлишку фосфоровмісного мономеру, весь DMAP знаходиться у комплексі, та пік на 1605 cm^{-1} не проявляється. Натомість пік зв'язку аміну з етилфосфатною групою слабо проявлений. При співвідношеннях DEP/DMAP 1/1 та 2/1, площа обох піків практично однакова. Це свідчить про те, що частина DMAP знаходиться в своїй початковій формі, і інша частина у вигляді комплексу.

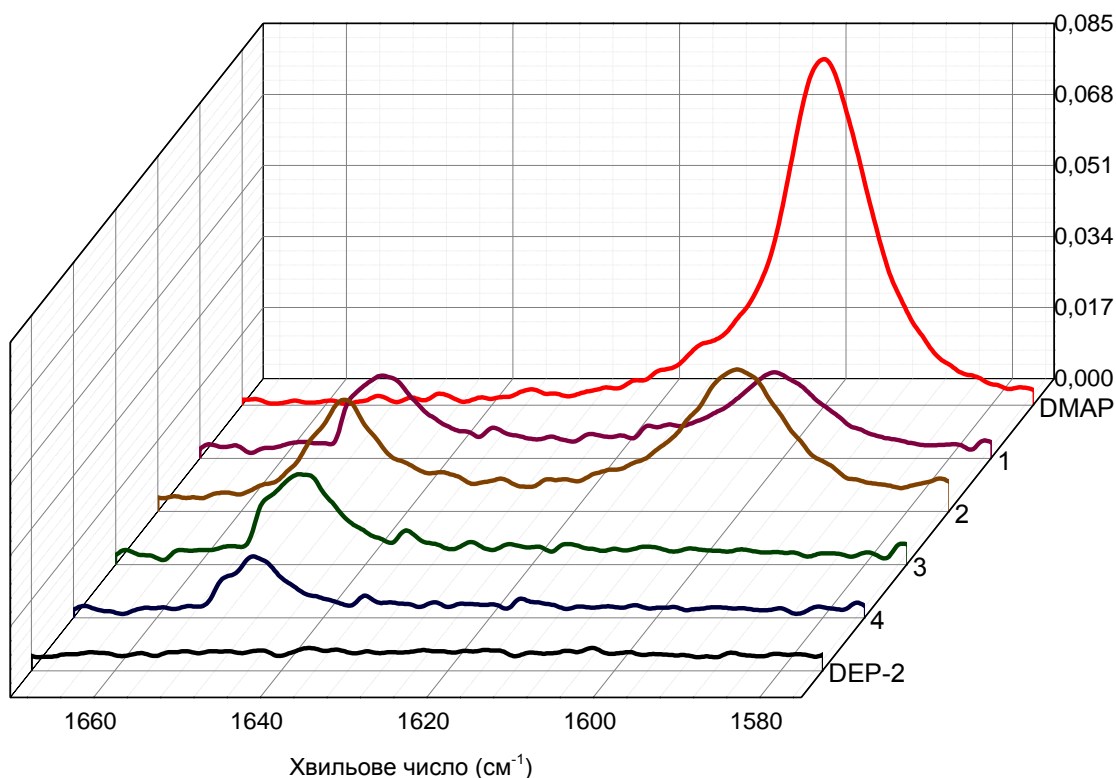


Рис. 2.16 Порівняльні фрагменти IR-спектрів суміші фосфоровмісного мономеру і DMAP у дихлорметані. Співвідношення DEP/DMAP 1-3,5:1; 2-2,7:1; 3-2:1; 4-1:1

Як було зазначено вище, DMAP сприяє утворенню естерного зв'язку, утворюючи високо реакційноздатну пару та в ході реакції не витрачається. Вплив нуклеофільної добавки на конверсію реакції поліконденсації в системі дикарбонова амінокислота/фосфоровмісний діол досліджувався з використанням 4-диметиламінопіридину (DMAP), 1,4-діазабіцикло[2.2.2]октан (DABCO) та суміші DMAP з *p*-толуолсульфо кислотою (TsOH) у DCM. Конверсія реакції поліестерифікації оцінювалась за кількістю DCU, виділеної в результаті реакції в порівняльних умовах. Результати даного дослідження представлені в табл. 2.7.

З даних таблиці, можна зробити висновок, що вихід DCU не залежить від використаних НА чи їх кількості. Такий самий висновок підтверджується аналізом кінцевих груп за ^1H NMR спектром отриманих фосфоровмісних поліестерів.

Результати оцінки конверсії синтезу ЕФП із застосуванням різних
нуклеофільних добавок

№	Шифр синтезу	Нуклеофільна добавка (NA)	COOH/OH	NA/DCC	NA/DEP	Розчинник	Вихід DCU, %	Вихід ЕФП після виділення, %	Ступінь поліконденсації ЕФП P_{NMR}^1	Ступінь поліконденсації ЕФП P_k^2	Ступінь поліконденсації ЕФП P_{max}^3	Молекулярна маса ЕФП M_n^4 за 1H NMR спектром
1	AS-501	DABCO	1,11	0,126	0,308	DCM	95,7	91,4	5,32	13,58	19,16	3460
2	AS-503	DMAP +TsOH	1,11	0,130	0,320	DCM	98,1	92,7	9,95	16,49	19,08	6473
3	AS-504	DMAP	1,11	0,442	1,079	DCM	99,1	99,3	10,1	16,31	19,18	6538

¹Ступінь поліконденсації ЕФП розраховано за кінцевими групами згідно з 1H NMR за формулою 2.1;

²Ступінь поліконденсації ЕФП з врахування досягнутої конверсії розраховано за рівнянням Карозерса за формулою 2.2;

³Максимально можливий ступінь поліконденсації ЕФП, при конверсії рівній 1, розраховано за рівнянням Карозерса згідно з формулою 2.3

Отже, проведені дослідження отримання ЕФП встановили дві основні особливості реакції поліконденсації N-похідних дикарбонових кислот з фосфоровмісним діолом – ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфатом (DEP). По перше, реакція отримання ЕФП відбувається з істотно нижчими ступенями поліконденсації ніж аналогічні реакції отримання ППАК поліестерного типу з поліетиленгліколями, які не містять фосфатної групи. Причиною такого значного зниження ступеня поліконденсації є інтенсивніший перебіг реакції непродуктивного перегрупування активованої форми карбоксильної групи (рис. 2.2) у випадку фосфоровмісних діолів. В межах проведених досліджень встановлено причини такого зниження ступеня поліконденсації ЕФП. На рис.2. 16 показано, що фосфатна група в складі діолів здатна утворювати комплекси з DMAP. Оскільки DMAP (рис. 2.1) є нуклеофільною добавкою в каталізаторі Стегліха, завдання якого є подавлення реакції перегрупування та дезактивації активованої форми карбоксильної групи, то слід очікувати, що зв'язування DMAP в комплекс спричиняє до відносного збільшення кількості активів перегрупування.

Крім того, в межах роботи встановлено, що проведення реакції поліконденсації в DCM протікає з помітно вищим ступенем поліконденсації ЕФП, ніж в DMF. Водночас слід відмітити, що такого впливу на ступінь поліконденсації ППАК при дослідженні цієї реакції з PEG не спостерігалось.

Причину появи впливу природи розчинника слід також шукати в частковому виведенні з реакції DMAP. DCM, за своєю природою, є розчинником із значною кислотною складовою, а DMF – з високою основністю. Зменшення впливу сильного нуклеофіла DMAP в перебігу реакції зробили її більш чутливою до впливу протонних реакцій, які прискорюють перебіг перетворення активованої форми карбоксильної групи в естер (схема 2.1 маршрут II), або утворення ангідридної групи (схема 2.1 маршрут I, III). Проте цей вплив є суттєво слабшим і повністю компенсувати роль сильного нуклеофіла в каталізаторі Стегліха не здатний.

Разом з тим, проведені дослідження показують, що в описаних умовах дає можливість отримати ЕФП з ступенем поліконденсації $3 \div 18$. Дослідження, які будуть викладені в наступних розділах, дозволяють стверджувати, що цього ступеня поліконденсації уже є достатньо, для одержання на основі фосфоровмісних поліестерів дисперсних полімерних систем медико-біологічного спрямування.

2.4 Дослідження гідролізу етилфосфатної групи фосфоровмісних поліестерів

Етилфосфатна група в структуру поліестера вводилась як попередник фосфатної групи. Введення одразу фосфатної групи могло би призвести до отримання розгалужених фосфоровмісних поліестерів, що є небажаним для поставленого завдання дисертаційного дослідження. Саме фосфатна група здатна до хемосорбції органічних сполук основної природи на макромолекулах поліестера. Тому було досліджено спосіб гідролізу етилфосфатної групи до фосфатної за схемою наведеною на рис. 2.17.

За даними [152], в кислому середовищі ($pH < 7$) швидкість гідролізу бічного ланцюга етилфосфатної групи відбувається значно швидше, ніж естерних зв'язків основного ланцюга поліестера. В лужному середовищі навпаки, спостерігається висока швидкість реакції гідролізу естерних груп різної природи. В цьому випадку це

приведе до руйнування основного ланцюга. А такий процес є небажаним для досягнення поставленого завдання.

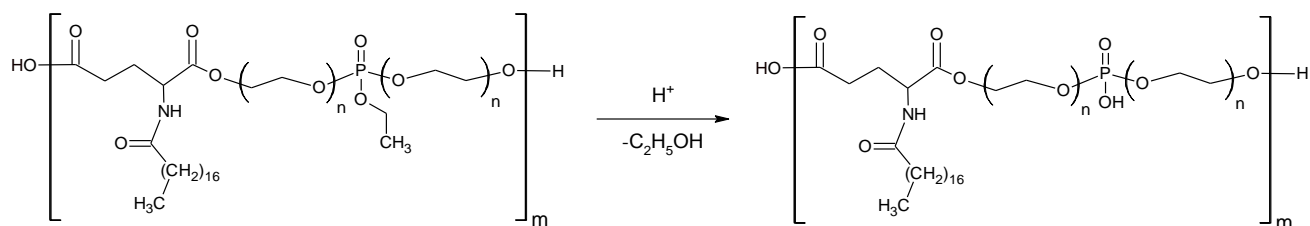


Рис. 2.17 Схема гідролізу етилфосфатної групи ЕФП з одержанням ФП

Гідроліз ЕФП проводили в водному середовищі в діапазоні рН від 2 до 3 в залежності від співвідношення кількості хлоридної кислоти до етилфосфатних груп. Як каталізатор використовували хлоридну кислоту. Дослідження проводили при температурах 30, 60 та 80 °С, для визначення максимальної температури при якій гідроліз естерних груп основного ланцюга протікає з мінімальною швидкістю. За повнотою перебігу реакції гідролізу етилфосфатної групи контролювали по приросту кислотності реакційної суміші (титриметричним аналізом). Методика аналізу наведена в розділі 5.3.11. Крім того, для підтвердження виділення етанолу під час реакції гідролізу етилфосфатної групи було проведене хроматографічне визначення його кількості в реакційній суміші.

На рис. 2.18 наведені кінетичні криві гідролізу етилфосфатної групи ЕФП, отримані титриметричним методом, розрахованих на конверсію етилфосфатних груп, при різних температурах. В такому випадку, перевищення конверсії вище 100 % засвідчує гідроліз не лише етилфосфатних груп, але й естерних карбоксильних груп. Барами на цьому рисунку наведено значення конверсії, що оцінена по концентрації етанолу в реакційній суміші відповідно до даних хроматографічного аналізу.

З отриманих даних можна виділити такі спостереження. По-перше, в умовах, що досліджується, відбувається гідроліз і етилфосфатних, і естерних зв'язків з різними швидкостями. При тому гідроліз фосфатних відбувається дуже швидко, що особливо помітно на кривій, яка отримана при температурі гідролізу 80 °С. В цих умовах гідроліз етилфосфатних груп проходить швидко, до 30 хвилин. Але в цей же час, відбувається гідроліз естерних груп, притому з значно вищою швидкістю.

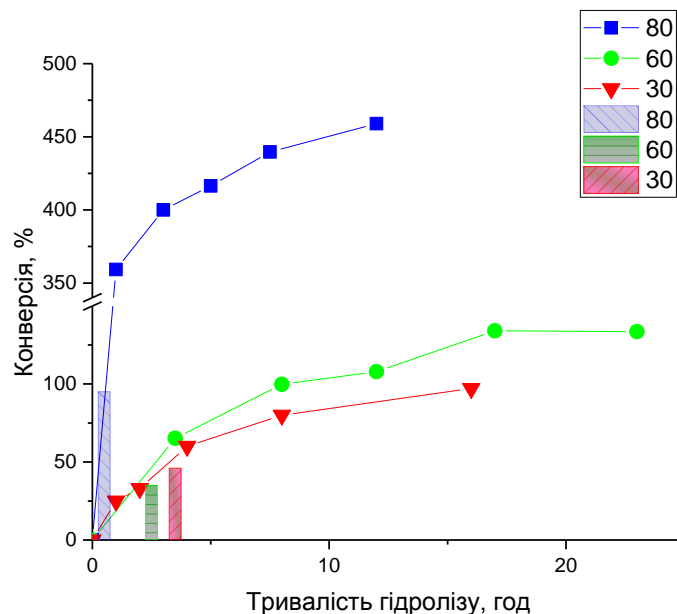


Рис. 2.18 Залежність конверсії фосфатних груп фосфоровмісних поліестерів від температури та часу

При проведенні реакції гідролізу при температурі 60 °C, гідроліз етилфосфатної групи також відбувається достатньо швидко, а естерних груп значно сповільнюється. Незначний вплив гідролізу по естерних групах підтверджується також і тим, що при температурі гідролізу 30 °C, отримана крива близька до 60 °C.

Співставлення конверсії по приросту кислотності та концентрації етанолу в реакційному середовищі підтверджує перебіг гідролізу етилфосфатних груп. При температурах 30 і 60 °C спостерігали задовільне співпадіння цих величин. В цьому випадку можна стверджувати, що в основному протікає гідроліз етилфосфатних груп. Коли конверсія фосфатних груп, визначена за даними хроматографічного аналізу, менша від конверсії визначеної по приросту кислотності, це засвідчує перебіг гідролізу естерних груп (що спостерігається при температурі 80 °C).

Різниця у структурах фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою та її гідролізованою фосфатною групою є незначною, тому методи IR- та NMR-спектороскопії недостатні для підтвердження зміни структури. Для прикладу, на ¹H NMR спектрі в діапазоні 1,0-1,4 м.ч., де проявляються сигнали від метильної групи етилфосфату та метиленових груп стероїлового фрагменту, спостерігається зміна інтегралу по відношенні до сигналу метильної групи стероїлового фрагменту в діапазоні 0,8-0,9 м.ч. Проте така зміна на рівні точності аналізу не може підтвердити, чи всі етилфосфатні групи були гідролізовані.

За розробленою методикою реакції гідролізу етилфосфатної групи зі складу фосфоровмісних поліестерів, найбільш зручно проводити в водному середовищі в діапазоні рН 2-3, при температурі в межах 30-60 °С. За цих умов досягається більший контроль глибини протікання гідролізу за допомогою титрометричного методу аналізу і необхідна конверсія етилфосфатних груп при збереженні естерних груп основного ланцюга фосфоровмісних поліестерів.

РОЗДІЛ 3

КОЛОЇДНО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ФОСФОРОВМІСНИХ ПОЛІЕСТЕРІВ

В попередньому розділі було описано результати дослідження отримання фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою на основі N-стероїлглутамінової кислоти та поліоксиетиленгліколю (рис. 2.3) та гідролізу бічного ланцюга фосфатної групи (рис. 2.17), що входить в структуру поліестеру. Результати цих досліджень показали, що розроблена методика дозволяє отримувати фосфоровмісні поліестери з етилфосфатною та фосфатною групою. Розроблені фосфоровмісні поліестери, завдяки їхніх поверхнево-активним властивостям, здатні формувати у водних середовищах самостабілізовані дисперсії з нанометричними розмірами частинок дисперсної фази. В цьому розділі описані результати досліджень особливостей формування частинок дисперсної фази ЕФП та ФП, отримані результати співставленні з даними, які були отримані для ППАК поліестерного типу. Це дозволить встановити вплив введення в гідрофільний фрагмент поліестерів етилфосфатної та фосфатної групи на закономірності формування водних самостабілізованих дисперсій.

Одержання ППАК поліестерного типу відбувається шляхом незворотної активованої поліконденсації за реакцією Стегліха. За цією схемою, поліестери можна отримувати за участю діолів різної природи. Для забезпечення поверхнево-активних властивостей ліпофільні фрагменти формувались за рахунок N-ацил похідних фрагментів глютамінової кислоти, а гідрофільні – поліоксиетиленових. При використанні поліетиленгліколю, отримують «прості» поліестери (рис. 3.1а) [137]. Ліпофільні властивості отриманих поліестерів змінювались за рахунок молекулярної маси аліфатичного фрагменту в N-заміснику глютамінової кислоти. Гідрофільні властивості регулювались завдяки використанню поліетиленгліколів різної молекулярної маси. В роботі [137], при одночасному завантаженні в реакційну масу діолів різної природи, зокрема поліетиленгліколю та поліпропіленгліколю, одержували «складні» поліестери (рис. 3.2б). Використання поліетиленгліколів або поліпропіленгліколів різної молекулярною маси в роботі [137] регулювали

гідрофільно-ліпофільний баланс поліестерів за рахунок зміни структури ліпофільного фрагменту.

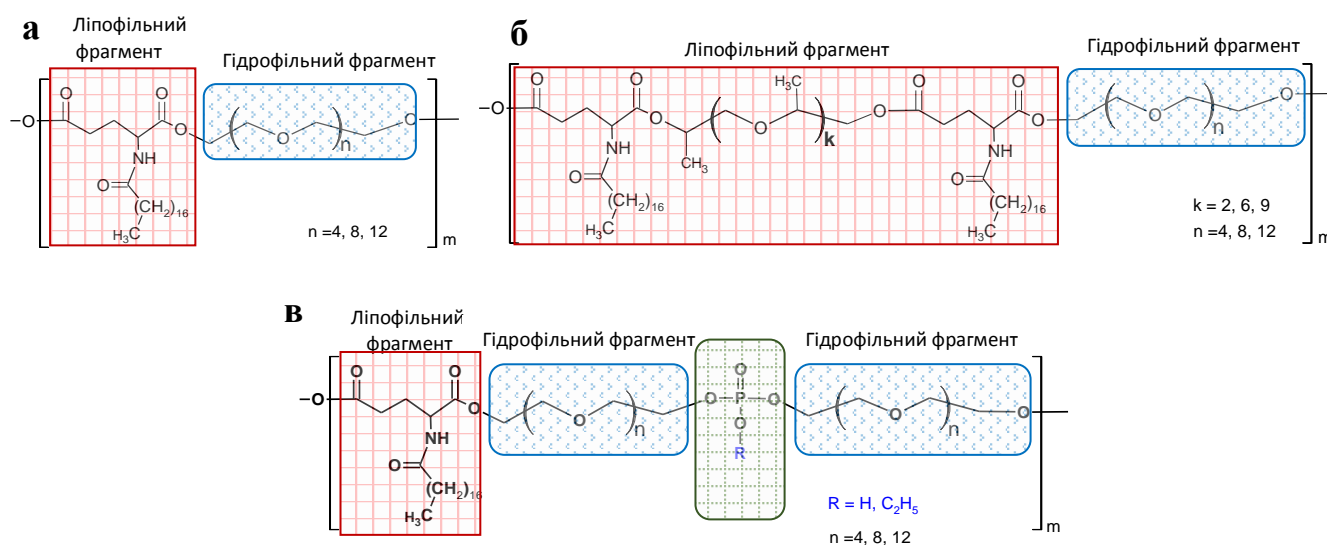


Рис. 3.1 Структури а) «простих»; б) «складних»; в) фосфоровмісних ППАК поліестерного типу

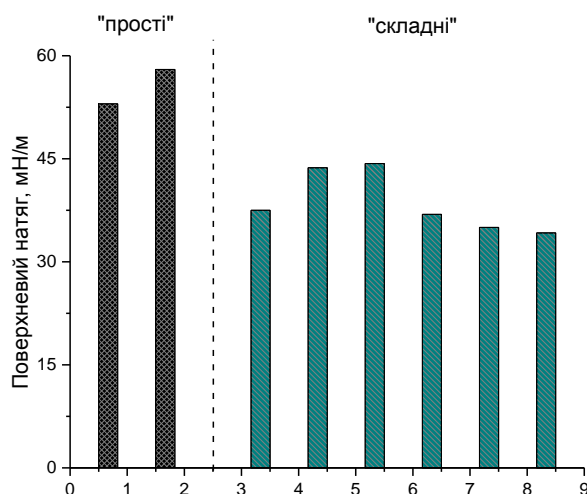


Рис. 3.2 Значення поверхневого натягу водних дисперсій (концентрація 0,2 %) «простих» та «складних» поліестерів за даними роботи [137]
 1–GluSt-PEG600; 2–GluSt-PEG300; 3–GluSt-DPG-GluSt-PEG400;
 4–GluSt-DPG-GluSt-PEG600; 5–GluSt-DPG-GluSt-PEG1000; 6–GluSt-PPG400-GluSt-PEG300; 7–
 GluSt-PPG1000-GluSt-PEG400; 8–GluSt-PPG1000-GluSt-PEG1000

На рис. 3.2 наведені дані дослідження поверхневого натягу ППАК поліестерного типу вище описаних «простих» (рис. 3.1а) та «складних» поліестерів (рис. 3.1б). З наведених даних можна побачити, що водні дисперсії «простих» поліестерів (рис. 3.1а) знижують поверхневий натяг до 51-58 мН/м, «складні» поліестери (рис. 3.1б), з введенням в ланцюг полімеру двох поліетердіолів, різних за природою та молекулярною масою, знижують поверхневий натяг до 33-45 мН/м.

Основним завданням цієї роботи є введення в структуру поліестеру, в її гідрофільний фрагмент, фосфатної групи, для хемосорбції за її участю біологічно

активних сполук. Але введення такої групи в гідрофільний ланцюг достатньо суттєво змінює її природу, а це, своєю чергою, має впливати на закономірності формування самостабілізованої дисперсної фази.

3.1 Дослідження поверхнево-активних властивостей фосфоровмісних поліестерів

Введення в структуру гідрофільних фрагментів етилфосфатної чи фосфатної групи (рис. 3.1в) має доволі помітний вплив на поверхнево-активні властивості. В межах описаних поліестерів «простих» (рис. 3.1а) та «складних» (рис. 3.1б), що розглядаються в розділі 3.1, фосфоровмісні поліестери слід розглядати як «прості» поліестери у яких модифікований гідрофільний фрагмент (рис. 3.1в). Поверхневий натяг дисперсій аналогічних «простих» поліестерів (на рис. 3.1а) змінювався в межах $51 \div 58$ мН/м (рис. 3.2) залежно від молекулярної маси поліетердіола, що входив у структуру поліестеру. Введення етилфосфатної чи фосфатної групи знижує поверхневий натяг до 41-37 мН/м (рис. 3.3). Для досягнення таких значень поверхневого натягу отримували «складні» поліестери (рис. 3.1б) за допомогою введення в структуру поліестеру ліпофільного фрагменту – ланок поліпропіленгліколю. Фосфатна чи етилфосфатна група, яка введена в поліоксиетиленовий фрагмент, не суттєво змінює його молекулярну масу, і пояснювати такий значний вплив зміною молекулярної маси гідрофільного фрагменту не можна. Тоді слід вважати, що саме природа фосфатної або етилфосфатної групи спричиняє додаткове зниження поверхневого натягу. Ізотерми поверхневого натягу водних дисперсії фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною та фосфатною групами наведені на рис. 3.3.

Крива 1 (рис. 3.3), ізотерма поверхневого натягу, яка отримана для зразків водних дисперсії ЕФП, демонструє зниження поверхневого натягу до 40 мН/м і має недостатньо однозначно визначену точку перегину, яка відповідає критичній концентрації міцелоутворення (ККМ). Крива 2 (рис. 3.3), ізотерма поверхневого натягу, яка належить ФП, характеризується двома перегинами, які достатньо однозначно визначені, що можна трактувати як наявність ККМ та критичної

концентрації агрегатоутворення (ККА). Значення ККА для цього зразку поліестеру становить 0,006 % , а значення ККА – 0,09 %.

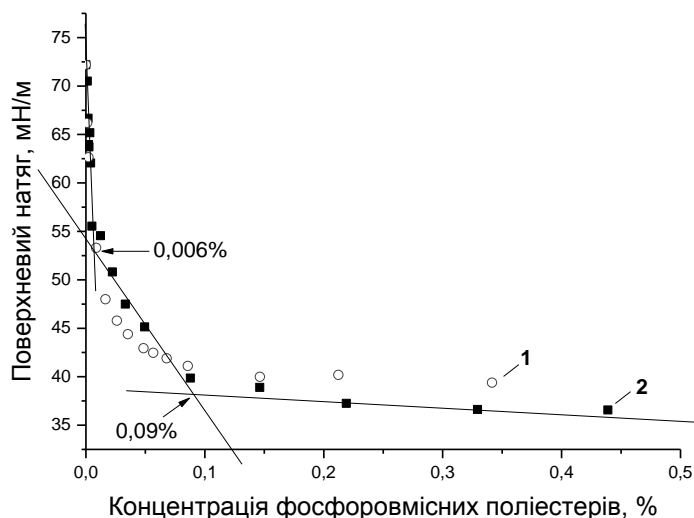


Рис. 3.3 Ізотерми поверхневого натягу водних дисперсій фосфоровмісних поліестерів: 1-з етилфосфатною групою; 2-з фосфатною групою

Для підтвердження наявності на кривій поверхневого натягу двох перегинів та уточнення їх природи було проведено дослідження релєвського розсіювання водних дисперсій ФП від концентрації дисперсної фази. Як відомо, інтенсивність релєвського розсіювання, при умові постійного розміру частинок дисперсної фази, має прямолінійно залежати від їх кількості, а значить від концентрації дисперсної фази. Крива, яка відображає інтенсивність релєвського розсіювання від концентрації дисперсної фази водних дисперсій ФП, представлена на рис. 3.4. Вона немає прямолінійного характеру. На отриманій кривій можна виділити дві прямолінійні ділянки з різним кутом нахилу, що перетинаються приблизно в області концентрації 0,1 %.

Оскільки, спостереження проводилось за довжини хвилі 440 нм, то (згідно із закономірностями релєвського розсіювання) можна помітити розсіювання на частинках, розмір яких не більше приблизно половини довжини. Таким чином, до концентрації 0,1 % в дисперсії уже присутні частинки з розміром більшим, ніж 150 нм.

Зіставляючи ізотерму поверхневого натягу (крива 2, рис. 3.3) та кривої розсіювання (рис. 3.4) частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою, можна стверджувати, що при концентраціях до 0,006 % (до ККА) в дисперсії присутні частинки, які в межах даної роботи, будемо називати

«уночастинками». Під цим терміном слід розуміти частинки нанометричного розміру, які присутні в розчинах полімерів при безкінечному розбавленні. При ККМ відбувається утворення первинних полімерних міцел (псевдоміцел) з окремих полімерних молекул. Це зумовлює зміну концентрації полімерних молекул в розчині, а відповідно і їх кількість на межі розділу вода-повітря. Цей ефект спричиняє появу першого перегину на ізотермі, але не проявляється при дослідженні залежності релєйського розсіювання. Подальше збільшення концентрації і кількості полімерних міцел в розчині вичерпує стабілізаційну здатність системи через збільшення їх сумарної поверхні. В результаті в системі нагромаджується нестабілізована поверхня, що призводить до агрегації. На ізотермах поверхневого натягу це відображається перегином, що відповідає ККА (рис. 3.3), який своєю чергою співпадає з перегином на рис. 3.4.

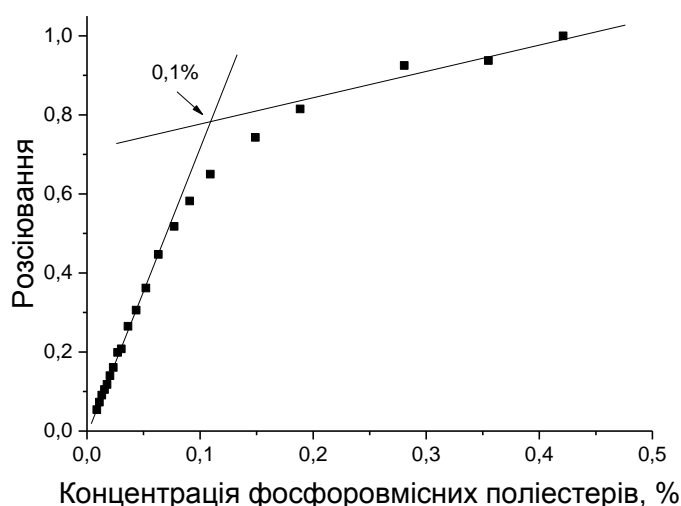


Рис. 3.4 Залежність інтенсивності релєйського розсіювання від концентрації дисперсної фази зразка ФП

Слід відмітити, що в роботі [137] також спостерігався такий характер ізотерм поверхневого натягу, практично для всіх отриманих ППАК поліестерного типу (рис. 3.1а, рис. 3.1б), що мають здатність до утворення самостабілізованих систем.

3.2 Дослідження розміру частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою методом динамічного світлорозсіювання

Дослідження залежності розміру дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів у водному середовищі проводили методом динамічного світлорозсіювання (DLS).

Методика проведення цих досліджень описана в розділі 5.3.7. В роботі [137] показано, що важливим чинником, який визначає морфологію частинок дисперсної фази, є її концентрація.

Основними факторами, які визначають морфологію дисперсної фази є природа полімеру, з якого вона формується і концентрація дисперсної фази. Крім того, значний вплив має температура дисперсії. Серед чинників природи полімеру вагомими є його кількісний склад, гідрофільно-ліпофільний баланс, можливий вплив також ступеня поліконденсації. Останні фактори визначаються умовами одержання поліестеру. При отриманні поліестерів, як відомо, вагому роль на молекулярну масу відіграє співвідношення реагентів. На рис. 3.5 наведені гістограми розподілу частинок дисперсної фази сформовані на основі поліестерів, які, на стадії синтезу, були отримані при різному співвідношенні реагентів в DMF. На рис. 3.6 наведені фотографії водних дисперсій фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою, які синтезовані в DMF, на PEG-400, при різних співвідношення карбоксильних груп до гідроксильних.

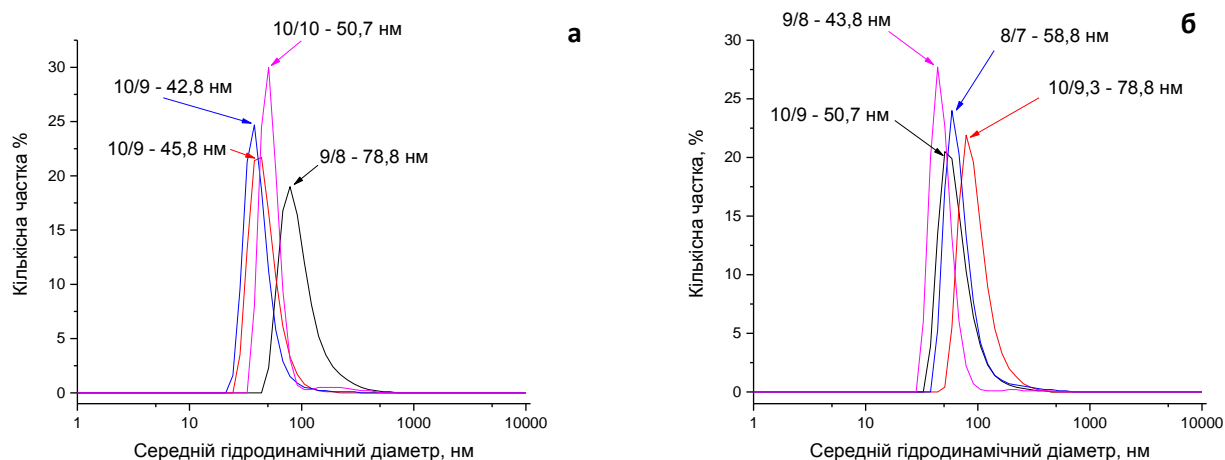


Рис. 3.5 Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра дисперсної фази ЕФП синтезованих в DMF при різному співвідношенні карбоксильних груп до гідроксильних а) 9/8; 10/9; 10/9; 10/10; на PEG-400; концентрація дисперсної фази - 0,2 %, температура 25 °С; б) 10/9; 10/9; 8/7; 9/8; на PEG-600; концентрація дисперсної фази - 0,4 %, температура 25 °С

Як можна побачити з наведених гістограм середньочислового розподілу (рис. 3.5), цей фактор (різне співвідношення реагентів на стадії синтезу) немає вагомого впливу на розмір частинок дисперсної фази. Як було показано в розділі 2.1.2, при проведенні реакції активованої поліконденсації за реакцією Стегліха за участю фосфоровмісних мономерів – ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфату, в DMF,

співвідношення реагентів не суттєво і неоднозначно впливає на ступінь поліконденсації. Завдяки цьому не спостерігається впливу зміни співвідношення на стадії одержання фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою на морфологію частинок дисперсної фази.

