

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

ПАРЦЕВСЬКА СОФІЯ ВАСИЛІВНА

УДК 541.64:544.77.022.532:615.015.14

**БЛОК-КОПОЛІМЕРИ НА ОСНОВІ ПОЛІЕТИЛЕНОКСИДУ,  
ПОЛІКАПРОЛАКТОНУ І ПОЛІАКРИЛАМІДУ  
ТА ЇХ МІЦЕЛЯРНІ НАНОКОНТЕЙНЕРИ**

02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук

Дисертація на здобуття наукового ступеня  
кандидата хімічних наук

Науковий керівник:

**Желтоножська Тетяна Борисівна**  
доктор хімічних наук, професор

Київ – 2017

## ЗМІСТ

<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І СКОРОЧЕНЬ .....</b>	<b>5</b>
<b>ВСТУП.....</b>	<b>8</b>
<b>РОЗДІЛ 1</b>	
<b>БЛОК-КОПОЛІМЕРИ ТА МІЦЕЛЯРНІ СТРУКТУРИ НА ЇХ ОСНОВІ В КОНТЕКСТІ СТВОРЕННЯ ПОЛІМЕРНИХ НОСІЇВ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ (огляд літератури).....</b>	<b>15</b>
1.1 Особливості методів синтезу лінійних блок-кополімерів .....	16
1.2 Структура блок-кополімерів в блоці .....	27
1.3 Поведінка блок-кополімерів у розчинах та їх міцелярні структури.....	37
1.4 Перспективи використання міцелярних структур блок-кополімерів як наноконтейнерів для лікарських препаратів .....	46
<b>РОЗДІЛ 2</b>	
<b>ПРЕДМЕТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....</b>	<b>50</b>
2.1 Синтез триблок-кополімерів П <sub>AA</sub> - <i>b</i> -П <sub>EO</sub> - <i>b</i> -П <sub>AA</sub> .....	50
2.2 Гомополімеризація акриламідy .....	52
2.3 Синтез диблок- та триблок-кополімерів М <sub>OP</sub> Е <sub>O</sub> - <i>b</i> -П <sub>KL</sub> і П <sub>KL</sub> - <i>b</i> -П <sub>EO</sub> - <i>b</i> -П <sub>KL</sub> .....	52
2.4 Додаткові хімічні речовини і розчинники, використані в роботі .....	54
2.5 Дослідження кінетики полімеризації методом дилатометрії .....	56
2.6 Визначення будови і молекулярних параметрів ТБ <sub>K</sub> П <sub>AA</sub> , ДБ <sub>K</sub> П <sub>KL</sub> та ТБ <sub>K</sub> П <sub>KL</sub> методом ядерного магнітного резонансу .....	56
2.7 Дослідження блочної структури блок-кополімерів та продуктів взаємодії їх міцел з преднізолоном методом ДСК .....	58
2.8 Структурні дослідження блок-кополімерів та їх сумішей з преднізолоном методом WAXS .....	59

2.9 Дослідження процесів міцелоутворення в розчинах блок-кополімерів та їх сумішах з преднізолоном спектрофотометричним методом .....	60
2.10 Метод FTIR спектроскопії у дослідженні хімічної структури блок-кополімерів та природи їх зв'язків з лікарськими субстанціями .....	62
2.11 Визначення параметрів міцелоутворення блок-кополімерів методом пружного світлорозсіювання .....	64
2.12 Використання УФ-спектроскопії в дослідженнях взаємодії блок-кополімерів з лікарськими субстанціями .....	66
2.13 Характеризування міцелярних структур блок-кополімерів та їх композицій з преднізолоном методом динамічного світлорозсіювання .....	70
2.14 Вивчення морфології міцел блок-кополімерів за допомогою ТЕМ .....	72
2.15 Випробування <i>in vivo</i> біологічної активності міцелярних носіїв з аналогом вітаміну Е .....	73

### РОЗДІЛ 3

ТРИБЛОК-КОПОЛІМЕРИ ТБК <sub>ПАА</sub> З ХІМІЧНО КОМПЛЕМЕНТАРНИМИ КОМПОНЕНТАМИ: СИНТЕЗ ТА ОСОБЛИВОСТІ ПОВЕДІНКИ У РОЗЧИНАХ .....	75
---	----

3.1 Матричні ефекти при синтезі ТБК <sub>ПАА</sub> ; молекулярні параметри одержаних кополімерів .....	76
3.2 Процеси міцелоутворення у водних розчинах ТБК <sub>ПАА</sub> .....	82
3.3 Трансформація міцелярних структур ТБК <sub>ПАА</sub> у водно-спиртових розчинах .....	91

### РОЗДІЛ 4

СИНТЕЗ, СТРУКТУРА ТА ПОВЕДІНКА У РОЗЧИНАХ АМФІФІЛЬНИХ БЛОК-КОПОЛІМЕРІВ ДБК <sub>ПКЛ</sub> І ТБК <sub>ПКЛ</sub> .....	97
--	----

4.1 Стратегія синтезу та основні молекулярні характеристики ДБК <sub>ПКЛ</sub> і ТБК <sub>ПКЛ</sub> .....	98
4.2 Структурні особливості ДБК <sub>ПКЛ</sub> та ТБК <sub>ПКЛ</sub> у блочному стані .....	103

4.3 Міцелоутворення диблок- та триблок-кополімерів у водно-органічному середовищі .....	113
4.4 Міцели ДБК <sub>ПКЛ</sub> і ТБК <sub>ПКЛ</sub> у водних розчинах .....	120

## **РОЗДІЛ 5**

НОСІЇ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ МІЦЕЛ ДИБЛОК- ТА ТРИБЛОК-КОПОЛІМЕРІВ .....	132
6.1 Система міцел ТБК <sub>ПАА</sub> з преднізолоном .....	133
5.2 Інкапсуляція преднізолону міцелами ДБК <sub>ПКЛ</sub> .....	151

## **РОЗДІЛ 6**

ЕФЕКТИВНІСТЬ МІЦЕЛЯРНИХ НОСІЇВ НА ОСНОВІ БЛОК-КОПОЛІМЕРІВ В ПРОЦЕСАХ ДОСТАВКИ ВІТАМІНУ Е <i>IN VIVO</i> .....	164
6.1 Інкапсуляція аналогу вітаміну Е міцелами блок-кополімерів .....	164
6.2 Вплив міцелярних композицій з аналогом вітаміну Е на процеси метаболізму теплокровних тварин .....	166
6.3 Перспективи практичного використання розроблених міцелярних наноконтейнерів .....	172

<b>ВИСНОВКИ</b> .....	177
-----------------------	-----

<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	179
---	-----

<b>ДОДАТОК</b> .....	209
----------------------	-----

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І СКОРОЧЕНЬ

АА	- акриламід
АДМО	- N-акрилоїл-2,2-диметил-1,3-оксазолідин
ДБК	- диблок-кополімер
ДБК <sub>ПКЛ</sub>	- диблок-кополімер з блоками МОПЕО і ПКЛ
КЛ	- ε-капролактон
ММА	- метилметакрилат
МОПЕГ	- метоксиполіетиленгліколь
МОПЕО	- метоксиполіетиленоксид
МОПЕО- <i>b</i> -ПКЛ	- диблок-кополімер на основі метоксиполіетиленоксиду і полі(ε-капролактону)
МОПЕО- <i>b</i> -П4ВП	- диблок-кополімер на основі метоксиполіетиленоксиду і полі(4-вінілпіридину)
ПАА	- поліакриламід
ПАА- <i>b</i> -ПЕО- <i>b</i> -ПАА	- триблок-кополімер на основі поліакриламіду та поліетиленоксиду
ПБО	- полібутиленоксид
ПЕ	- поліетилен
ПЕГ	- поліетиленгліколь
ПЕО	- поліетиленоксид
ПЗ	- синтетичний гормон преднізолон
ПКЛ	- полі(ε-капролактон)
ПКЛ- <i>b</i> -ПЕО- <i>b</i> -ПКЛ	- триблок-кополімер на основі полі(ε-капролактону) та поліетиленоксиду
ПКЛ- <i>b</i> -ПБ	- кополімер ПКЛ з полібутадієном
ПЕО- <i>b</i> -ПІ	- кополімер ПЕО з поліізопреном
ПЛЛА	- полі (L-лактид)
ПНПАА	- полі(N-ізопропілакриламід)
ПП	- поліпропілен
ПС	- полістирол
ПВП	- полівінілпіролідон
ПММА	- поліметилметакрилат
ПГЕМА- <i>b</i> -ПВП	- диблок-кополімер полігідроксиетилметакрилату та полівінілпіролідону
ПВФ	- полівінілфенол
ПВФ- <i>b</i> -П4ВП	- диблок-кополімер полівінілфенолу та полі-4-вінілпіридину
ПМАК	- поліметилметакрилова кислота
ТБК	- триблок-кополімер
ТБК <sub>ПАА</sub>	- триблок-кополімер з блоками ПЕО і ПАА
ТБК <sub>ПКЛ</sub>	- триблок-кополімер з блоками ПЕО і ПКЛ
ТЕМПО	- 2,2',6,6'-тетраметилпіперидин-1-оксил
α-ТОКА	- α-токоферолацетат

Sn(Oct) <sub>2</sub>	- станум октоат
DEPN	- N-терт-бутил-1-діетилфосфоно-2,2-диметилпропіл нітроксид
TIPNO	- 2,2,5-триметил-4-феніл-3-азогексан-3-нітроксид
KPI	- контрольована радикальна полімеризація
SFRP	- радикальна полімеризація з використанням стабільних радикалів
ATRP	- радикальна полімеризація з переносом атома
MADIX	- радикальна полімеризація з оберненою реакцією передачі типу <i>приєднання-фрагментації</i>
RAFT	- радикальна полімеризація з оберненою реакцією передачі типу <i>приєднання-фрагментації</i>
KTM	- критична температура міцелоутворення
KCM	- критична концентрація міцелоутворення
MMM	- міцели мономолекулярного типу
PMM	- міцели полімолекулярного типу
DTGA	- диференційний термогравіметричний аналіз
TEM	- трансмісійна (проникна) електронна мікроскопія
WAXS	- ширококутове розсіювання рентгенівського випромінювання
SAXS	- малокутове розсіювання рентгенівського випромінювання
УФ	- спектроскопія в ультрафіолетовій області спектру
ЯМР	- ядерний магнітний резонанс
FTIR	- інфрачервона спектроскопія з Фур'є перетворенням спектру
ДСК	- диференційна скануюча калориметрія
ДС	- квазіпружне (динамічне) світлорозсіювання
ПС	- пружне світлорозсіювання
ММ	- молекулярна маса
ММР	- молекулярно-масовий розподіл
MADIX	- молекулярний дизайн за рахунок передачі на ксантати
T, °C	- температура Цельсія
T <sub>пл</sub>	- температура плавлення
T <sub>c</sub>	- температура склування
T <sub>ОДТ</sub>	- температура переходу "порядок-безлад" ("order-disorder transition temperature")
χ	- параметр Флорі-Хагінса
α	- мольне співвідношення ініціатора до гідроксильних груп ПЕГ; - мольне співвідношення ініціатора до гідроксильних груп МОПЕГ;
β	- мольне співвідношення ініціатора до мономера
d <sub>сер(v)</sub>	- середній розмір міцелярних структур
γ	- мольне співвідношення між блоками у блок-кополімері

$K$	- конверсія мономеру
$\tau_0$	- індукційний період гомополімеризації
$[\eta]$	- характеристична в'язкість розчину
$M_v$	- середньов'язкісна молекулярна маса
$M_n$	- середньочислова молекулярна маса
$T_{\text{кип}}$	- температура кипіння
$T_{\text{кр}}$	- температура кристалізації
$C_p$	- теплоємність
$\Delta C_p$	- зміна теплоємності при переходах склування в блок-кополімерах
$X_{\text{кр}}$	- ступінь кристалічності полімерів
$X_{\text{пз}}$	- ступінь інкапсуляції преднізолону
$X_{\alpha\text{-ТОКА}}$	- ступінь зв'язування $\alpha$ -ТОКА
$\lambda$	- довжина хвилі
$\theta$	- кут розсіювання
$C$	- концентрація розчину чи дисперсії колоїдних частинок
$\phi$	- склад композиції – мольне співвідношення між блок-кополімером та інкапсульованою субстанцією (преднізолоном або $\alpha$ -токоферолом)
$D$	- оптична густина розчинів при певній довжині хвилі
$\tau$	- величина мутності розчинів блок-кополімерів
$\nu$	- хвильове число і позначення валентного коливання
$T$	- величина пропускання
$T_0$	- максимальне значення величини пропускання в конкетному спектрі FTIR
$I_v$	- інтенсивність розсіювання вертикально поляризованого падаючого світла
$M_w$	- середньовагова молекулярна маса
$A_2$	- другий віріальний коефіцієнт
$\langle R_g^2 \rangle_z^{1/2}$	- z-середній радіус інерції
$R_{v(\theta)}$	- коефіцієнт надлишкового розсіювання
$-\Delta G^\circ$	- стандартна вільна енергія міцелоутворення
$D_2O$	- дейтерована вода
$\Delta H_{\text{пл}}$	- ентальпія плавлення
$V_p$	- швидкість полімеризації при певних величинах конверсії
$\delta$	- хімічний зсув в ЯМР спектроскопії
$\tau_0$	- індукційний період прищепленої кополімеризації або гомополімеризації;

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Розробка нанорозмірних міцелярних структур на основі блок-кополімерів є одним з найперспективніших шляхів створення носіїв лікарських препаратів для вирішення ряду проблем, пов'язаних з цільовою доставкою ліків в живих організмах. Полімерні міцелярні носії дозволяють створити розчинні форми погано розчинних у воді лікарських субстанцій, забезпечити їх тривалу циркуляцію у кров'яному руслі, запобігти швидкій деградації ліків у ферментативних та метаболічних процесах, знизити активні дози токсичних препаратів та захистити здорові органи і тканини організму від їх руйнівного впливу. Найбільш поширеними методами отримання таких міцелярних структур є: самозбірка амфифільних блок-кополімерів з термодинамічно несумісними блоками та самозбірка продуктів кооперативних інтерполімерних взаємодій (інтермолекулярних полікомплексів, ІнтерПК) між блок-кополімерами. На відміну від міцел класичних амфифільних блок-кополімерів з гідрофобним “ядром”, утвореним водонерозчинними блоками, міцелярні структури ІнтерПК мають специфічне “гідрофобне ядро”, сформоване зв'язаними сегментами хімічно комплементарних блоків, що дає можливість інкапсулювати більш широкий спектр лікарських речовин як гідрофобної, так і гідрофільної природи. Водночас, такі міцелярні носії мають істотні недоліки, а саме: вони можуть руйнуватися до окремих компонентів внаслідок конкурентних взаємодій, що відбуваються в середовищі живого організму. В такому випадку можливе небажане передчасне вивільнення інкапсульованої лікарської субстанції.

Вирішенням цієї проблеми може стати створення міцелярних носіїв на основі асиметричних блок-кополімерів, що містять хімічно комплементарні блоки і здатні утворювати інтрамолекулярні полікомплекси (ІнтраПК), що дозволило б не тільки спростити будову міцелярного носія (у порівнянні з носіями на основі ІнтерПК) та запобігти їх незворотному руйнуванню в організмі, а й зберегти високу здатність зв'язувати лікарські препарати різної природи. Однак, до недавнього часу критично мало робіт було присвячено процесам міцелоутворення блок-кополімерів, що здатні формувати ІнтраПК, а їх поведінка у розчині, будова і морфологія міцел та

взаємодія з лікарськими субстанціями практично не вивчалися. Ефективність дії терапевтичних систем на основі міцел блок-кополімерів значною мірою залежить від параметрів носіїв: морфології та розмірів (які мають бути такими, щоб забезпечити тривалу циркуляцію носіїв у кров'яному руслі і, водночас, запобігти захопленню макрофагами), термодинамічної стабільності, яка відповідає за стійкість до конкурентних взаємодій, та біосумісності і біодеградабельності блоків. Важливими факторами є ефективність і механізм інкапсуляції лікарської речовини, природа її зв'язування і стан у міцелярному наноконтейнері. Актуальною проблемою стає порівняння вказаних параметрів для двох різних типів міцелярних структур (на основі амфіфільних блок-кополімерів та гідрофільних блок-кополімерів, які утворюють ІнтраПК), що дасть можливість встановити переваги кожної з них і відкрити перспективи створення найбільш ефективних носіїв для вирішення конкретних завдань доставки ліків в живих організмах.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана на кафедрі хімії високомолекулярних сполук хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка в рамках держбюджетних тем: “Полімерні наноконструкції, їх компоненти та полікомплекси з унікальними оптичними, електричними і біологічними властивостями для оптоелектроніки, медицини та екології” (2006-2010 рр., № держреєстрації 06БФ037-07), “Створення нових функціоналізованих полімерів і полікомплексів із прогнозованим комплексом властивостей як компонентів наноконструкцій для нано-, біо- та інформаційних технологій, сонячної енергетики, медицини та екології” (2011-2013 рр., № держреєстрації 11БФ037-05П), “Наноструктуровані композиційні полімерні матеріали, їх компоненти та комплекси для застосування в інформаційних та біотехнологіях, медицині і сонячній енергетиці” (2014-2015 рр., № держреєстрації 14БП037-01).

**Мета і завдання дослідження.** Метою роботи є синтез двох типів біосумісних та біодеградабельних блок-кополімерів за участю (метокси)поліетиленоксиду [(МО)ПЕО], полі(ε-капролактону) (ПКЛ) і поліакриламід (ПАА) зі змінною довжиною блоків, дослідження їх структури і міцелоутворення у розчинах та

розробка на їх основі міцелярних наноконтейнерів для інкапсуляції і доставки погано розчинних і токсичних лікарських субстанцій.

Для досягнення поставленої мети вирішувались такі завдання:

- встановлення кінетичних закономірностей блок-кополімеризації ПАА з ПЕО та синтез серії асиметричних триблок-кополімерів ПАА-*b*-ПЕО-*b*-ПАА (ТБК<sub>ПАА</sub>) з різною довжиною гідрофільних хімічно комплементарних блоків;
- синтез амфифільних диблок- та триблок-кополімерів МОПЕО-*b*-ПКЛ і ПКЛ-*b*-ПЕО-*b*-ПКЛ (ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub>) зі змінною довжиною гідрофобного і гідрофільного блоків;
- дослідження процесів міцелоутворення ТБК<sub>ПАА</sub>, ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> у водних і водно-органічних середовищах; встановлення залежностей параметрів міцелоутворення і морфології міцелярних структур від хімічної природи і довжини блоків та складу розчинника;
- встановлення особливостей блочної структури ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> в залежності від довжини блоків;
- дослідження природи, механізму і ступеню інкапсуляції модельних лікарських субстанцій – преднізолону (ПЗ) і синтетичного аналогу вітаміну Е ( $\alpha$ -токоферолацетату,  $\alpha$ -ТОКА) – міцелами синтезованих блок-кополімерів;
- порівняння ефективності інкапсуляції лікарських субстанцій міцелами класичних амфифільних блок-кополімерів (МОПЕО-*b*-ПКЛ) та блок-кополімерів, що утворюють ІнтраПК (ПАА-*b*-ПЕО-*b*-ПАА);
- випробування *in vivo* біологічної дії  $\alpha$ -ТОКА, інкапсульованого розробленими міцелярними наноконтейнерами.

*Об'єкти дослідження:* синтез ТБК<sub>ПАА</sub>; міцелоутворення в розчинах ТБК<sub>ПАА</sub>, ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> та закономірності у зміні параметрів і морфології міцелярних структур в залежності від будови блок-кополімерів та складу розчинника; механізми інкапсуляції погано розчинного препарату ПЗ міцелами двох різних типів (на основі ТБК<sub>ПАА</sub> і ДБК<sub>ПКЛ</sub>); вплив ПЗ на параметри міцел та зміни у його кристалічному стані; біологічна дія  $\alpha$ -ТОКА у складі різних міцелярних наноконтейнерів *in vivo*.

*Предмет дослідження:* триблок-кополімери ТБК<sub>ПАА</sub>, що утворюють ІнтраПК,

та амфифільні блок-кополімери ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> зі змінною довжиною блоків; структура ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> у блочному стані; розчини блок-кополімерів у воді та водно-органічних сумішах; міцели блок-кополімерів та міцелярні системи ТБК<sub>ПАА</sub> і ДБК<sub>ПКЛ</sub> з інкапсульованими ПЗ і  $\alpha$ -ТОКА.

*Методи дослідження:* дилатометрія, <sup>1</sup>H ЯМР, FTIR та UV-Vis спектроскопія, диференційна скануюча калориметрія (ДСК), ширококутове розсіювання рентгенівського випромінювання (WAXS), пружне та квазіпружне (динамічне) світлорозсіювання, проникна (трансмісійна) електронна мікроскопія (ТЕМ).

### **Наукова новизна одержаних результатів.**

- Встановлено негативний динамічний та структурний матричні ефекти в радикальній блок-кополімеризації ПАА з ПЕГ різної ММ, ініційованої іонами  $\text{Ce}^{\text{IV}}$ , за рахунок утворення водневих зв'язків між зростаючими (дочірніми) ланцюгами ПАА і хімічно комплементарними матрицями – блоками ПЕО.
- Вперше проведено фундаментальні дослідження міцелоутворення асиметричних триблок-кополімерів ТБК<sub>ПАА</sub>, що утворюють ІнтраПК, з різною довжиною центрального та бічних блоків. Доведено формування в розбавлених водних розчинах при  $C > \text{ККМ}$  сферичних “волохатих” полімолекулярних міцел з відносно малим комплексним “ядром” і розвинутою “коронаю” з надлишкових незв'язаних сегментів більш довгих блоків ПАА. Показано зростання стабільності і розмірів “волохатих” міцел зі збільшенням довжини обох блоків.
- Вперше у водних розчинах ТБК<sub>ПАА</sub> знайдено міцели мономолекулярного типу, які є індивідуальними ІнтраПК, та незвичайні “кубічні” або “пластинчасті” полімолекулярні міцели, що виникають при високій довжині блоків ПЕО і ПАА.
- Вперше показано руйнування “волохатих” міцел ТБК<sub>ПАА</sub> при введенні етанолу у водні розчини і формування нових, більш великих і стабільних “квіткоподібних” міцел при вмісті етанолу  $> 40$  об %. Велике “ядро” таких міцел утворюють нерозчинні блоки ПАА, а відносно малу “корону” – “петлі” з блоків ПЕО.
- На основі удосконалення методології аніонної з розкриттям циклу блок-кополімеризації ПКЛ з (МО)ПЕО і синтезу 3-ох серій амфифільних блок-кополімерів ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> зі змінною довжиною блоків вперше проведено

широкі комплексні дослідження структури та міцелоутворення у розчинах даних блок-кополімерів. Встановлено ефект посилення термодинамічної несумісності блоків ПКЛ і МОПЕО при зростанні їх довжини і, як наслідок, зменшення взаємного впливу на процеси кристалізації цих блоків в структурі ДБК<sub>ПКЛ</sub>.

- Вперше показано, що основними продуктами самозбірки макромолекул ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> у водно/діоксанових і водних розчинах є маленькі сферичні міцели класичного та “квіткоподібного” типів. Їх подальша агрегація у воді, яка розвивається у часі, призводить до утворення великих фрактально-організованих сферичних, еліпсоїдних та навіть “стрижнеподібних” структур.
- В результаті вивчення особливостей зв’язування ПЗ міцелами ТБК<sub>ПАА</sub> вперше показано явище конкуренції між процесами інкапсуляції та самоасоціації погано розчинного лікарського препарату у водних розчинах. Воно проявляється при низькій відносній концентрації препарату (при малому ступеню заповнення міцел) і обумовлює рівноважний механізм зв’язування.
- Показано, що наслідком концентрування погано розчинного препарату (ПЗ) в “короні” міцелярних наноконтейнерів може бути швидка інтенсивна агрегація міцел, заповнених препаратом, за рахунок взаємодії їх “корон” з утворенням великих фрактальних структур сферичної та “стрижнеподібної” форми.

**Практичне значення одержаних результатів** полягає у створенні на основі ТБК<sub>ПАА</sub> і ДБК<sub>ПКЛ</sub> нових ефективних міцелярних систем доставки погано розчинних лікарських субстанцій, таких, зокрема, як ПЗ і вітамін Е та його аналоги, в живих організмах. На основі тривалого тестування цих систем з аналогом вітаміну Е *in vivo* на групах білих мишей доведена їх нетоксичність, повна біосумісність з організмом теплокровних тварин і можливість досягнення різних цілей в процесі доставки.

**Особистий внесок здобувача** полягає в аналізі літературних джерел, у проведенні синтезів блок-кополімерів, визначенні їх молекулярних параметрів та властивостей у розчині і в блочному стані, створенні на їх основі композицій з лікарськими препаратами, обробці та аналізі одержаних результатів, а також формулюванні висновків дисертаційної роботи. Планування та розробка загальної стратегії досліджень, обговорення та узагальнення результатів, написання статей

проведені з науковим керівником д.х.н., професором Желтоножською Т.Б. Синтези ТБК<sub>ПАА</sub>, визначення їх молекулярних параметрів та деякі дослідження їх поведінки в розчинах виконані з к.х.н. Федорчуком С.В. (Київський національний університет імені Тараса Шевченка). Дослідження структури блок-кополімерів методом WAXS проведені разом з к.х.н. Гомзою Ю.П. (Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України). Визначення розмірів міцел методом динамічного світлорозсіювання та обробка результатів за програмою CONTIN проведені спільно з к.х.н. Горчевим В.Ф. (Інститут біохімії НАН України). Електронні мікрофотографії міцел отримані в Інституті ботаніки НАН України у співпраці з к.б.н. Климчуком Д.О. Випробування *in vivo* розроблених міцелярних носіїв з аналогом вітаміну Е проводили в Національному університеті біоресурсів та природокористування України спільно з професорами Максимом В.І. і Якубчак О.М.

**Апробація результатів дисертації.** Результати досліджень за темою дисертаційної роботи були представлені та обговорені на 19 міжнародних та Українських конференціях: 8-ій та 9-ій міжнародних конференціях ICEROM, Electronic Processes in Organic Materials (Ів.-Франківськ, 2010 та Львів, 2013); XI Всеукраїнській конференції студентів та аспірантів “Сучасні проблеми хімії” (Київ, 2010); 5-ій і 6-ій Всеросійських Каргінських конференціях “Полимеры” (Москва, 2010 і 2014); Ukrainian-German Symposium on Physics and Chemistry of Nanostructures and on Nanobiotechnology (Берегове, 2010); XII та XIII Українських конференціях з високомолекулярних сполук (Київ, 2010 і 2013); 6 International Chemistry Conference “Toulouse-Kiev” (Тулуза, 2011); IV International Workshop “Specialty polymers for environment protection, oil industry, bio-, nanotechnology and medicine” (Алмати, 2011); 14<sup>th</sup> IUPAC International Symposium on Macromolecular Complexes MMC-14 (Хельсінкі, 2011); V Міжнародному форумі “Трансфер технологій: бізнес, влада, регіони” (Київ, 2011); VII Відкритій українській конференції молодих вчених з високомолекулярних сполук (Київ, 2012); 7 Scientific International Conference “Kyiv-Toulouse” (Київ, 2013); Международной конференции “Украина-Россия-Сколково. Единое инновационное пространство” (Київ, 2013); VIII Ukrainian-Polish Conference “Polymers of Special Applications” (Буковель, 2014); 2<sup>nd</sup> and 3<sup>d</sup> International Conference

“Nanomaterials: Applications and Properties” (Алушта, 2012 і 2013); International Conferences “Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2014 і NANO-2015)” (Львів, 2014 і 2015); Ukrainian-German Symposium on Physics and Chemistry of Nanostructures and on Nanobiotechnology (Київ, 2015).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 10 статей в українських і зарубіжних наукових фахових виданнях та 29 тез доповідей на міжнародних та українських наукових конференціях.

**Обсяг і структура роботи.** Дисертаційна робота містить вступ, перелік умовних позначень, 6 розділів, висновки, список використаних літературних джерел (296 посилань). Робота викладена на 211 сторінках друкованого тексту, містить 58 рисунків та 21 таблицю. У *вступі* обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету і завдання досліджень, описано наукову новизну та практичну цінність результатів. У *1-му розділі* проаналізовано літературні дані щодо синтезу блок-кополімерів (у тому числі з хімічно комплементарними блоками), їх блочної структури, поведінки в розчинах, а також актуальності створення полімерних носіїв лікарських субстанцій. У *2-му розділі* подано методики синтезу блок-кополімерів на основі (МО)ПЕО, ПКЛ і ПАА, описано методи дослідження їх структури, міцелоутворення у розчинах та інкапсуляції модельних лікарських субстанцій. *3-ій розділ* присвячено синтезу ряду ТБК<sub>ПАА</sub> з різною довжиною блоків та дослідженню їх міцел у водних і водно/етанольних розчинах. В *4-му розділі* описано синтез трьох серій зразків ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> зі змінною довжиною блоків, результати досліджень їх блочної структури і особливостей міцелоутворення у водно/діоксанових та водних розчинах. *5-ий розділ* присвячено процесам інкапсуляції ПЗ і  $\alpha$ -ТОКА двома типами міцелярних структур блок-кополімерів. У *6-му розділі* подано результати випробувань *in vivo* біологічної дії аналогу вітаміну Е у різних за типом міцелярних носіях, на сімействах білих лабораторних мишей.

**РОЗДІЛ 1**  
**БЛОК-КОПОЛІМЕРИ ТА МІЦЕЛЯРНІ СТРУКТУРИ НА ЇХ ОСНОВІ В**  
**КОНТЕКСТІ СТВОРЕННЯ ПОЛІМЕРНИХ НОСІЇВ**  
**ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ**

В останні роки у світовій науці велика увага приділяється різноманітним напрямкам створення наносистем для біомедичного використання, зокрема розробці терапевтичних засобів на основі наноструктур, що здатні зв'язувати погано розчинні та/або токсичні лікарські препарати і забезпечувати їхню безпечну цільову доставку в організмі [1, 2]. Особливе місце серед різноманіття представлених у літературі засобів транспортування ліків займають біосумісні та біодеградабельні полімери (природні – протеїни, полісахариди, нуклеїнові кислоти і синтетичні – поліаміди, поліестери, поліетери, полікарбонати, полі-ангідриди, поліфосфоестери) та отримані внаслідок їхньої самозбірки нанорозмірні системи, такі як наносфери, полімерні міцели, наногелі, нанокапсули, полімерні везикули (полімерсоми) [3]. Широкий спектр можливостей для формування міцелярних структур різноманітної морфології, здатних до інкапсуляції лікарських препаратів, надають блок-кополімери з синтетичними біосумісними та біодеградабельними полімерними компонентами [4].

В представленому огляді висвітлюються особливості синтезу та структури лінійних блок-кополімерів, а також специфіка поведінки блок-кополімерів у розчині, що безпосередньо пов'язана з можливостями їхнього використання в якості носіїв ліків та наноконтейнерів для інших нерозчинних речовин. Окремий підрозділ присвячено перспективам створення і вивчення полімерних носіїв лікарських засобів як новітніх терапевтичних систем пролонгованої дії та адресної доставки препаратів.

## 1.1 Особливості методів синтезу лінійних блок-кополімерів

Молекулярна структура кополімерів блочного типу як макромолекул з лінійним упорядкуванням двох або більше полімерних компонентів на основі різних мономерів зумовлює їхні унікальні асоціативні властивості, які широко використовуються в нанотехнологіях [5-8]. Тому досить багато робіт присвячено розробці та удосконаленню методів отримання таких монодисперсних гетерополімерних сполук із керованою довжиною та положенням блоків та з певними заданими властивостями [9-11].

Полімеризаційні методи синтезу лінійних диблок- та триблок-кополімерів з двома або більше полімерними компонентами базуються на наступних основних стратегіях:

- одностадійний (або однореакторний) синтез, при якому хімічно різні мономерні послідовно полімеризуються за одним механізмом;
- поєднання декількох механізмів полімеризації мономерів;
- реакція між кінцевими функціональними групами різних полімерів/олігомерів (конденсація) або рекомбінація макрорадикалів різних полімерних блоків.

Бажана монодисперсність кожного блоку, чистота кінцевого продукту, вимоги до його молекулярної маси (ММ) та структури, а також тип полімеризації, до якого здатні мономерні, є критеріями вибору техніки синтезу.

Найбільш цікавими, з огляду на методи синтезу, використані в даній роботі, є перші дві групи методів. Синтетичні методики, що відносяться до першої реакційної схеми, надають можливість широкого вибору різноманітних мономерів для побудови блок-кополімерів, а отже дозволяють отримувати полімери з необхідними для певних потреб комбінаціями властивостей блоків. При проведенні таких одностадійних синтезів різні мономерні послідовно вводять у реакційну суміш без зміни інших умов, таких як температура, розчинник тощо. За умови відсутності або дуже незначної кількості реакцій обриву та/або передачі ланцюга, після досягнення високого ступеня конверсії першого мономера, активні центри полімеризації, які залишаються на кінцях ланцюгів, ініціюють полімеризацію другого мономера, який

вводиться у реакційну суміш. Вдалий підбір мономерів та порядку їхнього введення, в залежності від обраного механізму полімеризації, забезпечує отримання кополімерів бажаного складу з необхідною довжиною блоків та вузьким молекулярно-масовим розподілом (ММР). З точки зору практичного використання така методика є дуже зручною та навіть бажаною, і може бути реалізована за допомогою механізмів “живої” аніонної та “живої” катіонної полімеризації, йонно-координаційної полімеризації [12, 13] та “псевдоживої” радикальної полімеризації [9, 10]. Друга стратегія синтезу блок-кополімерів передбачає поєднання в процесі синтезу різних механізмів полімеризації (мультимодальна полімеризація [14]) і використовується у випадках, коли блок-кополімери з бажаними блоками складно або неможливо одержати шляхом послідовної полімеризації за одним механізмом, а також коли пріоритетним є використання в якості одного з блоків вже готового комерційного полімеру з гарантованим вузьким ММР і який є доступний в продажу. Мультимодальна полімеризація блок-кополімерів об’єднує декілька основних синтетичних підходів, першим з яких є поєднання декількох різних механізмів керованої полімеризації, а саме “живої” катіонної та “живої” аніонної полімеризації [15], “живої” йонної (катіонної чи аніонної) і “псевдоживої” радикальної полімеризації [16, 17]. Особливістю даного підходу є необхідність проведення певних реакцій трансформації для перетворення активних центрів одного типу першого блоку на такі, що здатні ініціювати полімеризацію другого мономеру за іншим механізмом. Другий підхід базується на створенні на одному або на обох кінцях вже сформованого гомополімерного ланцюга активних центрів, які здатні ініціювати полімеризацію другого мономеру за радикальним, аніонним чи іншим механізмом. Фактично, в даному випадку на основі вже готового полімеру (зазвичай комерційного) створюється макроініціатор для полімеризації другого мономеру, при цьому для перетворення на макроініціатор кінців гомополімеру, який стане першим блоком, необхідна наявність у ньому кінцевих активних груп. Такі групи можуть бути вже сформовані в результаті синтезу самого зразка гомополімеру (прикладом є поліетиленгліколь (ПЕГ), що містить кінцеві гідроксильні групи), або ж спеціально створені шляхом функціоналізації і модифікації кінців ланцюга під час синтезу чи

після нього, як це роблять у випадку поліолефінів (полістиролу (ПС), поліпропілену (ПП), поліетилену (ПЕ) тощо) [18]. Третій підхід заснований на використанні так званих біфункціональних ініціаторів, які здатні ініціювати одночасну або послідовну полімеризацію декількох мономерів за різними механізмами полімеризації, оскільки містять декілька різних функціональних груп, що підходять для ініціювання різних типів полімеризаційних процесів [19]. Основною перевагою цього методу є можливість здійснення мультимодальної полімеризації без необхідності проведення додаткової функціоналізації кінців ланцюгів.

Розглянемо більш детально деякі цікаві для нас аспекти описаних вище стратегій синтезу лінійних блок-кополімерів.

Метод послідовної вільнорадикальної полімеризації на сьогоднішній день активно використовується для промислового виробництва великої кількості полімерних матеріалів. Переваги даного методу полягають у високій швидкості процесу, простоті методики та великому спектрі мономерів, здатних до полімеризації в умовах радикального ініціювання [12, 13]. Проте висока активність радикалів, яка обумовлює велику швидкість реакції і спричиняє наявність різноманітних реакцій обриву, унеможлиблює контролювання росту полімерного ланцюга і призводить до композиційної неоднорідності продуктів та їх широкого ММР [12, 13]. В останні десятиліття активного розвитку набули методики, що значно удосконалюють процес радикальної полімеризації і дозволяють отримувати кополімери з певними складом, структурою, кінцевими функціональними групами, заданою ММ та коефіцієнтом полідисперсності. Такі методи об'єднані загальними принципами, які обумовлюють перебіг так званого керованого “псевдоживого” радикального полімеризаційного процесу, і отримали узагальнену назву “контрольована радикальна полімеризація” (КРП) [10]. Основною ідеєю контрольованої “псевдоживої” радикальної полімеризації (або ж КРП) є заміна необоротного бімолекулярного обриву ланцюга на оборотну реакцію радикалів росту з реагентами, які переводять ланцюги в неактивний стан і вводяться в реакційну суміш в каталітичних кількостях. В результаті на кінці полімерного ланцюга утворюється кінцева група, яка здатна при певних умовах відриватись,

регенеруючи таким чином радикал, що продовжує ріст полімерного ланцюга. Процес повторюваних обриву і росту забезпечує ступінчатий ріст матеріальних ланцюгів в ході полімеризації. В залежності від механізму переводу полімерного ланцюга в неактивний стан виділяють три основних види КРП:

- процеси оборотної рекомбінації-дисоціації, що протікають за участі стабільних радикалів (SFRP – Stable Free Radical Polymerization) [9, 10, 20];
- процеси, що супроводжуються переносом атома (ATRP – Atom Transfer Radical Polymerization) [9, 10, 20].
- процеси з виродженою передачею ланцюга (RAFT – Reversible Addition Fragmentation chain Transfer та MADIX – Molecular Design via Interchange to Xanthate) [9, 10, 20];

Усі види КРП характеризуються рядом загальних спільних особливостей, притаманних процесу контрольованої “псевдоживої” радикальної полімеризації. По-перше, кількість активних центрів полімеризації залишається незмінною при будь-якому ступені конверсії мономеру, оскільки постійна кількість активних центрів визначається рівновагою між процесами активації та деактивації, а не між ініціюванням та обривом ланцюга, як при звичайній радикальній полімеризації. З цього випливає наступна особливість – залежність ММ полімеру від конверсії є лінійною. Для успішного здійснення керованого процесу мають бути відсутні реакції необоротної передачі ланцюга, а швидкість реакцій рекомбінації має бути набагато меншою, ніж швидкість процесу оберненої деактивації центрів полімеризації, також швидкість ініціювання має бути досить високою, аби відбувався одночасний ріст всіх полімерних ланцюгів. Перераховані умови забезпечують наявність вузького ММР синтезованих методами КРП полімерів, що і є одною з основних переваг керованої “псевдоживої” радикальної полімеризації [10]. Після повної конверсії мономеру на кінцях полімерних ланцюгів залишаються захищені активні центри, які здатні активувати процес керованої радикальної полімеризації при додаванні в реакційну суміш нового мономеру, що надає можливість синтезу лінійних блок-кополімерів за одним механізмом шляхом

послідовного додавання мономерів [20]. Широкий вибір мономерів та ініціаторів КРП відкривають величезну кількість можливостей для створення різноманітних блок-кополімерів з заданими ще до початку синтезу довжинами блоків. Розглянемо більш детально використання трьох основних видів КРП для синтезу блок-кополімерів.

*Блок-кополімеризація методом SFRP.* Для регулювання радикальної полімеризації при синтезі блок-кополімерів методом SFRP безпосередньо в реакційну суміш паралельно з ініціатором вводять стабільні нітроксильні радикали, такі як 2,2',6,6'-тетраметилпіперидин-1-оксил (ТЕМПО) [21, 22], 2,2,5-триметил-4-феніл-3-азогексан-3-нітроксид (TIPNO) [23], N-терт-бутил-1-діетилфосфоно-2,2-диметилпропіл нітроксид (DEPN) [24], або використовують мономолекулярні ініціатори алкоксиаміни [25-27]. Особливістю нітроксильних радикалів є їхня здатність оборотно взаємодіяти з центрами росту, переводячи їх в стан "сну", при цьому самі стабільні радикали не здатні ініціювати ріст полімерних ланцюгів. Такі системи в основному використовуються при синтезі блок-кополімерів стиролу, зокрема, в роботі [25] синтезували блок-кополімери на основі метоксиполіетиленгліколю (МОПЕО) та полістиролу (ПС), з початковою реакцією ОН-групи МОПЕГ з гідроксидом натрію та хлорметил-заміщеним алкоксиаміном. Таким чином модифікований МОПЕО виступав макроініціатором в полімеризації стиролу. Так само в якості макроініціатора полімеризації стиролу автори [26] використовували полі(*n*-пара-фенілен), функціоналізований алкоксиаміном. Для синтезу ряду симетричних триблок-кополімерів АВА-типу на основі ПС, *n*-бутил акрилату, *t*-бутил акрилату, ізопрену та диметилакриламід у автори [27] використовували біфункціональний синтезований алкоксиаміновий ініціатор на основі TIPNO.

*Блок-кополімеризація за допомогою ATRP.* Контрольована радикальна полімеризація з переносом атому (ATRP) є широко вивченим зручним методом для синтезу блок-кополімерів, оскільки може бути застосована до великої кількості різноманітних мономерів [28]. Група Matyjaszewski [29] окреслила механізм, мономер, ініціатор, комплекси перехідних металів та ліганди, які використовують

в ATRP. Типова каталітична система ATRP складається з комплексу перехідного металу зі змінним ступенем окиснення, органічного ліганду та ініціюючого алкілгалогеніду R-X [29-31]. Механізм полімеризаційного процесу включає генерацію радикалу R' за рахунок гомолітичного розщеплення зв'язку радикал-галоген в алкілгалогеніді комплексом перехідного металу, який при цьому окиснюється, а галоген переноситься на металокомплекс. Утворений алкільний радикал здатен ініціювати полімеризацію мономеру, а оборотність процесу переносу галогену між зростаючим полімерним радикалом і комплексом перехідного металу дозволяє здійснювати поступове нарощування ланцюга, тобто призводить до КРП [30, 31]. В якості металокомплексних ініціаторів використовують органічні комплекси міді, солі заліза, та комплекси рутенію [29, 32], в якості лігандів застосовують органічні сполуки фосфору та нітрогену, зокрема різноманітні похідні бідентат-біпіридину, фенатроліну тощо [31, 32]. Блок-кополімеризація за методом ATRP може бути проведена шляхом реактивації активних центрів “сплячого” гомополімеру, який в цьому випадку виступає в ролі макроініціатора, або шляхом послідовного додавання мономерів [29]. Даним методом синтезовані диблок-кополімери стиролу з метилакрилатом [33], кополімери поліметилакрилату з поліметилметакрилатом [34] та полібутилметакрилатом [35], полістиролу з бутилакрилатом [36], поліетилену з поліакрилатами [37].

*Методи RAFT і MADIX в блок-кополімеризації.* В процесах полімеризації з оборотною передачею ланцюга за механізмами приєднання-фрагментації (RAFT і MADIX) основною реакцією, що обумовлює “псевдоживу” полімеризацію, є багаторазова передача ланцюга за рахунок використання так званого агента передачі ланцюга СТА (Chain Transfer Agent). СТА являють собою тіокарбонілітні сполуки, такі як дитіоестери, ксантати, дитіокарбамати та тритіокарбонати. Зростаючі макрорадикали приєднують по подвійному зв'язку C=S СТА, після чого утворений радикальний аддукт макро-СТА піддається розщепленню, що призводить до утворення або вихідних часток, або іншого ініціюючого макрорадикалу – таким чином встановлюється рівновага між “сплячими” і активними ланцюгами [38]. Загальна структура СТА-агентів може бути представлена як RSC(=S)Z, де R –

група, що відривається, утворюючи вільний радикал, і здатна реініціювати полімеризацію, а Z – група, яка визначає реакційну здатність подвійного зв'язку C=S та стабільність проміжного макро-СТА. Блок-кополімеризація здійснюється в два кроки: спершу формується макро-СТА за рахунок полімеризації першого мономеру, далі додають другий мономер, полімеризацію якого розпочинають додаванням порції ініціатора. Блок-кополімери, синтезовані RAFT/MADIX, на кінці ланцюга зберігають функціональний фрагмент СТА [39, 40]. RAFT/MADIX-процеси підходять для широкого кола мономерів, зокрема активно використовується в диблок-кополімеризації метакрилових мономерів [41, 42]. Авторами [43, 44] були синтезовані кополімери на основі метилметакрилату і n-бутилметакрилату з використанням у якості СТА кумілдитіобензоату і ціанопродитіобензоату. Для створення блок-кополімеру поліетиленоксиду (ПЕО) з полі(N-ізопропіл-акриламідом) автори [45] використовували монофункціональний ПЕО в якості макро-СТА. Також відомі синтезовані цим методом диблок-кополімери на основі полі(вінілацетату) та полі(вінілбензоату) [46] та триблок-кополімери стиролу з поліакриловою кислотою в якості центрального блоку [47].

КРП часто використовують в якості одного з декількох механізмів при реалізації мультимодальної полімеризації. Такі методики можуть об'єднувати полімеризацію з розкриттям циклу і використання нітроксильних радикалів або поєднання RAFT з емульсійною полімеризацією [48, 49]. Надалі розглянемо кілька полімеризаційних процесів та методів, що опосередковано пов'язані з методиками, використаними для синтезів блок-комерів в даній роботі.

*“Міцелярна” кополімеризація.* В основі цього методу лежить розділення в реакційній суміші двох хімічно різних мономерів таким чином, щоб в системі зберігалась лише мікрогетерогенність і не відбувалось фазового розподілу. Такі умови були досягнуті авторами [50-53] в водному середовищі при полімеризації двох амфифільних мономерів з додаванням ПАР з концентрацією, вищою за критичну концентрацію міцелоутворення. У реакційній суміші знаходяться гідрофільний мономер та ініціатор, а також міцели ПАР з солубілізованим гідрофобним мономером. Під дією водорозчинного ініціатора відбувається

гомополімеризація гідрофільного мономеру з утворенням гідрофільного блоку, а при контакті ланцюга що росте з міцелою ПАР полімеризується гідрофобний мономер і формується гідрофобний блок [52]. В більшості робіт застосовували “міцелярну” кополімеризацію для синтезу водорозчинних кополімерів акриламід у з невеликими блоками його гідрофобних похідних таких як N-бензилакриламід [53], N-октадецилакриламід [54], акрилметакрилати [55] та N,N-диалкілакриламід [56], використовуючи як аніонні ПАР – додецилсульфат натрію та гексадецилсульфат натрію [50-52, 54-56], так і катіонні – гексадецилтриметиламонійбромід [53], а ініціювання проводили водорозчинними персульфатами калію чи амонію. Нещодавні роботи, в яких використовується “міцелярна” кополімеризація, присвячені створенню гідрогелів на основі гідрофобно модифікованого поліакриламід та полі(N,N-диметилакриламід) [57-59].

*Макроініціатори на основі поліетиленгліколю.* Поліетиленгліколь (ПЕГ) та метоксиполіетиленгліколь (МОПЕГ) використовуються в якості макроініціаторів для блок-кополімеризації за різноманітними механізмами з широким колом мономерів, як гідрофільних [60], так і гідрофобних [11]. Таке активне застосування (МО)ПЕГ для синтезу диблок- та триблок-кополімерів можливе завдяки наявності кінцевих гідроксильних груп, які легко трансформувати в інші функціональні групи або модифікувати, а також великим вибором комерційних зразків (МО)ПЕГ з різноманітними молекулярними масами. Крім того, (МО)ПЕГ має гарну розчинність у воді та органічних розчинниках, є біосумісним та кристалізується, що дозволяє різноманітне використання блок-кополімерів на його основі – від біомедичного до електрохімії та хімії поверхні. Радикальна полімеризація може бути безпосередньо ініційована при окисно-відновній реакції кінцевих ОН-груп (МО)ПЕГ з йонами перехідних металів зі змінною валентністю, таких як  $\text{Ce}^{\text{IV}}$ ,  $\text{Mn}^{\text{III}}$  тощо [61-63]. Таким чином у водно-кислотному середовищі були синтезовані блок-кополімери (МО)ПЕГ з метилметакрилатом (ММА) [60], акриламідом та метакриловою кислотою [63], акрилонітрилом [64]. Широкого розповсюджене використання макроініціаторів (МО)ПЕГ для блок-кополімеризації методами КРП. Так, для проведення кополімеризації методом RAFT синтезували МОПЕГ-СТА, який надалі ініціював

полімеризацію N-ізопропілакриламідом [65]. Автори [66] синтезували макро-СТА на основі МОПЕГ шляхом естерифікації кінцевих ОН-груп МОПЕГ дитіобензоатом 4-ціанопентанової кислоти та, використовуючи ініціатор АІВN, провели кополімеризацію N-акрилоїл-2,2-диметил-1,3-оксазолідину (АДМО). Термочутливі гідрофільні терполімери АВС-типу на основі поліетиленоксиду, полі(n-бутилакрилату) та полі(n-ізопропілакриламідом) також синтезували методом RAFT з використанням МОПЕГ-СТА [67]. RAFT використовували і для синтезів амфифільних блок-кополімерів МОПЕО з полістиролом (ПС) і полібензилметакрилатом, де в якості макро-СТА виступав  $\omega$ -дитіоестер МОПЕГ [68]. рН-чутливі гідрофільні блок-кополімери метоксиполіетиленоксиду з полі(4-вінілпіридином) МОПЕО-*b*-П4ВП отримували методом ATRP, використовуючи попередньо синтезовані методом естерифікації макроініціатори МОПЕГ з кінцевими групами Cl та Br і комплекси  $Cu^I$  і  $Cu^{II}$  в якості каталізаторів [69, 70]. Диблок- та триблок-кополімери (МО)ПЕО з ПС були отримані цим методом з використанням (МО)ПЕО, функціоналізованими бромпропіонатом, в присутності системи Cu/дипіридил при 130 °C [71]; тим же шляхом синтезували триблок-кополімер з центральним блоком ПЕО і полі(*трет*-бутилакрилатними) бічними блоками [72]. Триблок-кополімери ПЕО з поліметиметакрилатом також отримували з використанням функціонованого 2-хлорпропіонатом по обом кінцям ланцюга ПЕО [73]. Велика кількість робіт присвячена синтезу методами КРП ПЕО-вмісних блок-кополімерів з двома гідрофільними блоками, які здатні формувати міцелярні структури та гідрогелі у водному середовищі під дією зовнішніх чинників, таких як рН і температура. Зокрема автори [74] синтезували методом ATRP блок-кополімер ПЕО з полігліцеролмоноакрилатом використовуючи макроініціатор ПЕО-Br, а в роботі [75] цим методом отримували водорозчинні триблок- та пентаблок-кополімери ПЕО з поліметакрилоїл урідином та поліметакрилоїл аденозином. Завдяки своїй гідрофільності та біосумісності (МО)ПЕО входить до складу великої кількості блок-кополімерів для біомедичного використання, при синтезі яких він також виконує роль макроініціатора. Наприклад, ПЕО, модифікований на обох кінцях ланцюга  $NH_2$ -групами, виступав у якості макроініціатора при формуванні

триблок-кополімерів з  $\gamma$ -бензил-L-глутаматом [76], а синтетичним методам створення полімерних “векторів” на основі ПЕО-вмісних блок-кополімерів для генної доставки присвячено цілі огляди, де ПЕО також згадується як макроініціатор в КРП [77].

Окремо слід відзначити методики синтезу блок-кополімерів для біомедичного застосування, засновані на використанні блоку (МО)ПЕО для ініціювання *аніонної полімеризації з розкриттям циклу* різноманітних біосумісних та біодеградабельних поліетерів та поліестерів, таких як полілактони і полілактиди. Найбільш поширені у літературі відомості про аніонну з розкриттям циклу кополімеризацію (МО)ПЕГ з D- та L-лактидами [78-81] і  $\epsilon$ -капролактоном (КЛ) [82-85]. Окрім описаних в роботі [86] алкоксидів алюмінію в якості каталізаторів полімеризації з розкриттям циклу для лактонів, було запропоновано ще низку алкоксидів металів (стануму (IV), титану та цирконію) [87, 88] для цієї ж мети, проте найбільш розповсюдженого в блок-кополімеризації (МО)ПЕГ з лактонами і лактидами використання набув Sn(II) 2-етилгексаноат (станум октоат  $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ ) [79, 83], оскільки він дозволяє уникнути побічних реакцій інтер- та інтрамолекулярної переетерифікації, а також є менш чутливим до присутності в реакційній суміші води та інших протонвмісних домішок. Найефективніше блок-кополімеризація проходить в блоці, при взаємодії станум октоату з кінцевими гідроксильними групами (МО)ПЕГ утворюється макроаніон (МО)ПЕО, який ініціює аніонну з розкриттям циклу полімеризацію лактону. Хоча в багатьох роботах станум октоат зазначається як каталізатор, однак існує інше трактування механізму ініціювання полімеризації лактонів і лактидів [89, 90], а саме: при реакції з ОН-групою спиртів станум октоат *in situ* перетворюється в новий алкоксид стануму, який і є справжнім ініціатором полімеризації, що проходить за аніонно-координаційним механізмом, характерним для ініціювання алкоксидами металів. Оскільки автори [89, 90] вивчали механізм полімеризації лактонів і лактидів в присутності низькомолекулярних спиртів, наприклад, бензилового спирту чи бутанолу, та при температурах нижче 100 °С, в роботі [91] було проведено більш детальне дослідження взаємодії станум октоату з різноманітними низькомолекулярними спиртами як спів-ініціаторами полімеризації

при різних температурах, яке засвідчило, що ініціюючі системи на основі  $\text{Sn}(\text{Oct})_2$  є комплексними динамічними системами, які чутливі до всіх змін реакційних умов включно зі змінами структури і концентрації реагентів. В цьому зв'язку механізм ініціювання блок-кополімеризації лактонів і лактидів в присутності (МО)ПЕГ залишається предметом дискусій, однак очевидним є той факт, що станум октоат в даному випадку не слід вважати каталізатором, а, скоріше, ініціатором процесу.

*Матричні ефекти при блок-кополімеризації.* Матрична полімеризація передбачає процес полімеризації мономера в присутності іншого лінійного гомо- чи кополімера-матриці, який розчиняється з мономером в одному розчиннику і який упорядковує ланки зростаючого полімерного ланцюга за рахунок електростатичних взаємодій, ковалентних чи водневих зв'язків з мономером. Матрична полімеризація може являти собою поліконденсацію, проходити по радикальному, йонному механізму або з розкриттям циклу – в залежності від механізму реакції полімеризації мономера [92] і використовується як для синтезів гомополімерів, так і для створення кополімерів. Критерієм, за яким процес може бути визначений як матрична полімеризація, є наявність так званих матричних ефектів: зміни у кінетиці полімеризації (динамічний матричний ефект), зміни у ММ, ММР та хімічній структурі полімерів (структурні матричні ефекти) у порівнянні зі звичайною гомополімеризацією мономерів у відсутності матриці [92]. Однак, важливий аспект можливої наявності матричних ефектів при блок-кополімеризації двох хімічно комплементарних блоків, які можуть взаємодіяти між собою за рахунок кооперативних водневих чи електростатичних зв'язків, до недавнього часу практично не вивчався. Дослідження в цьому напрямку було розпочато в роботі [93], в якій було підтверджено гіпотезу про формування системи нековалентних (водневих) зв'язків між комплементарними блоками при кінетичному дослідженні прищепленої кополімеризації поліакриламід у до полівінілового спирту. Вивчення матричних ефектів в процесах блок-кополімеризації було продовжено дослідженнями кінетики кополімеризації ПАА з ПЕГ [94], однак ці питання все ще потребують більш детальної уваги дослідників і додаткового вивчення.

## 1.2 Структура блок-кополімерів в блоці

Структура блок-кополімерів в концентрованих розчинах та розплавах, а відтак і в твердому стані, значно відрізняється від структури гомополімерів та їх сумішей [95]. Це обумовлено особливостями будови блок-кополімерів, а саме наявністю ковалентного зв'язку між різними за хімічною природою полімерними блоками – частинами макромолекул блок-кополімеру. Різні за хімічною природою полімери, як правило, погано змішуються, особливо коли вони мають велику ММ, тому у розплаві для суміші гомополімерів характерна яскраво-виражена тенденція до формування окремих фаз [95, 96]. У випадку блок-кополімерів фазове розділення проходить на інтермолекулярному рівні, оскільки сегрегація двох блоків може відбуватись лише на відстані, співрозмірній довжині ланцюгів. Таке обмеження призводить до утворення блок-кополімерами повторюваних мікрофаз – доменів для кожного з блоків, розміри яких співрозмірні довжинам макромолекул (~10-100 нм) [95]. Індивідуальні властивості кожного з блоків у блок-кополімері, такі як гнучкість, хімічний склад, первинна структура, кількість мономерних ланок, співвідношення довжин блоків у макроланцюзі, ступінь термодинамічної сумісності та здатність до кристалізації є основними чинниками, що впливають на кінцеву рівноважну морфологію доменів та характер процесів мікрофазового розділення в розплаві, розчині та блочному стані, наявність кристалічних мікрофаз чи рідкокристалічного упорядкування [96].

Структурні дослідження блок-кополімерів є важливими для оцінки ступеня взаємного проникнення сегментів полімерних компонентів та наявності неоднорідності у блочній структурі, а термофізичні параметри блоків визначають також властивості та будову міцелярних структур, які утворюють блок-кополімери у змішаних розчинниках [97]. Останнє є особливо важливим для блок-кополімерів з біосумісними та біодеградабельними компонентами, міцелярні структури яких можуть використовуватись в якості наноносіїв лікарських препаратів, оскільки ступінь біодеградації та кінетика вивільнення лікарської речовини знаходяться під впливом складу, морфології та кристалічності таких блок-кополімерів [98]. Тому критично важливо, аби такі кополімери були детально охарактеризовані з точки

зору морфології їх блочної структури та наявності кристалічних утворень [99]. Методи структурних досліджень блок-кополімерів включають в себе такі, що надають інформацію про морфологію наявних в блочному стані мікродоменів, а саме: трансмісійну електронну мікроскопію (ТЕМ), ширококутове (WAXS) та малокутове (SAXS) рентгенівське розсіювання (вони дозволяють визначити наявність кристалічних утворень в структурі кополімерів, їх розміри, дальню та ближню упорядкованість та ступінь кристалічності) [96], а також диференційну скануючу калориметрію (ДСК), яка є ефективним методом для визначення температур структурних переходів в аморфних та кристалічних полімерах та виявлення неоднорідності структури полімерів у блочному стані [100].

*Блочна структура кополімерів з аморфними блоками.* Блок-кополімери з термодинамічно несумісними аморфними блоками завдяки процесам їх сегрегації та мікрофазового розділення при переході з розплаву в твердий стан нижче температури переходу “порядок-безлад” (“order-disorder transition”) [101] формують періодично впорядковані нанорозмірні домени різної морфології. Структуру та упорядкування доменів у блочному стані визначають три незалежних параметри: ММ блоків у блок-кополімері, об’ємна частка кожного з блоків та параметр Флорі-Хаггінса ( $\chi$ ), який відображає ступінь термодинамічної сумісності блоків та є обернено-пропорційним до температури [101]. Для симетричних диблок-кополімерів, які мають рівну довжину блоків, характерна ламелярна структура, що представляє собою регулярне чергування двох аморфних мікрофаз. Асиметричні диблок-кополімери формують гексагонально-упаковані циліндричні або сферичні об’ємноцентровані мікроструктури, що складаються зі сферичних, циліндричних або надламаних циліндричних доменів коротких блоків, що регулярно розподілені у аморфній матриці, сформованій більш довгими блоками [101]. Підтверджено також існування комплексних структур, таких як кубічна гіроїдна фаза [102] між ламелярною та гексагонально-упакованою кубічною мікрофазами та інших перехідних мікрофазових утворень (сферичної гранецентрованої, перфорованої ламелярної, біконтинуальних структур тощо) [103].

Ступінь сегрегації ланцюгів у блок-кополімерах також має вплив на морфологію структур. Виділяють області: і) слабкої сегрегації, які знаходяться біля точки переходу “порядок-безлад”, де сили поверхневого натягу невеликі і прагнення до мікрофазового розподілу відносно невелике, а отже ланцюги блоків, що утворюють мікродомени зберігають конформацію статистичного клубка Гауса; ii) сильної сегрегації, для яких характерні температури набагато нижчі критичної температури переходу “порядок-безлад” і великі довжини блоків; тут поверхневий натяг є високим, в результаті чого мікродомени збільшуються в розмірах, а ланцюги, що рівномірно заповнюють домени, вимушені витягуватись; iii) суперсильної сегрегації, коли несумісність блоків дуже висока, а кополімер є асиметричним, внаслідок чого блоки меншої довжини вимушені повністю розпрямлятися у доменах [101].

Отже, не зважаючи на аморфність обох компонентів, диблок- та триблок-кополімери з несумісними блоками полістиролу, полібутадієну, поліізопрену, поліметилметакрилату, полі(вініл-4-піридину) в блочному стані формують високо впорядковані структури (так звані “суперкристалічні структури”) з дальнім порядком впорядкованості і решіткою з великими періодами, що знаходить своє відображення в наявності дифракційних максимумів на кривих SAXS, розташування яких вказує на симетрію фази [101-104]. При цьому на морфологію таких структур мають вплив не лише зазначені вище фактори несумісності блоків та співвідношення їх довжини, а й методика приготування зразків, наприклад, температурний режим охолодження розплаву, концентрація вихідних розчинів і тип розчинника [104].

*Блочна структура кополімерів з кристалічним та аморфним блоками.* Для напівкристалічних блок-кополімерів (таких, що містять у своєму складі несумісні кристалічний та аморфний блоки) знання про процеси кристалізації є важливими перш за все для визначення сфери їх застосування. Кінцеві оптичні та механічні властивості таких блок-кополімерів визначаються морфологією мікродоменів та суперструктури в блоці, а також загальною кристалічністю, що в свою чергу залежить від типу утворення зародків кристалізації, кінетики кристалізації та від

характеристик окремих “складених” ланцюгів [105]. Підбираючи макромолекулярні параметри (довжину та об’ємне співвідношення) компонентів блок-кополімерів завдяки методам контрольованої полімеризації, можливо створювати матеріали з характеристиками, що відповідатимуть певній визначеній сфері застосування [106].

Формування блочної структури напівкристалічних диблок-кополімерів в твердому стані супроводжується двома взаємодіючими та конкуруючими процесами кристалізації та мікрофазового розподілу [107]. Процес кристалізації розпочинається з утворення кристалічних зародків, які являють собою вже сформовані в блок-кополімері мікродомени за рахунок мікрофазового розподілу, тому стабільність такої мікродоменної структури відносно кристалізації є важливим фактором, який впливає на кінцеву морфологію утворених кристалічних структур [107]. В літературі описані дві моделі процесів кристалізації в напівкристалічних блок-кополімерах: і) ізольована кристалізація (“break-out crystallization”), коли рушійна сила кристалізації висока і переважає над процесом мікрофазового розділення; при переході від розплаву до твердого стану доменна структура, утворена за рахунок сегрегації аморфного блоку, повністю зникає; ii) обмежена кристалізація (“confined crystallization”), коли рушійна сила процесу кристалізації слабша за прагнення блоків до мікрофазового розділення; в цьому випадку кристали формуються у межах утворених мікродоменів, а сформована у розплаві мікрофазова структура зберігається після кристалізації і переходу блок-кополімеру в твердий стан [107]. Кінцева морфологія блочної структури напівкристалічних блок-кополімерів залежить від складу макромолекули та співвідношення між трьома характеристичними температурами фазових переходів – температурою переходу “порядок-безлад” ( $T_{ODT}$  – “order-disorder transition temperature”), температурою плавлення-кристалізації ( $T_{пл}$ ) кристалічного блоку та температурою переходу склування ( $T_c$ ) аморфного блоку. Для блок-кополімерів, довжина кристалічного блоку яких значно переважає довжину аморфного блоку, характерний процес ізольованої кристалізації незалежно від значення температури склування аморфного блоку [108, 109]. Коли  $T_{ODT}$  нижча за  $T_{пл}$ , кристалізація блок-кополімеру відбувається з гомогенного розплаву і мікрофазове розділення започатковується

саме процесом кристалізації, тому в даному випадку кристалізація не піддається впливу мікродоменної структури. В цьому випадку спостерігається ламелярна морфологія утворених кристалічних структур, в якій кристалічна ламель знаходиться між шарами аморфного блоку, і, в залежності від складу блок-кополімеру, може утворювати сфероліти [109, 110].

Коли вміст кристалічного компоненту в блок-кополімері менший, ніж аморфного, відбувається обмежена кристалізація. За умови  $T_{ODT} > T_c > T_{пл}$ , кристалізація кристалічного блоку відбувається в межах фазового розділення мікродоменів (при високому ступені несумісності блоків), оскільки цей процес обмежується переходом в склоподібний стан аморфного компоненту. Утворені в такому випадку структури відносять до ламелярних, циліндричних або сферичних кристалічних мікродоменів [111]. Оскільки склування аморфного блоку відбувається першочергово, то існуюча в ньому структура мікродоменів залишається незмінною під час кристалізації, а кристалічний блок вимушений кристалізуватись всередині цієї “твердої” структури, в результаті чого деформація кристалічних доменів унеможливується. Чимало літератури присвячено вивченню кристалізації напівкристалічних блок-кополімерів з високою температурою склування [112-116]. Зокрема, в роботах [114, 115] вивчалась орієнтація кристалів блоку полі(ε-капролактону) (ПКЛ) в диблок-кополімерах ПКЛ з полі(4-вінілпіридином) (П4ВП). Залежність орієнтації кристалів ПЕО в ламелярних мікродоменах ПЕО-*b*-ПС від температури кристалізації показана в роботі [116]. Однак, якщо сили сегрегації невеликі, кристалізація може переважати мікрофазове розділення на мікродомени навіть тоді, коли при температурі кристалізації аморфний блок вже знаходиться у склоподібному стані [117].

Якщо співвідношення характеристичних температур  $T_{ODT} > T_{пл} > T_c$ , то кристалізація може бути як ізольованою, так і обмеженою, в залежності від композиційного складу блок-кополімеру та ступеня несумісності блоків. Ізольована кристалізація характерна для блок-кополімерів зі слабким значенням сегрегації або за наявності сумісності кристалічного та аморфного блоків, при цьому аморфний блок перебуває у високоеластичному стані (до переходу склування, оскільки  $T_c$

менша за  $T_{\text{пл}}$ ). В такому випадку при переході блок-кополімеру в твердий стан відбувається формування структури з ламелярною морфологією незалежно від морфології початкового розплаву. Цей висновок підтверджують роботи з вивчення процесів кристалізації кополімеру ПКЛ з полібутадієном (ПКЛ-*b*-ПБ) [118] та ПЕО з поліізопреном (ПЕО-*b*-ПІ) [119, 120]. В останній було встановлено, що блок ПЕО формував гексагонально упаковані циліндри в розплаві, але при переході в твердий кристалічний стан спостерігалась лише ламелярна кристалічна структура. Оскільки структура розплаву блок-кополімеру також є впорядкованою за рахунок мікрофазового розділення, то внаслідок кристалізації/плавлення відбувається перехід між двома впорядкованими структурами, який є оборотним [120].

У випадку обмеженої кристалізації при високому значенні сегрегації блоків та коли аморфний блок знаходиться у високоеластичному стані, мікродоменна структура залишається незмінною (хоча і досить “м’якою” в порівнянні з випадком, коли аморфний блок є склоподібним) після переходу блок-кополімеру в твердий стан, а формування кристалічних структур обмежується сферичними, циліндричними або ламелярними мікродоменами [107]. Оскільки аморфні мікродомени залишаються рухливими, кристалічні домени можуть деформуватись в ході кристалізації для досягнення вищого ступеню кристалічності чи бажаної орієнтації кристалів. Декілька робіт [121-123] присвячено вивченню процесу кристалізації кристалічних блоків в межах “м’яких” структур високоеластичного аморфного блоку з морфологіями наносфер, наноциліндрів чи наноламелей. Так, при кристалізації в двохкомпонентній суміші ПЕО-*b*-ПБ з гомополімером ПБ відбувається деформація та зменшення об’єму кристалічних наносфер ПЕО з формуванням кристалічних об’єктів еліпсоїдної форми [121]. В роботі [123], присвяченій орієнтації кристалів блоку полі(L-лактиду) (ПЛЛА) в кополімері ПЛЛА-*b*-ПС, показано, що при температурі склування, близькій до  $T_{\text{пл}}$  блоку ПЛЛА, орієнтація кристалів ПЛЛА завжди перпендикулярна поверхні ламелі ПС, однак спостерігався ефект деформації ламелярної структури ПС, який був приписаний зміні механізму кристалізації.

*Блочна структура кополімерів з двома кристалічними блоками.* Коли блок-кополімери містять у своєму складі два або більше кристалічних блоки, процеси кристалізації та утворені кристалічні структури є ще більш складними, ніж у випадку блочної структури напівкристалічних блок-кополімерів, оскільки кристалізація одного блоку може впливати на кристалізацію другого блоку. Важливими факторами є конкурентна взаємодія між процесами кристалізації двох різних блоків, а також взаємодія між мікрофазовим розділенням у вихідному розплаві чи розчині, з якого відбувається кристалізація, та самим процесом кристалізації. На кінцеву блочну структуру кополімеру будуть впливати склад блок-кополімеру, довжини кожного з блоків, ступінь їх сегрегації у розплаві, температури кристалізації (плавлення) та склування для кожного компоненту [107]. Першочергова кристалізація більшого блоку має руйнувати мікродоменну структуру, утворену внаслідок мікрофазового розділення, так само, як і у випадку напівкристалічних блок-кополімерів зі слабкою сегрегацією блоків, оскільки температура переходу склування кристалічних полімерів зазвичай досить низька. Тому другий блок, який кристалізується пізніше, обмежений простором кристалічних ламелей вже закристалізованого першого блоку. В результаті, порядок кристалізації блоків є визначальним фактором для процесу кристалізації загалом і морфології кінцевої високоорганізованої структури блок-кополімеру в твердому стані [107]. Прийнято виділяти два випадки процесів кристалізації блок-кополімерів з обома кристалічними блоками, які відрізняються значеннями різниці між температурами кристалізації двох компонентів. Коли  $T_{\text{пл}}$  одного блоку значно вища, за  $T_{\text{пл}}$  іншого блоку, два процеси кристалізації відбуваються майже незалежно (покрокова кристалізація). Першочергова кристалізація блоку з вищою  $T_{\text{пл}}$  призводить до утворення кристалічних структур з ламелярною морфологією, в межах якої буде відбуватись кристалізація другого блоку; при цьому першоутворена ламелярна морфологія може бути видозмінена в процесі кристалізації другого блоку – це буде залежати від сили сегрегації блоків та ММ компонентів блок-кополімеру [107]. Коли значення температур кристалізації обох блоків досить близькі, відбувається одночасна кристалізація обох блоків – в цьому випадку процеси

кристалізації обох блоків взаємодіють між собою, утворюючи унікальні морфології кристалічних структур.

Як уже згадувалось раніше, блочна структура блок-кополімерів, які можуть бути застосовані як носії лікарських препаратів, може істотно впливати на кристалічність, розчинність та дозу самих інкапсульованих лікарських препаратів [124]. Тому не дивно, що більшість літератури, присвяченої вивченню процесів кристалізації блок-кополімерів з двома кристалічними блоками, сфокусована на кополімерах для біомедичного застосування, компоненти яких є біосумісними та/або біодеградабельними. Серед таких блок-кополімери на основі ПЕО, ПЕ, ПКЛ, полілактидів (D та L), полі(*n*-діоксанону) тощо [125-130]. Для блок-кополімерів, температури кристалізації блоків яких суттєво відрізняються, ламелярні кристалічні структури, утворені внаслідок першочергової кристалізації одного блоку, виступають у якості просторового обмеження для кристалізації блоків з нижчою  $T_{пл}$ . Такі обмежуючі кристалічні шари складаються з нерухомих кристалів, “вкритих” ланцюгами, які ще не закристалізувались. В роботах [126-128] досліджували морфологію кристалічних структур кополімерів ПКЛ-*b*-ПЕ, утворену внаслідок покрокової кристалізації обох блоків, при цьому блок ПЕ завжди кристалізувався першочергово з утворенням ламелярної структури, що складалась з кристалічних шарів ПЕ та аморфних шарів обох блоків ПЕ і ПКЛ, а надалі відбувалась кристалізація ПКЛ. Кінцева морфологія кристалічних структур обох блоків залежала від температури, за якої проводили кристалізацію – при переохолодженні розплаву за температури нижче 30 °С блок ПКЛ повністю кристалізувався в межах ламелярних кристалів ПЕ, в той час як при температурі переохолодження вище 40 °С спостерігалось істотне деформування кінцевих ламелярних структур ПЕ. Крім того, орієнтація кристалів ПКЛ, обмежених в ламелярній структурі ПЕ, та механізм їх кристалізації істотно залежали від температури переохолодження та товщини шару ПКЛ. В роботі [130] вивчали кристалізацію блок-кополімерів на основі ПКЛ і полі(*n*-діоксанону), в якого  $T_{пл} \sim 100$  °С та виявили, що поряд з ефектом кристалізації блоків ПКЛ між кристалічними ламелярними структурами полі(*n*-діоксанону) спостерігався також ефект прискорення процесу кристалізації ПКЛ, оскільки

кристалічні ламелі полі(*n*-діоксанону) виступали в якості центрів кристалізації для ПКЛ.

У випадку одночасної кристалізації обох блоків, коли  $T_{пл}$  компонентів диблок-кополімеру близькі за значеннями, процеси кристалізації двох блоків конкурують між собою, що може призводити до зміни механізмів кристалізації та впливає на кінцеву високорганізовану структуру з морфологією кристалічних ламелей чи сферолітів блок-кополімерів у твердому стані. Декілька робіт [131, 132] присвячено вивченню процесів кристалізації блок-кополімерів на основі ПЕО і ПКЛ, оскільки температури кристалізації цих двох полімерів досить близькі. Зокрема в роботі [131] було показано формування кристалічних сферолітів, які склались з “ядер” ПКЛ та “корон” ПЕО блоків, що було приписано невеликій різниці між ступенями кристалізації блоків ПЕО і ПКЛ. Однак, оскільки електронна щільність блоків ПЕО і ПКЛ в розплаві майже однакова, дослідження методом SAXS не в змозі надати інформації про можливу наявність та структуру мікрофазового розділення в розплаві ПКЛ-*b*-ПЕО, тому вплив мікродоменної структури на одночасну кристалізацію і кінцеву морфологію утворених кристалічних структур залишається невивченим. Крім того, в загаданих роботах використовувалось обмежене коло зразків, в яких варіювалась довжина лише одного з блоків, а вивчення кристалізації проводилось в різних експериментальних умовах, що заважає узагальненню результатів, тому процеси кристалізації в таких блок-кополімерах потребують подальшого дослідження. Складні кристалічні морфології, утворені внаслідок впливу кристалізації одного блоку на процес кристалізації іншого, описані для інших блок-кополімерів у ряді робіт [133-135], залишаються не до кінця зрозумілими з точки зору взаємодії між мікрофазовим розділенням у розплаві та процесами кристалізації двох блоків.

*Структура блок-кополімерів з сумісними блоками.* Окремо слід відзначити особливості блочної структури блок-кополімерів, блоки яких є комплементарними та хімічно сумісними і здатні взаємодіяти між собою, утворюючи систему кооперативних зв'язків. Така нековалентна взаємодія між блоками може бути електростатичною [136] або за рахунок утворення водневих зв'язків [137], в

залежності від наявних в обох блоках реакційних груп. Існує лише обмежена кількість робіт, присвячених вивченню блочної структури кополімерів з сумісними блоками, здатними до кооперативної взаємодії. Так, блок-кополімери з сумісними аморфними блоками, що здатні до утворення інтрамолекулярних водневих зв'язків, такі як полівінілфенол-*b*-полі-4-вінілпіридин (ПВФ-*b*-П4ВП) [138], полігидроксиетилметакрилат-*b*-полівінілпіролідон (ПГЕМА-*b*-ПВП) [139], кополімери поліметилметакрилату (ПММА) з ПВФ [140, 141] та з ПВП [142], в дослідженнях їх структури методом ДСК демонстрували гомогенну аморфну структуру та єдиний перехід склування, так само як і суміші відповідних гомополімерів, однак температура склування блок-кополімерів була істотно вищою, ніж у сумішей. Це свідчило про збільшення спорідненості між блоками і більшу силу інтрамолекулярної взаємодії водневими зв'язками завдяки наявності ковалентного зв'язку між блоками в блок-кополімерах в порівнянні з інтермолекулярною взаємодією в суміші гомополімерів. При цьому в суміші сумісного аморфного блок-кополімера з гомополімером, який є сумісним і здатний утворювати Н-зв'язки з обома блоками кополімеру, спостерігалось мікро-фазове розділення в залежності від кількості гомополімеру, зумовлене більшою силою взаємодії гомополімеру з одним з блоків [141, 142]. У випадку диблок-кополімерів з сумісними аморфним та кристалічним блоками, таких як ПКЛ-*b*-ПВФ [143] та ПЕО з полі-*N*-вінілкарбазолом (ПЕО-*b*-ПВК) [144], наявність кооперативних водневих зв'язків між блоками призводила до гомогенної аморфної блочної структури і втрати кристалічності кристалічних блоків ПКЛ і ПЕО у відповідних блок-кополімерах, що проявлялось у відсутності переходу кристалізації та наявності лише одного, досить широкого, переходу склування,  $T_c$  якого була значно меншою за  $T_c$  аморфного блоку, а також підтверджувалось відсутністю кристалічних піків на дифрактограмах SAXS. В роботах [145, 146] досліджували блочну структуру ряду триблок-кополімерів з різними довжинами сумісних комплементарних центрального кристалічного блоку ПЕО та бічних аморфних блоків ПАА, які утворюють інтрамолекулярні комплекси за рахунок системи Н-зв'язків, та констатували втрату кристалічності блоку ПЕО (повну або дуже значну у випадку найбільшої довжини

блоків) та наявність двох переходів склування,  $T_c$  яких відрізнялись від значень  $T_c$  для індивідуальних ПЕГ і ПАА, що свідчило про аморфну структуру триблок-кополімерів з наявним мікрофазовим розділенням на гомогенні аморфні області зв'язаних Н-зв'язками блоків ПЕО і ПАА та мікродомени незв'язаних з ПЕО ланцюгів ПАА.

### **1.3 Поведінка блок-кополімерів у розчинах та їх міцелярні структури**

Здатність амфифільних блок-кополімерів до самоорганізації в розбавлених розчинах з утворенням нанорозмірних міцелярних структур різноманітної морфології привертає значну увагу дослідників протягом останніх десятиліть завдяки широким перспективам використання таких структур в різноманітних областях науки та технології – від синтезу наночастинок металів до біомедичного застосування в якості терапевтичних систем для доставки лікарських препаратів в живих організмах [147, 148].

*Амфифільні блок-кополімери* типу *A-b-B*, які містять несумісні блоки з різною розчинністю, в селективному розчиннику (такому, що є термодинамічно хорошим розчинником для одного блоку і нерозчинником для другого блоку) при певній температурі та вище певної концентрації формують міцели внаслідок сегрегації нерозчинних блоків макромолекул – так званого закритого асоціативного процесу, рушійною силою якого є прагнення системи зменшити вільну енергію та мінімізувати енергетично небажані взаємодії сольвофобного блоку з селективним розчинником [97]. Утворені міцели в найпростішому випадку мають сферичну форму і складаються з “ядра”, сформованого нерозчинним в селективному розчиннику (сольвофобним) блоком, та сольватованої “корони” з ланцюгів розчинного блоку, а неасоційовані макромолекули в розчині залишаються у вигляді юнімерів.

Амфифільні триблок-кополімери типу *A-b-B-b-A* з сольвофільним блоком *A* та сольвофобним блоком *B* також формують міцели в селективному для блоку *A* розчиннику за таким же принципом, однак якщо розчинник селективний для центрального блоку *B*, то утворюються структури складнішої морфології, зокрема

так звані “квіткоподібні” міцели, “ядро” яких складають бічні блоки А, а “корона” формується з “петель” центрального блоку В [97, 149]. Селективний розчинник може бути полярним (в цьому випадку прийнято говорити про формування “прямих” або “регулярних міцел” з полярною “короною” та неполярним “ядром”) або ж мати неполярну природу – в таких розчинниках передбачається утворення “обернених міцел” [150]. Селективним розчинником для певних кополімерів може бути як вода, так і органічні розчинники, однак зважаючи на те, що біомедичне використання міцелярних структур блок-кополімерів передбачає відсутність токсичних для організму органічних речовин, в даному огляді увага буде сконцентрована саме на водних розчинах амфифільних блок-кополімерів з гідروفільними та гідрофобними блоками.

Завдяки швидкому розвитку новітніх методів синтезу [20] в останні десятиліття з’явилося багато нових амфифільних блок-кополімерів різноманітного хімічного складу, і, відповідно, присвячених їх фізико-хімічним властивостям (зокрема, і міцелоутворенню в розчинах) робіт наразі існує досить значна кількість. Тому доцільно розглянути *загальні принципи формування міцелярних структур* амфифільних блок-кополімерів у водних розчинах. Згадані вище сферичні міцели лінійних кополімерів А-*b*-В з “короною”, утвореною гідروفільним блоком А, та “ядром”, сформованим гідрофобним блоком В, виникають у водних розчинах внаслідок самозбірки макромолекул при сталій температурі та концентрації, вищій за певну критичну концентрацію міцелоутворення (ККМ). ККМ визначається як концентрація, при якій відбувається формування перших міцел [149]. Цей параметр міцелярної системи є одним з визначальних та характеризує стабільність утворених структур. Вище точки ККМ міцели кополімерів знаходяться у термодинамічній рівновазі з неасоційованими юнімерами у розчині.

Для систем, в яких самозбірка макромолекул відбувається при сталій концентрації і зміні температури, існує аналогічний температурний параметр – критична температура міцелоутворення (КТМ) [97]. Значення ККМ залежить від співвідношення ММ блоків і зменшується при збільшенні довжини гідрофобного блоку, як було показано для триблок-кополімерів ПЕО-*b*-ППО-*b*-ПЕО на основі

поліетиленоксиду та поліпропіленоксиду [151], і може бути визначене цілим рядом методів – віскозиметричним, за зміною мутності розчину, поверхневого натягу, флуоресцентними методами, пружним та динамічним світлорозсіюванням [97, 104, 149]. Від ММ блок-кополімеру, його ММР, макромолекулярної архітектури, відносної довжини блоків та їх природи залежать також інші характеристичні параметри міцелярних систем: і) ступінь агрегації макромолекул ( $Z$ ) – середня кількість ланцюгів полімеру в міцелі, яка визначається відношенням молекулярної маси міцели до молекулярної маси юнімеру, ii) радіус міцелярного “ядра” ( $R_c$ ), iii) товщина міцелярної “корони” ( $L$ ), iv) загальний гідродинамічний радіус міцели ( $R_h$ ), v) радіус обертання міцели ( $R_g$ ), відношення  $R_g$  до  $R_h$  визначає форму міцели.

Згідно скелінгової теорії, яка описує процеси міцелоутворення [152], ступені полімеризації (фактично, довжини) гідрофільного і гідрофобного блоків та співвідношення між ними регламентують морфологію сферичних міцел: коли довжина гідрофільного блоку набагато більша за гідрофобний блок – утворюються так звані “волохаті” міцели (“*hairy micelles*”), в яких товщина “корони” ( $L$ ) більша за радіус “ядра” ( $R_c$ ); якщо ж гідрофобний блок значно довший за гідрофільний, то прогнозується формування “обрізаних” міцел (“*crew-cut micelles*”) з невеликою “короною”, товщина якої менша за радіус “ядра” ( $L < R_c$ ). Розміри міцелярних структур можуть коливатись від кількох нанометрів до декількох сотень нанометрів.

В залежності від природи гідрофобного блоку та ступеня несумісності між блоками, “ядра” міцел можуть бути сильно сегреговані та повністю вільні від селективного розчинника (води) з яскраво вираженим різким кордоном між “ядром” і “короною”, або ж містити певну кількість молекул води та мати широкий дифузний кордон, де відбувається взаємне проникнення мономерних ланок обох блоків [153]. Деякі блок-кополімери, особливо такі, що мають достатньо довгі гідрофобні блоки, здатні формувати так звані мономолекулярні міцели, що складаються лише з одної макромолекули, гідрофобні ланки якої компактно скручені і оточені ланцюгами гідрофільного блоку [153]. Окрім зазначених сферичних морфологій, блок-кополімери, залежно від їх хімічної та просторової структури, ММ та ММР, співвідношення довжин блоків, хімічної природи

розчинника та внаслідок прагнення системи до зменшення вільної енергії, можуть утворювати міцелярні структури інших різноманітних морфологій: циліндричні та еліптичні міцели, “червоподібні” міцели (“worm-like micelles”), везикулярні структури (“полімерсоми”), “стрижнеподібні” міцели (“rod-like micelles”) тощо [97, 153].

Існують два загальновідомі методи створення міцелярних систем. Перший полягає в безпосередньому розчиненні твердого зразку блок-кополімеру в селективному розчиннику. Отриману міцелярну дисперсію залишають “дозрівати” певний час або ж стимулюють процес міцелоутворення нагріванням та/або дією ультразвуку і перемішуванням. Другий метод передбачає розчинення блок-кополімеру в термодинамічно гарному розчиннику для обох блоків та наступному поступовому додаванню нерозчинника (води) для гідрофобного блоку, зміна умов розчинності спричиняє міцелоутворення. Надалі залишки гарного розчинника можуть бути усунені випаровуванням або діалізом міцелярної системи проти селективного розчинника [97, 149, 153]. В обох цих техніках термодинамічна рівновага в міцелярній системі не обов’язково буде досягнута, особливо коли гідрофобний блок має високу температуру склування [153, 154]. Якщо міцелоутворення відбувається при температурі, нижчій від  $T_c$  гідрофобного блоку, то гідрофобні ланцюги в утвореному “ядрі” знаходяться у склоподібному стані і міцели є кінетично “замороженими”, рівновага в такій системі не може бути досягнута і спостерігається значна полідисперсність у розмірах, композиції та ступеню агрегації таких “заморожених” міцелярних структур [97, 153].

Для можливості передбачення морфологій міцелярних структур блок-кополімерів важливими є знання про *кінетику та динаміку міцелоутворення*. В літературі запропоновано декілька теоретичних термодинамічних моделей цих процесів і підходів до їх комп’ютерного моделювання [152, 155-158], серед яких вже згадана вище скелінгова теорія, а також теорія середнього поля (“mean-field theory”), що пов’язує міцелярні характеристики зі зменшенням вільної енергії Гіббса ізольованої міцели та враховує характеристики розчинника. Надалі розглянемо основні аспекти кінетики та динаміки міцелярних систем.

Вільна енергія міцелярної структури, а отже і її морфологія, визначається комбінацією трьох факторів: витягуванням ланцюгів, що формують “ядро” (зменшення енергії ланцюгів у “ядрі”), енергією поверхневого натягу між розчинником та асоційованим “ядром” та взаємодією між ланцюгами, що утворюють “корону” [151]. Рушійною силою міцелоутворення є зміна вільної енергії Гіббса ( $\Delta G^0$ ), яка повинна мати від’ємне значення та визначається зміною ентальпії і зміною ентропії системи при міцелоутворенні. Міцелярним системам кополімерів притаманні повільна кінетика і динаміка, результатом чого є недосягнення термодинамічної рівноваги в системі та співіснування різноманітних морфологій міцел, в тому числі і “перехідних”, що визначаються характеристиками кополімеру і природою розчинника [160]. В міцелярній системі відбувається два релаксаційних процеси: швидкий обмін юнімерів між міцелою і розчином та повільний процес асоціації-дисоціації міцелярних структур в цілому, який супроводжується зміною концентрації міцел та впливає на зміни їх розмірів [161, 162, 163].

Механізми міцелоутворення диблок- та триблок-кополімерів відрізняються, оскільки для вивільнення юнімеру триблок-кополімеру з міцели обидва гідрофільний та гідрофобний блоки мають пройти через область “ядра” і, враховуючи несумісність блоків, цей процес пов’язаний з додатковим енергетичним бар’єром [162]. Загалом вивільнення/входження ланцюгів блок-кополімеру з/в міцелу відбувається тим повільніше, чим довшим є гідрофобний блок, а також залежить від довжини гідрофільного блоку, оскільки слід враховувати час, необхідний юнімеру для дифундування через “корону” міцели з/до “ядра”. Рухливість ланцюгів у “ядрі” залежить від розчинності гідрофобного блоку і його температури склування – кінетично “заморожені” міцели з “ядрами” у склоподібному стані проявляють дуже повільну кінетику обміну юнімерами або не проявляють взагалі [162]. Морфологія таких “заморожених” міцелярних структур залежить від умов приготування міцелярного розчину та об’ємної частки селективного розчинника, варіювання яких дозволяє отримувати міцелярні структури бажаних морфологій за рахунок контролю взаємодії ланцюгів “корони” з розчинником [164, 165].

Вплив об'ємної частки води в змішаному розчиннику вода/ диметилформамід на морфологію міцелярних структур триблок-кополімерів ПЕО-*b*-ППО-*b*-ПЕО вивчали автори роботи [166], де було показано співіснування “червоподібних” міцел та біконтинуальних структур при певному складі змішаного розчинника. В роботі [167] досліджували зміну від сферичної до циліндричної морфології міцелярних структур диблок-кополімерів на основі поліетиленпропілену та поліетиленоксиду в залежності від складу змішаного розчинника вода/етанол та довжини гідрофільного блоку.

В міцелярних системах відбуваються також процеси гібридизації міцел, що залежать від ММ, складу та структури кополімерів і полягають в обміні юнімерами між міцелярними структурами, внаслідок чого утворюються змішані міцели [97]. Не зважаючи на велику кількість експериментальних і теоретичних робіт, механізми процесів міцелоутворення, як і динаміка амфифільних блок-кополімерів у розчинах, залишаються не до кінця визначеними і є предметом дискусій, що, вочевидь, пов'язано з великою кількістю різноманітних факторів, починаючи від співвідношення довжин блоків кополімерів і закінчуючи складом селективного розчинника, які є індивідуальними для кожної системи і можуть призводити до різноманітних морфологій міцелярних структур навіть для кополімерів однакового хімічного складу.

Нейногенні амфифільні блок-кополімери найчастіше містять у своєму складі гідрофільний блок ПЕО, в якості гідрофобних блоків можуть виступати ППО, полібутиленоксид (ПБО), ПС, ПММА. Найбільш широко досліджувались міцелярні структури різноманітних морфологій диблок- і триблок-кополімерів на основі ПЕО і ППО та ПБО у водних розчинах в залежності від молекулярних мас блоків, композиції кополімерів, температури та концентрації [168-170]. Блок-кополімери на основі ПЕО і ПС та їх сферичні, ламелярні та везикулярні міцелярні структури і їх здатність до агрегації через взаємодію ланцюгів ПЕО “корони” також інтенсивно вивчались [171], як і блок-кополімери з гідрофобними блоками поліізопрену та полібутадієну (ПБ) [172, 173].

Значна кількість літератури також присвячена амфифільним блок-кополімерам з йонними гідрофільними блоками, властивості міцелярних структур яких залежать від таких параметрів як рН розчину, концентрація солі, ступінь дисоціації тощо. Класичними аніонними гідрофільними блоками у складі поліелектролітних блок-кополімерів є ПАК та ПМАК, які при високих значеннях рН іонізовані та формують стабільні широкі “корони” міцел за рахунок електростатичного відштовхування та проявляють типову поведінку для поліелектролітів. Типовими прикладами таких систем є диблок- та триблок-кополімери на основі ПС і ПМАК [174] та диблок-кополімери ПС з ПАК, для останніх було встановлено зміну морфології міцелярних структур від сферичних до “стрижнеподібних” і везикулярних та інших складних морфологій при зменшенні співвідношення між довжинами блоків ПАК і ПС, при додаванні солі чи при заміні вихідного хорошого розчинника при приготуванні міцелярної системи [175, 176]. Іншими гідрофобними блоками, які поєднували з ПАК і ПМАК були полі(*n*-бутил акрилат), поліізобутилен, поліметилметакрилат [177-179]. Порівняно невелика кількість робіт присвячена поведінці у водних розчинах поліелектролітних блок-кополімерів на основі катіонних гідрофільних блоків, таких як полі(2-вінілпіридин) та полі(4-вінілпіридин), та гідрофобних ПС і ПБ [180, 181]. Іншим класом катіонних блок-кополімерів, міцелоутворення яких вивчали автори [182], були різноманітні аміновмісні поліметакрилати (наприклад, полі(*N,N*-діетиламіноетил метакрилат)), поєднані з типовими гідрофобними блоками.

Особлива увага дослідників приділена блок-кополімерам, міцелярні структури яких можуть використовуватись в якості носіїв токсичних поганорозчинних лікарських препаратів, зокрема протиракових [183]. Такі блок-кополімери містять у своєму складі нетоксичні біосумісні, а деяких випадках і біодеградабельні компоненти. В якості гідрофільного блоку переважно використовують ПЕО, цитозан, полі(*N*-вінілпіролідон) (ПВП) та полі(*N*-ізопропілакриламід) (ПНІПАА), гідрофобні ж блоки широко представлені поліестерами, такими як полі(*L*-лактид), (ПЛА), полі( $\epsilon$ -капролактон) (ПКЛ), полі( $\beta$ -аміноестери), поліамінокислотами полі(*L*-гістидином) та полі(*L*-аспарагіновою кислотою) та ліпідами. Так, авторами [184]

вивчались морфологія, розміри, термічні властивості та здатність до сольобілізації гідрофобних речовин міцелярних структур двох типів диблок-кополімерів на основі ПЕО, ПКЛ і ПЛА та було встановлено формування монодисперсних міцел з розмірами менше 100 нм, які проявляли високу здатність до сольобілізації.

Різні методики приготування були застосовані до міцелярних систем блок-кополімерів ПЕО з ПКЛ та полі( $\gamma$ -метил- $\epsilon$ -капролактоном), розміри яких надалі вивчали динамічним світлорозсіюванням та встановили залежність розмірів міцел та ступеня полідисперсності від природи органічного розчинника, до якого додавали воду для одержання міцелярної системи [185]. Для міцелярних структур з “ядром” ПКЛ та термочутливою “кораною” ПНІПАА у роботі [186] було встановлено збільшення гідрофобності при температурі, дещо нижчій за фізіологічну, за рахунок формування гідрогелю в “короні” ПНІПАА. Для блок-кополімерів, що містять компоненти, здатні до кристалізації, морфологія міцелярних структур в розчинах залежить від процесів кристалізації цих блоків, а отже може бути контрольована та ініційована цими процесами [187]. Так, для кополімерів ПЕО з ПКЛ була показана залежність морфології міцелярних структур від температури кристалізації – при високих температурах кристалізації фіксували ламелярні міцели, а при низьких температурах кристалізації формувались сферичні та циліндричні міцели [188].

Особливим класом блок-кополімерів є такі, що складаються з двох гідрофільних блоків (“double-hydrophilic block copolymers”) та здатні утворювати міцелярні структури в водних розчинах внаслідок зміни зовнішніх умов, таких як рН або температура. При певних умовах такі блок-кополімери проявляють повну гідрофільність та існують у водних розчинах у вигляді юнімерів. Однак при зміні температури, рН або йонної сили один з блоків набуває гідрофобності, що спричиняє міцелоутворення. Такими термо- та рН-чутливими блоками є ПЕГ, ПАК і ПМАК, ПНІПАА. Так, диблок-кополімери ПЕГ з ПНІПАА [189] та ПАК з ПНІПАА [190] при нейтральному рН та температурах вище 32 °С формують міцели з “ядром” ПНІПАА, а диблок-кополімери на основі ПЕГ і ПМАК утворюють міцели з “ядром” ПМАК при низьких значеннях рН за рахунок десольватації неіонізованих карбоксильних груп ПМАК [191]. Автори [192] продемонстрували утворення

міцелярних структур з гідродинамічним радіусом 220 нм в водних розчинах при  $pH=3$  новітніх блок-кополімерів на основі ПАК і полідигідроаланіну.

Лише обмежена кількість літератури присвячена міцелоутворенню у водних розчинах *блок-кополімерів з гідрофільними хімічно комплементарними блоками*. Такі блок-кополімери здатні утворювати інтрамолекулярні полікомплекси (ІнтраПК) за рахунок формування системи нековалентних кооперативних зв'язків між комплементарними блоками у макромолекулі блок-кополімеру. Кооперативні зв'язки породжують гідрофобізацію зв'язаних ланцюгів макромолекул, які внаслідок гідрофобних взаємодій сегрегують, ініціюючи таким чином самозбірку макромолекул в міцелярні структури [193]. Кооперативні взаємодії між блоками можуть мати електростатичну природу, що характерно для так званих амфолітних (цвіттерійонних) блок-кополімерів, які складаються з протилежно заряджених блоків, як, наприклад, ПАК і П4ВП [194]. Міцелоутворення цвіттерійонних блок-кополімерів у водних розчинах може регулюватись хімічною природою та співвідношенням довжин протилежно заряджених блоків, а також варіюванням  $pH$  та вмісту солі у розчині [195, 196].

Іншим типом нековалентних кооперативних взаємодій, що беруть участь у формуванні ІнтраПК, є водневі зв'язки, які утворюються між донорами (полікислоти) та акцепторами (наприклад, ПЕО) гідрогену [193]. В роботі [197] описувалась агрегація диблок-кополімерів ПМАК-*b*-ПЕО з довгими блоками ПЕО і короткими блоками ПМАК в міцели, “ядра” яких були сформовані зв'язаними Н-зв'язками комплексами ланок ПМАК і ПЕО. Міцели спостерігались лише при низьких значеннях  $pH$  та були термочутливими і вище певної критичної температури відбувались реорганізація міцелярних “ядер” і макроскопічне фазове розділення в системі. На противагу цьому, авторами [198] вивчалась поведінка в водному розчині ПМАК-*b*-ПЕО з короткими блоками ПЕО і довгими блоками ПМАК і також було показано утворення міцел, стабілізованих незв'язаними ланцюгами ПМАК в “короні”, з вузьким розподілом за розмірами при низьких  $pH$  та в тому ж температурному проміжку, як і в попередній роботі. Та ж група авторів вивчала методами динамічного світлорозсіювання і флуоресцентної спектроскопії

міцелоутворення ряду ПМАК-*b*-ПЕО з різними довжинами блоку ПМАК та встановили залежність товщини “корони” міцел та компактності “ядра” від співвідношення довжин блоків – при довших блоках ПМАК “ядра” міцел були менш компактні, а розміри “корони” більші [199].

Автори [200] констатували рН-залежне утворення міцел блок-кополімерами карбоксиметилдекстрану з ПЕГ – в кислому та нейтральному середовищі вони спостерігали формування інтрамолекулярних водневих зв’язків між карбоксильними та гідроксильними групами декстрану і киснем в ланцюзі блоку ПЕГ, при чому при  $\text{pH} < 5$  міцелярні структури додатково стабілізувались інтермолекулярними Н-зв’язками. Триблок-кополімери ПМАК-*b*-ПЕО-*b*-ПМАК при низьких значеннях рН також утворюють міцелярні структури з слабо-гідрофобним “ядром”, що складається зі зв’язаних водневими зв’язками гідрофобізованих частин ланцюгів ПМАК і ПЕО, і “короною” з вільних “петель” ПЕО [201]. При збільшенні рН розчину ці міцели руйнуються за рахунок іонізації блоків ПМАК, що протидіє утворенню Н-зв’язків [201]. Загалом, механізми формування міцелярних структур блок-кополімерами, здатними до утворення ІнтраПК, залишаються недостатньо вивченими. Розміри, морфологія, поведінка в залежності від зовнішніх факторів таких міцелярних структур представляють особливий інтерес в зв’язку з перспективами їх використання в якості наноносіїв лікарських препаратів.

#### **1.4 Перспективи використання міцелярних структур блок-кополімерів як наноконтейнерів для лікарських препаратів**

Велика кількість низькомолекулярних терапевтичних препаратів, зокрема й ті, що використовуються в терапії та діагностуванні раку, є гідрофобними або погано розчинними у воді та високотоксичними і це викликає цілу низку проблем при їх використанні *in vivo*. Так, низька водорозчинність лікарських субстанцій є причиною поганої абсорбції та зниженої біодоступності, їх агрегація в кров’яному руслі спричиняє, в свою чергу, небажані побічні дії, а підвищена концентрація і накопичення молекул препарату в місцях його агрегації в організмі призводить до токсичних ефектів, що значно погіршує його ефективність [202]. На вирішення цих

проблем спрямована розробка міцелярних наноконтейнерів на основі біосумісних, нетоксичних та біодеградабельних блок-кополімерів, міцелярні структури яких мають унікальну властивість солюбілізувати водонерозчинні речовини з розчину в своє гідрофобне “ядро”, таким чином підвищуючи їх розчинність [97].

Терапевтичні системи на основі міцелярних наноносіїв лікарських препаратів мають декілька переваг. Вони запобігають деградації ліків у метаболічних процесах, забезпечують тривалу циркуляцію лікарських субстанцій в кров'яному руслі, дозволяють знизити активні дози препаратів та захистити органи і тканини від їх токсичної дії [203, 204]. Розміри міцелярних структур в області 10-100 нм є достатньо великими для запобігання їх виділення з організму нирками, і в той же час є достатньо малими, щоб оминати фільтрацію в селезінці та подолати бар'єр ретикулоендотеліальної системи організму, що й забезпечує їх пролонговану циркуляцію в організмі і збільшує можливість контактування препаратів з їх “цілями” [205, 206]. Наявність гідрофільної “корони” (як правило, з блоків ПЕО) забезпечує стабільність міцелярних структур і запобігає взаємодії їх поверхні з компонентами крові, зниженню зв'язування протеїнами плазми, захопленню макрофагами та опсонізації білками крові, а низьке значення ККМ і стійкість до конкурентних взаємодій в середовищі організму сприяє утримуванню інкапсульованої лікарської субстанції [1, 4, 202].

Доставка міцелярних наноносіїв препаратів може бути пасивною і відбуватись внаслідок ефекту підвищеної проникності тканин в пухлинах і областях запалення, в такому разі під час циркуляції в кров'яному руслі наноносії лікарських субстанцій самочинно проникають в пухлини і там утримуються [1, 2]. Адресна доставка в певні клітини організму відбувається в тому разі, коли міцелярні носії містять в своєму зовнішньому шарі (“короні”) певні вектори або ліганди, які вибірково пізнаються рецепторами на поверхні тих чи інших клітин, і далі за рахунок ендцитозу проникають у внутрішньоклітинний простір [207, 208]. Такими векторами можуть слугувати ковалентно зв'язані з гідрофільними блоками “корони” міцел сахариди (галактоза, лактоза), пептиди, антитіла або фолієва кислота [208-210]. Зокрема, автори [211] синтезували та дослідили взаємодію з популяцією клітин

міцелярних структур на основі ПКЛ та поліфосфоестеру, функціоналізованим вектором галактозаміну, в яких було інкапсульовано паклітаксел (цитотоксичний протираковий препарат).

Безсумнівною перевагою міцелярних носіїв лікарських препаратів є можливість тонкого підбору та контролю таких важливих параметрів як розміри та морфологія міцелярних структур, ККМ та хімічна природа блоків, які в свою чергу регламентують кількість інкапсульованого препарату, його вивільнення в клітині та безпечно виведення полімерних залишків з організму [207]. Важливим параметром є ступінь інкапсуляції препарату, який залежить від сумісності препарату та блоків, що формують “ядро” міцелярної структури, довжини цих блоків (чим довші гідрофобні блоки, тим вищий ступінь інкапсуляції [212]) та їх кристалічності [213]. На ступінь інкапсуляції впливає також механізм, за яким відбувається проникнення препарату в міцелу. Рушійною силою солюбілізації окрім гідрофобних взаємодій може бути утворення нековалентних зв'язків (електростатичних або водневих) між активними групами препарату і блоків кополімеру, від чого залежить і місце розташування молекул препарату – в “ядрі”, “короні” або на границі їх розділу [213]. Крім того, препарат може бути ковалентно зв'язаний з блоками кополімеру ще на стадії його синтезу. Так, автори [214] синтезували і дослідили блок-кополімер на основі ПЕО і ПКЛ, в якому гідрофільний блок ПЕО був модифікований вектором фолієвою кислотою, а до блоку ПКЛ був пришитий за допомогою рН-чутливого спейсеру протираковий препарат доксорубіцин.

На даний час в літературі описані міцелярні носії лікарських субстанцій на основі амфіфільних блок-кополімерів з гідрофільним блоком ПЕГ (або ПЕО) та різноманітними гідрофобними блоками: поліаспаргіновою кислотою [215, 216], поліестерами – D,L-лактидами, ПКЛ, кополімером молочної та гліколевої кислоти [216-218]. Засвідчене використання міцел ПЕГ-*b*-ПМАК з так званими зшитими “ядрами” для доставки цисплатину [219]. Швидкого розвитку набувають дослідження стимул-чутливих носіїв на основі рН-чутливих міцел блок-кополімерів з блоками ПАК, ПМАК, ПВП і полігістидину [183, 220, 221], а також термочутливих міцелярних структур, які переважно містять в своєму складі термочутливий блок

ПНПАА [183]. Такі стимул-чутливі міцелярні носії дисоціюють в організмі при зміні рН середовища та за підвищеної вище фізіологічної температури і вивільняють інкапсульовані ліки [216].

У зв'язку з цим було доцільно дослідити два різних класи полімерних сполук – класичні амфифільні блок-кополімери на основі МОПЕО/ПЕО і ПКЛ та блок-кополімери з комплементарними гідрофільними блоками ПЕО і ПАА, що здатні утворювати систему комплементарних водневих зв'язків. Встановити закономірності та особливості синтезу даних блок-кополімерів, а також детально розглянути їх блочну структуру і міцелоутворення в водних розчинах та у змішаних розчинниках. Значна увага приділена визначенню основних параметрів та морфології міцелярних структур обох класів блок-кополімерів та встановленню закономірностей залежності ККМ, розмірів та морфології міцел від змін у співвідношенні довжин блоків, якості і складу розчинника, впливу часових ефектів. Важливо було створити та дослідити міцелярні наноконтейнери на основі триблок-кополімерів з комплементарними блоками ПЕО і ПАА для модельного погано розчинного лікарського препарату преднізолону та аналогу вітаміну Е -  $\alpha$ -токоферолацетату, а також порівняти їх ефективність, зокрема і *in vivo*, з міцелярними наноконтейнерами на основі класичних амфифільних блок-кополімерів з блоками МОПЕГ і ПКЛ.

## РОЗДІЛ 2

### ПРЕДМЕТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Предметом досліджень у даній дисертаційній роботі було:

- Ряд синтезованих триблок-кополімерів ТБК<sub>ПАА</sub> на основі хімічно комплементарних поліакриламідю і поліетиленоксиду (ПАА-*b*-ПЕО-*b*-ПАА) зі змінною довжиною центрального та бічних блоків.
- Дві групи синтезованих амфифільних диблок-кополімерів ДБК<sub>ПКЛ</sub> на основі метоксиполіетиленоксиду та полі(ε-капролактону) (МОПЕО-*b*-ПКЛ) з двома різними довжинами гідрофільного блоку МОПЕО та змінною довжиною гідрофобного блоку ПКЛ.
- Синтезовані триблок-кополімери ТБК<sub>ПКЛ</sub> (ПКЛ-*b*-ПЕО-*b*-ПКЛ).
- Ряд комерційних зразків метоксиполіетиленгліколю (МОПЕГ) та поліетиленгліколю (ПЕГ) з різною молекулярною масою (ММ).
- Синтезовані зразки поліакриламідю (ПАА).
- Синтетичний гормон преднізолон (ПЗ).
- Системи диблок- та триблок-кополімерів з ПЗ та α-токоферолацетатом (α-ТОКА) – синтетичним аналогом вітаміну Е.

Основними методами досліджень були: дилатометрія, ядерний магнітний резонанс (<sup>1</sup>H ЯМР), УФ та інфрачервона спектроскопія з Фур'є перетворенням спектру (FTIR), спектроскопія у видимій області спектру, диференційна скануюча калориметрія (ДСК), ширококутове розсіювання рентгенівського випромінювання (WAXS), пружне та квазіпружне (динамічне) світлорозсіювання (ПС та ДС), проникна або трансмісійна електронна мікроскопія (ТЕМ).

#### 2.1 Синтез триблок-кополімерів ПАА-*b*-ПЕО-*b*-ПАА

Синтез триблок-кополімерів ТБК<sub>ПАА</sub> здійснювали методом радикальної блок-кополімеризації з використанням окисно-відновного процесу активації кінцевих гідроксильних груп ПЕГ в присутності мономеру акриламідю (АА). В якості окислювача використовували комплексну сіль Се<sup>IV</sup> – диамонійгексанітратоцерат,

відновником виступали кінцеві гідроксильні групи ланцюгів ПЕГ з різною ММ. Загальну схему блок-кополімеризації можна представити таким чином (рис. 2.1):

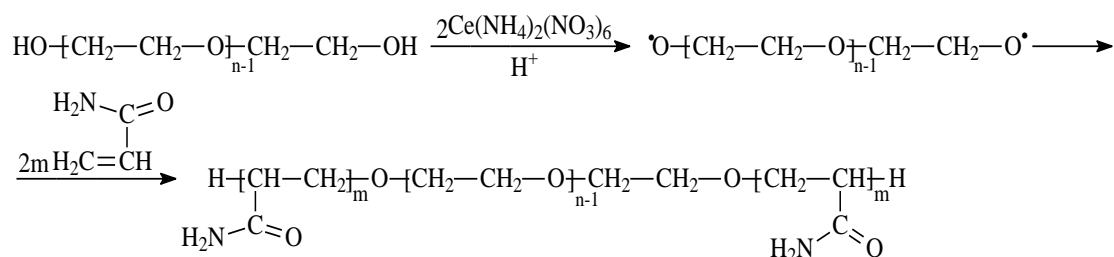


Рис. 2.1. Загальна схема процесу синтезу ТБК<sub>ПАА</sub>.

Кінетичні параметри процесу визначали методом дилатометрії (розділ 2.5). Для синтезу використовували такі хімічні речовини:

- Мономер – акриламід ( $T_{\text{пл}}=84$  °С) фірми “Merck” (Німеччина), що був перекристалізований з хлороформу.
- Три зразки ПЕГ з молекулярними масами  $M_n=6$  (ПЕГ1), 14 (ПЕГ2) та 35 кДа (ПЕГ3) фірми “Fluka” (Німеччина).
- Ініціатор – діамонійгексанітратоцерат,  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ , фірми “Sigma-Aldrich” (США)

Блок-кополімеризацію проводили в атмосфері аргону при  $T=15$  °С та постійному перемішуванні реакційної суміші протягом 24 год; як розчинник використовували дейонізовану воду. Концентрації ПЕГ і АА, а також мольне співвідношення  $\alpha=[\text{Ce}^{\text{IV}}]/[-\text{OH}]=1$  зберігали постійними у всіх синтезах, в той час як мольне співвідношення  $\beta=[\text{Ce}^{\text{IV}}]/[\text{AA}]$ , яке визначає довжину бічних блоків ПАА варіювали в області  $(1,26\div 7,35)\cdot 10^{-3}$  для того, щоб у всіх синтезованих зразках ТБК<sub>ПАА</sub> була рівна довжина центрального і бічних блоків ( $\gamma=[\text{AA}]/[\text{EO}]=1$  моль<sub>АА</sub>·(осн-моль<sub>ПЕО</sub>)<sup>-1</sup>).

Гелеподібні продукти синтезу розчиняли у дейонізованій воді, переосаджували ацетоном, знов розчиняли у воді та ліофільно сушили. Одержані продукти зберігали у вакуум-ексикаторі над  $\text{CaCl}_2$ . Молекулярні параметри зразків ТБК<sub>ПАА</sub> та їх хімічну будову визначали методом <sup>1</sup>Н ЯМР спектроскопії (розділ 2.6).

## 2.2 Гомополімеризація акриламід

Для пошуку можливих матричних ефектів при синтезі ТБК<sub>ПАА</sub> досліджували також кінетику гомополімеризації АА методом дилатометрії (розділ 2.5) в аналогічних експериментальних умовах як і блок-кополімеризацію. При цьому замість ПЕГ використовували відповідну мольну концентрацію етилового спирту (EtOH). Схема процесу представлена на рис. 2.2:

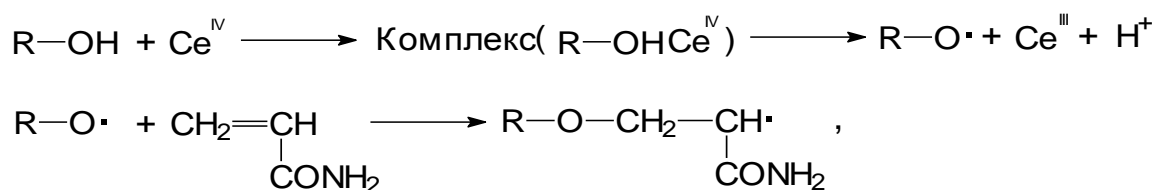


Рис. 2.2. Загальна схема гомополімеризації АА, ініційованої парою  $\text{Ce}^{\text{IV}}/\text{EtOH}$ .

Відносні кількості реагентів варіювали у відповідності з конкретними синтезами ТБК<sub>ПАА</sub> для порівняння кінетики обох процесів.

Молекулярну масу ПАА визначали віскозиметричним методом на віскозиметрі типу Оствальда (ВПЖ-2) з часом витікання 1 М розчину  $\text{NaNO}_3$  у дейонізованій воді  $\tau_0=91$  с при  $T=30$  °С та розраховували за співвідношенням [222]:

$$[\eta] = 3,73 \cdot 10^{-2} \cdot M_{\eta}^{0,66} \quad (2.1)$$

де  $[\eta]$ ,  $\text{см}^3 \cdot \text{г}^{-1}$  – характеристична в'язкість. Для подальших досліджень використовували зразки ПАА з  $M_v=630$  (ПАА1), 980 (ПАА2) та 2700 кДа (ПАА3).

## 2.3 Синтез диблок- та триблок-кополімерів МОПЕО-*b*-ПКЛ і ПКЛ-*b*-ПЕО-*b*-ПКЛ

Амфифільні диблок-кополімери МОПЕО-*b*-ПКЛ (ДБК<sub>ПКЛ</sub>) та триблок-кополімер ПКЛ-*b*-ПЕО-*b*-ПКЛ (ТБК<sub>ПКЛ</sub>) одержували методом аніонної з розкриттям циклу блок-кополімеризації. При синтезі ДБК<sub>ПКЛ</sub> кінцеву гідроксильну групу МОПЕГ перетворювали на макроаніон за допомогою ініціатору – станум октоату

(Sn(Oct)<sub>2</sub>). Використання станум октоату такої розгалуженої будови запобігало різноманітним реакціям переестерифікації, які характерні для аніонної полімеризації ε-капролактону [223]. Схему процесу синтезу ДБК<sub>ПКЛ</sub> можна представити наступним чином (рис. 2.3):

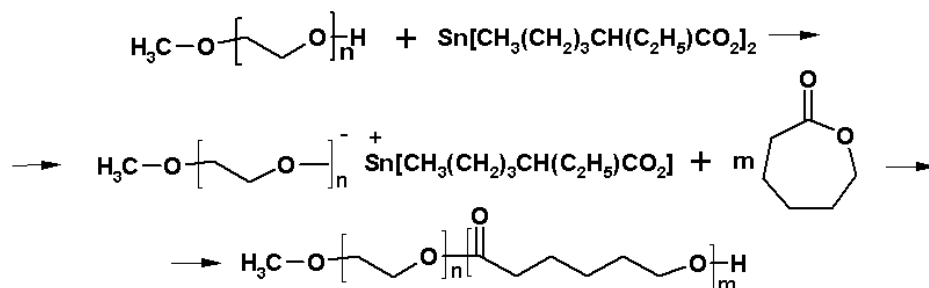


Рис. 2.3. Загальна схема процесу синтезу ДБК<sub>ПКЛ</sub>.

Ретельно висушену наважку МОПЕГ поміщали у круглодонну колбу, продували аргоном і додавали необхідну кількість очищеного ε-капролактону (КЛ) та ініціатору – Sn(Oct)<sub>2</sub>. Потім поступово нагрівали реакційну суміш на силіконовій бані до 135 °С. Після цього закриту колбу з реакційною сумішшю поміщали в сушильну шафу і витримували там при температурі 135 °С протягом 24 год. Наприкінці реакції рідка пастоподібна суміш перетворювалась в тверду аморфну масу кремового кольору без залишків будь-якої рідини.

Проводили синтез двох серій зразків ДБК<sub>ПКЛ</sub> з двома різними ММ блоків МОПЕО. Мольне співвідношення між станум октоатом та гідроксильними групами МОПЕГ  $\alpha = [\text{Sn}(\text{Oct})_2]/[-\text{OH}] = 1$  зберігали постійним. При цьому в обох серіях синтезів ДБК<sub>ПКЛ</sub> варіювали мольне співвідношення  $\beta = [\text{Sn}(\text{Oct})_2]/[\text{КЛ}]$  від  $8,80 \cdot 10^{-3}$  до  $9,05 \cdot 10^{-2}$  для отримання блок-кополімерів з різною довжиною гідрофобного блоку.

Для синтезу використовували такі хімічні речовини:

- Мономер – ε-капролактон (КЛ) фірми “Acros Organics” (США) ( $T_{\text{кип}} = 135\text{-}140$  °С при 35 мм рт. ст.), який переганяли у вакуумі перед синтезом.
- Два зразки МОПЕГ з  $M_n = 2$  (МОПЕГ1) та 5 (МОПЕГ2) кДа фірми “Fluka” (Німеччина), які перед синтезом сушили у вакуумній сушильній шафі при кімнатній температурі.
- Ініціатор – станум октоат Sn(Oct)<sub>2</sub> фірми “Sigma-Aldrich” (Німеччина).

Синтез ТБК<sub>ПКЛ</sub> проводили в аналогічних умовах з використанням зразку ПЕГ1 (розділ 2.1). В цьому випадку також використовували постійне мольне співвідношення  $\alpha = [\text{Sn}(\text{Oct})_2]/[-\text{OH}] = 1$  та різне мольне співвідношення  $\beta = [\text{Sn}(\text{Oct})_2]/[\text{КЛ}]$  (в області  $1,45 \cdot 10^{-2} \div 2,91 \cdot 10^{-2}$ ). Схема синтезу ТБК<sub>ПКЛ</sub> представлена на рис. 2.4:

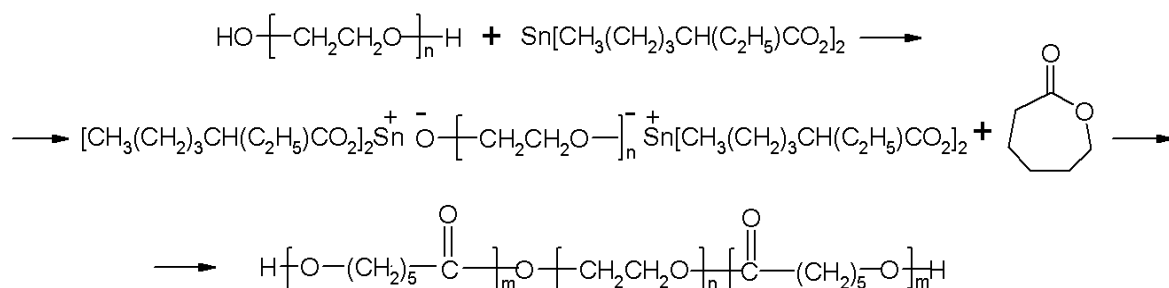


Рис. 2.4. Загальна схема процесу синтезу ТБК<sub>ПКЛ</sub>.

Тверді продукти синтезів розчиняли в 1,4-діоксані, додавали метанол для перетворення “живих” кінців у стабільні і переосаджували кополімер етиловим спиртом. При переосадженні спостерігали випадіння дрібнодисперсного білого осаду блок-кополімеру. Переосаджений продукт сушили в шафі при  $T \sim 40$  °С, а потім зберігали в ексікаторі над  $\text{CaCl}_2$ . Молекулярні параметри отриманих ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> та їх хімічну будову визначали методами FTIR спектроскопії (розділ 2.10) та  $^1\text{H}$  ЯМР (розділ 2.6).

#### 2.4 Додаткові хімічні речовини і розчинники, використані в роботі

- **Хлороформ** марки “ЧДА” ГОСТ 20015-88 вітчизняного виробництва ( $T_{\text{кип}} = 61,2$  °С) використовували при перекристалізації АА.
- **Ацетон** марки “ОСЧ” ГОСТ 2603-79 вітчизняного виробництва ( $T_{\text{кип}} = 57$  °С) використовували для висаджування ТБК<sub>ПАА</sub> і ПАА.
- **Етиловий спирт** ректифікований ГОСТ 18300-72 вітчизняного виробництва ( $T_{\text{кип}} = 78,15$  °С) використовували при гомополімеризації АА та переосадженні ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub>, а також для приготування розчинів полімерів, ПЗ і  $\alpha$ -ТОКА.
- **Метиловий спирт** ГОСТ 2222-95 вітчизняного виробництва ( $T_{\text{кип}} = 64,7$  °С) використовували для перетворення “живих” кінців ДБК<sub>ПКЛ</sub> та ТБК<sub>ПКЛ</sub> у стабільну форму.

- **Дейонізована вода** була використана для приготування розчинів полімерів та їх розбавлення. Вона мала питому електропровідність  $\sim 1 \cdot 10^{-7} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ , рН=6,5-6,8 і була отримана на іонообмінній колонці (60×3 см), заповненій катіонітом КУ-2-8 та аніонітом АВ-17.
- **Нітрат натрію (NaNO<sub>3</sub>)** (T<sub>пл</sub>=306 °С) використовували при встановленні ММ ПАА методом віскозиметрії (розділ 2.2).
- **1,4-діоксан** марки “ЧДА” ГОСТ 10455-80 вітчизняного виробництва (T<sub>кр</sub>=10,5-11,5 °С) використовували для приготування розчинів ДБК<sub>ПКЛ</sub>, ТБК<sub>ПКЛ</sub> та ПЗ.
- **Преднізолон (ПЗ)** фірми “Sigma-Aldrich” (Німеччина) (T<sub>пл</sub>=240 °С) використовувався як модельний лікарський препарат (рис. 2.5):

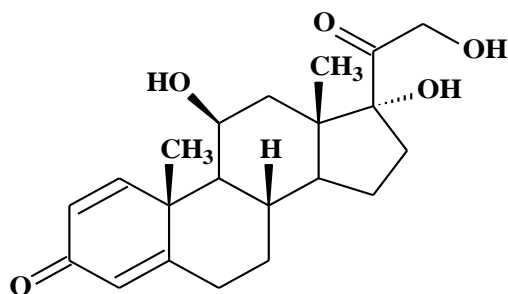


Рис. 2.5. Молекулярна структура преднізолону.

- **α-Токоферолацетат (α-ТОКА)** – аналог вітаміну Е (LD<sub>50</sub>=5000 мг·кг<sup>-1</sup>), що був синтезований на кафедрі органічної хімії Національного університету біоресурсів і природокористування України (НУБіП України) і використаний як модельний погано розчинний у воді лікарський препарат (рис. 2.6):

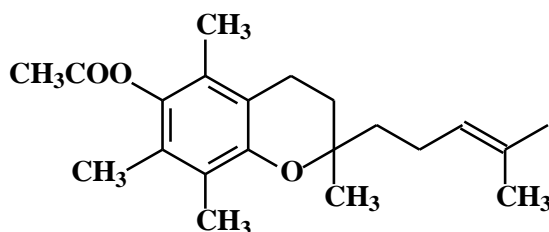


Рис. 2.6. Молекулярна будова α-токоферолацетату.

## 2.5 Дослідження кінетики полімеризації методом дилатометрії

Можливість застосування дилатометричного методу для дослідження кінетики полімеризації базується на зменшенні об'єму реакційної суміші під час полімеризації (усадка чи контракція) внаслідок різниці між значеннями густини полімеру та мономеру; така усадка є пропорційною виходу полімеру [224]. Метод дилатометрії дозволяє працювати в умовах малих кількостей мономерів та швидких процесів, а також визначати навіть невелику ступінь перетворення мономеру. Для дослідження кінетики гомополімеризації АА та блок-кополімеризації ПАА з ПЕГ застосовували дилатометри ємністю 5-10 см<sup>3</sup>, виготовлені з термостійкого скла, з вимірювальними капілярами, рівень усадки в яких визначали за допомогою катетометра. Після змішування реагентів у реакторі, невелику пробу (~6 см<sup>3</sup>) швидко відбирали у дилатометр та вміщували його в термостат з температурою 20±0,1 °С. Вимірювання контракції здійснювали за допомогою катетометра "КМ-8" (Росія) з точністю до 0,001 мм через певні проміжки часу до завершення реакції (до незмінності об'єму проби). Ціну однієї поділки катетометру визначали за величиною граничної конверсії мономеру через 24 год.

Для розрахунку граничної конверсії мономеру визначали вміст залишкового мономеру (бромне число за методом Кноппа [225]) через 24 год та в деяких випадках через 48 год. Для цього до 0,1-0,2 г реакційної суміші додавали 25 мл бромід-броматного розчину і 10 мл розчину НСІ ( $C_{\text{НСІ}}=100 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ), перемішували і залишали на 4 години в темноті, потім додавали 15 мл розчину КІ ( $C_{\text{КІ}}=100 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ) та 150 мл дейонізованої води і титрували йод, що виділявся, 0,1 н. розчином Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> в присутності крохмалю. Паралельно ставили контрольний дослід без полімеру. З кінетичних кривих визначали величину початкового індукційного періоду,  $\tau_0$ , де не відбувалась або повільно відбувалась полімеризація мономеру, і розраховували швидкості полімеризації  $V_p$  (моль·дм<sup>-3</sup>·с<sup>-1</sup>) при певних величинах конверсії.

## **2.6 Визначення будови і молекулярних параметрів ТБК<sub>ПАА</sub>, ДБК<sub>ПКЛ</sub> та ТБК<sub>ПКЛ</sub> методом ядерного магнітного резонансу**

Метод <sup>1</sup>Н ЯМР є класичним для встановлення хімічної структури різноманітних низькомолекулярних та полімерних органічних сполук [226, 227].

ЯМР відноситься до радіоспектроскопічних методів, що використовують поглинання зразком енергії радіочастотного випромінювання. Ефект базується на явищі резонансу магнітних ядер зразка з тими частотами випромінювання, що співпадають з власними частотами прецесії магнітних ядер, які вміщені у сильне зовнішнє магнітне поле [228, 229]. Оскільки більшість ядер є магнітними, то явище ЯМР можна спостерігати практично для будь-якого хімічного зразка. Метод ЯМР широко використовується для дослідження полімерів і кополімерів. Перш за все, спектри ЯМР високої роздільної здатності дають змогу визначити структуру речовини: хімічний зсув між піками характеризує електронне екранування ядер, а отже різним групам буде відповідати різне значення хімічного зсуву. Крім цього, ЯМР спектри застосовують для визначення молекулярної маси полімерів, встановлення констант рівноваги комплексів з переносом заряду, дослідження стереорегулярності кополімерів та визначення їх складу.

В даній роботі ЯМР спектроскопію використовували для підтвердження хімічної структури синтезованих блок-кополімерів, а також для визначення середньочислової молекулярної маси блоків та макромолекул кополімерів в цілому.

$^1\text{H}$  ЯМР спектри високої роздільної здатності розчинів ТБК<sub>ПАА</sub>, гомополімеру ПАА і вихідних зразків ПЕГ в  $\text{D}_2\text{O}$  з концентраціями  $10 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ , а також розчинів ДБК<sub>ПКЛ</sub> та ТБК<sub>ПКЛ</sub> і вихідних зразків МОПЕГ в  $\text{CCl}_4$  з такою ж концентрацією записували при  $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$  на частоті 400 МГц за допомогою спектрометру Mercury-400 фірми “Varian” (США). Наважку полімеру (0,007 г) вміщували у тонкий капіляр і заливали  $0,7 \text{ см}^3$  розчинника. Зйомку проводили після повного розчинення блок-кополімеру в капілярі. Хімічні зсуви ( $\delta$ ) ядер  $^1\text{H}$  у мільйонних частках (м.ч.) визначали відносно положення сигналу стандарту – тетраметилсилану. Обробку  $^1\text{H}$  ЯМР спектрів для визначення інтегральних інтенсивностей відповідних сигналів здійснювали за допомогою програми Advasp Analyzer. Інтегральні інтенсивності сигналів протонів ланок (МО)ПЕО, ПАА і ПКЛ використовували для розрахунку ММ блоків ПАА і ПКЛ, а звідти і макромолекул ТБК<sub>ПАА</sub>, ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub>.

## 2.7 Дослідження блочної структури блок-кополімерів та продуктів взаємодії їх міцел з преднізолоном методом ДСК

Диференційна скануюча калориметрія (ДСК) є сучасним методом дослідження температурних переходів (фазових і релаксаційних) в полімерах різноманітної природи, які супроводжуються поглинанням чи виділенням тепла [100]. Він дозволяє виявляти неоднорідності структури полімерів у блочному стані і робити висновки про термодинамічну сумісність чи несумісність полімерних компонентів та про мікрофазовий розподіл у багатокомпонентних полімерних системах. Цей досить тонкий метод дає можливість виявляти найменші структурні неоднорідності в полімерах та полімерних композиціях.

В даній роботі метод ДСК був використаний для характеристики блочної структури ДБК<sub>ПКЛ</sub>, ТБК<sub>ПКЛ</sub>, ТБК<sub>ПАА</sub>, вихідних зразків МОПЕГ, а також продуктів взаємодії ТБК<sub>ПАА</sub> з ПЗ і чистого преднізолону. Структурні переходи визначали за допомогою диференційного мікрокалориметра DSC-910 і термоаналізатора Thermal Analyzer 1090 DuPont фірми “Du Pont” (США) з пристроєм для експериментів при низьких температурах. Для визначення термодинамічних параметрів переходів плавлення прилад калібрували за зразком індію ( $T_{пл}=156,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\Delta H_{пл}=28,4\text{ Дж}\cdot\text{г}^{-1}$ ).

Ретельно висушені зразки ДБК<sub>ПКЛ</sub> 1-4 з першої серії масою  $\sim 10$  мг вміщували у відкриту алюмінієву капсулу і нагрівали від  $-150$  до  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$  зі швидкістю  $16\text{ град}\cdot\text{хв}^{-1}$  (1-ий скан). Потім зразок охолоджували рідким азотом і знову нагрівали з такою ж швидкістю (2-ий скан). Аналогічним чином підготовані зразки ДБК<sub>ПКЛ</sub> з другої серії і ТБК<sub>ПКЛ</sub> ( $\sim 5-10$  мг) вміщували також у відкриті алюмінієві капсули і нагрівали від  $-160$  до  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  зі швидкістю  $16\text{ град}\cdot\text{хв}^{-1}$  (1-ий скан). Потім зразки охолоджували рідким азотом до початкової температури і знову нагрівали з такою ж швидкістю (2-ий скан). Зразки ТБК<sub>ПАА</sub> та продукти взаємодії ТБК<sub>ПАА</sub> з ПЗ, які відділяли від суміші через 24 год за допомогою центрифугування при  $6\cdot 10^3\text{ об}\cdot\text{хв}^{-1}$ , висушували два дні у вакуумній шафі при  $\sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$  та ще тиждень у вакуум-ексикаторі над  $\text{CaCl}_2$ . 1-ий та 2-ий скани ДСК термограм цих зразків отримували описаним вище способом. Одночасно з полімерними зразками нагрівали кристал сапфіру, що дозволило перерахувати криві теплового потоку в залежності теплоємності ( $C_p$ ) від

температури за формулою:

$$C_p(T) = C_p^0 \cdot \frac{l}{l_0} \cdot \frac{m_0}{m}, \quad (2.2)$$

де  $C_p^0$  – теплоємність сапфіру при конкретній температурі;  $l_0$  та  $l$  – відстань термограм сапфіру та полімерного зразка при даній температурі від базової лінії (рис. 2.6);  $m_0$  та  $m$  – маса кристалу сапфіру (61,66 мг) та зразка полімеру, відповідно.

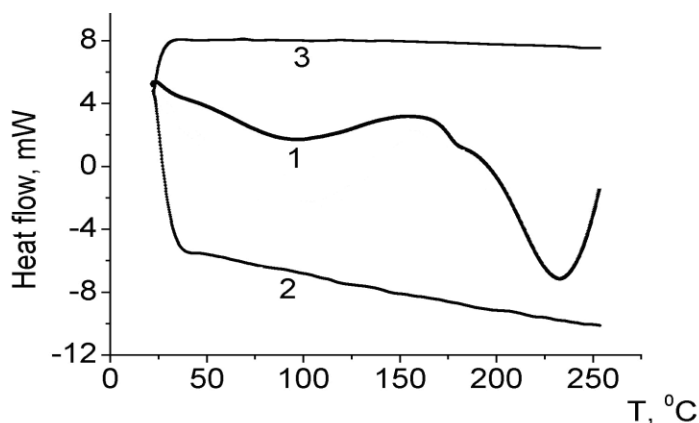


Рис. 2.7. Приклад ДСК термограми (залежності теплового потоку від температури) для ТБК<sub>ПАА</sub> 1 (2-ий скан) -1 та кристала сапфіру -2. Базова лінія -3.

З отриманих кривих зміни теплоємності  $C_p$  від температури розраховували величини стрибків теплоємності  $\Delta C_p$  при переходах склування в (ко)полімерах.

## 2.8 Структурні дослідження блок-кополімерів та їх сумішей з преднізолоном методом WAXS

Метод ширококутового рентгенівського розсіювання (WAXS) часто використовується для дослідження структури блок-кополімерів, що містять в своєму складі як аморфні блоки, так і блоки, здатні до кристалізації. Також профілі WAXS є корисними у вивченні структури блок-кополімерів з двома кристалічними блоками. Даний метод заснований на дифракції рентгенівських променів на великих кутах і надає інформацію щодо наявності кристалічних утворень в полімерах, їх розміру і ближньої впорядкованості, а також дозволяє визначити ступень кристалічності ( $X_{кр}$ ) і конформацію полімерів, деформацію і молекулярні рухи в полімерних кристалах та розплавах полімерів [230].

Для досліджень методом WAXS блочної структури зразків МОПЕГ і ряду ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> усі (ко)полімери були попередньо висушені у вакуум-ексикаторі протягом тижня. Для одержання дифрактограм індивідуальних ТБК<sub>ПАА</sub>, ПЗ і сумішей ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> з водно/етанольних розчинів формували плівки на попередньо знежиреній тefлоновій поверхні, які потім висушували на повітрі та у вакуумній шафі. У разі дослідження продуктів взаємодії ТБК<sub>ПАА</sub> з ПЗ їх виділяли з відповідних сумішей методом, що описаний вище (розділ 2.7). Висушені зразки вміщували у комірці товщиною 2,0 мм, які мали вікна з лавсану товщиною 17 мкм.