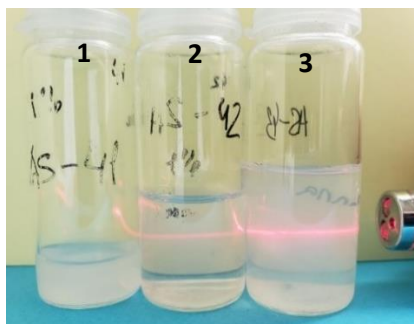


Рис. 3.6 Фотографії водних дисперсій ЕФП, які синтезовані в DMF, на PEG-400. Співвідношення карбоксильних груп до гідроксильних: 1 - 9/8; 2 – 10/9; 3 – 10/9

При проведенні синтезу в DCM, як показано в розділі 2.1.2, спостерігається залежність ступеня поліконденсації від співвідношення реагентів на стадії синтезу ЕФП. Але, як можна побачити на гістограмах середньочислового розподілу розміру частинок дисперсної фази (рис. 3.7), що сформована із зразків поліестерів при різних співвідношеннях реагентів, синтез яких був проведений в DCM, також не спостерігається впливу.

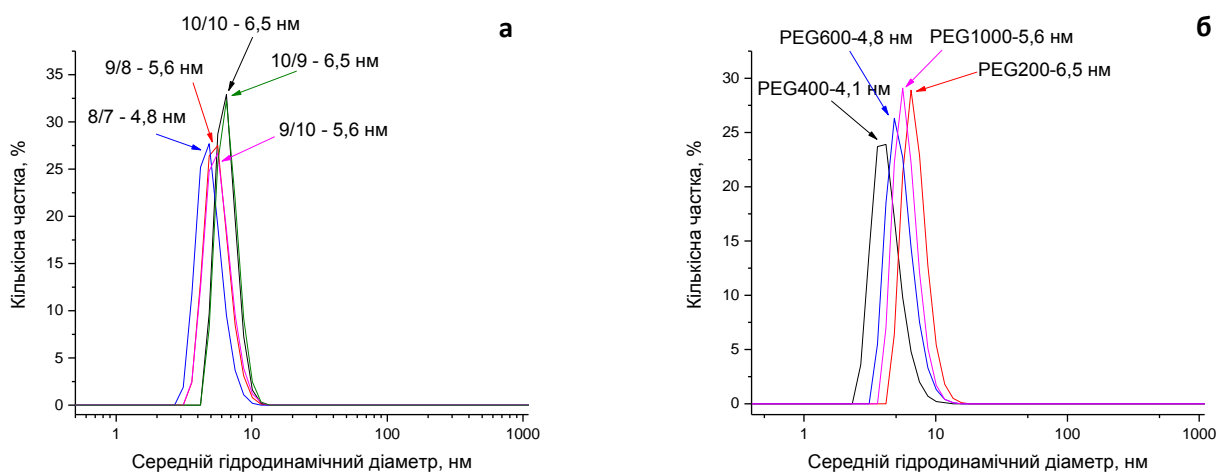


Рис. 3.7 Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра ЕФП синтезованих в DCM а) при співвідношенні карбоксильних груп до гідроксильних: 10/10; 9/8; 8/7; 9/10; 10/9; концентрація дисперсної фази - 0,2 %, температура 25 °С;

б) при використанні поліетиленгліколів з молекулярною масою 200, 400, 600, 1000 г/моль, співвідношення COOH/OH – 10/9,8; концентрація дисперсної фази - 0,4 %, температура 25 °С.

На рис. 3.8а наведено гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною

групою, які були синтезовані в DMF, вимірювання яких проводили при температурі 25 °С і концентрації дисперсної фази: 0,8; 0,6; 0,4; 0,1 та 0,05 %. Вони мають мономодальний характер і знаходяться в області від 40÷100 нм.

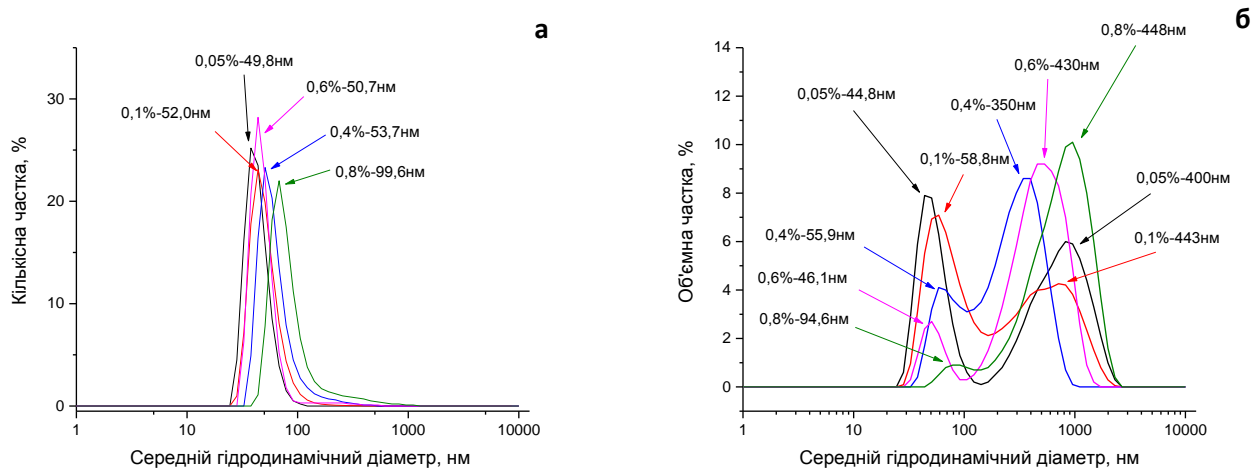


Рис. 3.8 Гістограми а) середньочислового та б) середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою, синтезованих в DMF, при концентраціях дисперсної фази 0,8; 0,6; 0,4; 0,1 та 0,05 %. Співвідношення COOH/OH – 10/9. Температура 25 °С.

За даними поверхневого натягу, ці частинки уже слід вважати частинками, що формуються при концентрації, що перевищує ККА. Слід відмітити, що розмір частинок цієї моди не залежить від концентрації дисперсної фази, як це проілюстровано на рис. 3.9а (крива 1).

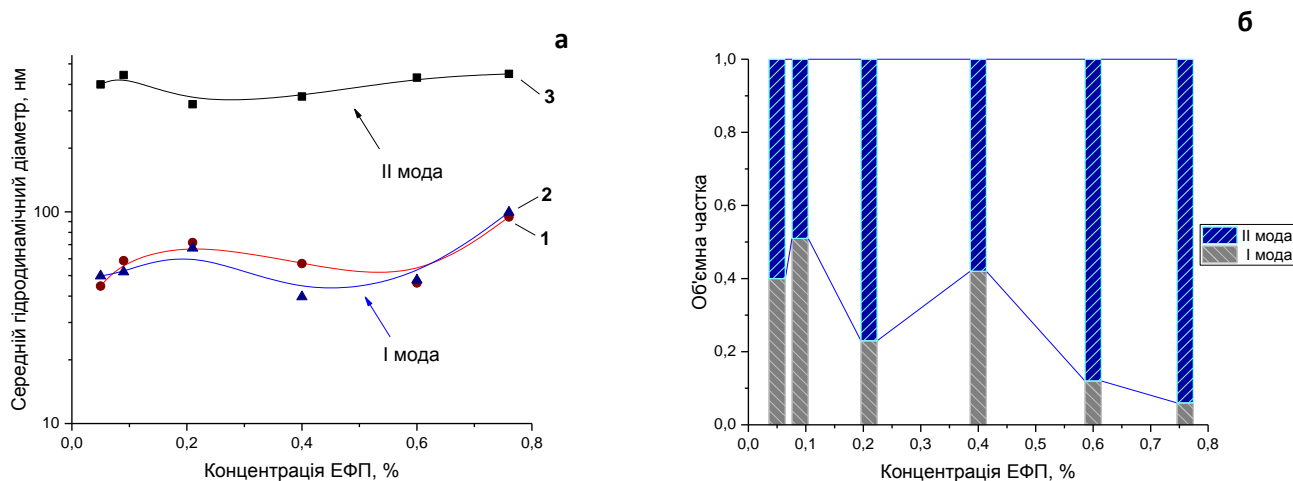


Рис. 3.9 а) Залежність середнього гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази ЕФП від концентрації дисперсної фази: 1-середньочислова; 2-середньооб'ємна «першої» моди; 3-середньооб'ємна «другої» моди; б) об'ємна частка «першої» та «другої» моди частинок дисперсної фази ЕФП залежно від їх концентрації.

Співвідношення COOH/OH – 10/9. Температура 25 °С. Умови синтезу ЕФП: розчинник – DMF

На рис. 3.8б наведено гістограми середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра дисперсної фази тих самих зразків. При їх аналізі проявляється поява

«другої» моди, на відміну від гістограм середньочислового розподілу. Розмір частинок «першої» моди цих розподілів повністю співпадає з розміром частинок отриманих з гістограм середньочислового розподілу і лежить в межах 40-100 нм. Частишки «другої» моди формуються в області 350-550 нм і розмір частинок цієї моди уже помітно залежить від концентрації дисперсної фази (рис. 3.9б, криві 2, 3).

Частка частинок «другої» моди, оцінена по їх кількості, є незначною. Тому вони не проявляються на середньочислових розподілах рис. 3.8а. Разом з тим, частка оцінена по об'єму, є доволі вагомою. На рис. 3.9б, продемонстрована тенденція до збільшення об'ємної частки частинок «другої» моди зі збільшенням концентрації дисперсної фази. Відсутність залежності розміру частинок, що відповідають модам, від концентрації і зміна частки частинок цих мод, свідчить про те, що відбувається агломерація часток «першої» моди (з розміром 40-100 нм) в частинки «другої» моди (розміром 350-550 нм). Перебудова, що спостерігається, відбувається в доволі широкому діапазоні концентрацій, тому на кривій 1 рис. 3.3 не спостерігається однозначного перегину. Така поведінка підтверджує тезис про те, що збільшення концентрації дисперсної фази вичерпує стабілізаційну здатність системи і надлишкова поверхня, що формується зі збільшення концентрації, компенсується утворенням частинок більшого розміру. Таким чином, слід визнати, що водні дисперсії, які сформовані з ЕФП, отриманих в DMF, зі збільшенням концентрації дисперсної фази проявляють агрегатну нестабільність. Зі збільшенням концентрації спостерігається агрегація частинок до розміру, при якому може спостерігатися їх седиментація.

Поведінка частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою, які синтезовані в DCM, значно відрізняються від тих, що були отримані в DMF. Гістограми середньочислового та середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра таких частинок наведені на рис. 3.10а та рис. 3.10б відповідно. Вони мають моноmodalний характер в розподілах оцінених, як по кількості частинок, так і по об'єму. Слід окремо відмітити, що профілі середньочислового та середньооб'ємного розподілу достатньо добре співпадають (спостерігається низька полідисперсність частинок). Це означає, що весь полімер, який був взяти для приготування дисперсій, знаходиться в частинках цього розміру.

При тому, на розмір частинок не впливає концентрація дисперсної фази в доволі широкому діапазоні концентрацій, до 1,5 %. Тобто, для зразків поліестерів, отриманих в DCM, не спостерігається перебудова частинок при різних концентраціях дисперсної фази. З цього можна зробити висновок, що стабілізаційна здатність цих зразків фосфоровмісних поліестерів є суттєво більшою, ніж у зразків отриманих в DMF.

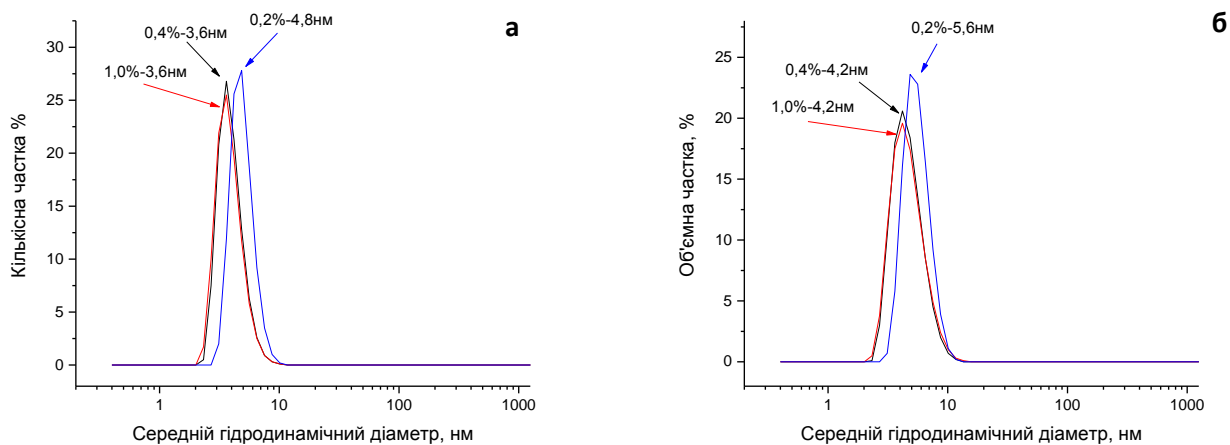


Рис. 3.10 Гістограми а) середньочислового та б) середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою, які синтезовані в DCM, при концентрації дисперсної фази 0,2; 0,4; та 1,0 %. Співвідношення COOH/OH – 10/9. Температура 25 °С.

Важливим також є те, що частинки дисперсної фази зразків ЕФП, які були отримані в DCM, формують частинки з розміром 6-10 нм в діапазоні концентрації до 1 %. Це частинки, які не беруть участі в релієвському розсіюванні оптичним випромінюванням, тому їх слід кваліфікувати, як частинки до ККМ – «уночастинки». Таким чином, частинки дисперсної фази сформовані зразками ЕФП, отримані в DCM, мають іншу природу, ніж частинки, які спостерігаються в дисперсії з ЕФП, що синтезовані в DMF.

Другим важливим фактором впливу на морфологію частинок дисперсної фази після концентрації дисперсної фази є температура дисперсії. На рис. 3.11 наведено гістограми середньочислового та середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази для зразків ЕФП, що отримані в DMF, при зміні температури дисперсії. При підвищенні температури спостерігається дуже стрімке порушення стабілізації частинок. Уже при 30 °С, на розподілі, оціненому по об'єму, спостерігається мода з розміром 1 мкм, яка при 20 °С не спостерігається (рис. 3.11а).

Такий розмір говорить про те, що частинки агломерували до розмірів суспензії. Тобто, уже з доволі незначним збільшенням температури, спостерігається практично повне порушення стабілізації дисперсної фази і утворення частинок з розмірами здатними до седиментації.

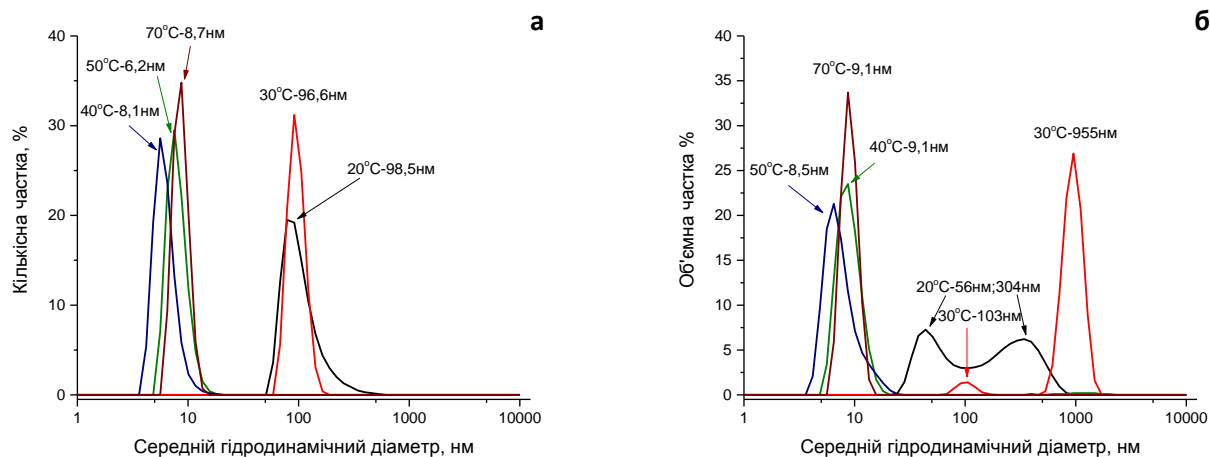


Рис. 3.11 Гістограми а) середньочислового та б) середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази ЕФП при зміні температури. Концентрація поліестеру - 0,2 %.
Умови синтезу ЕФП: розчинник – DMF

Крива 1 на рис. 3.12 демонструє залежність середнього діаметра частинок від зміни температури дисперсії оціненою по кількості (а) та об'єму (б). Аналіз розподілів по кількості показує, що залежність має складний характер, тому на рис. 3.12 (криві 1) наведено залежність усередненого за обома модам гідродинамічного діаметра від зміни температури дисперсії. Інтерпретувати цю криву можна наступним чином. Зі збільшенням температури спостерігається втрата системою стабілізаційної здатності, частинки агломерують в частинки дуже значного розміру і седиментують. Уже, при температурі більшій за 40 °С, цей процес практично повністю завершується і в суцільній фазі залишаються лише доволі незначна частка частинок з розміром «уночастинок». Наявність таких частинок, які не прийняли участь в агломерації, найбільш ймовірно, можна пояснити неоднорідністю молекулярно-масового та функційного розподілу зразків поліестеру, що були отримані в DMF. Завдяки цьому, в них відносно вищий вміст фрагментів поліетиленгліколю. Частина полімерних молекул в цих зразках має стабілізаційний потенціал, для стабілізації в водних середовищах «уночастинок». Сформовані частинки з цих молекул залишаються стабільними, не агрегують з підвищенням температури та не седиментують.

Підтвердженням цього факту може слугувати те, що зразки поліестеру, які сформовані в DCM, практично повністю складаються з таких полімерних молекул.

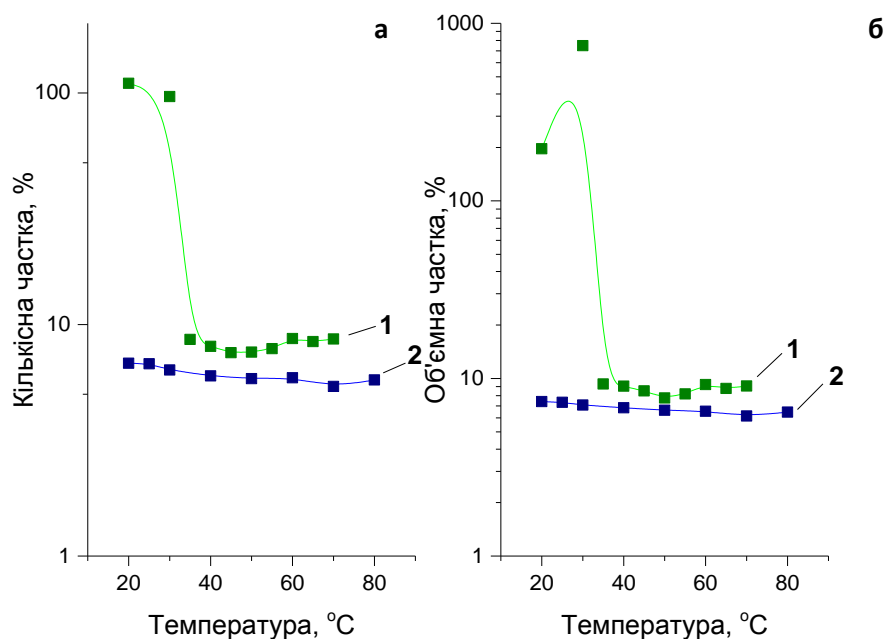


Рис. 3.12 Залежність середнього гідродинамічного діаметра дисперсної фази ЕФП від температури а) середньочислової; б) середньооб'ємної.

1-ЕФП, які були синтезовані в DMF; 2-ЕФП, які були синтезовані в DCM

Останній тезис підтверджується аналізом дисперсій отриманих з фосфоровмісних поліестерів, які були синтезовані в DCM. Вищий ступінь поліконденсації ЕФП нівелює різницю в функційному розподілі. Така залежність розміру частинок дисперсної фази від концентрації була наведена на рис. 3.10. На рис. 3.13 наведені гістограми середньочислового та середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра дисперсної фази дисперсій, що сформовані на основі ЕФП, які отримані в DCM. Аналіз їх розмірів, зі зміною температури дисперсії для порівняння, наведений на рис. 3.12, криві 2.

Проведений аналіз демонструє, що зміна температура немає впливу на частинки дисперсної фази, які сформовані на основі фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою, що отримані в DCM. Їхній середній розмір не змінюється зі зростанням температури.

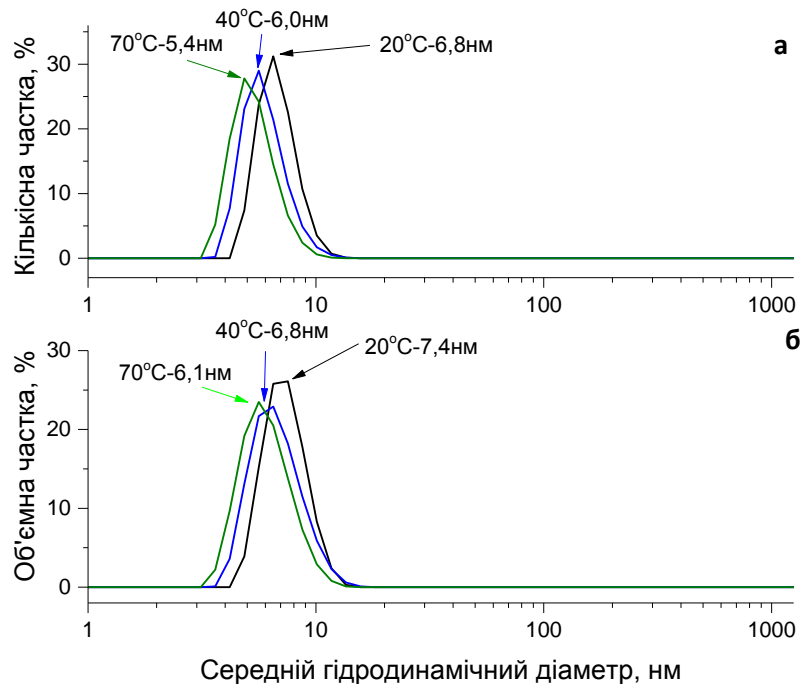


Рис. 3.13 Гістограми а) середньочислового та б) середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою при різних температурах.
Концентрація поліестеру – 0,4 %. Умови синтезу ЕФП: розчинник – DCM

3.3 Дослідження розміру частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою методом динамічного світлорозсіювання

В попередньому розділі було розглянуто закономірності формування дисперсної фази поліестерів з етилфосфатною групою, яка була введена в гідрофільний фрагмент, як попередник фосфатної групи. Метою цієї роботи є отримання поліестерів з фосфатною групою. Тому в розділі 2.4 були описані результати досліджень щодо гідролізу етилфосфатної групи до фосфатної в складі поліестера.

На рис. 3.14 та рис. 3.15 наведені гістограми середньочислового та середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази самостабілізованої водної дисперсії фосфоровмісного поліестеру з фосфатною групою, який отриманий зі зразків поліестеру, що був синтезований в DMF, після чого етилфосфатна група була гідролізована до фосфатної групи, за методикою описаною в розділі 5.2.5. Гістограми розподілу отримані при температурі 25 °C та концентрації дисперсної фази 1,0; 0,5; 0,3; 0,2; 0,1 та 0,05 %. Значення ККМ для цього зразку поліестеру становить 0,006 % , а значення ККА – 0,09 % (рис. 3.3). Таким чином, в

цьому експерименті досліджувались дисперсії з концентраціями близькими до ККА і суттєво вищими за неї.

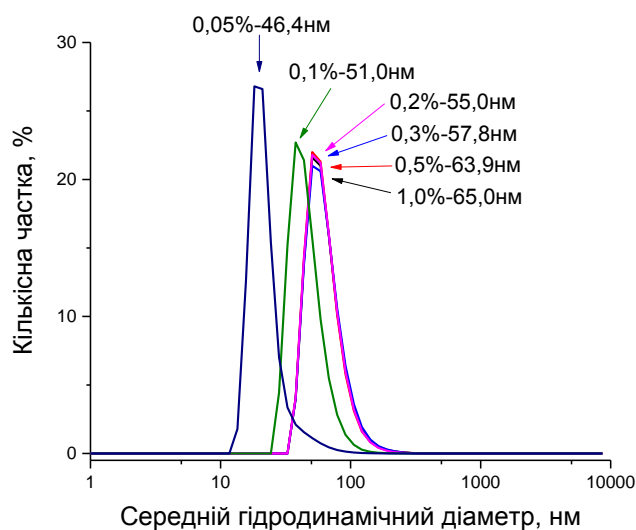


Рис. 3.14 Гістограми середньохислового розподілу гідродинамічного діаметра при різних концентраціях дисперсної фази ФП: 1,0; 0,5; 0,3; 0,2; 0,1 та 0,05 %. Температура 25 °С . Умови синтезу ЕФП: розчинник – DMF

Характерно, що середньохисловий розподіл таких частинок, як і відповідний розподіл частинок того самого зразка до проведення реакції гідролізу етилфосфатної групи (рис. 3.8а), має мономодальний характер і основна кількість частинок формується з розміром 40÷70 нм. Крім того, не спостерігається значної залежності середньохислового діаметра від концентрації дисперсної фази (рис. 3.16). Слід зауважити, що такі ж зразки, але з етилфосфатною групою, формували частинки з розміром 40÷100 нм. На основі цього можна стверджувати, що перетворення етилфосфатної групи в фосфатну, приводить до певного збільшення стабілізаційної здатності.

Про підвищення стабілізаційної здатності свідчать також дані середньооб'ємного розподілу, який отриманий при концентрації 0,05 %, що знаходиться між ККМ та ККА, та характеризується бімодальним розподілом. Є цікавим те, що на цьому розподілі проявлена яскраво виражена мода з розміром частинок, які відповідають «уночастинкам» (5÷25 нм). На відповідних розподілах дисперсій, які сформовані з поліестеру отриманого в DMF, до гідролізу етилфосфатної групи, при температурі 25 °С, ця мода не проявлялась. Це також можна вважати підтвердженням того, що гідроліз етилфосфатної групи певною мірою підвищує стабілізаційну здатність системи. Підвищення є доволі визначальним.

Звичайно, домінують частинки «першої» моди (розміром 40-110 нм), які утворюються при концентраціях вище ККМ з «уночастинок». Але зі збільшенням концентрації подальше агрегація в частинки «другої» моди, для гідролізованих поліестерів, практично не спостерігається. Тобто, в дисперсіях, які сформовані з поліестерів отриманих в DMF, не спостерігається зі зростанням концентрації агломерація частинок до розмірів, які седиментують. В цьому можна переконатись, порівнюючи гістограми розподілу середньооб'ємного розподілу діаметра частинок дисперсної фази ФП зі зміною концентрації (рис. 3.15). За зміною цього розподілу можна побачити, що по об'єму всі частинки залишаються в межах розміру «першої» моди. Лише розподіли при концентраціях 0,8 та 1,0 % мають значну асиметрію в бік зростання гідродинамічного діаметра, що є свідченням формування частинок «другої» моди. У випадку дисперсій на поліестері отриманому в DMF до гідролізу етилфосфатної групи (рис. 3.8), середньооб'ємний розподіл має яскраво виражений бімодальний характер з добре сформованими частинками «другої» моди.

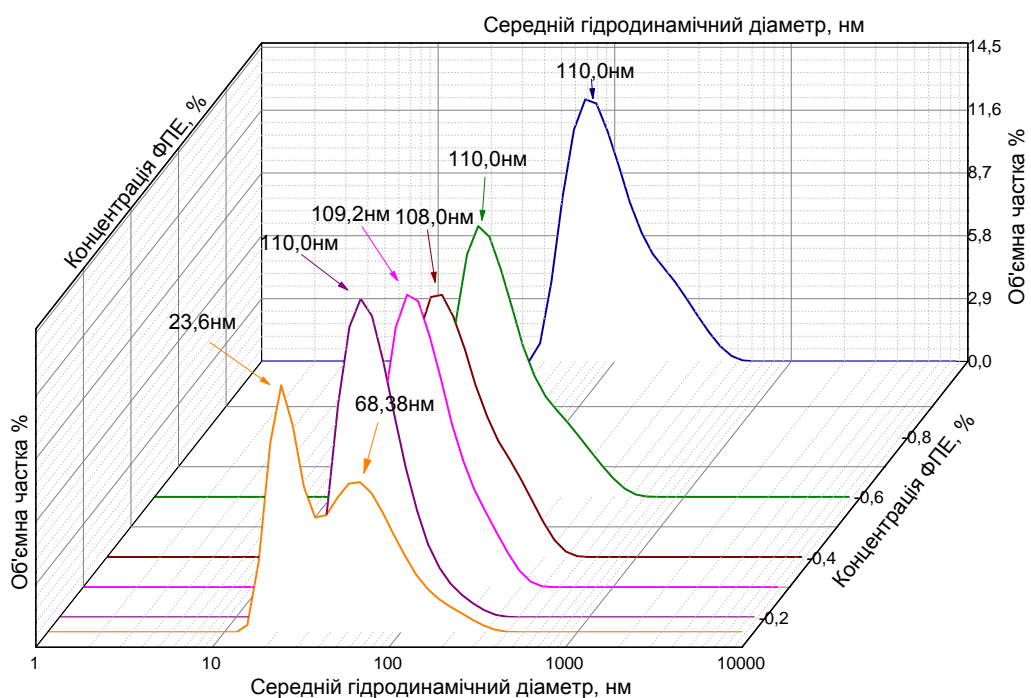


Рис. 3.15 Гістограми середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра при різних концентраціях дисперсної фази ФП: 1,0; 0,5; 0,3; 0,2; 0,1 та 0,05 %. Температура 25 °С. Умови синтезу ЕФП: розчинник – DMF.

З цього можна зробити висновок, що в діапазоні концентрації 0,2-1,0 % гідродинамічний діаметр частинок дисперсної фази не змінюється та дозволяє формувати самостабілізовані водні дисперсії при високих концентраціях.

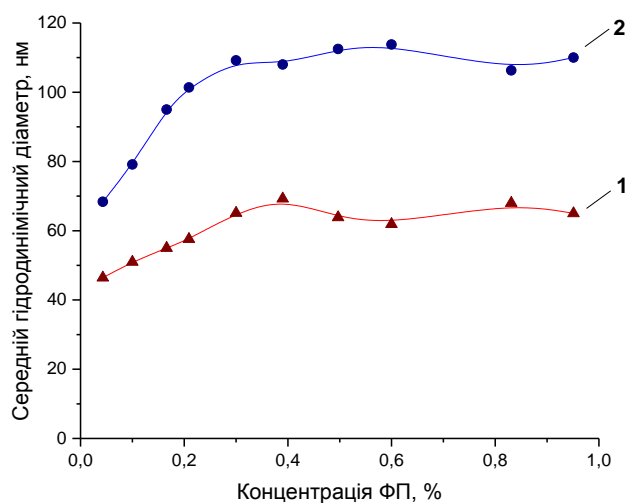


Рис. 3.16 Залежність гідродинамічного діаметра від концентрації дисперсної фази ФП 1-середньочислова; 2-середньооб'ємна. Умови синтезу ЕФП: розчинник – DMF

До більш вагомих змін у формуванні дисперсної фази приводить гідроліз етилфосфатної групи поліестерів, що отримані в DCM. Як вище було показано (рис. 3.10), до гідролізу етилфосфатної групи, ці полімери в воді формували частинки дисперсної фази з розміром 5 ÷ 10 нм, які відносяться до «уночастинок». При тому ні концентрація, ні температура на їхній розмір не впливали. Це свідчило про значну стабілізаційну здатність поліестеру.

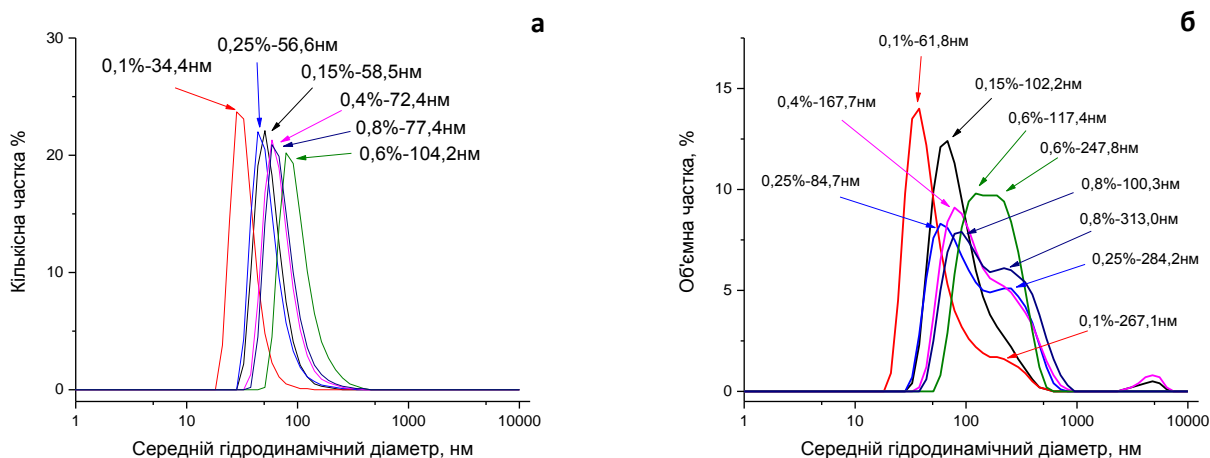


Рис. 3.17 Гістограми а) середньочислового та б) середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази ФП при різних концентраціях дисперсної фази: 0,8; 0,6; 0,4; 0,25; 0,15 та 0,1 %. Температура 25 °С. Умови синтезу ЕФП: розчинник – DCM

На рис. 3.17 наведені середньочислові розподіли частинок для цього поліестеру після реакції гідролізу етилфосфатної групи. Як і до гідролізу, середньочисловий розподіл має моноmodalний характер. Але, якщо до гідролізу етилфосфатної групи полімер формував частинки з розміром $5 \div 10$ нм, то з наведеного розподілу видно, що після гідролізу етилфосфатної групи утворюються частинки з гідродинамічним діаметром в діапазоні від 30 до 110 нм (частинки «першої» моди). При тому, середньооб'ємний розподіл (рис. 3.17б) демонструє появу частинок «другої» моди (200 до 400 нм). При тому, дані рис. 3.18б однозначно демонструють, що частка «другої» моди зростає зі збільшенням концентрації дисперсної фази. Якщо ще зауважити, що середній розмір частинок «першої» і «другої» моди суттєво не змінюється (рис. 3.18а), то можна стверджувати, що закономірності формування дисперсної фази на основі поліестеру з гідролізованою етилфосфатною групою, який попередньо був отриманий в DCM, дуже наближається до закономірностей формування дисперсної фази, що були сформовані з поліестеру з етилфосфатною групою (до гідролізу) отриманого в DMF. Тобто, для цих зразків полімерів доводиться констатувати певне зменшення стабілізаційної здатності в формуванні самостабілізованої дисперсної фази.

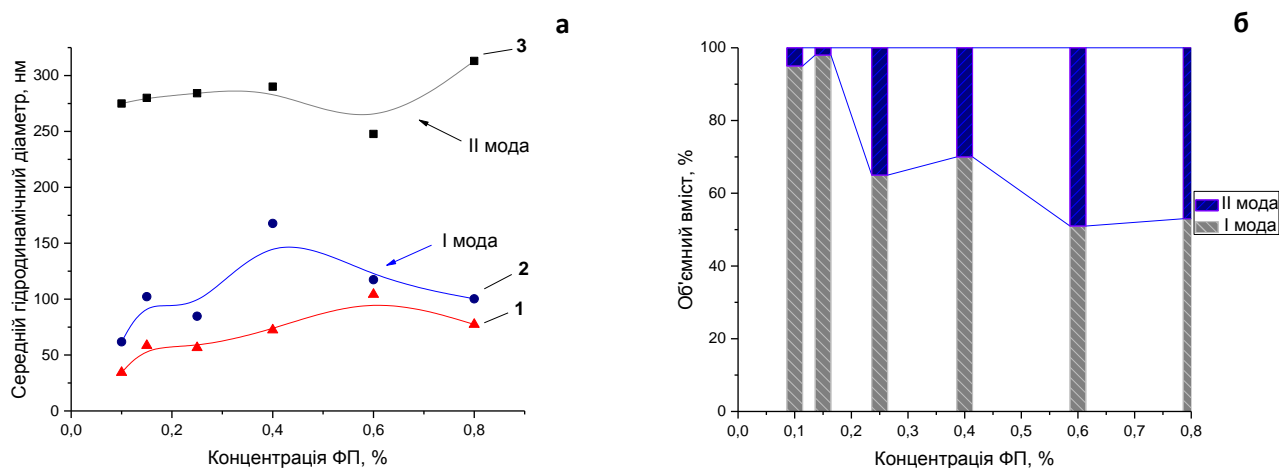


Рис. 3.18 а) Залежність середнього гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази ФП від концентрації дисперсної фази: 1-середньочислова; 2-середньооб'ємна «першої» моди; 3-середньооб'ємна «другої» моди; б) об'ємна частка «першої» та «другої» моди частинок дисперсної фази залежно від концентрації ФП. Умови синтезу ЕФП: розчинник – DCM

На рис. 3.19 наведені порівняльні фотографії водних дисперсій фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною та фосфатною групою.

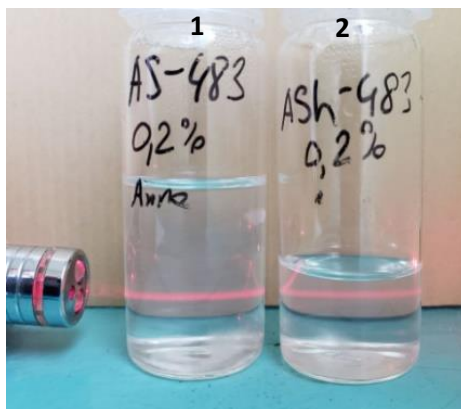


Рис. 3.19 Фотографії водних дисперсій фосфоровмісних поліестерів 1 – з етилфосфатною групою; 2 – з фосфатною групою, які синтезовані в DCM, на PEG-400. Концентрація дисперсної фази ФП 0,2 %

На рис. 3.20а та рис. 3.20б наведено залежність середньочислового та середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра дисперсної фази ФП, які попередньо були отримані в DMF, від зміни температури дисперсії. За даними цих гістограм можна побачити суттєвий вплив температури на морфологію частинок дисперсної фази. Зі збільшенням температури спостерігається зменшення розміру частинок. При тому, це зменшення відбувається впорядковано, оскільки всі гістограми (по числу та по об'єму) мають мономодальний характер.

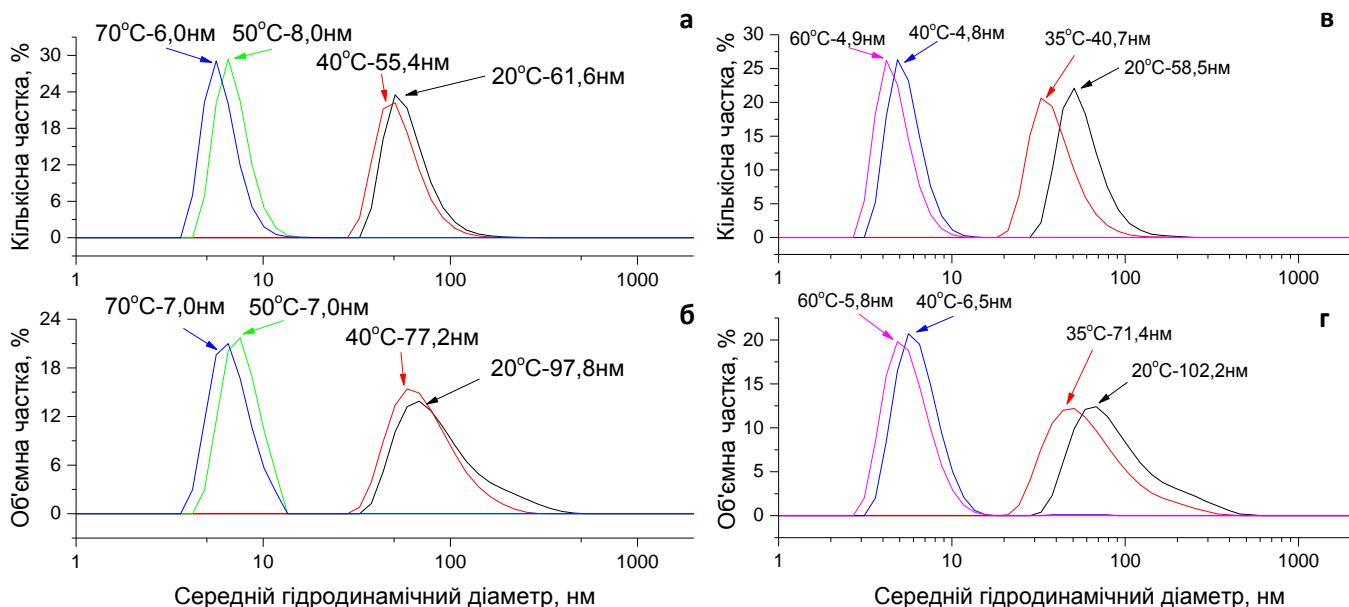


Рис. 3.20 Гістограми а) середньочислового та б) середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра ФП при температурі 20, 40, 50, 70 °С. Концентрація дисперсної фази поліестеру 0,2 %.

Умови синтезу ЕФП: розчинник – DMF.

Гістограми в) середньочислового та г) середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра ФП при температурі 20, 35, 40, 60 °С. Концентрація дисперсної фази поліестеру 0,2 %.

Умови синтезу ЕФП: розчинник – DCM

Криві 1 та 2 на рис. 3.21а, на якому відображено зміну середнього діаметра частинок, однозначно демонструє, що зміна розміру відбувається стрибкоподібно при

45 °С. При тому, з частинок характерних для «першої» моди (розміром 40÷100 нм) утворюються «уночастинки» (5÷10 нм). Слід признати, що така закономірність від зміни температури дисперсії є характерною для цього типу полімеру. Для цього достатньо порівняти криві рис. 3.21 з кривими рис. 3.12. Відмінність полягає лише в тому, що для дисперсій на основі ЕФП, отриманих в DCM (до гідролізу етилфосфатної групи), при всіх температурах формуються «уночастинки» (розміром 5-10 нм).

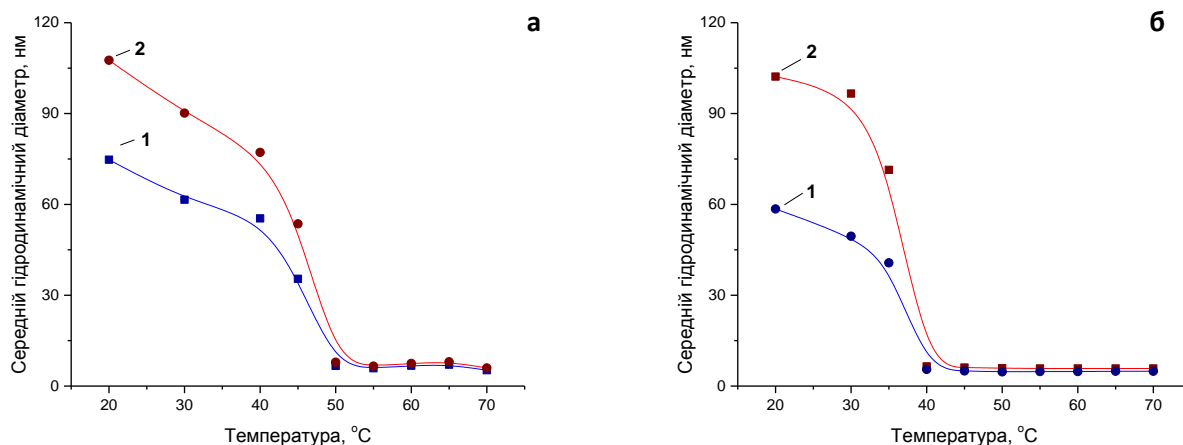


Рис. 3.21 а) Залежність середнього гідродинамічного діаметра дисперсної фази ФП від температури 1-середньочислового, 2-середньооб'ємного. Концентрація дисперсної фази поліестеру 0,2 %. Умови синтезу ЕФП: PEG-400, розчинник – DMF;

б) Залежність середнього гідродинамічного діаметра дисперсної фази ФП від температури - середньочислового, 2-середньооб'ємного. Концентрація дисперсної фази поліестеру 0,2 %. Умови синтезу ЕФП: PEG-400, розчинник – DCM

Вище було показано, що поліестери з фосфатною групою (після гідролізу етилфосфатної групи), які були отримані в DCM, при температурах 25 °С (рис. 3.17) майже не формують «уночастинок». Але підвищення температури для цих поліестерів також призводить до дезагрегації частинок «першої» моди до розміру «уночастинок». Про це свідчать гістограми середньочислового та середньооб'ємного розподілу гідродинамічного діаметра частинок дисперсної фази (рис. 3.20в, г) та залежність розміру частинок дисперсної фази від зміни температури (рис. 3.21б).

При тому, в температурних залежностях, які відображені на рис. 3.21, рис. 3.22б та рис. 3.23б, є принципова відмінність від температурної залежності відображеній на рис. 3.12 (криві 1). У випадку поліестерів з етилфосфатною групою, підвищення температури спочатку призводить до значної агрегації частинок, які седиментують (див. розподіли на рис. 3.11). У випадку поліестерів з фосфатною групою, такої

агрегації (агрегації до частинок розміром більше 500 нм) не спостерігається. Про це свідчать розподіли, що наведені на рис. 3.20, рис. 3.22а та рис. 3.23а.

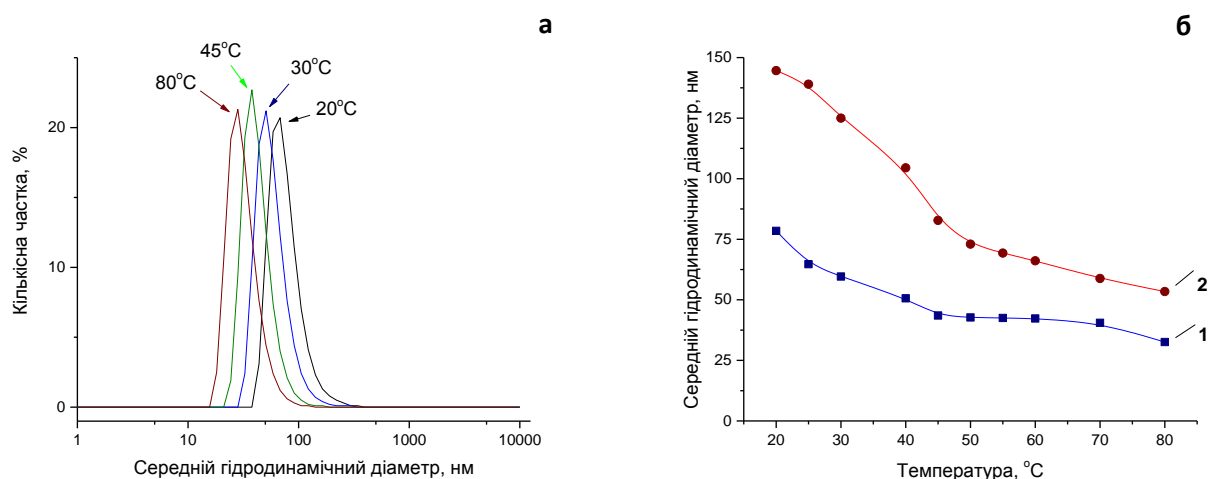


Рис. 3.22 а) Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра ФП при температурі 20, 30, 45, 80 °С. Концентрація дисперсної фази поліестеру 0,2 %. Умови синтезу ЕФП: розчинник – DMF, PEG-600.

б) Залежність середнього гідродинамічного діаметра дисперсної фази ФП від зміни температури 1-середньочислового, 2-середньооб'ємного. Концентрація дисперсної фази поліестеру 0,2 %. Умови синтезу ЕФП: розчинник – DMF, PEG-600

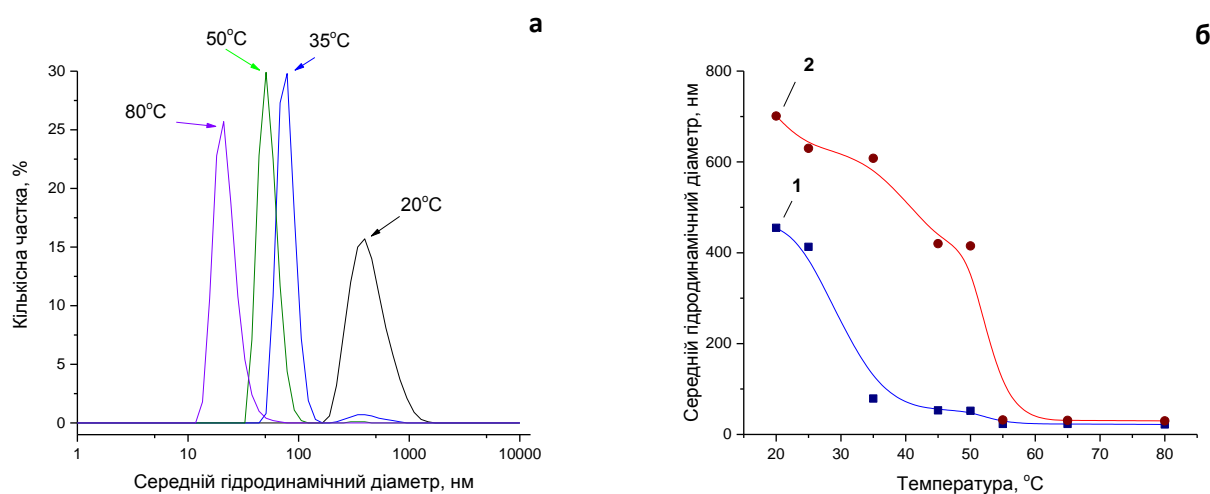


Рис. 3.23 а) Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра ФП при температурі 20, 35, 50, 80 °С. Концентрація дисперсної фази поліестеру 0,2 %. Умови синтезу ЕФП: розчинник – DCM, PEG-600.

б) Залежність середнього гідродинамічного діаметра дисперсної фази ФП від зміни температури 1-середньочислового, 2-середньооб'ємного. Концентрація дисперсної фази поліестеру 0,2 %. Умови синтезу ЕФП: розчинник – DCM, PEG-600

Таким чином, проведені дослідження свідчать про наступні факти. В загальному, введення фосфатної групи в поліоксиетиленовий ланцюг поліестерів, що отримані на основі N-ацилпохідних глютамінової кислоти та діолів поліоксиетиленового ряду підвищують здатність до формування самостабілізованих водних дисперсій. При тому введення алкілфосфатної групи таку здатність може суттєво знизити. Значною

мірою, зниження чи підвищення стабілізаційної здатності залежить від способу отримання фосфоровмісних поліестерів. Зокрема, проведенні дослідження показують, що видимою причиною є розчинник, в якому проводився синтез поліестерів. Але в розділі 2.1.2 показано, що синтез в розчиннику DCM, приводить до одержання більш високомолекулярних зразків фосфоровмісних поліестерів, з одного боку, та, з другого боку, до зразків з суттєво меншим вмістом кінцевих груп, що утворюються в результаті дезактивації активної форми карбоксильної групи (схема на рис. 2.2). Сукупність двох цих факторів (меншої молекулярної маси при більшому вмісті гідрофобних кінцевих груп) у зразків синтезованих в DMF, приводить до суттєвого зміщення гідрофільно-ліпофільного балансу в сторону ліпофільних властивостей. Як наслідок, втрата стабілізаційної здатності. Тому, для зразків з етилфосфатною групою, спостерігаємо знижену стабілізаційну здатність. Це проявляється в підвищеній агломерації частинок при збільшенні концентрації дисперсної фази та підвищенні температури. При тому, слід вважати, що в парі факторів: молекулярна маса і гідрофобна кінцева група, більш вагомою є остання. Тому що, для зразків поліестерів, які отримані в DCM, як показано в розділі 2.1.2, молекулярна маса є не суттєво більшою при значно меншому вмісті гідрофобних кінцевих груп. А їх стабілізаційна здатність є суттєво вищою.

Гідроліз етилфосфатних груп приводить до утворення фосфатних груп. Фосфатні групи мають потужні гідрофільні властивості. Тому спостерігається підвищення стабілізаційної здатності. І це збільшення є достатнім, щоб зразки поліестерів, які були отримані в DMF, перестали агломерувати до розмірів частинок «другої» моди, які можуть седиментувати.

Але природа додаткової стабілізації при введенні фосфатної групи має іншу природу ніж стабілізація, яку забезпечують гідратовані ланцюги поліоксиетиленгліколю.

Оскільки, зменшення розміру дисперсної фази є основною ознакою підвищення стабілізаційної здатності, можна стверджувати, що для частинок з фосфатною групою, зі збільшенням температури дисперсії стабілізаційна здатність зростає. Проте відомо, що стабілізація за рахунок структурно-механічного бар'єру, який формується гідратованими поліоксиетиленовими ланцюгами, такої властивості

немає. Збільшення температури, зазвичай, призводить до порушення гідратації цих ланцюгів і зниження стабілізації. Додатковим механізмом підвищення стабілізаційної здатності може бути формування в гідратованій оболонці структурно-механічного бар'єру елементів подвійного електричного шару за участю іонів, що утворюються в результаті дисоціації гідроксильної групи фосфату.

Це дозволяє зробити висновок про формування подвійного електричного шару, як додаткового фактору стабілізації. Таким чином, можна стверджувати, що введення фосфатної групи в гідрофільні фрагменти поліестерів, що досліджуються, спричиняє додаткову стабілізацію частинок дисперсної фази. Отримані експериментальні дані, дозволяють зробити висновок, що ця додаткова стабілізація має природу подвійного електричного шару. Зокрема, свідченням цього є температурні залежності. Стабілізація, за рахунок структурно-механічного бар'єру, спричиненого гідратованими ланцюгами поліетиленгліколю, з підвищенням температури має послаблюватись через процеси дегідратації. Натомість отримані експериментальні дані демонструють, що підвищення температури приводить до певного збільшення здатності (рис. 3.21, рис. 3.22б, рис. 3.23б). Це можна пояснити збільшенням ступені дисоціації фосфатних груп із збільшенням температури і підвищенням вкладу стабілізації за рахунок подвійного електричного шару в загальній стабілізації дисперсної фази.

Разом з тим, не можна стверджувати, що у частинок, які сформовані з фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою, стабілізація повністю контролюється природою подвійного електричного шару. Слід думати, що стабілізація за рахунок структурно-механічного бар'єру залишається домінуючою.

3.4 Дослідження розміру частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів методом трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ)

Для підтвердження результатів досліджень методом DLS, що описані в даному розділі, було проведено серія досліджень методом трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ). Методика цих досліджень наведена в розділі 5.3.10. На рис. 3.24 наведені мікрофотографії дисперсій, отриманих в результаті цих досліджень, для зразків фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою (після гідролізу

етилфосфатної групи поліестерів, які були синтезовані в DCM). Уже візуальний аналіз дозволяє зробити висновок, що частинки дисперсної фази мають паличкоподібну форму. Таку ж форму частинок дисперсної фази, методом TEM та SANS, було встановлено для частинок дисперсної фази поліестерів без фосфатної групи [137]. Співпадіння характерної форми частинок дисперсної фази після введення фосфатної групи в гідрофільний фрагмент поліестера означає, що ця група, принаймні при температурах близьких до кімнатної, не змінила основний принцип стабілізації частинок. Це підтверджує висновок, який був зроблений раніше, що виявлена додаткова стабілізаційна здатність за рахунок подвійного електричного шару має лише допоміжний характер і вагомо проявляється при збільшенні температури.

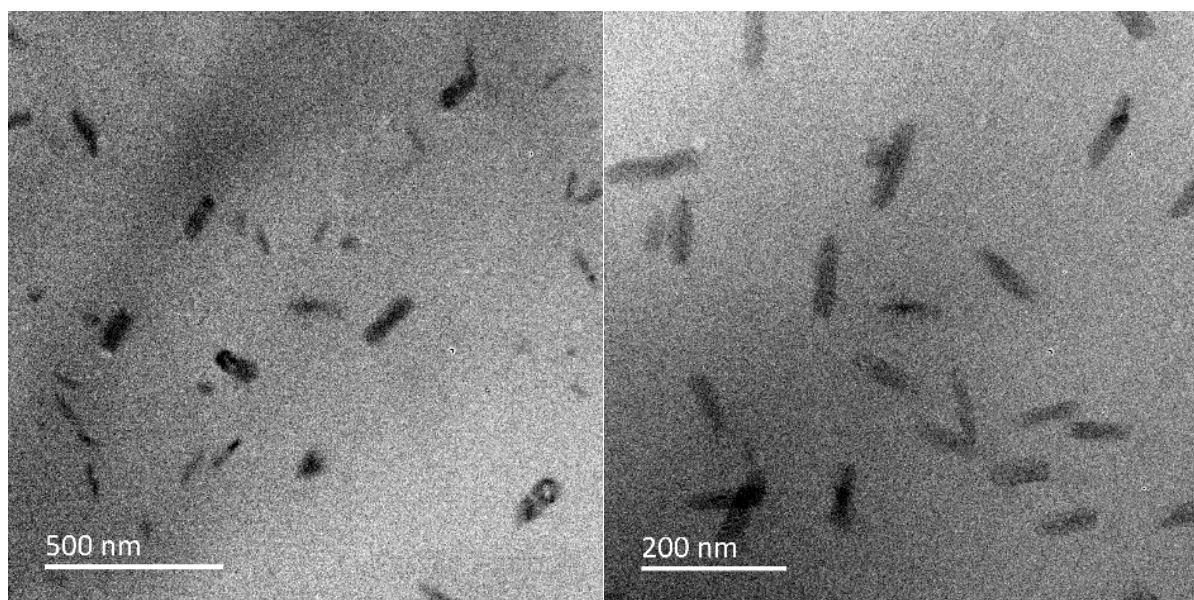


Рис. 3.24 Мікрофотографії дисперсій отриманих в результаті цих досліджень для зразків фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою (після гідролізу етилфосфатної групи поліестерів, які були синтезовані в DCM)

На рис. 3.25 наведено гістограму розподілу гідродинамічного діаметра дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою оцінених по мікрофотографіях TEM. Оцінку гідродинамічного діаметра по частинкам не сферичної форми проводили виходячи з формули.

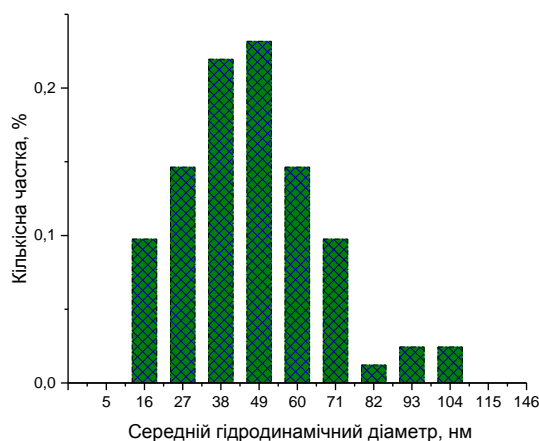


Рис. 3.25 Гістограма розподілу гідродинамічного діаметра дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою

Аналіз наведеної гістограми демонструє, що середньочисловий гідродинамічний діаметр частинок становить 49 нм. Це задовільно співпадає з розподілом для цього зразка, що отриманий методом DLS (рис. 3.17). Таким чином, TEM дослідження підтверджує отримані результати методом DLS і висновки наведених в цьому розділі.

Отже, проведені дослідження щодо формування самостабілізованих водних дисперсій на основі фосфоровмісних поліестерів продемонстрували, що цими властивостями володіють як поліестери з етилфосфатною групою, так і поліестери з фосфатною групою. Але ці ж дослідження продемонстрували, що природа стабілізації для цих двох типів поліестерів певною мірою відрізняється.

Поліестери з етилфосфатною групою стабілізуються через структурно-механічний бар'єр, який реалізується завдяки гідратованим фрагментам поліоксиетилену. За визначеними чинниками (впливом на розмір дисперсної фази її концентрації в розчині та температури дисперсії) стабілізаційна здатність ланцюгів поліоксиетилену, що містять в своїй структурі етилфосфатну групу, не суттєво відрізняється від стабілізаційної здатності фрагментів поліоксиетилену без етилфосфатної групи. Можна відмітити лише деяке зниження стабілізаційної здатності через те, що етилфосфатні групи є більш гідрофобні і їх присутність в фрагментах поліоксиетилену певною мірою порушує сольватацію молекулами води. При тому, порівняння поліестерів з етилфосфатною групою отриманих в DMF мають меншу стабілізаційну здатність, ніж відповідні поліестери, що отримані в DCM. Як було показано в попередніх розділах, в середньому, поліестери в DCM мають вищий

ступінь поліконденсації від поліестерів отриманих в DMF. При тому, як показано в розділі 2.1.2, зниження відбувається через утворення гідروفобних фрагментів за реакцією перегрупування активованої форми карбоксильної групи (рис. 2.2). Таким чином, зниження ступеня поліконденсації з можливим порушенням співвідношення гідрофільних (PEG) та ліпофільних фрагментів (GluSt) та відносно вищий вміст перегрупованих кінцевих груп (схема на рис. 2.1) є поясненням нижчої стабілізаційної здатності фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою, які отримані в DMF.

Після гідролізу етилфосфатної групи в структурі поліестерів, замість відносно ліпофільної етилфосфатної групи, формується гідрофільна фосфатна група. Уже цей факт є причиною збільшення стабілізаційної здатності. Але цим не можна пояснити підвищення стабілізаційної здатності дисперсії з збільшенням температури. Неодноразово було показано, що підвищення температури призводить до руйнування структурно-механічного бар'єру через дегідратацію поліоксиетиленових фрагментів. У випадку поліестерів з фосфатною групою, з підвищенням температури спостерігається певне збільшення стабілізаційної здатності (рис.3.21). Така залежність, в певному температурному діапазоні, характерна для полімерних дисперсій, які стабілізуються подвійним електричним шаром. Отже, слід припустити, що присутність в складі поліестеру функційної групи (фосфатної), здатної до дисоціації, до певної міри змінює природу стабілізації. І поряд з структурно-механічним бар'єром проявляються елементи іонної стабілізації через дисоційовані фосфатні групи.

РОЗДІЛ 4

НАПРЯМКИ ПРАКТИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ОДЕРЖАНИХ ФОСФОРОВМІСНИХ ПОЛІЕСТЕРІВ

В попередніх розділах описані дослідження щодо розроблення методики отримання фосфоровмісних поліестерів на основі N-ацилпохідних глютамінової кислоти та діолів поліоксиетиленового ряду з етилфосфатною та фосфатною групою (розділ 2) та особливості формування на основі цих поліестерів самостабілізованих водних дисперсій з нанорозмірними частинками дисперсної фази (розділ 3). В розділі 1 показано, що фосфатна група в склад полімерної молекули є достатньо ефективною групою для забезпечення хемосорбції ряду біологічно активних сполук для транспортування їх в такому вигляді в клітини, а в роботі [137], яка уже неодноразово цитувалась, показано, що поліестери отримані на основі N-ацилпохідних глютамінової кислоти та діолів поліоксиетиленового та поліоксипропіленового рядів здатні солюбілізувати водонерозчинні органічні сполуки складної будови та транспортувати їх в клітини. Тобто, показано, що поліестери цього типу можуть бути з успіхом використані як полімерні дисперсійні систем доставки терапевтичних засобів. Але відсутність в макромолекулах поліестерів функційних груп, що здатні до хемосорбції, забезпечували солюбілізацію біологічно активних сполук лише на рівні фізичних сил взаємодії. Завданням цієї роботи було ввести в структуру поліестерів цього типу функційну групу, для створення можливості хемосорбції біологічно активних сполук певної природи.

Разом з тим, як було показано в попередньому розділі, введення в гідрофільний фрагмент фосфатної групи (в ОН-формі), крім створення потенційної можливості, внесла певні зміни в механізм стабілізації дисперсної фази. Тобто, поряд зі стабілізацією за рахунок структурно-механічного бар'єру, додатково було виявлено елементи стабілізації за рахунок подвійного електричного шару. Тому, з'явилося закономірне питання, як хемосорбція органічних сполук буде впливати на стабілізацію дисперсної фази.

4.1 Дослідження стабілізаційної здатності фосфоровмісних поліестерів методом динамічного світлорозсіювання

На рис. 4.1а наведено гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра водної дисперсії поліестеру з фосфатною групою, прекурсор якого був отриманий в DMF, при різній кількості введеної в дисперсію хлоридної кислоти. На рис. 4.1б наведені такі ж гістограми, але для поліестеру з фосфатною групою, прекурсор якого була отриманий в DCM.