Профілі WAXS отримували на дифрактометрі ДРОН-2.0 у випроміненні мідного анода з нікелевим фільтром в первинному пучку. Монохроматичне випромінювання Cu-K<sub>α</sub>, відфільтроване Ni, з λ=0,154 нм забезпечував генератор ІРІС-М7 з напругою 30 кВ і струмом 30 мА. Оптична схема дифрактометра була модифікована для проведення зйомки “на просвіт”. При обробці дифрактограм враховували розсіювання повітрям та матеріалом стінок кювети. Інтенсивність розсіювання реєстрували в режимі крокового сканування за допомогою сцинтиляційного детектора з кроком 0,2° в діапазоні кутів розсіювання (θ) від 3 до 40°. Отримані дифрактограми після видалення фонового розсіювання приводили до однакової інтенсивності первинного пучка і однакового розсіюючого об’єму зразка [230]. Також проводили нормування експериментальних значень інтенсивності розсіювання за формулою (2.3):

$$I_{n(i)}(\theta) = [I_{\text{exp}}(\theta) - I_b(\theta)] \cdot (I / I_0) \quad (2.3)$$

де  $I_{\text{exp}}(\theta)$  і  $I_{n(i)}(\theta)$  – експериментальна та нормована інтенсивності розсіювання у WAXS-профілі як функції кута розсіювання  $\theta$ ,  $I_b(\theta)$  – інтенсивність фону для кожного значення  $\theta$ ,  $I_0$  та  $I$  – інтенсивності падаючого та розсіяного пучків відповідно при  $\theta = 0^\circ$  ( $I/I_0$  – коефіцієнт ослаблення пучка).

## **2.9 Дослідження процесів міцелоутворення в розчинах блок-кополімерів та їх сумішах з преднізолоном спектрофотометричним методом**

Формування міцелярних структур в розчинах полімерів супроводжується помітним помутнінням системи, тому для дослідження явища міцелоутворення в

розчинах блок-кополімерів було доцільно вимірювати мутність розчинів при зміні різних умов: концентрації і природи розчинника, температури тощо. Метод спектрофотометрії є одним з найпоширеніших спектроскопічних методів, який базується на вивченні спектрів екстинції електромагнітного випромінювання розчинами і твердими сполуками в ультрафіолетовій (100-400 нм), видимій (400-800 нм) та інфрачервоній (800-1000 нм) областях спектру [231]. Спектри екстинції є суперпозицією поглинання та розсіювання електромагнітного випромінювання, що дозволяє в певних умовах досліджувати саме зміни у розсіюванні світла (мутності) в розчинах або твердих речовинах. Процеси міцелоутворення в розчинах блок-кополімерів досліджували спектрофотометричним методом у видимій області спектру, де були відсутні смуги поглинання окремих функціональних груп досліджуваних речовин. Тому ці спектри давали інформацію про величину розсіювання на часточках міцелярних структур [97].

Досліджували зміни мутності в розчинах індивідуальних ТБК<sub>ПАА</sub>, а також в сумішах ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> при різному складі змішаного розчинника вода/етанол. Усі розчини мали  $C_{\text{ТБК}}=0,4 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ , а співвідношення між ПЗ і ТБК<sub>ПАА</sub> складало  $\varphi=0,42 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}\cdot\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$ . Мутність водно/етанольних розчинів ТБК<sub>ПАА</sub> та сумішей ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> визначали при  $\lambda=490 \text{ нм}$  за допомогою фотоколориметра ЛМФ-72 ЛОМО (Росія) з використанням комірок шириною 2,0085 см при  $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Величину мутності  $\tau$  розраховували за відомим співвідношенням [97]:

$$\tau = \frac{D}{l} \text{ (см}^{-1}\text{)}, \quad (2.4)$$

де  $D$  – оптична густина розчинів,  $l$  – товщина комірки.

Досліджували також вплив складу змішаного розчинника вода/1,4-діоксан на процеси самозбірки амфифільних блок-кополімерів ДБК<sub>ПКЛ</sub>. Оптичну густина (мутність) водно/діоксанових розчинів ДБК<sub>ПКЛ</sub> з  $C=0,8 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  і різним співвідношенням компонентів змішаного розчинника визначали при  $\lambda=500 \text{ нм}$  та  $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$  на спектрофотометрі UV-Visible Spectrophotometer “Varian Cary 50 Scan” з використанням комірок з  $l=1 \text{ см}$ .

Для визначення критичної концентрації міцелоутворення (ККМ)

індивідуальних ДБК<sub>ПКЛ</sub> з  $M_{nMOPEO}=2,5$  кДа у водно/діоксанових розчинах, а також в присутності преднізолону (за  $\varphi=0,25$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ДБК</sub><sup>-1</sup>), було обрано єдиний склад змішаного розчинника вода/1,4-діоксан=70/30 об %, при якому спостерігалось достатньо сильне помутніння системи. У разі приготування сумішей лікарський препарат у невеликому об'ємі діоксану (9 об % від загального об'єму розчину) вводили останнім у готову водно/діоксанову дисперсію ДБК<sub>ПКЛ</sub> і витримували 24 год. Оптичну густину (мутність) розчинів ДБК<sub>ПКЛ</sub> і композицій вимірювали при  $T=20$  °C і  $\lambda=500$  нм за допомогою спектрофотометра UV/VIS Spectrometer "Perkin Elmer Lambda 20" (Швеція); розмір комірок  $l=1$  см.

## **2.10 Метод FTIR спектроскопії у дослідженні хімічної структури блок-кополімерів та природи їх зв'язків з лікарськими субстанціями**

Метод ІЧ спектроскопії з Фур'є перетворенням спектру (FTIR) є універсальним методом ідентифікації органічних сполук і надає широкі можливості для підтвердження хімічної будови блок-кополімерів, а також визначення структур водневих зв'язків у полімерах і полікомплексах та характеризуванні взаємодії між різноманітними функціональними групами органічних сполук [227, 232].

Для підтвердження хімічної будови синтезованих диблок-кополімерів FTIR спектри ДБК<sub>ПКЛ</sub> та вихідного зразка МОПЕГ записували в розбавлених розчинах ( $C=2,5$  кг·м<sup>-3</sup>) у інертному розчиннику – CCl<sub>4</sub>, який широко використовується у подібних дослідженнях. Розчини кополімерів заливали в збірну циліндричну комірку з хлориду натрію товщиною  $l=0,6$  мм.

FTIR спектроскопію використовували також для встановлення природи зв'язування модельних лікарських субстанцій (ПЗ і  $\alpha$ -ТОКА) з міцелами блок-кополімерів. Для характеристики зв'язування ПЗ з ТБК<sub>ПАА</sub> знімали FTIR спектри комерційного кристалічного зразка ПЗ в середовищі KBr, а також тонких плівок ТБК<sub>ПАА</sub> та сумішей ТБК<sub>ПАА</sub> з ПЗ товщиною  $\sim 10$  мкм, відлитих на флюоритових скельцях (які є прозорими в області  $\nu > 1000$  см<sup>-1</sup>) з водно/етанольних розчинів (H<sub>2</sub>O/EtOH=75/25 об %) при співвідношенні  $\varphi=[ПЗ]/[ТБК_{ПАА}]=0,42$  моль·осн-моль<sup>-1</sup>.

Перед записом спектрів плівки сушили на повітрі, а потім у вакуум-ексикаторі над  $\text{CaCl}_2$  протягом тижня.

Для дослідження природи взаємодії ПЗ з ДБК<sub>ПКЛ</sub> записували FTIR спектри ПЗ, ДБК<sub>ПКЛ</sub> та суміші ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub> у вигляді таблеток з KBr, а також тонких плівок (1~4-5 мкм), відлитих на флюоритових скельцях з діоксанового розчину кополімеру та водно/діоксанового (70/30 об %) розчину суміші складу  $\phi=0,25$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ДБК</sub><sup>-1</sup>. Плівки формували на повітрі, а далі сушили протягом тижня у вакуум-ексикаторі над  $\text{CaCl}_2$ .

Спектри записували на FTIR спектрометрі “Nexus-470 Nicolet” (США), який мав роздільну здатність  $4 \text{ см}^{-1}$ ;  $T=20\div 23 \text{ }^\circ\text{C}$ . Отримані спектри у вигляді залежності величини пропускання (T) від хвильового числа ( $\nu$ ) (рис. 2.8) перераховували у залежності оптичної густини  $D=f(\nu)$ , використовуючи метод “базової лінії” [232]. За базову лінію вибирали максимальне значення величини пропускання  $T_0=\text{const}$  у конкретному спектрі. Розрахунок D проводили за формулою (2.5):

$$D = 1g \frac{T_0}{T} \quad , \quad (2.5)$$

в якій T – значення пропускання в розглянутому спектрі при деякому  $\nu$ ,  $T_0$  – значення фону (рис. 2.8), D – відповідна оптична густина.

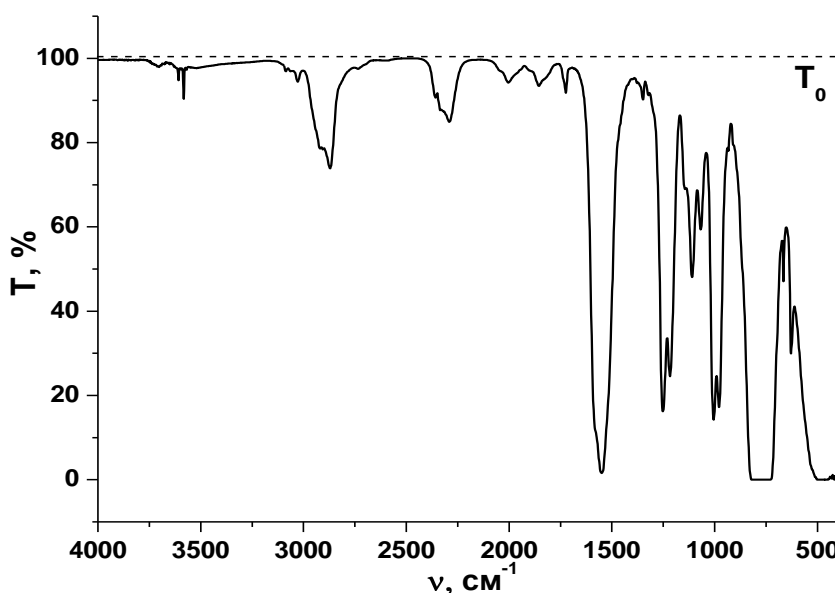


Рис. 2.8. Приклад FTIR спектру МОПЕГ1 у  $\text{CCl}_4$  при  $C_{\text{МОПЕГ}}=2,5 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  і  $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

## 2.11 Визначення параметрів міцелоутворення блок-кополімерів методом пружного світлорозсіювання

Метод пружного світлорозсіювання (ПС) є надійним та зручним методом визначення середньовагової ММ, середніх радіусів інерції макромолекул полімеру, термодинамічної якості розчинника по відношенню до полімеру. Він полягає у вимірюванні кутового розподілу вторинних хвиль, які випромінюють диполі, що утворюються в різних частинах макромолекул під дією монохроматичного пучка світла [233]. Метод ПС дозволяє одержати певні відомості про оптичні властивості і форму макромолекул у розчині, а також розрахувати деякі інші важливі молекулярні параметри лінійних і розгалужених гомополімерів та блок-кополімерів [233]. За допомогою цього методу також можна дослідити процеси міцелоутворення і асоціації у розчинах блок-кополімерів, оскільки при досягненні критичної концентрації міцелоутворення (ККМ) спостерігається різке зростання інтенсивності світлорозсіювання [234].

Процеси самозбірки макромолекул з утворенням міцелярних структур у розчинах ТБК<sub>ПАА</sub>, ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> вивчали шляхом визначення термодинамічних параметрів міцелоутворення, перш за все ККМ. Для цього вимірювали інтенсивність розсіювання ( $I_v$ ) вертикально поляризованого падаючого світла з  $\lambda=520$  нм при куті розсіювання  $\theta=90^\circ$  у водних або водно/органічних розчинах кополімерів в широкому діапазоні їх концентрацій. Для визначення ККМ зразків ТБК<sub>ПАА</sub> у водних розчинах готували вихідні розчини на знепиленій деіонізованій воді з концентрацією  $C=1$  кг·м<sup>-3</sup>, які потім розбавляли такою ж водою, щоб одержати серію розчинів з концентраціями 0,01÷1 кг·м<sup>-3</sup>. Дві серії водно/етанольних розчинів ТБК<sub>ПАА</sub> для визначення ККМ готували також розбавленням більш концентрованих розчинів. Для складу розчинника H<sub>2</sub>O/EtOH=80/20 об % готували вихідні водні розчини ТБК<sub>ПАА1</sub> і ТБК<sub>ПАА2</sub> з  $C=2$  кг·м<sup>-3</sup> та ТБК<sub>ПАА3</sub> з  $C=4$  кг·м<sup>-3</sup>; у випадку змішаного розчинника H<sub>2</sub>O/EtOH=30/70 об % готували вихідні водні розчини ТБК<sub>ПАА1</sub> з  $C=4$  кг·м<sup>-3</sup> та розчини ТБК<sub>ПАА2</sub> і ТБК<sub>ПАА3</sub> з  $C=2$  кг·м<sup>-3</sup>. В усіх випадках необхідний об'єм етанолу для формування певного складу змішаного розчинника додавали останнім. Для визначення ККМ у водно/діоксанових розчинах ДБК<sub>ПКЛ</sub> і

ТБК<sub>ПКЛ</sub> спочатку готували вихідні розчини в 1,4-діоксані з концентраціями  $C=1 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  для ДБК<sub>ПКЛ</sub>2-9 та  $C=2 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  для ТБК<sub>ПКЛ</sub>1, а потім їх розбавляли. При цьому необхідний об'єм знепиленої дейонізованої води для забезпечення складу змішаного розчинника  $\text{H}_2\text{O}/\text{діоксан}=70/30$  об % додавали останнім. Для приготування водно/органічних розчинів блок-кополімерів використовували також знепилені 1,4-діоксан та етанол. Для цього вказані органічні розчинники пропускали через скляний фільтр з мінімальним розміром пор (1,6-3,0 мкм).

Вимірювання проводили на модернізованому приладі ФПС-3 (Росія), що містив чутливий світлодіод WP7113VGC/A від "Kingbright", контролер ADC-CPU<sup>TM</sup> фірми "Insoftus" (Україна) та програму "WINRECORDER", яка крім вимірювання інтенсивності світлорозсіювання при фіксованому куті розсіювання  $\theta=90^\circ$  записувала індикатриси світлорозсіювання, розраховувала діаграми Зімма і визначала молекулярні параметри розсіюючих частинок шляхом подвійної екстраполяції даних.

Для міцел ТБК<sub>ПАА3</sub> методом ПС знаходили додаткові параметри, а саме: середньовагову молекулярну масу ( $M_w$ ), другий віріальний коефіцієнт ( $A_2$ ) і  $z$ -середній радіус інерції ( $\langle R_g^2 \rangle_z^{1/2}$ ). При цьому використовували водні розчини ТБК<sub>ПАА3</sub> з  $C > \text{ККМ}$ , які готували на знепиленій дейонізованій воді і в яких визначали коефіцієнт надлишкового розсіювання ( $R_{v(\theta)}$ ) як функцію  $\theta$ . Як еталон використовували знепилений і абсолютизований бензол; критерієм чистоти еталону був симетричний характер його індикатриси відносно  $\theta=90^\circ$ . Далі за програмою будували діаграму Зімма у вигляді залежності  $C \cdot K / R_{v(\theta)}$  від  $\sin^2(\theta/2) + k \cdot C$  [233], де  $K$  – оптична стала розчинів, розрахована за величиною  $\partial n / \partial C$ . Слід зазначити, що індикатриси розсіювання вертикально поляризованого світла в розчинах блок-кополімерів мали асиметричний характер, що вказувало на значний розмір їх міцелярних структур [233]. Усі розчини ТБК<sub>ПАА3</sub> готували розбавленням концентрованого розчину ( $C=1 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ) і витримували їх у знепиленому боксі протягом 24 год для досягнення термодинамічної рівноваги.

Для визначення оптичної сталої ( $K$ ) міцелярних розчинів ТБК<sub>ПАА3</sub> вимірювали інкремент показника заломлення ( $\partial n / \partial C$ ) на інтерферометрі ІТР-2 (Росія). Значення

К розраховували за наступною формулою [233].:

$$K = 4\pi^2 \cdot n_0^2 \cdot (\partial n / \partial C)^2 / (\lambda_0^4 \cdot N_A) \quad , \quad (2.6)$$

в якій  $n_0$  – показник заломлення розчинника,  $\lambda_0$  – довжина хвилі падаючого світла у вакуумі,  $N_A$  – число Авогадро. Слід відзначити, що величина  $\partial n / \partial C$  для блок-кополімерів може відрізнятись від інкременту показника заломлення відповідних гомополімерів [235]. Однак, якщо масова частка одного з блоків маленька, зміна в значенні  $\partial n / \partial C$  для блок-кополімеру в порівнянні зі значенням для основного компонента (найдовшого блоку) дуже незначна і може не прийматись до уваги [235]. Дійсно, для ТБК<sub>ПАА3</sub> значення  $\partial n / \partial C = 1,65 \cdot 10^{-4} \text{ м}^3 \cdot \text{кг}^{-1}$ , що є практично таким же, як і для чистого гомополімеру ПАА ( $\partial n / \partial C = 1,63 \cdot 10^{-4} \text{ м}^3 \cdot \text{кг}^{-1}$ ).

## 2.12 Використання УФ-спектроскопії в дослідженнях взаємодії блок-кополімерів з лікарськими субстанціями

Спектроскопія в ультрафіолетовій області спектру широко застосовується для якісної і кількісної оцінки хімічної будови полімерів, що містять функціональні групи, які поглинають електромагнітне випромінювання незалежно від наявності забарвлення (хромофори:  $>C=C<$ ,  $>C=O$ , бензол тощо). Крім хромофорів, смуги поглинання в УФ-спектрах дають функціональні групи  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-OR$  та інші (ауксохроми), які утворюють новий хромофор при спряженні з іншим хромофором за рахунок неподіленої пари електронів [231].

Наявність в молекулі ПЗ двох карбонільних груп, одна з яких спряжена з двома  $>C=C<$  групами (рис. 2.5), дало підстави використовувати метод УФ спектроскопії для дослідження взаємодії цього модельного лікарського препарату з ланцюгами ПАА і ПЕГ, а також встановлення ступеню його інкапсуляції міцелами ТБК<sub>ПАА</sub> і ДБК<sub>ПКЛ</sub>. Крім того, за цим методом визначали ступень інкапсуляції міцелами даних кополімерів другого лікарського препарату –  $\alpha$ -ТОКА, який містив у своїй хімічній структурі естерну групу, приєднану до бензольного кільця (рис. 2.6). УФ спектри знімали за допомогою спектрометра UV/VIS Spectrometer “Perkin Elmer Lambda 20” (Швеція) в кварцових комірках розміром 1 см при  $T=20-23 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Преднізолон демонстрував в УФ спектрі інтенсивну смугу  $n \rightarrow \pi^*$  переходу з  $\lambda_{\max} \sim 247-250$  нм, тому зміни її параметрів (положення та інтенсивності) аналізували для встановлення природи і ступеню зв'язування препарату з гомополімерами та міцелами блок-кополімерів. Взаємодію ПЗ окремо з ПАА1 і ПЕГ3 вивчали у змішаному розчиннику вода/етанол складу 70/30 та 30/70 об % за  $C_{\text{ПАА}}=C_{\text{ПЕГ}}=0,4$   $\text{кг} \cdot \text{м}^{-3}$  і  $C_{\text{ПЗ}}=8,53 \cdot 10^{-3}$   $\text{кг} \cdot \text{м}^{-3}$ . Ступень інкапсуляції препарату в “сніжинкоподібні” структури, які утворювались у водних та водно/етанольних сумішах ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>1-3 за малого вмісту етанолу, визначали за  $C_{\text{ТБК}}=1$   $\text{кг} \cdot \text{м}^{-3}$ , трьома співвідношеннями  $\varphi=0,021, 0,42$  і  $0,60$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ТБК</sub><sup>-1</sup>, складом змішаного розчинника вода/етанол=80/20 об % та часом контакту компонентів 24 год. Утворені внаслідок взаємодії ПЗ з міцелами ТБК<sub>ПАА</sub>1-3 “сніжинкоподібні” структури відділяли шляхом центрифугування при  $6 \cdot 10^3$  об·хв<sup>-1</sup> протягом 20 хв, а залишковий ПЗ у супернатантах знаходили за калібрувальною прямою, побудованою за амплітудами смуг поглинання з  $\lambda_{\max}=247$  нм (рис. 2.9, а) в УФ спектрах розчинів чистого ПЗ з різною концентрацією.

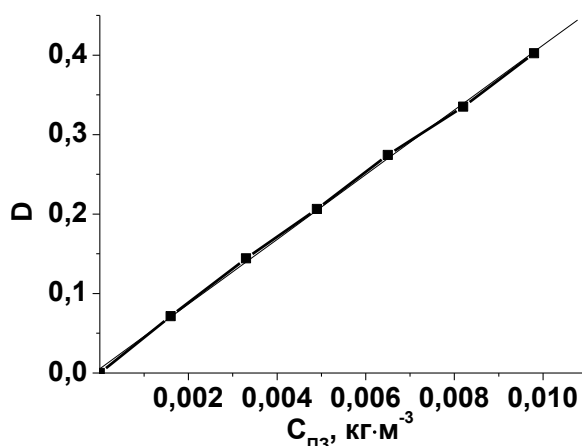


Рис. 2.9. Калібрувальна пряма, побудована за амплітудами смуг з  $\lambda_{\max}=247$  нм в УФ спектрах розчинів чистого ПЗ. Розчинник: вода/етанол=80/20 об %,  $T=22$  °С.

Значення коефіцієнта екстинції (тангенсу кута нахилу калібрувальної прямої) складало  $\varepsilon=40,7$   $\text{м}^3 \cdot \text{кг}^{-1}$ . Кількість ПЗ, зв'язаного міцелами ТБК<sub>ПАА</sub>, розраховували як різницю між початковою концентрацією препарату в сумішах і його концентрацією у відповідних супернатантах.

Ступінь інкапсуляції ПЗ міцелами ДБК<sub>ПКЛ</sub>8 визначали у водно/етанольних

(90,5/9,5 об %) розчинах. Для одержання міцел ДБК<sub>ПКЛ8</sub> у воді проводили діаліз міцелярної дисперсії диблок-кополімеру, сформованої в розчиннику вода/1,4-діоксан=70/30 об %, проти деіонізованої води впродовж двох тижнів. Концентрація ДБК<sub>ПКЛ8</sub> після діалізу складала  $C_{\text{ДБК}}=0,8 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ . Додавання етанольних розчинів ПЗ до водних розчинів блок-кополімеру викликало посилення мутності системи. Ступень зв'язування ПЗ міцелами ДБК<sub>ПКЛ8</sub> визначали через 24 год контакту для трьох співвідношень між компонентами:  $\varphi=0,1, 0,4$  та  $0,6 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}-\text{моль}_{\text{ДБК}}^{-1}$  за описаною вище методологією, однак в даному випадку цю величину розраховували за різницею інтегральних інтенсивностей смуги поглинання ПЗ (з  $\lambda_{\text{max}}=250 \text{ нм}$ ) у розчині чистого препарату з певною концентрацією та у відповідному супернатанті (приклад на рис. 2.10). Для розрахунку інтегральної інтенсивності (площі) вказаної смуги використовували сервісну комп'ютерну програму "Origin".

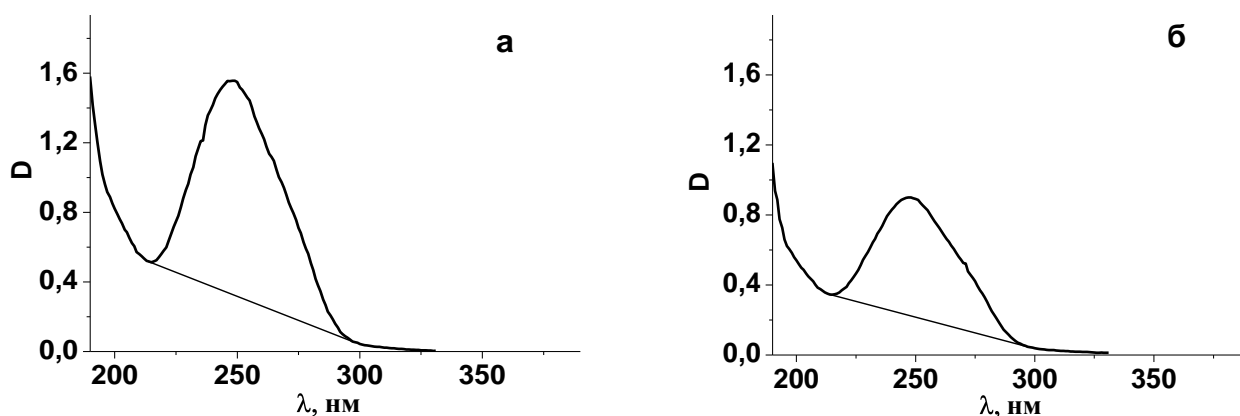


Рис. 2.10. Приклади визначення інтегральної інтенсивності смуги поглинання ПЗ з  $\lambda_{\text{max}}=250 \text{ нм}$  в УФ спектрі вихідного водного розчину ПЗ ( $C_{\text{ПЗ}}=1,823 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ), розбавленого в 50 разів (а), та супернатанту суміші ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub> ( $C_{\text{ПЗ}}=1,823 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $\varphi=0,6 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}-\text{моль}_{\text{ДБК}}^{-1}$ ), розбавленого в 25 разів (б).

Аналогічним чином визначали ступені зв'язування міцелами ТБК<sub>ПАА1</sub> та ДБК<sub>ПКЛ5</sub> аналогу вітаміну Е -  $\alpha$ -ТОКА в тих концентраціях і співвідношеннях, в яких проводили подальші дослідження міцелярних систем  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА1</sub> і  $\alpha$ -ТОКА/ДБК<sub>ПКЛ5</sub> *in vivo* на групах мишей, а саме:  $C_{\text{ТБК}}=C_{\text{ДБК}}=0,5 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,250 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ . Для створення першої міцелярної системи  $\alpha$ -ТОКА, розчинений у невеликому об'ємі етанолу (5 об % від загального об'єму розчину), гомогенно змішували з міцелами ТБК<sub>ПАА1</sub> у воді і витримували суміш протягом 24 год. При цьому мутність

системи підвищувалась. Одночасно готували “холостий” водно/етанольний розчин чистого  $\alpha$ -ТОКА прямо в комірці. Через 24 год міцелярну фазу з інкапсульованим препаратом відділяли центрифугуванням при  $9 \cdot 10^3$  об·хв<sup>-1</sup>, після чого знімали УФ спектри супернатанту та “холостого” розчину  $\alpha$ -ТОКА (рис. 2.11). В обох УФ спектрах спостерігали широку смугу поглинання з  $\lambda_{\max}=289$  нм, яка відповідала електронному переходу  $\pi \rightarrow \pi^*$  в заміщеному бензольному кільці  $\alpha$ -ТОКА (рис. 2.6). Ступень інкапсуляції  $\alpha$ -ТОКА оцінювали шляхом порівняння інтегральних інтенсивностей цієї смуги у розчині чистого  $\alpha$ -ТОКА та у супернатанті.

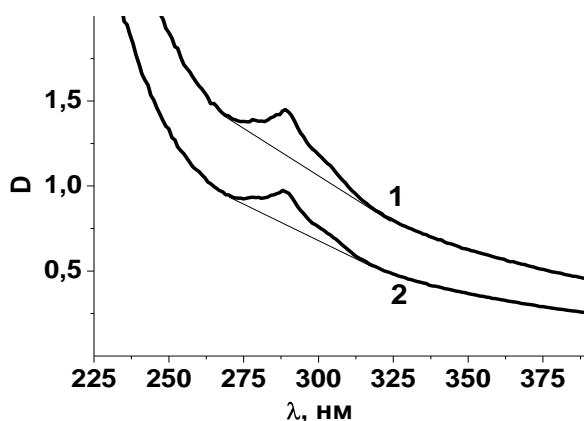


Рис. 2.11. УФ спектри чистого  $\alpha$ -ТОКА -1 та супернатанту -2 в системі  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА1</sub> у розчині вода/етанол = 95/5 об. %.

Для створення міцелярної системи  $\alpha$ -ТОКА/ДБК<sub>ПКЛ5</sub> в аналогічному водно/етанольному (95/5 об. %) розчиннику попередньо проводили діаліз міцелярної дисперсії ДБК<sub>ПКЛ5</sub>, сформованої в змішаному розчиннику вода/1,4-діоксан=70/30 об. %, проти деіонізованої води впродовж двох тижнів. Далі знімали УФ спектри зробленого прямо в комірці водно/етанольного розчину чистого  $\alpha$ -ТОКА з концентрацією  $C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,125$  кг·м<sup>-3</sup> та супернатанту водно/етанольної суміші  $\alpha$ -ТОКА/ДБК<sub>ПКЛ5</sub> (де створювали ту ж саму концентрацію препарату) після її витримки протягом 24 год та центрифугування при  $6 \cdot 10^3$  об·хв<sup>-1</sup> впродовж 30 хв. В отриманих УФ спектрах, що були аналогічні спектрам для системи  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА1</sub> (рис. 2.11), розраховували інтегральну інтенсивність смуги поглинання  $\alpha$ -ТОКА з  $\lambda_{\max}=289$  нм. Ступень зв'язування препарату визначали через різницю інтегральних інтенсивностей даної смуги в спектрах водно/етанольного

розчину  $\alpha$ -ТОКА та супернатанту відповідної суміші  $\alpha$ -ТОКА/ДБК<sub>ПКЛ5</sub>.

### **2.13 Характеризування міцелярних структур блок-кополімерів та їх композицій з преднізолоном методом динамічного світлорозсіювання**

Метод квазіупругого або динамічного світлорозсіювання (ДС) є сучасним та зручним методом визначення розмірів наночастинок. Він заснований на визначенні коефіцієнта дифузії дисперсних частинок в рідині шляхом аналізу характерного часу флуктуацій інтенсивності розсіяного світла. Хаотичний броунівський рух дисперсних частинок викликає флуктуації їх локальної концентрації. Внаслідок цього з'являються локальні неоднорідності показника заломлення середовища. При проходженні лазерного променя через таке середовище частина світла буде розсіюватись на цих неоднорідностях і виникатимуть флуктуації інтенсивності розсіяного світла. Флуктуації інтенсивності розсіяного світла будуть відповідати флуктуаціям локальної концентрації дисперсних часток, а коефіцієнт дифузії однозначно пов'язаний з радіусом частинки. Метод ДС дозволяє виміряти коефіцієнт дифузії дисперсних частинок в рідині, а отже фактично надає інформацію про розміри таких частинок. Інформація про коефіцієнт дифузії частинок знаходиться в залежності від часу кореляційної функції флуктуацій інтенсивності розсіяного світла [236, 237].

В даній роботі метод ДС використовували, перш за все, для встановлення розмірів міцел диблок- та триблок-кополімерів у водному середовищі. Розміри міцелярних структур ТБК<sub>ПАА</sub> визначали безпосередньо у водних розчинах даних триблок-кополімерів. Для визначення розмірів міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> у воді спочатку проводили діаліз їх міцелярних дисперсій, одержаних у змішаному розчиннику (вода/1,4-діоксан=70/30 об %), проти деіонізованої води впродовж двох тижнів. Автокореляційну функцію розсіяного світла вимірювали в міцелярних водних розчинах ТБК<sub>ПАА</sub>, ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> при концентраціях кополімерів, вищих за ККМ (для ТБК<sub>ПАА</sub>  $C=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ; для ДБК<sub>ПКЛ2</sub> і ДБК<sub>ПКЛ3</sub>  $C=0,1 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ; для ДБК<sub>ПКЛ5</sub> і ДБК<sub>ПКЛ8</sub>  $C=0,24 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ; для ДБК<sub>ПКЛ9</sub> і ТБК<sub>ПКЛ1</sub>  $C=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ).

Вивчали також вплив добавок ПЗ на розміри міцелярних структур блок-

кополімерів. Для цього вимірювали три серії розчинів: 1) композиції ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>1 ( $C_{\text{ТБК}}=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ) у водно/етанольному середовищі (частка EtOH 9 об %) за  $\phi=0,065, 0,130, 0,195, 0,260, \text{ і } 0,390 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}\cdot\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$ ; 2) композиції ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub>8 ( $C_{\text{ДБК}}=0,24 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ) у водно/етанольних розчинах (частка EtOH 9 об %) за  $\phi=0,08, 0,16, 0,24, 0,32, 0,40$  та  $0,48 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}\cdot\text{моль}_{\text{ДБК}}^{-1}$ ; 3) водно/етанольні розчини чистого ПЗ (частка EtOH 10 об %), з тими ж концентраціями, що і у відповідних сумішах з блок-кополімерами. Для уникнення можливої похибки, пов'язаної з утворенням мікробульбашок при переливанні розчинів з мірних колб у маленьку вимірювальну комірку, усі композиції одразу готували в індивідуальних знепилених вимірювальних комірках і витримували протягом 24 год в закритому вигляді при кімнатній температурі.

Вимірювання середніх розмірів міцел в розчинах чистих блок-кополімерів, в композиціях з ПЗ та розмірів агрегатів ПЗ проводили при  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  на приладі ZetaSizer 3 фірми “Malvern” (Велика Британія) з використанням He-Ne лазера ( $\lambda=632,8 \text{ нм}$ ) як джерела світла. Для кожного розчину проводили 10-12 паралельних вимірювань. Реалізація методу на даному приладі полягала у вимірюванні кореляційної функції розсіяного поля (автокореляційної функції флуктуацій напруження на фотокатоді), визначенні сталої часу  $\Gamma(q,C)$  цієї функції (чи розподілу за сталими часу для полідисперсних розсіюючих центрів) і встановленні ефективного коефіцієнта дифузії  $D(q,C)$  (розподілу за коефіцієнтами дифузії) за співвідношенням [237]:

$$\Gamma = D(q,C) \cdot q^2, \quad (2.7)$$

в якому  $q = [4\pi \cdot n \cdot \sin(\theta/2)] / \lambda$  є вектором розсіювання. В останньому рівнянні  $n$  – показник заломлення розчинника (води),  $\lambda$  – довжина хвилі падаючого світла,  $\theta$  – кут розсіювання. Результати вимірювань ДС обробляли за програмою, що реалізує моноmodalний підхід, та за алгоритмом CONTIN (програма PSC: size mode v.1.61), який оснований на поліmodalному підході. Остання програма дозволяє отримувати одразу три криві розподілу за розмірами розсіюючих частинок: на основі інтенсивності розсіювання лазерного світла, величини об'єму частинок та їх

кількості. Таким чином вдалось провести більш тонкий аналіз змін у стані міцел в залежності від концентрації блок-кополімерів і вмісту ПЗ та одержати більш коректні середні розміри міцелярних структур та агрегатів ПЗ.

#### 2.14 Вивчення морфології міцел блок-кополімерів за допомогою TEM

Метод трансмісійної (проникної) електронної мікроскопії (ТЕМ) є одним з найперспективніших методів вивчення структури полімерів, оскільки дозволяє візуалізувати макромолекули, їх взаємне розташування і надмолекулярні утворення. Завдяки короткій довжині хвилі електронного променя, даний метод забезпечує найвищу роздільну здатність серед інших методів мікроскопії. Для формування зображення в ТЕМ застосовується монокінетичний пучок швидких електронів, прискорений високою напругою (50-100 кВ), які фокусуються електричним або магнітним полем [238].

Мікрофотографії ТЕМ отримували для водних та водно/етанольних (вода/спирт=30/70 об %) міцелярних дисперсій ТБК<sub>ПАА</sub> ( $C_{\text{ТБК}}=0,2 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ), композицій ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> 1 ( $C_{\text{ТБК}}=0,5 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $\varphi=0,2$  і  $0,4 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}\cdot\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$ , вміст EtOH 20 об %), а також для водних міцелярних дисперсій ДБК<sub>ПКЛ</sub> 3 ( $C=0,1 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ), ДБК<sub>ПКЛ</sub> 5 ( $C=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ), ТБК<sub>ПКЛ</sub> 1 ( $C=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ), отриманих діалізом впродовж двох тижнів як описано вище, водно/діоксанових міцелярних розчинів ДБК<sub>ПКЛ</sub> 9 і ТБК<sub>ПКЛ</sub> 1 ( $C=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ , вміст 1,4-діоксану 30 об %) та композицій ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub> 8 ( $C_{\text{ДБК}}=0,5 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $\varphi=0,24 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}\cdot\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$ , вміст EtOH 9 об %).

Дослідження проводили за допомогою електронного мікроскопа JEM-1230 фірми “JEOL” (Японія) при напрузі 90 кВ. Малі краплини ( $1\cdot 10^{-4} \text{ см}^3$ ) розчинів наносили на мідні сіточки, вкриті плівкою формвару та вуглецю і швидко висушували протягом  $\sim 0,5$ -1 хв спочатку на повітрі, а потім у вакуум-ексикаторі під тиском 0,2-0,3 Па при кімнатній температурі. Для отримання зображень саме нативних міцелярних структур їх стабілізацію на мідних сіточках не проводили жодним хімічним реагентом. Тому зйомку відповідних структур здійснювали максимально швидко, аби запобігти їх випалюванню електронним пучком.

## 2.15 Випробування *in vivo* біологічної активності міцелярних носіїв з аналогом вітаміну Е

Одним з найважливіших етапів даної роботи було дослідження міцел блок-кополімерів ТБК<sub>ПАА</sub> та ДБК<sub>ПКЛ5</sub> що відносяться до двох різних типів, як носіїв лікарських препаратів в живих організмах. Біологічну активність міцелярних композицій з аналогом вітаміну Е -  $\alpha$ -ТОКА досліджували *in vivo* на піддослідних білих мишах. Для цього було сформовано шість груп мишей: 2 контрольних і 4 дослідних, кожна з яких випоювали звичайною водою (контрольна група 1), водою з  $\alpha$ -ТОКА, розчиненим в етанолі, з концентрацією  $C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,25 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  (контрольна група 2), міцелярними композиціями  $\alpha$ -ТОКА/ДБК<sub>ПКЛ5</sub> з  $C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,25$  та  $0,01 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  (1 і 2 дослідні групи), а також міцелярними композиціями  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА1</sub> з  $C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,25$  та  $0,01 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  (3 та 4 дослідні групи).

Оскільки ТБК<sub>ПАА1</sub> добре розчинявся і формував міцелярні структури у воді, то перед внесенням в його міцелярну дисперсію аналогу вітаміну Е ніякого додаткового очищення не проводили. До міцелярної дисперсії ТБК<sub>ПАА1</sub> у воді з  $C_{\text{ТБК}}=0,5 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  додавали необхідну кількість  $\alpha$ -ТОКА в етанолі, що складало 4,76 об % від загального об'єму розчину. Отримана міцелярна композиція містила  $\alpha$ -ТОКА з  $C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,25 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  (розчин випробовували на 1-ій дослідній групі мишей). Для 2-ої дослідної групи мишей використовували розведену в 25 разів міцелярну систему  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА1</sub> ( $C_{\text{ТБК}}=0,02 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  і  $C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,01 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ).

Міцелярні структури ДБК<sub>ПКЛ5</sub> формували спочатку в змішаному розчиннику вода/1,4-діоксан=70/30 об %. Оскільки 1,4-діоксан є токсичною речовиною, то перед інкапсуляцією  $\alpha$ -ТОКА, міцелярну дисперсію ДБК<sub>ПКЛ5</sub> чистили від органічного розчинника за допомогою діалізу проти деіонізованої води впродовж двох тижнів з контролем повного видалення діоксану методом УФ спектроскопії (за смугою електронного  $n \rightarrow \sigma^*$  переходу з  $\lambda_{\text{max}}=215 \text{ нм}$ ). В результаті, одержували міцелярну дисперсію ДБК<sub>ПКЛ5</sub> у деіонізованій воді з концентрацією  $C_{\text{ДБК}}=0,5 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ , в яку вводили необхідну кількість  $\alpha$ -ТОКА в етанолі (вміст ЕтОН складав 4,25 об %). Отримана міцелярна композиція  $\alpha$ -ТОКА/ДБК<sub>ПКЛ5</sub> містила аналог вітаміну Е з концентрацією  $C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,25 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  (розчин випробовували на 3-ій дослідній групі

мишей). Для 4-ої дослідної групи мишей використовували розведену в 25 разів міцелярну композицію ( $C_{\text{ДБК}}=0,02 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  і  $C_{\alpha\text{-ТОКА}} = 0,01 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ).

Усі групи мишей вигоювали водою або зазначеними розчинами впродовж 3-х місяців, проводили їх зважування для визначення змін у масі тіла, а після закінчення цього терміну відбирали дослідний матеріал (кров та зразки тканин) і проводили зважування внутрішніх органів – печінки, селезінки та обох нирок. Для більш глибокого розуміння впливу міцелярних композицій з  $\alpha$ -ТОКА на процеси метаболізму в піддослідних тваринах досліджували біохімічні показники сироватки крові, які визначали в лабораторіях НУБіП України за відомими і строго регламентованими методиками [239, 240]. Вітамін Е та його аналоги є потенційно цікавими для галузі тваринництва як харчова біодобавка, яка може покращити якість м'ясної продукції за рахунок накопичення вітаміну Е в тканинах тіла, тому додатково визначали вміст  $\alpha$ -ТОКА в м'язових тканинах мишей та печінці (метод визначення МВ №1514/129-2000).

## РОЗДІЛ 3

### ТРИБЛОК-КОПОЛІМЕРИ ТБК<sub>ПАА</sub> З ХІМІЧНО КОМПЛЕМЕНТАРНИМИ КОМПОНЕНТАМИ: СИНТЕЗ ТА ОСОБЛИВОСТІ ПОВЕДІНКИ У РОЗЧИНАХ

Триблок-кополімери ТБК<sub>ПАА</sub> містять хімічно комплементарні полімерні компоненти і тому відносяться до собливого класу полімерних сполук – “інтрамолекулярних полікомплексів” (ІнтраПК) (або “інтраполімерних комплексів” чи “самокомплексів” [193]). В останні роки науковий інтерес до процесів синтезу, молекулярної будови, структури і функціональних властивостей таких блок- та прищеплених кополімерів, що містять хімічно комплементарні компоненти і здатні утворювати ІнтраПК, значно підвищився. Відомо два типи інтрамолекулярних полікомплексів: 1) ІнтраПК, що сформовані за рахунок кооперативних сольових зв'язків і отримали назву “цвіттер-йонних” блок- або прищеплених кополімерів (вони подібні за властивостями до поліелектролітних комплексів [196, 241]); 2) ІнтраПК, які стабілізовані системою водневих зв'язків між комплементарними блоками в блок-кополімерах або між основними ланцюгами і щепленнями в прищеплених кополімерах. Саме до другого типу ІнтраПК відносяться блок-кополімери ТБК<sub>ПАА</sub> [193]. На відміну від традиційних амфифільних блок-кополімерів з несумісними полімерними компонентами, блок-кополімери, що утворюють ІнтраПК, здатні проявляти більш різнобічну стимул-чутливу поведінку в розчинах [200, 201]. Це надає їм переваги як перспективних полімерних матеріалів для багатоцільового використання. Раніше в нашій лабораторії було розпочато дослідження синтезу, системи водневих зв'язків і блочної структури ТБК<sub>ПАА</sub> зі змінною довжиною центрального і бічних блоків [145, 146], однак деякі аспекти синтезу даних кополімерів, а також закономірності процесів міцелоутворення залишились поза увагою авторів цих робіт.

В даному розділі представлені результати подальших досліджень особливостей синтезу, макромолекулярних параметрів та міцелоутворення у водних та водно/спиртових розчинах ряду ТБК<sub>ПАА</sub>, що утворюють ІнтраПК, зі змінною ММ

блоків ПЕО і ПАА. Також вперше досліджено специфіку міцелоутворення і морфологію міцелярних структур, які сформовані цими полімерними сполуками.

### **3.1 Матричні ефекти при синтезі ТБК<sub>ПАА</sub>; молекулярні параметри одержаних кополімерів**

Чимало досліджень останнього часу присвячено сучасним методам контрольованого синтезу кополімерів блочного типу (в тому числі і з хімічно комплементарними компонентами), особливо цікавими серед яких є процеси керованого радикального синтезу: ATRP, SFRP, RAFT та MADIX (розділ 1.1). Ці методи здатні забезпечити вузький молекулярно-масовий розподіл в отриманих продуктах, а також використовуються для створення необхідної архітектури макромолекул та одержання полімерів із заздалегідь визначеними абсолютною і відносною довжинами різних за природою блоків [10, 20]. В той же час, риси керованих радикальних процесів може мати вільнорадикальна блок-кополімеризація, що супроводжується матричними ефектами. Відома досить обмежена кількість робіт, які присвячені матричним ефектам в процесах радикальної блок- і прищепленої кополімеризації [92]. Розгляд можливого впливу на механізм і кінетику блок-кополімеризації взаємодії між зростаючим ланцюгом однієї хімічної природи і вже сформованим блоком другої хімічної природи, які є ковалентно зв'язаними, було розпочато нещодавно в нашій лабораторії [242, 243].

Продовженням цих досліджень стало вивчення кінетичних закономірностей синтезу ряду кополімерів ТБК<sub>ПАА</sub> з різною довжиною центрального блоку ПЕО методом радикальної блок-кополімеризації з використанням окисно-відновного механізму утворення вільних радикалів при цілеспрямованій зміні складу реакційних сумішей. Головними відмінностями даної серії синтезів ТБК<sub>ПАА</sub> від попередніх [242, 243] були: 1) постійні концентрації мономеру АА і ПЕГ різної ММ, підібрані таким чином, щоб у всіх синтезах зберігалось постійним співвідношення  $\gamma = [AA]/[EO] = 1$  моль·осн-моль<sup>-1</sup>, 2) зменшення концентрації солі Се<sup>IV</sup> при збільшенні молекулярної маси ПЕГ від 6 до 35 кДа, тобто зменшення мольного співвідношення  $\beta = [Ce^{IV}]/[AA]$  від  $7,35 \cdot 10^{-3}$  до  $1,26 \cdot 10^{-3}$  для досягнення постійного мольного

співвідношення  $\alpha=[\text{Ce}^{\text{IV}}]/[-\text{OH}]=1$ , тобто рівної ММ блоків ПЕО і ПАА після синтезу (розділ 2.1, рис. 2.1).

Кінетику блок-кополімеризації та для порівняння гомополімеризації АА вивчали методом дилатометрії, що описаний в розділі 2.5. Результати дилатометричних досліджень наведені на рис. 3.1 та в табл. 3.1.

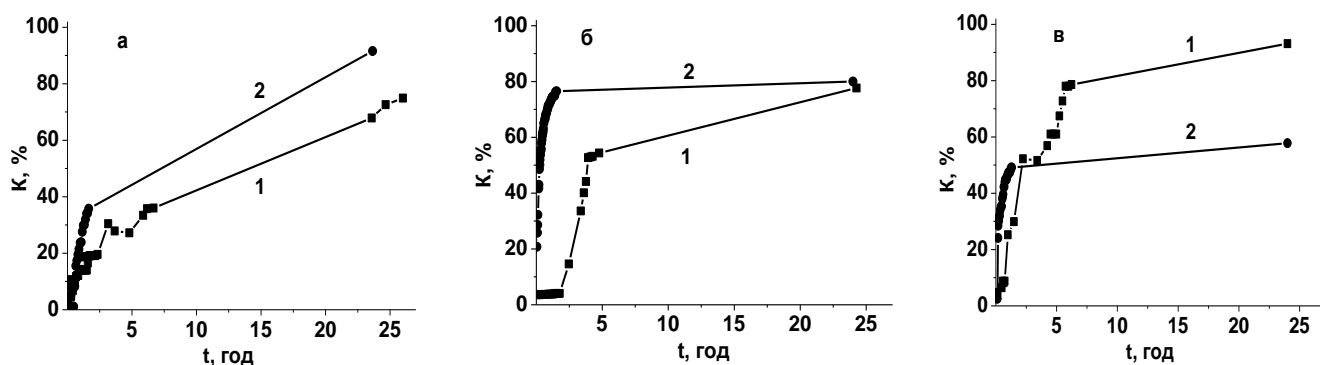


Рис. 3.1. Залежність конверсії АА від часу блок-кополімеризації –1 та гомополімеризації –2 з ПЕГ1 (а), ПЕГ2 (б) та ПЕГ3 (в).  $T=15\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Таблиця 3.1

Кінетичні параметри блок-кополімеризації ПАА з ПЕГ різної ММ

Полімер	$M_{\text{VPEO}}$ , кДа	$\beta \cdot 10^3$ , <sup>1)</sup>	$\tau_0$ , <sup>2)</sup> хв	$v_{10} \cdot 10^4$ , <sup>3)</sup> моль·дм <sup>-3</sup> ·с <sup>-1</sup>	$v_{20} \cdot 10^4$ , моль·дм <sup>-3</sup> ·с <sup>-1</sup>	$K_{24}$ , <sup>4)</sup> %
ТБК <sub>ПАА1</sub>	6	7,35	0	0,46	0,15	72,6
ПАА1	-		28,2	2,31	0,64	91,6
ТБК <sub>ПАА2</sub>	14	3,14	89,8	0,61	0,61	77,6
ПАА2	-		0	8,52	8,52	76,6
ТБК <sub>ПАА3</sub>	35	1,26	26,1	7,78	7,78	85,9
ПАА3	-		7,5	10,58	10,58	57,1

<sup>1)</sup> Мольне співвідношення  $\beta=[\text{Ce}^{\text{IV}}]/[\text{AA}]$ ; співвідношення  $\alpha=[\text{Ce}^{\text{IV}}]/[-\text{OH}]=1$  та  $\gamma=[\text{AA}]/[\text{EO}]=1$  були незмінними в усіх синтезах. <sup>2)</sup> Індукційний період. <sup>3)</sup> Швидкості гомополімеризації та блок-кополімеризації при конверсії мономеру 10 і 20 мас %. <sup>4)</sup> Конверсія мономеру через 24 год.

Порівняння кінетичних параметрів процесів гомо- та блок-кополімеризації АА здійснювали на підставі того, що стадії ініціювання та росту ланцюгів ПАА в обох процесах відбувались за однаковим механізмом (розділ 2.2, рис. 2.2). При блок-кополімеризації концентрація йонів  $\text{Ce}^{\text{IV}}$ , яка є визначальною при створенні макроініціаторів, залежала від концентрації кінцевих гідроксильних груп ПЕГ, а

отже від ММ ПЕГ. Однак, у випадку гомополімеризації ПАА, від концентрації етилового спирту (в дослідженій області його вмісту) кінетичні параметри залежали мало. З урахуванням цього кінетику обох процесів порівнювали при однакових мольних концентраціях АА, ПЕГ (або молекул EtOH) та змінній концентрації йонів  $\text{Ce}^{\text{IV}}$ , які відповідали конкретному синтезу  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$ .

Видно, що блок-кополімеризація ПАА з ПЕГ проходить з помітно меншою швидкістю, ніж гомополімеризація АА (табл. 3.1), при цьому конверсія мономеру через 24 год для  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  нижча, ніж у відповідних гомополімерів ПАА (окрім випадку  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}3}$ ). Ці факти свідчать про наявність негативного динамічного матричного ефекту, що обумовлений комплексоутворенням між зростаючим (“дочірнім”) ланцюгом ПАА та матрицею – блоком ПЕО за рахунок водневих зв’язків та компактизацією гідрофобних ділянок зв’язування. Внаслідок цього окремі (незв’язані) ланки матриці стають менш доступні для молекул мономеру і відбувається зменшення швидкості полімеризаційного процесу. Початком реакції є формування комплексу між ОН-групами ПЕГ та іонами  $\text{Ce}^{\text{IV}}$ , який через певний час розпадається з утворенням вільного радикалу [244]. Далі полімеризується АА, і коли блок ПАА досягає розмірів, достатніх для взаємодії з ПЕО, відбувається утворення кооперативних водневих зв’язків між ковалентно зв’язаними блоками ПЕО і ПАА, тобто фактично, утворення інтрамолекулярних полікомплексів (ІнтраПК). Н-зв’язані ділянки блоків в  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  мають знижену розчинність у воді, що зумовлює гідрофобізацію макромолекул  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  та їх компактизацію, внаслідок чого відбувається певне помутніння реакційної суміші. Наявність різного індукційного періоду при синтезі  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  вочевидь зумовлено різним часом існування проміжного комплексу йонів  $\text{Ce}^{\text{IV}}$  з кінцевими гідроксильними групами ПЕГ. Про наявність матричного ефекту і впливу довжини ПЕГ на полімеризацію АА свідчило також те, що швидкість блок-кополімеризації в ряду  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}1-3}$  поступово зростала зі збільшенням довжини центрального блоку, який і відігравав роль матриці.

Цікавий ефект спостерігався при гомополімеризації АА, а саме: відбувалось збільшення швидкості гомополімеризації при зменшенні концентрації  $\text{Ce}^{\text{IV}}$  (і ОН-груп) в системі з етиловим спиртом. Згідно класичним уявленням про радикальну

полімеризацію з використанням традиційних ініціаторів [12], швидкість гомополімеризації АА повинна була б залежати від концентрації ініціатора як  $[I]^{0.5}$  і при зменшенні концентрації ініціатора мала б зменшуватись. Однак, при гомополімеризації АА, ініційованої іонами  $Se^{IV}$ , ми спостерігали протилежну картину – зростання швидкості процесу при зменшенні концентрації ініціатора. З іншого боку, оскільки іони  $Se^{IV}$ , як вважають, приймають участь також і в обриві ланцюгів, то швидкість не повинна була б залежати від концентрації іонів  $Se^{IV}$  [245]. У зв'язку з цим цікаво було звернутися до літературних джерел. Існує відносно мало даних стосовно гомополімеризації АА, що ініційована окисно-відновними системами за участі діамонійгексанітратоцерату та відновника, а ті роботи, які опубліковані, містять суперечливі дані. Зокрема, в роботах [246, 247] автори фіксували збільшення ММ та зменшення виходу продукту, тобто швидкості процесу і конверсії мономеру, при зменшенні концентрації окисно-відновного ініціатора ( $Se^{IV}$ /меркаптоянтарна кислота [246] або  $Se^{IV}$ /метіонін [247]). На відміну від цього, автори роботи [248] вказували на протилежну тенденцію при використанні окисно-відновного ініціатора  $Se^{IV}$ /поліамінокарбонова кислота (нітрилтриоцтова кислота, етилендіамінтетраоцтова кислота тощо), яка узгоджувалась з теоретичними прогнозами. Тому, виявлений нами ефект поки що не може бути коректно інтерпретований і потребує окремих додаткових досліджень.

Блок-кополімеризацію ПАА з ПЕГ проводили в умовах, підібраних для отримання в кінцевому ТБК<sub>ПАА</sub> рівної довжини блоків ПЕО і ПАА, однак отримані зразки ТБК<sub>ПАА</sub> 1-3 мали виражений асиметричний характер, оскільки ММ блоків ПАА значно перевищувала ММ блоків ПЕО (табл. 3.2). При цьому спостерігали також зростання ММ блоку ПАА при збільшенні ММ блоку ПЕО. Таким чином, довжина матриць – блоків ПЕО здійснювала істотний вплив не лише на швидкість процесу синтезу, а й на молекулярну будову ТБК<sub>ПАА</sub>, тобто проявлявся структурний матричний ефект.

Одним з пояснень ефекту подовження блоків ПАА при збільшенні довжини ПЕО може бути відоме з літератури явище “оклюзії” радикальних центрів росту при утворенні в процесі полімеризації все більш компактного продукту [249], що

призводить до зниження вірогідності реакцій обриву зростаючих ланцюгів і підвищення їх ММ. Найбільшу “оклюзію” радикальних центрів на ланцюгах ПАА слід очікувати при блок-кополімеризації з найдовшими ланцюгами ПЕГ, оскільки в такому випадку реалізується найбільш сильна взаємодія хімічно комплементарних блоків ПАА і ПЕГ, утворення найбільш довгих послідовностей Н-зв'язків і найбільш сильна компактизація макромолекул блок-кополімеру у воді.

Для  $TBK_{ПАА}$  визначали також конверсію мономеру через 48 год і було зафіксовано її зростання від 78 до 93 %. Більш високе значення конверсії мономеру через 24 год у порівнянні з гомополімеризацією АА демонстрував зразок  $TBK_{ПАА3}$  (рис. 3.1 в). Таку відмінність при синтезі даного зразка кополімеру можна було пояснити проявленням добре відомого “гель-ефекту” [12], коли на глибоких стадіях полімеризації відбувається різке прискорення процесу і збільшення ММ полімеру внаслідок збільшення в'язкості реакційної суміші. Найбільш вірогідними причинами появи “гель-ефекту” при синтезі  $TBK_{ПАА3}$  є: 1) найбільша довжина блоків ПЕО і ПАА та 2) перехід від внутрішньомолекулярної взаємодії хімічно комплементарних блоків до їх міжмолекулярної асоціації при високій конверсії мономеру (тобто концентрації блок-кополімеру у реакційній суміші). Аналогічний за характером перехід від внутрішньомолекулярної асоціації гідрофобних блоків до їх міжмолекулярної асоціації, який супроводжується сильним гелеутворенням, добре відомий для розчинів так званих “телехелевих” блок-кополімерів (амфіфільних триблок-кополімерів з бічними гідрофобними блоками) при зростанні їх концентрації [250]. Різниця полягає лише у типі зв'язків, які забезпечують внутрішньо- або міжмолекулярну асоціацію: в нашому випадку це – водневі зв'язки між блоками ПЕО і ПАА, а у випадку телехелевих блок-кополімерів – більш слабкі дисперсійні взаємодії між гідрофобними блоками.

Ідентифікацію хімічної будови синтезованих кополімерів  $TBK_{ПАА}$ , а також відповідних зразків ПЕГ і ПАА здійснювали за допомогою  $^1H$  ЯМР спектроскопії (розділ 2.6). На рис. 3.2 представлені приклади спектрів. Інтерпретацію спектрів проводили у відповідності з атласом ЯМР спектрів [251].

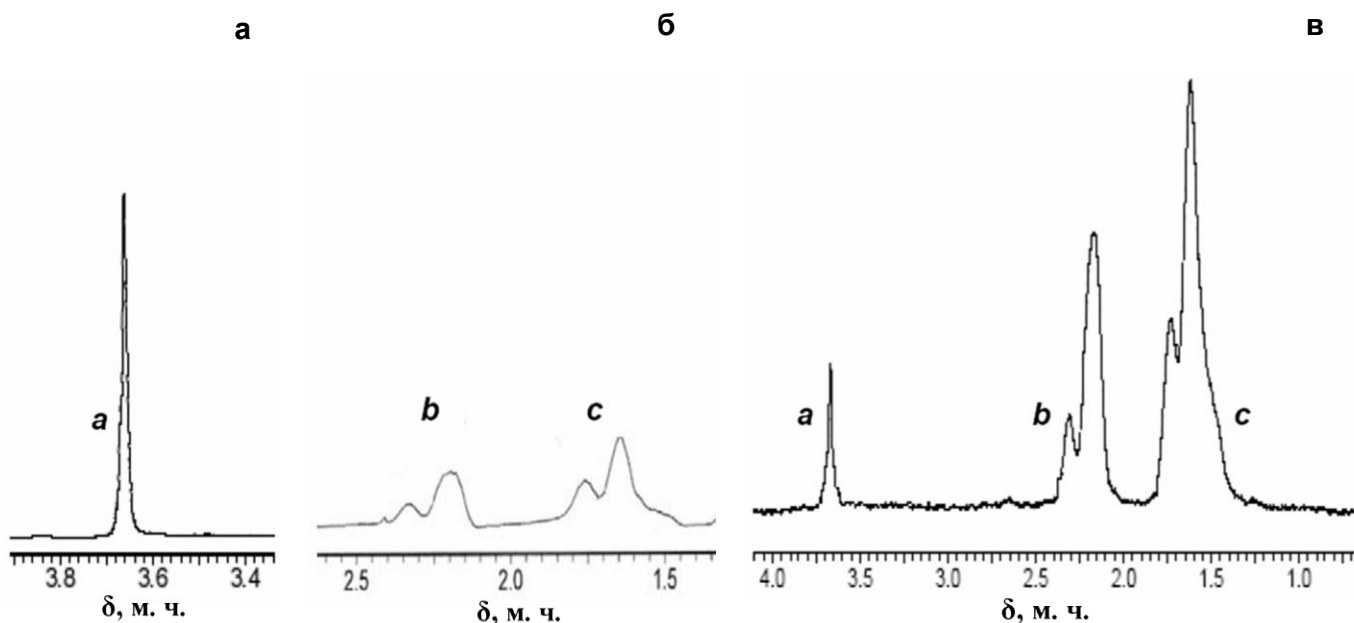


Рис. 3.2. Приклади  $^1\text{H}$  ЯМР спектрів для ПЕГ2 (**а**), ПАА1 (**б**) і ТБК<sub>ПAA</sub>2 (**в**) (розчинник  $\text{D}_2\text{O}$ , концентрація  $C=10 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ). Позначення **a**, **b**, **c** означають резонансні сигнали протонів етиленових груп ПЕО, а також метинових і метиленових груп ПAA, відповідно.

У спектрі вихідного зразка ПЕГ2 окрім сигналу протонів розчинника ( $\text{D}_2\text{O}$ ) з величиною хімічного зсуву  $\delta=4,80$  м.ч., що не показаний на рисунку, присутній лише один сигнал протонів метиленових груп з  $\delta=3,68$  м.ч. (рис. 3.2 **а**, сигнал **a**). Спектр ПAA (рис. 3.2 **б**) містить дві групи інтенсивних сигналів в областях  $\delta=1,4-1,8$  м.ч. і  $2,1-2,4$  м.ч., які відповідають протонам метиленових (сигнал **c**) та метинових груп (сигнал **b**) акриламідних ланок ПAA. Наявність у спектрах зразків ТБК<sub>ПAA</sub> (рис. 3.2 **в**) усіх трьох сигналів **a**, **b** і **c** (з величинами хімічних зсувів  $\delta=3,68$ ,  $2,0-2,4$  та  $1,3-1,9$  м.ч. відповідно) свідчить про присутність у кополімерах обох блоків ПЕО і ПAA.

Використовуючи інтегральні інтенсивності ( $A$ ) сигналів протонів **a** і **b** або **a** і **c**, а також ММ зразків ПЕГ, розраховували середньочислові ММ блоків ПAA в макромолекулах ТБК<sub>ПAA</sub> 1-3 за наступними формулами:

$$M_{n\text{-ПAA}} = \frac{M_{0\text{-ПAA}} \cdot M_{n\text{ПЕГ}} \cdot A_b}{M_{0\text{-ПЕГ}} \cdot A_a} \quad \text{або} \quad M_{n\text{-ПAA}} = \frac{2 \cdot M_{0\text{-ПAA}} \cdot M_{n\text{ПЕГ}} \cdot A_c}{M_{0\text{ПЕГ}} \cdot A_a} \quad (3.1)$$

де  $M_{0\text{ ПЕГ}}$  і  $M_{0\text{ ПAA}}$  – молекулярні маси ланок ПЕГ і ПAA. Подібні розрахунки для кополімерів блочного типу широко використовують у сучасній літературі [228, 252]. Далі молекулярну масу ТБК розраховували за співвідношенням:

$$M_{n\text{ТБК}} = M_{n\text{ПЕО}} + 2 \cdot M_{n\text{ПAA}} \quad (3.2)$$

Отримані таким чином молекулярні характеристики синтезованих зразків ТБК<sub>ПАА</sub> представлені в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Основні молекулярні параметри ТБК<sub>ПАА</sub> за даними <sup>1</sup>H ЯМР

Полімер	M <sub>n</sub> ПЕО, кДа	M <sub>n</sub> ПАА, кДа	M <sub>n</sub> ТБК, кДа	w <sub>ПЕО</sub> <sup>1)</sup> , %	n <sup>2)</sup>
ТБК <sub>ПАА</sub> 1	6	116	238	2,52	12
ТБК <sub>ПАА</sub> 2	14	1045	2104	0,67	46
ТБК <sub>ПАА</sub> 3	35	3055	6145	0,57	54

<sup>1)</sup> Масова частка блоку ПЕО в ТБК<sub>ПАА</sub>. <sup>2)</sup> Співвідношення між ланками блоків ПАА і ПЕО,  $\text{осн-моль}_{\text{ПАА}} \cdot \text{осн-моль}_{\text{ПЕО}}^{-1}$ .

З таблиці 3.2 видно, що в ході синтезу ми отримали серію асиметричних триблок-кополімерів, в яких зі збільшенням ММ центрального блоку ПЕО зростає і ММ бічних блоків ПАА; при цьому спостерігається поступове зменшення масової частки блоку ПЕО. Одним з пояснень ефекту подовження блоків ПАА при збільшенні довжини ПЕО може бути явище екранування або “оклюзії” радикальних центрів росту при утворенні в процесі полімеризації все більш гідрофобізованого (за рахунок комплексоутворення блоків) продукту [249], що призводить до зниження вірогідності реакцій обриву зростаючих ланцюгів і підвищення швидкості їх росту і ММ. В такому аспекті, найбільшу “оклюзію” радикальних центрів на ланцюгах ПАА слід очікувати в процесах блок-кополімеризації з найдовшими ланцюгами ПЕГ, оскільки саме в цих випадках реалізується найбільш сильна взаємодія хімічно комплементарних блоків. Таким чином, матриця здійснює суттєвий вплив як на процес синтезу, так і на молекулярну структуру блок-кополімерів.

### 3.2 Процеси міцелоутворення у водних розчинах ТБК<sub>ПАА</sub>

Відомо, що у блок-кополімерах, які утворюють ІнтраПК, існує кооперативна взаємодія хімічно комплементарними полімерними ланцюгами з формуванням між ними системи водневих (або електростатичних) зв'язків, завдяки чому в розбавлених водних розчинах утворюються “гідрофобні блоки” в межах кожної макромолекули [193, 253]. Розміри таких “гідрофобних блоків” будуть залежати від

довжини взаємодіючих ланцюгів, їх структурної та конформаційної комлементарності, а також від енергії окремого зв'язку між активними групами блоків. Вплив названих факторів неодноразово описаний в дослідженнях, присвячених інtermолекулярним полікомплексам ІнтерПК [241, 354, 255]. Процеси міцелоутворення в розведених водних розчинах блок-кополімерів, що утворюють ІнтраПК (таких як ТБК<sub>ПАА</sub>), будуть відбуватися завдяки самозбірці гідрофобізованих ділянок зв'язування хімічно комлементарних блоків кількох макромолекул (кількох ІнтраПК). Раніше було показано, що гідрофобізовані ділянки зв'язування сегментів ПАА з ПЕО в триблок-кополімерах ПАА-*b*-ПЕО-*b*-ПАА формуються за рахунок утворення послідовностей інтрамолекулярних Н-зв'язків за участю *транс*-мультимерів амідних груп ПАА і атомів кисню ПЕО [256]. Однак, сегрегація “гідрофобних блоків” є не єдиною рушійною силою міцелоутворення, оскільки додаткова стабілізація міцелярних структур ТБК<sub>ПАА</sub> може відбуватися внаслідок утворення водневих зв'язків у вже сформованих комплексних “ядрах” міцел ТБК<sub>ПАА</sub> між найближчими незв'язаними активними групами полімерних ланцюгів, що належать різним макромолекулам ТБК<sub>ПАА</sub>. Разом з тим, розміри міцелярної “корони” будуть визначатися кількістю незв'язаних з ПЕО ланок більш довгих блоків ПАА в асиметричних триблок-кополімерах.

Оскільки кінцевою метою даної дисертаційної роботи було створення на базі міцелярних структур ТБК<sub>ПАА</sub> наноконтейнерів для доставки погано розчинних та/або токсичних лікарських субстанцій, необхідними завданнями даної серії досліджень стало детальне вивчення процесів міцелоутворення ТБК<sub>ПАА</sub> у водних розчинах, а також ідентифікація розмірів і морфології утворених в результаті цих процесів структур.

Процеси міцелоутворення ТБК<sub>ПАА</sub> вивчали за допомогою методу пружного світлорозсіювання (розділ 2.11). Розбавлені водні розчини ТБК<sub>ПАА</sub> були прозорими, тоді як розчини з відносно високою концентрацією кополімерів мали слабку опалесценцію (рис. 3.3 а), яка посилювалась зі збільшенням довжини блоків ПЕО, тобто при збільшенні довжини гідрофобних ділянок зв'язування блоків ПЕО і ПАА.

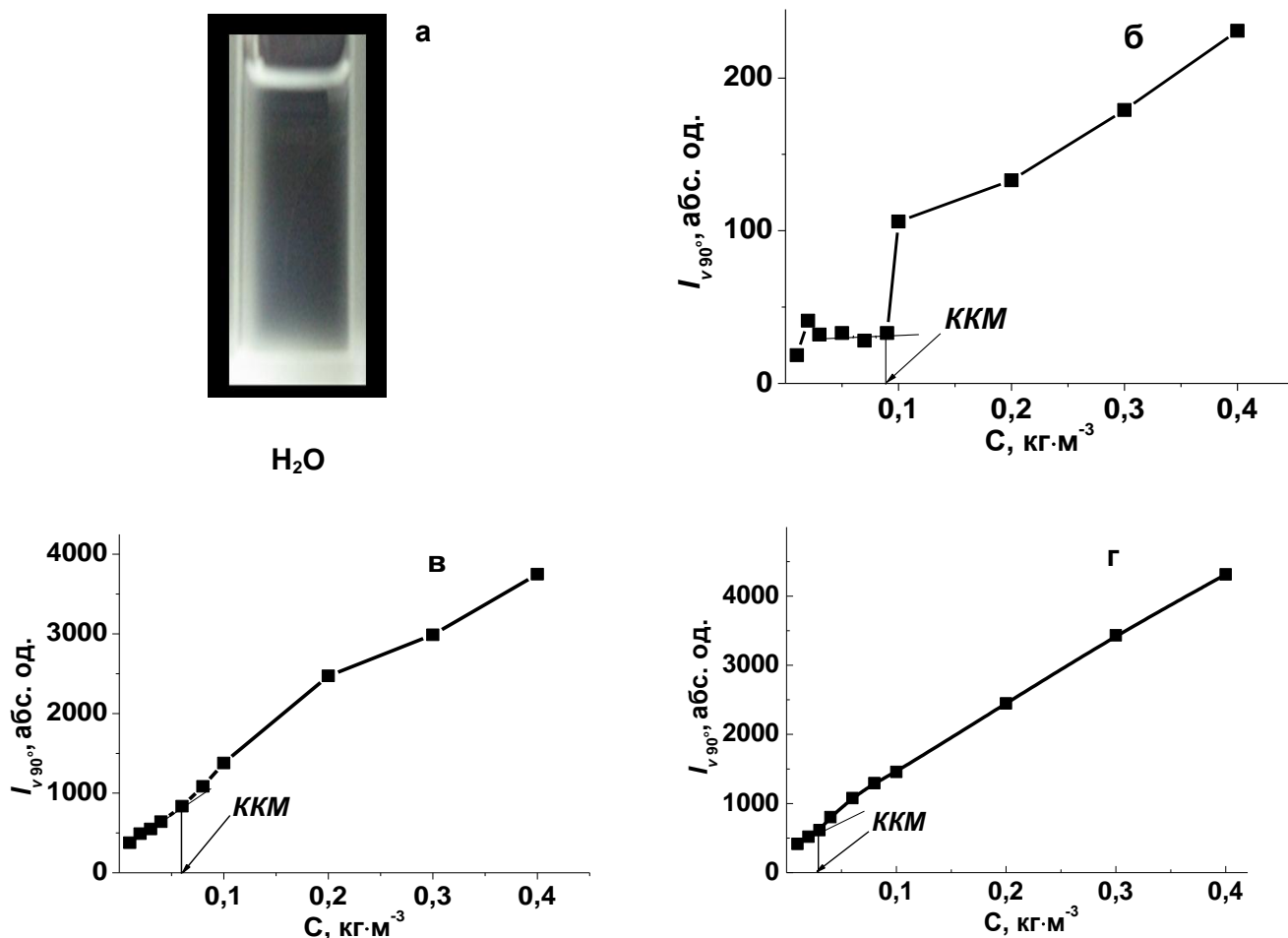


Рис. 3.3. Фотографія водного розчину ТБК<sub>ПАА1</sub> (а) з  $C=0,4 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  та приклади визначення ККМ методом ПС за зміною інтенсивності розсіювання вертикально поляризованого світла ( $\lambda=520 \text{ нм}$ ,  $\theta=90^\circ$ ,  $T=21 \text{ }^\circ\text{C}$ ) від концентрації кополімерів для ТБК<sub>ПАА1</sub> (б), ТБК<sub>ПАА2</sub> (в) і ТБК<sub>ПАА3</sub> (г).

Початок процесу міцелуутворення в розчинах кополімерів фіксували за значним підвищенням інтенсивності світлорозсіювання, починаючи з певної критичної концентрації міцелуутворення (ККМ) [235]. Приклади визначення ККМ для усіх зразків ТБК<sub>ПАА</sub> представлені на рис. 3.3 (б-г). Зазначимо, що інтенсивність розсіювання вертикально поляризованого світла ( $I_{v90^\circ}$ ) у випадку ТБК<sub>ПАА3</sub> була значно вищою, ніж для ТБК<sub>ПАА1</sub>, в той час як у розчинах ТБК<sub>ПАА2</sub> вона мала проміжні значення. Отримані з графіків (рис. 3.3) значення ККМ використовували при розрахунках за формулою (3.3) важливого термодинамічного параметру процесу – вільної енергії міцелуутворення Гіббса [257]:

$$\Delta G^o \approx RT \cdot \ln KKM \quad (3.3)$$

де  $R$  – газова стала, а  $T$  – абсолютна температура. Результати розрахунків наведені в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Термодинамічні характеристики процесів міцелоутворення ТБК<sub>ПАА</sub> у різних розчинниках

Кополімер	ККМ · 10 <sup>8</sup> , моль · дм <sup>-3</sup>		-ΔG°, кДж · моль <sup>-1</sup>	
	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O/EtOH = 30/70 об %	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O/EtOH = 30/70 об %
ТБК <sub>ПАА</sub> 1	37,8	8,4	36,15	39,82
ТБК <sub>ПАА</sub> 2	19,0	3,8	37,83	41,76
ТБК <sub>ПАА</sub> 3	4,9	1,3	41,15	44,38

Дані таблиці 3.3 вказують на зниження ККМ і підвищення значень  $-\Delta G^\circ$  зі збільшенням довжини блоку ПЕО (і ПАА), тобто при переході від ТБК<sub>ПАА</sub>1 до ТБК<sub>ПАА</sub>3, що свідчить про збільшення стабільності міцел за рахунок посилення взаємодії хімічно комплементарних блоків при збільшенні їх довжини. Такий висновок знаходиться у повній відповідності з описаними вище візуальними спостереженнями.

Для ТБК<sub>ПАА</sub>3 з найдовшим блоком ПЕО методом ПС були знайдені додаткові характеристики міцел, а саме: середньовагова ММ ( $M_w$ ), другий віріальний коефіцієнт ( $A_2$ ) і z-середній радіус інерції ( $\langle R_g^2 \rangle_z^{1/2}$ ) (розділ 2.11). Ці параметри визначали з побудованої за допомогою комп'ютерної програми діаграми Зімма (рис. 3.4) шляхом подвійної екстраполяції даних сочатку до  $\theta=0$ ,  $C=0$ , а потім до  $C=0$ ,  $\theta=0$ , базуючись на формулах (3.4) і (3.5) [233]:

$$\left[ \frac{C \cdot K}{R_{v\theta}} \right]_{\theta=0} = \frac{1}{M_w} + 2 \cdot A_2 \cdot C \quad (3.4)$$

$$\left[ \frac{C \cdot K}{R_{v\theta}} \right]_{C=0} = \frac{1}{M_w} \left( 1 + \frac{16 \cdot \pi^2}{3 \cdot \lambda^2} \cdot \langle R_g^2 \rangle_z \cdot \sin^2(\theta/2) \right) \quad (3.5)$$

де  $C$  – концентрація ТБК<sub>ПАА</sub>3 у міцелярних розчинах,  $\theta$  – кут розсіювання вертикально поляризованого падаючого світла,  $K$  – оптична стала розчинів, розрахована за  $\partial n/\partial C$  (розділ 2.11, формула 2.4),  $R_{v(\theta)}$  – коефіцієнт надлишкового розсіювання в розчинах ТБК<sub>ПАА</sub>3 з  $C > \text{ККМ}$ , визначений як функція  $\theta$ .

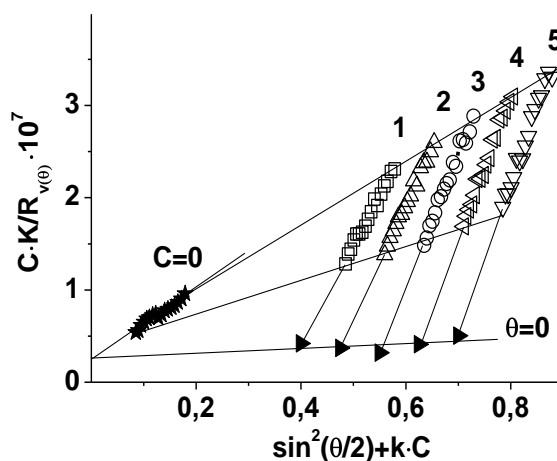


Рис. 3.4. Діаграма Зімма, побудована в області  $\theta=30-50^\circ$  за даними ПС у розчинах ТБК<sub>ПАА3</sub> при  $C=0,40-1, 0,48-2, 0,55-3, 0,63-4$  та  $0,70 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}-5$ .  $\lambda=520 \text{ нм}$ ,  $T=21^\circ\text{C}$ .

Отримані в результаті розрахунків параметри міцел ТБК<sub>ПАА</sub> у воді були такі:  $M_w=37686 \text{ кДа}$ ,  $A_2=1,283\cdot 10^{-5} \text{ моль}\cdot\text{м}^3\cdot\text{кг}^{-2}$  та  $\langle R_g^2 \rangle_z^{1/2}=248,4 \text{ нм}$ . За значенням ММ ТБК<sub>ПАА</sub> з табл. 3.2, знайденою величиною  $M_w$  розсіюючих частинок, а також співвідношенням:  $Z=M_w/M_{\text{ТБК}}$ , оцінили також ступень агрегації макромолекул ТБК<sub>ПАА3</sub> у міцелах ( $Z\approx 6$ ).

Високо асиметричний характер ТБК<sub>ПАА</sub> дав підстави прогнозувати утворення в їх розбавлених розчинах при концентрації кополімеру  $> \text{ККМ}$  так званих “волохатих” міцел [152] (рис. 3.5). Відносно мале “ядро” таких міцел складається зі зв’язаних водневими зв’язками сегментів ПЕО і ПАА, а велика “корона” включає надлишкові сегменти суттєво довших блоків ПАА, які не взаємодіють з центральним блоком ПЕО. Щодо відзначеного вище зростання стабільності міцел при підвищенні довжини блоків ПЕО і ПАА, то цей факт можна пояснити відомим ефектом зростання енергії взаємодії хімічно комплементарних партнерів при збільшенні їх довжини [152].

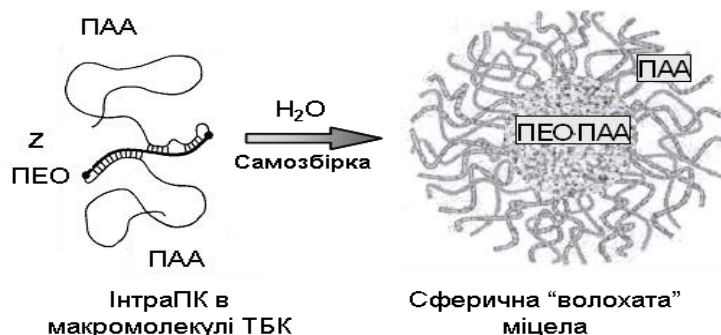
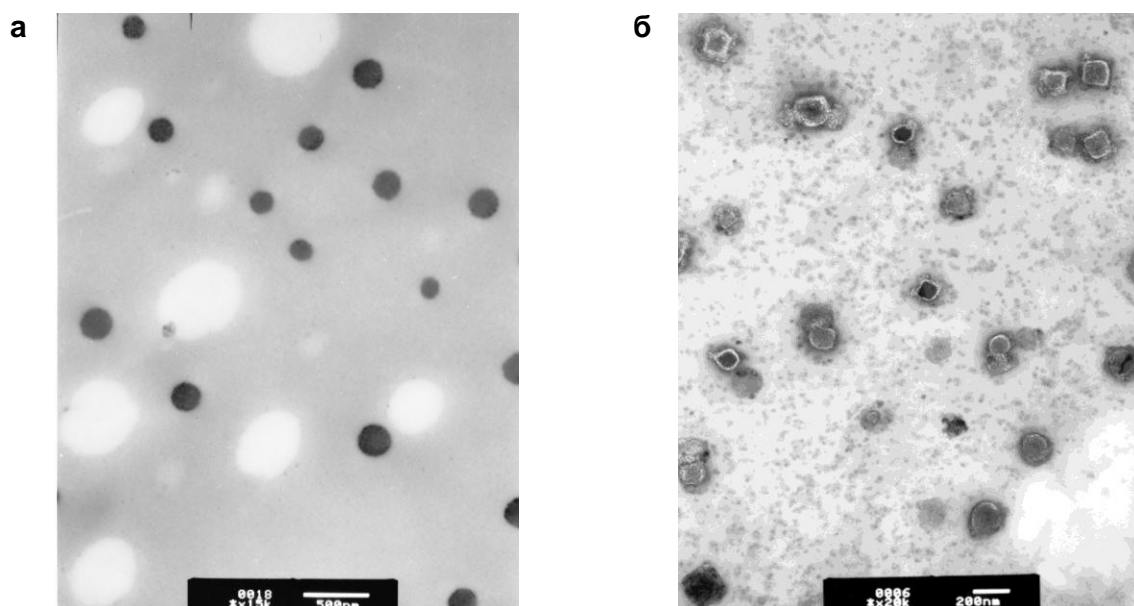


Рис. 3.5. Схема процесу самозбірки ІнтраПК і формування “волохатих” міцел.

Одна зі скелінгових теорій [97], що присвячена сферичним “волохатим” міцелам, сформованим амфифільними диблок-кополімерами  $A-b-B$  типу з переважаючою довжиною гідрофільного блоку (ступінь полімеризації гідрофільного блоку  $N_A$  набагато вища за ступінь полімеризації гідрофобного блоку  $N_B$ ), передбачає наступні залежності для ступеню агрегації ( $Z$ ) і розміру “корони” ( $L$ ) міцел:  $Z \sim N_B^{4/5}$  та  $L \sim Z^{1/5} \cdot N_A^{3/5}$ . Базуючись на цій теорії та враховуючи зменшення довжини “гідрофобного блоку” і кількість незв’язаних водневими зв’язками ланок ПАА в молекулах триблок-кополімерів при переході від  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}3}$  до  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}1}$ , можна передбачати зменшення обох цих параметрів і загального розміру міцел  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  при зменшенні довжини блоку ПЕО.

Реальну морфологію міцелярних структур  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  вивчали за допомогою ТЕМ (розділ 2.14). Мікрофотографії міцел  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  у воді при концентраціях  $C_{\text{ТБК}} > \text{ККМ}$  показані на рис. 3.6. Електронні мікрофотографії, одержані для  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}1}$  при меншому збільшенні (рис. 3.6 а), демонстрували лише міцели полімолекулярного типу (ПММ) зі сферичною морфологією і діаметром  $d_{\text{ПММ}}$  в межах, наведених в таблиці 3.4. Однак, з ростом збільшення на мікрофотографіях розчину  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}1}$  (рис. 3.6 б) та розчинів двох інших зразків  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  (рис. 3.6 в-е), проявилися крім “волохатих” ПММ (або їх окремих агрегатів) численні темні точки значно меншого діаметру ( $d_{\text{МММ}}$  в табл. 3.4), які були віднесені до міцел мономолекулярного типу (МММ) і являли собою фактично індивідуальні ІнтраПК зі схеми на рис. 3.3.



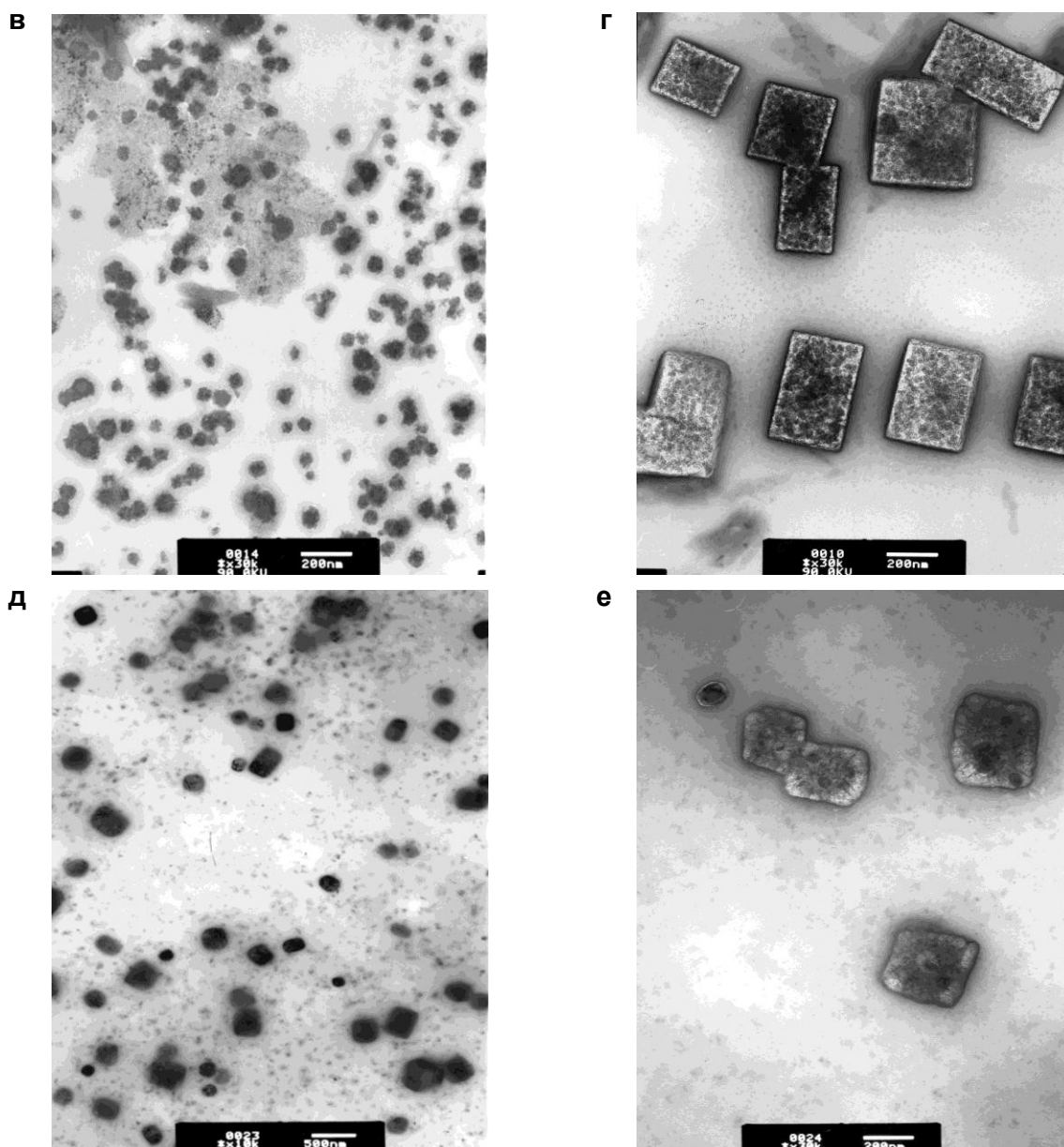


Рис. 3.6. Електронні мікрофотографії міцел  $\text{TBK}_{\text{PAA}1}$  (а, б),  $\text{TBK}_{\text{PAA}2}$  (в, г) та  $\text{TBK}_{\text{PAA}3}$  (д, е), отриманих у водних розчинах.  $C=0,2 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ .

Таблиця 3.4

Розміри сферичних моно- та полімолекулярних міцел  $\text{TBK}_{\text{PAA}}$  за даними ТЕМ

Кополімер	$C, \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$	$d_{\text{МММ}}, \text{ нм}$	$d_{\text{ПММ}}, \text{ нм}$	$d_{\text{ПММ}_{\text{ар}}}, \text{ нм}$
$\text{TBK}_{\text{PAA}1}$	0,2	$\sim 15\div 30$	$\sim 80\div 240$	$> 240$
$\text{TBK}_{\text{PAA}2}$		$\sim 4\div 18$	$\sim 28\div 140$	$> 140$
$\text{TBK}_{\text{PAA}3}$		$\sim 6\div 44$	$\sim 140\div 490$	$> 490$

Ідея про можливість існування міцел мономолекулярного типу в розчинах амфіфільних блок-кополімерів при  $C < \text{ККМ}$  була висловлена ще в роботі [153].

Хоча у випадку ТБК<sub>ПАА</sub> ми маємо справу зі специфічними “амфифільними” блок-кополімерами, “гідрофобні блоки” яких утворюються внаслідок кооперативної взаємодії гідрофільних блоків ПЕО і ПАА, проте зрозуміло, що в розбавлених розчинах, тобто при  $C < KKM$ , ця взаємодія буде переважати і обумовлювати наявність МММ.

На електронних мікрофотографіях, одержаних з розчинів ТБК<sub>ПАА2</sub> і ТБК<sub>ПАА3</sub> (рис. 3.3 в, д), також проявлялись сферичні “волохаті” міцели моно- та полімолекулярного типів (їх розміри показані в табл. 3.4), однак морфологія цих міцел була більш різноманітною. Зокрема, в розчинах ТБК<sub>ПАА2</sub> і ТБК<sub>ПАА3</sub> були зафіксовані незвичайні “кубічні” або “пластинчасті” міцелярні структури, які чіткіше показані на мікрофотографіях рис. 3.6 г, е. Загалом, розмір моно- та полімолекулярних міцел ТБК<sub>ПАА3</sub> виявився дещо більшим, ніж міцел ТБК<sub>ПАА1</sub> і ТБК<sub>ПАА2</sub> (табл. 3.4). Поява незвичайних “кубічних” або “пластинчастих” структур в розчинах даних кополімерів може бути пояснена важкістю утворення сферичних міцелярних “ядер” з жорсткіших “гідрофобних блоків” в макромолекулах ТБК<sub>ПАА2</sub> і ТБК<sub>ПАА3</sub>, які містять (на відміну від ТБК<sub>ПАА1</sub>) більш довгі послідовності сегментів ПЕО і ПАА, зв’язаних водневими зв’язками.

Більш детальне дослідження розмірів та розподілу за розмірами міцелярних структур ТБК<sub>ПАА</sub> у водних розчинах проводили методом динамічного світлорозсіювання (розділ 2.13). Результати обробки даних ДС за моноmodalьним підходом та за програмою CONTIN, яка реалізує поліmodalьний підхід, представлені на рис. 3.7. Видно, що обробка даних за алгоритмом CONTIN (варіант, оснований на об’ємі розсіюючих частинок, представлений на рис. 3.7 б-г) засвідчила наявність міцел моно- та полімолекулярного типів. Дійсно, на кривій розподілу за розмірами, оснований на об’ємі частинок (яка взагалі дає найбільш коректні значення середнього діаметру розсіюючих частинок) для зразка ТБК<sub>ПАА1</sub>, що містив найкоротший центральний блок ПЕО (рис. 3.7 б), спостерігались дві моди, на відміну від аналогічних кривих розподілу для ТБК<sub>ПАА2-3</sub> (рис. 3.7 в, г). Перша, інтенсивніша мода, відповідала розподілу за розмірами мономолекулярних міцел (МММ), а друга – розподілу за розмірами міцел полімолекулярного типу (ПММ).

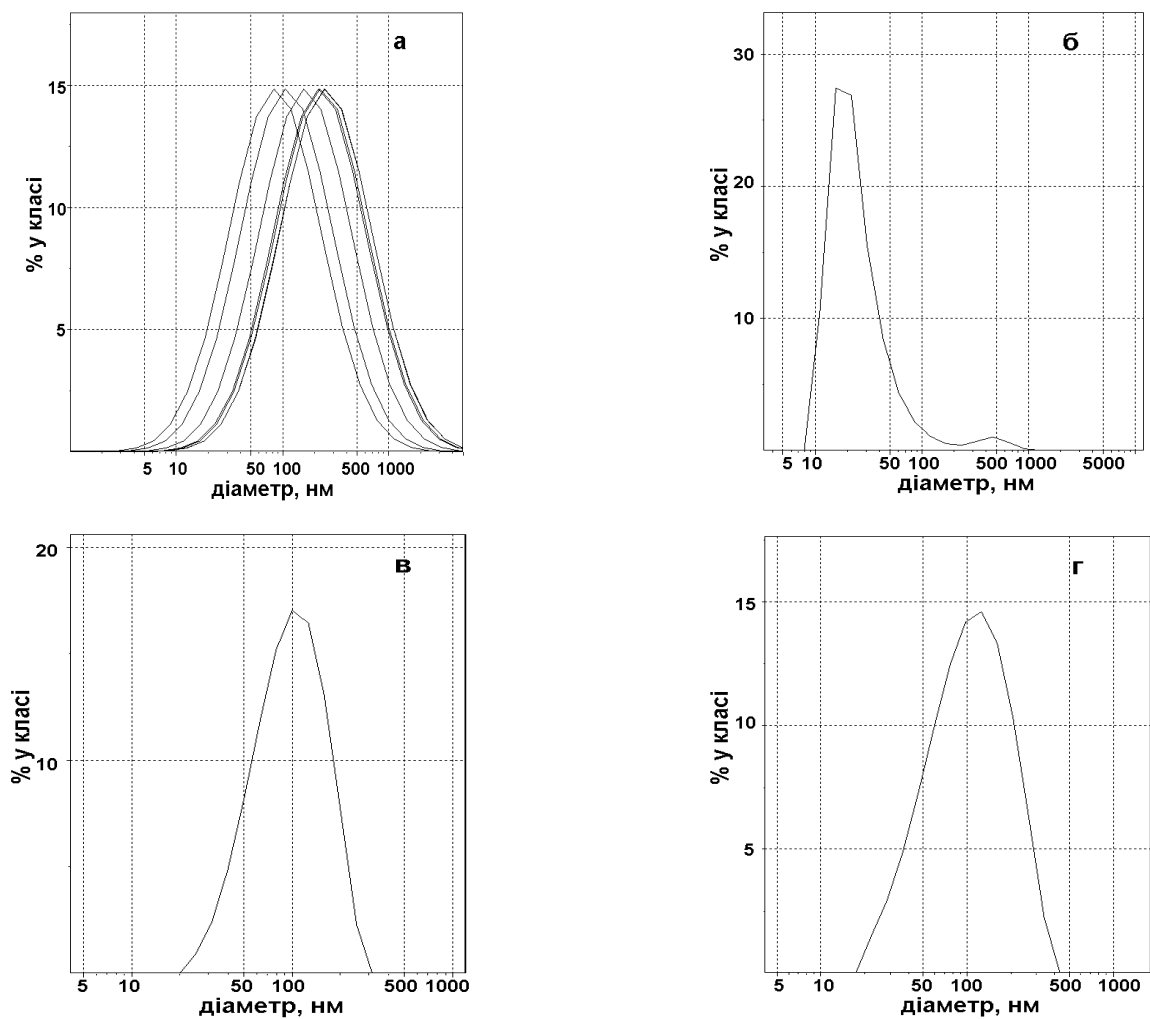


Рис. 3.7. Криві розподілу за розмірами для зразків ТБК<sub>ПАА1</sub> (а, б), ТБК<sub>ПАА2</sub> (в) та ТБК<sub>ПАА3</sub> (г), одержані за моноmodalьним підходом (а) та на основі об'єму розсіюючих частинок за програмою CONTIN (б-г).  $C_{\text{ТБК}}=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ .

Середні діаметри цих двох типів частинок ( $d_{\text{ср}(v)}$ ) та внесок кожної моди ( $X_v$ ) у загальну криву розподілу показані в табл. 3.5. Також в цій таблиці приведені середні діаметри розсіюючих частинок в розчинах ТБК<sub>ПАА1-3</sub>, розраховані за моноmodalьним підходом ( $d_{\text{ср}}$ ) та програмою CONTIN на основі інтенсивності розсіювання ( $d_{\text{ср}(i)}$ ) та кількості частинок ( $d_{\text{ср}(n)}$ ).

Таким чином, у водних розчинах ТБК<sub>ПАА1</sub> при дослідженій концентрації знаходилась велика кількість (97,1 об %) МММ з середнім діаметром  $d_{\text{ср}(v)}=28 \text{ нм}$  і відносно невелика кількість (2,9 об %) ПММ з  $d_{\text{ср}(v)}=468 \text{ нм}$ . Дані результати знаходяться у повній відповідності з даними TEM (рис. 3.6 б). Криві розподілу за розмірами, основані на об'ємі частинок, які були отримані для ТБК<sub>ПАА2</sub> і ТБК<sub>ПАА3</sub>, мали моноmodalьний характер (рис. 3.7 в, г), однак ця єдина мода була широкою і сильно асиметричною, що свідчило про наявність прихованої другої моди.

Середні розміри міцел ТБК<sub>ПАА</sub> за даними динамічного світлорозсіювання

Кополімер	$C$ , кг·м <sup>-3</sup>	ККМ <sub>2</sub> , кг·м <sup>-3</sup>	$d_{\text{сер}}^{1)}$ , нм	$d_{\text{сер}(i)}^{2)}$ , нм	$d_{\text{сер}(v)}^{3)}$ , нм	$X_{(v)}^{5)}$ , %	$d_{\text{сер}(n)}^{4)}$ , нм
ТБК <sub>ПАА</sub> 1	0,3	0,09	109	218	28	97,1	18
					468	2,9	
ТБК <sub>ПАА</sub> 2		0,02	129	106	52	100	33
ТБК <sub>ПАА</sub> 3	0,03	124	121	43	100	27	

Середні гідродинамічні діаметри міцел, розраховані за: <sup>1)</sup> мономодальним підходом та програмою CONTIN на основі <sup>2)</sup> інтенсивності розсіювання, <sup>3)</sup> об'єму частинок та <sup>4)</sup> кількості частинок, <sup>5)</sup> внесок кожної моди в загальну площу під кривою розподілу.

Можливими причинами сильного перекриття обох мод, в результаті якого вони не проявлялись окремо, могли бути перерозподіл відносної кількості МММ та ПММ у розчинах даних кополімерів і зближення середніх розмірів цих міцелярних структур. Згідно даних табл. 3.5, у розчинах ТБК<sub>ПАА</sub>2 і ТБК<sub>ПАА</sub>3 діяв, очевидно, другий фактор.

### 3.3 Трансформація міцелярних структур ТБК<sub>ПАА</sub> у водно-спиртових розчинах

Для ефективної інкапсуляції нерозчинних у воді лікарських субстанцій міцелярними носіями необхідне їх гомогенне введення в міцелярну систему. Для цього зручно використовувати певний нетоксичний біосумісний розчинник лікарського препарату. Найпоширенішим і добрим розчинником для багатьох лікарських речовин є етиловий спирт, який, крім того, змішується з водою в необмежених кількостях. Однак введення в міцелярну систему будь-якого нового фактору впливу, зокрема етанолу, може значно змінити стан міцелярних структур. Беручи до уваги цей важливий аспект, необхідною складовою цієї частини роботи було дослідження міцелоутворення ТБК<sub>ПАА</sub> у водно/етанольних розчинах.

Добавки органічних розчинників можуть суттєво змінювати структуру міцел блок-кополімерів у водному середовищі. Так, автори роботи [167] досліджували зміну морфології міцелярних структур блок-кополімеру на основі

поліетиленпропілену і поліетиленоксиду від циліндричних міцел у воді до сферичних міцел при додаванні різної кількості етанолу. В роботі [258] спостерігали трансформацію сферичних міцел триблок-кополімерів з центральним блоком пропіленоксиду і бічними блоками етиленоксиду у водному середовищі при додаванні неорганічних солей (KCl, KF) у “червоподібні” міцели; при цьому у разі додавання етанолу відбувалося збільшення довжини “червоподібних” міцел.

Вивчення змін мутності розчинів ТБК<sub>ПАА</sub> в залежності від кількості етанолу в змішаному розчиннику проводили за допомогою спектрофотометрії (розділ 2.9). При додаванні етанолу до ~ 30 об % спостерігалось підвищення прозорості розчинів ТБК<sub>ПАА</sub> (рис. 3.8 а) і помітне зниження інтенсивності розсіювання світла. Крім того, остання величина ставала практично незалежною від концентрації кополімеру (приклад на рис. 3.8 б). Однак при вмісті етанолу ≥ 40 об. % мутність розчинів ТБК<sub>ПАА</sub> різко зростала (рис. 3.8 в).

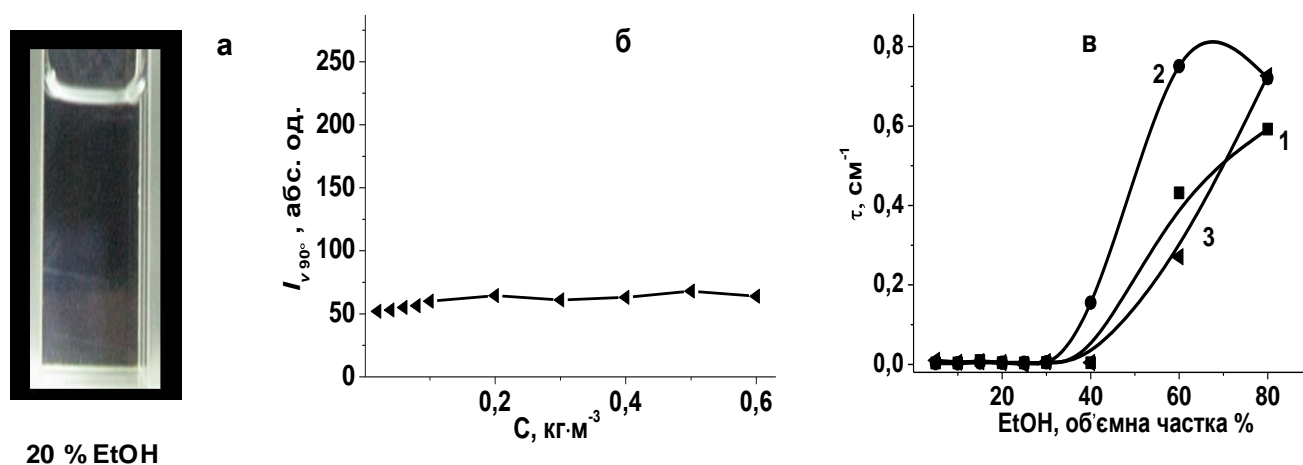


Рис. 3.8. Фотографія розчину ТБК<sub>ПАА</sub> 1 (а) з  $C=0,4 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ , концентраційна залежність інтенсивності світлорозсіювання в розчинах ТБК<sub>ПАА</sub> 1 (б) при вмісті етанолу 20 об % та зміна мутності в розчинах ТБК<sub>ПАА</sub> 1 –1, ТБК<sub>ПАА</sub> 2 –2 і ТБК<sub>ПАА</sub> 3 –3 в залежності від вмісту етанолу (в).  $T=20^\circ\text{C}$ ,  $\lambda=490 \text{ нм}$ ,  $C=0,4 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ .

Для більш детального розгляду впливу етанолу на міцелоутворення ТБК<sub>ПАА</sub> оцінювали параметри міцелоутворення кополімерів в змішаному розчиннику вода/етанол=30/70 об % методом ПС (розділ 2.11) по аналогії з водними розчинами (розділ 3.2). Залежності інтенсивності розсіювання світла від концентрацій ТБК<sub>ПАА</sub> в змішаному розчиннику наведені на рис. 3.9. Видно, що помутніння розчинів

кополімерів при наявності етанолу відбувається при значно нижчих концентраціях, ніж у воді (рис. 3.3). Значення ККМ в обох розчинниках співставлені в табл. 3.3.

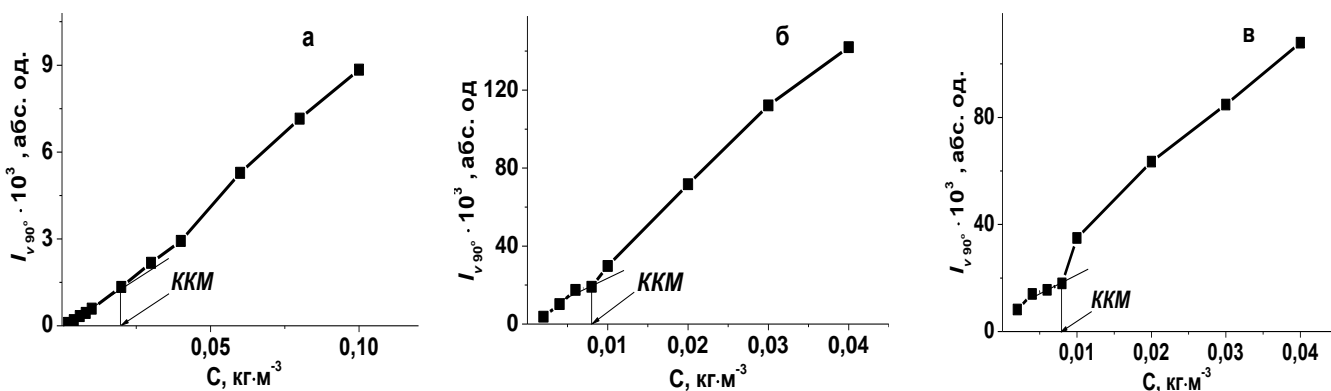


Рис. 3.9. Визначення ККМ для ТБК<sub>ПАА</sub> 1 (а), ТБК<sub>ПАА</sub> 2 (б) і ТБК<sub>ПАА</sub> 3 (в) у змішаному розчиннику складу Н<sub>2</sub>О/ЕтОН=30/70 об %.  $\lambda=520$  нм,  $\theta=90^\circ$ ,  $T=21$  °С.

Істотне зниження ККМ і зростання вільної енергії міцелоутворення Гіббса у водно/етанольних розчинах ТБК<sub>ПАА</sub> порівняно з аналогічними параметрами, одержаними у воді (табл. 3.3), а також різке зростання мутності розчинів при збільшенні вмісту етанолу (рис. 3.8 в) свідчать про формування нових міцелярних структур. Описана ситуація може бути інтерпретована дією декількох факторів. З одного боку, молекули етанолу здатні змінювати властивості води як розчинника і руйнувати гідрофобні взаємодії у міцелярному “ядрі”. Також вони здатні частково руйнувати водневі зв’язки між блоками ПЕО і ПАА завдяки конкурентним взаємодіям з функціональними групами цих блоків. Дія цих факторів повинна проявлятися, головним чином, в області низького вмісту етанолу і призводити до поступового руйнування вихідних міцелярних структур ТБК<sub>ПАА</sub>, що існували у воді (ліва частина схеми на рис. 3.10).

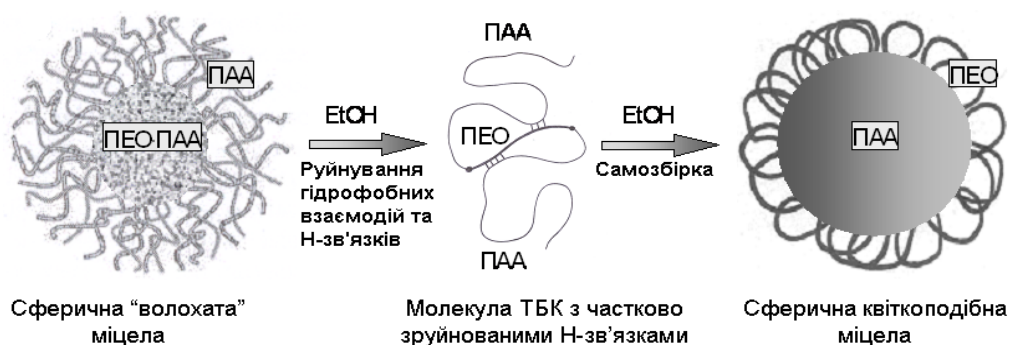


Рис. 3.10. Схема перебудови міцелярних структур ТБК<sub>ПАА</sub> при збільшенні вмісту етанолу у змішаному розчиннику.

З іншого боку, чистий етанол є селективним нерозчинником для ланцюгів ПАА. Тому інтенсивне міцелоутворення в області високого вмісту спирту можна пояснити селективною нерозчинністю блоків ПАА. В цьому випадку слід очікувати формування так званих “квіткоподібних” міцел (права частина схеми на рис. 3.10), які добре відомі для триблок-кополімерів типу  $A-b-B-b-A$  з нерозчинними бічними блоками, або для прищеплених кополімерів з гідрофобними щепленнями [97, 259]. В таких “квіткоподібних” міцелах нерозчинні “хвости” з бічних блоків ПАА утворюють “ядро”, а розчинні центральні блоки ПЕО формують “петлі”, які концентруються в “короні” міцел і забезпечують стабільність всій міцелярній структурі. З такою концепцією повністю узгоджуються факти збільшення стабільності міцел (зменшення значень ККМ і збільшення  $-\Delta G^\circ$ ) у водно/етанольних розчинах  $TBK_{ПАА}$  порівняно з водними розчинами, оскільки довжина блоків ПАА значно більша порівняно з ПЕО, а також зростання стабільності міцел (зниження ККМ і зростання  $-\Delta G^\circ$ ) в ряду  $TBK_{ПАА} 1-3$  при подовженні блоків ПАА (табл. 3.3). Враховуючи вказані фактори, можна прогнозувати наявність у “квіткоподібних” міцел  $TBK_{ПАА}$  великого “ядра” з довгих блоків ПАА і малої “корони” з коротких “петель” ПЕО.

Реальний вигляд “квіткоподібних” міцел демонструють TEM мікрофотографії на рис. 3.11, отримані в тих же умовах (розділ 2.14), що і міцел у водних розчинах.

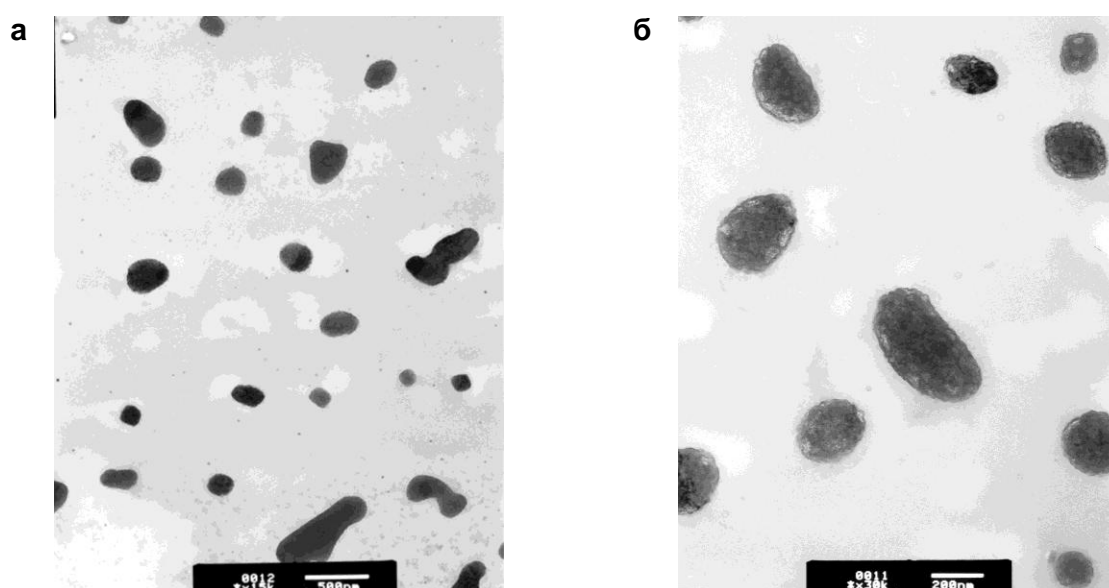


Рис. 3.11. TEM знімки “квіткоподібних” міцел  $TBK_{ПАА} 1$  при малому (а) і великому (б) збільшенні у розчиннику  $H_2O/EtOH=30/70$  об %;  $C=0,2$  кг·м<sup>-3</sup>.

Видно, що “квіткоподібні” міцели кополімерів можуть мати як сферичну, так і видовжену форму з розміром  $\sim 140-520$  нм. Реальні розміри “квіткоподібних” міцел  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}1}$  у змішаному розчиннику виявились за даними ТЕМ вищими, ніж “волохатих” міцел у водному розчині (рис. 3.11 і 3.6).

\* \* \* \*

Встановлено негативний динамічний та структурний матричні ефекти в процесах радикальної блок-кополімеризації ПАА з ПЕГ різної ММ, яка проводилась у водному середовищі в умовах постійних концентрацій мономеру і ПЕГ, постійних мольних співвідношень  $\alpha = [\text{Ce}^{\text{IV}}]/[\text{-OH}] = 1$  і  $\gamma = [\text{AA}]/[\text{EO}] = 1$  та змінної концентрації ініціатору – комплексної солі  $\text{Ce}^{\text{IV}}$ . Виявлено зниження швидкості блок-кополімеризації у  $1,3 \div 14$  рази порівняно з гомополімеризацією АА, проведеною в тих же експериментальних умовах, що обумовлено взаємодією зростаючих ланцюгів ПАА з хімічно комплементарними матрицями – блоками ПЕО за рахунок водневих зв’язків та компактизацією гідрофобних ділянок зв’язування. Показано збільшення швидкості блок-кополімеризації та ступеню асиметрії блоків ПАА і ПЕО в синтезованих триблок-кополімерах  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  при зростанні ММ (довжини) вихідних ланцюгів ПЕГ.

Асиметричні триблок-кополімери  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  з хімічно комплементарними блоками формують у водних розчинах сферичні “волохаті” міцели полімолекулярного типу з відносно невеликим “ядром”, що складається з Н-зв’язаних сегментів ПЕО і ПАА, та розвиненою “короною”, утвореною незв’язаними ланками ПАА, а також міцели мономолекулярного типу, які є фактично індивідуальними ІнтраПК. Стабільність полімолекулярних міцел зростає зі збільшенням довжини блоків ПЕО і ПАА, а морфологія змінюється від переважно сферичних міцел у випадку  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}1}$  до суміші сферичних та незвичайних “кубічних” або “пластинчатих” міцелярних структур у випадках  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}2-3}$ , які містять більш довгі блоки ПАА і ПЕО.

Додавання невеликої кількості етанолу (до  $\sim 30$  об %) до водних міцелярних розчинів  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  спричиняє поступове руйнування “волохатих” міцел за рахунок

руйнування гідрофобних взаємодій в міцелярному “ядрі” та частини водневих зв’язків між блоками ПЕО і ПАА. Проте при високому вмісті етанолу (>40 об %) у розчинах  $TBC_{ПАА}$  відбувається формування нових “квіткоподібних” міцел з відносно великими “ядром”, сформованим нерозчинними в етанолі блоками ПАА, та невеликою “короною”, утвореною “петлями” блоків ПЕО. Стабільність та розміри “квіткоподібних” міцел  $TBC_{ПАА}$  виявились значно вищими, ніж “волохатих” міцел у водних розчинах.

## РОЗДІЛ 4

### СИНТЕЗ, СТРУКТУРА ТА ПОВЕДІНКА У РОЗЧИНАХ АМФІФІЛЬНИХ БЛОК-КОПОЛІМЕРІВ ДБК<sub>ПКЛ</sub> І ТБК<sub>ПКЛ</sub>

Амфифільні блок-кополімери з термодинамічно несумісними полімерними компонентами (зокрема поліетерами та поліестерами) завдяки своїй здатності до самовільного утворення міцелярних структур у розчинах відомі як перспективні нанорозмірні системи для інкапсуляції та доставки різноманітних гідрофобних та/або токсичних лікарських субстанцій [4]. Використання створених таким чином терапевтичних систем в живих організмах вимагає нетоксичності міцелярних носіїв, а також їх біодеградації після доставки лікарської речовини. Цим вимогам повністю відповідають біосумісні та біодеградабельні блок-кополімери на основі ПЕО та полі(ε-капролактону) (ПКЛ) [184]. Біосумісність, нетоксичність та здатність розкладатись в середовищі організму поліестеру ПКЛ, а також ПЕО добре відомі з літератури [260]. Однак ефективність інкапсуляції і доставки міцелярними носіями лікарських препаратів залежать ще й від низки різноманітних факторів, серед яких важливу роль відіграють такі параметри носіїв, як: процеси формування та морфологія міцелярних наночастинок, стабільність і розподіл за розмірами міцел, абсолютні і відносні розміри “ядра” і “корони”, які визначаються ММ окремих ланцюгів блок-кополімерів, а також фізичний стан міцелярного “ядра” (склоподібний, високоеластичний або кристалічний), який залежить від особливостей структури блок-кополімерів [124, 207].

Не зважаючи на існуючий широкий науковий інтерес до таких кополімерів, багато аспектів їх синтезу, структури в блоці, процесів міцелоутворення і, особливо, морфології міцел вивчені недостатньо. Тому дана частина роботи була присвячена синтезу двох серій диблок-кополімерів МОПЕО-*b*-ПКЛ (ДБК<sub>ПКЛ</sub>) та ряду зразків триблок-кополімерів ПКЛ-*b*-ПЕО-*b*-ПКЛ (ТБК<sub>ПКЛ</sub>) з різною довжиною блоків (МО)ПЕО і ПКЛ, дослідженню їх блочної структури та детальному вивченню особливостей формування, розмірів та морфології утворених ними міцелярних структур як у змішаних розчинниках, так і в водному середовищі.

#### 4.1 Стратегія синтезу та основні молекулярні характеристики ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub>

Синтез диблок- та триблок-кополімерів проводили методом аніонної з розкриттям циклу блок-кополімеризації (розділ 2.3). Аналогічний метод синтезу був описаний раніше [261], однак нами він був взятий лише за основу і для синтезу вказаних блок-кополімерів його методологію було значно перероблено та удосконалено. Перш за все, станум октоат вважався нами як ініціатор [262], а не каталізатор блок-кополімеризації (як представлялося в деяких більш ранніх роботах [85, 263]). Виходячи з цього, для синтезів двох серій ДБК<sub>ПКЛ</sub> та зразків ТБК<sub>ПКЛ</sub> використовували не “декілька крапель Sn(Oct)<sub>2</sub>” [85, 261, 264], а постійне мольне співвідношення  $\alpha = [\text{Sn}(\text{Oct})_2]/[-\text{OH}] = 1$ . Також, на відміну від протоколів синтезу в роботах [261, 264], отриманий продукт розчиняли не в ТГФ, а в 1,4-діоксані і потім додавали метанол (розділ 2.3) для завершення процесу “живої” аніонної кополімеризації та усунення залишків станум октоату з кінців полімерних ланцюгів. Оскільки станум октоат був не здатний ініціювати гомополімеризацію  $\epsilon$ -капролактону в реакційній суміші у відсутності –ОН груп (МО)ПЕГ або низькомолекулярних спиртів [265, 266], отримані нами продукти блок-кополімеризації не містили гомополімер ПКЛ. Діоксан був гарним розчинником для обох блоків кополімерів, а етанол – специфічним розчинником лише для блоків (МО)ПЕО і нерозчинником для блоків ПКЛ. Тому висаджування кополімерів з діоксанового розчину проводили етанолом для усунення можливих домішок вихідних ланцюгів (МО)ПЕГ, що не прореагували. В результаті отримували чисті блок-кополімери без домішок гомополімерів ПКЛ і (МО)ПЕГ.

Для підтвердження хімічної будови блок-кополімерів використовували, перш за все, метод FTIR спектроскопії. Усі первинні спектри перераховували в залежності  $D=f(\nu)$  з використанням формули 2.5 (розділ 2.10). На рис. 4.1 показано спектри одного зі зразків ДБК<sub>ПКЛ</sub> та вихідного зразка МОПЕГ в найважливіших областях коливань етерних, естерних і гідроксильних груп. У спектрі МОПЕГ чітко проявлялися розщеплені смуги  $\nu_{\text{asCOC}}$  та  $\nu_{\text{sCOC}}$  коливань середньої інтенсивності при 1217, 1252  $\text{cm}^{-1}$  та 978, 1005  $\text{cm}^{-1}$ , відповідно, а також менш інтенсивні смуги  $\nu_{\text{asCOCH}_3}$

та  $\nu_{\text{COCH}_3}$  коливань при 1110 та 1068  $\text{cm}^{-1}$  (рис. 4.1 а, спектр 1).

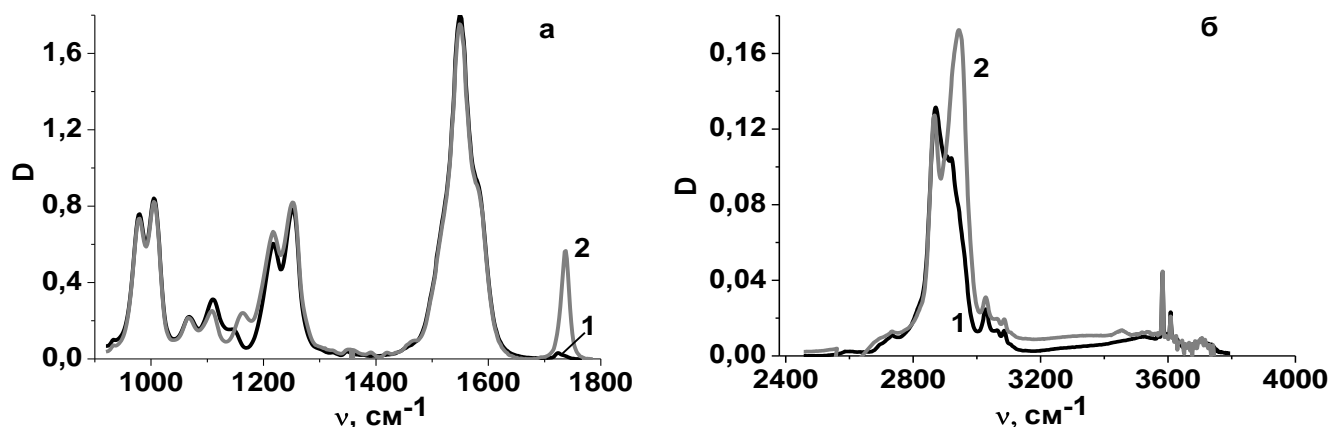


Рис. 4.1. FTIR спектри МОПЕГ1 –1 і ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 –2 у  $\text{CCl}_4$  в областях  $\nu_{\text{COC}}$ ,  $\nu_{\text{COC(O)}}$  і  $\nu_{\text{C=O}}$  коливань (а), а також  $\nu_{\text{C-H}}$ ,  $\nu_{\text{N-H}}$  і  $\nu_{\text{O-H}}$  коливань (б).  $T=20^\circ\text{C}$ .

В спектрі ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 (рис. 4.1 а, спектр 2) змінювалась інтенсивність смуги 1217  $\text{cm}^{-1}$  та з'являлась нова смуга 1163  $\text{cm}^{-1}$ , що вказувало на появу смуг  $\nu_{\text{asCOC(O)}}$  та  $\nu_{\text{sCOC(O)}}$  коливань ланок ПКЛ. В спектрі ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 з'являлась також смуга  $\nu_{\text{C=O}}$  коливань середньої інтенсивності при 1737  $\text{cm}^{-1}$ , яка також характерна для естерних груп ланцюгів ПКЛ [251], що свідчило про присутність цього блоку в хімічній структурі ДБК<sub>ПКЛ</sub>. В даній області спектру для МОПЕГ та ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 проявлялась й інтенсивна смуга  $\nu_{\text{C-Cl}}$  коливань розчинника ( $\text{CCl}_4$ ) при 1549  $\text{cm}^{-1}$ . В області 2400–4000  $\text{cm}^{-1}$  в спектрі МОПЕГ (рис. 4.1 б, спектр 1) спостерігались дві смуги  $\nu_{\text{C-H}}$  коливань метильних та метиленових груп при 2871  $\text{cm}^{-1}$  і 2920  $\text{cm}^{-1}$ , які сильно перекривались. В спектрі ДБК2 (рис. 4.1 б, спектр 2) були помітні суттєві зміни, а саме з'являлась інтенсивна смуга 2944  $\text{cm}^{-1}$ , яка відповідала  $\nu_{\text{C-H}}$  коливанням  $-\text{CH}_2-$  груп у ланках ПКЛ. Поява в спектрах ДБК<sub>ПКЛ</sub> у порівнянні зі спектром вихідного МОПЕГ нових смуг коливань, що відносились до естерних і метиленових груп ПКЛ підтвердила наявність обох блоків у складі блок-кополімерів.

Для підтвердження хімічної структури синтезованих блок-кополімерів і визначення їх основних молекулярних параметрів застосовували також метод  $^1\text{H}$  ЯМР спектроскопії (розділ 2.6). Приклади ЯМР спектрів для МОПЕГ1, ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> представлені на рис. 4.2. Інтерпретацію спектрів проводили згідно атласу ЯМР спектрів [251] та деяких інших робіт [267]. В спектрі МОПЕГ1 (рис. 4.2 а) проявлявся інтенсивний сигнал протонів метиленових груп (а) з хімічним зсувом

$\delta=3,54$  м.ч. і слабкий сигнал протонів кінцевих метильних груп (**b**) з  $\delta=3,30$  м.ч. У всіх спектрах ДБК<sub>ПКЛ</sub> (рис. 4.2 б) додатково спостерігались чотири групи сигналів протонів з  $\delta=1,37, 1,62, 2,24$  та  $4,00$  м.ч., які відповідали: центральній метиленовій групі в ланці ПКЛ (**c**), розташованим з обох боків від неї двом метиленовим групам (**d**), метиленовій групі поблизу карбонілу (**e**) та метиленовій групі, розташованій біля етерного кисню естерної групи (**f**). Інтегральні інтенсивності сигналів **c**, **e** та **f** були практично однакові, в той час як інтенсивність сигналу **d** була вдвічі більшою, що підтверджувало правильність віднесення сигналів протонів в ланках ПКЛ та узгоджувалось з літературними даними [261].

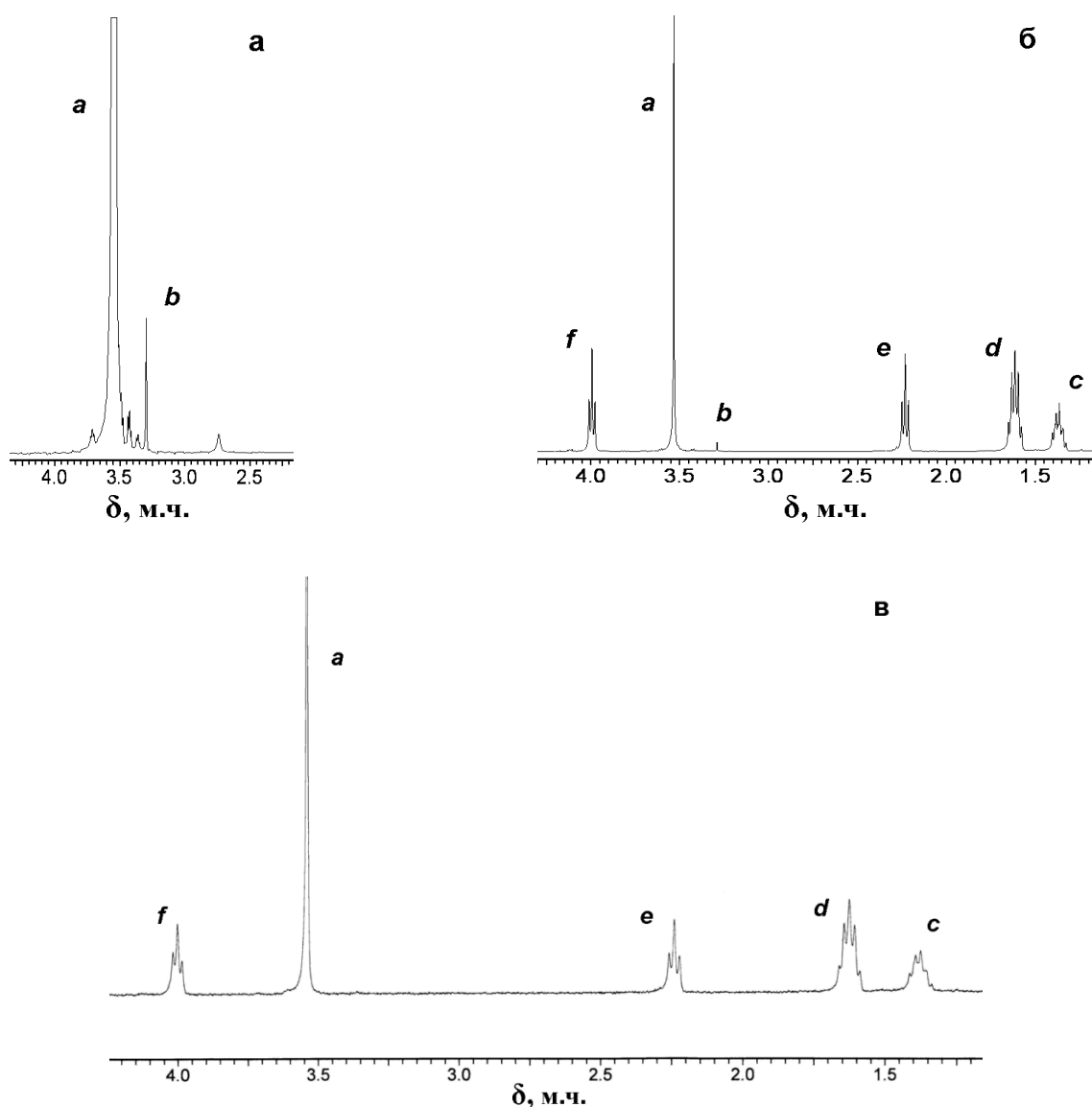


Рис. 4.2. <sup>1</sup>H ЯМР спектри МОПЕГ1 (**а**), ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 (**б**) і ТБК<sub>ПКЛ</sub>1 (**в**) у CCl<sub>4</sub>. T=20 °C.

В спектрах ТБК<sub>ПКЛ</sub> (рис. 4.2 в) проявлялись ті ж самі групи сигналів, що і в

спектрах ДБК<sub>ПКЛ</sub>, за виключенням слабкого сигналу протонів кінцевих метильних груп МОПЕГ з  $\delta=3,30$  м.ч. (рис. 4.2 **a**, сигнал **b**).

За даними <sup>1</sup>H ЯМР спектроскопії визначали також середньочислові ММ блоків МОПЕО, ПКЛ і макромолекул кополімерів в цілому. Розрахунки проводили, використовуючи інтегральні інтенсивності А відповідних сигналів протонів та формули (4.1)-(4.2) у випадку ДБК<sub>ПКЛ</sub> і (4.3) для ТБК<sub>ПКЛ</sub>:

$$M_{n\text{МОПЕГ}} = \frac{3 \cdot M_{0\text{МОПЕГ}} \cdot A_a}{4 \cdot A_b} \quad (4.1)$$

$$M_{n\text{ПКЛ}} = \frac{M_{0\text{ПКЛ}} \cdot M_{n\text{МОПЕГ}} \cdot A_d}{M_{0\text{МОПЕГ}} \cdot A_a} \quad \text{або} \quad M_{n\text{ПКЛ}} = \frac{2 \cdot M_{0\text{ПКЛ}} \cdot M_{n\text{МОПЕГ}} \cdot A_{c,e,f}}{M_{0\text{МОПЕГ}} \cdot A_a} \quad (4.2)$$

$$M_{n\text{ПКЛ}} = \frac{M_{0\text{ПКЛ}} \cdot M_{n\text{МОПЕГ}} \cdot A_d}{M_{0\text{МОПЕГ}} \cdot A_a} \quad \text{або} \quad M_{n\text{ПКЛ}} = \frac{2 \cdot M_{0\text{ПКЛ}} \cdot M_{n\text{МОПЕГ}} \cdot A_{c,e,f}}{M_{0\text{МОПЕГ}} \cdot A_a}, \quad (4.3)$$

де  $M_{n(\text{МО})\text{ПЕГ}}$  та  $M_{n\text{ПКЛ}}$  – середньочислові молекулярні маси блоків (МО)ПЕО і ПКЛ,  $M_{0(\text{МО})\text{ПЕГ}}$  і  $M_{0\text{ПКЛ}}$  – молекулярні маси окремих ланок (МО)ПЕО і ПКЛ, А – інтегральні інтенсивності сигналів протонів метиленових та метильних груп блоків (МО)ПЕО та ПКЛ (рис. 4.2). Далі молекулярну масу ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> розраховували за співвідношеннями (4.4) і (4.5):

$$M_{n\text{ДБК}} = M_{n\text{МОПЕО}} + M_{n\text{ПКЛ}}; \quad (4.4)$$

$$M_{n\text{ТБК}} = M_{n\text{ПЕО}} + 2 \cdot M_{n\text{ПКЛ}}. \quad (4.5)$$

Розраховані молекулярні параметри ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> представлені в табл. 4.1. Як видно з даних таблиці, в результаті синтезів було отримано дві серії ДБК<sub>ПКЛ</sub> з різною довжиною гідрофобних блоків ПКЛ та постійною в кожній серії довжиною гідрофільного блоку МОПЕО, а також ряд триблок-кополімерів ТБК<sub>ПКЛ</sub> з однаковим центральним блоком ПЕО і різною довжиною бічних блоків ПКЛ. В першій серії диблок-кополімерів ( $M_{n\text{МОПЕО}}=2,5$  кДа) довжина блоку ПКЛ в ДБК<sub>ПКЛ1</sub> була у 2,4 рази меншою, ніж блоку МОПЕО, у випадку ДБК<sub>ПКЛ2</sub> довжини обох блоків були приблизно однакові, а зразки ДБК<sub>ПКЛ3</sub> і ДБК<sub>ПКЛ4</sub> містили більш ніж у три рази довші блоки ПКЛ, ніж МОПЕО. В другій серії диблок-кополімерів ( $M_{n\text{МОПЕО}}=4,5$

кДа) зразки ДБК<sub>ПКЛ</sub>5-9 утворювали ряд кополімерів зі зростаючим гідрофобним блоком ПКЛ, довжина якого в усіх випадках перевищувала довжину гідрофільного блоку МОПЕО. В ряду ТБК<sub>ПКЛ</sub>1-2 довжина бічних гідрофобних блоків також зростала, однак залишалась в обох випадках меншою, ніж гідрофільного блоку ПЕО.

Таблиця 4.1

Основні молекулярні характеристики ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> за даними <sup>1</sup>Н ЯМР

Кополімер	M <sub>n(МО)ПЕО</sub> , кДа	M <sub>nПКЛ</sub> , кДа	M <sub>nДБК(ТБК)</sub> , кДа	w <sub>(МО)ПЕО</sub> <sup>1)</sup> , %	n <sup>2)</sup>
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 1	2,5	2,8	5,3	47,3	0,42
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 2	2,5	8,0	10,5	23,7	1,25
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 3	2,5	23,9	24,6	9,5	3,68
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 4	2,5	24,3	26,8	9,3	3,74
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 5	4,5	14,5	19,0	23,7	1,24
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 6	4,5	14,8	19,3	23,3	1,27
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 7	4,5	16,5	21,0	21,4	1,42
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 8	4,5	17,4	21,9	20,5	1,49
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 9	4,5	19,1	23,6	19,1	1,64
ТБК <sub>ПКЛ</sub> 1	6,0	4,9	15,8	38,0	0,32
ТБК <sub>ПКЛ</sub> 2	6,0	7,8	21,6	27,8	0,50

<sup>1)</sup> Масова частка блоку (МО)ПЕО в кополімерах. <sup>2)</sup> Співвідношення ланок ПКЛ і (МО)ПЕО блоків,  $осн-моль_{ПКЛ} осн-моль_{(МО)ПЕО}^{-1}$ .

Наявність таких серій блок-кополімерів дала можливість провести порівняння їх властивостей в широкій області зміни довжини гідрофобного блоку при фіксованій молекулярній масі МОПЕО, а також при варіюванні довжини гідрофільного блоку в умовах співрозмірної довжини блоків ПКЛ. Таким чином вдалось отримати унікальний експериментальний матеріал, який дозволив створити цілісну картину поведінки диблок- та триблок-кополімерів на основі (МО)ПЕО та ПКЛ у блочному стані та у водно/органічних і водних розчинах в залежності від їх молекулярної архітектури.