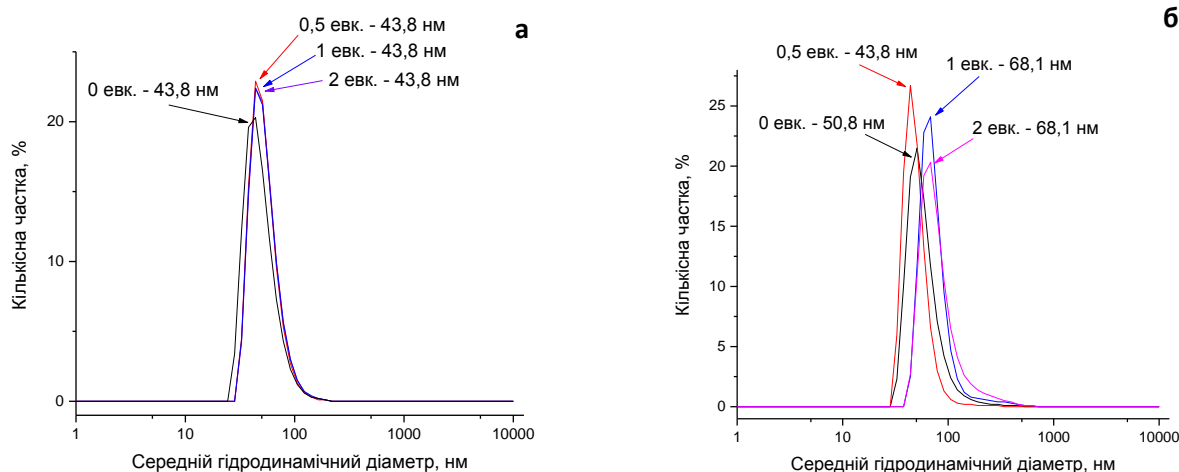


Рис. 4.1 Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра водної дисперсії а) поліестеру з фосфатною групою, прекурсор якого був отриманий в DMF; б) поліестеру з фосфатною групою, прекурсор якого був отриманий в DCM; при різній кількості введеної в дисперсію хлоридної кислоти. Концентрація дисперсної фази ФП – 0,15 %. Температура 25 °С.

Як можна побачити з наведених даних, створення кислого середовища (до рН 4,0) не приводить до помітних змін в обох розподілах дисперсної фази і з цього можна зробити висновок, що протонні кислоти не руйнують стабілізацію частинок дисперсної фази створених, в межах даної роботи, дисперсій. Знижувати рН середовища, значимо нижче рН 4, недоцільно. Як було показано в розділі 2.4, при більш низьких значення водневого показника, при температурах близьких до кімнатної буде спостерігатися доволі повільний, але при тривалому часі, вагомий гідроліз основного ланцюга поліестеру. Таким чином, можна стверджувати, що в слабкокислих середовищах одержані дисперсії залишаються агрегатно стабільними.

Більш складна ситуація спостерігається при внесенні в дисперсії гідроксидів лужних металів. На рис. 4.2 наведені гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра водної дисперсії поліестеру з фосфатною групою, прекурсор якого був отриманий в DMF (а) та DCM (б), з різною кількістю гідроксиду

натрію. Для зручності кількість введеного гідроксиду натрію наведена у співвідношенні до загальної кількості фосфатних груп в дисперсії. Як можна побачити, введення до одного еквівалента гідроксильних груп на один еквівалент фосфатних груп в дисперсії не спричиняє вагомого впливу на розподіл. Це означає, що нейтралізація фосфатних груп не вносить значного впливу на стабілізаційну здатність дисперсної фази. Але надлишок гідроксиду натрію приводить до руйнування стабілізації. Уже при мольному співвідношенні 1:2 спостерігається повне руйнування дисперсної фази – на середньочисловому розподілі практично повністю пропадає мода, що відповідає частинкам з гідродинамічним діаметром меншим за 100 нм і домінує мода, яка відповідає частинкам з гідродинамічним діаметром 1000 нм. Як було показано в розділі 3, це означає, що частинки дисперсної фази агломерували в суспензії з розміром частинок здатних до седиментації.

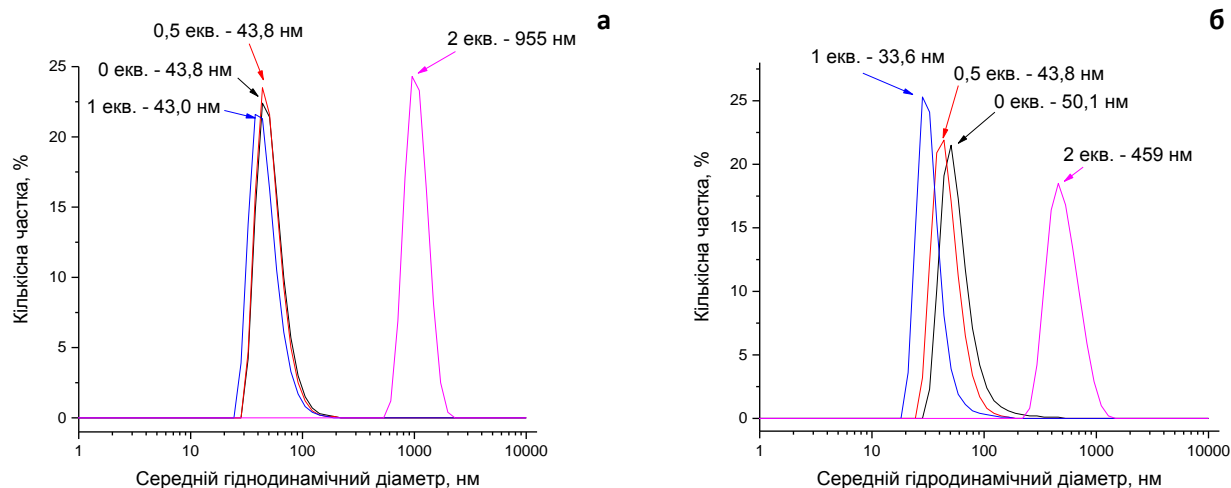


Рис. 4.2 Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра водної дисперсії а) поліестеру з фосфатною групою, прекурсор якого був отриманий в DMF; б) поліестеру з фосфатною групою, прекурсор якого був отриманий в DCM; при різній кількості введеної в дисперсію натрію гідроксиду. Концентрація дисперсної фази ФП – 0,15 %. Температура 25 °С.

Таким чином, проведений експеримент демонструє, що отримані дисперсії фосфоровмісних поліестерів не зберігають агрегатну стабільність під дією агентів основної природи та практично повністю руйнуються в лужному середовищі. Сам по собі цей факт не можна вважати, як такий, що робить неможливим використання отриманих дисперсій як полімерних дисперсних систем доставки терапевтичних засобів за двома причинами. По-перше, більшість біологічних середовищ є близькими до нейтрального або слабкислого. А в цих середовищах, отримані дисперсії, як показують наведені вище дослідження, є стабільними. По-друге, використовувати

отримані дисперсії в лужних середовищах не доцільно, не лише по причині їх низької агрегатної стійкості, але і по тій причині, що в лужному середовищі гідроліз (як це було показано в розділі 2) іде зі значною швидкістю і дисперсія буде за обмежений час зруйнована завдяки цьому процесу.

Проте, основним призначенням дисперсій, що створювались в межах даної роботи, є хемосорбція органічних сполук з основною природою. Тому, процес руйнування дисперсії основами вимагає додаткового дослідження. На рис. 4.3 наведені гістограми середньочислового розподілу частинок дисперсної фази ФП, прекурсор якого синтезували в DMF, з додаванням різної кількості триетиламіну ($pK_a=10,7$), DMAP ($pK_a=9,6$) та піридину ($pK_a=5,2$). На рис. 4.4 наведені аналогічні гістограми для ФП, прекурсори яких отримували в DCM.

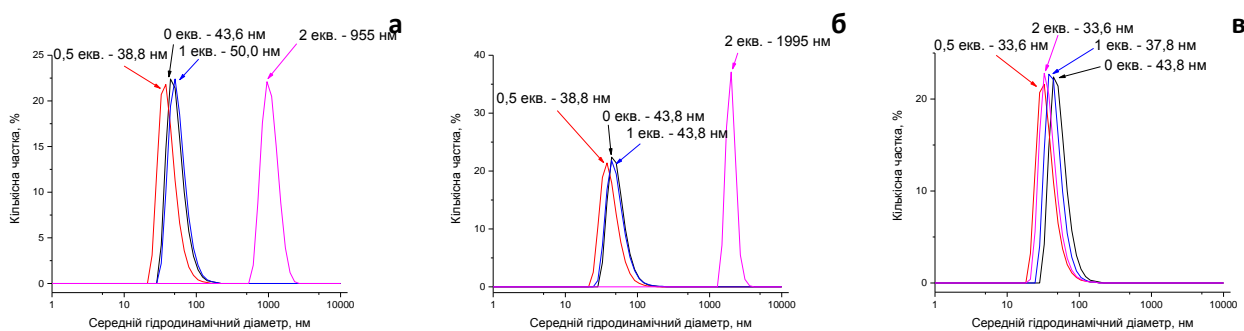


Рис. 4.3 Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра водної дисперсії поліестеру з фосфатною групою, прекурсор якого був отриманий в DMF; при різній кількості введеної в дисперсію а) TEA; б) DMAP; в) піридину. Концентрація дисперсної фази ФП – 0,15 %. Температура 25 °С.

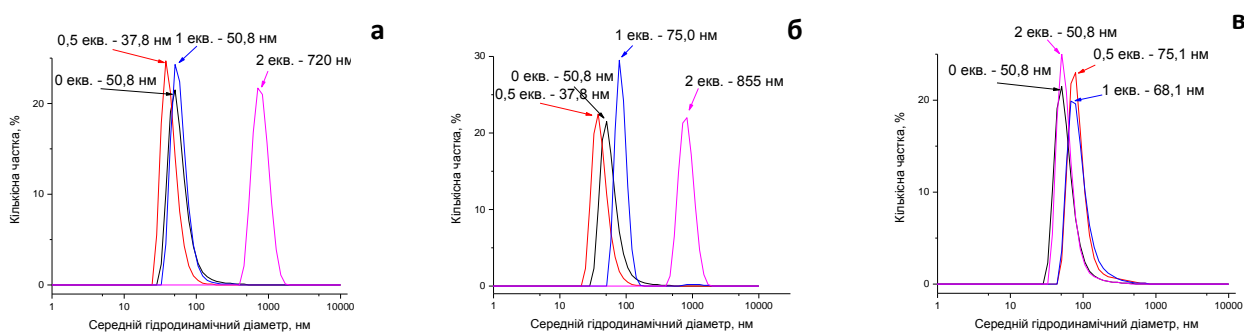


Рис. 4.4 Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра водної дисперсії поліестеру з фосфатною групою, прекурсор якого був отриманий в DCM; при різній кількості введеної в дисперсію а) TEA; б) DMAP; в) піридину. Концентрація дисперсної фази ФП – 0,15 %. Температура 25 °С.

Як можна побачити з наведених даних, за додавання триетиламіну та DMAP спостерігається приблизно та ж картина, що і за додавання гідроксиду натрію ($pK_a=14,7$). До еквімолярного співвідношення руйнування дисперсії не спостерігається, а за досягнення двократного мольного надлишку частинки

дисперсної фази агломерують. За додавання піридину, при будь-якому співвідношенні, не спостерігається агломерація частинок і дисперсна фаза зберігає агрегатну стабільність. Описані дослідження дозволяють зробити висновок, що отримані дисперсії можна використовувати для хемосорбції органічних сполук основної природи, у яких pK_a є меншим за 10,7.

4.2 Дослідження солубілізаційної здатності фосфоровмісних поліестерів

Введення в поліоксиетиленовий ланцюг одержаних поліестерів фосфатної групи має підвищити здатність їх водних дисперсій до солубілізації водонерозчинних органічних сполук основної природи за рахунок процесів хемосорбції. Однозначно це стосується амінів різної природи, оскільки хемосорбція забезпечується безпосередньою взаємодією аміногруп з фосфатними групами, що є в складі поліестеру. Проте, природа азотовмісних біологічно-активних сполук не обмежується лише амінами. Переважно дослідження здатності до солубілізації органічних сполук, як модель, використовується судан III – азосполука зі слабо вираженими основними властивостями ($pK_a = -0,44$). На рис. 4.5 наведені криві солубілізації фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною та фосфатною групою у порівнянні з аналогічними ППАК (без фосфатної групи). Як можна побачити, введення в структуру фосфатної чи етилфосфатної групи не вплинув на форму отриманих кривих. Відмінності мають лише кількісний характер. Максимальна солубілізаційна здатність (рис. 4.5б) проявляється в області концентрацій, що відповідають на ізотермах поверхневого натягу ККМ (рис. 3.2). Підвищення концентрації дисперсної фази приводить до характерного зниження солубілізаційної здатності, але солубілізація, оцінена на одиницю об'єму дисперсії зростає (рис. 4.5а). Можна стверджувати, що введення функційних груп, не змінює механізму солубілізації для азотовмісних органічних сполук з малою основністю. Введення в структуру макромолекули, як етилфосфатної групи, так і фосфатної групи, приводить до значного збільшення солубілізаційної здатності дисперсії. Але максимально цей ефект проявляється саме для фосфатної групи. Попри те, що у випадку судану III не слід очікувати процесів хемосорбції, проведені дослідження демонструють, що підвищення кислотних властивостей функціональної групи приводить до збільшення солубілізаційної здатності, навіть для сполук, у яких основні властивості проявлені дуже слабо.

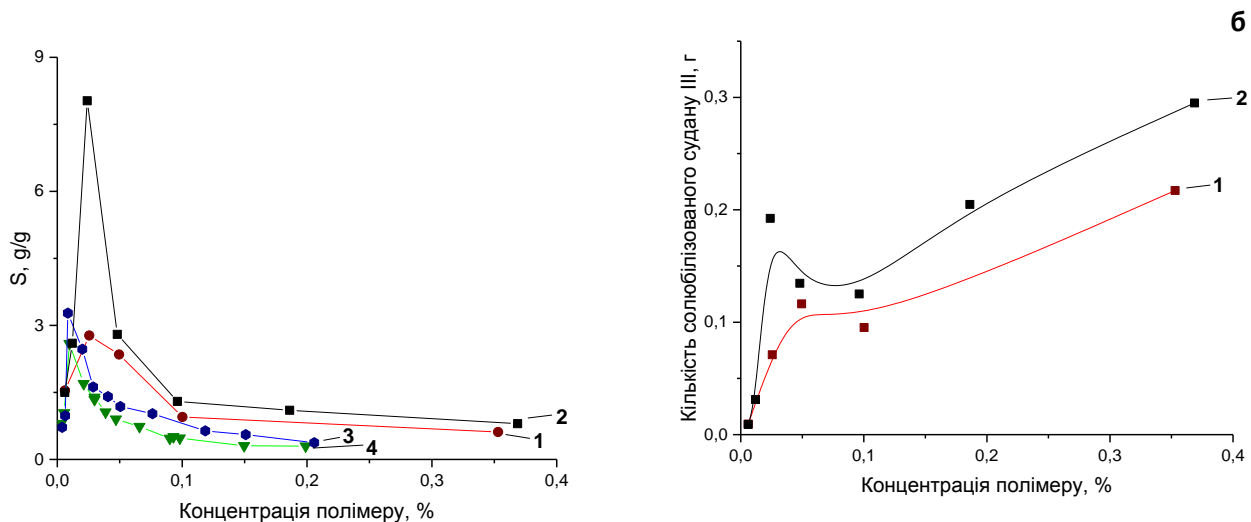


Рис. 4.5 Солюбілізаційна здатність: 1 – ЕФП, 2 – ФП (після гідролізу етилфосфатної групи), 3 – ППАК (GluSt/PEG400), 4 – ППАК (GluSt/PEG600)

4.3 Дослідження адсорбції альбуміну на стійкість дисперсії фосфоровмісних поліестерів

Оскільки фосфоровмісні поліестери можуть застосовуватись як носії фармацевтичних речовин у системах доставки, наночастинки дисперсної фази будуть потрапляти безпосередньо в кровоносну систему організму через внутрішньовенні ін'єкції. Переважно першими молекулами, з якими взаємодіють полімерні міцели, є протеїни, які є одними з основних складових людського організму та рушійною силою більшості біологічних процесів. Тому дослідження взаємодії між частинками дисперсної фази ФП та протеїнами є важливим для безпечного та ефективного використання як систем доставки лікарських препаратів. У зв'язку з цим, проведено дослідження впливу сорбції бичачого сироваткового альбуміну (БСА) на стійкість самостабілізованих водних дисперсій фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою.

На рис. 4.6 та рис. 4.7 наведені гістограми середньочислового розподілу частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів, прекурсори яких були синтезовані в DMF та DCM відповідно. При взаємодії з альбуміном розмір частинок дисперсної фази (в обох випадках) зменшується.

Для зручності проведення аналізу взаємодії на рис. 4.8 наведено криві залежності розміру дисперсної фази ФП від зміни масового співвідношення альбуміну до полімеру. Вже, при співвідношенні альбуміну до полімеру 1:1, відбувається зменшення частинок дисперсної фази до розміру «уночастинок» ($5 \div 20$

нм). Наступне збільшення вмісту альбуміну (3-6 разів вище полімеру) не впливає на розмір частинок. Це свідчить про те, що альбумін сорбується на частинках дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів та вносить додаткову стабілізацію дисперсії.

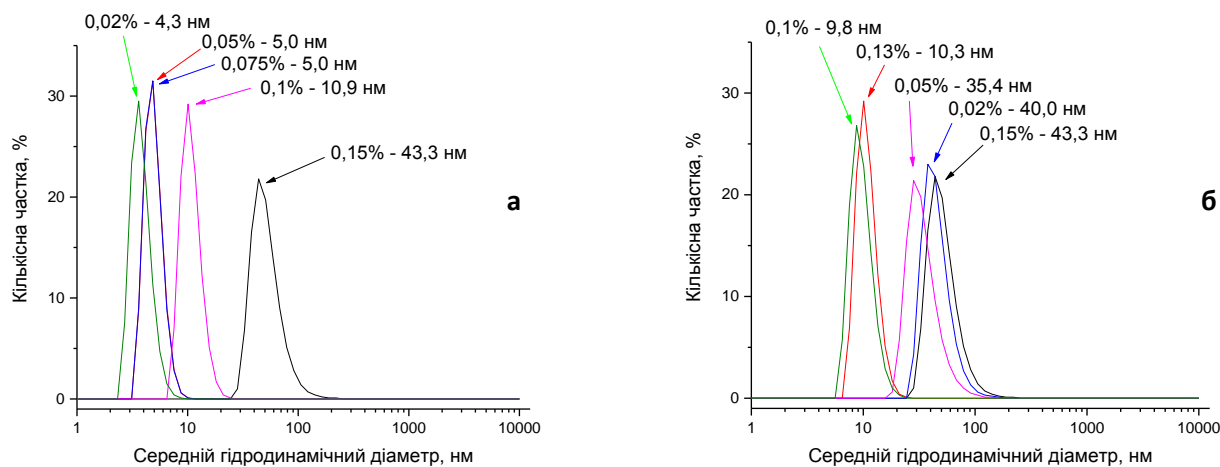


Рис. 4.6 Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра дисперсної фази ФП (прекурсор яких був синтезований в DMF) при взаємодії з альбуміном а) при однаковій концентрації альбуміну – 0,13 % та концентраціях дисперсної фази поліестеру 0,02; 0,05; 0,075; 0,1 %. Концентрація дисперсної фази поліестеру (без внесення альбуміну) – 0,15 % (чорна); Температура 25 °С. б) при однаковій концентрації дисперсної фази поліестеру – 0,1 % та концентраціях альбуміну 0,02; 0,05; 0,1; 0,13 %. Концентрація дисперсної фази поліестеру (без внесення альбуміну) – 0,15 % (чорна)

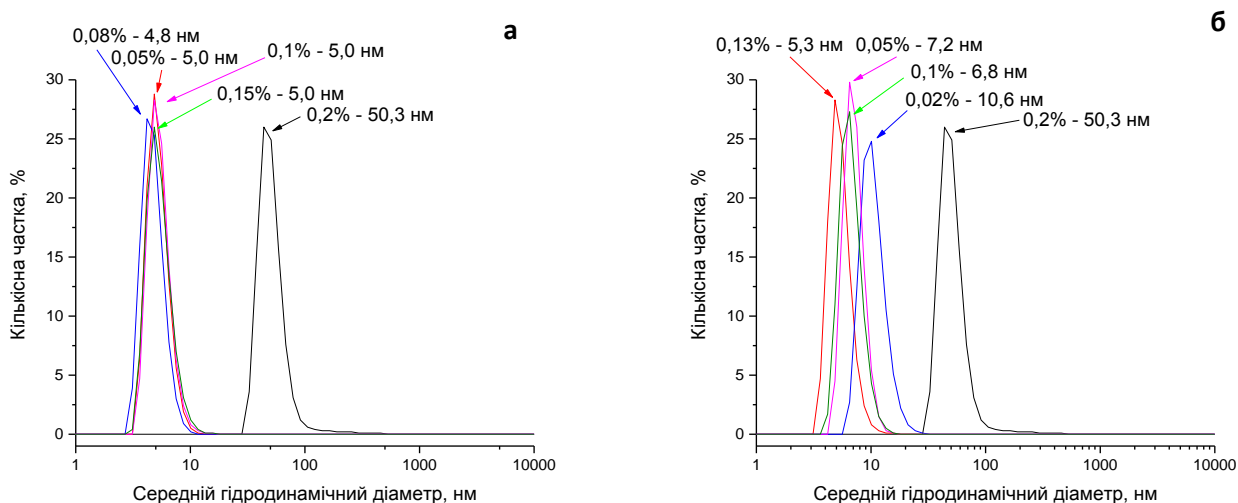


Рис. 4.7 Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра дисперсної фази ФП (прекурсор яких був синтезований в DCM) при взаємодії з альбуміном а) при однаковій концентрації альбуміну – 0,13 % та концентраціях дисперсної фази поліестеру 0,02; 0,05; 0,08; 0,1; 0,15 %. Концентрація дисперсної фази поліестеру (без внесення альбуміну) – 0,2 % (чорна); Температура 25 °С. б) при однаковій концентрації дисперсної фази поліестеру – 0,1 % та концентраціях альбуміну 0,02; 0,05; 0,1; 0,13 %. Концентрація дисперсної фази поліестеру (без внесення альбуміну) – 0,2 % (чорна)

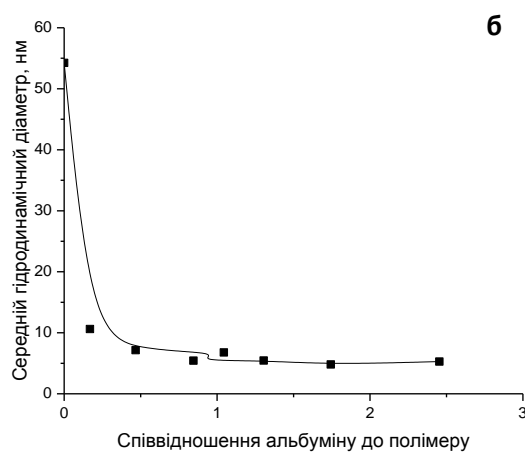
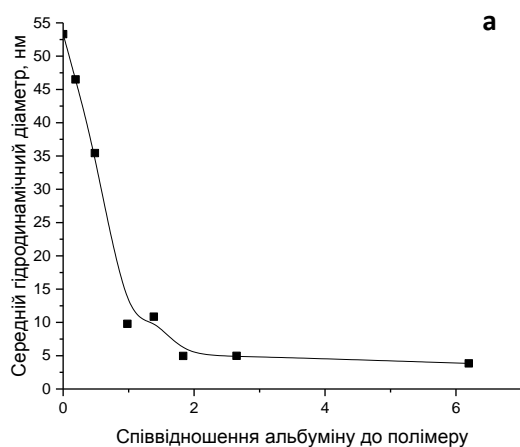


Рис. 4.8 а) Залежність гідродинамічного діаметра дисперсної фази ФП (прекурсор якого був отриманий в DMF) від кількості альбуміну. Температура 25 °С.
 б) Залежність гідродинамічного діаметра дисперсної фази ФП (прекурсор якого був отриманий в DCM) від кількості альбуміну. Температура 25 °С.

4.3 Дослідження цитотоксичності дисперсій фосфоровмісних поліестерів

Цитотоксичність отриманих ФП досліджували за їхнім впливом на виживання культури клітин (спермії бугая) та активність окисних ензимів (табл. 4.1).

Вживання сперміїв в контролі становить $54,0 \pm 9,25$ год, а в дослідних зразках змінюється залежно від дози полімеру та виду антибіотика у комплексі з полімером. Зокрема, за мінімального вмісту полімеру (10 мкл/мл) виживання сперміїв на 6 год вище, ніж у контролі. Наступне збільшення дози полімеру в зразках (більше 10 мкл/мл) не приводить до вірогідних змін виживання сперміїв, яке знаходиться в межах 51,0 – 54,0 год.

Подібні результати встановлені при дослідженні впливу комплексів поліестер-антибіотик на характер змін і величину фізіологічного показника. Так, підвищення з 10 до 100 мкл/мл комплексу поліестер-доксидокліну в зразках проявлялось коливаннями величини виживання сперміїв від 48,0 до 60,0 год. Різниця між вказаними величинами значень і контролем становила 3-6 год і статистично не вірогідна ($P > 0,05$). За впливом комплексу поліестер-енрофлоксацину виживання сперміїв найвище за 50 мкл/мл ($75,0 \pm 8,94$ год), а за 10 мкл/мл і 100 мкл/мл – однакове з контролем (60 год). При цьому, різниця між контролем і вказаними величинами значень фізіологічного показника становить 6-21 год ($P > 0,05$). Аналіз залежності фізіологічного показника від дози внесених речовин свідчить про слабкий вплив наростаючого вмісту поліестеру і комплексу поліестер-доксидокліну на виживання

статевих клітин (відповідно, $\eta = 0,148$ і $0,212$) та середньої сили ($\eta = 0,306$) з наростаючим вмістом поліестер-енрофлоксацин.

Таблиця 4.1

Вживання і активність окисних ензимів спермій за дії ФП			
Доза, мкл/мл	Вживання, год	активність ензимів, од	
		СДГ	ЦХО
Дисперсія ASh-43			
100	54,0±7,04	11,8±2,69	18,3±2,55
50	51,0±5,09	14,2±2,48	17,5±1,95
10	60,0±8,49	15,8±3,98	14,2±2,74
Кореляція, η	0,148	0,256	0,301
Дисперсія ASh-43 з доксицикліном			
100	60,0±8,49	1,3±0,19***	15,8±3,21
50	57,0±5,91	3,2±1,38**	15,0±1,67
10	48,0±4,24	13,3±1,92	11,7±2,81
Кореляція, η	0,212	0,794	0,236
Дисперсія ASh-43 з енрофлоксацином			
100	60,0±8,49	2,3±0,77**	13,3±2,26
50	75,0±8,94	2,3±0,77**	10,8±1,40
10	60,0±7,35	2,3±0,77**	12,5±2,28
Кореляція, η	0,306	0,820	0,228
Контроль:	54,0±9,25	17,5±3,49	14,2±2,48

Дисперсії фосфоровмісних поліестерів, порівняно з контролем, впливали на інтенсивність окисних процесів, зокрема, на активність ензимів дихального ланцюга мітохондрій спермій. Так, активність сукцинатдегідрогенази (СДГ), за додавання поліестеру в зростаючих дозах, проявляла тенденцію до зниження з $17,5\pm 3,49$ од у контролі до $11,8\pm 2,69$ од за максимальної дози полімеру (100 мкл/мл). Різниця між вказаними величинами значень становить 32,6 % ($P > 0,05$).

Додавання комплексу поліестер-антибіотик у дослідні зразки призводило до зниження активності СДГ. Зокрема, наростаючі дози комплексу поліестер-доксициклін гальмували активність ензиму на 24,0 % за додавання 10 мкл/мл комплексу, на 81,7% ($P < 0,01$) за 50 мкл/мл і на 92,5 % ($P < 0,001$) за 100 мкл/мл, порівняно з контролем. Додавання комплексу поліестер-енрофлоксацин в зразки, не залежно від дози, гальмувало активність СДГ до однакової величини - $2,3\pm 0,77$ од. Різниця між контролем і дослідними зразками становила 86,9 % і статистично вірогідна ($P < 0,01$). Аналіз кореляцій виявив сильний негативний зв'язок активності

СДГ з наростаючими дозами комплексів поліестер-доксидиклін ($\eta=0,794$) і поліестер-енрофлоксацин ($\eta=0,820$)

Активність цитохромоксидази (ЦХО) також залежала від доз як полімеру, так і комплексу поліестер-антибіотик. Так, додавання дисперсії фосфоровмісного поліестеру в зростаючих дозах, порівняно з контролем, зумовлювало тенденцію до підвищення активності ензиму: за 50 мкл/мл – величина значення зростала на 18,9 % і за 100 мкл/мл – на 22,5 %. Додавання 10 мкл/мл комплексу поліестер-доксоциклін в зразки проявлялось зниженням на 17,3 % активності ЦХО, а за вищих доз (50 і 100 мкл/мл) величина значення майже не змінювалась і становила 15,0 – 15,8 од, порівняно з контролем. Вплив комплексу поліестер-енрофлоксацин на активність ЦХО був подібний: при зростаючих дозах комплексу в зразках проявлялась тенденція до зниження активності ензиму (на 6,4 - 24,0 %; $P>0,05$). Сила кореляційного відношення за впливом поліестеру та його комплексів з доксицикліном і енрофлоксацином на активність ЦХО відповідно, середньої сили ($\eta = 0,301$) і слабка ($\eta = 0,236$ і $0,228$).

Отже, додавання в зростаючих дозах як полімеру, так і його комплексів з енрофлоксацином і доксицикліном, зі слабкою силою впливають на виживання спермійв – не проявляють цитотоксичного ефекту. Одночасно, комплекси поліестер-антибіотик регулюють метаболізм статевих клітин і ресинтез АТФ: знижують активність СДГ і зі слабкою силою впливають на термінальну ланку дихального ланцюга спермійв – ЦХО.

4.4 Дослідження кон'югатів фосфоровмісних поліестерів з антибактеріальними препаратами

Отримані частинки фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою розроблялися в межах даної роботи для транспорту хемосорбованих біологічно активних сполук в клітини. Як було показано в попередніх розділах, вони здатні до сорбування складних органічних сполук з основними властивостями. Прикладами таких речовин можуть бути антибіотики. В розділі 1 описана значна кількість пошукових робіт про підвищення терапевтичної ефективності ряду медичних препаратів за їх використання з системою доставки. Разом з тим, в літературних джерелах практично немає даних про доцільність використання антибіотиків в

сукупності з транспортерами в клітину та підвищення, внаслідок цього, ефективності їх дії. Якщо розглядати відомі, на сьогодні, механізми антибактеріальної дії антибіотиків [153], то їх поділяють на такі що:

1. Порушують синтез клітинної стінки бактерій (пеніцилін, цефалоспорини)
2. Гальмують синтез протеїнів в клітині (стрептоміцин, тетрациклін, левоміцетин)
3. Пригнічують синтез нуклеїнових кислот в мікробній клітині (ріфампіцилін).

Механізм, що пригнічує синтез протеїнів та впливає на синтез нуклеїнових кислот, передбачає необхідність проникнення молекули антибіотика в клітину мікроорганізму. Тоді внесення молекули антибіотика в частинку транспортера, яка здатна до транспорту антибіотика в клітину, буде підвищувати його антибактеріальну дію. В протипагу до цього, якщо антибіотик, за своїм механізмом дії, впливає на синтез клітинної стінки без проникнення в саму клітину, то імубілізація такого антибіотика в частинці транспортера, не лише, не буде сприяти підвищенню його антибактеріальної дії, а може і її знижувати.

Для перевірки цієї гіпотези, в межах цього дослідження, було обрано ряд антибіотиків з відомим механізмом антибактеріальної дії. Зокрема, досліджувались бензилпеніцилін (рис. 4.9а), амоксицилін (рис. 4.9б), доксициклін (рис. 4.9в) та окситетрациклін (рис. 4.9г). Механізм дії бензилпеніциліну та амоксицикліну пов'язані з пригніченням синтезу клітинної стінки [154, 155], а доксициклін і окситетрациклін впливають на синтез протеїнів в клітині [156, 157].