## 4.2 Структурні особливості ДБК<sub>ПКЛ</sub> та ТБК<sub>ПКЛ</sub> у блочному стані

Важливою складовою комплексного вивчення блок-кополімерів є дослідження їх структури у блочному стані та процесів кристалізації, зокрема, визначення особливостей морфології на ближньому (міжмолекулярному) та надмолекулярному рівнях, а також структурних переходів під впливом температури [96]. Аморфні блок-кополімери з термодинамічно несумісними полімерними компонентами здатні утворювати високо впорядковані “суперкристалічні” структури. В залежності від відносної довжини блоків тієї чи іншої хімічної будови у складі блок-кополімеру, його структуру можуть формувати сферичні, циліндричні або надламані циліндричні домени з коротких блоків, які регулярно розподілені у безперервній матриці, сформованій більш довгими блоками, а також високо регулярні ламелярні структури [96, 268]. Результати структурних досліджень дозволяють оцінити ступінь взаємопроникнення сегментів полімерних компонентів та зробити висновки про однорідність чи неоднорідність блочної структури кополімерів. Крім того, дані результати відіграють важливу роль у встановленні факторів стабілізації, будови і властивостей міцелярних структур, що утворюють блок-кополімери у змішаних розчинниках, оскільки в залежності від термофізичних параметрів блоків, які утворюють міцелярне “ядро”, міцели можуть бути “м’якими” (“ядро” знаходиться у високо еластичному стані), “замороженими” (“ядро” у склоподібному стані) або навіть мати “ядро”, що кристалізується [97], що, в свою чергу, буде мати вплив на процеси інкапсуляції та вивільнення лікарських препаратів.

В даному розділі представлені результати вивчення блочної структури двох серій зразків ДБК<sub>ПКЛ</sub> та ряду зразків ТБК<sub>ПКЛ</sub>, які виконувались структурно-чутливими методами диференційної скануючої калориметрії (ДСК) та ширококутового розсіювання рентгенівського випромінення (WAXS). Такі дослідження представляють особливий інтерес, оскільки блоки ПЕО і ПКЛ у складі кополімерів є термодинамічно несумісними, здатними до кристалізації і, крім того, за даними літератури мають близькі температури склування ( $T_c$ ) і плавлення ( $T_{пл}$ ) [131, 132]. При кристалізації таких блок-кополімерів важливу роль відіграє конкуренція між процесами кристалізації несумісних компонентів, зокрема, різниця

у швидкостях утворення окремих кристалічних мікрофаз, яка і визначає особливості кінцевої блочної структури [269]. У попередніх роботах, присвячених структурі амфіфільних диблок- і триблок-кополімерів на основі (МО)ПЕО і ПКЛ, використовували, як правило, достатньо обмежене коло зразків, в яких варіювали довжину якогось одного блока: гідрофобного чи гідрофільного [131, 132]. Це заважало узагальненню результатів, одержаних різними авторами (часто в різних експериментальних умовах), і створенню єдиної картини впливу абсолютної і відносної довжини блоків (МО)ПЕО і ПКЛ на процеси кристалізації та мікрофазового розділення в структурі даних кополімерів.

Методологія ДСК досліджень структурних переходів в блок-кополімерах під дією температури описана в розділі 2.7. На рис. 4.3-4.5 представлені ДСК термограми ДБК<sub>ПКЛ</sub>1-4 з першої серії зразків (табл. 4.1) і вихідного зразка МОПЕГ1, диблок-кополімерів ДБК<sub>ПКЛ</sub>5,7 і 9 з другої серії зразків (табл. 4.1) і МОПЕГ2 та триблок-кополімерів ТБК<sub>ПКЛ</sub>1-2 (табл. 4.1) і відповідного зразка ПЕО1.

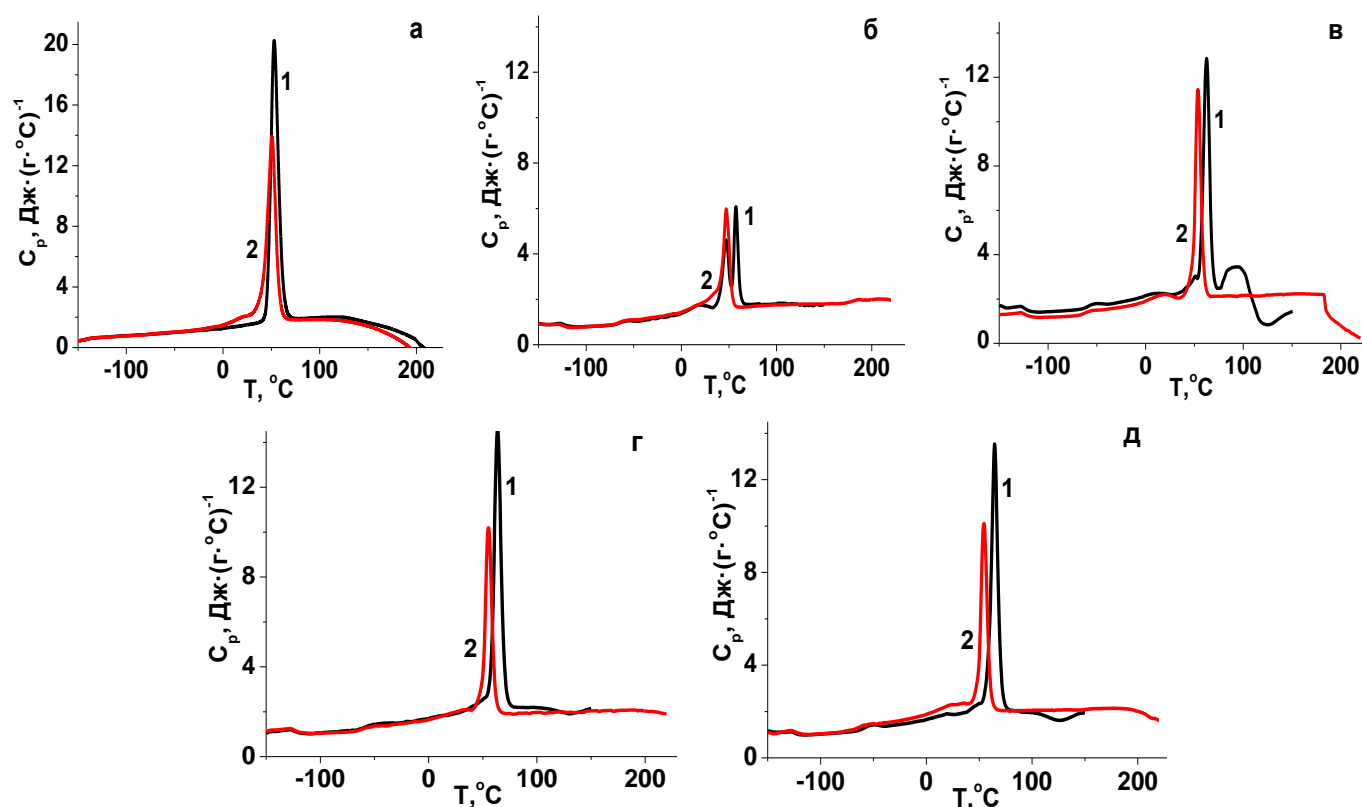


Рис. 4.3. Залежності питомої теплоємності від температури (1-ий –1 та 2-ий –2 скани) для МОПЕГ1 (а), ДБК<sub>ПКЛ</sub>1 (б), ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 (в), ДБК<sub>ПКЛ</sub>3 (г) і ДБК<sub>ПКЛ</sub>4 (д). Швидкість нагріву – 16 град·хв<sup>-1</sup>.

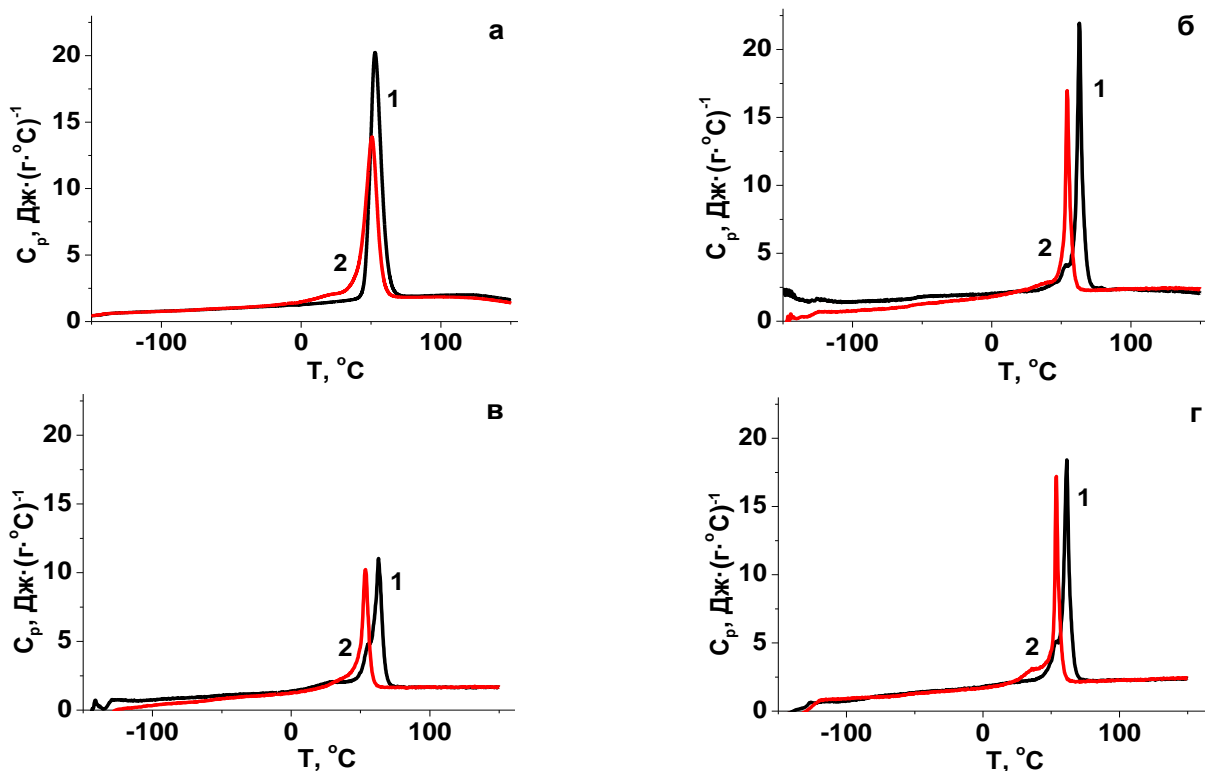


Рис. 4.4. ДСК термограми (1-ий –1 та 2-ий –2 скани) для МОПЕГ2 (а), ДБК<sub>ПКЛ5</sub> (б), ДБК<sub>ПКЛ7</sub> (в) та ДБК<sub>ПКЛ9</sub> (г). Швидкість нагріву – 16 град·хв<sup>-1</sup>.

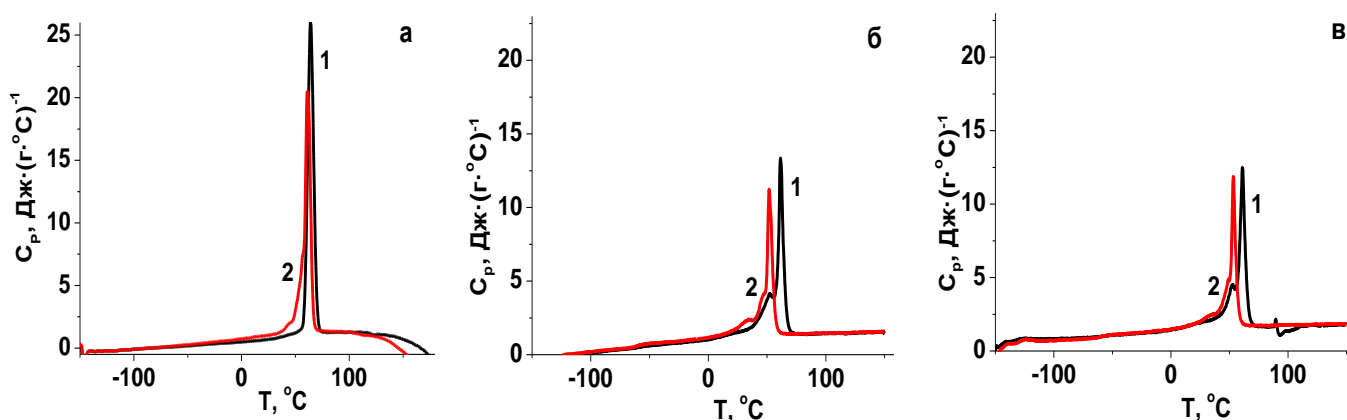


Рис. 4.5. ДСК термограми (1-ий –1 та 2-ий –2 скани) для ПЕО1 (а), ТБК<sub>ПКЛ1</sub> (б) та ТБК<sub>ПКЛ2</sub> (в). Швидкість нагріву – 16 град·хв<sup>-1</sup>.

Характеристики температурних переходів у кополімерах порівняно з даними для вихідних зразків (МО)ПЕГ для кожної серії наведені у табл. 4.2-4.3. На термограмах зразків МОПЕГ1 (рис. 4.3 а) і МОПЕГ2 (рис. 4.4 а) спостерігався лише один перехід плавлення з  $T_{пл}=53$  і  $61,5$  °С, відповідно; перехід склування при цьому був відсутній через високу кристалічність зразків (табл. 4.2-4.3). Термограма ПЕО1 (рис. 4.5 а) також демонструвала єдиний пік плавлення з  $T_{пл}=64$  °С. На відміну від цього, на ДСК термограмах всіх зразків кополімерів (на 1-му скані) проявлялися

один перехід склування та три кристалічних піки, що перекривалися (рис. 4.3 б-д, рис. 4.4 б-г та рис. 4.5 б, в, криві 1).

Таблиця 4.2

Параметри структурних переходів в зразках ДБК<sub>ПКЛ</sub> з  $M_{nMOPEO}=2,5$  кДа

Полімер	С к а н	$T_c^{1)}$ , °C	$\Delta T_c^{2)}$ , °C	$\Delta C_p^{3)}$ , Дж·(г·°C) <sup>-1</sup>	П і к	$T_{пл}^{4)}$ , °C	$\Delta T_{пл}^{2)}$ , °C	$\Delta H_{пл}^{5)}$ , Дж·г <sup>-1</sup>	$X_{кр}^{6)}$ , %
МОПЕГ1	1	-	-	-	-	53,0	39	194,8	99
	2	-	-	-	-	50,6	85	167,2	85
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 1	1	-63,5	13	0,20	1	18,4	50	6,1	-
					2	47,2	29	27,2	29,2
					3	57,3	34	20,7	28,6
	2	-64,0	12	0,21	1	~18	~60	14,9	-
					2	~38			-
					3	47,0	42	34,7	48,0
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 2	1	-58,5	13	0,28	1	10,2	40	3,0	-
					2	51,0	38	23,6	50,6
					3	62,5	26	63,2	60,2
	2	-62,0	12	0,24	1	19,0	48	7,8	-
					2				-
					3	53,5	32	71,4	-
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 3	1	-57,0	18	0,30	1	14,2	35	2,3	-
					2	~51	~40	17,0	90,9
					3	63,7	40	89,7	72,0
	2	-60,0	16	0,25	1	32,7	68	12,0	-
					2				-
					3	54,9	36	62,5	50,2
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 4	1	-58,0	12	0,29	1	19,6	48	4,4	-
					2	~51	34	12,3	67,2
					3	64,6	36	82,9	66,5
	2	-64,5	17	0,26	1	23,4	66	19,8	-
					2	35,3			-
					3	54,3	35	58,0	46,5

1) Температура склування. 2) Температурні області переходів склування та плавлення. 3) Стрибок теплоємності при переході склування. 4) Температура плавлення. 5) Ентальпія плавлення. 6) Ступінь кристалічності: для МОПЕГ  $X_{кр}=\Delta H_{пл}/\Delta H_{пл}^0$ , де  $\Delta H_{пл}^0$  – ентальпія плавлення для 100 % кристалічного ПЕО (196,8 г<sup>-1</sup>) [96]; для блоків (МО)ПЕО і ПКЛ у кополімерах  $X_{кр}=\Delta H_{пл}/(\Delta H_{пл}^0 \cdot w)$ , де  $w$  – масова частка конкретного блоку у кополімері; значення  $\Delta H_{пл}^0=137,5$  г<sup>-1</sup> для 100 % кристалічного ПКЛ узяті з роботи [270].

Особливо чітко три піки плавлення спостерігались на ДСК термограмах зразків ДБК<sub>ПКЛ</sub>1 і ТБК<sub>ПКЛ</sub>1-2 (рис. 4.3 б та рис. 4.5 б, в), в яких довжина блоків (МО)ПЕО була більше, ніж блоків ПКЛ. Завдяки сильному перекриттю деяких з цих піків на 1-му чи 2-му сканах, їх параметри неможливо було точно встановити за допомогою комп'ютерної програми, якою був оздоблений вимірювальний прилад. В цих випадках в табл. 4.2 і 4.3 представлені лише приблизні значення відповідних параметрів, визначені в межах можливостей розділення піків даною програмою.

На основі літературних даних [269, 270], а також одержаних ДСК термограм для індивідуальних зразків (МО)ПЕГ (рис. 4.3-4.5 а) та змін ентальпії плавлення (значень  $\Delta H_{пл}$  в табл. 4.2, 4.3) в залежності від складу блок-кополімерів перші два піки плавлення з  $T_{пл} \sim 10,2 \div 33,4$  °C та  $T_{пл} \sim 47,2 \div 57$  °C на 1-му скані були віднесені до переходів плавлення, відповідно, менш і більш впорядкованих мікрокристалічних областей (МО)ПЕО в структурі кополімерів. Далі, найбільш високотемпературний та інтенсивний третій пік плавлення з  $T_{пл}$  від 57,3 до 64,6 °C (на 1-му скані) відображав процес плавлення окремих мікрокристалічних областей ПКЛ. Важливо відзначити, що для всіх досліджених зразків блок-кополімерів на 2-му скані спостерігалось помітне зниження (депресія) значень  $T_{пл}$  для 2-го і 3-го піків плавлення (рис.4.3 б-д, рис. 4.4 б-г, криві 2, табл. 4.2-4.3), що вказувало на формування менш впорядкованих кристалічних структур блоків (МО)ПЕО і ПКЛ при різкому охолодженні. В результаті ефекту депресії значень  $T_{пл}$  на 2-му скані відбувалось в деяких випадках “злиття” 1-го і 2-го або 2-го і 3-го піків плавлення (табл. 4.2-4.3). В цих випадках було визначено лише ентальпію суммарного піку плавлення без розрахунку ступеню кристалічності ( $X_{кр}$ ) того чи іншого блоку. Враховуючи нерівноважний характер процесів кристалізації блок-кополімерів при різкому охолодженні їх розплавів (після 1-го скану), подальший аналіз структурних змін в залежності від довжини блоків проводили за даними для 1-их сканів.

Розглянемо тепер структурні особливості двох серій ДБК<sub>ПКЛ</sub>1-4 і ДБК<sub>ПКЛ</sub>5-9 з різною довжиною блоку МОПЕО. З даних табл. 4.2 для 1-их сканів видно, що  $T_{пл}$  для кристалічних областей ПКЛ в ряду ДБК<sub>ПКЛ</sub>1-4 (де ММ блоку ПКЛ збільшувалась у 8,7 разів) зростала до майже постійного значення, що

супроводжувалось істотним підвищенням  $X_{кр}$  даних блоків.

Таблиця 4.3

Параметри структурних переходів в зразках ДБК<sub>ПКЛ</sub> з  $M_{нМОПЕО}=4,5$  кДа та ТБК<sub>ПКЛ</sub>

Полімер	С к а н	$T_c^{1)}$ , °C	$\Delta T_c^{2)}$ , °C	$\Delta C_p^{3)}$ , Дж·(г·°C) <sup>-1</sup>	П і к	$T_{пл}^{4)}$ , °C	$\Delta T_{пл}^{2)}$ , °C	$\Delta H_{пл}^{5)}$ , Дж·г <sup>-1</sup>	$X_{кр}^{6)}$ , %
МОПЕГ2	1	-	-	-	-	61,5	49	200,8	100
	2	-	-	-	-	59,5	57	175,9	89
ПЕГ1	1	-	-	-	-	64,0	78	171,0	87
	2	-	-	-	-	61,0	100	162,9	83
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 5	1	-55,0	10	0,20	1	28,5	65	11,7	-
					2	54,0	40	44,6	95,6
					3	64,0	36	70,9	67,6
	2	-58,5	7	0,16	1	41,0	93	41,6	-
					2				
					3	55,0	44	57,5	54,7
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 7	1	-55,3	11	0,11	1	30,0	65	25,5	-
					2	57,0	34	38,4	93,7
					3	64,0	37	45,6	47,3
	2	-57,7	9	0,15	1	~39	91	41,1	-
					2				
					3	54,2	49	44,7	46,4
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 9	1	-52,5	14	0,17	1	33,4	66	22,2	-
					2	54,4	34	39,6	94,7
					3	62,3	39	61,5	55,3
	2	-57,3	10	0,16	1	38,0	92	49,8	-
					2				
					3	54,5	50	49,0	44,0
ТБК <sub>ПКЛ</sub> 1	1	-58,8	10	0,16	1	26,5	66	20,5	-
					2	52,8	36	49,3	65,9
					3	62,5	33	50,0	58,6
	2	-59,7	11	0,25	1	33,9	50	41,8	-
					2	~48,5	19	7,0	9,6
					3	52,5	46	50,8	58,5
ТБК <sub>ПКЛ</sub> 2	1	-58,9	10	0,12	1	27,2	67	25,3	-
					2	52,8	35	41,1	75,1
					3	61,9	36	48,8	49,1
	2	-59,8	12	0,21	1	35,6	68	39,4	-
					2	49,6	20	12,0	22,3
					3	54,1	44	41,8	41,8

Позначення <sup>1)-6)</sup> ті ж самі, що під табл. 4.2.

У випадку ДБК<sub>ПКЛ3</sub> параметр  $X_{кр}$  для блоків ПКЛ досягав максимального значення 72 %, а потім дещо знижувався для зразка ДБК<sub>ПКЛ4</sub>. При цьому ступень кристалічності блоків МОПЕО була помітно нижчою у порівнянні з вихідним зразком МОПЕГ1 (табл. 4.2, дані для 1-их сканів). Навіть у випадку ДБК<sub>ПКЛ1</sub>, в якому блок МОПЕО був суттєво довшим, ніж блок ПКЛ (табл. 4.1), значення  $X_{кр}$  для обох блоків виявились майже однаково низькими. Враховуючи, що завдяки більш низькій вільній поверхневій енергії ПКЛ швидкість кристалізації блоків ПКЛ є вищою у порівнянні з ПЕО [269], наведені результати означали, що кристалізація блоків ПКЛ відбувалась першою і пригнічувала кристалізацію блоків МОПЕО. Важливо відзначити, що більш короткі блоки ПКЛ здійснювали більш сильний вплив на кристалізацію блоків МОПЕО (дані табл. 4.2 для ДБК<sub>ПКЛ1</sub>).

Зміна параметрів переходу склування в залежності від довжини блоку ПКЛ знаходилась у повній відповідності з описаними вище результатами. Відзначимо, що  $T_c$  для чистого ПКЛ (поблизу  $-59\text{ }^\circ\text{C}$  [271]) є дещо вищою, ніж для ПЕО ( $-57\text{ }^\circ\text{C}$  [272]). Отже, коли відносна довжина та  $X_{кр}$  блоків ПКЛ в ДБК<sub>ПКЛ</sub> зростали, доля їх сегментів в аморфних областях зменшувалась, тому  $T_c$  (знайдене з 1-го скану) знижувалось до величини, що характерна для чистого МОПЕО (табл. 4.2).

В ряду ДБК<sub>ПКЛ5-9</sub>, в якому молекулярна маса блоку ПКЛ зростала всього на 31,7 %, а масова частка блоку МОПЕО знижувалась на 4,6 % (табл. 4.1),  $T_{пл}$  та ступінь кристалічності для блоків МОПЕО були нижчими, ніж для зразку МОПЕГ2 (табл. 4.3, дані для 1-их сканів). Для блоків ПКЛ зазначені параметри були дещо вищими або такими ж, як для гомополімеру ПКЛ (згідно літературних даних, для чистого ПКЛ  $T_{пл}$  складає  $55-62\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $X_{кр}=53-59\text{ }%$  [266, 270, 271]). При зростанні довжини блоку ПКЛ ступінь кристалічності обох блоків дещо знижувалась (табл. 4.3). Разом з тим,  $X_{кр}$  блоків МОПЕО у складі ДБК<sub>ПКЛ5-9</sub> виявився значно вищим, ніж ступінь їх кристалічності у складі ДБК<sub>ПКЛ1-4</sub>, тобто при збільшенні довжини цих блоків від  $M_n=2,5$  до  $4,5$  кДа відбувалось зменшення впливу кристалізації блоку ПКЛ на процес кристалізації МОПЕО.

В ряду триблок-кополімерів ТБК<sub>ПКЛ</sub> молекулярна маса бічних блоків ПКЛ зростала на 59,1 %, однак все одно залишалась значно нижчою, ніж у більшості

зразків ДБК<sub>ПКЛ</sub> (табл. 4.1). Водночас, масова частка блоку МОПЕО хоч і зменшувалась в ряду на 10,2%, проте була більшою, ніж у всіх диблок-кополімерів за виключенням зразка ДБК<sub>ПКЛ1</sub> (табл. 4.1). Цікаво було порівняти характеристики структури триблок-кополімерів і тих зразків диблок-кополімерів (з 2-го ряду), що мали співрозмірну довжину гідрофільного блоку. Найбільш характерною відмінністю структури ТБК<sub>ПКЛ</sub> у порівнянні з ДБК<sub>ПКЛ5-9</sub> та вихідним зразком ПЕО1 виявилось різке зниження  $X_{кр}$  центрального поліетерного блоку (табл. 4.3). Водночас, величини  $X_{кр}$  блоків ПКЛ у складі як ТБК<sub>ПКЛ</sub>, так і ДБК<sub>ПКЛ5-9</sub> залишались співпоставимими і мало залежали від їх довжини. Таким чином було показано, що кристалізація поліетерного блока більше пригнічується тоді, коли блоки ПКЛ, що кристалізуються, розташовані по обох його кінцях. Ефект різкого зниження  $X_{кр}$  центрального блоку (порівняно з  $X_{кр}$  відповідного гомополімеру) добре відомий і у випадку триблок-кополімерів, в яких обидва бічні блоки є аморфними [272].

Структурний аналіз диблок- і триблок-кополімерів методом ДСК доповнили рентгеноструктурні дослідження, які проводили за методикою, викладеною в розділі 2.8; їх результати представлені на рис. 4.6-4.8. Дані дифрактограм WAXS для кополімерів знаходились у повній відповідності з описаними вище результатами ДСК. Зокрема, висококристалічна структура МОПЕГ яскраво проявлялась на профілі WAXS вихідного зразка МОПЕГ1 (рис. 4.6 а) у вигляді двох інтенсивних кристалічних піків при  $\theta=19,0^\circ$  та  $23,1^\circ$ , які добре відомі з літератури [271]. На відміну від цього, на профілях WAXS ДБК<sub>ПКЛ2-4</sub> (рис. 4.6 в-д) пік при  $19,0^\circ$  майже зникав, а другий пік з  $\theta=23,1^\circ$ , вочевидь, перекривався двома іншими інтенсивними кристалічними піками при  $\theta=21,3^\circ$  та  $23,6^\circ$ , характерними для мікрокристалічних областей ПКЛ. У випадку ДБК<sub>ПКЛ1</sub>, в якому довжина блоку ПКЛ є найменшою, обидві групи піків на профілі WAXS були майже відсутні, тобто мали дуже малу інтенсивність (рис. 4.6 б), що повністю корелювало з низькими значеннями ступеня кристалічності для обох блоків у структурі ДБК<sub>ПКЛ1</sub> (табл. 4.2). На ширококутових дифрактограмах, одержаних для другої серії зразків ДБК<sub>ПКЛ5-9</sub> (рис. 4.7 б-г), а також для обох зразків ТБК<sub>ПКЛ</sub> (рис. 4.8 б, в), так само проявлялись два інтенсивних кристалічних піки ПКЛ при  $\theta=21,3^\circ$  і  $23,6^\circ$ .

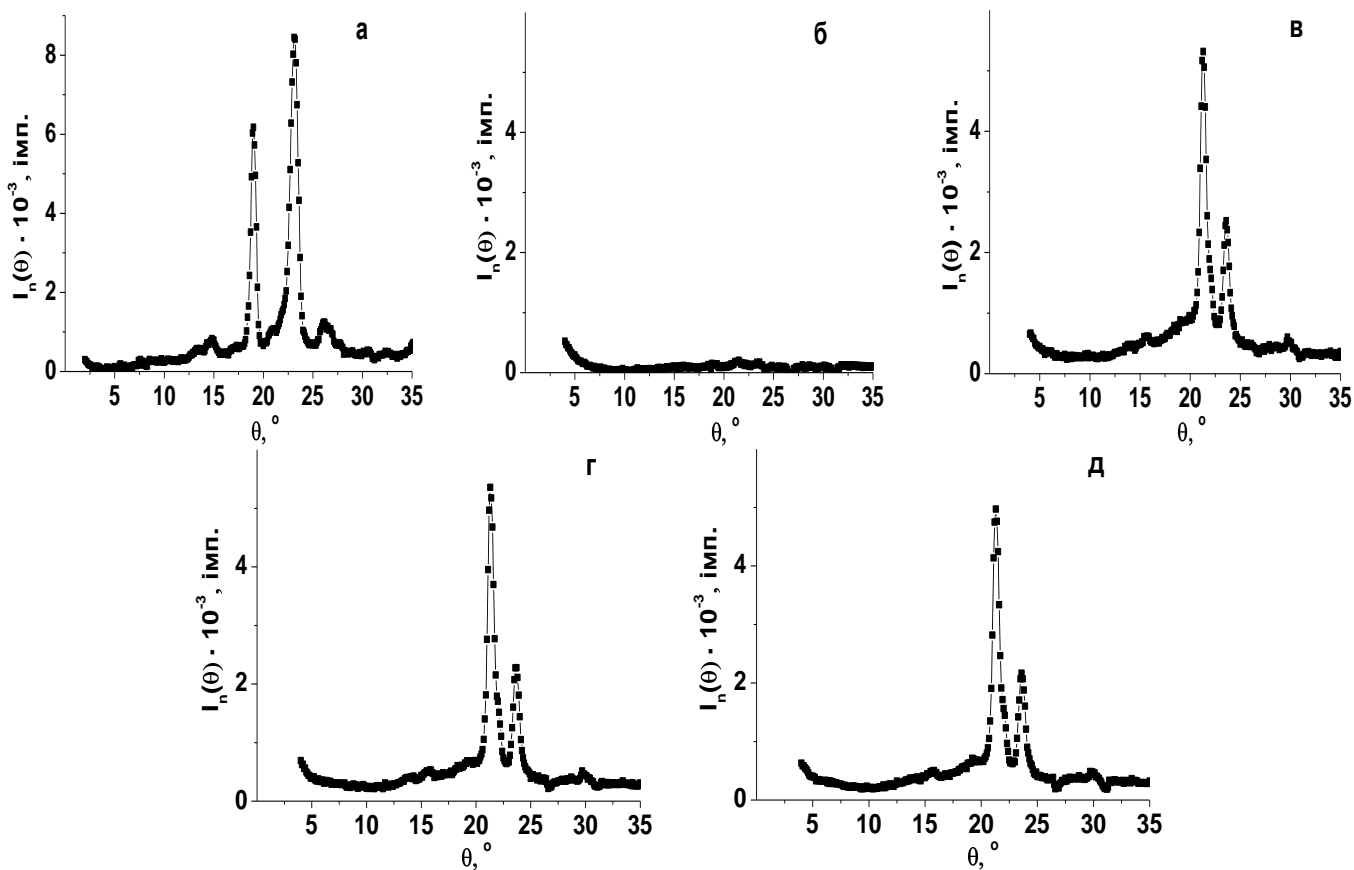


Рис. 4.6. Ширококутові дифрактограми (профілі WAXS) для МОПЕГ1 (а), ДБК<sub>ПКЛ1</sub> (б), ДБК<sub>ПКЛ2</sub> (в), ДБК<sub>ПКЛ3</sub> (г) та ДБК<sub>ПКЛ4</sub> (д). T=20 °C.

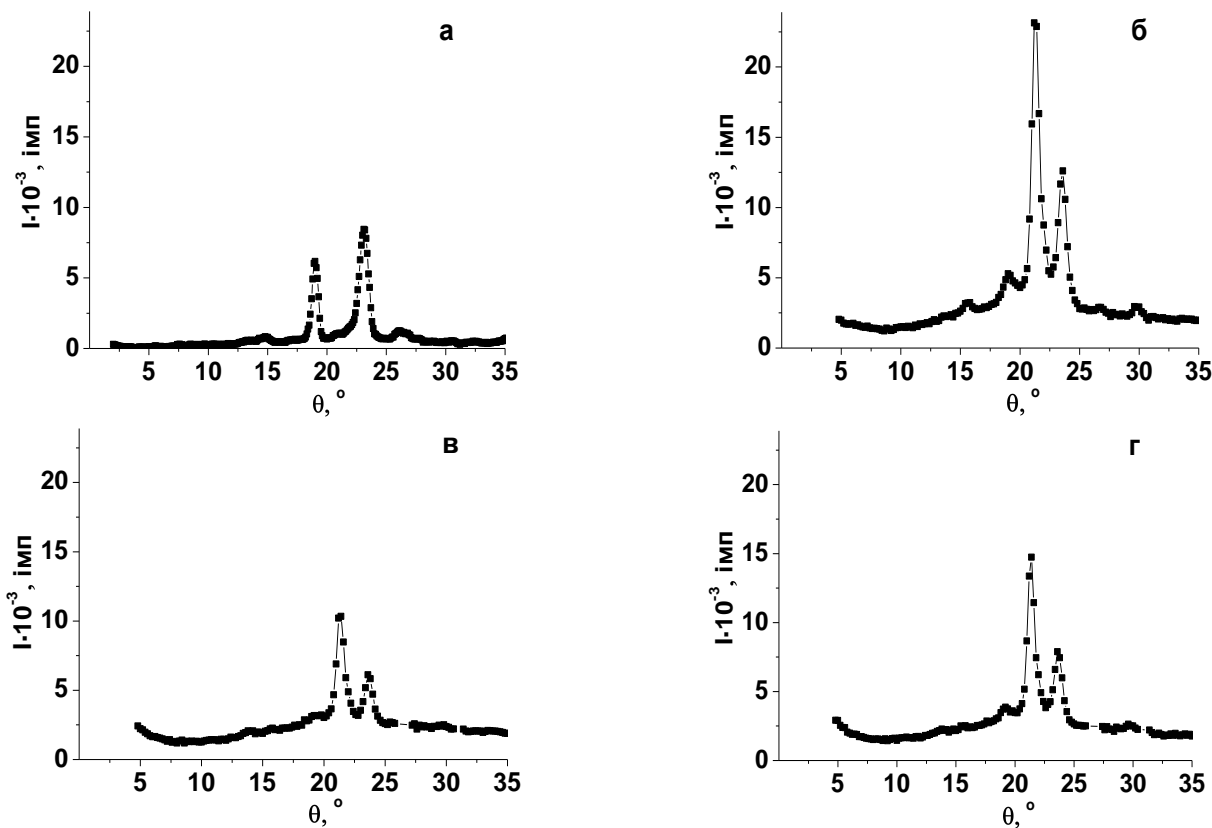


Рис. 4.7. Профілі WAXS для МОПЕГ2 (а), ДБК<sub>ПКЛ5</sub> (б), ДБК<sub>ПКЛ7</sub> (в) та ДБК<sub>ПКЛ9</sub> (г). T=20 °C.

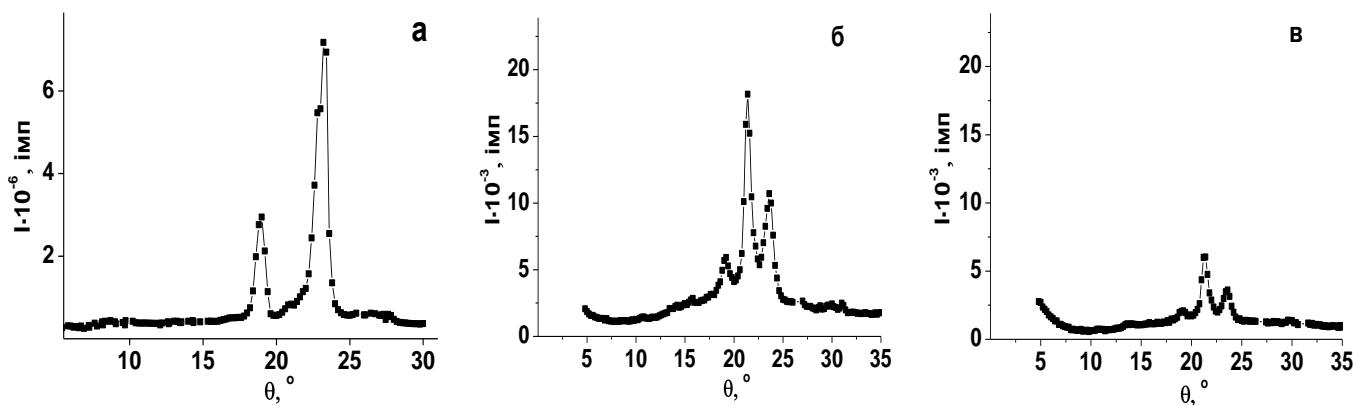


Рис. 4.8. Профілі WAXS для ПЕГ1 (а), ТБК<sub>ПКЛ</sub>1 (б) та ТБК<sub>ПКЛ</sub>2 (в). T=20 °С.

Водночас, на вказаних дифрактограмах спостерігався також чіткий пік при  $\theta \sim 19,0 \div 19,3^\circ$ , що вказувало на існування окремих мікрокристалічних областей (МО)ПЕО. Щодо другого піку (МО)ПЕО при  $\theta = 23,1^\circ$ , то він був прихований двома інтенсивнішими кристалічними піками ПКЛ, так само, як і у випадках ДБК<sub>ПКЛ</sub>1-4.

Положення піків на дифрактограмах для всіх досліджених зразків наведені в табл. 4.4. Також в цій таблиці представлені міжплощинні відстані в кристалічних решітках (МО)ПЕО та ПКЛ, розраховані за рівнянням Брегга (4.5) [230]:

$$d = \frac{\lambda}{2 \cdot \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)}; \quad (4.5)$$

де  $d$  – міжплощинна відстань,  $\lambda$  – довжина хвилі рентгенівських променів, що становила 0,154 нм,  $\theta$  – кут розсіювання.

Таблиця 4.4

Параметри дифракційних максимумів за даними WAXS для ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub>

Полімер	$w_{(МО)ПЕО}^{1)}$ , %	Положення максимумів			Міжплощинні відстані		
		$\theta_1$ , °	$\theta_2$ , °	$\theta_3$ , °	$d_1$ , нм	$d_2$ , нм	$d_3$ , нм
МОПЕГ1,2	100	19,0	-	23,1	0,467	-	0,385
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 1	47,3	19,0	21,5	23,6	0,467	0,413	0,377
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 2	23,7	19,0	21,3	23,6	0,467	0,416	0,377
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 3	9,5	19,2	21,3	23,7	0,462	0,416	0,375
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 4	9,3	19,2	21,3	23,6	0,462	0,416	0,377
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 5	23,7	19,0	21,2	23,6	0,467	0,418	0,377
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 7	21,4	19,3	21,4	23,6	0,459	0,415	0,377
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 9	19,1	19,2	21,4	23,6	0,462	0,415	0,377
ТБК <sub>ПКЛ</sub> 1	38,0	19,2	21,4	23,6	0,462	0,415	0,377
ТБК <sub>ПКЛ</sub> 2	27,8	19,2	21,3	23,6	0,462	0,416	0,377

<sup>1)</sup> Масова частка (МО)ПЕО у складі диблок- і триблок-кополімерів.

В цілому структурні дослідження ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> підтвердили термодинамічну несумісність блоків (МО)ПЕО і ПКЛ та показали наявність мікрофазового розділення в структурі блок-кополімерів, а саме існування аморфних областей і кристалічних доменів, сформованих окремо кожним блоком. Крім того, на прикладі досліджень структури даних блок-кополімерів з обома компонентами, що кристалізуються, вдалось яскраво продемонструвати ефект вимушеної сумісності, що пов'язаний з наявністю ковалентного зв'язку між термодинамічно несумісними блоками, який добре відомий для блок-кополімерів з аморфними компонентами [101, 102]. Дійсно, як показали одержані результати, найбільш катастрофічне зменшення  $X_{кр}$  блоків МОПЕО і ПКЛ, що кристалізуються, порівняно з відповідними гомополімерами спостерігалось у випадку найменшої їх довжини (у зразку ДБК<sub>ПКЛ</sub>1). Подальше збільшення довжини хоча б одного з цих блоків (наприклад, блоку ПКЛ як в зразку ДБК<sub>ПКЛ</sub>2) викликало покращення кристалічних властивостей одразу обох компонентів, що свідчило про суттєве зменшення їх взаємного впливу на кристалізацію один одного. Однак, ще більший ефект, тобто ще більше зростання  $X_{кр}$  обох блоків МОПЕО і ПКЛ досягався при одночасному збільшенні їх довжини (як у зразку ДБК<sub>ПКЛ</sub>5). У такий спосіб ще більше проявлялася термодинамічна несумісність даних компонентів, оскільки вони все менше впливали на кристалізацію один одного.

#### **4.3 Міцелоутворення диблок- та триблок-кополімерів у водно-органічному середовищі**

Класичні двокомпонентні (A-b-B і A-b-B-b-A типу) амфіфільні блок-кополімери здатні утворювати міцели у водно-органічному середовищі за рахунок самозбірки гідрофобних блоків. Морфологія таких міцел (сферичні, стрижне- та квіткоподібні або везикулярні структури), їх розмір та ступінь агрегації, відносний розмір “ядра” і “корони”, а також їх стабільність у розчині визначаються хімічною природою компонентів та абсолютною і відносною довжиною гідрофобних і гідрофільних блоків [97]. Даний розділ присвячено вивченню процесів міцелоутворення кополімерів МОПЕО-b-ПКЛ та ПКЛ-b-ПЕО-b-ПКЛ у водно/

органічних розчинах в присутності селективного розчинника. “Гарним” розчинником для макромолекул кополімерів виявився 1,4-діоксан, в той час як вода була селективним розчинником лише для гідрофільних блоків МОПЕО/ПЕО. Тому самозбірку макромолекул ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> ініціювали поступовим додаванням води до діоксанових розчинів кополімерів. При цьому спостерігалось характерне замутнення розчинів, обумовлене міцелоутворенням. Дослідження зміни мутності при зміні складу змішаного розчинника у водно-діоксанових розчинах двох серій ДБК<sub>ПКЛ</sub> та зразка ТБК<sub>ПКЛ</sub>1 проводили спектрофотометричним методом у видимій області спектру (розділ 2.9). Вплив зростаючого вмісту води у змішаному розчиннику на стан макромолекул кополімерів представлено на рис. 4.9.

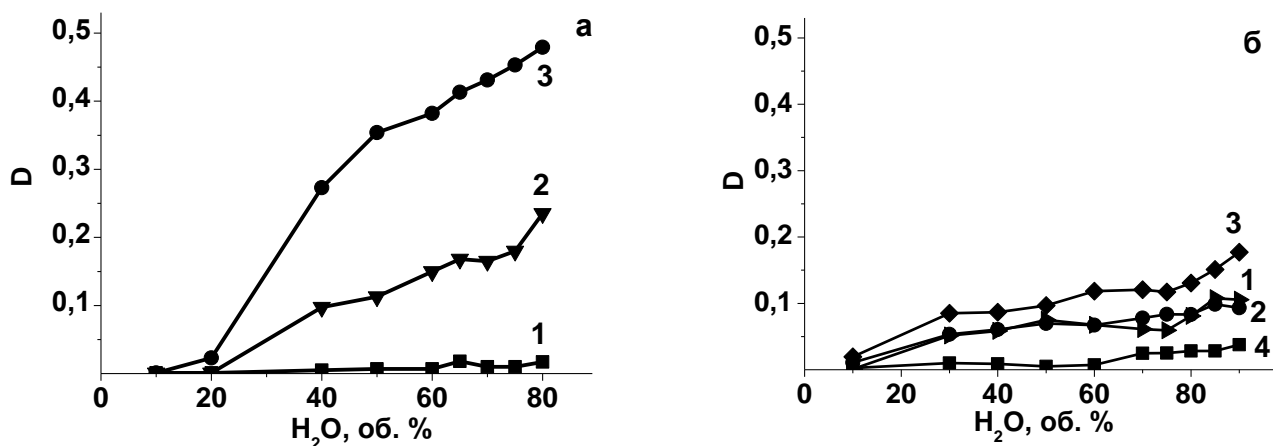


Рис. 4.9. Залежності оптичної густини (мутності) водно/діоксанових розчинів 1-ї серії диблок-кополімерів (а): ДБК<sub>ПКЛ</sub>1 –1, ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 –2, ДБК<sub>ПКЛ</sub>3 –3, 2-ї серії диблок-кополімерів (б): ДБК<sub>ПКЛ</sub>5 –1, ДБК<sub>ПКЛ</sub>8 –2, ДБК<sub>ПКЛ</sub>9 –3, а також ТБК<sub>ПКЛ</sub>1 –4 (б) від об’ємної частки води. Концентрація кополімерів  $C=0,8 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ .

Для обох серій ДБК<sub>ПКЛ</sub> та для ТБК<sub>ПКЛ</sub> видно закономірне зростання величини мутності при підвищенні вмісту води в області > 20 об %. Оскільки вода є селективним нерозчинником для гідрофобного блоку ПКЛ, збільшення її об’ємної частки у змішаному розчиннику стимулювало сегрегацію блоків ПКЛ та утворення класичних міцелярних структур ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> (з гідрофобним “ядром”). Крім того, процес міцелоутворення значно посилювався при подовженні ланцюга ПКЛ в макромолекулах диблок-кополімерів, що проявлялося у зростанні оптичної густини (мутності) розчинів в обох серіях ДБК<sub>ПКЛ</sub>1-3 (рис. 4.9 а, криві 1-3) та ДБК<sub>ПКЛ</sub>5-9 (рис. 4.9 б, криві 1-3). У випадках ТБК<sub>ПКЛ</sub>1 (рис. 4.9 б, крива 4) та ДБК<sub>ПКЛ</sub>1 (рис. 4.9 а, крива 1), в яких блоки ПКЛ були найкоротшими (табл. 4.1), оптична густина була

помітно меншою, ніж для інших зразків. Також слід відзначити, що мутність розчинів 2-ої серії диблок-кополімерів: ДБК<sub>ПКЛ5</sub>, ДБК<sub>ПКЛ8</sub> і ДБК<sub>ПКЛ9</sub> (рис. 4.9 б, криві 1-3) була помітно нижчою, ніж розчинів ДБК<sub>ПКЛ2</sub> і ДБК<sub>ПКЛ3</sub> (рис. 4.9 а, криві 2-3) з 1-ої серії диблок-кополімерів. Це можна пояснити більшою довжиною гідрофільного блоку МОПЕО в макромолекулах 2-ої серії ДБК<sub>ПКЛ</sub> (табл. 4.1), тобто більшим розміром гідрофільної “корони” міцел.

Для подальших, більш детальних, досліджень впливу довжини блоків у складі кополімерів на термодинамічні параметри процесів їх міцелоутворення було обрано постійний склад змішаного розчинника (вода/діоксан=30/70 об %), при якому мутність була максимальною, а міцелярна дисперсія зберігала відносну стабільність у часі. Критична концентрація міцелоутворення (ККМ) та вільна енергія міцелоутворення Гіббса ( $-\Delta G^\circ$ ) є одними з найважливіших параметрів міцелярних систем, бо вони характеризують їх стабільність [97, 151] і є визначальними для подальшого використання міцелярних структур як носіїв лікарських препаратів. Для визначення ККМ у розчинах диблок- і триблок-кополімерів застосовували метод пружного світлорозсіювання (ПС) (розділ 2.11). Використані для цього залежності інтенсивності розсіювання вертикально поляризованого світла від концентрації кополімерів представлені на рис. 4.10 а-є. Для зразка ДБК<sub>ПКЛ1</sub>, що містив найкоротший блок ПКЛ (табл. 4.1) ефект замутнення діоксанового розчину при додаванні води був дуже слабким (рис. 4.9 а, крива 1), тому для даного диблок-кополімеру термодинамічні параметри міцелоутворення не визначали.

Використовуючи термодинамічну теорію міцелоутворення [97] та отримані методом ПС значення ККМ, розраховували для зазначених блок-кополімерів також вільну енергію міцелоутворення Гіббса ( $-\Delta G^\circ$ ) за наступним співвідношенням (4.6):

$$\Delta G^\circ = RT \cdot \ln KKM \quad (4.6)$$

Всі результати зібрані в табл. 4.4. Як видно, для обох серій ДБК<sub>ПКЛ</sub> характерне закономірне зниження значень ККМ та, відповідно, збільшення величин  $-\Delta G^\circ$  (тобто підвищення стабільності міцел) зі зростанням довжини гідрофобного блоку ПКЛ в межах кожної серії диблок-кополімерів.

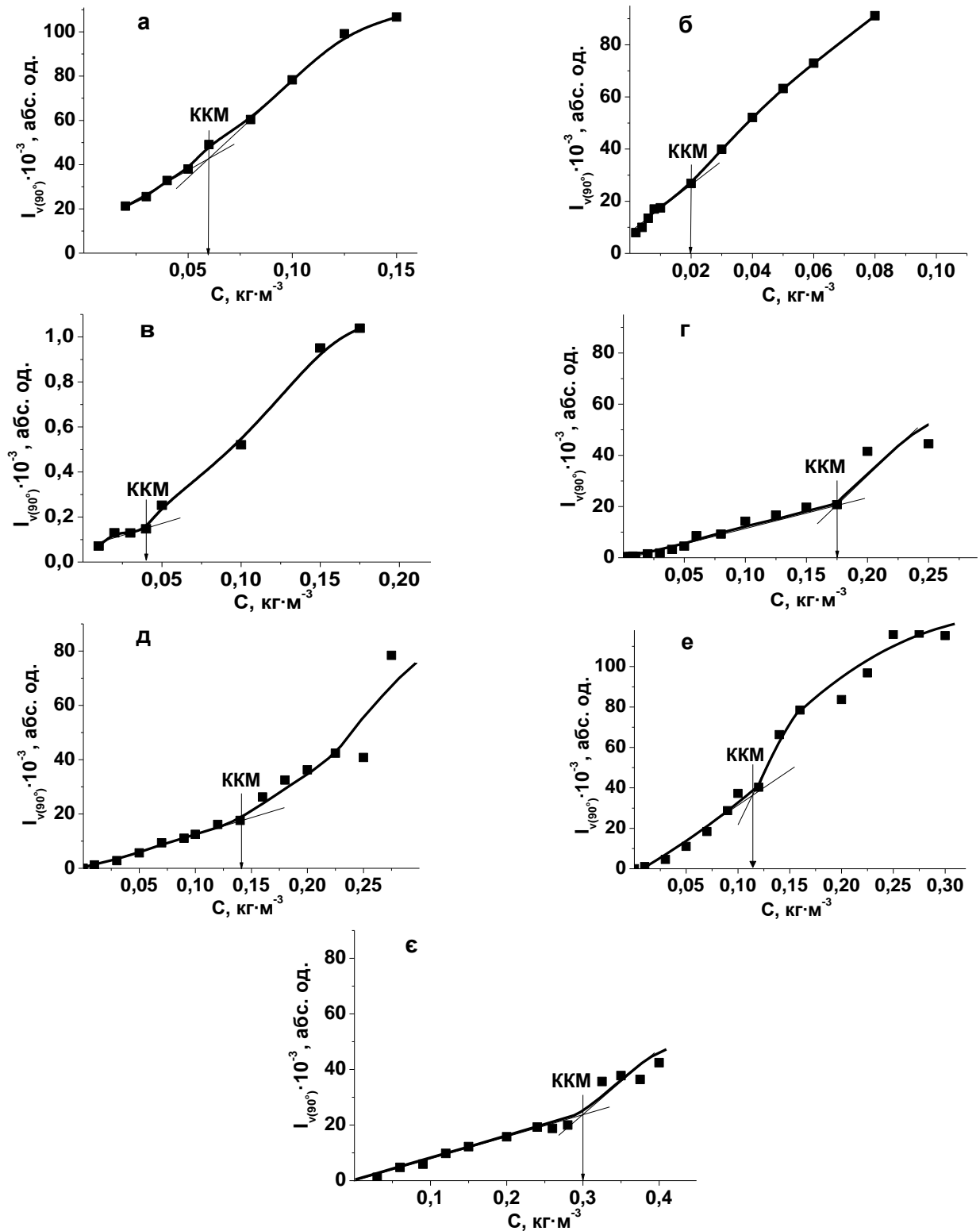


Рис. 4.10. Зміна інтенсивності розсіювання вертикально поляризованого світла ( $\lambda=520$  нм,  $\theta=90^\circ$ ,  $T=21$  °C) від концентрації ДБК<sub>ПКЛ2</sub> (а), ДБК<sub>ПКЛ3</sub> (б), ДБК<sub>ПКЛ4</sub> (в), ДБК<sub>ПКЛ5</sub> (г), ДБК<sub>ПКЛ8</sub> (д), ДБК<sub>ПКЛ9</sub> (е) та ТБК<sub>ПКЛ1</sub> (е) у змішаному розчиннику вода/діоксан=70/30 об %.

Найбільшу величину ККМ та найменше значення вільної енергії міцелотворення

встановлено для міцел  $\text{ТБК}_{\text{ПКЛ}1}$ , що свідчить про їх найменшу стабільність у змішаному розчиннику порівняно з усіма зразками  $\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}}$ . Це не дивно, враховуючи, що зразок  $\text{ТБК}_{\text{ПКЛ}1}$  містить в своєму складі найкоротші гідрофобні блоки ПКЛ (табл. 4.1).

Таблиця 4.4

Термодинамічні параметри міцелоутворення  $\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}}$  та  $\text{ТБК}_{\text{ПКЛ}}$

Кополімер	$\text{ККМ} \cdot 10^5, \text{ моль} \cdot \text{дм}^{-3}$	$-\Delta G^\circ, \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$
$\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}2}$	0,54	29,75
$\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}3}$	0,07	34,85
$\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}4}$	0,15	32,90
$\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}5}$	0,92	28,44
$\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}8}$	0,64	29,33
$\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}9}$	0,46	30,14
$\text{ТБК}_{\text{ПКЛ}1}$	1,90	26,66

Спрощена схема процесу міцелоутворення  $\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}}$  представлена на рис. 4.11. Внаслідок сегрегації нерозчинних у воді блоків ПКЛ відбувається формування гідрофобного міцелярного “ядра”, в той час як блоки МОПЕО утворюють гідрофільну “корону”, що забезпечує стабільність всієї міцелярної структури.

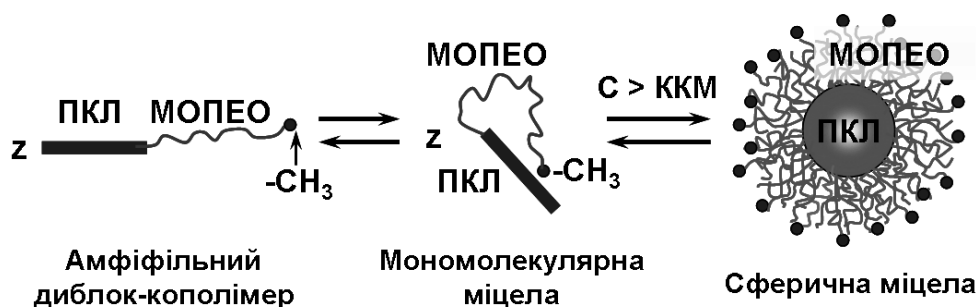


Рис. 4.11. Схематичне зображення процесу міцелоутворення  $\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}}$  у водно/діоксановому середовищі.

При збільшенні довжини блоку ПКЛ в кожній серії  $\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}}$ , де зберігається постійна довжина гідрофільного блоку МОПЕО, слід очікувати зростання розміру

міцелярного “ядра”, а розмір “корони” буде залишатись незмінним, завдяки чому в зразках з довшим ПКЛ блоком можлива зміна морфології міцел з “волохатих” на так звані “обрізані” [97, 152]. Отже, стабільність міцелярних структур ДБК<sub>ПКЛ</sub> в дослідженому змішаному розчиннику зростає зі збільшенням довжини формуючого “ядро” блоку ПКЛ, а значить і зі збільшенням розмірів цього “ядра”.

У випадку триблок-кополімерів відбувається формування зовсім іншого типу міцелярних структур, ніж описані вище міцели ДБК<sub>ПКЛ</sub>. Схема міцелоутворення в розчинах ТБК<sub>ПКЛ</sub> наведена на рис. 4.12.

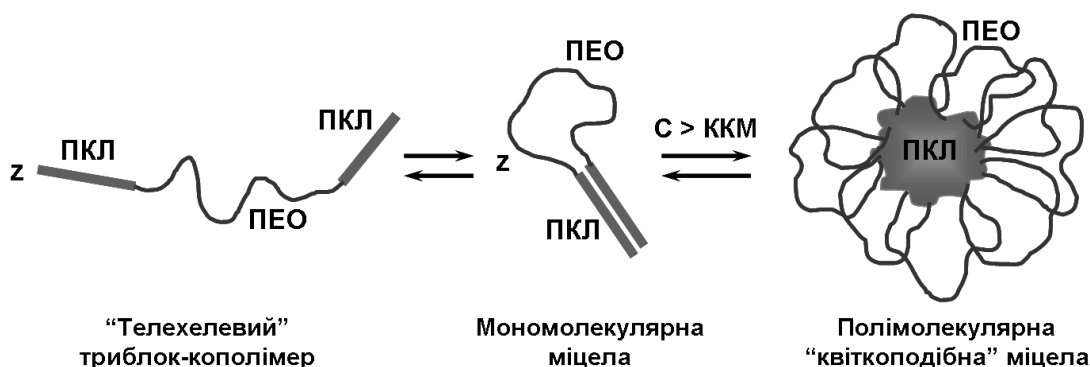


Рис. 4.11. Схема процесу самозбірки макромолекул ТБК<sub>ПКЛ</sub> у змішаному розчиннику.

Макромолекули ТБК<sub>ПКЛ</sub> за своєю будовою, а саме: наявністю центрального гідрофільного блоку і двох бічних гідрофобних блоків, відносяться до так званих “телехелевих” кополімерів [250]. В цьому випадку в їх розбавлених розчинах ( $C < ККМ$ ) у селективному розчиннику повинні формуватися спочатку мономолекулярні міцели (МММ) за рахунок сегрегації двох гідрофобних бічних блоків ПКЛ в межах кожної макромолекули, які потім при підвищенні концентрації (за  $C > ККМ$ ) будуть збиратись в специфічні полімолекулярні міцели (ПММ) “квіткоподібного” типу, що містять гідрофобне “ядро” із блоків ПКЛ та “корону”, утворену “петлями” центрального гідрофільного блоку ПЕО (рис. 4.12). Дослідженню “квіткоподібних” міцел, які утворюють телехелеві блок-кополімери та просто телехелеві полімери (гідрофільні гомополімери, що мають на обох кінцях гідрофобні групи), присвячено багато експериментальних та теоретичних робіт [97, 250]. Однак, до сих пір немає чіткого уявлення про морфологію таких міцел та зміну їх стану і параметрів в різних умовах, зокрема, в різних розчинниках. Тому, ми

вибрали по одному зі зразків диблок- та триблок-кополімерів (ДБК<sub>ПКЛ9</sub> та ТБК<sub>ПКЛ1</sub>) для проведення ретельних досліджень морфології їх міцел методом ТЕМ (розділ 2.14).

Електронні мікрофотографії міцелярних структур вибраних блок-кополімерів представлені на рис. 4.13. На них чітко проявлялись як окремі маленькі міцели з “опушкою” (“короною”), так і їх фрактальні агрегати самої різної форми.

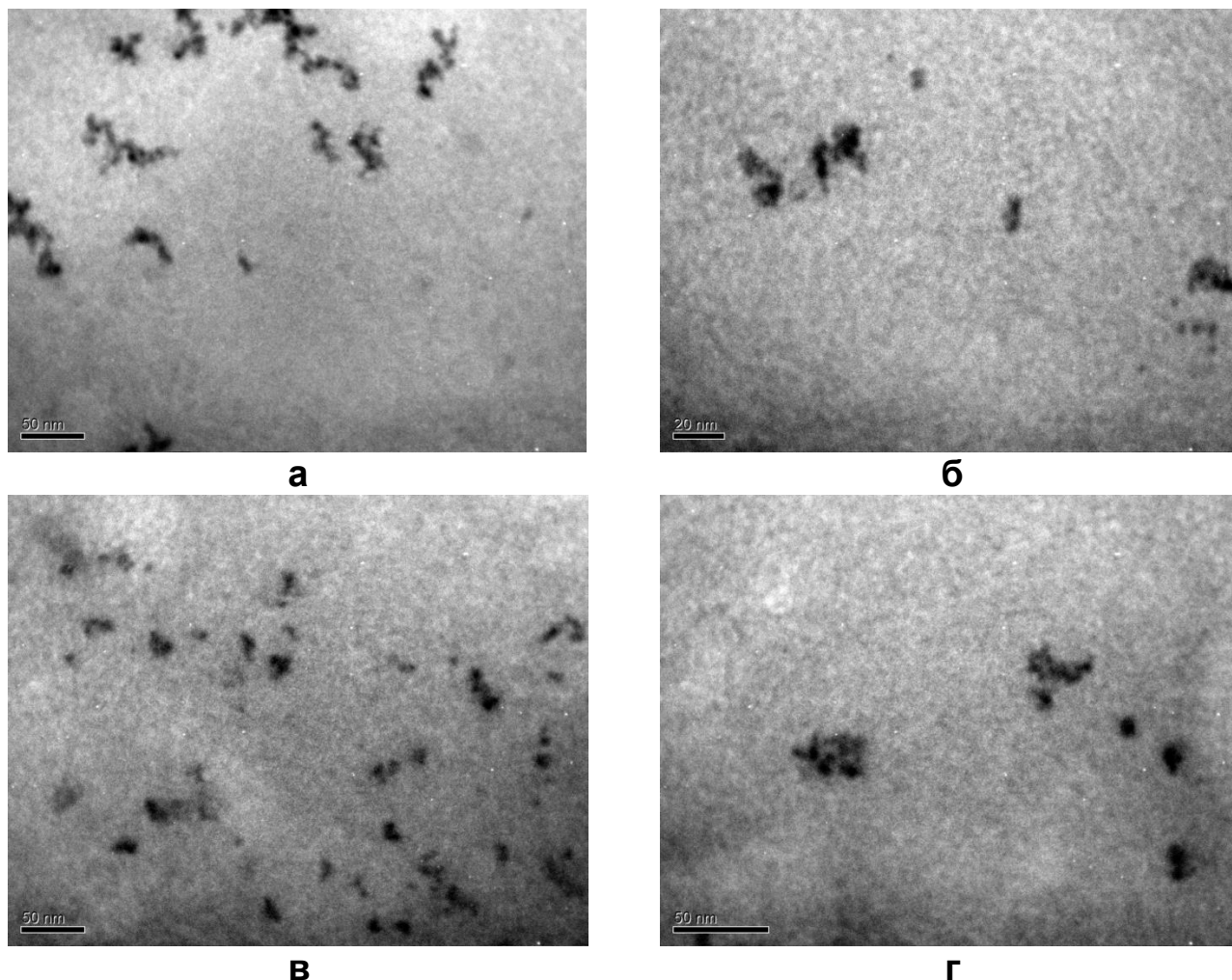


Рис. 4.13. Мікрофотографії міцелярних структур, утворених ДБК<sub>ПКЛ9</sub> (а, б) і ТБК<sub>ПКЛ1</sub> (в, г) у розчиннику вода/діоксан=70/30 об %.  $C_{\text{ДБК/ТБК}}=0,3$  мас %,  $T=20$  °С.

Розміри окремих малих міцел, оцінені за мікрофотографіями, дорівнювали  $d \sim 3 \div 14$  нм для ДБК<sub>ПКЛ9</sub> і  $d \sim 3 \div 13$  нм для ТБК<sub>ПКЛ1</sub>, тобто були дуже близькі, хоча довжина гідрофобних блоків ПКЛ в цих кополімерах була суттєво різною. Було помічено (рис. 4.13), що агрегація малих міцел блок-кополімерів у водно/діоксановому середовищі розвивалась за рахунок взаємодії їх “корон” і приводила до утворення розгалужених “ланцюжків” (переважно в розчинах ДБК<sub>ПКЛ9</sub>) або близьких до

сферичних об'єднань невеликого кола міцел (переважно в розчинах ТБК<sub>ПКЛ1</sub>).

#### 4.4 Міцели ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> у водних розчинах

Ефективність терапевтичних систем на основі міцел блок-кополімерів з інкапсульованими в них лікарськими препаратами значною мірою залежить від параметрів міцелярного наноконтейнера – його морфології, розмірів та стабільності. Використання таких систем в живих організмах передбачає повну відсутність токсичних органічних розчинників як в процесах синтезу міцелоутворюючих блок-кополімерів, так і в процесах приготування розроблених лікарських форм. Тому актуальним завданням даної частини роботи було одержання і характеризування міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> саме у водних розчинах. Щоб одержати міцели амфіфільних блок-кополімерів у водному середовищі, проводили тривалий (протягом двох тижнів) діаліз водно/діоксанових розчинів кополімерів проти води. Такий метод дозволив не тільки повністю видалити органічний розчинник (діоксан) з міцелярних розчинів кополімерів, що контролювали за повним зникненням в УФ спектрі діалізату смуги  $n \rightarrow \sigma^*$  електронного переходу 1,4-діоксану з  $\lambda_{\max} = 215$  нм, але й додатково стабілізувати міцелярні структури [97].

Одразу після закінчення діалізу вимірювали середні розміри міцелярних структур за допомогою методу динамічного світлорозсіювання (ДС) (розділ 2.13). При обробці експериментальних даних використовували як моно-, так і полімодальний підходи. Останній базувався на програмі CONTIN. Він дозволяв побудувати криві розподілу за розмірами частинок не тільки на основі інтенсивності розсіювання, як у випадку мономодального підходу, але й об'єму розсіюючих частинок та їх кількості. Автокореляційну функцію розсіяного поля вимірювали у водних розчинах кількох вибраних зразків диблок-кополімерів (ДБК<sub>ПКЛ2</sub>, ДБК<sub>ПКЛ3</sub>, ДБК<sub>ПКЛ5</sub>, ДБК<sub>ПКЛ8</sub> і ДБК<sub>ПКЛ9</sub>) та одного зразку ТБК<sub>ПКЛ1</sub> при концентрації кополімерів  $C > KKM$  для кожного зразка. У більшості випадків автокореляційні функції мали вигляд однократно експоненціальних кривих затухання; звідси, розподіли за коефіцієнтами дифузії мали мономодальний характер. З розподілів за коефіцієнтом дифузії знаходили розподіли за гідродинамічним діаметром ( $d$ ) (подвійним

гідродинамічним радіусом  $R_h$ ) за допомогою рівняння Стокса-Ейнштейна (4.7) у передбаченні сферичної форми розсіюючих частинок:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi \cdot \eta \cdot R_h}, \quad (4.7)$$

де  $k_B$  – константа Больцмана,  $T$  – абсолютна температура, і  $\eta$  – в'язкість розчинника. Приклади кривих розподілу за розмірами (гідродинамічним діаметром  $d$ ) частинок у водних розчинах блок-кополімерів, що були одержані за моноmodalьним підходом на основі кількох паралельних вимірювань інтенсивності розсіювання в одному і тому ж розчині, представлені на рис. 4.14. Важливо відзначити, що для всіх блок-кополімерів вказані криві розподілу за розмірами були моноmodalьними (а-в).

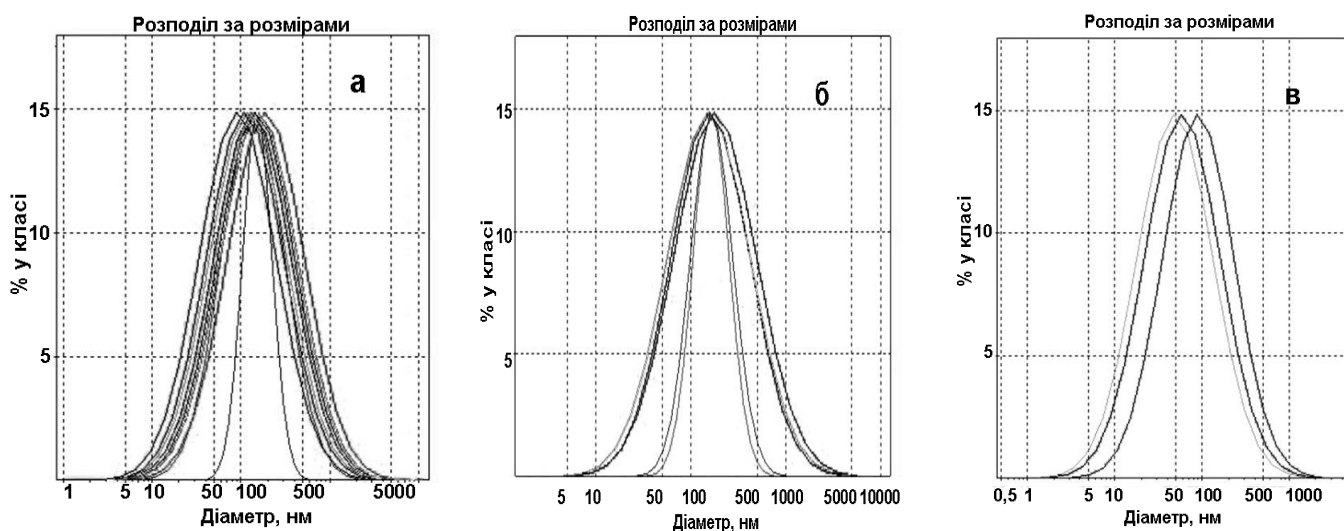


Рис. 4.14. Криві розподілу за розмірами розсіюючих частинок, одержані на основі інтенсивності розсіювання за моноmodalьним підходом у водних розчинах ДБК<sub>ПКЛ2</sub> (а), ДБК<sub>ПКЛ9</sub> (б) і ТБК<sub>ПКЛ1</sub> (в). Концентрації кополімерів наведені в табл. 4.5.

Разом з тим, результати обробки даних ДС за програмою CONTIN показали наявність двох типів розсіюючих частинок у водних розчинах ДБК<sub>ПКЛ</sub>. Це проявлялося в помітній асиметрії кривих розподілу за розмірами, одержаних на основі об'єму частинок в розчинах ДБК<sub>ПКЛ2</sub> і ДБК<sub>ПКЛ3</sub> (рис. 4.15 а, б), або у біmodalьності таких кривих розподілу, отриманих в розчинах ДБК<sub>ПКЛ5</sub> і ДБК<sub>ПКЛ8</sub> (рис. 4.15 в, г). Для водних розчинів ДБК<sub>ПКЛ9</sub> і ТБК<sub>ПКЛ1</sub> були характерні моноmodalьні криві розподілу за розмірами, які базувались на об'ємі частинок (рис. 4.15 д, е). Результати розрахунків середніх діаметрів міцелярних структур за всіма

кривими розподілу за розмірами наведені в табл. 4.5.

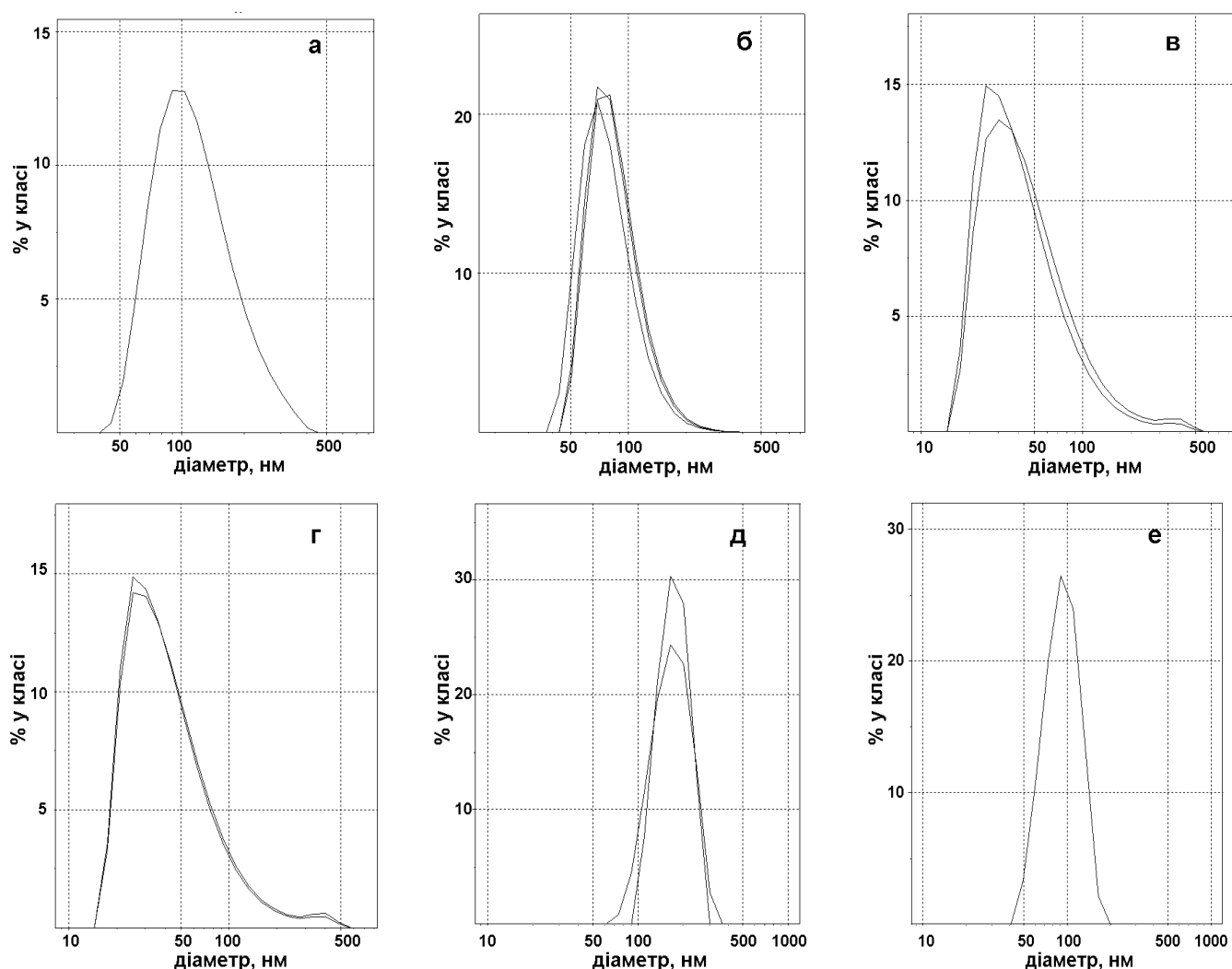


Рис. 4.15. Криві розподілу за розмірами розсіюючих частинок, одержані на основі їх об'єму за програмою CONTIN для ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 (а), ДБК<sub>ПКЛ</sub>3 (б), ДБК<sub>ПКЛ</sub>5 (в), ДБК<sub>ПКЛ</sub>8 (г), ДБК<sub>ПКЛ</sub>9 (д) та ТБК<sub>ПКЛ</sub>1 (е). Концентрації зразків наведені в табл. 4.5.

За цими даними виявилось, що в обох серіях ДБК<sub>ПКЛ</sub> середній діаметр міцелярних структур ( $d_{\text{сер}}$ ) збільшувався зі зростанням довжини блоку ПКЛ, який формував міцелярне “ядро”. Такі результати повністю узгоджувались з розглянутими раніше змінами у стабільності міцелярних структур (змінами параметрів ККМ і  $-\Delta G^\circ$ ) в обох серіях диблок-кополімерів (табл. 4.4). Разом з тим, було показано, що водні розчини досліджених блок-кополімерів (крім, мабуть, розчинів ТБК<sub>ПКЛ</sub>1) містять невелику частку міцелярних структур великого розміру (табл. 4.5), які і обумовлюють появу асиметрії кривих розподілу за розмірами на рис. 4.15 (а, б) або бімодальність цих кривих на рис. 4.15 (в, г).

Розміри міцелярних структур блок-кополімерів за даними ДС

Кополімер	$C$ , кг·м <sup>-3</sup>	ККМ, кг·м <sup>-3</sup>	$d_{\min} \div d_{\max}$ , нм	$d_{\text{сер}}^{1)}$ , нм	$d_{\text{сер}(i)}^{2)}$ , нм	$d_{\text{сер}(v)}^{3)}$ , нм	$X_v^{5)}$ , %	$d_{\text{сер}(n)}^{4)}$ , нм
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 2	0,10	0.06	52÷353	140 ± 25	167	123	100	82
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 3	0,10	0.02	59÷377	150 ± 12	182	140	100	89
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 5	0,24	0.18	21÷402	104 ± 38	141	47 356	98,8 1,2	27
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 8	0,24	0.14	21÷484	113 ± 22	150	49 364	98,1 1,9	27
ДБК <sub>ПКЛ</sub> 9	0,30	0.11	111÷246	163 ± 10	175	160	100	138
ТБК <sub>ПКЛ</sub> 1	0,30	0.30	50÷165	66 ± 21	95	77	100	64

Середні гідродинамічні діаметри міцел, розраховані за: <sup>1)</sup> мономодальним підходом та <sup>2)-4)</sup> програмою CONTIN на основі <sup>2)</sup> інтенсивності розсіювання, <sup>3)</sup> об'єму частинок та <sup>4)</sup> кількості частинок. <sup>5)</sup> Внесок кожної моди в загальну площу під кривою розподілу.

Напрямок впливу довжини блоку МОПЕО (який утворював “корону” міцел) на розміри міцелярних структур можна було оцінити, порівнюючи значення  $d_{\text{сер}}$  або  $d_{\text{сер}(v)}$  в таблиці 4.5 для зразків ДБК<sub>ПКЛ</sub>3 та ДБК<sub>ПКЛ</sub>9, які мали співрозмірну довжину блоків ПКЛ і відрізнялись суттєво більшою ММ блоку МОПЕО у складі ДБК<sub>ПКЛ</sub>9 (табл. 4.1). Таким чином дійшли висновку, що зростання довжини гідрофільного блоку, а значить, і “корони” міцел, призводило до підвищення їх гідродинамічного діаметру. Найменший діаметр був характерний для “квіткоподібних” міцел, сформованих “телехелевими” блок-кополімерами ТБК<sub>ПКЛ</sub>1 (табл. 4.5). Такі міцелярні структури відрізнялись і найнижчою стабільністю у вихідному змішаному розчиннику (табл. 4.4).

Розглянемо тепер результати вивчення реальної морфології міцелярних структур ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> у воді методом ТЕМ (розділ 2.14), які представляють особливий інтерес. Вже в першій серії експериментів, проведених на розчинах ДБК<sub>ПКЛ</sub>3 і ДБК<sub>ПКЛ</sub>5, було зафіксовано різноманітні морфологічні форми міцелярних структур даних диблок-кополімерів (рис. 4.16).

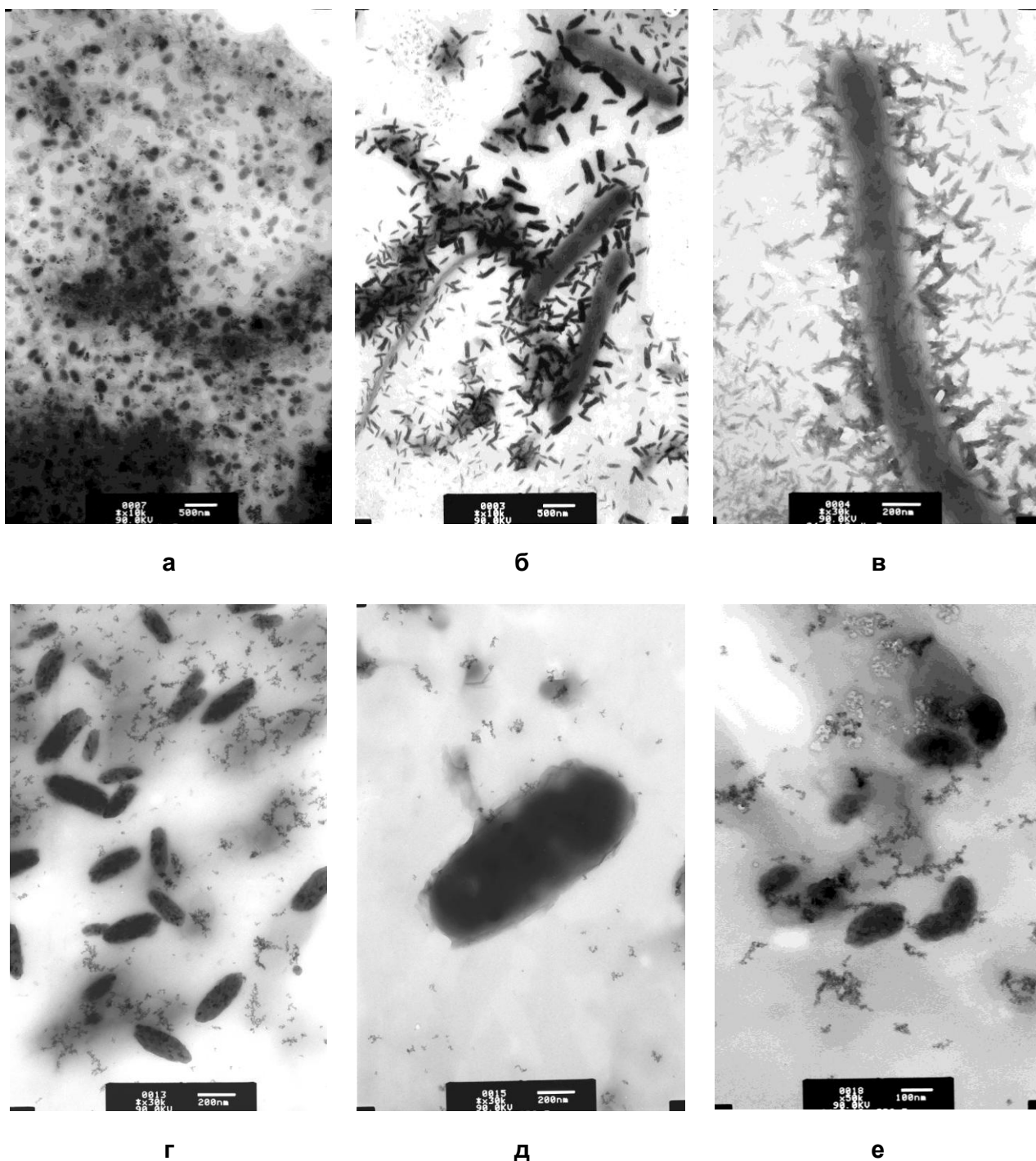


Рис. 4.16. Електронні мікрофотографії міцелярних структур у водних розчинах ДБК<sub>ПКЛ3</sub> за  $C = \text{кг}\cdot\text{м}^{-3}$  (а-в) та ДБК<sub>ПКЛ5</sub> за  $C = 0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  (г-е) у різних варіантах збільшення зображення.  $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

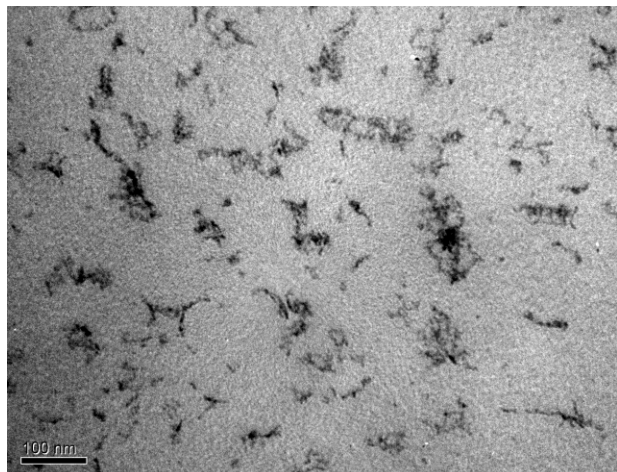
Дійсно, у водних розчинах ДБК<sub>ПКЛ</sub> спостерігали: окремі маленькі первинні міцели сферичної форми та утворені ними розгалужені “ланцюжки”, які проявлялись і у водно/діоксановому середовищі (рис. 4.13 а, б), крім того, більші міцелярні частинки сферичної морфології діаметром  $\sim 65 \div 135 \text{ нм}$  (за даними рис. 4.16 а) і незвичайної еліпсоїдної форми довжиною  $\sim 65 \div 500 \text{ нм}$  (за даними рис. 4.16 а-г),

нарешті, великі “стрижнеподібні” структури довжиною  $\sim 1,2 \div 2,5$  мкм (за даними рис. 4.16 б, в, д). Виникнення міцел еліпсоїдної форми спостерігали також автори роботи [273] для інших амфифільних блок-кополімерів, пояснюючи їх появу сильною полідисперсністю гідрофільних блоків, що утворювали “корону” міцел. Ми не досліджували індекс полідисперсності для вихідних зразків МОПЕГ, які використовувались в синтезах диблок-кополімерів в даній роботі, тому роль цього фактору у формуванні еліпсоїдних міцелярних структур ДБК<sub>ПКЛ</sub> поки що невідома. Разом з тим, детальний розгляд одержаних мікрофотографій при великому збільшенні показав, що такі сферичні і витягнуті міцелярні структури не мають спільного “ядра”, а формуються (самозбираються) з численних “ланцюжків”, тобто агрегатів малих первинних міцел.

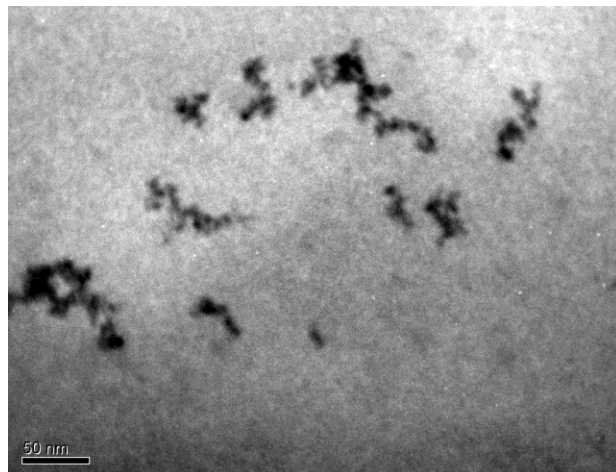
Відкриття цього важливого факту привело до ідеї про термодинамічну нестабільність міцелярних дисперсій ДБК<sub>ПКЛ</sub> у воді, яка обумовлює значну залежність морфології міцелярних структур від часу витримки розчину після діалізу. Слід зауважити, що в перших дослідженнях морфології міцел ДБК<sub>ПКЛ3</sub>, ДБК<sub>ПКЛ5</sub> (і ТБК<sub>ПКЛ1</sub>) у воді ми не контролювали жорстко час витримки діалізату до початку електронно-мікроскопічних досліджень. Тому, базуючись на ідеї про нестабільність міцелярних структур ДБК<sub>ПКЛ</sub> у часі, в подальшому ми змінили методологію експерименту і досліджували їх водні розчини одразу після діалізу, по аналогії з тим, як ми робили в дослідженнях розчинів блок-кополімерів методом ДС.

Результати ТЕМ досліджень розчинів ДБК<sub>ПКЛ8</sub> і ДБК<sub>ПКЛ9</sub> показані на рис. 4.17. На представлених мікрофотографіях добре видно, що розгалужені “ланцюжки” малих міцел різного розміру і форми були основним елементом структури водних міцелярних дисперсій ДБК<sub>ПКЛ</sub> (рис. 4.17 а, б). Однак, поряд з “ланцюжками” спостерігались також окремі великі міцелярні структури сферичної або еліпсоїдної форми, які мали фрактальний характер, тобто не мали спільного “ядра”, а були продуктами подальшої самозбірки “ланцюжків” (рис. 4.17 в-е). Розміри цих великих міцелярних утворень складали  $d \sim 100 \div 360$  нм, що узгоджувалось з середніми розмірами великих міцелярних структур (величинами  $d_{\text{сеп}(v)}$  в табл. 4.5), які були знайдені у водних розчинах ДБК<sub>ПКЛ5</sub> і ДБК<sub>ПКЛ8</sub> методом ДС за обробкою другої моди кривих розподілу на рис. 4.15 (в, г). Таким чином, була встановлена

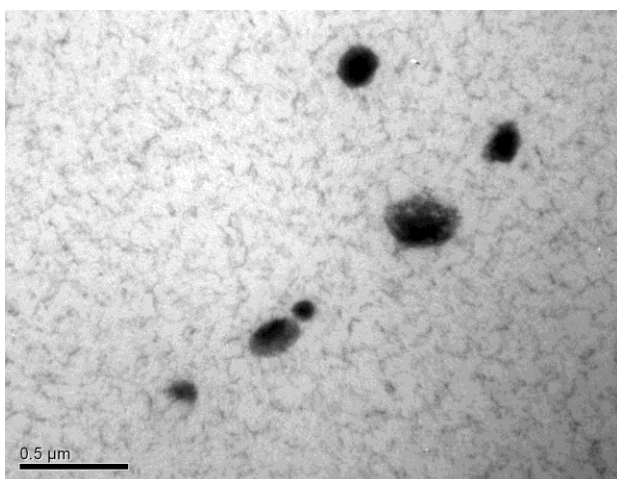
принципова кореляція між даними ДС і ТЕМ.



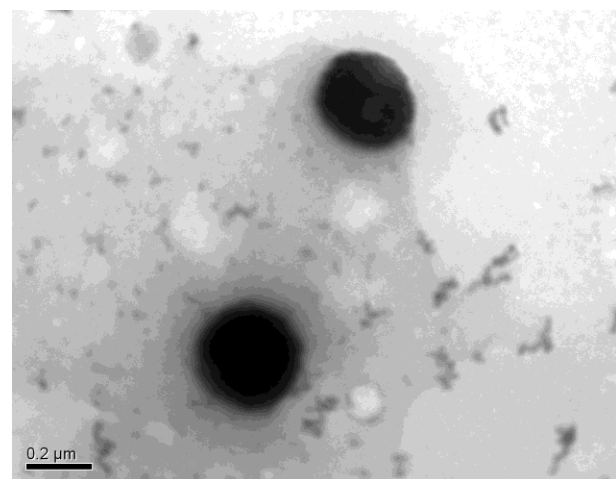
**а**



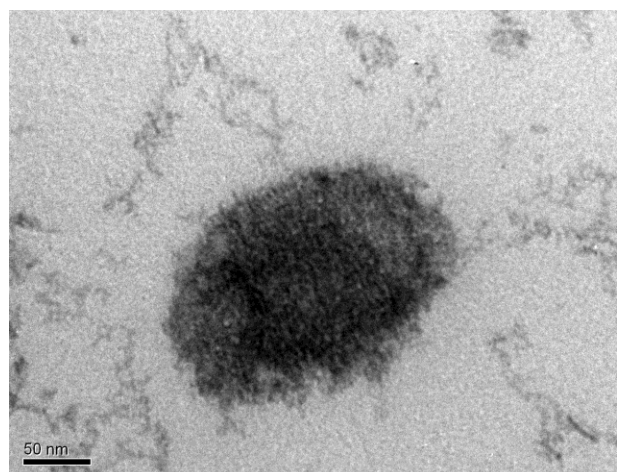
**б**



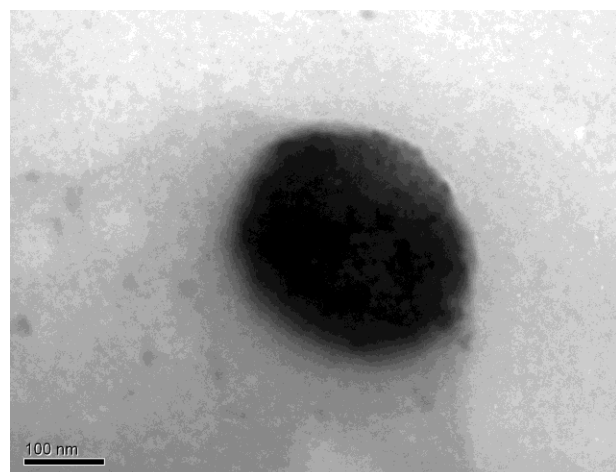
**в**



**г**



**д**



**е**

Рис. 4.17. Електронні мікрофотографії водних розчинів ДБК<sub>ПКЛ8</sub> (а, в, д) та ДБК<sub>ПКЛ9</sub> (б, г, е) за  $C=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  на 2-ий день після завершення діалізу у різних варіантах збільшення зображення.  $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

На мікрофотографіях розчинів ДБК<sub>ПКЛ</sub>8 і ДБК<sub>ПКЛ</sub>9, одержаних на 2-ий день після закінчення діалізу (рис. 4.17), найбільш великі “стрижнеподібні” міцелярні структури не спостерігались. Однак, вони були помічені серед розгалужених “ланцюжків” в розчині одного зі зразків диблок-кополімерів (ДБК<sub>ПКЛ</sub>9), який був спеціально витриманий протягом 2 тижнів після діалізу (рис. 4.18). Зазначені “стрижнеподібні” утворення мали товщину  $\sim 225 \div 405$  нм, довжину  $\sim 1,9 \div 4,6$  мкм і характерну фрактальну структуру, тобто були продуктом самозбірки розгалужених “ланцюжків”. Останнє чітко проявлялось при сильному збільшенні зображення на рис. 4.18 б. Таким чином, нерівноважний характер міцелярних дисперсій ДБК<sub>ПКЛ</sub> і розвиток у часі процесів самозбірки маленьких первинних міцел у фрактальні міцелярні структури різної морфології було повністю доведено.

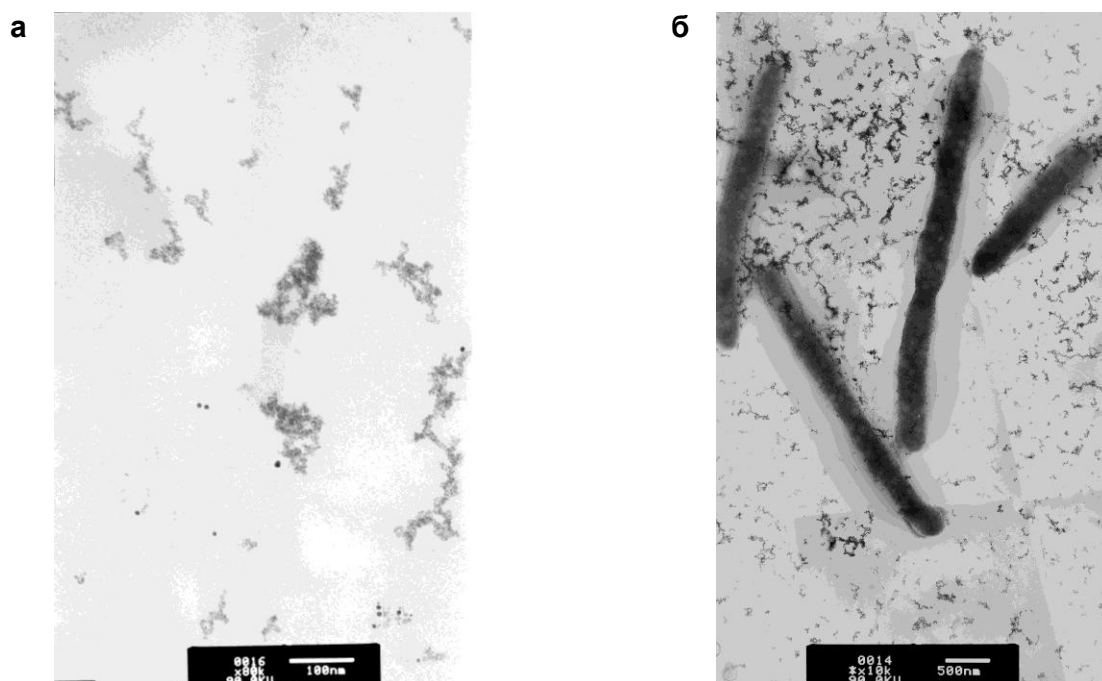


Рис. 4.18. Мікрофотографії водного розчину ДБК<sub>ПКЛ</sub>9 з розгалуженими “ланцюжками” (а) та великими “стрижнеподібними” структурами (б) через 2 тижні після завершення діалізу.  $C=0,3$  кг·м<sup>-3</sup>,  $T=20$  °С.

Далі виникло закономірне питання про те, що спонукало маленькі первинні міцели ДБК<sub>ПКЛ</sub> взаємодіяти між собою своїми “коронами” і, в результаті, самозбиратись у водному середовищі в такі різні фрактальні структури? Відповідь на це питання включає на наш погляд два аспекти. По-перше, на кінці кожного блоку МОПЕО існує гідрофобна метильна група, яка в процесі утворення первинних міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub> виходить в їх “корону”. Наявність багатьох таких груп в “короні”

кожної міцели і сприяє, очевидно, розвитку їх подальшої агрегації за рахунок гідрофобних взаємодій на міцелярній поверхні. Другий аспект – це висока стійкість структури первинних міцел до перебудови, яка перешкоджає їх подальшій агрегації за рахунок утворення спільного “ядра”, як це притаманно низькомолекулярним ПАР [153]. Враховуючи кристалічні властивості блоків ПКЛ і високу швидкість їх кристалізації (розділ 4.2), можна передбачати, що висока стійкість первинних міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub> у воді може бути пов’язана з наявністю в них кристалічного “ядра” ПКЛ. Дійсно, в процесі тривалого діалізу водно/діоксанових міцелярних дисперсій ДБК<sub>ПКЛ</sub> проти води, коли відбувався вихід залишкових молекул діоксану також і з “ядра” міцел, можна було з високою вірогідністю очікувати кристалізацію блоків ПКЛ у міцелярному “ядрі”. Нажаль, поки що ми не маємо ніяких підтверджень такому припущенню. Разом з тим, міцели інших амфифільних блок-кополімерів з кристалічним “ядром” (наприклад, міцели диблок-кополімерів на основі полістиролу і поліетиленоксиду) добре відомі з літератури [171, 187]. Схематично процес агрегації малих міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub> у воді, який розвивається у часі, можна представити таким чином (рис. 4.19):

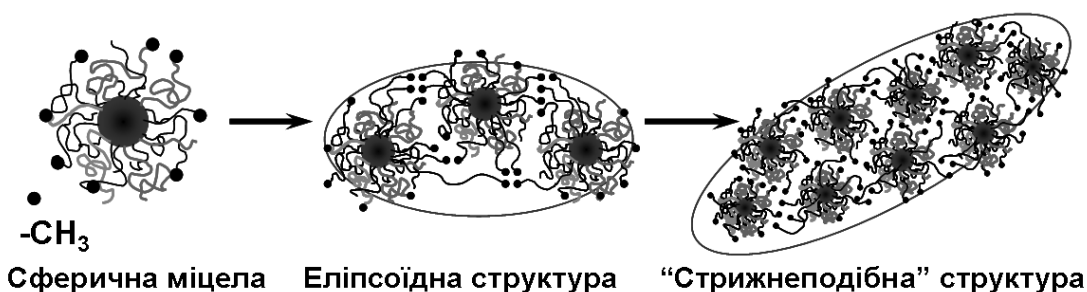


Рис. 4.19. Схема процесу самозбірки малих міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub> у великі фрактальні структури за рахунок взаємодії “корон” міцел.

Цікава морфологія була притаманна і міцелярним структурам ТБК<sub>ПКЛ1</sub> у воді (рис. 4.20). Крім окремих дуже малих первинних “квіткоподібних” міцел та їх невеликих за розміром агрегатів з близькою до сферичної формою, що були присутні ще у водно/діоксановому середовищі (рис. 4.13 б, г), на мікрофотографіях, одержаних з водного розчину ТБК<sub>ПКЛ1</sub>, час витримки якого до початку ТЕМ досліджень жорстко не контролювали, спостерігались також дуже великі сферичні та еліпсоїдні міцелярні структури. Їх розміри (~1,2÷2,5 мкм за даними рис. 4.20 а-в)

виявились набагато більшими, ніж ті, що були знайдені методом ДС одразу після діалізу (табл. 4.5). Було очевидно, що ці великі міцелярні структури мали фрактальний характер, тобто були продуктом самозбірки малих міцел та/або їх невеликих агрегатів (рис. 4.20 в).

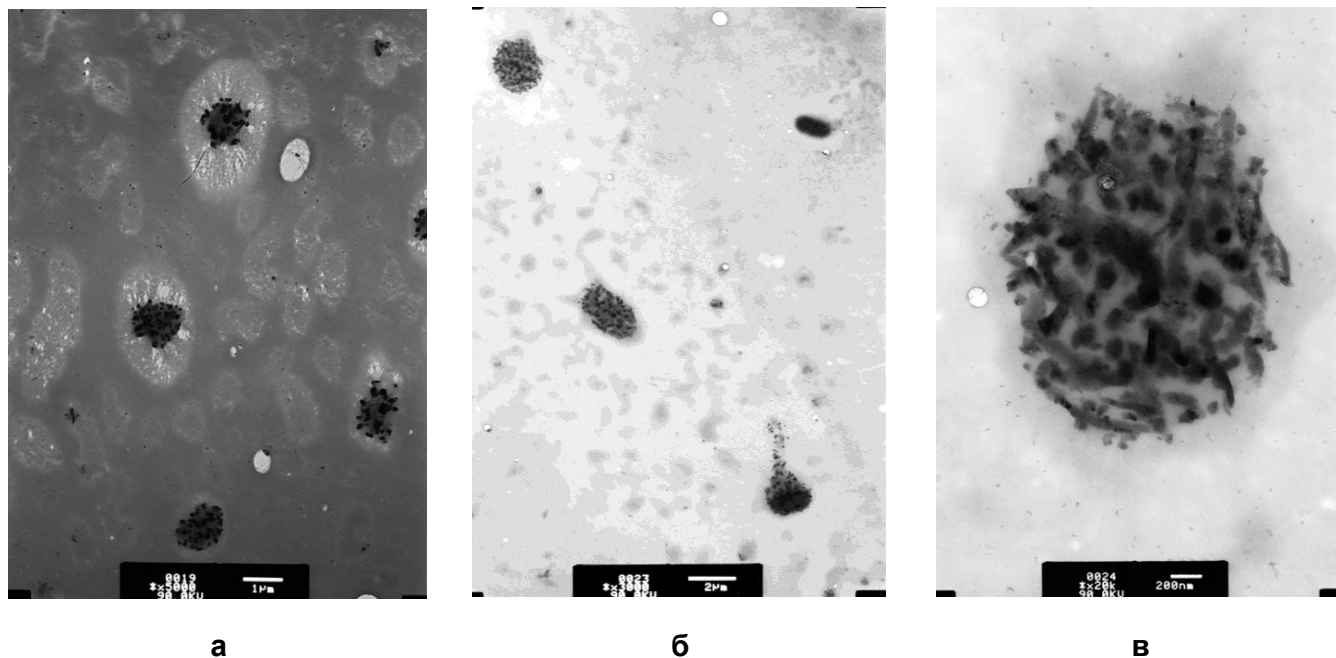


Рис. 4.20. Електронні мікрофотографії міцелярних структур у водному розчині ТБК<sub>ПКЛ1</sub> у різних варіантах збільшення зображення.  $C=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Поява саме таких міцелярних структур з кількома гідрофобними “ядрами” в розчинах “телехелевих” блок-кополімерів внаслідок агрегації багатьох первинних “квіткоподібних” міцел за рахунок перенесення одного з двох кінцевих гідрофобних блоків з одного “ядра” міцели до іншого (схема на рис. 4.21) передбачалася в багатьох теоретичних роботах [250, 274].

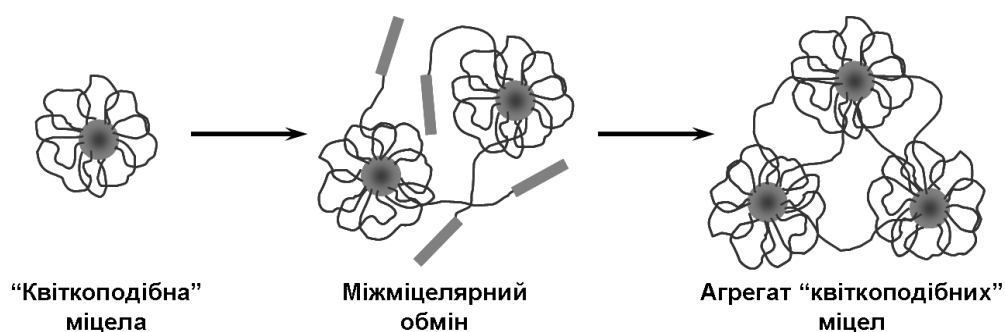


Рис. 4.21. Схематичне зображення розвитку процесів агрегації “квіткоподібних” міцел ТБК<sub>ПКЛ1</sub> у часі.

Отже, одержані нами дані виявились яскравим експериментальним підтвердженням існування такої специфічної агрегації “квіткоподібних” міцел. Крім того, вони засвідчили відсутність термодинамічної рівноваги у водних дисперсіях ТБК<sub>ПКЛ</sub>, оскільки в них з часом розвивались складні процеси самозбірки первинних міцел та/або їх малих агрегатів у великі фрактальні структури.

Щодо відзначеної вище значної розбіжності між розмірами міцелярних структур, встановлених методами ТЕМ і ДС, то її можна легко пояснити, якщо врахувати достатньо великий проміжок часу (близько 25 днів) між експериментом ДС та зйомкою мікрофотографій ТЕМ.

\* \* \* \*

Шляхом удосконалення методології аніонної з розкриттям циклу блок-кополімеризації ПКЛ з (МО)ПЕО, ініційованої станум октоатом, синтезовано дві серії амфифільних диблок-кополімерів ДБК<sub>ПКЛ</sub> та ряд “телехелевих” триблок-кополімерів ТБК<sub>ПКЛ</sub> зі змінною довжиною гідрофобного і гідрофільного блоків. На основі досліджень структури синтезованих блок-кополімерів у блочному стані підтверджена термодинамічна несумісність блоків (МО)ПЕО і ПКЛ, яка проявлялась у вигляді мікрофазового розділення в структурі блок-кополімерів, де існували аморфні області та мікрокристалічні домени, сформовані окремо кожним блоком. Встановлено факт сильного взаємного пригнічення кристалізації блоків МОПЕО і ПКЛ в структурі ДБК<sub>ПКЛ</sub> у разі достатньо малої їх довжини, що є яскравим проявом ефекту вимушеної сумісності двох термодинамічно несумісних полімерних компонентів, поєднаних ковалентним зв'язком. Показано, що при подальшому зростанні довжини хоча б одного з цих блоків їх термодинамічна несумісність посилювалась і це призводило до зменшення взаємного впливу на процеси кристалізації один одного (збільшення ступеню кристалічності обох блоків в структурі ДБК<sub>ПКЛ</sub>). Показано також, що кристалізація поліетерного блока більше пригнічувалась в структурі ТБК<sub>ПКЛ</sub>, в макромолекулах якого блоки ПКЛ, що кристалізуються, були розташовані по обох його кінцях.

Встановлено, що основними (первинними) продуктами самозбірки макромолекул амфифільних ДБК<sub>ПКЛ</sub> і “телехелевих” ТБК<sub>ПКЛ</sub> у водно/діоксанових

розчинах були маленькі сферичні міцели класичного і “квіткоподібного” типів, які утворювали невеликі переважно ланцюжкові або близькі до сферичних міцелярні агрегати, відповідно. Стабільність первинних класичних міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub> зростала при збільшенні довжини як гідрофобного, так і гідрофільного блоків і в цілому була значно вищою, ніж “квіткоподібних” міцел ТБК<sub>ПКЛ</sub>. Виявлена термодинамічна нестабільність міцелярних дисперсій ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> у воді; вона проявлялась в подальшій агрегації первинних міцел блок-кополімерів у водному середовищі, посилювалась з часом і призводила до утворення великих фрактально-організованих сферичних, еліпсоїдних та навіть “стрижнеподібних” структур. Показано, що взаємодія кінцевих метильних груп МОПЕО в “коронах” різних міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub>, а також явище перенесення окремих гідрофобних блоків ПКЛ з “ядра” однієї “квіткоподібної” міцели ТБК<sub>ПКЛ</sub> до “ядра” іншої могли бути основними причинами самозбірки цих міцел у великі фрактально-організовані міцелярні структури.

## РОЗДІЛ 5

### НОСІЇ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ МІЦЕЛ ДИБЛОК- ТА ТРИБЛОК-КОПОЛІМЕРІВ

Одним з перспективних шляхів вирішення проблеми адресної доставки токсичних і нерозчинних у воді лікарських препаратів у певні клітини живих організмів є застосування полімерних наноконтейнерів міцелярного типу [1, 204, 275]. До недавнього часу такі міцелярні наноконтейнери у водному середовищі можна було отримати або за рахунок самозбірки амфифільних блок-кополімерів з термодинамічно несумісними блоками [264, 273], або в результаті самозбірки продуктів кооперативних інтерполімерних реакцій – інтермолекулярних полікомплексів (ІнтерПК), у склад яких входили блок-кополімери [276, 277]. На відміну від міцел класичних амфифільних блок-кополімерів з гідрофобним “ядром”, сформованим нерозчинними у воді блоками, міцелярні структури ІнтерПК мають специфічне гідрофобне “ядро”, утворене з’єднаними сегментами хімічно комплементарних компонентів, і підвищену здатність зв’язувати різноманітні як гідрофільні, так і гідрофобні лікарські препарати [278]. В той же час, наноконтейнери на основі ІнтерПК мають суттєвий недолік, а саме: вони можуть бути швидко зруйновані через складні конкурентні взаємодії, які існують в середовищі живого організму [255], через що можливе небажане передчасне вивільнення лікарського препарату. Тому більш вдалим варіантом може стати використання міцел, утворених у воді в результаті самозбірки асиметричних блок-кополімерів з хімічно комплементарними гідрофільними блоками, що формують ІнтраПК. За рахунок цього можна спростити будову міцелярних наноконтейнерів (у порівнянні з ІнтерПК) і уникнути їх передчасного руйнування в організмі, зберігаючи високу здатність міцелярного “ядра” до зв’язування препаратів різноманітної природи.

Критично мала кількість робіт наразі присвячена міцелоутворенню блок-кополімерів, здатних утворювати ІнтраПК, і, особливо, взаємодії їх міцелярних структур з нерозчинними у воді лікарськими сполуками. Тому перша частина даного розділу присвячена вивченню здатності міцелярних структур ТБК<sub>ПАА</sub> (з двома

гідрофільними нетоксичними і частково біодеградабельними блоками різної довжини) інкапсулювати модельний лікарський препарат – погано розчинний синтетичний гормон преднізолон (ПЗ). Вибір ПЗ як модельної сполуки обумовлений кількома причинами. По-перше, хімічна будова ПЗ (рис. 2.4), а саме: наявність активних карбонільних і гідроксильних груп, здатних утворювати водневі зв'язки, та розвинутої гідрофобної частини, що складається з чотирьох взаємозв'язаних кілець, моделює будову багатьох органічних погано розчинних у воді лікарських субстанцій. По-друге, сам ПЗ як синтетичний кортикостероїд широко використовується у медицині для лікування різних запальовальних хвороб, таких як артрит, коліт, астма, бронхіт, деякі висипання шкіри, а також алергічні і запальовальні хвороби носу та очей [279]. Великі дози ПЗ при лікуванні можуть провокувати небажані побічні ефекти, зокрема, хворобу Альцгеймера, тому зниження терапевтичних доз ПЗ завдяки його інкапсуляції в міцелярні наноконтейнери є актуальним науковим і практичним завданням. По-третє, ПЗ як і багато інших лікарських препаратів є кристалічною речовиною і ця властивість є небажаною з точки зору зниження швидкості абсорбції та клінічної ефективності лікарської речовини. Тому ми вивчали не тільки механізм інкапсуляції ПЗ міцелями  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$ , але й кристалічний стан даної речовини у міцелярних наноконтейнерах.

Для співставлення процесів інкапсуляції ПЗ міцелями даних триблок-кополімерів та порівняльної оцінки ефективності таких наноконтейнерів, у другій частині даного розділу розглядається використання міцелярних структур амфифільних диблок-кополімерів  $\text{МОПЕО-}b\text{-ПКЛ}$  (з двома біосумісними та біодеградабельними блоками) для інкапсуляції того ж самого модельного препарату та вплив присутності інкапсульованого ПЗ на розміри і морфологію міцел  $\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}}$ .

### **5.1 Система міцел $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$ з преднізолоном**

В розділах 3.2 і 3.3 було показано, що асиметричні триблок-кополімери  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  зі змінною довжиною блоків ПЕО і ПАА утворюють у воді міцели моно- та полімолекулярного типів (МММ і ПММ), які при додаванні значної кількості етанолу (>40 об %) трансформуються в специфічні “квіткоподібні” міцели за рахунок нерозчинності блоків ПАА в спирті. При додаванні ПЗ у водно/етанольні

розчини ТБК<sub>ПАА</sub> візуально спостерігалось істотне підвищення мутності відповідних систем, що свідчило про взаємодію ПЗ з міцелами кополімерів (рис. 5.1).

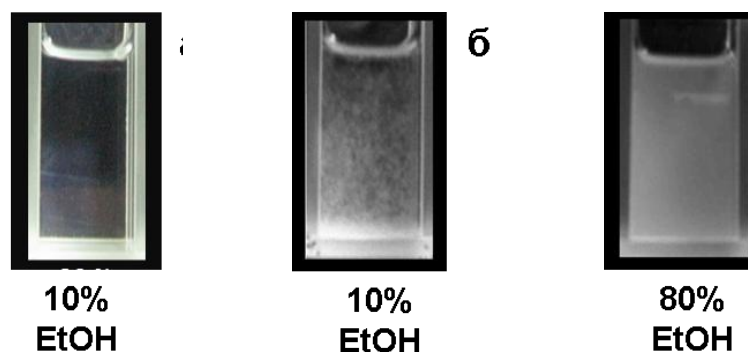


Рис. 5.1. Фотографії водно/етанольних розчинів чистого ТБК<sub>ПАА</sub>2 (а) та сумішей ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>2 (б, в) за різного складу змішаного розчинника.  $C_{\text{ТБК}}=0,4 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $\varphi=0,64 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}\cdot\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$ , час контакту – 1 год.

Ці спостереження були підтверджені спектрофотометричним методом (розділ 2.9) – дослідженням залежностей зміни мутності в системах ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> у водно/етанольних розчинах від вмісту спирту; результати представлені на рис. 5.2. Слід відзначити, що в усіх експериментах ПЗ вносився останнім в готові водно/етанольні розчини ТБК<sub>ПАА</sub> в постійному малому об'ємі спирту (5 об % від загального об'єму).

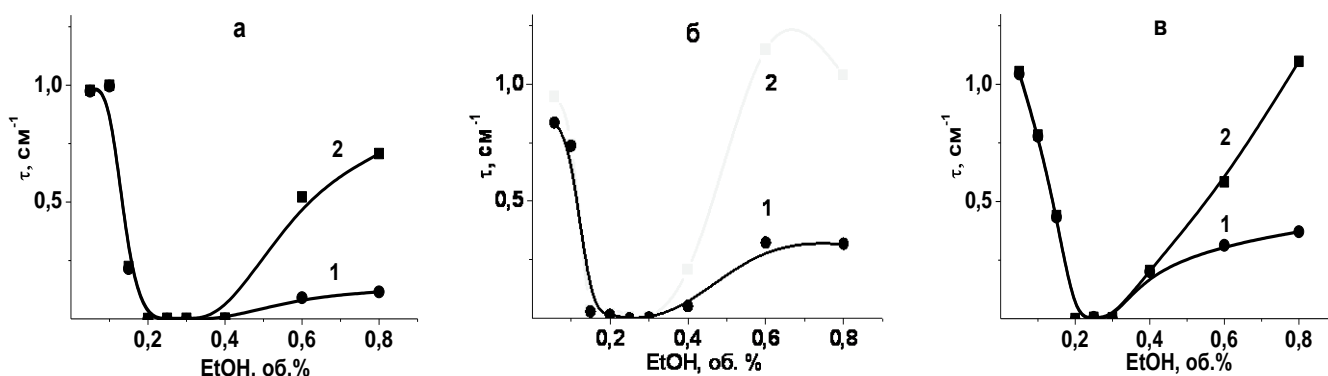


Рис. 5.2. Зміна мутності в системах ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> -1 в залежності від вмісту етанолу для ТБК<sub>ПАА</sub>1 (а), ТБК<sub>ПАА</sub>2 (б) та ТБК<sub>ПАА</sub>3 (в). Криві 2 - результат віднімання від значень мутності системи відповідних значень мутності в розчинах чистих кополімерів (рис. 3.8 в).  $C_{\text{ТБК}}=0,4 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $\varphi=0,64 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}\cdot\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$ , час контакту – 1 год,  $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\lambda=490 \text{ нм}$ .

Видно, що присутність ПЗ у водно/етанольних розчинах трьох зразків ТБК<sub>ПАА</sub>1-3 ініціювала появу значної мутності (рис. 5.2 а-в, криві 1) в області малого вмісту етанолу (до 20 об %), в якій всі розчини чистих кополімерів були практично

прозорими (рис. 3.8 а та рис. 5.1 а). В результаті, в цій області спостерігалось явище поступового розтягнутого у часі утворення нових “сніжинкоподібних” структур (рис. 5.1 б), які були відсутні в розчинах чистих ТБК<sub>ПАА</sub>. Крім того, при вмісті етанолу  $\geq 40$  об % присутність ПЗ посилювала міцелоутворення, яке розвивалось завдяки селективної нерозчинності блоків ПАА, внаслідок чого мутність розчинів ТБК<sub>ПАА</sub> істотно підвищувалась (рис. 5.1 в, рис. 5.2 а-в, криві 2). Ці факти вказували на взаємодію ПЗ з обома видами міцел ТБК<sub>ПАА</sub>, що існували при малому і великому вмісті етанолу у змішаному розчиннику (розділ 3.3).

Згідно роботи [279], чистий ПЗ може бути висаджений у кристалічному стані шляхом додавання його розчину в гарному розчиннику до великого об'єму нерозчинника. Щоб дослідити можливість збільшення мутності систем ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> лише за рахунок можливого випадіння осаду чистого ПЗ, особливо при низькому вмісті етанолу в змішаному розчиннику, додавали такі ж самі порції етанольного розчину ПЗ до сумішей вода/етанол у відсутності ТБК<sub>ПАА</sub>. В усіх розчинах ПЗ, які готували таким чином за вмісту етанолу від 5 до 30 об %, випадіння осаду ПЗ не спостерігали навіть через 24 год. Отже, утворення нових “сніжинкоподібних” структур дійсно було результатом взаємодії лікарського препарату з міцелами ТБК<sub>ПАА</sub>.

Важливо було встановити природу взаємодії ПЗ з ТБК<sub>ПАА</sub>. Молекула преднізолону (розділ 2, рис. 2.4) містить дві карбонільні та три гідроксильні групи (первинну, вторинну і третинну), що здатні утворювати водневі зв'язки з протонодонорними та протоно-акцепторними групами ТБК<sub>ПАА</sub>. Тому дослідження водневих зв'язків у сумішах ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> представляло значний інтерес і проводилось методом FTIR спектроскопії (розділ 2.10). Результати представлені на рис. 5.3. У FTIR спектрі кристалічного ПЗ в середовищі КВг (рис. 5.3 а) були наявні наступні смуги:  $\nu_{C=O}$  коливання 1707 та 1657  $\text{cm}^{-1}$  для вільних і Н-зв'язаних карбонільних груп [251], 1616 та 1602  $\text{cm}^{-1}$  для асиметричних і симетричних  $\nu_{C=C}$  коливань двох С=C зв'язків біля карбонільної групи у кільці, а також  $\nu_{O-H}$  коливання 3575, 3464 і 3388  $\text{cm}^{-1}$  для гідроксильних груп, які формували три різні за енергією Н-зв'язки [251]. Слід відзначити, що смуги  $\nu_{O-H}$  коливань для незв'язаних гідроксильних груп (близько 3600  $\text{cm}^{-1}$ ) у спектрі ПЗ були відсутні. Ці дані свідчили про існування розгалуженої

сітки водневих зв'язків з різною енергією, які відігравали значну роль в стабілізації кристалічної структури ПЗ.

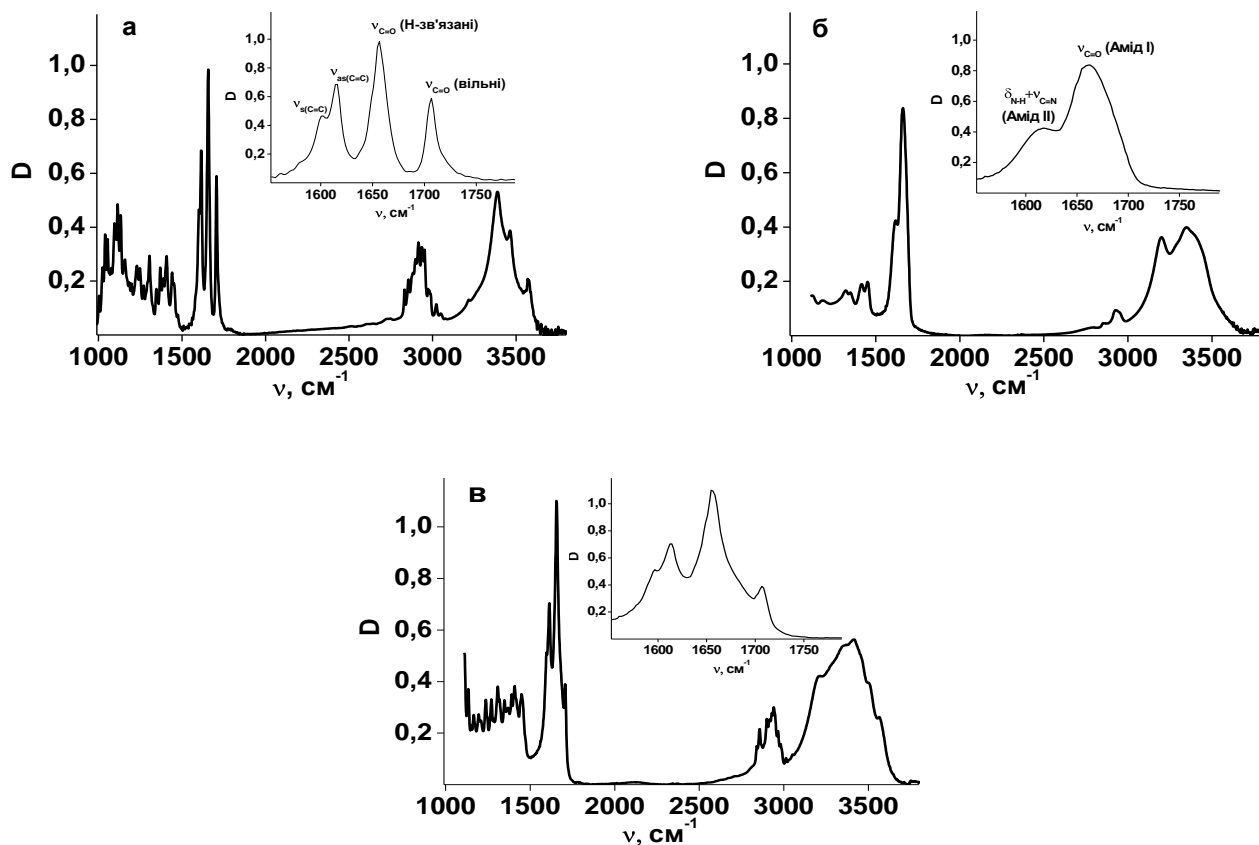


Рис. 5.3. FTIR спектри: комерційного ПЗ у КВг (а), а також тонких плівок ( $l \sim 10$  мкм) чистого ТБК<sub>ПАА3</sub> (б) і системи ПЗ/ТБК<sub>ПАА3</sub> (в), сформованих на флюоритових скельцях з водно/етанольних (75/25 об %) розчинів і висушених у вакуум-ексикаторі протягом тижня;  $\varphi = 0,42$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ТБК</sub><sup>-1</sup>,  $T = 23$  °С. Область  $\nu_{C=O}$  та  $\nu_{C=C}$  коливань показана на рисунках у збільшеному масштабі.

Спектр тонкої плівки ТБК<sub>ПАА3</sub> (рис. 5.3 б), демонстрував дві групи інтенсивних характеристичних смуг Амід I (основний внесок  $\nu_{C=O}$  коливань) та Амід II ( $\delta_{N-H} + \nu_{C-N}$  коливання) при  $1662$  і  $1618$   $\text{cm}^{-1}$ , що відносяться до Н-зв'язаних  $>C=O$  та  $-NH_2$  фрагментів амідних груп ПАА, а також три смуги  $\nu_{N-H}$  коливань  $\sim 3470$ ,  $3345$  та  $3199$   $\text{cm}^{-1}$  для Н-зв'язаних  $-NH_2$  фрагментів амідних груп в *транс*-мультимерах (дві перші смуги) і *цис-транс*-мультимерах (остання смуга) [251].

У спектрі суміші ПЗ/ТБК<sub>ПАА3</sub> зі співвідношенням компонентів  $\varphi = 0,42$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ТБК</sub><sup>-1</sup> (рис. 5.3 в) спостерігали наступні відмінності від спектрів ПЗ і ТБК<sub>ПАА</sub>: 1) низькочастотний зсув на  $2$   $\text{cm}^{-1}$  і поява деякої асиметрії смуги  $\nu_{C=O}$  коливань ПЗ (при  $1657$   $\text{cm}^{-1}$ ), 2) низькочастотний зсув на  $5$  і  $3$   $\text{cm}^{-1}$  для  $\nu_{as(C=C)}$  та

$\nu_{s(C=C)}$  смуг ПЗ, відповідно, 3) високочастотний зсув на  $2 \text{ см}^{-1}$  та зниження відносної інтенсивності смуги  $\nu_{N-H}$  коливань, що характерна для *цис-транс*-мультимерів амідних груп (при  $3199 \text{ см}^{-1}$ ), 4) високочастотний зсув на  $22 \text{ см}^{-1}$  смуги  $\nu_{N-H}$  коливань *транс*-мультимерів амідних груп (при  $3345 \text{ см}^{-1}$ ), 5) низькочастотний зсув на  $9 \text{ см}^{-1}$  смуги  $\nu_{O-H}$  коливань ПЗ при  $3575 \text{ см}^{-1}$ , 6) високочастотний зсув на  $32$  та  $29 \text{ см}^{-1}$  для інших смуг  $\nu_{O-H}$  коливань у спектрі ПЗ при  $3464$  і  $3388 \text{ см}^{-1}$ , та 7) поява нової смуги  $\nu_{O-H}$  коливань при  $\sim 3290 \text{ см}^{-1}$ .

Усі вказані ефекти не можуть бути віднесені до різниці у станах досліджених зразків (тонкі плівки для чистого ТБК<sub>ПАА3</sub> та суміші ПЗ/ТБК<sub>ПАА3</sub> і таблетка з КВr у випадку ПЗ). Таке твердження засноване на відсутності змін у положенні смуг  $\nu_{C=O}$  коливань для незв'язаних карбонільних груп ПЗ в спектрах чистого ПЗ та його суміші з ТБК<sub>ПАА3</sub> (рис. 5.3 а, в). Описані вище ефекти 1-2 вказують на зв'язування певної кількості карбонільних груп ПЗ водневими зв'язками з ТБК<sub>ПАА</sub>. Енергія цих зв'язків дещо вища, ніж енергія Н-зв'язків в чистому ПЗ тому, що різниця ( $\Delta\nu$ ) між положеннями смуг коливань зв'язаних та незв'язаних карбонільних груп в цьому випадку більша. Формування таких зв'язків можливе лише з  $-\text{NH}_2$  фрагментами амідних груп ТБК<sub>ПАА</sub>. В той же час, протонно-донорні можливості (кислотність) амідних груп є нижчими порівняно з первинними гідроксильними групами ПЗ, тому зв'язок карбонільної групи ПЗ з одною амідною групою має бути слабкішим. Таке неспівпадіння можна легко усунути, якщо припустити Н-зв'язування карбонілу ПЗ з двома амідними групами ТБК<sub>ПАА</sub>. Далі, гідроксильні групи ПЗ також беруть участь в зв'язуванні водневими зв'язками з амідними групами ТБК<sub>ПАА</sub> та/чи атомами кисню ПЕО. Цей висновок засновано на ефектах 6-7. Цікаво, що значення  $\Delta\nu$  для нової смуги  $\nu_{O-H}$  коливань у спектрі суміші ПЗ/ТБК<sub>ПАА3</sub> помітно більше, ніж для трьох аналогічних смуг у спектрі чистого ПЗ. Це означає, що водневі зв'язки між ПЗ та ТБК<sub>ПАА</sub> сильніші за енергією у порівнянні з Н-зв'язками між молекулами преднізолону, що й не дивно, беручи до уваги вищу електронно-донорну активність амідних та етерних груп в блоках ПАА та ПЕО у порівнянні з карбонільними групами ПЗ. Інші описані вище відмінності в спектрі ПЗ/ТБК<sub>ПАА3</sub> можуть бути

пояснені частковим руйнуванням *цис-транс*- та *транс*-мультимерів амідних груп ТБК<sub>ПАА</sub> в суміші та існуючої в чистому ПЗ розвинутої сітки Н-зв'язків, що додатково підтверджує взаємодію ПЗ з ТБК<sub>ПАА</sub>.

Природу взаємодії даного препарату з ТБК<sub>ПАА</sub> з точки зору пріоритету у зв'язуванні ПЗ з окремими блоками вивчали методом УФ спектроскопії (розділ 2.12). УФ спектри чистого ПЗ у водно/етанольних розчинах різного складу, а також його сумішей зі зразками ПЕГ3 та ПАА1 (розчинники вода/етанол=30/70 і 70/30 об %) у порівнянні зі спектрами розчинів чистих гомополімерів показані на рис. 5.4.

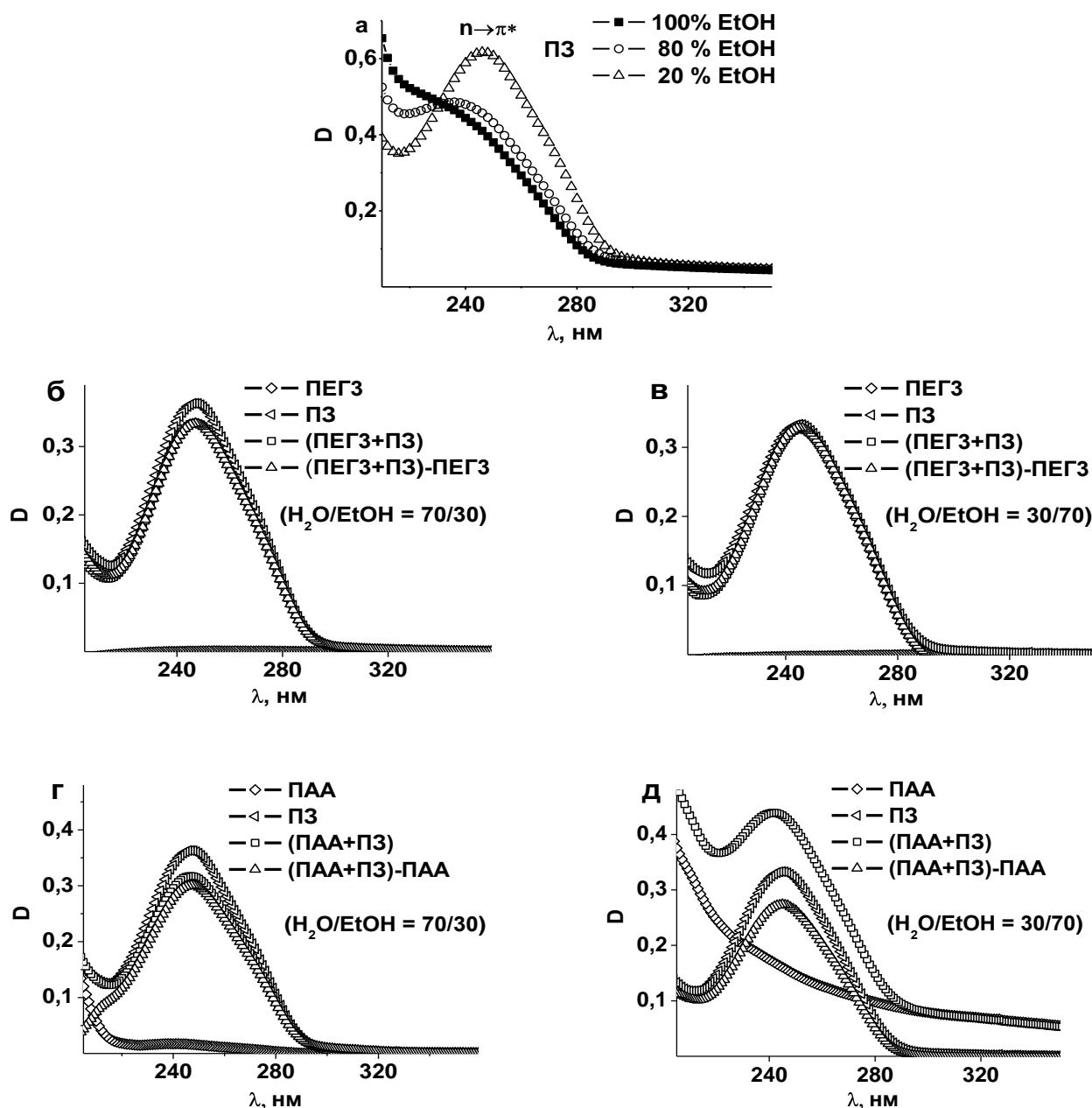


Рис. 5.4. УФ спектри ПЗ (а) ( $C_{\text{ПЗ}}=1,12 \cdot 10^{-2} \text{ кг} \cdot \text{м}^{-3}$ ) у водно/етанольних розчинах та сумішей ПЗ/ПЕГ3 (б, в) і ПЗ/ПАА1 (г, д) порівняно зі спектрами компонентів за

вмісту EtOH 30 (б, г) і 70 об % (в, д).  $C_{\text{ПЕГ}}=C_{\text{ПАА}}=0,4 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $C_{\text{ПЗ}}=8,53\cdot 10^{-3} \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ .

УФ спектри ПЗ (рис. 5.4 а) свідчать про вплив кількості етанолу в змішаному розчиннику на інтенсивність і положення смуги електронного  $n\rightarrow\pi^*$  переходу в карбонільних групах ПЗ. При збільшенні вмісту етанолу в розчинах ПЗ спостерігали зниження інтенсивності та довжини хвилі цього переходу до майже практичного його виродження, що свідчило про формування Н-зв'язків між гідроксилами етанолу і карбонільними групами ПЗ [231].

УФ-спектроскопічні дослідження сумішей ПЗ зі зразками ПЕГ3 та ПАА1 у двох різних за складом розчинниках ( $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}=70/30$  та  $30/70$  об %) показали однакову картину, а саме: присутність ПЕГ не змінювала положення ( $\lambda_{\text{max}}=247 \text{ нм}$ ) і практично не впливала на інтенсивність  $n\rightarrow\pi^*$  переходу (рис. 5.4 б, в), в той час як присутність ПАА призводила до характерного зниження інтенсивності переходу (рис. 5.4 г, д). Наявність цього ефекту підтвердила існування Н-зв'язків між  $>\text{C}=\text{O}$  групами ПЗ та амідними групами ПАА в обох змішаних розчинниках.