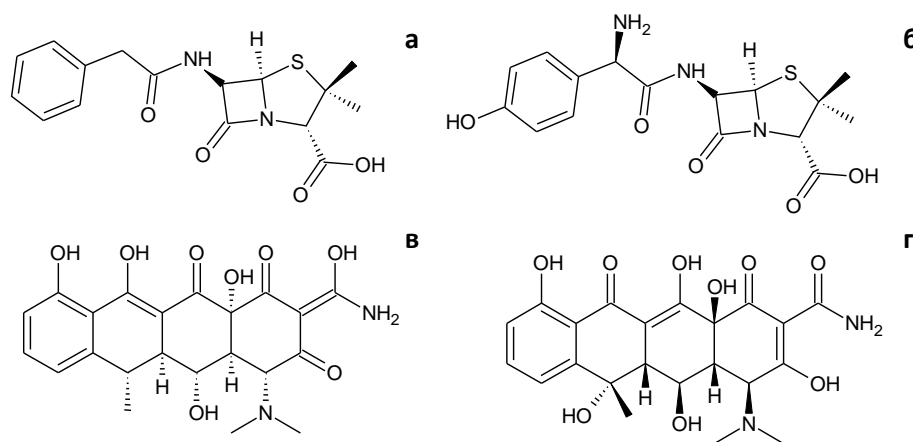


Рис. 4.9 Структурні формули а) бензилпеніциліну, б) амоксициліну, в) доксицикліну, г) окситетрацикліну

За даними рис. 4.9, амоксицилін, доксицилін та окситетрациклін є складними за структурою органічні аміни, які можуть бути напряму хемосорбовані на частинки фосфоровмісних поліестерів за схемою на рис. 4.10:

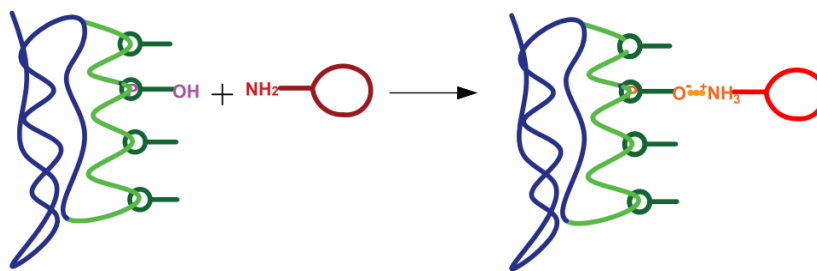


Рис. 4.10 Схема утворення кон'югату фосфоровмісних поліестерів з антибіотиками

Бензилпеніцилін власних груп з необхідною основністю немає, тому іммобілізований на частинці поліестеру був у вигляді прокаїнової солі, яка і є його товарною формою випуску.

Методика солюбілізації антибіотиків на частинках дисперсної фази описана в розділі 5.2.9. При тому досліджували солюбілізацію з різним співвідношенням кількості антибіотика до кількості фосфатних груп фосфоровмісних поліестерів. За розробленою методикою було хемосорбовано та солюбілізовано 0,5, 1,0 та 2,0 еквівалента антибіотика до фосфатних груп. Кислотна константа дисоціації (рКа) вибраних антибіотиків не перевищує 8. Тому, як було показано в розділі 4.1, очікувалось, навіть при 2-ох кратному надлишку, відсутність порушення стабілізації дисперсії. На рис. 4.11 наведені гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра кон'югатів фосфоровмісних поліестерів з антибіотиками. Як можна побачити, очікування повністю справдились для всіх антибіотиків, що випробовувались в межах даної роботи, та не приводить до руйнування стабілізації системи кон'югатів.

Для приготування дисперсій кон'югатів з антибіотиками використовували фосфоровмісні поліестери з фосфатною групою Р4 та Р6, з молекулярною масою поліоксидетиленових фрагментів при синтезуванні поліестерів 400 та 600 г/моль відповідно. Вміст дисперсної фази ФП і антибіотика у приготовлених кон'югатах наведена в таблиці 4.2.

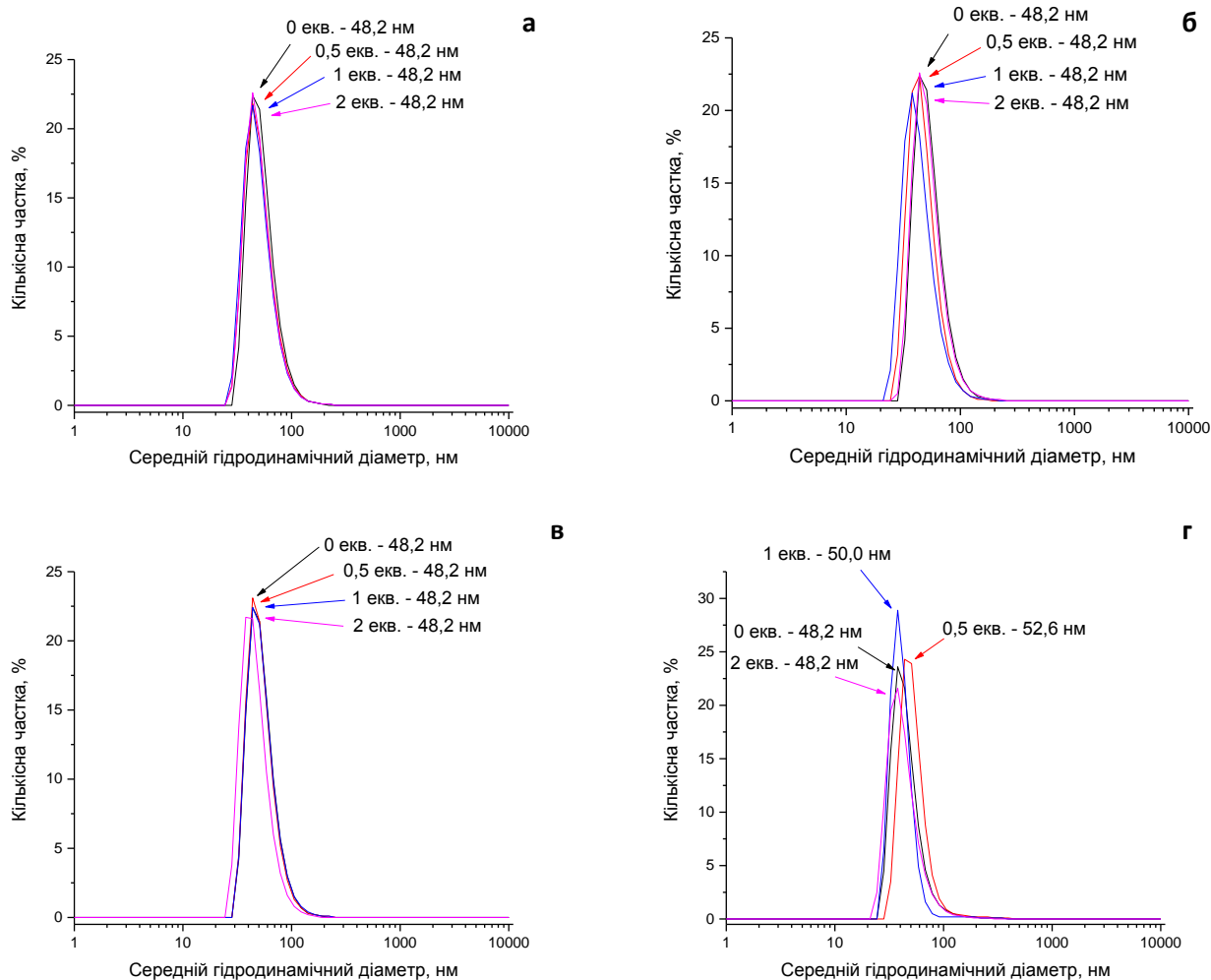


Рис. 4.11 Гістограми середньочислового розподілу гідродинамічного діаметра водної дисперсії поліестеру з фосфатною групою, прекурсор якого був отриманий в DMF; при різній кількості введеної в дисперсію антибіотиків а) бензилпеніциліну; б) амоксициліну; в) доксицикліну; г) окситетрацикліну. Концентрація дисперсної фази ФП – 0,15 %. Температура 25 °С.

Дослідження ефективності створених комплексів фосфоровмісних поліестерів з антибіотиками в кількості 1 еквівалента на фосфатну групу поліестерів проводили оцінюванням інтенсивності росту мікроорганізмів: золотистого стафілокока (*Staphylococcus Aureus*), кишкової (*Escherichia coli*) та синьогнійної паличок (*Pseudomonas aeruginosa*) за методикою описаною в розділі 5.3.15. Дослідження проводили з урахуванням мінімальних інгібуючих концентрацій антибіотиків для кожного з досліджених мікроорганізмів. Порівняння проводили між традиційною формою антибіотика (К - контроль), кон'югатів антибіотика з ФП з молекулярною масою поліоксietiленових фрагментів 400 (Р4) та 600 г/моль (Р6). В досліджених зразках (традиційні форми та кон'югати) концентрація антибіотиків була однаковою.

Вміст дисперсної фази ФП і антибіотика у приготовлених кон'югатах

№	Фосфоровмісні поліестери	Антибіотики	Умовне позначення кон'югату	Концентрація дисперсної фази ФП, мг/г дисперсії	Вміст антибіотика у кон'югаті, мг/г дисперсії
1	P4	Бензилпеніцилін	P4-БП	3,52	1,66
2	P4	Амоксицилін	P4-А	3,52	1,36
3	P4	Доксициклін	P4-Д	11,9	5,21
4	P4	Окситетрациклін	P4-О	3,52	1,31
5	P6	Бензилпеніцилін	P6-БП	3,36	1,69
6	P6	Амоксицилін	P6-А	3,36	1,42
7	P6	Доксициклін	P6-Д	12,2	5,48
8	P6	Окситетрациклін	P6-О	3,36	1,38

На рис. 4.12 наведені результати досліджень антимікробної дії кон'югатів P4-БП та P6-БП. Спостереження проводились впродовж 3 діб.

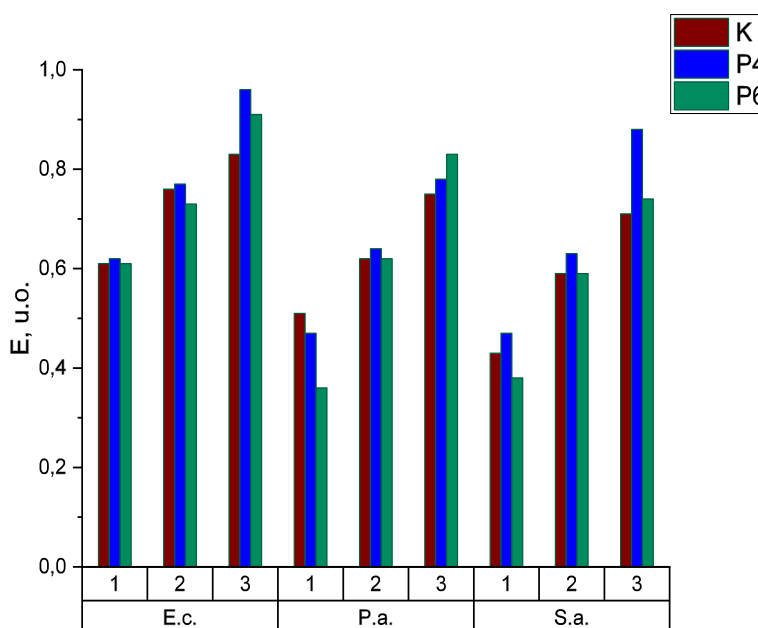


Рис. 4.12 Ріст кишкової (E. a.) і синьогнійної паличок (P. a.) та золотистого стафілокока (S. a.) за впливу бензилпеніциліну у традиційній формі (K) та кон'югатів з ФП (P4 та P6) впродовж 3 діб за культивування в рідкому середовищі. Доза антибіотика на культурі кишкової палички – 1,5 мкг/мл, синьогнійної палички – 0,43 мкг/мл, золотистого стафілокока – 0,6 мкг/мл

Спостерігали вплив кон'югованого антибіотика на частинках ФП з молекулярною масою поліоксиетиленових фрагментів 400 (P4) та 600 г/моль (P6), порівняно з бензилпеніциліном у традиційній формі, на швидкість розмноження мікроорганізмів. При тому в зразках, що порівнювались, кількість антибіотика була

однакова. Наведені дані демонструють, що форма введення антибіотика практично не впливає на швидкість росту золотистого стафілокока, кишкової та синьогнійної паличок. Таким чином, можна стверджувати, що використання бензилпеніциліну кон'югованого з Р4 чи Р6 проявляє антибактеріальну активність на рівні традиційної форми вказаного антибіотика.

Подібні результати отримані за тестування конг'югатів амоксициліну (рис. 4.13). Більше того, з отриманих даних можна зробити висновок, що за використання амоксициліну в вигляді кон'югата Р6-А помітно знижується антибактеріальна активність у випадку кишкової палички. Антимікробна дія амоксициліну в традиційній формі та формі кон'югату Р4-А є приблизно однаковою.

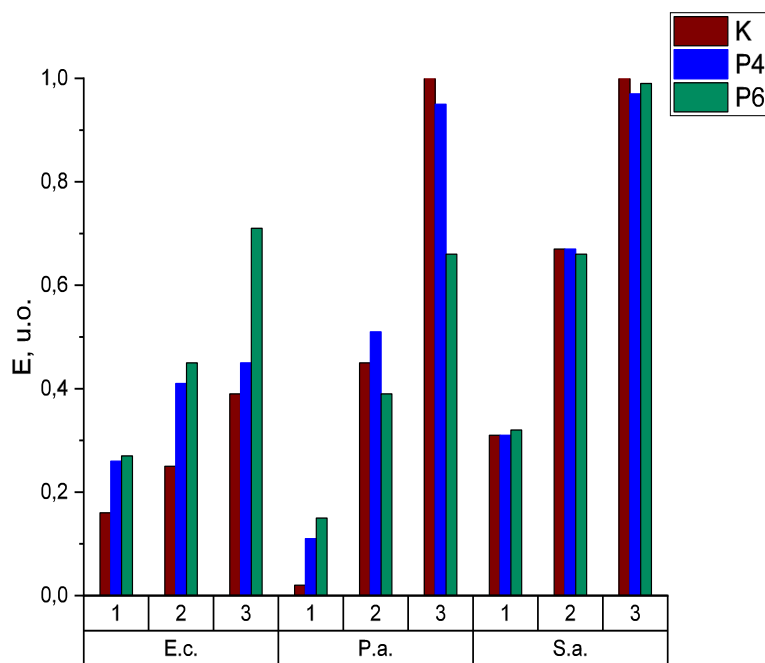


Рис. 4.13 Ріст кишкової (E. a.) і синьогнійної паличок (P. a.) та золотистого стафілокока (S. a.) за впливу амоксициліну у традиційній формі (К) та кон'югатів з ФП (Р4 та Р6) впродовж 3 діб за культивування в рідкому середовищі. Доза антибіотика на культурі кишкової палички – 0,17 мкг/мл, синьогнійної палички – 0,22 мкг/мл, золотистого стафілокока – 0,17 мкг/мл

Таким чином, дослідження кон'югатів з амоксициліном демонструє, що його солюбілізація на частинках ФП не підвищує, а знижує його антибактеріальну дію. Разом з тим, важливим є спостереження, що структура полімеру нано-транспортеру антибіотика має помітний вплив на антибактеріальну активність солюбілізованого антибіотика.

На рис. 4.14 наведені результати досліджень антимікробної дії кон'югатів ФП з доксицикліном. При використанні цього антибіотика та його кон'югатів Р4-Д та Р6-Д спостерігається інша картина, ніж з антибіотиками, описаними вище.

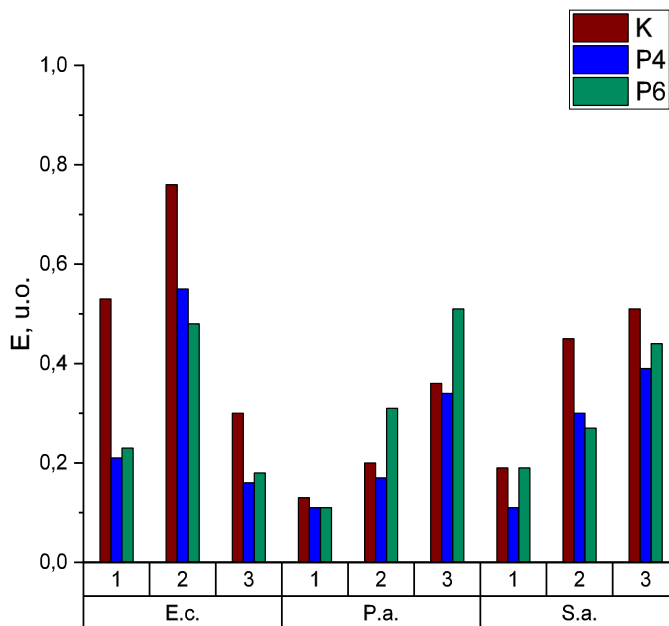


Рис. 4.14 Ріст кишкової (E. a.) і синьогнійної паличок (P. a.) та золотистого стафілококу (S. a.) за впливу доксицикліну у традиційній формі (К) та кон'югатів з ФП (Р4 та Р6) впродовж 3 діб за культивування в рідкому середовищі. Доза антибіотика на культурі кишкової палички – 0,25 мкг/мл, синьогнійної палички – 0,19 мкг/мл, золотистого стафілококу – 0,25 мкг/мл

Наведені дані дозволяють стверджувати, що кон'югат Р4-Д, в структурі полімеру нано-транспортеру якого використані фрагменти ПЕГ-400, підвищує антибактеріальну активність доксицикліну для всіх мікроорганізмів, які тестувались (кишкова і синьогнійна палички, золотистий стафілокок). При тому, антибактеріальна активність доксицикліну зростає для кишкової палички практично вдвічі. Аналогічно, антимікробна активність вказаного антибіотика підвищується суттєво стосовно золотистого стафілокока і, меншою мірою, стосовно синьогнійної палички. Для кон'югантів Р6-Д, отриманому з використанням ПЕГ-600, підвищення антимікробної активності не однозначне. У випадку кишкової палички, підвищення антибактеріальної активності порівняльне з кон'югатом Р4-Д на ПЕГ 400, але, у випадку синьогнійної палички, цей кон'югат взагалі не проявляє активності. Таким чином, можна стверджувати, що на антибактеріальну активність доксицикліна можна

впливати і суттєво її підвищувати утворюючи з ним кон'югати. Але цей вплив, значною мірою, залежить від структури полімеру-носія.

Подібні результати отримані за дослідження антимікробної дії кон'югатів окситетрацикліну (рис. 4.15). Як і у випадку кон'югатів доксицикліну Р4, наведені дані дозволяють стверджувати, що кон'югат Р4-О, в структурі полімеру нано-транспортеру якого використані фрагменти ПЕГ-400, підвищує антимікробну активність окситетрацикліну для всіх мікроорганізмів, які досліджувались (кишкова і синьогнійна палички, золотистий стафілокок).

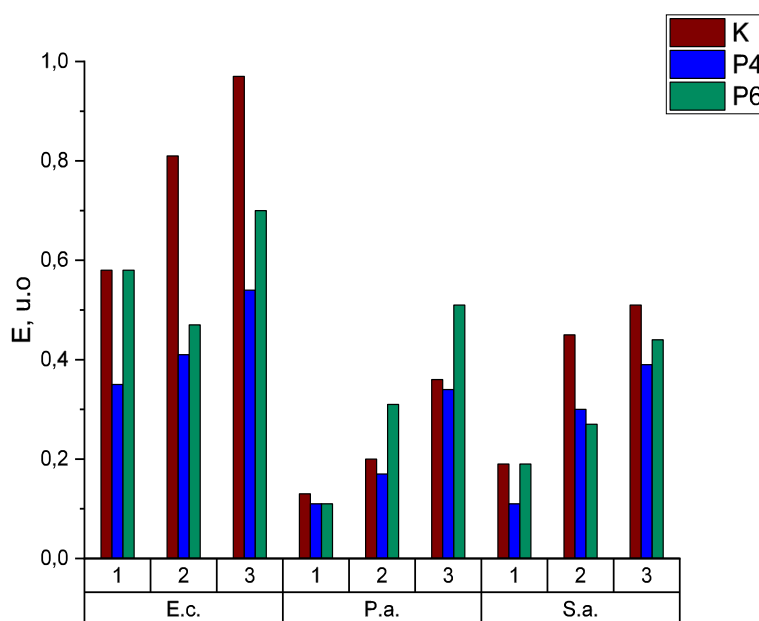


Рис. 4.15 Ріст кишкової (E. a.) і синьогнійної паличок (P. a.) та золотистого стафілокока (S. a.) за впливу окситетрацикліну у традиційній формі (K) та кон'югатів з ФП (P4 та P6) впродовж 3 діб за культивування в рідкому середовищі. Доза антибіотика на культурі кишкової палички – 2,3 мкг/мл, синьогнійної палички – 3,8 мкг/мл, золотистого стафілококу – 2,3 мкг/мл

Для кон'югантів Р6-О, отриманому з використанням ПЕГ-600, підвищення антимікробної активності не однозначне. У випадку синьогнійно палички, цей кон'югат не проявляє ефективності на 2 та 3 доби досліджень. Таким чином, можна стверджувати, що на антимікробну активність окситетрацикліна також можна впливати і суттєво її підвищувати утворюючи з ним кон'югати. Але цей вплив також залежить від структури полімеру нано-транспортеру.

Аналіз вище описаних досліджень наведено в таблиці 4.3.

Узагальнені дані впливу кон'югатів антибіотиків з ФП на швидкість росту мікроорганізмів у порівнянні з традиційним застосуванням цих антибіотиків

Антибіотик	Кишкова паличка (E.a)		Синьогнійна паличка		Золотистий стафілокок	
	P4	P6	P4	P6	P4	P6
Бензилпеніцилін	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Амоксицилін	-	--	-	+	+/-	+/-
Доксициклін	++	++	+	-	++	+
Окситетрациклін	++	+	+	-	++	+

«+/-» -- впливу на антибактеріальну здатність не спостерігається; «+» -- встановлено помітне збільшення антибактеріальної активності, «++» -- спостерігали вагоме збільшення антибактеріальної активності, «-» -- встановлено помітне зниження антибактеріальної активності, «--» -- спостерігали вагоме зниження антибактеріальної активності.

Аналізуючи дані цієї таблиці разом з даними наведеними на рис. 4.12, рис. 4.13, рис. 4.14, та рис. 4.15 можна стверджувати, що кон'югати частинок фосфоровмісних поліестерів (з молекулярною масою поліоксиетиленових фрагментів при синтезуванні поліестерів як 400, так і 600 г/моль) з бензилпеніциліном та амоксициліном проявляють антимікробну активність на рівні традиційних форм антибіотиків, а в окремих випадках (P6-A) її знижують. Тут слід відмітити, що механізм антимікробної дії цих двох антибіотиків, як вказувалось вище, пов'язаний з порушенням синтезу клітинної стінки мікроорганізмів. В такому випадку, поміщення молекул цих антибіотиків в наночастинку, тим більше у хімічно зв'язаному вигляді з полімерною матрицею, закономірно має зменшувати взаємодію з мембраною і, як наслідок, знижувати антимікробну дію. Таким чином, відсутність впливу на антибактеріальну активність бензилпеніциліну та її зниження у випадку амоксициліну, при хемосорбції їх в полімерних дисперсних частинках, слід вважати закономірним результатом.

В протипагу до цього, механізм дії доксицикліну і окситетрацикліну пов'язаний з проникненням їх молекул в клітину та впливу на синтез протеїнів та РНК. Проведені дослідження виявили, що поміщення їх в полімер нано-транспортер підвищує їх антибактеріальну дію. Так, кон'югати доксицикліну та окситетрацикліну проявляли вагоме, деколи не менше двократного, збільшення антибактеріальної активності до кишкової палички та золотистого стафілокока. Ці дослідження дозволяють зробити

висновок, що спосіб підвищення антибактеріальної дії у традиційному вигляді антибіотиків можна шукати через їх використання з системами загальної доставки терапевтичних засобів. На сьогодні, цей шлях є практично не досліджений, а резистентність мікроорганізмів до антибіотиків є ваговою проблемою сучасності. Разом з тим, проведені дослідження свідчать, що цей шлях є перспективним лише для антибіотиків, механізм дії яких пов'язаний з безпосереднім проникненням в клітину. При тому, проведені дослідження показують, що вагоме значення має структура полімера nano-транспортера. Так кон'югати доксицикліну та окситетрацикліну з частинками P4 у випадку синьогнійної палички проявляють помітне підвищення антибактеріальної дії. Ці ж антибіотики з частинками P6, полімер яких відрізняється лише довжиною поліоксietiленових фрагментів, уже, або не впливає, або знижує антибактеріальну дію.

РОЗДІЛ 5

ВИХІДНІ РЕЧОВИНИ, МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕННЯ СИНТЕЗІВ ТА АНАЛІЗІВ

5.1 Вихідні речовини, матеріали та їх характеристики

2-(октадеканоїламіно)пентандіова кислота або *N-стеароїлглутамінова кислота (GluSt)* – порошок світло-коричневого кольору, погано розчинний у воді, при нагріванні розчиняється в спиртах, диметилсульфоксиді (DMSO). Емпірична формула – $C_{23}H_{43}NO_5$. Молярна маса – 413,59 г/моль; густина – 0,848 г/см³. GluSt отримували та очищали за методикою [130].

Поліетиленгліколь (інші назви - *полі(етиленоксид)*, *полі(оксиетилен)*) (**PEG**) (Uoslab) середньої молекулярної маси 200, 400, 1000, 1500 г/моль з вмістом основної речовини 99,5 %. Залежно від середньої молекулярної маси полімери – 200-600 г/моль в'язкі рідини, 1000-1500 г/моль – пастоподібні або тверді речовини. PEG розчинний у воді, та більшості органічних розчинників, таких як метанол, етанол, ацетонітрил, бензен, тетрахлорометан, хлороформ, дихлорметан, диметилформаїд та не розчинний у діетиловому етері і гексані. У синтезах використовували PEG очищений від домішок води шляхом відгонки азеотропної суміші бензен-вода (69 °C), тоді бензол (80 °C). Залишки бензену видаляли у вакуумі до постійної маси.

Трифенілметил хлорид або *тритил хлорид (TrCl)* (Uoslab) з вмістом основної речовини 99,5 %, це порошок від білого до жовтого кольору, який розчинний в хлороформі, бензені, толуені, пропаноні, діетиловому етері, тетрагідрофурані, гексані. Емпірична формула – $C_{19}H_{15}Cl$. Молярна маса – 278,78 г/моль. Температура плавлення 110-113 °C, температура кипіння 230,2 °C. В синтезі використовували тритил хлорид без додаткової стадії очищення.

Триетиламін (TEA) (Сфера Сім) з вмістом основної речовини 98 %, це рухлива безбарвна рідина, що має слабкий аміачний запах, обмежено розчинний у воді, добре розчинний в пропаноні, бензені, хлороформі, змішується з етанолом, діетиловим етером. Емпірична формула – $C_6H_{15}N$. Молекулярна маса – 101,19 г/моль. Густина 0,726 г/см³. Температура плавлення -114,8 °C, температура кипіння 89,5 °C. Показник заломлення (20 °C) 1,401. Використовували без додаткового очищення.

Фосфор (V) оксихлорид або *оксихлорид фосфору* — безбарвна рідина, яка димить на повітрі, розкладається у воді і спирті, розчиняється в бензені, хлороформі, тетрахлорметані. Емпірична формула – POCl_3 . Молярна маса – 153,33 г/моль. Гранично допустима концентрація (ГДК) становить 0,4 мг/м³. Густина 1,645 г/см³. Температура плавлення 1,18 °С, температура кипіння 105,4 °С. Показник заломлення (20 °С) 1,460. Використовували без додаткового очищення класифікації “х.ч.”.

Етанол (Uoslab) з вмістом основної речовини 99,5 % — безбарвна рідина із слабким запахом, леткий і легкозаймистий, змішується в будь-яких пропорціях з водою, етерами, ацетоном, бенzenом. Емпірична формула – $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$. Молярна маса – 46,07 г/моль. Густина 0,7893 г/см³. Температура плавлення -114,3 °С, температура кипіння 78,4 °С. Показник заломлення (20 °С) 1,3611. У синтезі використовували етанол без попередньо очищений перегонкою.

n-Толуолсульфокислота (TsOH) (Uoslab) з вмістом основної речовини 99 % – біла тверда речовина, що розчиняється у воді, спиртах та інших полярних органічних розчинниках.. Емпірична формула – $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3\text{S}$. Молярна маса – 172,20 г/моль. Температура плавлення – 106-107 °С, температура кипіння – 140 °С. Густина 1,24 г/см³. Використовували без додаткового очищення.

N,N'-дициклогексилкарбодімід (DCC) (Aldrich) – білі (блідо-жовті) кристали, емпірична формула – $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_2$, Молярна маса – 206,33 г/моль, температура плавлення – 32-35 °С, температура кипіння – 155 °С (при 11 мм.рт.ст.), не розчиняється в ацетоні, розчиняється в бензені, дихлорметані, хлороформі, диметилформаміді. Вміст основної речовини не менше 99,0 %, використовували без додаткового очищення.

4-Диметиламінопіридин (DMAP) (Aldrich) з вмістом основної речовини не менше 99 % – безбарвна кристалічна речовина. Відома під назвою «каталізатор Стегліха». Розчинна у воді, полярних та неполярних органічних розчинниках. Емпірична формула – $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2$, молярна маса – 122,17 г/моль, температура плавлення – 113-114 °С. У синтезі використовували без додаткового очищення.

Дипропіленгліколь (DPG) – прозора, в'язка рідина без запаху, дуже гігроскопічна. **DPG** змішується з водою, розчинний у багатьох органічних розчинниках. Практично нетоксичний, застосовується в фармацевтичній, харчовій і парфумерній промисловості. Молярна маса – 134,17 г/моль, густина - 1,024 г/см³,

температура кипіння – 232 °С. У синтезі використовували DPG очищений від домішок води шляхом відгонки азеотропної суміші бензол-вода. Залишки бензолу видаляли у вакуумі до постійної маси.

Дихлорметан (DCM) – прозора легколетка рідина.. Молярна маса – 84,93 г/моль; густина – 1,33 г/см³; температура кипіння – 40 °С; температура плавлення – -97 °С. Показник заломлення (20 °С) 1,4269. У синтезі використовували DCM попередньо очищений за методикою [158].

N,N-Диметилформамід (DMF) – малов'язка прозора рідина при стандартних умовах. Молекулярна маса – 73,09 г/моль; густина – 0,9445 г/см³; температура кипіння – 153 °С; температура плавлення – -61 °С, Показник заломлення (20 °С) 1,4269. У синтезі використовували DMF попередньо очищений за методикою [159].

Розчинники 1,4-діоксан, тетрагідрофуран (**THF**), бензен, метанол очищали за методиками [158, 159].

5.2 Методики проведення синтезів

5.2.1 Методика одержання етилдихлорфосфату (EDP)

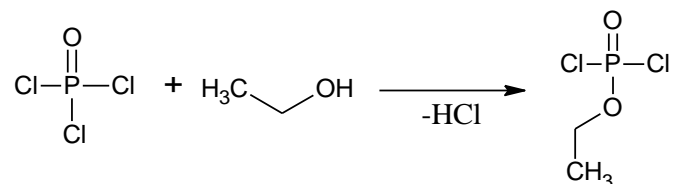


Рис. 5.1 Схема отримання етилдихлорфосфату

Синтез EDP проводили за схемою наведеною на рис.5.1, в двогорлому реакторі ємністю 100 мл, який оснащений магнітним тілом обертання, крапельною лійкою об'ємом 25 мл та зворотнім холодильником з хлоркальцієвою трубкою. В реактор вносили 20 ммоль фосфор (V) оксихлориду та 20 мл розчинника. Після охолодження на водяно-льодовій бані до 0-5 °С в реактор через крапельну лійку повільно прикапували етанол (0,1 моль). Реакційну суміш перемішували при 5-10 °С впродовж 2 годин і при 20 °С – 4 годин. Етилдихлорфосфат очищали перегонкою у вакуумі, відбираючи фракцію з $T_{\text{к}} = 60\text{--}64$ °С при $1,33 \times 10^{-3}$ МПа (10 мм. рт. ст.).

Для оптимізації умов проведення синтезу і підвищення виходу EDP синтез проводили в та без розчинника, а також змінюючи співвідношення між реагуючими компонентами. Дані таких синтезів наведені в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Порівняльна характеристика синтезу EDP

№	Мольне співвідношення реагентів		Розчинник	Вихід EDP, %
	Етанол	Оксихлорид фосфору		
1	1	1	THF	31,6
2	1	4	THF	41,6
3	1	7	THF	16,5
4	1	4	-	51,6
5	1	1,2	-	52
6	1	1,7	-	65,6
7	1	2	-	65,4

З даних таблиці 5.1 по виходу етилдихлорфосфату можна зробити висновок, що проведення синтезу без розчинника покращило вихід EDP практично вдвічі, а оптимальне співвідношення між етанолом та оксихлоридом фосфору лежить в межах 1:1,7 ÷ 1:2.

Структуру отриманого EDP підтверджували методами ^1H , ^{31}P NMR спектроскопії (спектри наведені в додатку Б на рис. Б1 та рис. 5.2 відповідно).

5.2.2 Методика одержання тритилового естеру поліетиленгліколю (PEG-Tr)

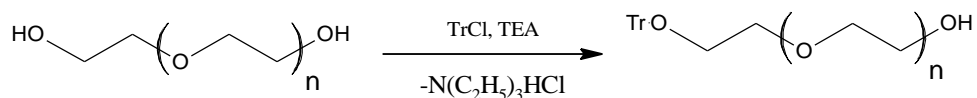


Рис. 5.2 Схема отримання тритилового естеру поліетиленгліколю

Синтез PEG-Tr проводили за схемою наведеною на рис. 5.2, в двогорлій круглодонній колбі ємністю 500 мл, яка обладнана магнітним тілом обертання, крапельною лійкою об'ємом 50 мл та зворотнім холодильником. Поліетиленгліколь (0,7 моль, 7 екв.), триетиламін (0,13 моль, 1,3 екв.) і бензол (200 мл) завантажували в реактор при 20 °С. Тоді в реактор прикапували розчин трифенілметил хлориду (0,1 моль, 1 екв.) у 50 мл бензолу. Після 12 годин перемішування при 25 °С, суміш фільтрували через паперовий фільтр на лійці Бюхнера. Фільтрат переносили в ділільну лійку об'ємом 1000 мл і екстрагували етилацетатом (200 мл). Органічний

шар відділяли, об'єднували і тричі промивали насиченим розчином натрій хлориду (3×100 мл) і сушили над безводним сульфатом натрію впродовж 12 год. PEG-Tr концентрували, відганяючи етилацетат на роторному випарнику, та сушили у вакуумі до постійної маси. Отримували світло-жовту в'язку рідину у випадку використання PEG з середньою молярною масою 200-600 г/моль, та світло-жовту пастоподібну речовину - з середньою молярною масою 1000-1500 г/моль. У таблиці 5.2 наведено порівняльну характеристику синтезу PEG-Tr. У синтезах з PEG з середньою молярною масою до 600 г/моль, вихід основного продукту PEG-Tr становив вище 91 %. При використанні PEG з молярною масою більше 1000 г/моль частина отриманого продукту втрачається під час очищення.

Таблиця 5.2

Порівняльна характеристика синтезу PEG-Tr

№	Шифр синтезу	Молярна маса PEG, г/моль	Молекулярна маса отриманого PEG-Tr, г/моль	Вихід PEG-Tr, %	мг·екв(ОН груп)/г експер.	мг·екв(ОН груп)/г теорет.
1	PEG-2-Tr	200	442	91,7	2,22	2,26
2	PEG-4-Tr	400	642	92,1	1,50	1,56
3	PEG-6-Tr	600	842	94,8	1,14	1,19
4	PEG-10-Tr	1000	1242	66,7	0,71	0,81
5	PEG-15-Tr	1500	1742	58,2	0,50	0,57

Структуру отриманого PEG-Tr підтверджували методами IR, ¹H, ¹³C NMR спектроскопії, спектри яких наведені в додатку Б на рис. Б3, Б4 та Б5 відповідно.

2.2.3 Методика одержання ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфату (DEP)

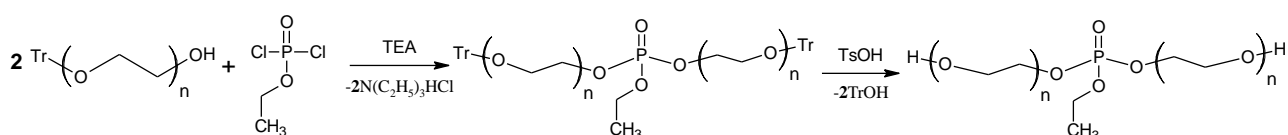


Рис. 5.3 Схема отримання ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфату

Синтез DEP проводили за схемою наведеною на рис. 5.3, в двогорлому реакторі ємністю 250 мл, який оснащений магнітним тілом обертання, крапельною лійкою об'ємом 25 мл та зворотнім холодильником. PEG-Tr (0,1 моль), триетиламін (0,105 моль) і 1,4-діоксан (150 мл) завантажували в реактор і охолоджували на водяно-

льодовій бані до 0-5 °С. Розчин EDP (0,05 моль) в 1,4-діоксані повільно прикапували в реактор впродовж 10 хвилин. Реакційну суміш перемішували при 5-10 °С впродовж 2 годин і при 20 °С – 6 годин. Реакційну суміш фільтрували, концентрували на роторному випарнику та сушили у вакуумі до постійної маси.

DEP-Tr розчиняли в 150 мл метанолу. У реактор додавали 4 % мольних п-толуолсульфокислоти. Суміш перемішували при 25 °С впродовж 2 годин. Потім у реактор додавали 150 мл води. Після 4 годин перемішування, суміш фільтрували. DEP концентрували на роторному випарнику та сушили у вакуумі до постійної маси. Отримували жовту рідину DEP. У таблиці 5.3 наведено порівняльну характеристику синтезів продуктів серії DEP при використанні PEG різної молярної маси.

Таблиця 5.3

Порівняльна характеристика синтезу DEP

№	Шифр синтезу	Молярна маса отриманого PEG-Tr, г/моль	Молярна маса отриманого DEP, г/моль	Вихід DEP-Tr, %	Вихід DEP, %	мг·екв (ОН груп)/г експер.	мг·екв (ОН груп)/г теорет.
1	DEP-2	442	484	98,1	61,7	3,96	4,17
2	DEP-4	642	884	95,9	98,1	2,11	2,26
3	DEP-6	842	1284	95,0	97,0	1,56	1,48
4	DEP-10	1242	2084	97,2	94,0	0,86	0,96

Як видно з табл. 5.3, експериментально визначена кількість гідроксильних груп задовільно відповідає розрахунковій. Вихід DEP-Tr очікувано високий і не залежить від молекулярної маси PEG. Навпаки, спостерігаються лише високі виходи продукту DEP для PEG з молекулярною масою 400 Да і вище. При використанні PEG з меншою молекулярною масою частина отриманого продукту втрачається в процесі виділення.

Структуру отриманих DEP підтверджували методами IR, ¹H, ¹³C, ³¹P NMR - спектроскопії, спектри яких наведені в додатку Б на рис. Б6, Б7, Б8 та Б9 відповідно.

5.2.4 Методика одержання фосфоровмісних поліестерів (ЕФП)

Синтез фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною групою проводили за методикою наведеною в [160]. В тригорлий реактор об'ємом 500 мл, оснащений магнітним тілом обертання, двома крапельними лійками та зворотнім холодильником

з хлоркальцієвою трубкою, завантажують 10 ммоль N-стеароїлглутамінову кислоту (GluSt), 9 ммоль ди(полі(оксиетилен))(етил)фосфату (DEP), 1,25 ммоль 4-диметиламінопіридин (DMAP) та 100 мл розчинник (DMF або DCM). Реакційну суміш охолоджують до 5 °C і прикачують N,N'-дициклогексилкарбодіїмід (DCC) в розчиннику (DMF або DCM). Мольні співвідношення DCC та DMAP до N-стеароїлглутамінової кислоти 2,2 та 0,125 відповідно. Витримують реакційну масу при 5 °C впродовж 30 хв, тоді температуру в бані піднімають до 10 °C і витримують 2 години при інтенсивному перемішуванні. Після цього реакційну суміш перемішують при 25 °C впродовж 12 год. Для очистки продукту від N,N-дициклогексилсечовини (DCU), реакційну суміш фільтрують через фільтрувальний папір, фільтрат упарюють. Після цього продукт розчиняють в 5 мл ацетону, додають 0,1 мл води і активно перемішують впродовж 4 год, після чого повторно фільтрують і упарюють фільтрат. Структуру отриманих ЕФП підтверджували методами IR, ¹H, ¹³C, ³¹P NMR -спектроскопії.

5.2.5 Методика одержання «складних» фосфоровмісних поліестерів

В тригорлий реактор об'ємом 500 мл, оснащений магнітним тілом обертання, двома крапельними лійками та зворотнім холодильником з хлоркальцієвою трубкою, завантажують 10 ммоль GluSt, 4,5 ммоль DEP, 4,5 ммоль PEG та 1,25 ммоль DMAP та 100 мл розчинник (DMF або DCM). Реакційну суміш охолоджують до 5 °C і прикачують DCC в розчиннику (DMF або DCM). Мольні співвідношення DCC та DMAP до GluSt 2,2 та 0,125 відповідно. Витримують реакційну масу при 5 °C впродовж 30 хв, тоді температуру в бані піднімають до 10 °C і витримують 2 години при інтенсивному перемішуванні. Після цього реакційну суміш перемішують при 25 °C впродовж 12 год. Для очистки продукту від DCU, реакційну суміш фільтрують через фільтрувальний папір, фільтрат упарюють. Після цього продукт розчиняють в 5 мл ацетону, додають 0,1 мл води і активно перемішують впродовж 4 год, після чого повторно фільтрують і упарюють фільтрат. Структуру отриманих «складних» ЕФП підтверджували методами IR, ¹H, ¹³C, ³¹P NMR -спектроскопії.

5.2.6 Методика одержання фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою (ФП)

Синтез фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою проводили за методикою наведеною в [160]. В двогорлий реактор об'ємом 250 мл, оснащений магнітною мішалкою, крапельною лійкою та зворотнім холодильником, завантажують 3 г фосфоровмісного поліестеру з етилфосфатною групою та 40 г дистильованої води, створюючи концентрацію поліестеретера 70 мг/г розчину. Додають 0,1 н водний розчин HCl до водневого показника розчину в межах 2÷3. Витримують реакційну суміш при 30 °C впродовж 1 години до приросту загальної кислотності за даними потенціометричного титрування $7,7 \cdot 10^{-4}$ г-екв/г. Для виділення продукту з водного розчину, його тричі екстрагують хлороформом по 20 мл. Об'єднані екстракти хлороформу упарюють у вакуумі до постійної маси та отримують ~2,5 г фосфоровмісного поліестера з фосфатною групою (вихід 80÷90 %). Структуру отриманих ФП підтверджували методами IR, ^1H , ^{13}C , ^{31}P NMR спектроскопії.

5.3. Методики проведення аналізів

5.3.1 IR-спектроскопія з перетворенням Фур'є

IR спектри зразків фосфоровмісних мономерів та поліестерів отримані на приладі FTIR спектрофотометрі Vertex 70V Bruker з алмазним зондом ATR та детектором дейтерованого тригліцинсульфату. Смуги поглинання реєстрували в діапазоні 400–4000 cm^{-1} , кількість сканів – 16 та роздільна здатність 2 cm^{-1} . Метод сканування ATR-FTIR – порушеного повного внутрішнього відбиття. Віднесення сигналів IR-спектрів проводили за таблицями характерних частот поглинання [161, 162].

5.3.2 NMR-спектроскопія

Спектри ^1H , ^{13}C , ^{31}P NMR спектри зразків фосфоровмісних мономерів та поліестерів отримували при 400 МГц на спектрометрі Bruker® при 25 °C у дейтерованому хлороформі (CDCl_3). Хімічні зсуви (δ) виражені в частках на мільйон (м. ч., або ppm) відносно Me_4Si . Віднесення сигналів спектрів проводили за таблицями

характерних хімічних зсувів, наведених у [163], а також за допомогою спрогнозованих спектрів у програмному забезпеченні ACDLabs.

5.3.3 Гель-проникна хроматографія

Середньочислову молекулярну масу (M_n) і полідисперсність (P) визначали методом гель-проникної хроматографії (GPC) з використанням як елюента тетрагідрофуран (витрата 1 мл/хв), при 35°C, на автоматичному пробовідбірнику Waters® chain 2707, обладнаному 1515 ізократичним насосом і захисною колонкою Styragel 30×4,6 мм, яка з'єднана з колонкою Styragel HR2+HR4, 300×7,8 мм. Як детектори показника заломлення були використані Waters® 2996 PDA і Waters® 2414. Калібрування проводили зі стандартами полістиролу (PS) в діапазоні від 580 г/моль до 483 000 г/моль. За допомогою програмного забезпечення “Empower2” отримували значення середньої M_n , молекулярно-масовий розподіл та коефіцієнт полідисперсності.

5.3.4 Визначення молекулярної маси методом ізотермічної перегонки

Середньочислову молекулярну масу (\overline{M}_n) ЕФП і ФП визначали методом ізотермічної перегонки за методикою [164]. Як стандарт використовували поліетиленгліколь, розчинник – ацетон. Розчин фосфоровмісних поліестерів і стандарту з відомими концентраціями у заздалегідь зважених бюксах, поміщали в герметичну комірку. В комірці створювали розрідження 60÷65 мм.рт.ст. і витримували при температурі 20 °С впродовж 3 діб. Потім бюкси з розчином зважували на аналітичних вагах із точністю 0,0001 г. Розчинник з бюксів випарювали, ЕФП і ФП сушили у вакуумі до постійної маси для отримання точного значення наважок сухих речовин.

Розрахунок середньочисельної молекулярної маси (\overline{M}_n , г/моль) ЕФП і ФП проводили за формулою:

$$\overline{M}_n = \frac{a}{A} \cdot \frac{A_{ст}}{a_{ст}} \cdot M_{ст}, \quad (5.1)$$

де a – маса розчиненого ЕФП або ФП, г;

A – маса розчинника в бюксі з ЕФП або ФП, г;

$A_{ст}$ – маса розчинника в бюксі зі стандартом, г;

$a_{ст}$ – маса розчиненого стандарту, г;

$M_{ст}$ – Молярна маса стандарту, г/моль.

Похибка визначення значень молекулярних мас з трьох паралельних вимірів становить 7÷8 %.

5.3.5 Визначення молекулярної маси віскозиметричним методом

Молекулярну масу фосфоровмісних поліестерів визначали за рівнянням Марка-Хувінка [128]:

$$[\eta] = K \cdot \bar{M}_v^\alpha, \quad (5.2)$$

де $[\eta]$ – характеристична в'язкість;

K та α – константи для даної системи полімер розчинник при певній температурі;

\bar{M}_v – середньов'язкісна молекулярна маса полімеру, г/моль.

Характеристичну в'язкість визначали за методикою [165] у віскозиметрі типу Бішоффа з висячим рівнем (константа віскозиметра $4.57 \cdot 10^{-6}$) при температурі 20 °C у ацетоні. Вихідну концентрацію розчину ЕФП і ФП підбирали так, щоб відношення часу витікання вихідного розчину до часу витікання розчинника знаходилося в межах 1.50÷1.55. Вимірювання проводили до концентрації розчину, коли це відношення було не менше 1.1. Кількість розбавлень становила 6÷7.

5.3.6 Визначення поверхневого натягу та критичної концентрації міцелоутворення водних дисперсій ЕФП і ФП

Визначення поверхневого натягу водних дисперсій ЕФП і ФП проводили за класичним методом відриву кільця – методом Дю-Нуї. Він оснований на вимірюванні максимального зусилля (F) для відриву платиногового кільця, для якого є відомі геометричні параметри, від поверхні розчину. Величина поверхневого натягу та критична концентрація міцелоутворення водних дисперсій ЕФП і ФП розраховується за методиками наведеними в [165].

5.3.7 Визначення ефективного гідродинамічного радіуса частинок у дисперсіях ЕФП і ФП методом динамічного світлорозсіювання (DLS)

Визначення ефективного гідродинамічного радіуса частинок дисперсної фази ЕФП і ФП проводили на приладі Malvern Zetasizer Nano ZS. Для приготування

дисперсій ЕФП і ФП використовували деіонізовану воду, діапазон концентрації ЕФП і ФП в межах 0,02-1 %. Вимірювання проводили при 25 °С.

5.3.8 Дослідження сорбції альбуміну дисперсіями фосфоровмісних поліестерів

Кількість сорбованого альбуміну визначали за зміною провідності розчину на приладі Malvern Zetasizer Nano ZS. Одночасно реєстрували ζ -потенціал дисперсної фази ЕФП і ФП. Для визначення сорбції альбуміну до 0,02-0,2 % дисперсій ЕФП і ФП вносили розчин бичачого сироваткового альбуміну та визначену кількість води, щоб забезпечити задані концентрації компонентів у розчині.

5.3.9 Визначення розмірів частинок фосфоровмісних поліестерів методом релеєвського світлорозсіювання

Визначення розмірів частинок фосфоровмісних поліестерів методом світлорозсіювання проводили на приладі ЮНИКО-1200 при довжині хвилі 430 та 535 нм, кювети з довжиною оптичного шляху 10 мм. Початкова концентрація ЕФП і ФП 0,5 % у дистильованій воді. Порівняння проводили по 100 % пропусканні дистильованої води. Графік будували в координатах $\lg D - \lg \lambda$, з якого визначали показник n як тангенс кута нахилу отриманої кривої. Згідно з табличними даними, підбирали показник Z , та визначали розмір частинок дисперсної фази згідно з рівнянням Геллера [166].

5.3.10 Дослідження солюбілізаційних властивостей у дисперсіях ЕФП і ФП

Як солюбілізатор використовували барвник судан III кваліфікації х.ч. без додаткового очищення. Солюбілізацію барвника у водних дисперсіях ЕФП і ФП визначали спектрофотометричним методом за допомогою спектрофотометра «ЮНИКО 1201». Для кількісної оцінки процесу розчинення барвника у водних розчинах ЕФП і ФП будували калібрувальні залежності (калібрувальні криві) абсорбції (A) розчину барвника (судану III) в ацетоні від його концентрації. Для кювети порівняння готували водно-ацетонову суміш у співвідношенні 1:4 води і ацетону відповідно. Оптимальна довжина хвилі для даної системи становила $\lambda=500$ нм.

Для проведення вимірювання використовували плівковий метод. Приготували розчин судану III в ацетоні з концентрацією 1,5 %. Пізніше готували шість зразків, беручи відповідну розраховану кількість даного розчину та залишали на 12 годин у відкритій тарі для випаровування ацетону та утворення плівки судану. Готували дисперсію ЕФП або ФП у дистильованій воді з концентрацією 0,7 %, та розбавляли її для приготування шести зразків з спадаючою концентрацією. Додавали утворену дисперсію з різною концентрацією до відповідної кількості судану попередньо підготовленої тарі. Перемішували за допомогою магнітного тіла обертання на магнітній мішалці впродовж доби. Встановлено, що через 24 год перемішування в такій системі встановлюється стан хімічної рівноваги, який характеризується постійним значенням абсорбції.

Надлишок барвника відділяли двічі центрифугуванням (центрифуга марки ОПН-8 при 4 тис. об/хв впродовж 30 хвилин), відбирали фугат. Одержані дисперсії полімерів, насичені солюбілізованим барвником, розводили ацетоном у співвідношення 1:4 відповідно. На спектрофотометрі з використанням кювет товщиною 1, 3 та 5 мм проводили вимірювання абсорбції (A), максимально наближених по абсорбції до умов отримання калібрувальних прямих. З використанням одержаних калібрувальних залежностей, за попередньо встановленими значеннями абсорбції (A) водно-ацетонових розчинів полімерів, насичених барвником, визначали концентрацію барвника у розчині та розраховували його відношення до кількості полімеру S (г/г).

5.3.11 Потенціометричний метод аналізу для визначення загальної кислотності ФП

Приблизно 0,1 г ФП зважували з точністю до 0,0001г і диспергували у 5 мл дистильованої води. Титрували 0,05 N розчином NaOH, фіксуючи зміни показів рН з використанням рН-метра рН-150МІ, який обладнаний комбінованим електродом ЕСК-10603/7.

Загальну кислотність (K, г-екв/г) фосфоровмісних поліестерів визначали за формулою:

$$K = \frac{V(\text{NaOH}) \cdot C(\text{NaOH}) \cdot k}{m_{\text{нав}} \cdot 1000}, \quad (5.3)$$

де $V(\text{NaOH})$ – об'єм NaOH , що відповідає переходу потенціометричної кривої, мл;

$C(\text{NaOH})$ – нормальність титранту натрію гідроксиду, моль/л;

k – поправочний коефіцієнт на концентрацію натрію гідроксиду;

$m_{\text{нав}}$ – маса наважки полімеру, який аналізували, г.

5.3.12 Визначення кількості гідроксильних груп

Кількість гідроксильних груп визначали некаталітичним методом ацетилювання та наступним потенціометричним титруванням 0,4 N розчином натрію гідроксиду згідно з методикою [167].

Кількість гідроксильних груп (C_{OH} , г-екв/г) визначали за формулою:

$$C_{\text{OH}} = \frac{V_x - V_1 \cdot C(\text{NaOH}) \cdot k}{m_{\text{нав}} \cdot 1000}, \quad (5.4)$$

де V_x – об'єм NaOH , що відповідає переходу потенціометричної кривої для холостої проби, мл;

V_1 – об'єм NaOH , що відповідає переходу потенціометричної кривої для проби, мл;

$C(\text{NaOH})$ – нормальність титранту натрію гідроксиду, моль/л;

k – поправочний коефіцієнт на концентрацію натрію гідроксиду;

$m_{\text{нав}}$ – маса наважки полімеру, який аналізували, г.

5.3.13 Хроматографічний аналіз

Хроматографічний аналіз використовували для визначення масового вмісту етанолу в реакційній суміші під час гідролізу методом відносного калібрування. Для приготування калібрувальних сумішей використовували етанол абсолютизований (понад 99 %об.). Хроматографічний аналіз виконували за газорідного хроматографа марки Сэлмхром-1. Умови хроматографії: термостат колонок – 70 °С; детектор – 140 °С; випарник – 150 °С; струм ДТП – 20 мА; напруга – 0 мВ.

Довжина колонки – 1м. Адсорбент – CHROMATON NAW 0,125-0,160мм (15 % carbowaх 20М). Газ носій – гелій. Витрата газу – носія 2,5 л/год. Об'єм аналізованої проби становив 2 мкл. Внутрішній стандарт (мітка), який використовували в хроматографії – ацетон.

5.3.14 Визначення вмісту антибіотика в дисперсії ФП

Кількісний вміст антибіотика у зразку водної дисперсії ФП досліджували за допомогою високоефективної рідинної хроматографії з застосуванням діодно-матричного детектора. Зразки розділяли на хроматографі Waters, обладнаного хроматографічною колонкою Luna C18(2) 250×4,6, за швидкості подачі елюенту 1 мл/хв. Елюентом та одночасно розчинником виступала суміш ацетонітрилу та 0,2 % фосфорної кислоти у об'ємному співвідношенні 1:1. Антибіотик детектували при довжині хвилі поглинання 350 нм, об'єм ін'єкції становив 10 мкл. Як стандартний зразок використовували відповідний стандарт антибіотика (Sigma). Стандартний та дослідні зразки розчиняли до концентрації 100 мкг/мл мобільною фазою.

5.3.15 Дослідження антимікробної дії кон'югатів фосфоромісних поліестерів з антибіотиками

Дослідження антимікробної дії кон'югатів ФП з антибіотиками проводили з використанням методів серійних розведень у бульйоні та агарі за наступною методикою. Культуру золотистого стафілокока (*Staphylococcus aureus*), кишкової палички (*Escherichia coli*) і синьогнійної палички (*Pseudomonas aeruginosa*) культивували в середовищах: рідкому (глюкоза – 4 % і м'ясо-пептонний бульйон (МПБ; ТОВ «Фармреактив») – 1 % до 100 мл H₂O) і твердому (глюкоза – 4 %, МПБ – 1 % і агар - 2 % до 100 мл H₂O).

Для культивування в чашках (діаметр 90 мм) наливали 20 мл середовища, у яке додавати 2 мл інокуляту (температура середовища не перевищує 40 °С), а у пробірки – 5 мл середовища і 20 мкл інокуляту мікроорганізмів. Для приготування інокуляту петлею переносити мікроорганізми у пробірки з 10 мл рідкого поживного середовища та інкубувати впродовж 24 год за температури 32±2 °С.

Для встановлення ефективності дії кон'югатів ФП з антибіотиками на ріст мікроорганізмів у чашки на паперові диски (d = 10 мм) наносили антибіотики (у традиційному вигляді) та зразки кон'югатів з урахуванням мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) досліджуваних антибактеріальних речовин для мікроорганізмів: бензилпеніцилін, амоксицилін, окситетрациклін та доксициклін.

Аналогічно, за культивування в рідкому середовищі у пробірки додавали діючі речовини: бензилпеніцилін, амоксицилін, окситетрациклін та доксициклін. Ріст

мікроорганізмів у присутності антибіотиків та їх комплексів порівнювали з «негативним контролем», що містив початковий інокулюм, який зберігали за 2-4 °С.

За культивування у твердому середовищі - площу інгібування росту культури клітин (см²) визначали з використанням програмного забезпечення TotalLab TL120; за культивування у рідкому середовищі - абсорбцію зразків визначали спектрофотометрично у кюветі з товщиною робочого шару 10 мм за довжини хвилі $\lambda = 660$ нм.

5.3.16. Дослідження цитотоксичності фосфоровмісних поліестерів

Для оцінювання цитотоксичності ФП в культурі клітин відбирали еякуляти бугаїв з фізіологічними характеристиками: об'ємом - 3-6 мл, концентрацією спермійів - $0,8-1,3 \times 10^9$ клітин/мл і кількістю живих 70-85 %. Сперму розріджували фосфатно-сольовим буфером (ФСБ: NaCl – 0,8 г, KCl – 0,02 г, Na₂HPO₄ – 0,11 г, KН₂PO₄ – 0,02 г, MgCl₂ – 0,01 г, вода дистильована – до 100 мл) і ділили на частини: контрольну – зразки розбавлені ФСБ і дослідні - з додаванням досліджуваних речовин у розбавлені ФСБ зразки. Використовували концентрації ФП 10, 50 і 100 мкл/мл.

Досліджували виживання спермійів (год.) під мікроскопом ($\times 200$) до припинення прямолінійного поступального руху в збереженій за температури 2-5 °С спермі та активність окиснювальних ензимів: активність сукцинатдегідрогенази (СДГ, од) з використанням 2,3,5-трифенілтетразолій хлориду та цитохромоксидази (ЦХО, од) з реактивом «наді» [168]. Аналіз результатів досліджень проведено за Плохінським [169].

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено науково-практичні завдання щодо розроблення дисперсійних систем доставки на основі псевдополіамінокислот поліестерного типу, що здатні хемосорбувати біологічно активні сполуки.

1. Показано, що на основі псевдополіамінокислот поліестерного типу, які отримуються шляхом незворотної поліконденсації N-похідних глютамінової кислоти та діолів поліоксиетиленового ряду, можна створити дисперсійні полімерні системи доставки терапевтичних засобів, що формують кон'югати з останніми через хемосорбцію. В межах даної роботи, така система реалізована через введення в структуру поліестера фосфатних груп, які здатні до хемосорбції біологічно-активних сполук, молекули яких проявляють основні властивості;

2. Показано, що ефективно зв'язування біологічно-активних сполук, в структуру яких входять аміногрупа, реалізується за умови, що їх pK_a не перевищує 5,5;

3. Зокрема, в роботі показано, що розроблені полімерні дисперсії утворюють кон'югати з рядом традиційних форм антибіотиків та підвищують антимікробну дію тих, механізм дії яких реалізується через проникнення молекул в мікробні клітини;

4. Введення в структуру діолів поліоксиетиленової природи етилфосфатної групи суттєво впливає на закономірності перебігу реакції Стегліха; зокрема, показано, що основний вплив реалізується через комплексоутворення етилфосфатної групи з нуклеофільною добавкою N,N-диметиламінопіридином, який є обов'язковим компонентом каталізатора Стегліха. Таке комплексоутворення приводить до часткової пасивації цієї добавки, що сприяє прискоренню непродуктивного перегрупування активованої форми карбоксильної групи; показано, що достатньо ефективною протидією такій взаємодії є проведення реакції в дихлорметані;

• Показано, що фосфоровмісні поліестери, що отримані в межах даної роботи, здатні до утворення самостабілізованих водних дисперсій з частинками дисперсної фази з діаметром від 10 до 350 нм в залежності від складу поліестеру, концентрації дисперсної фази та температури дисперсії. Порівнюючи з відповідними аналогами, що не містять фосфоровмісних груп, можна стверджувати, що етилфосфатна група знижує стабілізаційну здатність системи, фосфатна група, в противагу, підвищує цю здатність;

- Показано, що основним стабілізуючим фактором самостабілізованих дисперсій є структурно-механічний бар'єр, який формується за рахунок гідратованих ланцюгів поліоксиетиленових фрагментів; але введення в них фосфатних груп призводить до додаткової стабілізації через формування елементів подвійного електричного шару.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Vega-Vásquez, P., Mosier, N. S., & Irudayaraj, J. (2020). Nanoscale drug delivery systems: From medicine to agriculture. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 79. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00079>.
2. Felice, B., Prabhakaran, M. P., Rodriguez, A. P., & Ramakrishna, S. (2014). Drug delivery vehicles on a nano-engineering perspective. *Materials Science and Engineering: C*, 41, 178-195. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.04.049>.
3. Foucquier, J., & Guedj, M. (2015). Analysis of drug combinations: current methodological landscape. *Pharmacology research & perspectives*, 3(3), e00149. <https://doi.org/10.1002/prp2.149>.
4. Choudhury, S. R., Ordaz, J., Lo, C. L., Damayanti, N. P., Zhou, F., & Irudayaraj, J. (2017). From the cover: zinc oxide nanoparticles-induced reactive oxygen species promotes multimodal cyto-and epigenetic toxicity. *Toxicological Sciences*, 156(1), 261-274. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfw252>.
5. Hoffman, A. S. (2008). The origins and evolution of “controlled” drug delivery systems. *Journal of controlled release*, 132(3), 153-163. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.08.012>.
6. Panchapakesan, B., Book-Newell, B., Sethu, P., Rao, M., & Irudayaraj, J. (2011). Gold nanoprobos for theranostics. *Nanomedicine*, 6(10), 1787-1811. <https://doi.org/10.2217/nnm.11.155>.
7. Wang, Y., Newell, B. B., & Irudayaraj, J. (2012). Folic acid protected silver nanocarriers for targeted drug delivery. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 8(5), 751-759. <https://doi.org/10.1166/jbn.2012.1437>.
8. Tinkle, S., McNeil, S. E., Mühlebach, S., Bawa, R., Borchard, G., Barenholz, Y., ... & Desai, N. (2014). Nanomedicines: addressing the scientific and regulatory gap. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1313(1), 35-56. <https://doi.org/10.1111/nyas.12403>.
9. Jain, K. K. (2020). Role of nanobiotechnology in drug delivery. *Drug Delivery Systems*, 55-73. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9798-5_2.
10. Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., Rodriguez-Torres, M. D. P., Acosta-Torres, L. S., ... & Shin, H. S. (2018). Nano based drug delivery systems: recent

developments and future prospects. *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 1-33. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8>.

11. Vega-Vásquez, P., Mosier, N. S., & Irudayaraj, J. (2020). Nanoscale drug delivery systems: From medicine to agriculture. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 79. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00079>.

12. Miyata, K., Christie, R. J., & Kataoka, K. (2011). Polymeric micelles for nano-scale drug delivery. *Reactive and Functional Polymers*, 71(3), 227-234. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2010.10.009>.

13. Xu, W., Ling, P., & Zhang, T. (2013). Polymeric micelles, a promising drug delivery system to enhance bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Journal of Drug Delivery*, 2013, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2013/340315>.

14. Devarajan, P. V., & Jain, S. (2015). *Targeted drug delivery: Concepts and design*. (p. 286). Springer International Publishing.

15. Pavlič, J. I., Mareš, T., Bešter, J., Janša, V., Daniel, M., & Iglič, A. (2009). Encapsulation of small spherical liposome into larger flaccid liposome induced by human plasma proteins. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 12(2), 147-150. <https://doi.org/10.1080/10255840802560326>.

16. Joo, K. I., Xiao, L., Liu, S., Liu, Y., Lee, C. L., Conti, P. S., ... & Wang, P. (2013). Crosslinked multilamellar liposomes for controlled delivery of anticancer drugs. *Biomaterials*, 34(12), 3098-3109. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.039>.

17. Vabbilisetty, P., & Sun, X. L. (2014). Liposome surface functionalization based on different anchoring lipids via Staudinger ligation. *Organic & biomolecular chemistry*, 12(8), 1237-1244. <https://doi.org/10.1039/c3ob41721b>.

18. Ashaolu, T. J. (2021). Nanoemulsions for health, food, and cosmetics: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(4), 3381-3395. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01216-9>.

19. Bozzuto, G., & Molinari, A. (2015). Liposomes as nanomedical devices. *International journal of nanomedicine*, 10, 975–999. <https://doi.org/10.2147/IJN.S68861>.