Кількість ПЗ, інкапсульованого міцелами  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}1-3}$  у розчиннику вода/етанол=80/20 об %, визначали при постійній концентрації кополімерів ( $C_{\text{ТБК}}=1 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ), трьох співвідношеннях:  $\varphi=0,021, 0,42$  та  $0,60 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}-\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$  і часу контакту компонентів – 24 год. Після додавання етанольного розчину ПЗ до водних розчинів  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  утворювались “сніжинкоподібні” структури, які відділяли на центрифuzі, а концентрацію ПЗ у супернатантах знаходили методом УФ спектроскопії (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Кількість преднізолону у “сніжинкоподібних” структурах

Кополімер	$\varphi$ , $\text{моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}-\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$	$X_{\text{ПЗ}}^{\text{I)}$ , мас %
$\text{ТБК}_{\text{ПАА}1}$	0,42	8,8
	0,6	48,5
$\text{ТБК}_{\text{ПАА}2}$	0,42	8,5
	0,6	55,6
$\text{ТБК}_{\text{ПАА}3}$	0,42	17,8
	0,6	56,8

<sup>1)</sup> Ступень інкапсуляції ПЗ.

При найменшому  $\varphi=0,021$  суттєвого помутніння розчинів триблок-кополімерів не спостерігалось, тому відділити продукти взаємодії і визначити незв'язаний ПЗ було неможливо. Але при інших значеннях  $\varphi$  ступень інкапсуляції ПЗ ( $X_{ПЗ}$ ) було визначено (табл. 5.1) і ці дані засвідчили різке зростання кількості зв'язаного лікарського препарату в “сніжинкоподібних” структурах при збільшенні  $\varphi$  від 0,42 до 0,6, а також повільне зростання цього параметру при переході від ТБК<sub>ПАА1</sub> до ТБК<sub>ПАА3</sub>. Крім того, було зафіксовано збільшення маси самих “сніжинкоподібних” структур при збільшенні  $\varphi$ .

В результаті, можна було запропонувати таку картину інкапсуляції ПЗ міцелами ТБК<sub>ПАА</sub> в залежності від вмісту етанолу. При додаванні малої кількості етанольного розчину ПЗ до водних розчинів ТБК<sub>ПАА</sub> (вміст EtOH  $\leq 20$  об %) можливо протікання двох конкурентних процесів: поступової деструкції моно- і полімолекулярних міцел ТБК<sub>ПАА</sub> під дією EtOH (рис. 3.9) та Н-зв'язування ПЗ спочатку з “хвостами” ПАА в “короні” міцел, а потім, можливо, з ланцюгами ПЕО і ПАА в міцелярному “ядрі”. Завдяки сильним додатковим гідрофобним взаємодіям за участю 4-ох неполярних кілець ПЗ другий процес очевидно буде переважати (особливо при високих  $\varphi$ ) і приводити до сильної гідрофобізації зв'язаних ділянок. Внаслідок заповнення міцел ТБК<sub>ПАА</sub> молекулами ПЗ і гідрофобізації ділянок зв'язування як раз і з'являються нові “сніжинкоподібні” структури. Разом з тим, при змішуванні ПЗ з “квіткоподібними” міцелами ТБК (вміст EtOH  $\geq 40$  об %) молекули лікарської речовини будуть контактувати спочатку з “петлями” ПЕО в “короні” міцел, але потім, за рахунок більш сильної взаємодії з блоками ПАА (за участю карбонільних і гідроксильних груп), вони будуть концентруватися в “ядрах” міцел або на їх поверхні, якщо вигравш в енергії системи буде більший при взаємодії ПЗ з блоками ПЕО і ПАА у порівнянні з блоками одного ПАА.

Для того, щоб скласти більш чітке уявлення про механізм інкапсуляції ПЗ міцелами ТБК<sub>ПАА</sub> та вплив присутності преднізолону на розміри міцел, проводили далі дослідження водно/етанольних розчинів чистого ПЗ і сумішей з ТБК<sub>ПАА</sub> методом ДС (розділ 2.13). Результати динамічного світлорозсіювання для розчинів

чистого ПЗ представлені на рис. 5.5 і в табл. 5.2.

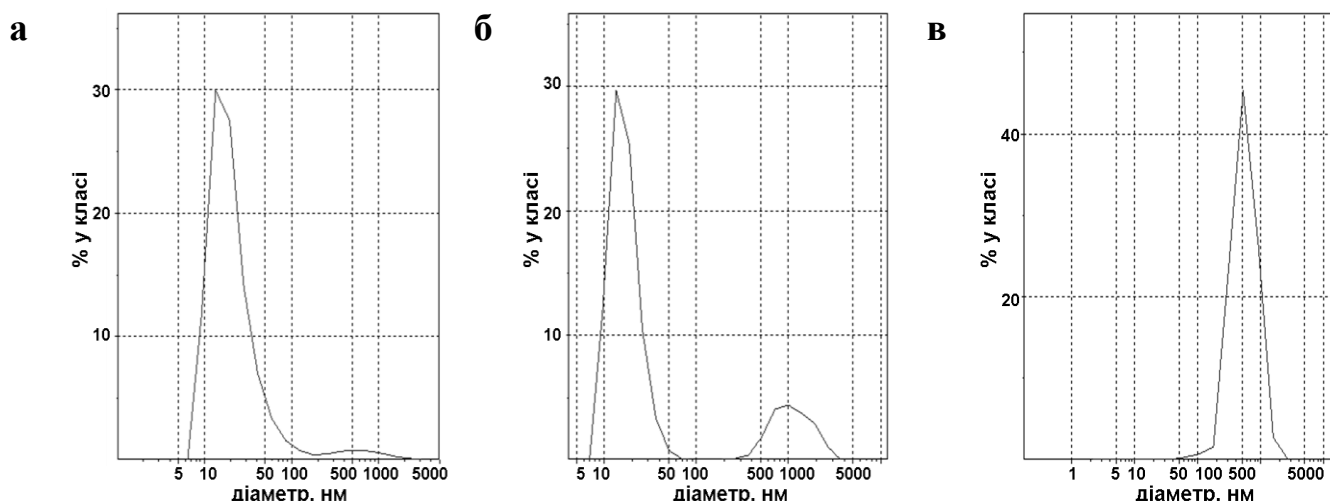


Рис. 5.5. Приклади кривих розподілу за розмірами частинок у водно/етанольних розчинах ПЗ, які одержані на основі об'єму частинок за програмою CONTIN.  $C_{\text{ПЗ}}=0,092$  (а),  $0,183$  (б) та  $0,274$   $\text{кг}\cdot\text{м}^{-3}$  (в), вміст EtOH 10 об %,  $T=20$  °C.

Таблиця 5.2

Агрегація молекул преднізолону у водно/етанольних розчинах<sup>1)</sup>

Система	$C$ , $\text{кг}\cdot\text{м}^{-3}$	$d_{\text{сер}(i)}$ <sup>2)</sup> , нм	$X_{(i)}$ , %	$d_{\text{сер}(v)}$ <sup>3)</sup> , нм	$X_{(v)}$ <sup>5)</sup> , %	$d_{\text{сер}(n)}$ <sup>4)</sup> , нм
ПЗ	0,092	42	27,4	14	98,1	10
		1575	72,6	1828	1,9	10
	0,183	25	5,4	18	81,6	15
		1002	94,6	1185	18,4	15
	0,274	2906	100	5968	99,9	46
	0,366	4076	100	40	1,5	25
7741		100	7741	98,5	25	
0,458	41	4,1	27	20,2	24	
	4603	95,9	6166	79,8	24	
0,550	26	5,4	19	79	16	
	1600	94,6	1923	21	16	

<sup>1)</sup> Вміст EtOH у воді 10 об %. Середні гідродинамічні діаметри міцел, розраховані за: <sup>2)</sup> інтенсивністю розсіювання, <sup>3)</sup> об'ємом і <sup>4)</sup> розміром розсіюючих частинок. <sup>5)</sup> Внесок окремої моди у загальну площу під кривою розподілу.

Для більшості концентрацій ПЗ (за виключенням  $C_{\text{ПЗ}}=0,274$  і частково  $0,366$   $\text{кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ) були характерні бімодальні криві розподілу за розмірами, одержані як на основі інтенсивності розсіювання, так і на основі об'єму частинок (приклади на рис. 5.5 а, б). Таким чином, у водно/етанольних розчинах ПЗ існувало 2 типи агрегатів з

суттєво різними розмірами. При найменшій концентрації ПЗ більшість його молекул утворювали малі агрегати з середнім діаметром  $d_{\text{сеп}(v)}=14$  нм (табл. 5.2). При підвищенні концентрації ПЗ до  $0,366 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  розмір малих агрегатів зростає, а їх відносна кількість зменшувалась; водночас, кількість і розмір великих агрегатів зростали. Такий результат був природним з точки зору відомої слабкої розчинності лікарського препарату у воді [280].

Діаметрально протилежну тенденцію спостерігали при подальшому підвищенні концентрації ПЗ до  $0,55 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  (табл. 5.2). Розмір малих агрегатів зменшувався, а їх відносна кількість зростала, в той час як обидва параметри для великих агрегатів зменшувались. Це було пояснено частковим осіданням найбільш великих агрегатів ПЗ у вимірювальній комірці при  $C_{\text{ПЗ}} > 0,366 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ . Відзначені факти вказували на існування динамічної рівноваги між малими і великими агрегатами ПЗ, яка залежала від його концентрації у змішаному розчиннику.

Вище було показано, що блоки ПАА сильніше зв'язують лікарську речовину, ніж блоки ПЕО. Це дозволило передбачати, що процес інкапсуляції розвивається головним чином в “короні” міцел, яка утворена надлишковими (не зв'язаними з ПЕО) сегментами ПАА. Розглянемо з такої точки зору дані ДС для водно/етанольних сумішей ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> 1, що представлені на рис. 5.6 і в табл. 5.3. Криві розподілу за розмірами, оснований на об'ємі частинок, які були одержані для 2-х перших значень  $\phi$  (рис. 5.6 а, б), демонстрували 3 моди, що вказувало на існування трьох різних видів розсіюючих частинок. Враховуючи, що у вихідних водних розчинах ТБК<sub>ПАА</sub> 1 було знайдено два види розсіюючих частинок (табл. 3.5), які відповідали моно- та полімолекулярним міцелам, дві перші моди з меншими  $d_{\text{сеп}(v)}$  в табл. 5.3 можна було віднести до ПЗ-вмісних МММ і ПММ. Появу великих частинок третього виду, частка яких і розміри зменшувались до нуля при зростанні  $\phi$  до 0,195, можна було пояснити, по-перше, розвитком процесу інкапсуляції за рівноважним механізмом (чим більше ПЗ, тим більше ступень його зв'язування з міцелами ТБК<sub>ПАА</sub>), а по-друге, існуванням конкуренції між процесами інкапсуляції та агрегації ПЗ. Дійсно, значення  $d_{\text{сеп}(v)}$  для частинок третього виду були співрозмірними з аналогічними значеннями для агрегатів ПЗ (табл. 5.2). Коли відносний вміст ПЗ в системі був

мінімальним ( $\varphi=0,065$ ), процес самоагрегації сильно конкурував зі зв'язуванням ПЗ.

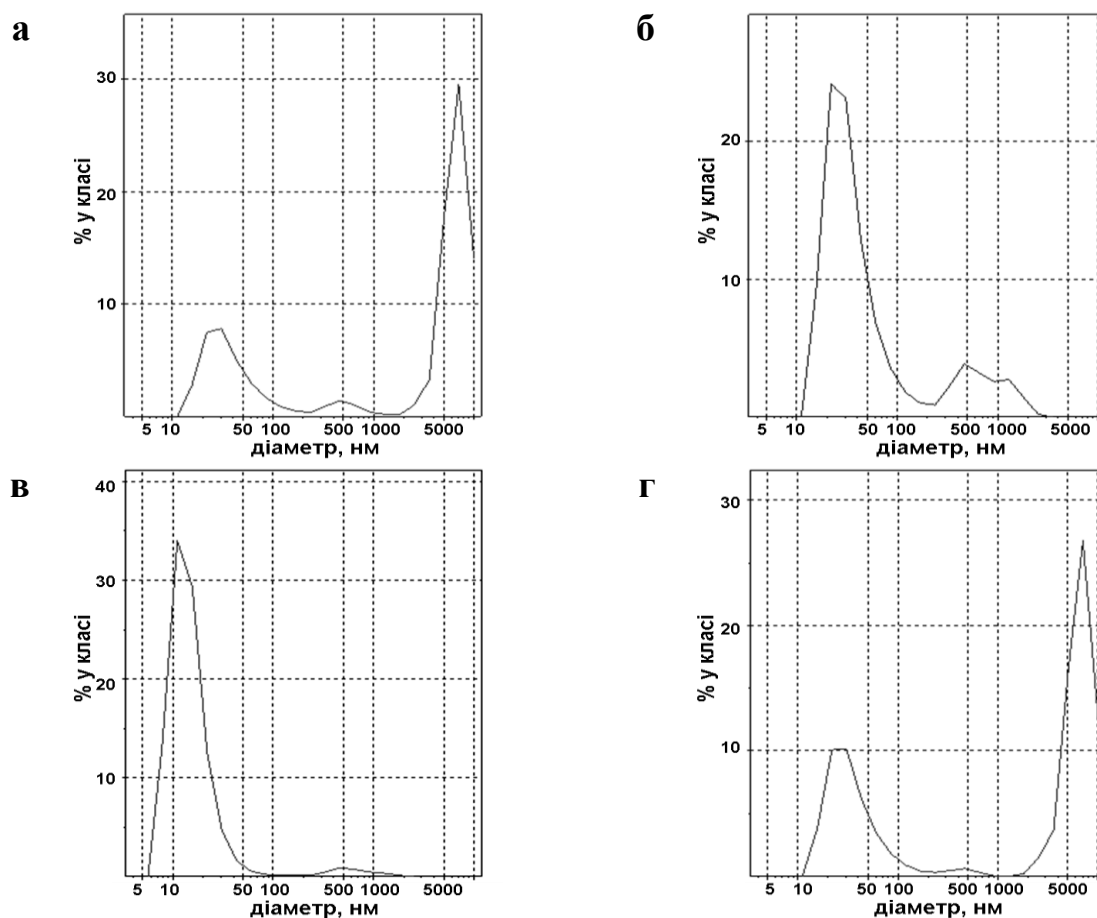


Рис. 5.6 Криві розподілу за розмірами частинок в сумішах ПЗ/ТБК<sub>ПАА 1</sub>, розраховані на основі об'єму частинок.  $C_{\text{ТБК}}=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ;  $C_{\text{ПЗ}}=0,092$  ( $\varphi=0,065$ ) (а),  $0,183$  ( $\varphi=0,13$ ) (б),  $0,274$  ( $\varphi=0,195$ ) та  $0,55 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  ( $\varphi=0,195$ ) (в). Вміст EtOH 9 об %,  $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Таблиця 5.3  
Вплив інкапсуляції ПЗ на стан міцел триблок-кополімерів<sup>1)</sup>

Система	$C_{\text{ПЗ}}, \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$	$\varphi, \text{ моль}\cdot\text{осн}\cdot\text{моль}^{-1}$	$d_{\text{сер}}, \text{ нм}$	$d_{\text{сер}(i)}, \text{ нм}$	$X_{(i)}, \%$	$d_{\text{сер}(v)}, \text{ нм}$	$X_{(v)}, \%$	$d_{\text{сер}(n)}, \text{ нм}$
ПЗ/ТБК <sub>ПАА 1</sub>	0,092	0,065	254	309 5743	80,0 20,0	43 601 6912	29,6 4,7 65,7	26
	0,183	0,130	163	443	100	39 567 1299	81,0 12,4 6,6	25
	0,274	0,195	85	30 496	11,1 88,9	16 670	96,7 3,3	12
	0,366	0,260	232	181 5306	60,2 39,8	37 468 6738	31,4 1,0 67,6	25
	0,550	0,390	255	198 5485	73,7 26,3	40 442 6815	37,0 1,8 61,2	26

<sup>1)</sup> Вміст EtOH 9 об %.

Саме тому великі агрегати ПЗ могли бути ідентифіковані у розчині. При зростанні вмісту ПЗ до  $\varphi=0,195$  процес інкапсуляції ставав переважаючим і це призводило до практичного зникнення агрегатів ПЗ. Таким чином, склад  $\varphi=0,195$  повинен був відповідати практично повному зв'язуванню молекул ПЗ міцелами ТБК<sub>ПАА</sub> 1, тобто насиченню міцел молекулами лікарської речовини.

Кристалізація є небажаною властивістю багатьох токсичних і нерозчинних у воді лікарських субстанцій (у тому числі і преднізолону), яка знижує швидкість їх дисоціації і абсорбції в організмі [279]. Тому, особливе значення має вивчення кристалічного стану лікарських речовин в наноконтейнерах. Результати ДСК досліджень (розділ 2.7) преднізолону, ТБК<sub>ПАА</sub> та продуктів їх взаємодії – “сніжинкоподібних” структур, які були отримані в суміші вода/етанол=80/20 об % при  $\varphi=0,64$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ТБК</sub><sup>-1</sup>, а потім виділені від розчину через 24 год шляхом центрифугування і висушені, показані на рис. 5.7. Аморфна гомогенна структура ТБК<sub>ПАА</sub> проявлялась на ДСК термограмах одним переходом склування (рис. 5.7 а), температура  $T_c$  якого була трохи нижчою, ніж для чистого ПАА [272]. На ДСК термограмах комерційного кристалічного ПЗ (рис. 5.7 б) спостерігався лише один ендотермічний пік плавлення при 236,5 °С. На відміну від цього, ДСК термограма зразка ПЗ, одержаного зі змішаного розчинника вода/етанол=80/20 об %, демонструвала два ендотермічні піки на 1-му скані (рис. 5.7 б, крива 1) та відсутність піків на 2-му скані (рис. 5.7 б, крива 2). Перший пік на 1-му скані відображав процес випаровування води з моногідрату преднізолону (ПЗ<sub>гідр</sub>), який був сформований з водно/етанольного розчину, проте другий пік відповідав переходу плавлення. Додаткова кристалізація ПЗ<sub>гідр</sub> відбувалась перед плавленням, про що свідчив екзотермічний пік, який передував ендотермічному. В той же час, відсутність будь-яких термічних переходів на 2-му скані свідчила про дуже малу швидкість кристалізації ПЗ<sub>гідр</sub> після плавлення і швидкого охолодження. ДСК термограми виділених продуктів взаємодії ПЗ з ТБК<sub>ПАА</sub> (рис. 5.7 г-е) були аналогічні до термограми моногідрату ПЗ (рис. 5.7 в); крім того, на них не проявлявся перехід склування, характерний для чистого ТБК<sub>ПАА</sub> (рис. 5.7 а).

Очевидно, це було пов'язано із сильною взаємодією компонентів, внаслідок якої окремі аморфні мікрообласті чистих триблок-кополімерів в структурі виділених продуктів були відсутні.

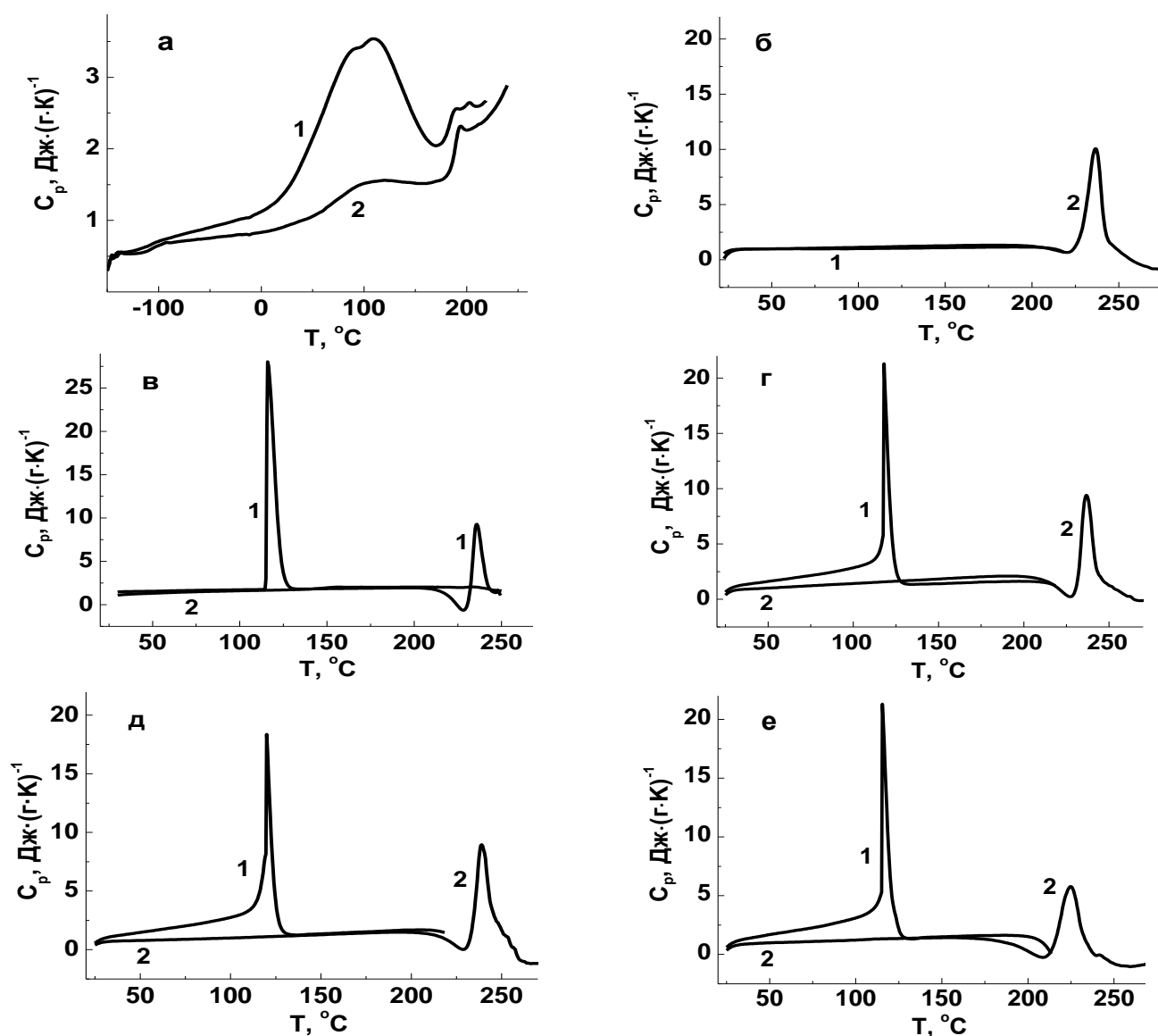


Рис. 5.7. ДСК термограми 1-их –1 та 2-их –2 сканів для:  $\text{TBK}_{\text{ПАА}3}$  (а), комерційного ПЗ (б), моногідрату  $\text{ПЗ}_{\text{гдр}}$ , отриманого з водно/етанольного розчину (вміст EtOH 20 об %) (в) та виділених продуктів взаємодії: ПЗ/ $\text{TBK}_{\text{ПАА}1}$  (г), ПЗ/ $\text{TBK}_{\text{ПАА}2}$  (д) і ПЗ/ $\text{TBK}_{\text{ПАА}3}$  (е) з  $\varphi=0,64 \text{ моль}_{\text{ПЗ}} \cdot \text{осн} \cdot \text{моль}_{\text{TBK}}^{-1}$ .

Для більш детального вивчення процесів кристалізації ПЗ використовували метод WAXS (розділ 2.8). Результати для двох систем ПЗ/ $\text{TBK}_{\text{ПАА}1-2}$  представлені на рис. 5.8. Для системи ПЗ/ $\text{TBK}_{\text{ПАА}3}$  дані були аналогічні тим, що були отримані для системи ПЗ/ $\text{TBK}_{\text{ПАА}2}$ , тому вони не представлені на рис. 5.8. Однорідна аморфна структура  $\text{TBK}_{\text{ПАА}1-3}$  проявлялась на профілях WAXS (приклади на рис. 5.8 а) двома

широкими “гало”, які сильно перекривались. Це було зумовлено наявністю в аморфній структурі ТБК<sub>ПАА</sub> двох систем площин паракристалічної решітки [272]. Перший максимум з меншою інтенсивністю ( $\theta \sim 15^\circ$ ) характеризував бічну періодичність в розташуванні ланцюгів ПАА. Другий максимум з більшою інтенсивністю ( $\theta = 22,1^\circ$ ) був обумовлений періодичним розташуванням плоских Н-зв’язаних *цис*-димерів амідних груп в структурах *цис-транс*-мультимерів.

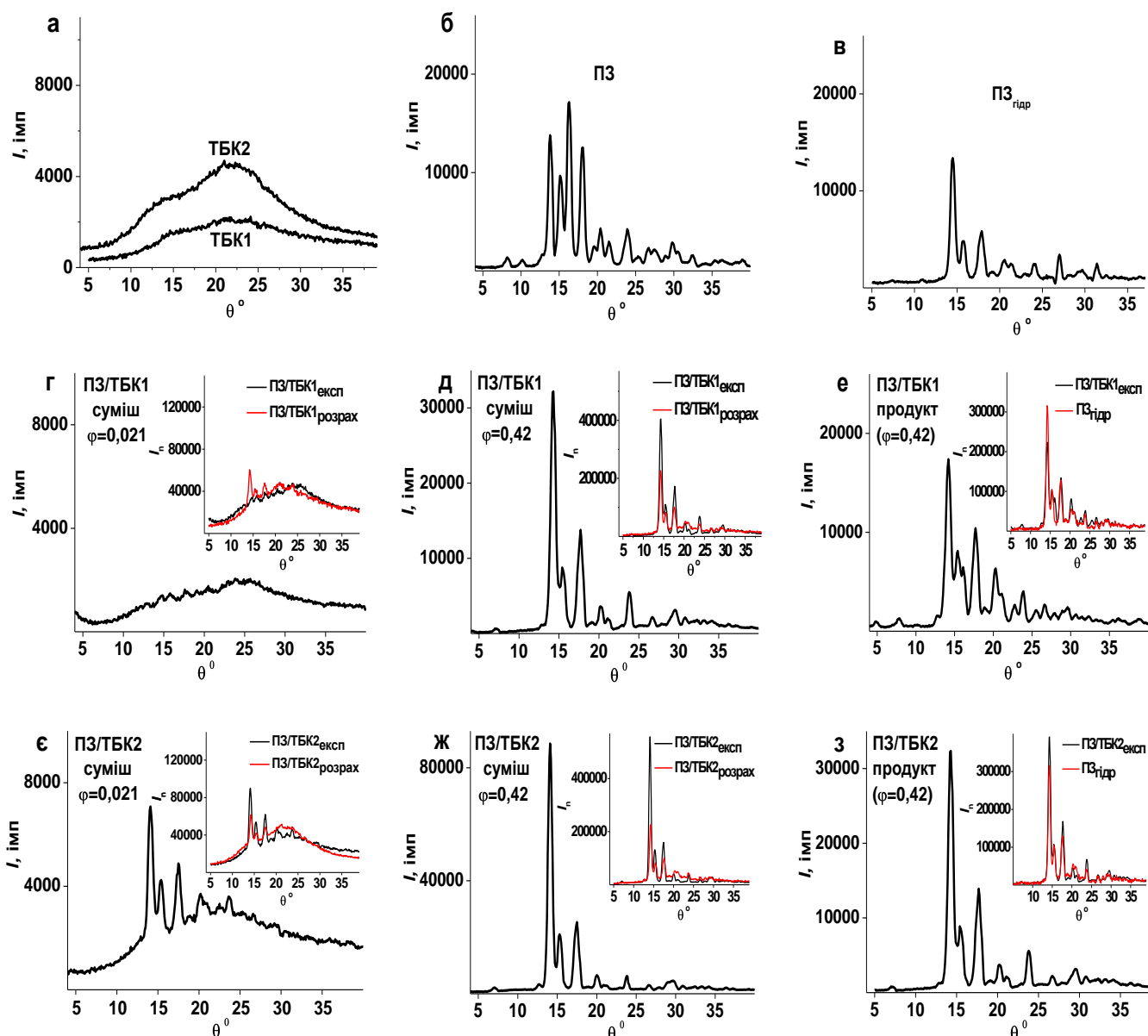


Рис. 5.8. WAXS профілі для ТБК<sub>ПАА</sub>1 і ТБК<sub>ПАА</sub>2 (а), комерційного ПЗ (б) та його моногідрату ПЗ<sub>гидр</sub> (в), а також для композицій ПЗ з кополімерами, що одержані у розчиннику Н<sub>2</sub>О/ЕтОН=80/20 об % при  $\phi=0,021$  (г, є) і 0,42 моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ТБК</sub><sup>-1</sup> (д, ж), та виділені продукти взаємодії кополімерів з ПЗ при вихідному  $\phi=0,42$  (е, з). У меншому масштабі надані нормовані експериментальні (чорні) та розраховані адитивні (червоні) WAXS профілі.

Кристалічні структури комерційного ПЗ та його моногідрату (ПЗ<sub>гідр</sub>) були поліморфними (рис. 5.8 б, в) та істотно відрізнялися одна від одної. Такий результат повністю узгоджувався з даними роботи [279]. Кристалічна форма ПЗ на профілях WAXS, одержаних для ліофільно висушених сумішей ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>2-3 при  $\phi=0,021$  (приклад показано на рис. 5.8 є), сумішей ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>1-3 при  $\phi=0,42$  (два приклади на рис. 5.8 д, ж), а також виділених продуктів взаємодії ТБК<sub>ПАА</sub>2-3 з ПЗ при вихідному співвідношенні  $\phi=0,42$  (приклад на рис. 5.8 з) була тією ж самою, як і в ПЗ<sub>гідр</sub> (рис. 5.8 в). Такий висновок базувався на наявності однакових кристалічних піків при  $\theta=14,2^\circ, 15,4^\circ, 17,6^\circ, 20,3^\circ, 20,9^\circ$  та  $23,6^\circ$  на зазначених дифрактограмах. В той же час, в усіх сумішах ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>1-3 з  $\phi=0,42$  внесок першого кристалічного піку (при  $\theta=14,2^\circ$ ) в загальний профіль розсіювання зростає. Таким чином, в цих композиціях утворювались більш досконалі і гомогенні кристали ПЗ.

Далі порівнювали нормовані експериментальні і розраховані (адитивні) профілі WAXS для сумішей ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>1-3 (приклад на рис. 5.8 г, д, є, ж, що представлені у зменшеному масштабі), а також нормовані експериментальні профілі WAXS для виділених продуктів взаємодії ПЗ з ТБК<sub>ПАА</sub>1-3 і чистого ПЗ<sub>гідр</sub> (рис. 5.8 е, з). Нормування первинних профілів WAXS для ТБК<sub>ПАА</sub>, ПЗ<sub>гідр</sub> та сумішей проводили за формулою (5.1):

$$I_{n(i)}(\theta) = \frac{I \cdot 10^6}{\int_{\theta_0}^{\theta_{\max}} (I - I_0) d\theta}, \quad (5.1)$$

де  $I_{n(i)}(\theta)$  – залежна від  $\theta$  нормована інтенсивність розсіювання для  $i$ -того компоненту,  $I$  та  $I_0$  – поточна і мінімальна інтенсивності розсіювання на дифрактограмах при куті розсіювання  $\theta$  і  $\theta_0$ , відповідно. Адитивні профілі WAXS для сумішей були розраховані за формулою (5.2):

$$I_{n(\text{ТБК}+\text{ПЗ})}(\theta) = w_{\text{ТБК}} \cdot I_{n(\text{ТБК})} + w_{\text{ПЗ}} \cdot I_{n(\text{ПЗ})}, \quad (5.2)$$

де  $w_{\text{ТБК}}$  і  $w_{\text{ПЗ}}$  – вагові частки ТБК<sub>ПАА</sub> та ПЗ в сумішах. Результати порівняння показали, що експериментальні профілі WAXS для більшості сумішей, окрім суміші ПЗ з ТБК<sub>ПАА</sub>1 при  $\phi=0,021$  (рис. 5.8 г), демонструють, на відміну від розрахованих

адитивних профілів, значно більший внесок розсіювання кристалічної фази ПЗ в сумарне розсіювання від кристалічних і аморфних областей (на це вказує більше співвідношення між площею під всіма кристалічними піками та площею під всією дифрактограмою [230]). Аналогічний ефект був характерний і для виділених продуктів взаємодії ПЗ з ТБК<sub>ПАА</sub>2-3 при вихідному  $\phi=0,42$  (приклад на рис. 5.8 з). Ці факти свідчать про те, що присутність ТБК<sub>ПАА</sub> в указаних сумішах і продуктах взаємодії посилює кристалізацію ПЗ в процесі їх висушування.

Інший тип кристалічної структури ПЗ порівняно з ПЗ<sub>гідр</sub> та суттєве зменшення внеску розсіювання від кристалічної фази було зафіксовано в продукті взаємодії ПЗ з міцелами ТБК<sub>ПАА</sub>1 при складі вихідної суміші  $\phi=0,42$ . В цьому випадку у профілі WAXS (рис. 5.8 е) спостерігались два додаткові кристалічні піки при  $\theta=16,1^\circ$  та  $22,8^\circ$ . Однак найбільш важливий і цікавий ефект полягав у повністю аморфному характері висушених сумішей ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>1 з найнижчим  $\phi=0,021$  (рис. 5.8 г) всупереч очікуваній появі кристалічної фази, яку передбачав розрахований адитивний профіль WAXS. Це свідчило про можливість уникнення кристалізації преднізолону за рахунок вибору підходящого міцелярного носія ТБК<sub>ПАА</sub> і відносної концентрації ПЗ. Дані результати показують перспективу регулювання кристалічних властивостей лікарської субстанції та/або зміни її кристалічної форми шляхом варіювання структури міцелярного наноконтейнера та вмісту лікарської речовини.

В даному контексті було надзвичайно цікаво розглянути морфологію міцелярних структур ТБК<sub>ПАА</sub> з інкапсульованим ПЗ методом ТЕМ (розділ 2.14). Електронні мікрофотографії для суміші ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>1 при  $\phi=0,2$  показані на рис. 5.9. Як показали дослідження цієї суміші методом ДС, склад  $\phi=0,2$  відповідав міцелам ТБК<sub>ПАА</sub>1 (МММ і ПММ), що були насичені молекулами ПЗ (табл. 5.3). На мікрофотографіях, що були зроблені на 6-ий день після приготування сумішей, проявлялися малі і великі міцелярні структури, розміри яких коливались в межах  $16\div 200$  та  $470\div 2400$  нм (за даними рис. 5.9 а, в). Крім того, ці знімки демонстрували явище сильної агрегації малих міцел, насичених ПЗ, за рахунок взаємодії їх “корон”, яке особливо активно розвивалось при висушуванні композиції (оскільки вихідні розчини ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>1 при  $\phi=0,2$  були фактично прозорими) і призводило до появи

великих “стрижнеподібних” (спочатку кристалоподібних, а потім і кристалічних) структур за участю ПЗ і міцел ТБК<sub>ПАА</sub> (рис. 5.9 а, б, д, е). Цей ефект не був неочікуваним і міг бути пояснений зв’язуванням ПЗ з ланцюгами ПАА в “короні” міцел, що викликало значну гідрофобізацію їх поверхні і подальшу агрегацію. Необхідно зауважити, що саме такі “стрижнеподібні” структури за участю ПЗ і міцел ТБК<sub>ПАА</sub> були спочатку ідентифіковані нами як “сніжинкоподібні” (рис. 5.1 б).

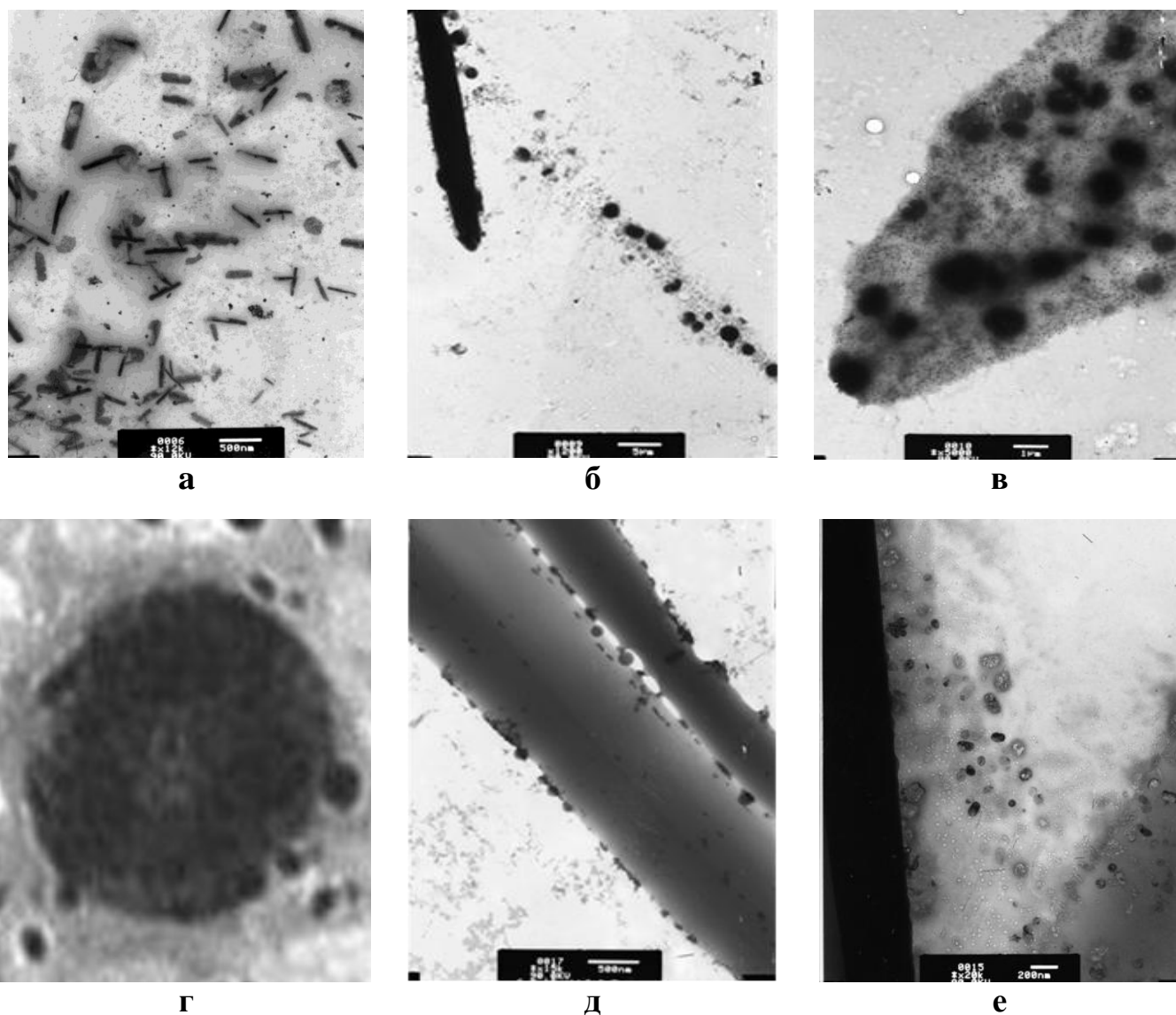


Рис. 5.9 Мікрофотографії, що показують: специфічну агрегацію міцел ТБК<sub>ПАА</sub> 1, заповнених ПЗ, шляхом взаємодії їх “корон” (а-в), великі сферичні фрактально-організовані структури, що складаються з малих міцел ТБК<sub>ПАА</sub> 1, заповнених ПЗ (г) та великі “стрижнеподібні” структури, вкриті взаємодіючими міцелами ТБК<sub>ПАА</sub> 3 (д, е).  $S_{\text{ТБК}}=0,5 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $\varphi=0,2 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}\cdot\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$ , вміст EtOH 20 об %.

Сильне збільшення зображення великої сферичної міцелярної структури (рис. 5.9 в, г) показало, що вона не була суцільною і не мала загального “ядра”. Навпаки,

вона складалася з численних малих міцел, заповнених ПЗ, які взаємодіяли своїми “коронами” і утворювали впорядковану фрактально-організовану структуру. Саме такі впорядковані фрактальні агрегати малих міцел можна було розглядати як зародки кінцевої кристалічної структури. В цьому випадку кристалізація ПЗ повинна була розвиватися у просторі між міцелярними “ядрами” цих великих агрегатів при висушуванні розчинів сумішей ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> і призводити до включення малих міцел ТБК<sub>ПАА</sub> (фактично окремих ІнтраПК, заповнених ПЗ) в кінцеву кристалічну структуру. Інакше кажучи, на основі цих даних постало актуальне питання про наявність міцел ТБК<sub>ПАА</sub> не лише на поверхні кристалоподібних структур (рис. 5.9 а, б, д, е), але й всередині утворених далі кристалічних областей.

Певним підтвердженням зробленого припущення стали електронні мікрофотографії незвичайних кристалічних структур, отриманих з водно/етанольних розчинів композицій ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> 1 при  $\varphi=0,2$  і, особливо,  $\varphi=0,4$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ТБК</sub><sup>-1</sup> (рис. 5.10). На вигляд ці кристалічні структури суттєво відрізнялися від голкоподібних кристалів чистого ПЗ [279]. Крім того, відмінність кристалічної структури продукту взаємодії ПЗ з ТБК<sub>ПАА</sub> 1 порівняно зі структурою кристалів чистого препарату (ПЗ<sub>гідр</sub>) була раніше зафіксована ще й методом WAXS (рис. 5.8 е).

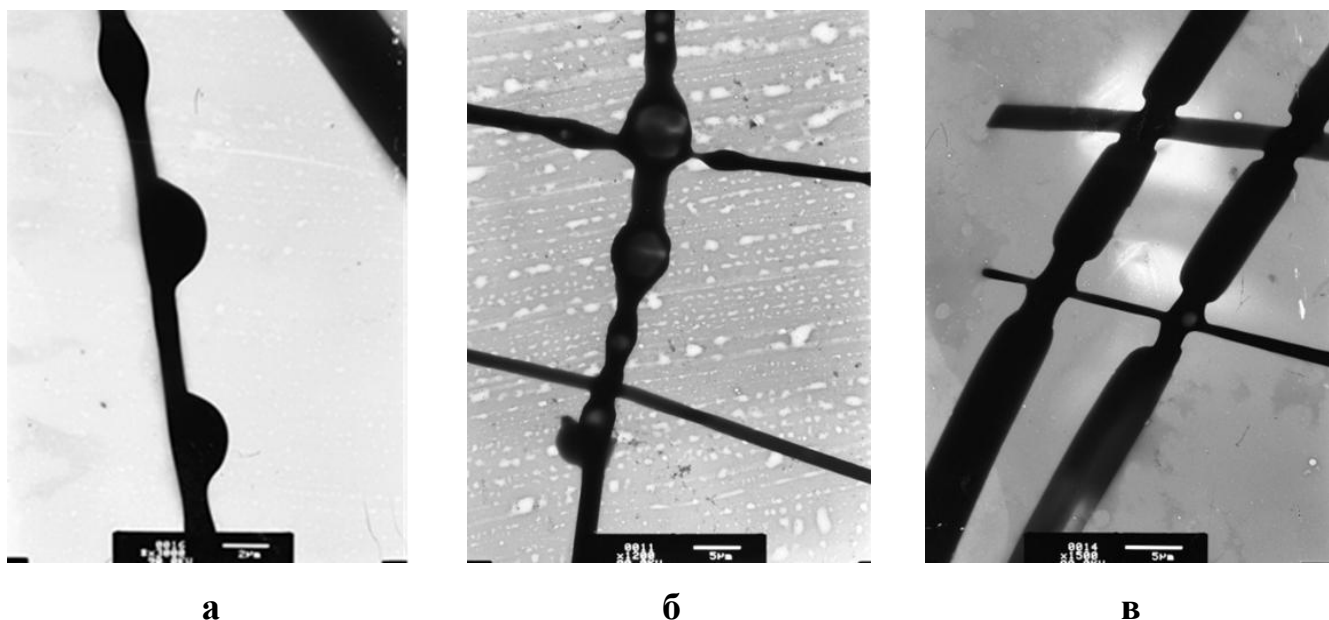


Рис. 5.10. Незвичайна морфологія кристалів ПЗ з міцелами ТБК<sub>ПАА</sub> в композиції ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub> 1 у різних варіантах збільшення зображення (а-в).  $S_{ТБК}=0,5$  кг·м<sup>-3</sup>,  $\varphi=0,2$  (а) та 0,4 (б, в) моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ТБК</sub><sup>-1</sup>, вміст EtOH 20 об %.

Дані електронної мікроскопії дозволяють пояснити результати динамічного

світлорозсіювання в області  $\varphi > 0,195 \text{ моль}_{\text{ПЗ}} \cdot \text{осн} \cdot \text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$  (табл. 5.3). В цій області спостерігалося різке збільшення інтенсивності світлорозсіювання і знов з'являлася 3-тя мода на кривій розподілу за розмірами, що була отримана на основі об'єму частинок (рис. 5.6 г). Поява в цій системі у вказаній області значень  $\varphi$  третього типу розсіюючих частинок великого розміру пов'язана, очевидно, з додатковим посиленням агрегації міцел ТБК<sub>ПАА</sub>, що насичені ПЗ, за рахунок участі в ній надлишкових молекул ПЗ, котрі хоча і не мають можливості реагувати з ланцюгами ПАА в “короні” міцел, але можуть взаємодіяти з вже зв'язаними в “короні” молекулами лікарської речовини.

Таким чином було встановлено, що процес інкапсуляції ПЗ міцелами ТБК<sub>ПАА</sub> 1 у середовищі вода/етанол=91/9 об % в області  $\varphi < 0,195 \text{ моль}_{\text{ПЗ}} \cdot \text{осн} \cdot \text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$  розвивався за рівноважним механізмом завдяки реальній конкуренції між ним і процесом самоагрегації молекул ПЗ. Однак, при  $\varphi = 0,195$  процес інкапсуляції ставав домінуючим і призводив до повного насичення міцел ТБК<sub>ПАА</sub> молекулами ПЗ. Це супроводжувалося рядом цікавих ефектів, основним з яких була сильна специфічна агрегація міцел, заповнених ПЗ, своїми “коронами”. Наслідками такої агрегації було спочатку утворення великих фрактально-організованих міцелярних структур, а потім і кристалізація лікарської речовини за участю міцел ТБК<sub>ПАА</sub>.

## 5.2 Інкапсуляція преднізолону міцелами ДБК<sub>ПКЛ</sub>

Важливим аспектом роботи було порівняння процесів взаємодії модельного препарату ПЗ зі специфічними міцелами ТБК<sub>ПАА</sub> та міцелами класичних амфифільних диблок-кополімерів ДБК<sub>ПКЛ</sub>, які мали подібну будову до міцел ТБК<sub>ПАА</sub> в тому плані, що містили *гідрофобне “ядро”* і *гідрофільну “корону”*, утворену “хвостами” гідрофільних блоків, однак принципово відрізнялись між собою структурою “ядра”. Як було показано в розділі 4.3, кополімери ДБК<sub>ПКЛ</sub> формували у водно/діоксанових розчинах при  $C > \text{ККМ}$  малі первинні міцели зі сферичною морфологією та невеликі агрегати таких міцел (розгалужені “ланцюжки”). Стабільність міцел залежала від довжини як гідрофобного блоку ПКЛ, що складав міцелярне “ядро”, так і блоку МОПЕО, який утворював стабілізуючу гідрофільну

“корону”. У разі додавання ПЗ до вже сформованих міцелярних структур ДБК<sub>ПКЛ</sub> спостерігали значне підвищення мутності водно/діоксанових розчинів, що свідчило про подальший розвиток процесів міцелоутворення, зумовлений взаємодією компонентів. Тому, перш за все, вивчали вплив присутності ПЗ на самозбірку макромолекул ДБК<sub>ПКЛ</sub> у змішаному розчиннику вода/діоксан=70/30 об %. Для цього використовували зразки ДБК<sub>ПКЛ</sub>2-4 з різною довжиною гідрофобного блоку (табл. 4.1) і визначали ККМ у водно/діоксанових розчинах чистих кополімерів та їх сумішей з ПЗ постійного складу ( $\varphi=0,25$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ДБК</sub><sup>-1</sup>), використовуючи спектрофотометричний метод (розділ 2.9). Цей метод, як відомо, не є достатньо коректним (порівняно з пружним світлорозсіюванням) для чіткого визначення початку міцелоутворення в розчинах (ко)полімерів і дає зазвичай завищені значення ККМ. Однак у нашому випадку він був корисний для порівняння поведінки чистих міцелярних систем змінної концентрації у водно/органічному розчиннику та тих же систем в присутності ПЗ.

Загальна картина у водно/діоксанових розчинах одного зі зразків ДБК<sub>ПКЛ</sub> різної концентрації після додаванні в них ПЗ показана на рис. 5.11, а результати визначення ККМ представлені на рис. 5.12 та у табл. 5.4.

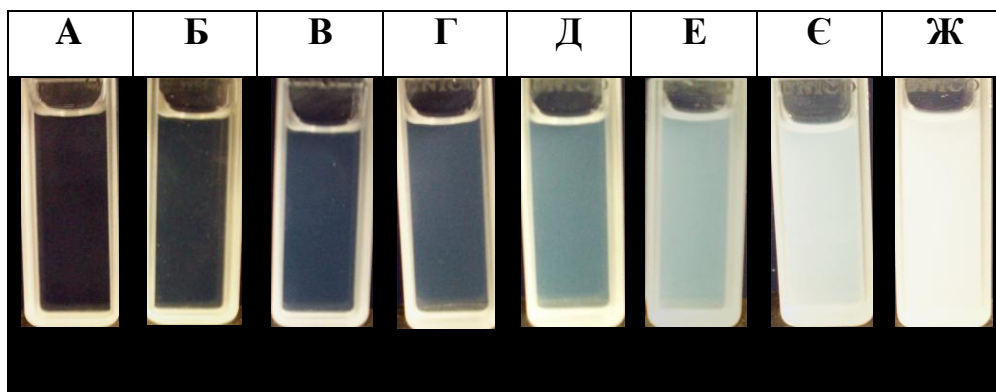


Рис. 5.11. Фотографії комірок з розчинами ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub>3 за  $C_{\text{ДБК}}=0,1$  (А), 0,2 (Б), 0,3 (В), 0,4 (Г), 0,5 (Д), 1,0 (Е), 1,5 (Є) і 2,0 кг·м<sup>-3</sup> (Ж).  $\varphi=0,25$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ДБК</sub><sup>-1</sup>, розчинник: вода/діоксан=70/30 об %.

Слід одразу звернути увагу на нижчі значення оптичної густини для суміші ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub>4 в області утворення міцел, тобто при  $C > \text{ККМ}$  (рис. 5.12 е), у порівнянні з двома іншими сумішами ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub>2-3 (рис. 5.12 г, д). Це можна пояснити інтенсивнішим розвитком процесу інкапсуляції ПЗ і подальшого зростання

міцелярних структур в системі ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ4</sub>, що спричиняло її фазове розділення у вимірювальній комірці. За значеннями ККМ, як і раніше, розраховували вільну енергію міцелоутворення Гіббса,  $-\Delta G^\circ$ , використовуючи формулу (4.6) (розділ 4.3).

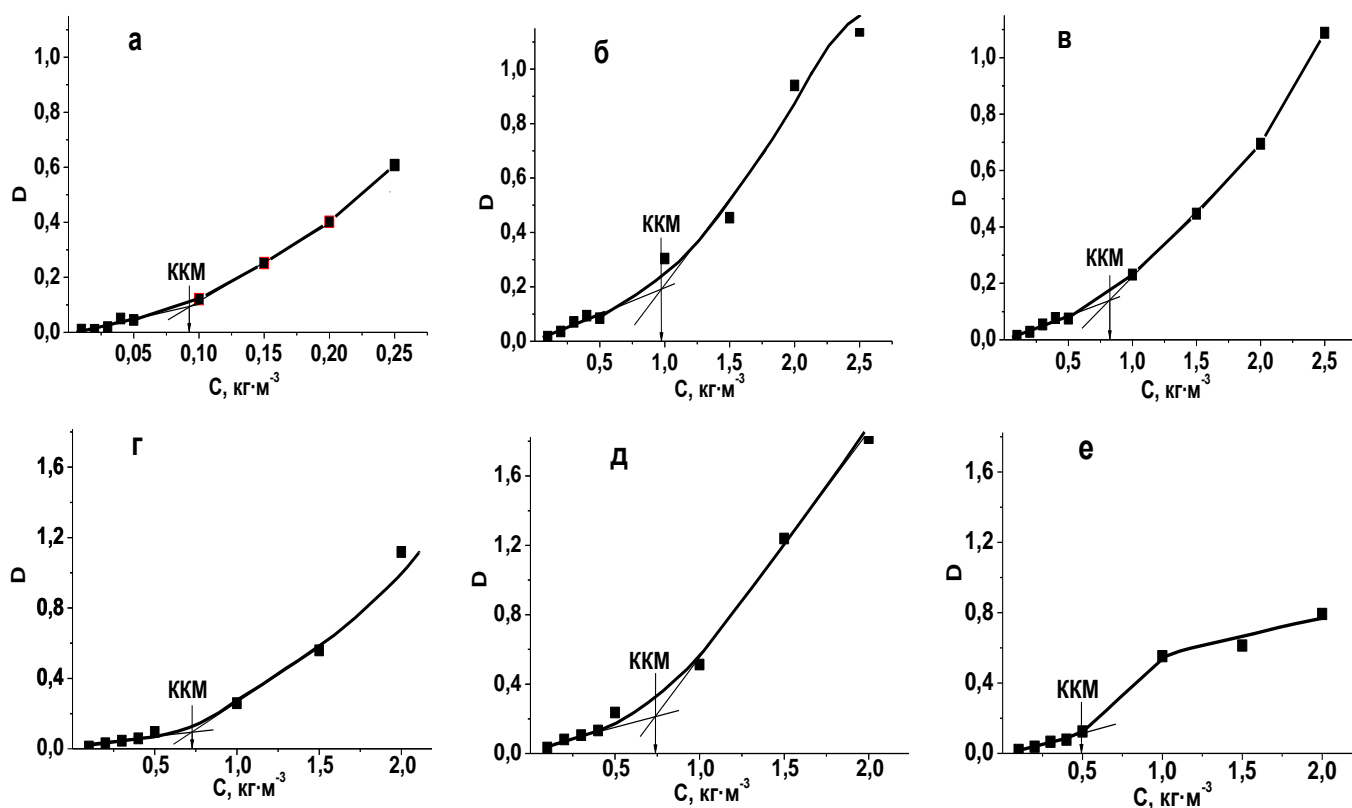


Рис. 5.12. Концентраційні залежності оптичної густини (мутності) в розчинах чистих ДБК<sub>ПКЛ2</sub> (а), ДБК<sub>ПКЛ3</sub> (б) і ДБК<sub>ПКЛ4</sub> (в) та сумішей ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ2</sub> (г), ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ3</sub> (д) і ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ4</sub> (е). Розчинник вода/діоксан=70/30 об %,  $\phi=0,25$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ДБК</sub><sup>-1</sup>, T=20 °C,  $\lambda=500$  нм.

Таблиця 5.4

Характеристики міцелоутворення в розчинах<sup>1)</sup> чистих диблок-кополімерів та сумішах з ПЗ за даними спектрофотометрії

Система	ККМ·10 <sup>5</sup> , моль·дм <sup>-3</sup>	$-\Delta G^\circ$ , кДж·моль <sup>-1</sup>
ДБК <sub>ПКЛ2</sub>	8,78	22,91
ДБК <sub>ПКЛ3</sub>	3,69	25,04
ДБК <sub>ПКЛ4</sub>	3,04	25,57
ПЗ/ДБК <sub>ПКЛ2</sub> <sup>2)</sup>	6,93	23,56
ПЗ/ДБК <sub>ПКЛ3</sub>	2,80	25,79

ПЗ/ДБК <sub>ПКЛ</sub> 4	1,87	26,79
-------------------------	------	-------

<sup>1)</sup> Розчинник вода/діоксан=70/30 об %. <sup>2)</sup>  $\varphi=0,25$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ДБК</sub><sup>-1</sup>.

Як видно з даних табл. 5.4, в усіх системах ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub> спостерігалось істотне зниження ККМ і збільшення  $-\Delta G^\circ$  у порівнянні з аналогічними величинами в розчинах чистих блок-кополімерів у тому ж розчиннику, що свідчило про зв'язування ПЗ з міцелами ДБК<sub>ПКЛ</sub> і посилення стабільності міцелярних структур у даному змішаному розчиннику. Крім того, з даних табл. 5.4 видно, що для систем ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub>2-4 було характерно зниження величини ККМ та збільшення енергії Гіббса при зростанні довжини гідрофобного блоку ПКЛ (який формував міцелярне “ядро”) так само, як і для аналогічного ряду розчинів ДБК<sub>ПКЛ</sub>2-4 без ПЗ. Таким чином було показано, що ПЗ брав активну участь у формуванні міцелярних структур ДБК<sub>ПКЛ</sub> при  $S_{ДБК} > ККМ$  і діяв як додатковий фактор їх стабілізації.

Наступний етап досліджень полягав у встановленні природи взаємодії ПЗ з макромолекулами ДБК<sub>ПКЛ</sub>, що дозволяло прогнозувати місце розташування лікарської сполуки в міцелах ДБК<sub>ПКЛ</sub> – у “ядрі”, в “короні” або на кордоні між “ядром” та “короною”. Для цього було обрано зразок ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 з приблизно рівною довжиною блоків МОПЕО і ПКЛ (табл. 4.1). Хімічна структура молекул ПЗ (рис. 2.4), в якій наявні дві карбонільні та три гідроксильні групи, передбачає потенційну можливість утворення Н-зв'язків лише між його –ОН групами та протоно-акцепторними (естерними та/або етерними) групами ДБК<sub>ПКЛ</sub> без участі у зв'язуванні карбонільних груп ПЗ. Це повинно було відобразитися у відповідних змінах в УФ і FTIR спектрах. Виконані першими УФ-спектроскопічні дослідження розчинів чистих ПЗ і ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 та суміші ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 складу  $\varphi=0,25$  моль<sub>ПЗ</sub>·осн-моль<sub>ДБК</sub><sup>-1</sup> (розчинник вода/діоксан=70/30 об %) виявили (результати не наведені) незмінність положення та інтенсивності смуги з  $\lambda_{\max}=247$  нм (що відповідала  $n \rightarrow \pi^*$  переходу в  $>C=O$  групах ПЗ) і в спектрі чистого ПЗ, і в спектрі суміші. Це підтвердило відсутність участі карбонільних груп ПЗ у зв'язуванні з ДБК<sub>ПКЛ</sub>.

Наявність Н-зв'язків між –ОН групами ПЗ та протоно-акцепторними групами ДБК<sub>ПКЛ</sub> перевіряли методом FTIR спектроскопії (розділ 2.10). Результати вимірювання спектрів та їх перерахунку за методом “базової лінії” у найважливіших

областях наведено на рис. 5.13. Всі спектри були інтерпретовані згідно літературних даних [232, 281]. У FTIR спектрі ДБК<sub>ПКЛ2</sub> проявлялись дві інтенсивні смуги  $\nu_{C=O}$  коливань, що перекривались, при  $\sim 1735$  та  $1724$   $\text{cm}^{-1}$  (у плівках) та  $1726$   $\text{cm}^{-1}$  (у KBr), які були характерними для естерних груп ПКЛ і знаходились в його аморфних та кристалічних областях, відповідно (рис. 5.13 а, в, криві 1).

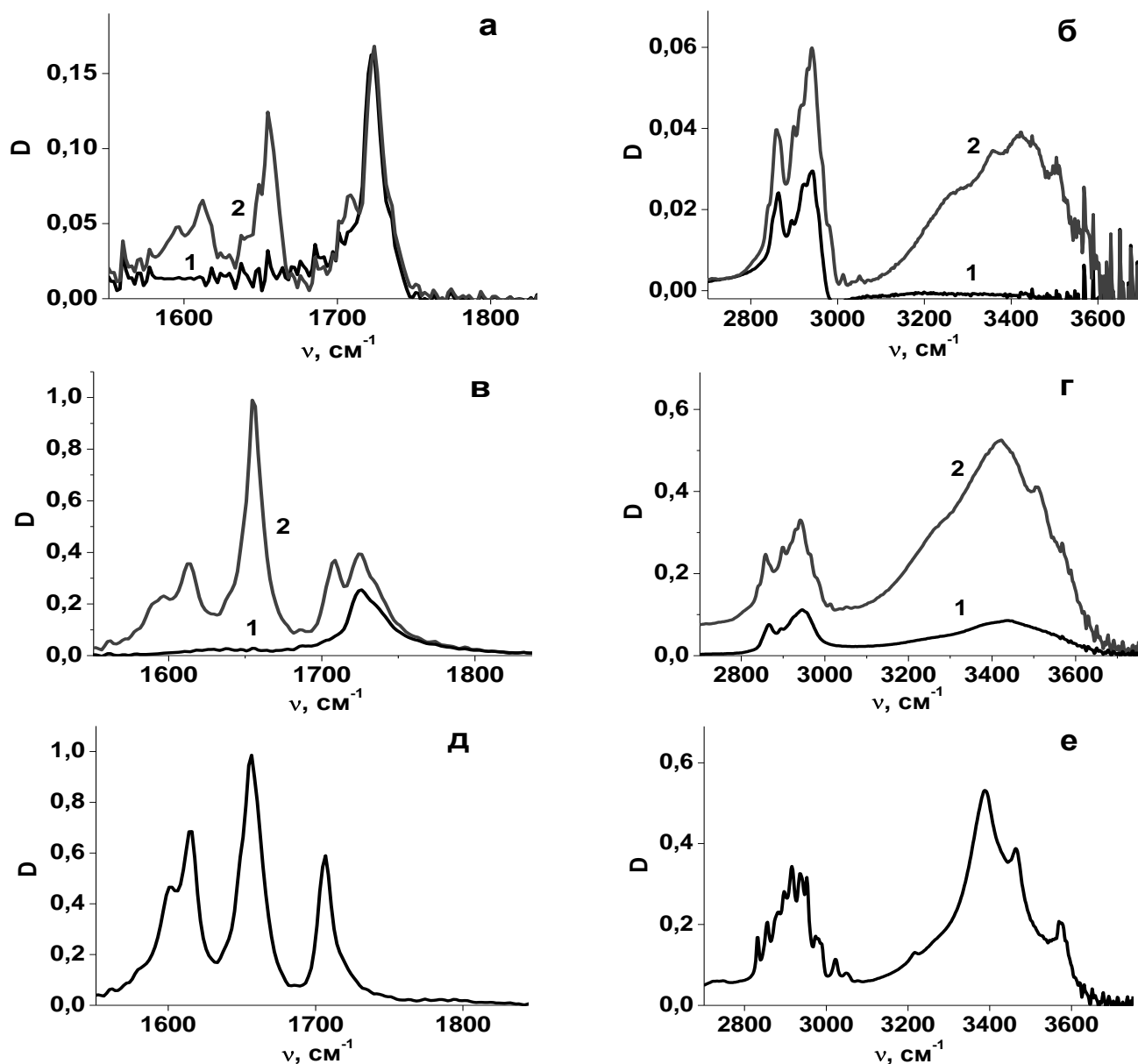


Рис. 5.13. FTIR спектри: ДБК<sub>ПКЛ2</sub> –1 і суміші ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ2</sub> –2 у вигляді тонких плівок (1~4-5 мкм) (а, б) та таблеток з KBr (в, г), а також комерційного ПЗ у KBr (д, е) в областях  $\nu_{C=C}$  і  $\nu_{C=O}$  коливань (а, в, д) та  $\nu_{C-H}$  і  $\nu_{O-H}$  коливань (б, г, е).  $T=20$  °С.

В іншій області спектрів (рис. 5.13 б, г, криві 1) спостерігались смуги  $\nu_{C-H}$  коливань вуглеводневого скелету обох блоків ДБК<sub>ПКЛ2</sub>. Крім того, спектр ДБК<sub>ПКЛ2</sub> у KBr демонстрував також широкую смугу  $\nu_{O-H}$  коливань при  $3437$   $\text{cm}^{-1}$  (рис. 5.13 г,

крива 1), яку можна віднести до Н-зв'язаних кінцевих гідроксильних груп ПКЛ та/чи кількох молекул води. Слід відзначити, що ця смуга була практично відсутня у випадку ретельно висушеної тонкої плівки ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 (рис. 5.13 б, крива 1).

Спектр кристалічного ПЗ в КВг (рис. 5.13 д, е) містив смуги  $\nu_{C=O}$  коливань при 1707 та 1657  $\text{cm}^{-1}$  для вільних та зв'язаних водневими зв'язками карбонільних груп, смуги  $\nu_{asC=C}$  та  $\nu_{sC=C}$  коливань при 1616 та 1602  $\text{cm}^{-1}$  для двох подвійних зв'язків в одному з кілець ПЗ та смуги  $\nu_{O-H}$  коливань при 3575, 3464 та 3388  $\text{cm}^{-1}$  для Н-зв'язаних гідроксильних груп. Як вже зазначалось при розгляді природи зв'язування ПЗ з ТБК<sub>ПАА</sub>, три види різних за енергією водневих зв'язків, що проявлялись у FTIR спектрі ПЗ, виконували роль стабілізаторів його кристалічної структури.

Спектри суміші ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub>2, отримані для тонких плівок (рис. 5.13 а, б, криві 2) та таблеток з КВг (рис. 5.13 в, г, криві 2) не показували помітних змін в позиціях смуг  $\nu_{C=O}$  та  $\nu_{C=C}$  коливань порівняно зі спектрами чистих компонентів (рис. 5.13 а, в), що не дозволяло надійно підтвердити наявність Н-зв'язків між ПЗ і ДБК<sub>ПКЛ</sub>. Це було пов'язано з сильним перекриттям зазначених вище смуг обох компонентів. В той же час, в області  $\nu_{O-H}$  коливань (рис. 5.13 б, г) було виявлено два важливих ефекти. Перший полягав в суттєвому високочастотному зсуві (на 33 та 40  $\text{cm}^{-1}$ ) смуг  $\nu_{O-H}$  коливань ПЗ при 3388 і 3464  $\text{cm}^{-1}$ , відповідно, та невеликому (на 7  $\text{cm}^{-1}$ ) низькочастотному зсуві третьої аналогічної смуги ПЗ при 3575  $\text{cm}^{-1}$ . Це свідчило про часткове руйнування вихідної системи Н-зв'язків в кристалічній структурі ПЗ в присутності ДБК<sub>ПКЛ</sub> і могло бути непрямим підтвердженням взаємодії ПЗ з макромолекулами ДБК<sub>ПКЛ</sub>. Проте другий ефект, а саме поява двох нових смуг  $\nu_{O-H}$  коливань при 3284 та 3358  $\text{cm}^{-1}$ , які яскраво проявилися в спектрі тонких плівок суміші ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub>2 (рис. 5.13 б, крива 2), дозволив зробити обґрунтований висновок про наявність Н-зв'язків між ПЗ та ДБК<sub>ПКЛ</sub>. Відомо, що електронно-донорна здатність етерних груп є дещо вищою, ніж естерних груп [282, 283]. З такої точки зору, молекули ПЗ повинні концентруватись переважно в гідрофільній “короні” міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub> утвореній блоками МОПЕО. Однак, з іншої сторони, розвинута гідрофобна частина молекул ПЗ повинна сприяти їх проникненню в гідрофобне міцелярне “ядро” і забезпечувати додатковий ефект стабілізації для всієї міцелярної структури.