20. Nishitani Yukuyama, M., Tomiko Myiake Kato, E., Lobenberg, R., & Araci Bou-Chacra, N. (2017). Challenges and future prospects of nanoemulsion as a drug delivery

- system. *Current pharmaceutical design*, 23(3), 495-508.
<https://doi.org/10.2174/1381612822666161027111957>
21. Donsì, F. (2018). Applications of nanoemulsions in foods. *Nanoemulsions*, 349–377.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811838-2.00011-4>.
22. Safari, J., & Zarnegar, Z. (2014). Advanced Drug Delivery Systems: Nanotechnology of health design a review. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(2), 85–99.
<https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.12.009>.
23. Markowicz-Piasecka, M., & Mikiciuk-Olasik, E. (2016). Dendrimers in drug delivery. *Nanobiomaterials in Drug Delivery*, 39–74. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-42866-8.00002-2>.
24. Tsai, H.-C., & Imae, T. (2011). Fabrication of dendrimers toward Biological Application. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 101–140.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-416020-0.00003-6>.
25. Palmerston Mendes, L., Pan, J., & Torchilin, V. (2017). Dendrimers as nanocarriers for nucleic acid and drug delivery in cancer therapy. *Molecules*, 22(9), 1401.
<https://doi.org/10.3390/molecules22091401>.
26. Ficker, M., Paolucci, V., & Christensen, J. B. (2017). Improved large-scale synthesis and characterization of small and medium generation Pamam Dendrimers. *Canadian Journal of Chemistry*, 95(9), 954–964. <https://doi.org/10.1139/cjc-2017-0108>.
27. Padhye, S. G., & Nagarsenker, M. S. (2013). Simvastatin solid lipid nanoparticles for oral delivery: formulation development and in vivo evaluation. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 75(5), 591. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.122883>.
28. Song, C., & Liu, S. (2005). A new healthy sunscreen system for human: Solid lipid nanoparticles as carrier for 3, 4, 5-trimethoxybenzoylchitin and the improvement by adding Vitamin E. *International journal of biological macromolecules*, 36(1-2), 116-119.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2005.05.003>.
29. Oehlke, K., Behsnilian, D., Mayer-Miebach, E., Weidler, P. G., & Greiner, R. (2017). Edible solid lipid nanoparticles (SLN) as carrier system for antioxidants of different lipophilicity. *PloS one*, 12(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171662>.

30. Piran, P., Kafil, H. S., Ghanbarzadeh, S., Safdari, R., & Hamishehkar, H. (2017). Formulation of menthol-loaded nanostructured lipid carriers to enhance its antimicrobial activity for food preservation. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 7(2), 261–268. <https://doi.org/10.15171/apb.2017.031>.
31. Eltayeb, M., Bakhshi, P. K., Stride, E., & Edirisinghe, M. (2013). Preparation of solid lipid nanoparticles containing active compound by electrohydrodynamic spraying. *Food Research International*, 53(1), 88–95. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.03.047>.
32. Kothamasu, P., Kanumur, H., Ravur, N., Maddu, C., Parasuramrajam, R., & Thangavel, S. (2012). Nanocapsules: the weapons for novel drug delivery systems. *BioImpacts: BI*, 2(2), 71-81. <https://doi.org/10.5681/bi.2012.011>.
33. Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 385(1-2), 113-142. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.10.018>.
34. Jaromin, A., Zarnowski, R., Piętka-Ottlik, M., Andes, D. R., & Gubernator, J. (2018). Topical delivery of ebselen encapsulated in biopolymeric nanocapsules: Drug repurposing enhanced antifungal activity. *Nanomedicine*, 13(10), 1139-1155. <https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0337>.
35. Granata, G., Stracquadanio, S., Leonardi, M., Napoli, E., Consoli, G. M. L., Cafiso, V., ... & Geraci, C. (2018). Essential oils encapsulated in polymer-based nanocapsules as potential candidates for application in food preservation. *Food Chemistry*, 269, 286-292. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.140>.
36. Slattery, M., Harper, B., & Harper, S. (2019). Pesticide encapsulation at the nanoscale drives changes to the hydrophobic partitioning and toxicity of an active ingredient. *Nanomaterials*, 9(1), 81. <https://doi.org/10.3390/nano9010081>.
37. Lohani, A., Verma, A., Joshi, H., Yadav, N., & Karki, N. (2014). Nanotechnology-based cosmeceuticals. *ISRN Dermatology*, 2014, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2014/843687>.
38. Guo, C., & Irudayaraj, J. (2011). Fluorescent AG clusters via a protein-directed approach as a Hg(II) Ion Sensor. *Analytical Chemistry*, 83(8), 2883–2889. <https://doi.org/10.1021/ac1032403>.

39. Kouassi, G. K., & Irudayaraj, J. (2006). Magnetic and gold-coated magnetic nanoparticles as a DNA sensor. *Analytical Chemistry*, 78(10), 3234–3241. <https://doi.org/10.1021/ac051621j>.
40. Wang, Y., Lee, K., & Irudayaraj, J. (2010). SERS aptasensor from nanorod–nanoparticle junction for protein detection. *Royal Society of Chemistry*, 46(4), 613–615. <https://doi.org/10.1039/b919607b>.
41. Wang, Y., & Irudayaraj, J. (2013). Surface-enhanced Raman spectroscopy at single-molecule scale and its implications in biology. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1611). <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0026>.
42. Majouga, A., Sokolsky-Papkov, M., Kuznetsov, A., Lebedev, D., Efremova, M., Beloglazkina, E., ... & Kabanov, A. (2015). Enzyme-functionalized gold-coated magnetite nanoparticles as novel hybrid nanomaterials: synthesis, purification and control of enzyme function by low-frequency magnetic field. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 125, 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.11.012>.
43. Kadam, U. S., Schulz, B., & Irudayaraj, J. M. (2017). Multiplex single-cell quantification of rare RNA transcripts from protoplasts in a model plant system. *The Plant Journal*, 90(6), 1187–1195. <https://doi.org/10.1111/tpj.13537>.
44. Ding, Y., Jiang, Z., Saha, K., Kim, C. S., Kim, S. T., Landis, R. F., & Rotello, V. M. (2014). Gold nanoparticles for nucleic acid delivery. *Molecular therapy*, 22(6), 1075–1083. <https://doi.org/10.1038/mt.2014.30>.
45. Xu, C., Lei, C., & Yu, C. (2019). Mesoporous silica nanoparticles for protein protection and delivery. *Frontiers in chemistry*, 7, 290. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00290>.
46. Perez, R. A., Singh, R. K., Kim, T. H., & Kim, H. W. (2017). Silica-based multifunctional nanodelivery systems toward regenerative medicine. *Materials Horizons*, 4(5), 772–799. <https://doi.org/10.1039/C7MH00017K>.
47. Shahbazi, M. A., Herranz, B., & Santos, H. A. (2012). Nanostructured porous Si-based nanoparticles for targeted drug delivery. *Biomatter*, 2(4), 296–312. <https://doi.org/10.4161/biom.22347>.

48. Iqbal, S., & Yun, J. I. (2018). Decontamination of radionuclides by functionalized mesoporous silica under gamma irradiation. *RSC advances*, 8(56), 32211-32220. <https://doi.org/10.1039/C8RA05939J>.
49. Shinde, P., Gupta, S. S., Singh, B., Polshettiwar, V., & Prasad, B. L. (2017). Amphifunctional mesoporous silica nanoparticles for dye separation. *Journal of Materials Chemistry A*, 5(28), 14914-14921. <https://doi.org/10.1039/C7TA03904B>.
50. Munz, D., Wang, D., Moyer, M. M., Webster-Gardiner, M. S., Kunal, P., Watts, D., ... & Gunnoe, T. B. (2016). Aerobic epoxidation of olefin by platinum catalysts supported on mesoporous silica nanoparticles. *ACS Catalysis*, 6(7), 4584-4593. <https://doi.org/10.1021/acscatal.6b01532>.
51. Ahmed, A., Myers, P., & Zhang, H. (2014). Synthesis of nanospheres-on-microsphere silica with tunable shell morphology and mesoporosity for improved HPLC. *Langmuir*, 30(41), 12190-12199. <https://doi.org/10.1021/la503015x>.
52. Wang, Y., Chen, J., & Irudayaraj, J. (2011). Nuclear targeting dynamics of gold nanoclusters for enhanced therapy of HER2+ breast cancer. *ACS nano*, 5(12), 9718-9725. <https://doi.org/10.1021/nn2032177>.
53. Junyaprasert, V. B., & Morakul, B. (2015). Nanocrystals for enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 10(1), 13-23. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.08.005>.
54. Madolia, H. (2013). Preparation and evaluation of stomach specific IPN hydrogels for Oral Drug Delivery: A Review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 3(2), 131-140. <https://doi.org/10.22270/jddt.v3i2.400>.
55. Caló, E., & Khutoryanskiy, V. V. (2015). Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European polymer journal*, 65, 252-267. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024>.
56. Perez, R. A., Singh, R. K., Kim, T. H., & Kim, H. W. (2017). Silica-based multifunctional nanodelivery systems toward regenerative medicine. *Materials Horizons*, 4(5), 772-799. <https://doi.org/10.1039/C7MH00017K>.
57. Malerba, M., & Cerana, R. (2016). Chitosan effects on plant systems. *International journal of molecular sciences*, 17(7), 996. <https://doi.org/10.3390/ijms17070996>.

58. Ekladios, I., Colson, Y. L., & Grinstaff, M. W. (2019). Polymer–drug conjugate therapeutics: advances, insights and prospects. *Nature reviews Drug discovery*, 18(4), 273-294. <https://doi.org/10.1038/s41573-018-0005-0>.
59. Liu, X., Fan, X., Jiang, L., Loh, X. J., Wu, Y. L., & Li, Z. (2018). Biodegradable polyester unimolecular systems as emerging materials for therapeutic applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(35), 5488-5498. <https://doi.org/10.1039/C8TB01883A>.
60. Yi, Y., Lin, G., Chen, S., Liu, J., Zhang, H., & Mi, P. (2018). Polyester micelles for drug delivery and cancer theranostics: Current achievements, progresses and future perspectives. *Materials Science and Engineering: C*, 83, 218-232. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.10.004>.
61. Espanol, L., Larrea, A., Andreu, V., Mendoza, G., Arruebo, M., Sebastian, V., ... & Santamaria, J. (2016). Dual encapsulation of hydrophobic and hydrophilic drugs in PLGA nanoparticles by a single-step method: drug delivery and cytotoxicity assays. *RSC advances*, 6(112), 111060-111069. <https://doi.org/10.1039/C6RA23620K>.
62. Tsuji, H. (2016). Poly (lactic acid) stereocomplexes: A decade of progress. *Advanced drug delivery reviews*, 107, 97-135. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.017>.
63. James, H. P., John, R., Alex, A., & Anoop, K. (2014). Smart polymers for the controlled delivery of drugs—a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(2), 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2014.02.005>.
64. Jäger, A., Gromadzki, D., Jäger, E., Giacomelli, F. C., Kozłowska, A., Kobera, L., ... & Štěpánek, P. (2012). Novel “soft” biodegradable nanoparticles prepared from aliphatic based monomers as a potential drug delivery system. *Soft Matter*, 8(16), 4343-4354. <https://doi.org/10.1039/C2SM07247E>.
65. Von Burkersroda, F., Schedl, L., & Göpferich, A. (2002). Why degradable polymers undergo surface erosion or bulk erosion. *Biomaterials*, 23(21), 4221-4231. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00170-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00170-9).
66. Liu, Q., Cai, C., & Dong, C.-M. (2009). Poly(L-Lactide)-B-poly(ethylene oxide) copolymers with different arms: Hydrophilicity, biodegradable nanoparticles, in vitro degradation, and drug-release behavior. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 88A(4), 990–999. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31945>.

67. Karavelidis, V., Karavas, E., Giliopoulos, D., Papadimitriou, S., & Bikiaris, D. (2011). Evaluating the effects of crystallinity in new biocompatible polyester nanocarriers on drug release behavior. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 3021-3032. <https://doi.org/10.2147/IJN.S26016>.
68. Patel, S. K., Lavasanifar, A., & Choi, P. (2009). Roles of nonpolar and polar intermolecular interactions in the improvement of the drug loading capacity of PEO-b-PCL with increasing PCL content for two hydrophobic cucurbitacin drugs. *Biomacromolecules*, 10(9), 2584-2591. <https://doi.org/10.1021/bm900512h>.
69. Washington, K. E., Kularatne, R. N., Karmegam, V., Biewer, M. C., & Stefan, M. C. (2017). Recent advances in aliphatic polyesters for drug delivery applications. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 9(4). <https://doi.org/10.1002/wnan.1446>.
70. Qiao, Z. Y., Qiao, S. L., Fan, G., Fan, Y. S., Chen, Y., & Wang, H. (2014). One-pot synthesis of pH-sensitive poly (RGD-co- β -amino ester) s for targeted intracellular drug delivery. *Polymer Chemistry*, 5(3), 844-853. <https://doi.org/10.1039/C3PY01117H>.
71. Yi, Y., Lin, G., Chen, S., Liu, J., Zhang, H., & Mi, P. (2018). Polyester micelles for drug delivery and cancer theranostics: Current achievements, progresses and future perspectives. *Materials Science and Engineering: C*, 83, 218-232. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.10.004>.
72. Honglawan, A., Ni, H., Weissman, D., & Yang, S. (2013). Synthesis of random copolymer based pH-responsive nanoparticles as drug carriers for cancer therapeutics. *Polymer Chemistry*, 4(13), 3667-3675. <https://doi.org/10.1039/C3PY00390F>.
73. Gillies, E. R., & Fréchet, J. M. (2005). pH-responsive copolymer assemblies for controlled release of doxorubicin. *Bioconjugate chemistry*, 16(2), 361-368. <https://doi.org/10.1021/bc049851c>.
74. Tang, R., Palumbo, R. N., Ji, W., & Wang, C. (2009). Poly(ortho ester amides):acid-labile temperature-responsive copolymers for potential biomedical applications. *Biomacromolecules*, 10(4), 722-727. <https://doi.org/10.1021/bm9000475>.
75. Almutairi, A., Guillaudeu, S. J., Berezin, M. Y., Achilefu, S., & Fréchet, J. M. (2008). Biodegradable pH-sensing dendritic nanoprobe for near-infrared fluorescence lifetime and

- intensity imaging. *Journal of the American Chemical Society*, 130(2), 444-445. <https://doi.org/10.1021/ja078147e>.
76. Heller, J., & Barr, J. (2004). Poly (ortho esters) from concept to reality. *Biomacromolecules*, 5(5), 1625-1632. <https://doi.org/10.1021/bm040049n>.
77. Urbánek, T., Jäger, E., Jäger, A., & Hrubý, M. (2019). Selectively biodegradable polyesters: Nature-inspired construction materials for future biomedical applications. *Polymers*, 11(6), 1061. <https://doi.org/10.3390/polym11061061>.
78. Mutlu, H., Geiselhart, C. M., & Barner-Kowollik, C. (2018). Untapped potential for debonding on demand: the wonderful world of azo-compounds. *Materials Horizons*, 5(2), 162-183. <https://doi.org/10.1039/C7MH00920H>.
79. Coelho, P. J., Castro, M. C. R., Fernandes, S. S., Fonseca, A. M. C., & Raposo, M. M. M. (2012). Enhancement of the photochromic switching speed of bithiophene azo dyes. *Tetrahedron Letters*, 53(34), 4502-4506. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.05.166>.
80. Eom, T., Yoo, W., Kim, S., & Khan, A. (2018). Biologically activatable azobenzene polymers targeted at drug delivery and imaging applications. *Biomaterials*, 185, 333-347. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.09.020>.
81. Azevedo, H. S., Santos, T. C., & Reis, R. L. (2008). Controlling the degradation of natural polymers for biomedical applications. In *Natural-Based Polymers for Biomedical Applications* (pp. 106-128). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781845694814.1.106>.
82. Buchholz, V., Agarwal, S., & Greiner, A. (2016). Synthesis and enzymatic degradation of soft aliphatic polyesters. *Macromolecular Bioscience*, 16(2), 207-213. <https://doi.org/10.1002/mabi.201500279>.
83. Brulé, E., Robert, C., & Thomas, C. M. (2014). Sequence-controlled ring-opening polymerization: Synthesis of new polyester structures. In *Sequence-Controlled Polymers: Synthesis, Self-Assembly, and Properties* (pp. 349-368). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-2014-1170.ch023>.
84. Westheimer, F. H. (1987). Why nature chose phosphates. *Science*, 235(4793), 1173-1178. <https://doi.org/10.1126/science.2434996>.

85. Morrissey, J. H., Choi, S. H., & Smith, S. A. (2012). Polyphosphate: an ancient molecule that links platelets, coagulation, and inflammation. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 119(25), 5972-5979. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-03-306605>.
86. Brown, M. R., & Kornberg, A. (2004). Inorganic polyphosphate in the origin and survival of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(46), 16085-16087. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406909101>.
87. Krauss, G. (2008). *Biochemistry of signal transduction and regulation*. Wiley-VCH.
88. Steinbach, T., & Wurm, F. R. (2015). Poly(phosphoester)s: A new platform for degradable polymers. *Angewandte Chemie International Edition*, 54(21), 6098-6108. <https://doi.org/10.1002/anie.201500147>.
89. Baran, J., & Penczek, S. (1995). Hydrolysis of polyesters of phosphoric acid. 1. Kinetics and the pH profile. *Macromolecules*, 28(15), 5167-5176.
90. Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2005). *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan.
91. Metcalf, W. W., & Van Der Donk, W. A. (2009). Biosynthesis of phosphonic and phosphinic acid natural products. *Annual review of biochemistry*, 78, 65-94. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.091707.100215>.
92. Heilig, M. L. (1994). United States Patent Office. *ACM SIGGRAPH Computer Graphics*, 28(2), 131-134. <https://doi.org/10.1145/178951.178972>.
93. Bauer, K. N., Tee, H. T., Velencoso, M. M., & Wurm, F. R. (2017). Main-chain poly (phosphoester) s: History, syntheses, degradation, bio-and flame-retardant applications. *Progress in Polymer Science*, 73, 61-122. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2017.05.004>.
94. Penczek, S., & Libiszowski, J. (1988). Polymerization of 2-methoxy-2-oxo-1, 3, 2-dioxaphospholane. Kinetics and polymer microstructure. *Die Makromolekulare Chemie: Macromolecular Chemistry and Physics*, 189(8), 1765-1785. <https://doi.org/10.1016/10.1002/macp.1988.021890803>.
95. Libiszowski, J., Kałużynski, K., & Penczek, S. (1978). Polymerization of cyclic esters of phosphoric acid. VI. Poly (alkyl ethylene phosphates). Polymerization of 2-alkoxy-2-

- oxo-1, 3, 2-dioxaphospholans and structure of polymers. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*, 16(6), 1275-1283. <https://doi.org/10.1016/10.1002/pol.1978.170160610>.
96. Penczek, S. (1977). Polymerization of cyclic esters of phosphoric acid. In *Polymerization of Heterocycles (Ring Opening)* (pp. 363-371). Pergamon.
97. Pelosi, C., Tinè, M. R., & Wurm, F. R. (2020). Main-chain water-soluble polyphosphoesters: Multi-functional polymers as degradable PEG-alternatives for biomedical applications. *European polymer journal*, 141. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.110079>.
98. Troev, K. D. (2012). *Polyphosphoesters: chemistry and application*. Elsevier.
99. Wang, Y. C., Yuan, Y. Y., Du, J. Z., Yang, X. Z., & Wang, J. (2009). Recent progress in polyphosphoesters: from controlled synthesis to biomedical applications. *Macromolecular Bioscience*, 9(12), 1154-1164. <https://doi.org/10.1002/mabi.200900253>.
100. Derouet, D., Piatti, T., & Brosse, J. C. (1986). Synthèse de polyesters phosphoriques supports de molécules actives—I. Étude de la synthèse de monomères du type phosphorodichloridate de o-alkyle (ou o-aryle) en vue de leur polycondensation avec les diols. *European polymer journal*, 22(12), 963-971. [https://doi.org/10.1016/0014-3057\(86\)90076-5](https://doi.org/10.1016/0014-3057(86)90076-5).
101. Munoz, A., Navech, J., VIVES, J., & MAJORAL, J. (1967). Some cyclic phosphoric esters. 2. Action of gaseous hydrochloric acid. *Bulletin de la societe chimique de france*, (9), 3343.
102. Pretula, J., Kaluzynski, K., Wisniewski, B., Szymanski, R., Loontjens, T., & Penczek, S. (2006). H₃PO₄ in a Direct Synthesis of Oligo–Poly (ethylene phosphate) from Ethylene Glycol. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 44(7), 2358-2362. <https://doi.org/10.1002/pola.21332>.
103. Wan, A. C., Mao, H. Q., Wang, S., Leong, K. W., Ong, L. K., & Yu, H. (2001). Fabrication of poly (phosphoester) nerve guides by immersion precipitation and the control of porosity. *Biomaterials*, 22(10), 1147-1156. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00355-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00355-0).

104. Xu, X., Yu, H., Gao, S., Mao, H. Q., Leong, K. W., & Wang, S. (2002). Polyphosphoester microspheres for sustained release of biologically active nerve growth factor. *Biomaterials*, 23(17), 3765-3772. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00116-3](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00116-3).
105. Chaubal, M. V., Su, G., Spicer, E., Dang, W., Branham, K. E., English, J. P., & Zhao, Z. (2003). In vitro and in vivo degradation studies of a novel linear copolymer of lactide and ethylphosphate. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 14(1), 45-61. <https://doi.org/10.1163/15685620360511137>.
106. Minegishi, S., Tsuchida, S., Sasaki, M., Kameyama, A., Kudo, H., & Nishikubo, T. (2002). Synthesis of polyphosphonates containing pendant chloromethyl groups by the polyaddition of bis (oxetane) s with phosphonic dichlorides. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 40(21), 3835-3846. <https://doi.org/10.1002/pola.10436>.
107. Penczek, S., Kaluzynski, K., & Pretula, J. (2007). Addition of H₃PO₄ to diglycidyl ethers of bisphenol A: Kinetics and product structure. *Journal of applied polymer science*, 105(1), 246-254. <https://doi.org/10.1002/app.26087>.
108. Biedron, T., Kaluzynski, K., Pretula, J., Kubisa, P., Penczek, S., & Loontjens, T. (2001). Synthesis of high molar mass poly (alkylene phosphate) s by polyaddition of diepoxides to difunctional phosphoric acids: Unusual elimination of the side reactions. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 39(17), 3024-3033. <https://doi.org/10.1002/pola.1283>.
109. Liaw, D. J. (1997). Synthesis of polyphosphates by the polyaddition of bisphenol-S diglycidyl ether and aryl phosphorodichloridates. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 35(12), 2365-2369. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-0518\(19970915\)35:12<2365::aid-pola5>3.0.co;2-u](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-0518(19970915)35:12<2365::aid-pola5>3.0.co;2-u).
110. Iwasaki, Y., & Yamaguchi, E. (2010). Synthesis of well-defined thermoresponsive polyphosphoester macroinitiators using organocatalysts. *Macromolecules (Print)*, 43(6), 2664-2666.
111. Wen, J., & Zhuo, R. X. (1998). Enzyme-catalyzed ring-opening polymerization of ethylene isopropyl phosphate. *Macromolecular rapid communications*, 19(12), 641-642. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3927\(19981201\)19:12<641::AID-ARC641>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3927(19981201)19:12<641::AID-ARC641>3.0.CO;2-I).

112. Wang, Y. C., Yuan, Y. Y., Du, J. Z., Yang, X. Z., & Wang, J. (2009). Recent progress in polyphosphoesters: from controlled synthesis to biomedical applications. *Macromolecular bioscience*, 9(12), 1154-1164. <https://doi.org/10.1002/mabi.200900253>.
113. Libiszowski, J., Kałużynski, K., & Penczek, S. (1978). Polymerization of cyclic esters of phosphoric acid. VI. Poly (alkyl ethylene phosphates). Polymerization of 2-alkoxy-2-oxo-1, 3, 2-dioxaphospholans and structure of polymers. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*, 16(6), 1275-1283. <https://doi.org/10.1002/pol.1978.170160610>.
114. Xiao, C. S., Wang, Y. C., Du, J. Z., Chen, X. S., & Wang, J. (2006). Kinetics and mechanism of 2-ethoxy-2-oxo-1, 3, 2-dioxaphospholane polymerization initiated by stannous octoate. *Macromolecules*, 39(20), 6825-6831. <https://doi.org/10.1021/ma0615396>.
115. Zhang, J., Xie, Z., Zhang, J., Tang, Y., Song, C., Navessin, T., ... & Holdcroft, S. (2006). High temperature PEM fuel cells. *Journal of power Sources*, 160(2), 872-891. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2006.05.034>.
116. Zhu, Y., Chen, H., & He, C. (2011). Novel fluorinated polymers bearing phosphonated side chains: synthesis, characterization and properties. *Journal of polymer research*, 18(6), 1409-1416. <https://doi.org/10.1007/s10965-010-9545-7>.
117. Yamabe, M., Akiyama, K., Akatsuka, Y., & Kato, M. (2000). Novel phosphonated perfluorocarbon polymers. *European polymer journal*, 36(5), 1035-1041. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(99\)00158-5](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(99)00158-5).
118. Azevedo, H. S., & Reis, R. L. (2005). Understanding the enzymatic degradation of biodegradable polymers and strategies to control their degradation rate.
119. The International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). "Compendium of Chemical Terminology." *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology*, <https://doi.org/10.1351/goldbook>.
120. Vert, M., Doi, Y., Hellwich, K. H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., ... & Schué, F. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, 84(2), 377-410. <https://doi.org/10.1351/PAC-REC-10-12-04>.

121. Bastioli, C. (Ed.). (2020). *Handbook of biodegradable polymers*. Walter de Gruyter GmbH & Co KG.
122. Baran, J., & Penczek, S. (1995). Hydrolysis of polyesters of phosphoric acid. 1. Kinetics and the pH profile. *Macromolecules*, 28(15), 5167-5176. <https://doi.org/10.1021/ma00119a002>.
123. Wang, F., Wang, Y. C., Yan, L. F., & Wang, J. (2009). Biodegradable vesicular nanocarriers based on poly (ϵ -caprolactone)-block-poly (ethyl ethylene phosphate) for drug delivery. *Polymer*, 50(21), 5048-5054. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2009.09.007>.
124. Wang, F., Wang, Y. C., Yan, L. F., & Wang, J. (2009). Biodegradable vesicular nanocarriers based on poly (ϵ -caprolactone)-block-poly (ethyl ethylene phosphate) for drug delivery. *Polymer*, 50(21), 5048-5054. <https://doi.org/10.1039/c3py00419h>.
125. Tanaka, K., Kitamura, N., & Chujo, Y. (2010). Biodegradable main-chain phosphate-caged fluorescein polymers for the evaluation of enzymatic activity. *Macromolecules*, 43(14), 6180-6184. <https://doi.org/10.1021/ma1009066>.
126. Yao, M., Ma, Y., Liu, H., Khan, M. I., Shen, S., Li, S., ... & Wang, Y. (2018). Enzyme degradable hyperbranched polyphosphoester micellar nanomedicines for NIR imaging-guided chemo-photothermal therapy of drug-resistant cancers. *Biomacromolecules*, 19(4), 1130-1141. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01793>.
127. Xiang, D. F., Bigley, A. N., Ren, Z., Xue, H., Hull, K. G., Romo, D., & Raushel, F. M. (2015). Interrogation of the substrate profile and catalytic properties of the phosphotriesterase from *Sphingobium* sp. strain TCM1: an enzyme capable of hydrolyzing organophosphate flame retardants and plasticizers. *Biochemistry*, 54(51), 7539-7549. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b01144>.
128. Wang, F., Wang, Y. C., Yan, L. F., & Wang, J. (2009). Biodegradable vesicular nanocarriers based on poly (ϵ -caprolactone)-block-poly (ethyl ethylene phosphate) for drug delivery. *Polymer*, 50(21), 5048-5054. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2009.09.007>.
129. Zhai, X., Huang, W., Liu, J., Pang, Y., Zhu, X., Zhou, Y., & Yan, D. (2011). Micelles from amphiphilic block copolyphosphates for drug delivery. *Macromolecular bioscience*, 11(11), 1603-1610. <https://doi.org/10.1002/mabi.201100163>.

130. Varvarenko, S., Tarnavchyk, I., Voronov, A., Fihurka, N., Dron, I., Nosova, N., . . . Voronov, S. (2013). Synthesis and colloidal properties of polyesters based on glutamic acids and glycols of different nature. *Chemistry and Chemical Technology*, 7(2), 161-168. <https://doi.org/10.23939/chcht07.02.161>.
131. Gohil, S. V., Suhail, S., Rose, J., Vella, T., & Nair, L. S. (2017). Polymers and composites for orthopedic applications. In *Materials for Bone Disorders* (pp. 349-403). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802792-9.00008-2>.
132. Karahan, M. (Ed.). (2021). *Synthetic Peptide Vaccine Models: Design, Synthesis, Purification and Characterization*. CRC Press.
133. Lee, R. S., & Yang, J. M. (2001). Pseudopoly (amino acid) s: Copolymerization of trans-4-hydroxy-l-proline and α -hydroxy acids. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 39(5), 724-731. [https://doi.org/10.1002/1099-0518\(20010301\)39:53.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/1099-0518(20010301)39:53.0.CO;2-N).
134. Patra, S., Singh, M., Pareek, D., Wasnik, K., Gupta, P. S., & Paik, P. (2022). Advances in the development of biodegradable polymeric materials for biomedical applications. *Encyclopedia of Materials: Plastics and Polymers*, 532–566. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820352-1.00129-2>.
135. Варваренко, С. М., Носова, Н. Г., Дронь, І. А., Воронов, А. С., Фігурка, Н. В., Тарнавчик, І. Т., ... & Воронов, С. А. (2013). Нові амфіфільні амінофункційні поліестери та дисперсні системи на їх основі. *Вопросы химии и химической технологии*, (5), 27-32.
136. Варваренко, С. М. (2014). *Амінофункційні поліестери природніх двоосновних амінокислот і поліетердіолів*. (Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня доктора хімічних наук). Національний університет «Львівська політехніка», Львів.
137. Фігурка, Н. В. (2013). *Поверхнево-активні псевдо-полі(амінокислоти) на основі дикарбонових α -амінокислот та їх колоїдно-хімічні властивості*. (Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук). Національний університет «Львівська політехніка», Львів.
138. Тарас Р. С. (2016). *Синтез псевдополіамінокислот розгалуженої будови та формування водних нанорозмірних дисперсій*. (Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук). Національний університет «Львівська політехніка», Львів.

139. Нагорняк М. І. (2017). *Синтез та дослідження властивостей поліестерів на основі T-похідних глутамінової кислоти та полісахаридів*. (Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня кандидати хімічних наук). Національний університет «Львівська політехніка», Львів.
140. Яковів, М. В. (2019). *Амфіфільні флуоресцеїновмісні кополіестери N-похідних глутамінової кислоти одержані за реакцією Стегліха*. (Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня кандидати хімічних наук). Національний університет «Львівська політехніка», Львів.
141. Варваренко, С. М., Носова, Н. Г., Тарас, Р. С., Вострес, В. Б., Самарик, В. Я., & Воронов, С. А. (2013). Поліестери N-стеарил глутамінової кислоти та діолів для створення самостабілізованих дисперсних систем. *Вісник Національного університету Львівська політехніка. Хімія, технологія речовин та їх застосування*, (761), 392-397.
142. Варваренко, С. М., Фігурка, Н. В., Самарик, В. Я., Воронов, А. С., Гарнавчик, І. Т., Дронь, І. А., ... & Воронов, С. А. (2013). Нові амфіфільні поліестери псевдополіамінокислоти на основі природних двоосновних амінокислот і діолів, отримані реакцією естерифікації Стегліха. *Полімерний журнал*, (35, №3), 282-290.
143. Nagornyak, M., Figurka, N., Samaryk, V., Varvarenko, S., Ferens, M., & Oleksa, V. (2016). Modification of polysaccharides by N-derivatives of glutamic acid using Steglich reaction. *Chemistry & Chemical Technology*, (10, №4), 423-428.
144. Ференс, М. В., Носова, Н. Г., Фігурка, Н. В., Варваренко, С. М., Кір'янчук, В. Ф., & Воронов, С. А. (2015). Флуоресцеїновмісні кополіестери глутамінової кислоти та поліетердіолів. *Вісник Національного університету Львівська політехніка. Хімія, технологія речовин та їх застосування*, (812), 443-448.
145. Varvarenko, S. M., Ferens, M. V., Samaryk, V. Y., Nosova, N. G., Fihurka, N. V., Ostapiv, D. D., & Voronov, S. A. (2018). Synthesis of copolyesters of fluorescein and 2-(dodecanamino) pentanedionic acid via steglich reaction. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*, 2, 5-15.
146. Нагорняк, М. І., Олекса, В. В., Винницька, С. І., Дронь, І. А., Чех, Б. О., Самарик, В. Я., & Варваренко, С. М. (2018). Синтез і дослідження полісахаридів, модифікованих за реакцією Стегліха. *Вопросы химии и химической технологии*, (3), 37-43.

147. Yakoviv, M. V., Varvarenko, S. M., Samaryk, V. Y., Nosova, N. G., Fihurka, N. V., Maikovych, O. V., ... & Voronov, S. A. (2020). Peculiarities of the molecular weight distribution of fluorescein-containing copolyesters synthesized by the steglich reaction. *Journal of Chemistry and Technologies*, 28(1), 10-16. <https://doi.org/10.15421/082002>.
148. Albert, J. S., & Hamilton, A. D. (2001). 1, 3-Dicyclohexylcarbodiimide–4-Dimethylaminopyridine. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, 1–9. <https://doi.org/10.1002/047084289X.rd146.pub3>
149. Стасюк, А. В., Дронь, І. А., Хом'як, С. В., Гевусь, О. І., & Самарик, В. Я. (2019). Синтез деяких фосфоровмісних похідних поліетиленгліколів. *Chemistry, Technology and Application of Substances*, 2 (2), 2019, (2), 18-24. <https://doi.org/10.23939/ctas2019.02.018>
150. Stasiuk, A., Fihurka, N., Vlizlo, V., Prychak, S., Ostapiv, D., Varvarenko, S., & Samaryk, V. (2022) Synthesis and properties of phosphorus-containing pseudo-poly(amino acid)s of polyester type based on N-derivatives of glutaminic acid. *Chemistry & Chemical Technology*, 16(1), 51-58. <https://doi.org/10.23939/chcht16.01.051>.
151. Оудіан, Дж. (1974). *Основи хімії полімерів*. Мир.
152. Bauer, K. N., Tee, H. T., Velencoso, M. M., & Wurm, F. R. (2017). Main-chain poly(phosphoester) s: History, syntheses, degradation, bio- and flame-retardant applications. *Progress in Polymer Science*, 73, 61-122. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2017.05.004>.
153. Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 33(3), 300–305. https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15.
154. Lima, L.M., Silva, B.N., Barbosa, G., & Barreiro, E.J. (2020). β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *European journal of medicinal chemistry*, 208, 112829 . <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112829>.
155. Akhavan, B. J., Khanna, N. R., & Vijhani, P. (2022). *Amoxicillin*. In StatPearls. StatPearls Publishing.
156. Feitosa, R. C., Ishikawa, E. S. A., da Silva, M. F. A., da Silva-Júnior, A. A., & Oliveira-Nascimento, L. (2022). *Five decades of doxycycline: Does nanotechnology improve its properties?*. *International Journal of Pharmaceutics*, 121655.

157. Olszewska M. (2006). Mechanizm działania i zastosowanie oksytetracykliny w chorobach skóry [Oxytetracycline--mechanism of action and application in skin diseases]. *Wiadomosci lekarskie* (Warsaw, Poland: 1960), 59(11-12), 829–833.
158. Вайсберг, А., Проскауэр, Э., Риддин, Д., & Тупс, Э. (1958). *Органические растворители*. М. Иностранная литература.
159. Гордон, А., Форд, Э. (1976). *Спутник химика*. М. Мир.
160. Стасюк, А. В., Фігурка, Н. В., Дронь, І. А., Букартик, Н. М., Причак, С. П., Лях, В. І., Остапів, Д. Д., Носова, Н. Г., Варваренко, С. М., Влізло, В. В., Самарик, В. Я. (2021). Патент України на винахід № 124918 «Фосфоровмісні поліестеретери похідних двоосновних природних α -амінокислот та поліетиленгліколів». Бюл. № 49.
161. Белами, Л. [пер. с английского Акимов, В.М., Пентина, Ю.А., Тетерина, Ю.Г. под ред. Пентина, Ю.А.] (1963) *Инфракрасные спектры сложных молекул*. М. Издательство иностранной литературы.
162. Workman, J. (2001). *Handbook of Organic Compounds: Nir, Ir, Raman, and Uv-vis spectra featuring polymers and surfactants*. vol. 2, Uv-vis and Nir Spectra. Academic Press.
163. Казицына, Л.А., Куплетская, Н.Б.(1971). *Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии*. М.: Высшая школа.
164. Рафиков, С.Р., Будтов, В.П., Монаков, Ю.Б. (1978). *Введение в физико-химию растворов полимеров*. М.: Мир.
165. Торопцева, А. М., Белгородская, К. В., Бондаренко, В. М. *Лабораторный практикум по химии и технологии высокомолекулярных соединений*. Л.: Химия.
166. Круглицкий, Н.Н. (1988). *Очерки по физико-химической механике* Киев: Наукова Думка.
167. Сиггиа, С., Ханна, Дж.Г. (1983). *Количественный органический анализ по функциональным группам*. Москва: Химия.
168. Чухрій, Б. М., Клевець, Л. О., Остапів, Д. Д., Чухрій Б. М. (1995). Колориметричний спосіб визначення активності сукцинатдегідрогенази в спермі бугаїв. *Вісник аграрної науки*, № 11, 73-76.
169. Плохинський, Н.А. (1970). *Биометрия*. М. МГУ.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

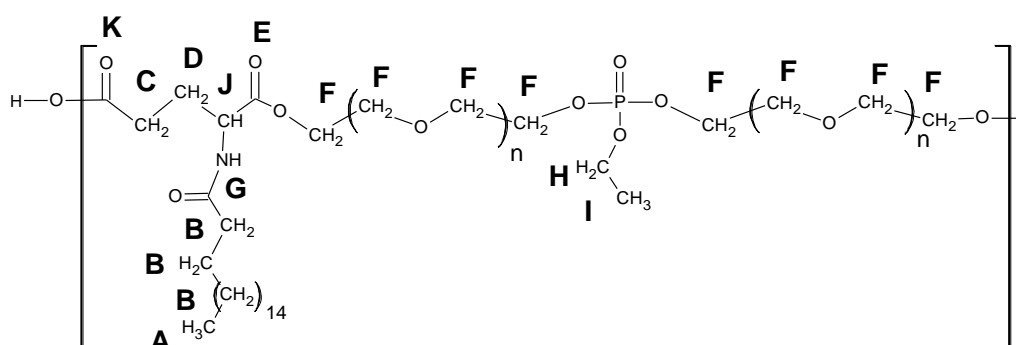
ПАТЕНТ НА ВИНАХІД



ДОДАТОК Б

Таблиця Б1

Віднесення сигналів ^{13}C NMR спектру протонів ЕФП на прикладі зразку AS-43
(табл. 2.2, поз. 3)



Позн .	Зсув, ppm	Тип	Віднесення	Фрагмент	Кількість протонів
A	14,38	c	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$	Steroyl	1
B	22,3; 24,9; 25,8; 27,3; 29,3; 31,7; 33,7; 36,4	c	$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	Steroyl	16
G	171,6	c	$-\text{NH}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-$	Steroyl	1
C	30,8	c	$\text{H}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$	Glu	1
D	31,4	c	$-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu	1
E	173,1	c	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu	1
J	51,7	c	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_2-$	Glu	1
K	173,3	c	$\text{H}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$	Glu	1
I	16,1	c	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-$	Ethyl	1
H	61,6	c	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-$	Ethyl	1
F	62,88- 78	c	$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-$	PEG	18

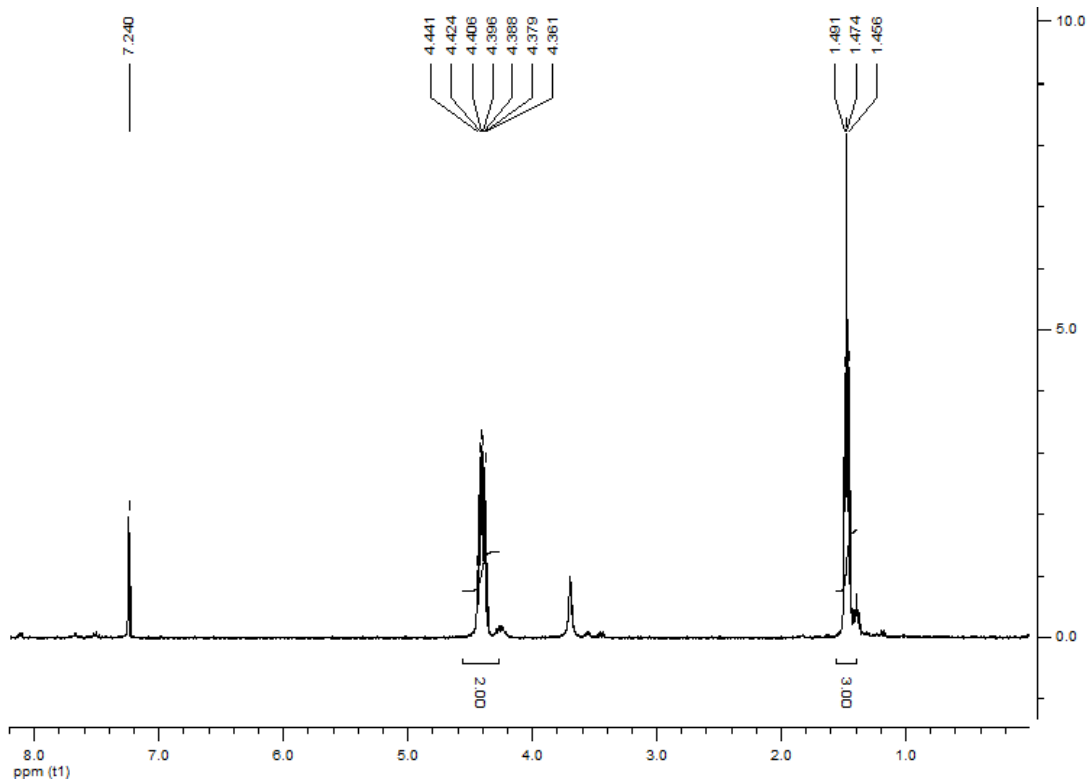


Рис. Б1 ¹H NMR спектр EDP (300 MHz, CDCl₃)

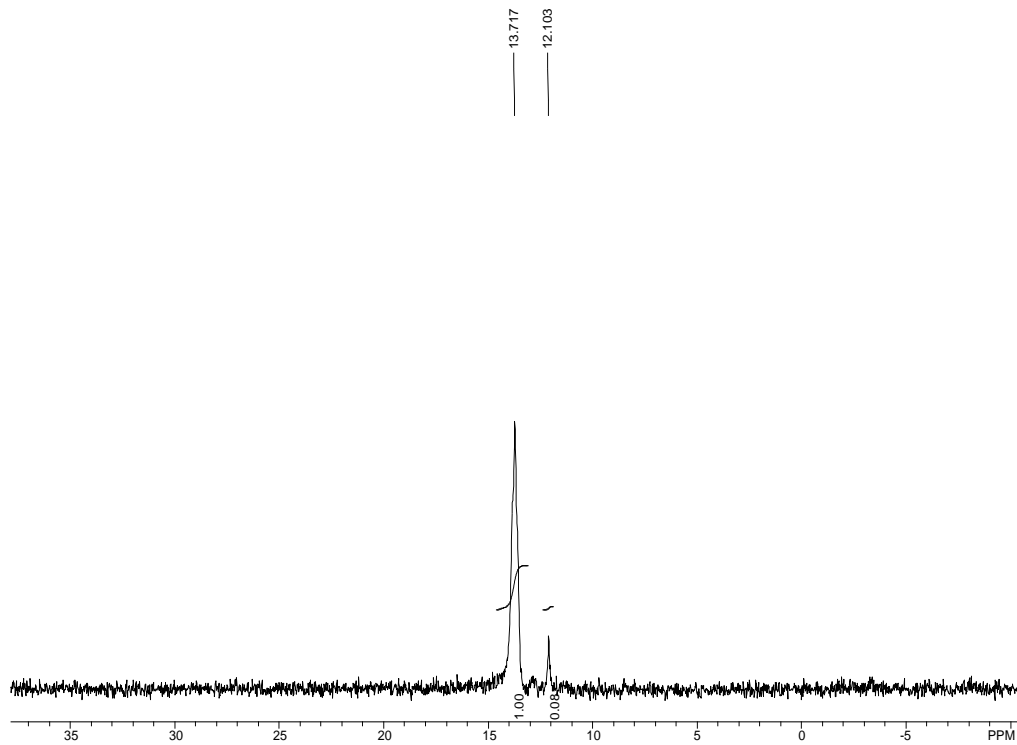


Рис. Б2 ³¹P NMR спектр EDP (300 MHz, CDCl₃)

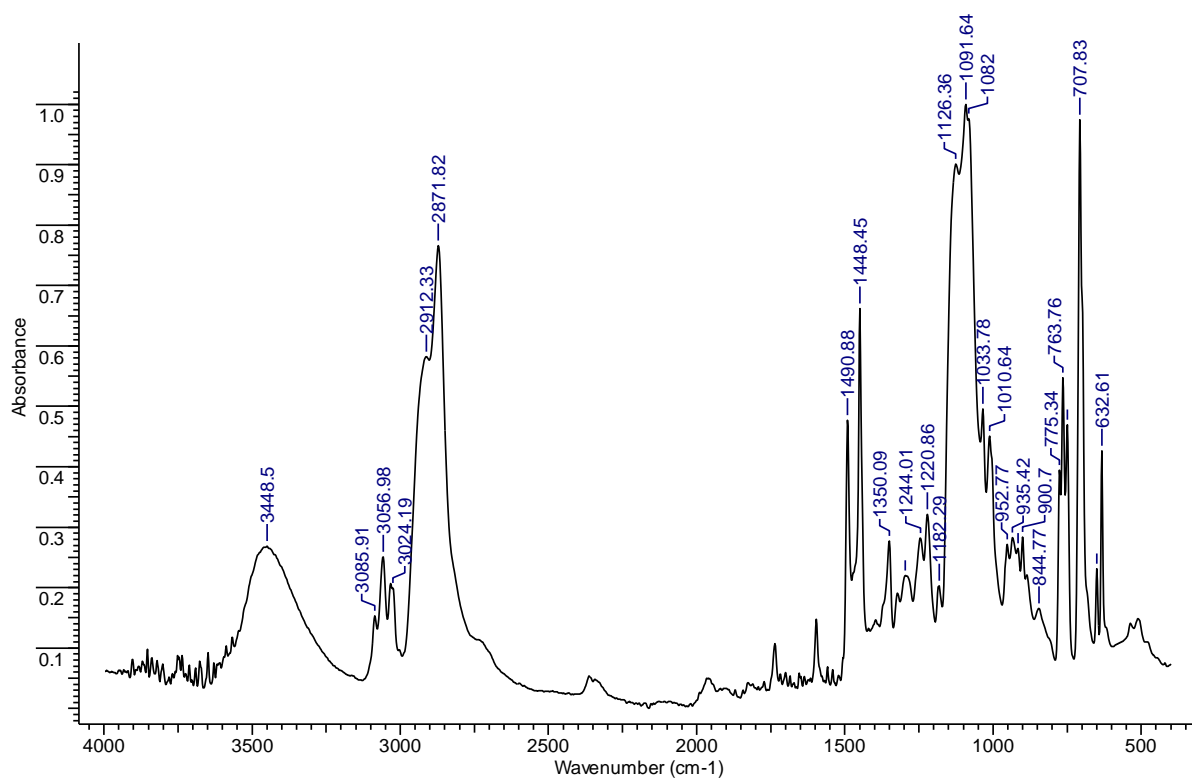


Рис. Б3 IR-спектр РЕГ-6-Tr

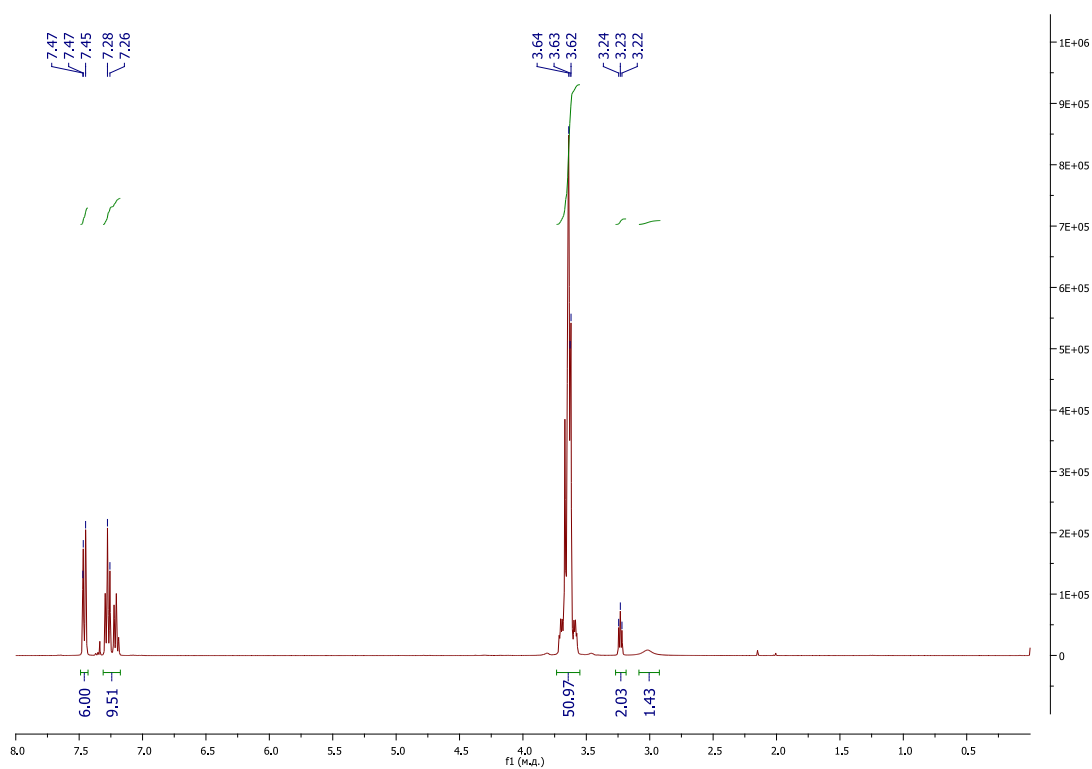


Рис. Б4 ¹H NMR спектр РЕГ-6-Tr

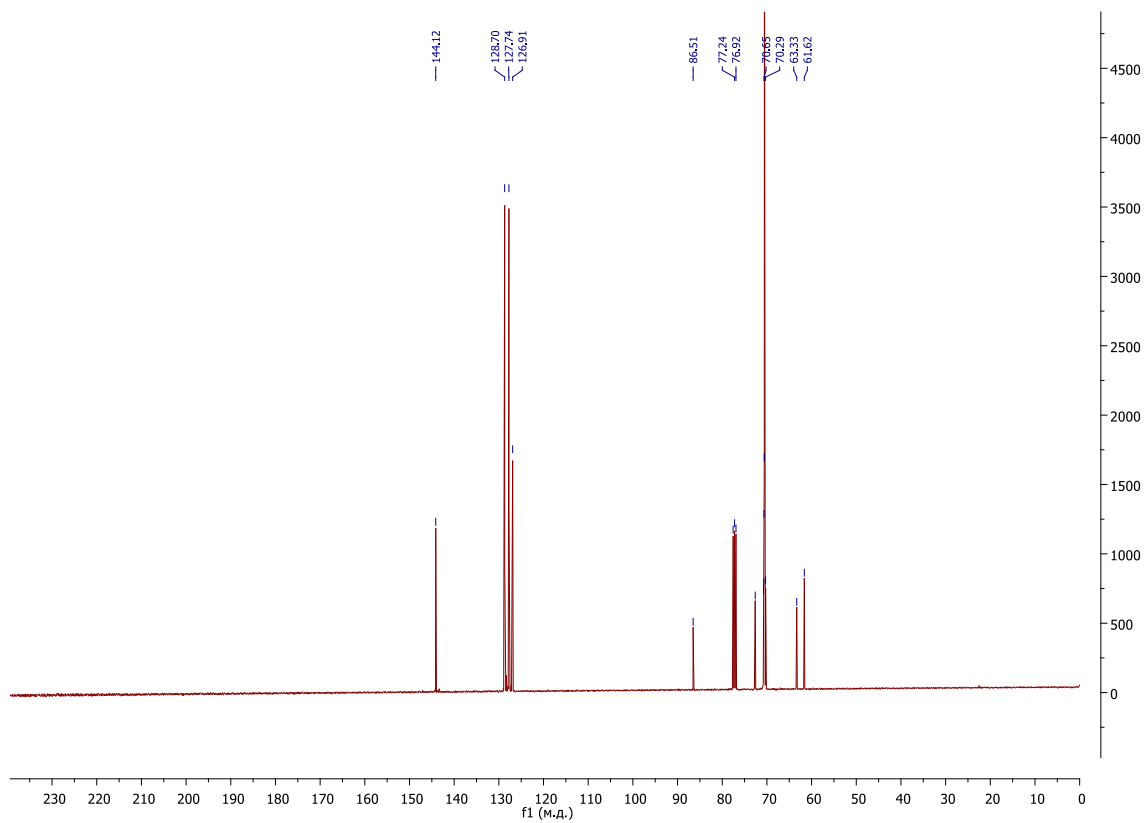


Рис. Б5 ¹³C NMR спектр PEG-6-Tr

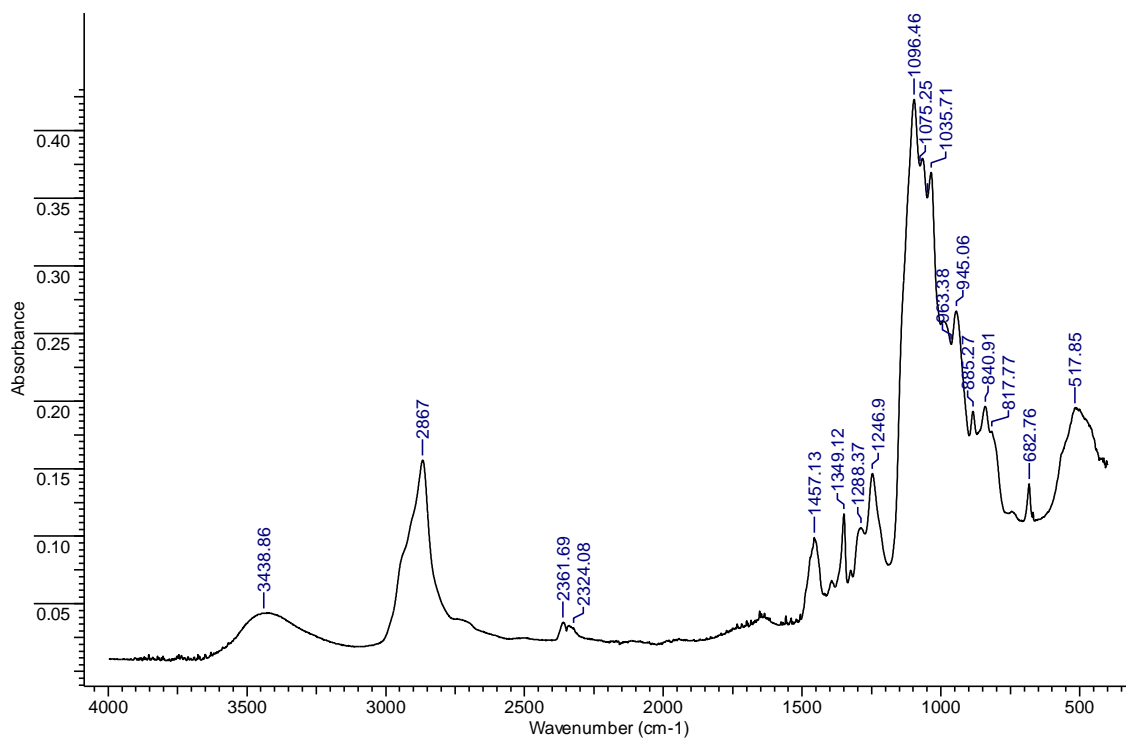


Рис. Б6 IR-спектр DEP-4

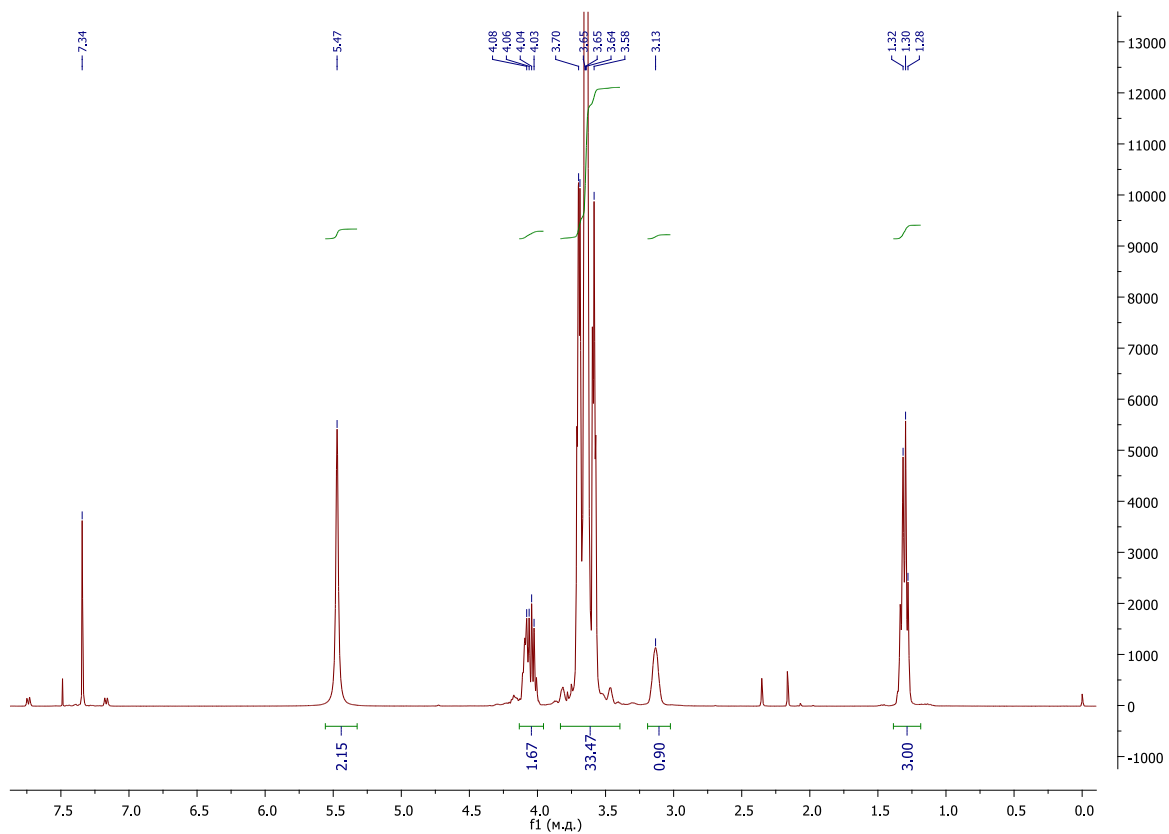


Рис. Б7 ^1H NMR спектр DEP-4

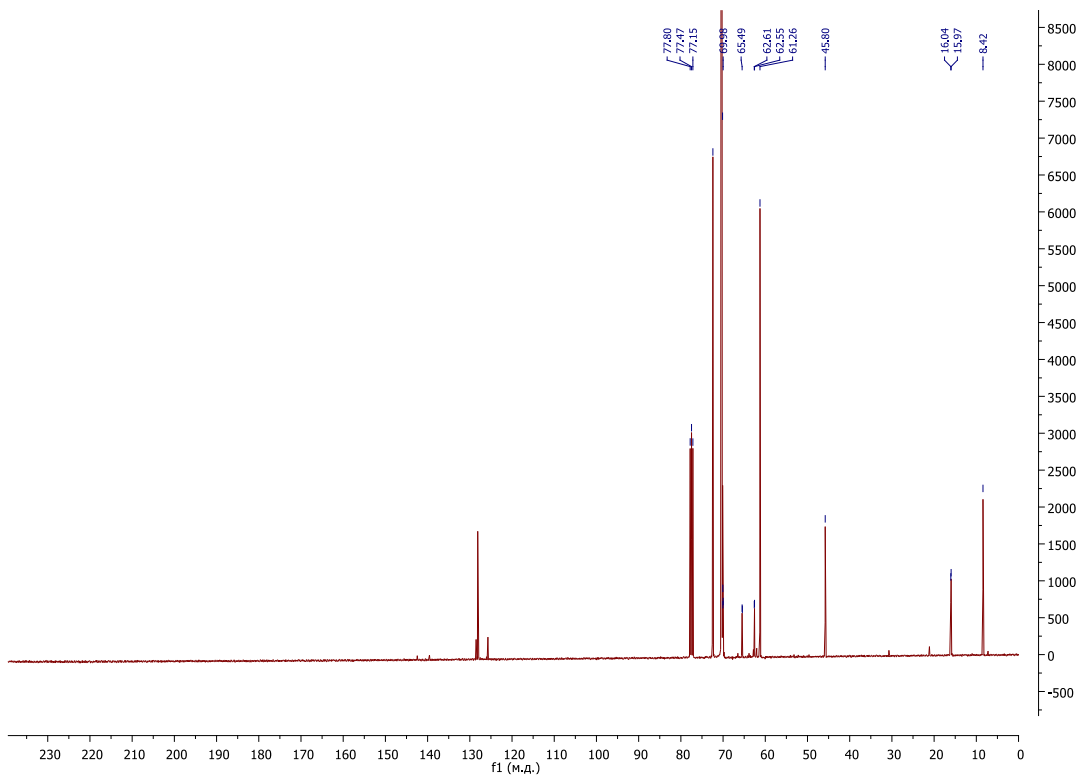


Рис. Б8 ^{13}C NMR спектр DEP-4

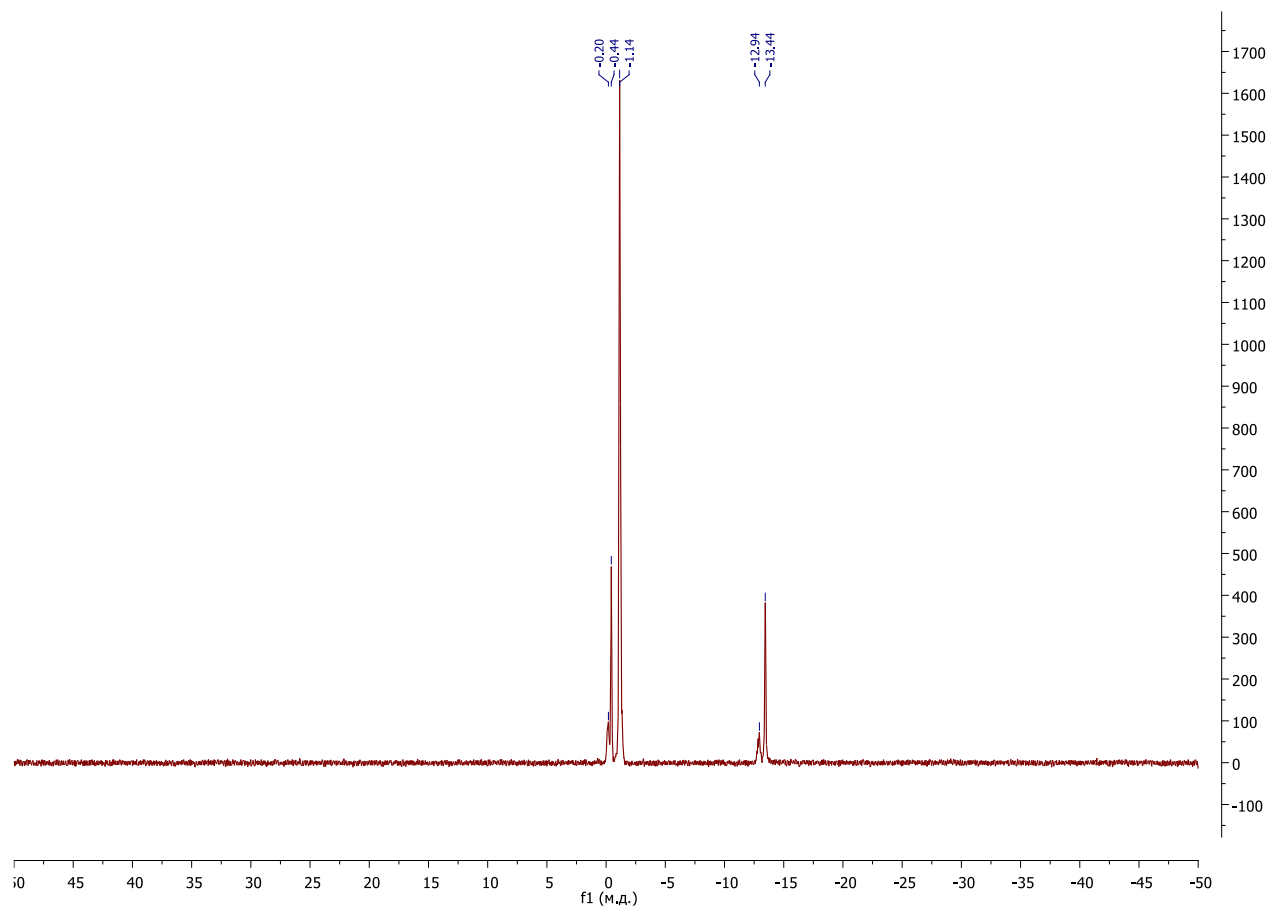


Рис.Б9 ^{31}P NMR спектр DEP-4