Як відзначалося раніше, розроблені в даній роботі міцелярні носії лікарських препаратів, у тому числі на основі ДБК<sub>ПКЛ</sub>, передбачалось випробувати *in vivo* в живих організмах, а отже присутність у міцелярних системах токсичних органічних розчинників, таких як 1,4-діоксан, повинна була бути виключена. Тому подальші дослідження інкапсуляції ПЗ міцелами ДБК<sub>ПКЛ</sub> проводили у водному середовищі після тривалого діалізу водно/діоксанових міцелярних дисперсій кополімерів проти води. Було показано (розділ 4.4), що у водних розчинах ДБК<sub>ПКЛ</sub> існують маленькі міцели класичної сферичної морфології, агрегати малих міцел (розгалужені “ланцюжки”), а також формуються великі сферичні і незвичайні еліпсоїдні та “стрижнеподібні” міцелярні структури, поява яких залежить від часу витримки розчину після діалізу. З урахуванням цього, створення композицій ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ</sub> для відповідних досліджень проводили одразу після завершення діалізу, додаючи, як і раніше, невеликий об’єм етанольного розчину ПЗ до великого об’єму водного розчину кополімерів для забезпечення гомогенного змішування компонентів.

Ступень інкапсуляції преднізолону ( $X_{ПЗ}$ ) міцелами одного зі зразків диблок-кополімерів (ДБК<sub>ПКЛ8</sub>) в середовищі вода/етанол=90,5/9,5 об % визначали методом УФ спектроскопії (розділ 2.12); результати наведені в табл. 5.5. Дані таблиці засвідчили істотне зростання  $X_{ПЗ}$  при збільшенні відносної концентрації лікарської субстанції в системі ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub>. Крім того, значення  $X_{ПЗ}$  в цій системі за  $\phi=0,4$  та  $0,6$  перевищували найбільші значення цього параметру, що були досягнуті у сумішах того ж складу в системі ПЗ/ТБК<sub>ПАА3</sub> (табл. 5.1). Це вказувало на можливо більшу наповненість міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub> даним лікарським препаратом.

Таблиця 5.5

Ступень зв’язування ПЗ міцелами диблок-кополімеру

Система	$C_{ПЗ}$ , кг·м <sup>-3</sup>	$\phi$ , моль <sub>ПЗ</sub> ·осн-моль <sub>ДБК</sub> <sup>-1</sup>	$X_{ПЗ}$ , мас %
ПЗ/ДБК <sub>ПКЛ8</sub>	0,30	0,1	4,0
	1,22	0,4	57,9
	1,82	0,6	72,5

Разом з тим, провести повністю коректне порівняння інкапсулюючої здатності міцел  $TBK_{ПАА}$  та  $ДБК_{ПКЛ}$  по відношенню до даного погано розчинного лікарського препарату при вибраному методі визначення величини  $X_{ПЗ}$  було неможливо. Річ у тім, що методика визначення базувалась на відділенні від розчину лише тієї частини міцел блок-кополімерів, що сильніше зв'язали ПЗ і тому найбільше втратили розчинність у воді. Однак у розчині могли залишитись (і залишались) найбільш дрібні первинні міцели, які при заповненні лікарською субстанцією ще утримувались у воді, і кількість таких міцел повинна була залежати від загальної розчинності конкретного блок-кополімеру у воді. В такому аспекті розчинність  $TBK_{ПАА}$  у воді була набагато вищою за  $ДБК_{ПКЛ}$ , тому більша частина саме його маленьких міцел (МММ) зі зв'язаним ПЗ (порівняно з малими міцелами  $ДБК_{ПКЛ}$ ) повинна була залишитись у розчині при центрифугуванні сумішшю ПЗ/ $TBK_{ПАА}$  і вносити більшу помилку у розрахунок величини  $X_{ПЗ}$ . Одним з підтверджень правомірності такого припущення були, зокрема, дані ДС в табл. 5.3 (за  $\phi=0,195$ ) і ТЕМ на рис. 5.9, а-е (за  $\phi=0,2$ ), які були одержані для суміші ПЗ/ $TBK_{ПАА}$  1 у стані насичення міцел лікарським препаратом і свідчили про наявність великої кількості малих міцел, що знаходились між утвореними цими міцелами великими фрактальними структурами. Таким чином, більш коректним було порівняння значень  $X_{ПЗ}$  в кожному ряду блок-кополімерів, але порівняння цих величин в різних системах було проблематичним.

Дані динамічного світлорозсіювання для системи ПЗ/ $ДБК_{ПКЛ}$  8 були одержані у середовищі вода/етанол=91/9 об % при постійній концентрації  $C_{ДБК} > KKM$  і в області малих відносних концентрацій ПЗ (малих співвідношень  $\phi$ ), де суттєвого помутніння міцелярної системи при додаванні лікарської речовини не спостерігалось (рис. 5.14, табл. 5.6). У такий спосіб одержували відомості про механізм процесу інкапсуляції лікарського препарату міцелами  $ДБК_{ПКЛ}$  8, починаючи з самих ранніх стадій. Важливо відзначити, що всі криві розподілу за розмірами частинок, розраховані для різних  $\phi$  за інтенсивністю розсіювання в межах як моно-, так і полімодального підходів були моноmodalними. Однак, криві

розподілу за розмірами, які були одержані на основі об'єму частинок і давали найбільш об'єктивну інформацію, демонстрували дві моди (два приклади на рис. 5.14 а, б; табл. 5.6), а при найбільшому вмісті ПЗ, навіть, три моди (рис. 5.14 в).

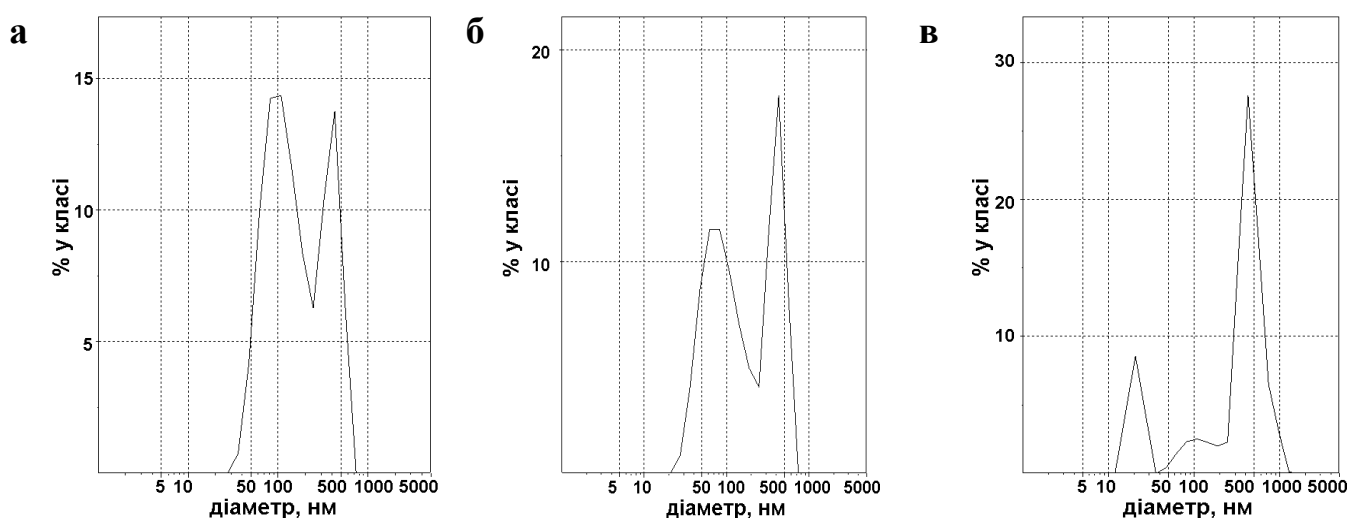


Рис. 5.14. Криві розподілу за розмірами, одержані на основі об'єму частинок, для композицій ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub>.  $C_{\text{ДБК}}=0,24 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $C_{\text{ПЗ}}=0,092$  ( $\varphi=0,08$ ) (а),  $0,274$  ( $\varphi=0,24$ ) (б) та  $0,550 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  ( $\varphi=0,48$ ) (в). Вміст EtOH 9 об %,  $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Необхідно нагадати, що вихідна міцелярна дисперсія ДБК<sub>ПКЛ8</sub> у воді одразу після діалізу містила крім малих первинних міцел та їх невеликих агрегатів (розгалужених “ланцюжків”) також великі сферичні фрактально-організовані міцелярні структури (рис. 4.17 в, д), які проявлялись у вигляді окремої моди на кривих розподілу за розмірами, одержаними на основі об'єму частинок (рис. 4.15 г; верхня частина табл. 5.6). З урахуванням цього факту наявність двох видів розсіюючих частинок в сумішах ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub> в області  $\varphi=0,08-0,4$  можна було однозначно приписати ПЗ-вмісним малим і великим міцелярним структурам ДБК<sub>ПКЛ8</sub> і далі аналізувати зміни в їх розмірах і відносному вмісті в системі в залежності від концентрації лікарського препарату. Як показав такий аналіз, введення навіть найменшої кількості ПЗ у міцелярну дисперсію ДБК<sub>ПКЛ8</sub> (за  $\varphi=0,08$ ) викликало збільшення середнього розміру ( $d_{\text{сер}(v)}$ ) як малих, так і великих міцелярних структур при одночасному збільшенні відносного вмісту останніх в системі (табл. 5.6). Це свідчило про подальший розвиток процесу агрегації в даній системі під впливом взаємодії ПЗ з міцелями ДБК<sub>ПКЛ8</sub> і було обумовлено, очевидно,

тією ж головною причиною, що і специфічна агрегація міцел в системі ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>, а саме: гідрофобізацією ділянок зв'язування молекул ПЗ з ланцюгами МОПЕО в “короні” міцел. Цікаво, що далі при неухильному збільшенні відносної концентрації ПЗ в системі (в області зростання  $\phi$  від 0,08 до 0,4) суттєвих змін у середніх розмірах малих і великих міцелярних структур, а також у їх відносній кількості в розчинах не відбувалось (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив інкапсуляції ПЗ на стан міцелярних структур диблок-кополімерів

Система	$C_{ПЗ},$ кг·м <sup>-3</sup>	$\phi,$ моль·осн-моль <sup>-1</sup>	$d_{сер},$ нм	$d_{сер(i)},$ нм	$d_{сер(v)},$ нм	$X_{(v)},$ %	$d_{сер(n)},$ нм
ДБК <sub>ПКЛ8</sub> <sup>1)</sup>	-	-	113 ± 22	150	49 364	98,1 1,9	27
ПЗ/ДБК <sub>ПКЛ8</sub> <sup>2)</sup>	0,092	0,08	177 ± 19	199	120 391	65,6 34,4	75
	0,183	0,16	159 ± 31	204	116 400	60,4 39,6	72
	0,274	0,24	169 ± 8	207	100 410	59,8 40,2	55
	0,366	0,32	165 ± 13	197	125 382	68,0 32,0	86
	0,458	0,40	165 ± 28	207	97 410	60,8 39,2	53
	0,550	0,48	633 ± 92	333	21 116 478	16,8 10,7 72,5	21

<sup>1)</sup> Водний розчин. <sup>2)</sup> Вміст ЕтОН у воді 9 об %.

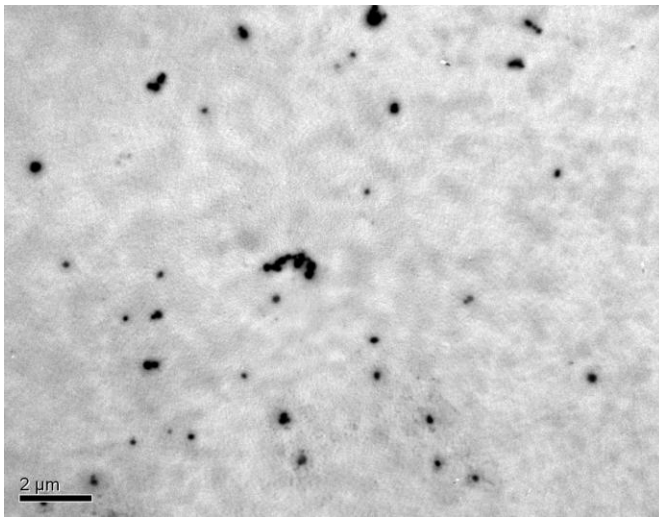
У вказаній області зміни  $\phi$  можна відзначити лише слабку тенденцію до зменшення величини  $d_{сер(v)}$  для малих міцелярних структур (від 120 нм за  $\phi=0,08$  до 97 нм за  $\phi=0,4$ ) і збільшення цієї величини для великих міцелярних структур (від 391 до 410 нм в тій же області зміни  $\phi$ ) при збереженні майже незмінних значень  $X_{(v)}$  для обох видів міцелярних структур. Такий цікавий ефект збереження стану міцелярної системи в широкому інтервалі зміни  $\phi$  (при збільшенні відносної концентрації ПЗ у 5 разів) і в умовах явної відсутності в системі агрегатів чистого ПЗ міг свідчити про поступове все більше заповнення міцел ДБК<sub>ПКЛ8</sub> лікарською субстанцією, яка не залишалась тільки у “короні” міцел, але й проникала далі в їх

“ядро”.

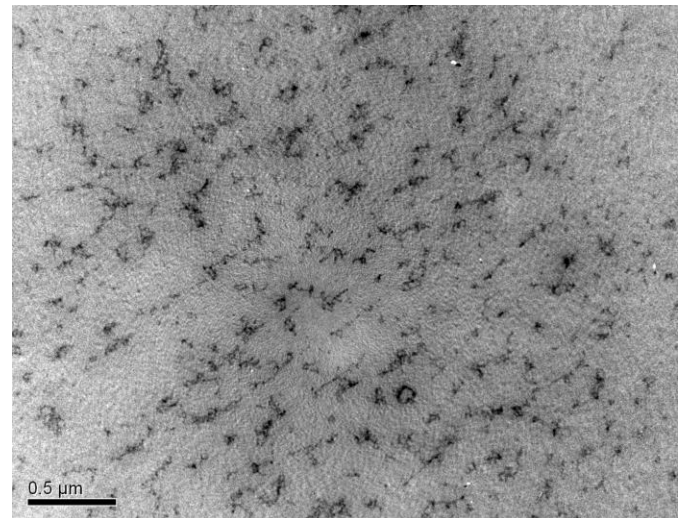
Суттєві зміни в системі ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub> відбувалися за  $\phi=0,48$  (табл. 5.6). Майже у 2 рази збільшувалась загальна інтенсивність світлорозсіювання, крім того, на кривій розподілу за розмірами, одержаній на основі об'єму частинок, проявлялися вже 3 моди (рис. 5.14 **в**), нарешті, різко зростає середній діаметр великих частинок в системі. Всі ці факти вказували на практичне насичення міцелярних структур ДБК<sub>ПКЛ8</sub> молекулами ПЗ за  $\phi=0,4$ . Характерно, що таке значення  $\phi$  було у 2 рази вищим, ніж те, що було визначено для стану насичення міцел молекулами ПЗ в системі ПЗ/ТБК<sub>ПАА1</sub>. Причиною цього ефекту могла бути більша спорідненість молекул ПЗ до гідрофобних блоків ПКЛ, що утворювали “ядро” міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub>.

Дані електронної мікроскопії, отримані для суміші ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub> за  $\phi=0,24$  моль<sub>ПЗ</sub>:осн-моль<sub>ДБК</sub><sup>-1</sup>, підтвердили основні результати і висновки, досягнуті методом ДС (рис. 5.15). На відміну від ТЕМ досліджень суміші ПЗ/ТБК<sub>ПАА1</sub> (розділ 5.1), в цих експериментах використовували значення  $\phi$ , яке згідно даним динамічного світлорозсіювання не відповідало стану міцел, повністю насичених лікарським препаратом. У такий спосіб перевіряли правильність віднесення другої моди на кривих розподілу за розмірами на рис. 5.14 (**а, б**) і в табл. 5.6 саме до великих міцелярних структур диблок-кополімеру, а не до агрегатів чистого ПЗ. І дійсно, як і на оглядовому знімку, одержаному при найменшому збільшенні зображення (рис. 5.15 **а**), так і на знімках, що були одержані при максимальному збільшенні зображення (рис. 5.15 **д, е**), було чітко видно присутність в системі ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub> великих фрактально-організованих міцелярних структур з близькою до сферичної морфологією розміром 130÷450 нм, а також окремих агрегатів таких великих структур. Аналогічно ситуації в розчинах чистого ДБК<sub>ПКЛ8</sub> (рис. 4.17 **в, д**), такі великі міцелярні структури в системі ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub> були результатом подальшої самозбірки агрегатів малих міцел – розгалужених “ланцюжків”, котрі і у випадку суміші з лікарським препаратом були основним компонентом міцелярної системи (рис. 5.15 **б-г**). У повній кореляції з даними ДС мікрофотографії ТЕМ засвідчили також збільшення відносного вмісту великих міцелярних структур в суміші ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub> (рис. 5.15 **а**). Крім того, вони ще раз довели дуже малий розмір ( $\sim 3\div 10$

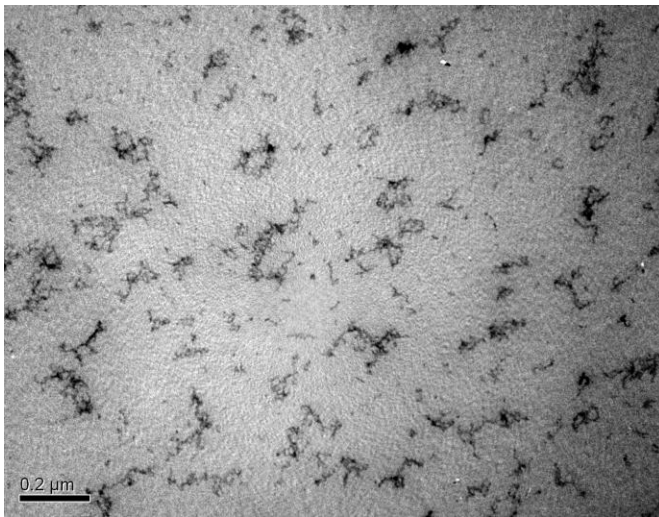
нм за даними рис. 5.15 г) первинних міцел ДБК<sub>ПКЛ8</sub>, що були окремими складовими розгалужених “ланцюжків”, та їх об’єднання за рахунок взаємодії “корон”.



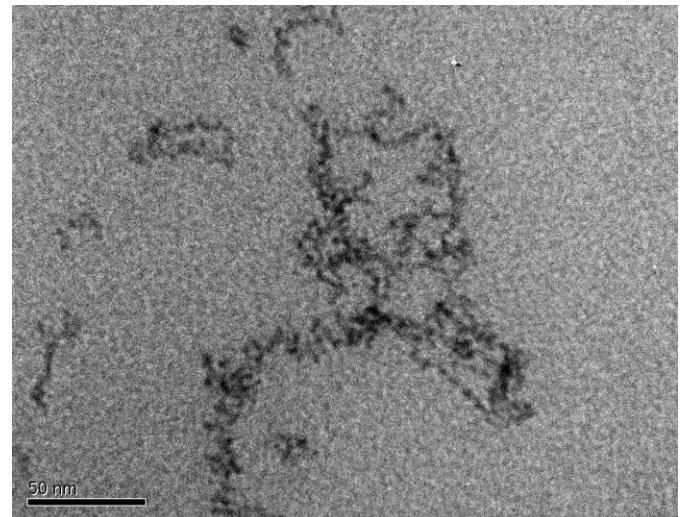
**а**



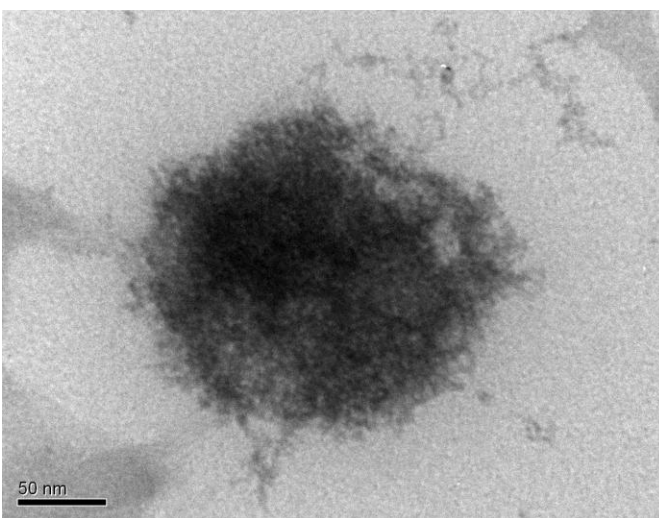
**б**



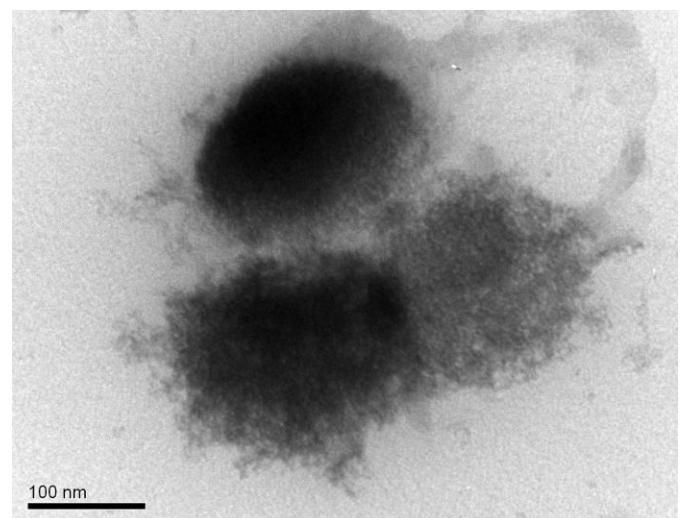
**в**



**г**



**д**



**е**

Рис. 5.15. Електронні мікрофотографії міцелярних структур у водно/етанольній суміші ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub>, одержані на 2-ий день після завершення діалізу, у різних

варіантах збільшення зображення (а-е).  $C=0,3 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ,  $\varphi=0,24 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}-\text{моль}_{\text{ДБК}}^{-1}$ , вміст EtOH 9 об %,  $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

\* \* \* \*

Отже, проведені дослідження дозволили встановити наступні особливості інкапсуляції модельного погано розчинного препарату ПЗ міцелами ТБК<sub>ПАА1</sub> і ДБК<sub>ПКЛ8</sub>, які відносились до різних типів і мали різну будову первинних міцел. В системі ПЗ/ТБК<sub>ПАА1</sub> за малого відносного вмісту препарату ( $\varphi < 0,195 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}-\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$ ) процес інкапсуляції розвивався за рівноважним механізмом завдяки конкуренції з процесом самоагрегації молекул ПЗ. Однак, за  $\varphi = 0,195$  інкапсуляція ставала домінуючим процесом і призводила до повного насичення міцел ТБК<sub>ПАА1</sub> молекулами ПЗ. Показано, що зв'язування лікарського препарату здійснювалось міцелами моно- і полімолекулярного типів (окремими ІнтраПК та “волохатими” міцелами ТБК<sub>ПАА</sub>, відповідно) за рахунок водневих зв'язків та гідрофобних взаємодій і в ньому брали участь як гідроксильні, так і карбонільні групи ПЗ. Найбільшу спорідненість молекули ПЗ мали до блоків ПАА, незв'язані сегменти яких утворювали міцелярну “корону”. Це призводило до накопичення лікарського препарату переважно в “короні” міцел, гідрофобізації їх поверхні і, в результаті, розвитку сильної специфічної агрегації міцел, заповнених ПЗ, своїми “коронами”. Наслідками такої агрегації було спочатку утворення великих фрактально-організованих міцелярних структур, а потім і кристалізація лікарського препарату за участю міцел ТБК<sub>ПАА</sub>. Показана можливість запобігання кристалізації ПЗ в міцелярних наноконтейнерах на основі ТБК<sub>ПАА</sub> за рахунок варіювання їх будови та відносного вмісту лікарської речовини.

Іншим чином відбувався процес інкапсуляції того ж препарату в системі ПЗ/ДБК<sub>ПКЛ8</sub>. В широкій області підвищення вмісту препарату (до  $\varphi \sim 0,4 \text{ моль}_{\text{ПЗ}}\cdot\text{осн}-\text{моль}_{\text{ТБК}}^{-1}$ ) спостерігалось поступове все більше заповнення ним первинних класичних міцел ДБК<sub>ПКЛ8</sub> та їх фрактальних агрегатів в умовах збереження стану міцелярної системи і відсутності в ній асоціатів чистого ПЗ. Процес інкапсуляції здійснювався за рахунок водневих зв'язків (за участю –ОН груп ПЗ) та гідрофобних

взаємодій і завершувався за  $\varphi=0,4$  моль<sub>ПЗ</sub>:осн-моль<sub>ТБК</sub><sup>-1</sup>. Це значення  $\varphi$  відповідало насиченому стану міцел і було вдвічі більше, ніж в системі ПЗ/ТБК<sub>ПАА</sub>1, що вказувало на більшу “ємність” міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub>8 по відношенню до даного препарату.

## РОЗДІЛ 6

### ЕФЕКТИВНІСТЬ МІЦЕЛЯРНИХ НОСІЇВ НА ОСНОВІ БЛОК-КОПОЛІМЕРІВ В ПРОЦЕСАХ ДОСТАВКИ ВІТАМІНУ Е *IN VIVO*

У попередньому розділі було показано ефективність інкапсуляції модельного погано розчинного препарату ПЗ міцелярними структурами двох різних типів, які сформовані триблок-кополімерами ТБК<sub>ПАА</sub> з асиметричними хімічно комплементарними блоками, що здатні утворювати ІнтраПК, та класичними амфифільними диблок-кополімерами ДБК<sub>ПКЛ</sub>. Наступним важливим етапом роботи була перевірка токсичності розроблених міцелярних носіїв та можливості їх використання безпосередньо в живому організмі. Для цього проводили інкапсуляцію в міцели ТБК<sub>ПАА</sub> і ДБК<sub>ПКЛ</sub> іншого погано розчинного препарату –  $\alpha$ -токоферолацетату ( $\alpha$ -ТОКА) (рис. 2.6), який є синтетичним аналогом вітаміну Е. Відомо, що вітамін Е та інші представники групи жиророзчинних вітамінів (такі як вітаміни А, D, К) широко використовують як біологічно активні добавки для стимуляції розвитку і підтримки організму людини, а також при вирощуванні різноманітних тварин: свиней, корів, птиці, риби тощо [284]. Вітамінні добавки покращують стан живого організму, прискорюють його розвиток і підвищують імунітет до хвороб [284]. Тому композиції міцел ТБК<sub>ПАА</sub> і ДБК<sub>ПКЛ</sub> з аналогом одного з цих вітамінів були дуже зручними моделями для проведення біологічних випробувань *in vivo* і тестування можливої токсичної дії розроблених міцелярних наноконтейнерів. Такі дослідження мали і самостійний інтерес, оскільки створення нових засобів доставки жиророзчинних вітамінів в живих організмах є актуальним завданням сучасної біомедицини [285]. Випробування створених міцелярних систем проводили на сімействах білих мишей, але перед цим вивчали інкапсуляцію  $\alpha$ -ТОКА міцелами блок-кополімерів ТБК<sub>ПАА</sub>1 і ДБК<sub>ПКЛ</sub>5.

## 6.1 Інкапсуляція аналогу вітаміну Е міцелами блок-кополімерів

Міцелярні водні розчини ТБК<sub>ПАА1</sub> та ДБК<sub>ПКЛ5</sub> після внесення в них  $\alpha$ -ТОКА в малому об'ємі етанолу (~5 об % від загального об'єму розчину) були стабільними у часі та являли собою опалесцюючі дисперсії. Першими були проведені дослідження тонких плівок сумішей  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА1</sub> та  $\alpha$ -ТОКА/ДБК<sub>ПКЛ5</sub>, відлитих на флюоритових скельцях, методом FTIR спектроскопії, які показали відсутність якихось змін в положеннях характеристичних смуг коливань у порівнянні зі спектрами тонких плівок окремих компонентів. На цій основі було зроблено висновок, що зв'язування  $\alpha$ -ТОКА міцелами обох типів відбувається лише за рахунок гідروفобних взаємодій між розвиненою гідروفобною частиною  $\alpha$ -ТОКА та гідروفобними “ядрами” міцел ТБК<sub>ПАА1</sub> і ДБК<sub>ПКЛ5</sub>.

Далі оцінювали ступень зв'язування  $\alpha$ -ТОКА ( $X_{\alpha\text{-ТОКА}}$ ) міцелами обох типів, використовуючи, як і раніше, метод УФ спектроскопії (розділ 2.12); результати представлені в табл. 6.1.

Таблиця 6.1

Ступень зв'язування  $\alpha$ -ТОКА міцелами блок-кополімерів

Система	$C_{\alpha\text{-ТОКА}}$ , кг·м <sup>-3</sup>	$\varphi$ , моль·осн-моль <sup>-1</sup>	$X_{\alpha\text{-ТОКА}}$ , мас %
$\alpha$ -ТОКА /ТБК <sub>ПАА1</sub>	0,25	0,110	27,9
$\alpha$ -ТОКА /ДБК <sub>ПКЛ5</sub>	0,25	0,125	76,4

Згідно даних таблиці, зв'язувальна здатність міцел ТБК<sub>ПАА1</sub> по відношенню до гідروفобного  $\alpha$ -ТОКА хоча і була достатньо високою, але виявилась нижчою у порівнянні з міцелами ДБК<sub>ПКЛ5</sub>. З одного боку, такий результат не був дивним, враховуючи більшу гідروفобність “ядер” міцел ДБК<sub>ПКЛ5</sub>, сформованих нерозчинними у воді блоками ПКЛ, ніж “ядер” міцел ТБК<sub>ПАА1</sub>, які утворились внаслідок сегрегації гідروفобізованих ділянок зв'язування блоків ПАА і ПЕО. Однак з другого боку, і це відзначалося у розділі 5.2 при обговоренні ефективності зв'язування преднізолону, кількісне порівняння значень ступеню інкапсуляції

препарату, досягнутих в різних міцелярних системах за вибраною методологією, не можна було вважати достатньо коректним внаслідок різної розчинності макромолекул і міцел ТБК<sub>ПАА</sub> і ДБК<sub>ПКЛ</sub> у воді. Зокрема, в міцелярному розчині ТБК<sub>ПАА</sub>1, який мав набагато кращу розчинність у воді, ніж більшість зразків ДБК<sub>ПКЛ</sub> містилась велика кількість міцел мономолекулярного типу малих розмірів (розділ 3.2, табл. 3.5), які навіть в умовах інкапсуляції  $\alpha$ -ТОКА могли утримуватись у розчині і не осідати під дією поля ультрацентрифуги. А це повинно було призводити до завищеної концентрації препарату у супернатантах і, відповідно, заниженого значення  $X_{\alpha\text{-ТОКА}}$  в системі  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА</sub>1.

## **6.2 Вплив міцелярних композицій з аналогом вітаміну Е на процеси метаболізму теплокровних тварин**

Випробування *in vivo* біологічної активності  $\alpha$ -ТОКА в міцелярних носіях на основі ТБК<sub>ПАА</sub>1 і ДБК<sub>ПКЛ</sub>5 проводили на сімействах білих мишей віком 45 днів в лабораторіях Національного університету біоресурсів та природокористування України (НУБіП). Деталі цих експериментів описано у розділі 2.15. Стан мишей, а саме: загальний вигляд, життєдієвість, густину шерстки та приріст ваги тварин контролювали протягом 3-х місяців. Після цього терміну визначали вагу окремих органів тварин, таких як печінка, селезінка, права та ліва нирки, і досліджували комплекс біохімічних показників сироватки крові, зокрема: вміст аланін-амінотрансферази (АлАТ) і аспартатамінотрансферази (АсАТ), коефіцієнт Рігіса (АсАТ/АлАТ), вміст лужної фосфатази (ЛФ), загальний білірубін, загальний білок, а також вміст глюкози, амілази, креатиніну та сечовини. Ці біохімічні показники дозволяли оцінити біологічну дію чистого  $\alpha$ -ТОКА та відповідних міцелярних систем на процеси метаболізму в організмах мишей, а також діяльність печінки, підшлункової залози та нирок. Рух препарату в організмах мишей контролювали за вмістом  $\alpha$ -ТОКА в печінці та м'язах тварин (розділ 2.15).

Загальним позитивним результатом було те, що використання обох міцелярних систем доставки при всіх досліджених концентраціях не призводило до погіршення загального стану тварин та їх активності. Протягом всього часу

випробувань жодна тварина не хворіла і не загинула. Тварини мали добрий апетит і вільне напування досхочу. Вже через місяць від початку досліду у 4-х дослідних групах мишей, що споживали зв'язаний міцелами ТБК<sub>ПАА</sub>1 (1-а та 2-а групи) і ДБК<sub>ПКЛ</sub>5 (3-а і 4-а групи)  $\alpha$ -ТОКА у двох концентраціях для кожної системи, спостерігали відмінності щодо стану шерстного покриву. У дослідних групах шерстка мишей була густа, добре прилягала до тіла, була блискуча і міцно зафіксована в шкірі. У контрольних групах лабораторних тварин, яким не давали препарат (1-а група) або застосовували його дисперсію у воді без міцелярного носія (2-а група), шерстний покрив був дещо тьмянний. Через 3 місяці випробувань в межах експериментальної похибки не було зафіксовано змін у вазі печінки, селезінки та обох нирок тварин при використанні обох досліджених міцелярних композицій. Разом з тим, було встановлено різний вплив міцелярних носіїв на приріст ваги та процеси метаболізму білих мишей.

Розглянемо далі результати, які були одержані при випробуванні міцелярних систем  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА</sub>1 і  $\alpha$ -ТОКА/ДБК<sub>ПКЛ</sub>5. Порівняльні дані щодо приросту ваги тварин під дією чистого аналогу вітаміну Е та міцелярних композицій з двома концентраціями  $\alpha$ -ТОКА представлені в табл. 6.2-6.3. В цілому ці результати зафіксували збільшення середньої маси тварин впродовж 3-ох місяців, проте його величина відрізнялась не тільки по групах мишей, але й по місяцях випробувань.

Таблиця 6.2

Зміна маси мишей під дією чистого  $\alpha$ -ТОКА і міцелярних композицій

Період вимірювань	Середня маса тіла, г					
	Контрольні групи		Дослідні групи			
	1-а	2-а <sup>1)</sup>	1-а <sup>1)</sup>	2-а <sup>2)</sup>	3-а <sup>1)</sup>	4-а <sup>2)</sup>
На початку досліду	23,5 $\pm$ 1,23	24,2 $\pm$ 1,45	26,9 $\pm$ 1,45	26,9 $\pm$ 1,34	24,2 $\pm$ 1,44	24,0 $\pm$ 1,64
Через 1 місяць	26,8 $\pm$ 1,03	30,9 $\pm$ 1,23	33,9 $\pm$ 1,92	32,0 $\pm$ 1,64	28,2 $\pm$ 1,85	27,2 $\pm$ 2,05
Через 2 місяці	28,3 $\pm$ 3,69	34,4 $\pm$ 3,90	34,4 $\pm$ 4,32	30,1 $\pm$ 3,80	27,9 $\pm$ 4,11	27,4 $\pm$ 1,75
Через 3 місяці	30,1 $\pm$ 0,92	35,0 $\pm$ 4,11	36,3 $\pm$ 4,42	31,0 $\pm$ 3,80	29,8 $\pm$ 3,90	28,2 $\pm$ 2,16

$$1) C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,25 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}. \quad 2) C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,01 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}.$$

Зокрема, як свідчать дані табл. 6.3, вплив чистого  $\alpha$ -ТОКА на організм мишей у 2-ій контрольній групі полягав у різкому збільшенні (більш, ніж у 2 рази) приросту їх середньої маси порівняно з тваринами 1-ої групи. Але така ситуація зберігалась лише перші два місяці випробувань. При цьому найбільший абсолютний ефект від застосування чистого аналогу вітаміну Е (приріст середньої маси мишей на 6,7 г) спостерігали в 1-ий місяць експериментів, а далі, на другий місяць, ефект зменшувався майже удвічі. На 3-ій місяць випробувань позитивного ефекту взагалі не було (табл. 6.3). Такий результат свідчив про необхідність чіткого визначення терміну використання вітаміну Е або його аналогів для здійснення позитивного впливу на живий організм (в даному випадку на організм мишей).

Таблиця 6.3

Динаміка приросту маси мишей впродовж трьох місяців випробувань <sup>1)</sup>

Період вимірювань	Збільшення середньої маси тіла, г					
	Контрольні групи		Дослідні групи			
	1-а	2-а	1-а	2-а	3-а	4-а
1-ий місяць	3,3	6,7	7,0	5,1	4,0	3,2
2-ий місяць	1,5	3,5	0,5	0	0	0,2
3-ий місяць	1,8	0,6	1,9	0,9	1,9	0,8
За весь період	6,6	10,8	9,4	6,0	5,9	4,2

<sup>1)</sup> Результати одержані на основі даних табл. 6.2.

Серед досліджених міцелярних композицій найкращі показники приросту маси тварин за обох концентрацій показала система  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА</sub>1 (табл. 6.3). Особливо гарні результати, які перевищили і дію чистого аналогу вітаміну Е, були досягнуті у 1-ий місяць застосування цієї композиції (у 1-ій дослідній групі). На 2-ий місяць відбулось різке падіння приросту маси мишей при використанні обох міцелярних систем, що могло бути пов'язано або з дією якихось зовнішніх чинників, наприклад, зниження температури в кімнаті (бо експерименти проходили взимку), що зменшувало потреби мишей у питній воді, або з адаптацією організмів мишей до

даних міцелярних носіїв. Проте, оскільки впродовж 2-го місяцю досліджень спостерігалось також різке зниження приросту маси мишей і в двох контрольних групах (табл. 6.3), можна було вважати зовнішній чинник основним фактором впливу. На 3-ій місяць ситуація покращилась і обидві міцелярні композиції демонстрували кращі результати приросту маси мишей, ніж були досягнуті у 1-ій і 2-ій контрольних групах (за однакової  $C_{\alpha\text{-ТОКА}}=0,25 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$ ).

Важливо відзначити, що застосування першої міцелярної композиції  $\alpha\text{-ТОКА/ТБК}_{\text{ПАА}1}$  навіть у 25 разів меншої концентрації (у 2-ій дослідній групі) призводило до гарних результатів приросту маси тварин протягом 1-го місяцю випробувань (табл. 6.3). Це показало можливість суттєвого зниження дози  $\alpha\text{-ТОКА}$  (порівняно з чистим препаратом) за рахунок використання даного міцелярного наноносія. Слід звернути увагу також на значно менший позитивний вплив на приріст маси мишей другої міцелярної системи  $\alpha\text{-ТОКА/ДБК}_{\text{ПКЛ}5}$  (у 3-ій і 4-ій групах) навіть у 1-ий місяць її застосування. Цей цікавий факт привів до важливого висновку про міцніше утримування  $\alpha\text{-ТОКА}$  міцелами  $\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}5}$  (у порівнянні з міцелами  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}1}$ ) в процесі їх циркуляції в організмі тварин.

Результати аналізів сироватки крові та маси окремих органів мишей, які були одержані для всіх досліджених груп через 3 місяці, зібрані в табл. 6.4-6.5. Обговоримо їх з точки зору впливу чистого  $\alpha\text{-ТОКА}$  та міцелярних композицій на процеси метаболізму і діяльність внутрішніх органів мишей. Але спочатку коротко зупинимось на значенні окремих біохімічних показників сироватки крові для характеристики роботи певних органів в організмі мишей. Існує декілька біохімічних показників (маркерів), які характеризують роботу печінки та жовчовивідних шляхів: вміст ферментів, таких як АлАТ, АсАТ і ЛФ, а також білка та білірубіна [286]. Головним показником роботи підшлункової залози та її протоків є вміст у сироватці крові ферменту амілази, який виробляється головним чином в клітинах цієї залози [286]. Вміст глюкози є показником вуглеводного обміну в організмі і стану підшлункової залози, в той час як вміст креатиніну і сечовини, які є продуктами обміну білків і виводяться через нирки, вказує на діяльність нирок та сечовивідних протоків [286, 287]. Важливим показником стану організму є також коефіцієнт Рітіса (співвідношення між АсАТ і АлАТ), який у здоровому організмі

складає  $\sim 1,33$ . Згідно даних табл. 6.4, під дією чистого  $\alpha$ -ТОКА з концентрацією  $0,25 \text{ кг}\cdot\text{м}^{-3}$  (у 2-ій контрольній групі) відбувались наступні зміни у біохімічних показниках сироватки крові мишей (порівняно з 1-ою контрольною групою).

Таблиця 6.4

Біохімічні показники сироватки крові мишей через 90 діб застосування  $\alpha$ -ТОКА та міцелярних композицій

Показники	Групи мишей					
	Контрольні		Дослідні			
	1-а	2-а	1-а	2-а	3-я	4-а
АЛТ, Од·дм <sup>-3</sup>	76,0 $\pm$ 0,41	82,0 $\pm$ 1,45	85,0 $\pm$ 1,6	113,7 $\pm$ 0,41	79,3 $\pm$ 2,16	88,3 $\pm$ 2,16
АСТ, Од·дм <sup>-3</sup>	101,1 $\pm$ 12,53	109,2 $\pm$ 1,95	110,0 $\pm$ 5,14	150,4 $\pm$ 8,84	105,9 $\pm$ 8,12	117,5 $\pm$ 14,38
Коефіцієнт Рітіса	1,33	1,33	1,29	1,32	1,33	1,33
ЛФ, Од·дм <sup>-3</sup>	83,5 $\pm$ 5,03	85,3 $\pm$ 3,70	279,0 $\pm$ 3,90	79,5 $\pm$ 0,93	85,0 $\pm$ 2,06	84,7 $\pm$ 5,86
Білірубін, мкмоль·дм <sup>-3</sup>	51,5 $\pm$ 5,45	55,4 $\pm$ 0,31	40,5 $\pm$ 0,10	18,0 $\pm$ 0,21	43,7 $\pm$ 2,88	34,7 $\pm$ 3,49
Загальний білок, г·дм <sup>-3</sup>	56,4 $\pm$ 0,96	58,3 $\pm$ 1,03	63,5 $\pm$ 0,59	52,7 $\pm$ 0,01	56,8 $\pm$ 0,92	54,4 $\pm$ 0,63
Глюкоза, ммоль·дм <sup>-3</sup>	6,5 $\pm$ 0,12	7,8 $\pm$ 0,08	5,9 $\pm$ 0,11	6,8 $\pm$ 0,14	6,7 $\pm$ 0,04	6,8 $\pm$ 0,35
Амілаза, Од·дм <sup>-3</sup>	1385,0 $\pm$ 19,52	1476,7 $\pm$ 10,27	1465,0 $\pm$ 15,41	1485,0 $\pm$ 33,91	1393,0 $\pm$ 10,27	1396,7 $\pm$ 26,71
Креатинін, ммоль·дм <sup>-3</sup>	31,5 $\pm$ 4,01	20,0 $\pm$ 0,41	20,0 $\pm$ 0,21	31,0 $\pm$ 0,21	97,3 $\pm$ 15,82	32,7 $\pm$ 0,31
Сечовина, ммоль·дм <sup>-3</sup>	10,2 $\pm$ 1,22	6,3 $\pm$ 0,23	6,4 $\pm$ 0,04	8,0 $\pm$ 0,14	25,2 $\pm$ 3,37	23,8 $\pm$ 4,03

Спостерігалось, перш за все, незначне зростання показників АлАТ, АсАТ, ЛФ, білірубіну та загального білка, але тільки для першого з них (АлАТ) величина зростання (7,9 %) виходила за межі експериментальної похибки. Одночасно, за межами похибки було збільшення у сироватці крові вмісту глюкози та амілази (відповідно, на 20,5 і 6,6 %) і зменшення вмісту креатиніну та сечовини (на 36,5 і 37,6 %). Разом з тим, коефіцієнт Рітіса зберігав постійне значення 1,33 (табл. 6.4). Аналіз сукупності напрямків і величин цих змін в даній серії випробувань вказував

на певну інтенсифікацію обмінних процесів в організмі тварин, зокрема, в печінці та підшлунковій залозі під впливом добавок чистого  $\alpha$ -ТОКА.

Таблиця 6.5

Маса органів мишей через 90 діб застосування  $\alpha$ -ТОКА та міцелярних композицій

Орган	Маса, г					
	Контрольні групи		Дослідні групи			
	1-а	2-а	1-а	2-а	3-я	4-а
Печінка	1,83 $\pm$ 0,13	1,95 $\pm$ 0,09	2,06 $\pm$ 0,06	1,65 $\pm$ 0,06	1,85 $\pm$ 0,07	1,51 $\pm$ 0,12
Селезінка	0,20 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,03	0,22 $\pm$ 0,10
Права нирка	0,24 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,02
Ліва нирка	0,24 $\pm$ 0,02	0,28 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01	0,22 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,01

Проаналізуємо тепер зміни у біохімічних показниках сироватки крові мишей при застосуванні міцелярної композиції  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА1</sub> з найбільшою концентрацією препарату (у 1-ій дослідній групі). В цьому випадку спостерігалось: незначне збільшення показників АлАТ і АсАТ порівняно з 2-ю контрольною групою (на 3,6 і 0,7 %), яке тим не менш не виходило за межі похибки, також різке зростання (у 3,3 рази) вмісту ЛФ, зниження на 26,9 % вмісту білірубіну, зростання на 8,9 % загального білка і зниження на 24,4 % вмісту глюкози. Вміст амілази, креатиніну та сечовини у порівнянні з 2-ю контрольною групою не змінювався (табл. 6.4). Описані зміни біохімічних показників сироватки крові разом з певною тенденцією до підвищення маси печінки (табл. 6.5) свідчили про невелике подразнення печінки мишей при тривалому застосуванні міцелярної системи  $\alpha$ -ТОКА/ТБК<sub>ПАА1</sub>. Це узгоджувалось з даними про накопичення саме в печінці тварин 1-ої дослідної групи аналогу вітаміну Е, які були отримані за допомогою окремих тестів. Разом з тим, було очевидно, що міцелярні носії на основі ТБК<sub>ПАА1</sub> не були токсичними, а їх навіть тримісячне використання для доставки аналогу вітаміну Е не створювало ніяких серйозних наслідків для організмів мишей.

У разі застосування міцелярної композиції  $\alpha$ -ТОКА/ДБК<sub>ПКЛ5</sub> з високою концентрацією препарату (3-я дослідна група) більшість біохімічних показників, таких як АлАТ, АсАТ, ЛФ, вміст білірубіну, загального білка, глюкози та амілази практично співпадали з аналогічними показниками для 1-ої контрольної групи. Різниця полягала лише в суттєвому збільшенні вмісту креатиніну та сечовини (у 3,1 і 2,5 рази, відповідно), що вказувало на певні розлади в роботі нирок та/або сечовивідних протоків мишей [286, 287] при тривалому застосуванні даної міцелярної системи. Важливим доповненням такої картини були дані про накопичення  $\alpha$ -ТОКА в цьому випадку переважно у м'язах тварин. Ці результати довели, по-перше, раніше зроблене припущення про міцніше утримування молекул  $\alpha$ -ТОКА в міцелярних наноконтейнерах на основі ДБК<sub>ПКЛ5</sub>, по-друге, нетоксичність даного міцелярного носія і, по-третє, засвідчили його циркуляцію разом з  $\alpha$ -ТОКА по всьому організму мишей. Останній аспект є дуже важливим і свідчить про успішне подолання міцелярною системою  $\alpha$ -ТОКА/ДБК<sub>ПКЛ5</sub> бар'єру ретикулоендотеліальної системи організму мишей. Детальніше цей аспект обговорено у наступному розділі.

Результати проведених біологічних досліджень були підтверджені офіційним актом випробувань (Додаток).

### **6.3 Перспективи практичного використання розроблених міцелярних наноконтейнерів**

Сьогодні створення і успішне застосування носіїв для доставки ліків неможливо без врахування не тільки властивостей самого препарату: хімічної природи і молекулярної будови, розчинності, токсичності, прогнозованої біологічної дії, але й конкретного способу введення носія разом з препаратом в живий організм [288]: перорального, через шлунково-кишковий тракт, або парентерального, тобто будь-якого іншого за виключенням системи травлення. Під останнім способом розуміють головним чином введення ліків через кровоносну систему під виглядом ін'єкцій та інфузій [288], хоча в більш широкому аспекті парентеральний спосіб включає також введення ліків через шкіру (креми, гелі, пластирі), різні порожнини тіла, наприклад,

дихальні шляхи (інгаляції), а також шляхом імплантацій (тверді, гелеві та плівкові матеріали) [288]. Розглянемо з такої точки зору можливості двох різних видів носіїв на основі ТБК<sub>ПАА</sub> і ДБК<sub>ПКЛ</sub> щодо доставки ліків у взаємозв'язку зі способами їх введення в живий організм.

Пероральний шлях введення терапевтичних агентів є найбільш легким і природним для організму, особливо при лікуванні хронічних захворювань [203]. Разом з тим, гастроентерологічний тракт (ГЕТ) містить ряд бар'єрів для ліків, починаючи від морфологічних (наявність слизового шару муцину, кишкових мікроборсинок тощо) до суто фізіологічних факторів (широка область рН, висока активність ферментів, специфічні механізми транспорту через шар епітелію та інші), що сприяє обмеженню їх ентероабсорбції. Транспорт лікарської речовини через шар епітелію кишкового є складним процесом, який включає три механізми [203]: 1) пасивну дифузію малих гідрофільних молекул у каналах між сусідніми клітинами епітелію, 2) пасивну дифузію гідрофобних молекул через ліпідний бішар клітин і області, де знаходяться зв'язані з ним білки, та 3) обумовлений рецепторами трансцитоз лікарських речовин через клітини епітелію при наявності у ліків відповідних лігандів. У разі успішного проходження ГЕТ і високої ентероабсорбції лікарська речовина в чистому вигляді або в композиції з наноносієм попадає у кровоносну систему, яка транспортує її в різні органи і тканини організму за умови подолання бар'єру ретикулоендотеліальної системи (РЕС) [275, 288] та гемато-енцефалічного бар'єру (ГЕБ), який є кордоном на шляху проникнення лікарських речовин у мозок [289, 290].

На базі багатьох досліджень були сформульовані головні вимоги до носіїв для забезпечення ефективної доставки ліків пероральним методом [203, 288, 291]. Серед них: малий розмір частинок (<50 нм), гідрофільна поверхня, стабільність носіїв у ГЕТ в широкій області рН для захисту інкапсульованих ліків від біодеградації, а також наявність на поверхні носіїв певних хімічних груп, які покращують мукоадгезію та переніс ліків через епітелій кишкового.

За парентеральним (довенним) способом введення чистий лікарський препарат або препарат з носієм відразу попадають у кров'яне русло, де на них чекає, як відзначалося вище, бар'єр РЕС печінки та селезінки [275, 288]. Він представляє

систему самоочищення крові організмом, головними складовими якої є процеси опсонізації та фагоцитозу [292]. Окремі білки плазми крові (опсоніни) пізнають чужорідні об'єкти (бактерії, віруси та інші нано/мікрочастинки) у крові завдяки гідрофобним та/або електростатичним взаємодіям, приєднуються до них і далі виконують роль “векторів” для легкого захоплення і можливої деградації цих об'єктів спеціальними клітинами – макрофагами. Головними факторами, які пришвидшують пізнання чужорідних об'єктів опсонінами, є великий розмір частинок (>200 нм) і наявність гідрофобних і/або заряджених ділянок на їх поверхні [293]. Таким чином, з точки зору парентерального (довенного) способу введення ліків в живий організм найбільш перспективними наноносіями для подолання бар'єру РЕС є ті, які мають гідрофільну але незаряджену поверхню і розмір не більше 100-150 нм [288, 293].

Більш складним є гемато-енцефалічний бар'єр, який існує в судинах головного мозку і поєднує функції фізичного, транспортного, ферментативного та імунного бар'єрів [289, 290]. Тому розробка наноносіїв для транспортування ліків у мозок складає окрему сферу досліджень в області доставки. Можна лише відзначити, що для подолання ГЕБ розмір носіїв повинен бути значно <100 нм і вони повинні мати відповідні “вектори” на їх поверхні [289, 294].

Міцелярні водні дисперсії ТБК<sub>ПАА</sub> і ДБК<sub>ПКЛ</sub>, що були використані нами для інкапсуляції і доставки *in vivo* аналогу вітаміну Е, містили переважну кількість малих міцел: МММ розміром 28 нм у випадку ТБК<sub>ПАА</sub>1 (табл. 3.5) та “первинних міцел” розміром 47 нм у випадку ДБК<sub>ПКЛ</sub>5 (табл. 4.5). Ці міцели мали гідрофільну незаряджену “корону” різної хімічної природи і були нечутливі до зміни рН середовища, оскільки обидва блок-кополімери не містили в своєму складі іоногенних груп. Крім того, хоча вихідні блок-кополімери включали біодеградабельні блоки ПЕО і ПКЛ, проте для їх деградації у складі міцел в середовищі живого організму необхідний достатньо тривалий час [295]. Таким чином, згідно з описаними вище критеріями і з урахуванням високого ступеню інкапсуляції  $\alpha$ -ТОКА, обидва типи малих міцел могли успішно застосовуватись для доставки цього препарату як пероральним, так і парентеральним (довенним) способом. Разом з тим, водні дисперсії ТБК<sub>ПАА</sub>1 і ДБК<sub>ПКЛ</sub>5 містили крім окремих

малих міцел також певну кількість великих міцелярних структур, таких як ПММ у випадку триблок-кополімеру (табл. 3.5) і агрегати малих міцел (“розгалужені ланцюжки”) у випадку диблок-кополімеру (табл. 4.5). Це робило пероральний шлях введення міцелярних композицій з  $\alpha$ -ТОКА в організм мишей (через питну воду) найбільш прийнятним, оскільки позбавляло великі міцелярні структури можливості проникати у кров.

Порівняємо тепер функціональні властивості і пов’язані з ними перспективи застосування двох різних типів міцелярних носіїв, які проявилися в ході досліджень та практичних випробувань *in vivo*.

- Міцелярні носії на основі асиметричних ТБК<sub>ПАА</sub>, що містять гідрофільні хімічно комплементарні компоненти, легко отримати шляхом розчинення триблок-кополімерів у воді. На відміну від цього, одержання міцел амфифільних ДБК<sub>ПКЛ</sub> у воді потребує достатньо тривалої процедури від формування міцел у водно/органічному середовищі до повного видалення органічного розчинника методом діалізу.

- Міцелярні водні розчини ТБК<sub>ПАА</sub> є стабільними у часі (принаймні протягом місяця), в той час як у водних дисперсіях ДБК<sub>ПКЛ</sub> після закінчення діалізу швидко розвиваються процеси агрегації малих міцел з утворенням великих фрактально-організованих структур. Це регламентує необхідність використання термодинамічно нестабільних міцелярних дисперсій ДБК<sub>ПКЛ</sub> для інкапсуляції і доставки лікарських препаратів відразу після їх приготування.

- Гідрофобне “ядро” міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub>5 сильніше утримувало погано розчинний препарат  $\alpha$ -ТОКА при транспортуванні в організмах мишей і це різко знижувало ефективність його пасивної доставки. Можна передбачати, що при зменшенні довжини гідрофобного блоку ПКЛ ситуація з виділенням в організмі цього препарату буде покращуватись. Проте, за умови створення на цих міцелях відповідних “векторів”, явище сильного утримування погано розчинних препаратів може бути використано для досягнення конкретних цілей активної (адресної, внутріклітинної або обумовленої рецепторами) доставки. В такому випадку вивільнення препаратів буде відбуватись лише після інтерналізації в певні клітини організму завдяки біодеградації міцелярного наноносія. На відміну від цього, міцели

ТБК<sub>ПАА</sub>1 продемонстрували гарну “віддачу” інкапсульованого  $\alpha$ -ТОКА в організмах мишей, що відкрило перспективу суттєвого зниження дози вітаміну Е та його аналогів без втрати їх активності при застосуванні таких міцелярних систем як біологічно-активних добавок.

- Міцели ДБК<sub>ПКЛ</sub> з “корonoю” із блоків МОПЕО легше долали бар’єр РЕС в організмах мишей, ніж міцели ТБК<sub>ПАА</sub> з “корonoю” із вільних сегментів ПАА. Про це свідчили, зокрема, різні “кінцеві пункти” накопичення доставленого аналогу вітаміну Е, а саме: м’язи та печінка мишей за використання як носіїв міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub>5 і ТБК<sub>ПАА</sub>1, відповідно. Такий результат, з одного боку, підтвердив відомі літературні дані щодо “невидимості” для РЕС наноструктур, вкритих шарами ПЕО [288, 296], а з другого боку, вказав шлях можливого удосконалення (в указаному аспекті) структури міцел ТБК<sub>ПАА</sub>. Дійсно, таке удосконалення може полягати у синтезі аналогічних асиметричних триблок-кополімерів ПАА-*b*-ПЕО-*b*-ПАА, в яких центральний блок ПЕО буде значно довшим, ніж бічні блоки ПАА, а також асиметричних триблок-кополімерів ПЕО-*b*-ПАА-*b*-ПЕО, в яких довжина бічних блоків ПЕО буде перевершувати довжину блоку ПАА. Міцели обох цих триблок-кополімерів будуть мати у воді стабілізуючу “корону” із надлишкових (незв’язаних) сегментів ПЕО.

- Разом з тим, ефект сильнішого пізнання і затримки міцелярних носіїв на основі ТБК<sub>ПАА</sub> ретикулоендотеліальною системою живого організму, встановлений в процесі випробувань *in vivo*, вже зараз можна успішно використовувати для доставки різноманітних протиракових препаратів в макрофаги, які є, як відомо, першим місцем розташування метастазів різноманітних пухлин [210].

## ВИСНОВКИ

На основі досліджень процесів синтезу, молекулярних параметрів, фізико-хімічних та функціональних властивостей блок-кополімерів за участю (метокси)поліетиленоксиду, полі( $\epsilon$ -капролактону) і поліакриламід у з різною довжиною блоків розроблено нові міцелярні наноконтейнери для інкапсуляції і доставки погано розчинних і токсичних лікарських субстанцій в живих організмах.

1. В процесі радикальної блок-кополімеризації ПАА з ПЕГ, ініційованої у воді іонами  $\text{Ce}^{\text{IV}}$ , виявлено негативний динамічний та структурний матричні ефекти: зниження швидкості блок-кополімеризації порівняно з гомополімеризацією АА і утворення асиметричних триблок-кополімерів  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  з суттєво більшою довжиною бічних блоків навіть за рівної концентрації мономера і ланок ПЕО у реакційній суміші. Причиною цих ефектів є взаємодія зростаючих ланцюгів ПАА з хімічно комплементарними матрицями – блоками ПЕО за рахунок системи Н-зв'язків.

2. Шляхом удосконалення методології аніонної з розкриттям циклу блок-кополімеризації ПКЛ з (МО)ПЕО з використанням станум октоату як ініціатору синтезовано три серії амфіфільних диблок- та триблок-кополімерів  $\text{ДБК}_{\text{ПКЛ}}$  і  $\text{ТБК}_{\text{ПКЛ}}$  зі змінною довжиною гідрофільного і гідрофобного блоків.

3. Асиметричні  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  формували у воді мономолекулярні міцели (індивідуальні ІнтраПК) та полімолекулярні “волохаті” міцели, з відносно малим “ядром”, утвореним Н-зв'язаними ділянками ПЕО і ПАА, та розвинутою “коронаю” з надлишкових (незв'язаних) сегментів ПАА. Стабільність “волохатих” міцел зростала при збільшенні довжини ПЕО і ПАА, а морфологія змінювалась від сферичних до незвичайних “кубічних” або “пластинчастих” структур. Показано руйнування “волохатих” міцел при додаванні етанолу до розчинів  $\text{ТБК}_{\text{ПАА}}$  завдяки руйнуванню Н-зв'язків і гідрофобних взаємодій в міцелярному “ядрі” та утворення нових більш стабільних і великих “квіткоподібних” міцел (при вмісті  $\text{EtOH} > 40$  об

%) з “ядром” із нерозчинних блоків ПАА і “короною” із “петель” ПЕО.

4. Блочна структура ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> містила аморфні області та мікрокристалічні домени, сформовані окремо блоками (МО)ПЕО і ПКЛ. При малій довжині обох блоків у ДБК<sub>ПКЛ</sub> ступень їх кристалічності був низьким завдяки ефекту вимушеної сумісності і сильного взаємного впливу на процеси кристалізації. У разі подальшого зростання довжини одного чи обох блоків їх несумісність посилювалась, взаємний вплив на процеси кристалізації зменшувався і ступень кристалічності обох блоків зростав. В структурі ТБК<sub>ПКЛ</sub> показано різке зниження  $X_{кр}$  центрального блоку ПЕО за наявності двох бічних блоків ПКЛ.

5. Амфіфільні кополімери ДБК<sub>ПКЛ</sub> і ТБК<sub>ПКЛ</sub> утворювали у водно/діоксанових розчинах малі класичні і “квіткоподібні” міцели та їх невеликі фрактальні агрегати ланцюжкової або близької до сферичної форми за рахунок взаємодії “корон”. Стабільність та розміри міцел ДБК<sub>ПКЛ</sub> зростали зі збільшенням довжини і ПКЛ, і МОПЕО блоків, які формували, відповідно, “ядро” і “корону” міцел. Найменші розміри і стабільність у водно/діоксанових розчинах мали “квіткоподібні” міцели ТБК<sub>ПКЛ</sub>. У воді агрегація міцел посилювались і це призводило до виникнення великих фрактальних структур сферичної, еліпсоїдної та “стрижнеподібної” форми.

6. Показано, що специфічні міцели ТБК<sub>ПАА</sub> і класичні міцели ДБК<sub>ПКЛ</sub> активно зв'язували модельний препарат ПЗ за рахунок Н-зв'язків та гідрофобних взаємодій. Інкапсуляція ПЗ міцелами ТБК<sub>ПАА</sub>1 в області  $\phi < 0,195$  відбувалась за рівноважним механізмом, але за  $\phi = 0,195$  ставала домінуючим процесом і призводила до насичення міцел молекулами препарату. Результатом цього була сильна агрегація малих міцел, заповнених ПЗ, завдяки взаємодії їх “корон” і поява кристалоподібних, а потім і незвичайних кристалічних структур ПЗ за участю міцел. Встановлена можливість уникнення небажаної кристалізації ПЗ у міцелярних носіях на основі ТБК<sub>ПАА</sub> за рахунок варіювання їх будови та вмісту препарату. Інкапсуляція ПЗ міцелами ДБК<sub>ПКЛ</sub>8 розвивалась як процес послідовного заповнення наноносіїв при збільшенні вмісту препарату і досягала стану насичення міцел за  $\phi = 0,4$ .

7. На основі ТБК<sub>ПАА</sub> і ДБК<sub>ПКЛ</sub> створено нові міцелярні форми ПЗ і аналогу вітаміну Е. Останні при тестуванні *in vivo* на білих мишах довели біосумісність, не

токсичність і перспективність обох видів наноносіїв для виконання різних завдань доставки погано розчинних препаратів. Встановлено сильніше утримування  $\alpha$ -ТОКА міцелами ДБК<sub>ПКЛ</sub> в організмах мишей у порівнянні з міцелами ТБК<sub>ПАА</sub>.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Kim D.K. Nanomedicine for targeted drug delivery / Kim D.K., Dobson J. // *J. Mater. Chem.* – 2009. – V. 19. – P. 6294-6307.  
Wang L. ZnO nanorod gas sensor for ethanol detection / Wang L., Kang Y., Liu X., [et al.] // *Sensors and Actuators B: Chemical.* – 2012. – V. 162. – №. 1. – P. 237–243.
2. Parveen S. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging / Parveen S., Misra R., Sahoo S.K. // *Nanomedicine.* – 2012. – V. 8. – P. 147-166.
3. Ulbrich W. Targeted drug-delivery approaches by nanoparticulate carriers in the therapy of inflammatory diseases / Ulbrich W., Lamprecht A. // *J. R. Soc. Interface.* – 2010. – V. 7. – P. S55-S66.
4. Cho K. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer / Cho K., Wang X., Nie S., [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2008. – V. 14. – P. 1310-1316.
5. Soo P.L. Preparation of block copolymer vesicles in solution / Soo P.L., Eisenberg A. // *J. Polym. Sci. Part B: Polymer Physics.* – 2004. – V. 42. – P. 923-938.
6. Krishnammoorthy S. Nanoscale patterning with block copolymers / Krishnammoorthy S., Hinderling C., Heinzelman H. // *Mater. Today.* – 2006. – V. 9. – P. 40-47.
7. Oh K.T. Micellar formulations for drug delivery based on mixtures of hydrophobic and hydrophilic Pluronic block copolymers / Oh K.T., Bronich T.K., Kabanov A.V. // *J. Control Release.* – 2004. – V. 94. – P. 411-422.
8. Nishiyama N. Nanostructured devices based on block copolymer assemblies for drug delivery: designing structure for enhanced drug function / Nishiyama N., Kataoka K. // *Adv. Polym. Sci.* – 2006. – V. 193. – P. 61-101.
9. *Fundamentals of Controlled/Living Radical Polymerization:* / Tsarevsky N.V. and Sumerlin B.S., editors. Cambridge: - The Royal Society of Chemistry, RSC Polymer Chemistry Series, 2013. – 364 p.

10. Arslan H. Block and graft copolymerization by controlled/living radical polymerization methods. In: Gomes A.D.S., editor. Polymerization. InTech, 2012. p. 279-320.
11. Oishi M., Nagasaki Y. Block copolymer synthesis for nanoscale drug and gene delivery. In: de Villiers M.M., Aramwit P., Kwon G.S., editors. Nanotechnology in Drug Delivery. New York: Springer, 2009. p. 35-67.
12. Ю.П. Гетьманчук Хімія Високомолекулярних Сполук / Ю.П. Гетьманчук, М.М. Братичак; -Львів: Видавництво Національного університету “Львівська політехніка”, 2008. – 459 с.
13. Ю.Д. Семчиков. Высокомолекулярные Соединения / Ю.Д. Семчиков; -Москва: Academia, 2003. 368 с.
14. Mori H. New polymeric architectures with (meth)acrylic acid segments / Mori H., Müller A.H.E. // Prog. Polym. Sci. – 2003. – V. 28. – P.1403-1439.

15. Feldthusen J. Synthesis of Linear and Star-Shaped Block Copolymers of Isobutylene and Methacrylates by Combination of Living Cationic and Anionic Polymerizations / Feldthusen J., Ivan B., Müller A.H.E. // *Macromolecules*. – 1998. – V. 31. – P. 578-585.
16. Tong J.D. Synthesis of Polyisoprene-*b*-Polystyrene Block Copolymers Bearing a Fluorescent Dye at the Junction by the Combination of Living Anionic Polymerization and Atom Transfer Radical Polymerization / Tong J.D., Ni S., Winnik M.A. // *Macromolecules*. – 2000. – V. 33. – P. 1482-1486.
17. Fang Z. Novel block ionomers. I. Synthesis and characterization of polyisobutylene-based block anionomers / Fang Z., Kennedy J.P. // *J. Polym. Sci. Part A : Polymer Chemistry*. – 2002. – V. 40. – P. 3662-3678).
18. Yanjarappa M.J. Recent developments in the synthesis of functional poly(olefin)s / Yanjarappa M.J., Sivaram S. // *Prog. Polym. Sci.* – 2002. – V. 27. – P. 1347-1398.
19. Weimer M. Multifunctional Initiators Containing Orthogonal Sites. One-Pot, One-Step Block Copolymerization by Simultaneous Free Radical and Either Cationic Ring-Opening or Anionic Ring-Opening Polymerization / Weimer M., Scherman O., Sogah D. // *Macromolecules*. – 1998. – V. 31. – P. 8425-8428.
20. Controlled and Living Polymerization. From Mechanisms to Applications: / Müller A.H.E. and Matyjaszewski K., editors. Weinheim: - WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, 2009. – 612 p.
21. Yoshida E. Synthesis of a Well-Defined Polybromostyrene by Living Radical Polymerization with a Nitroxyl Radical / E. Yoshida // *J. Polym. Sci. Part A : Polym. Chem. Ed.* – 1996. – V.34. – P. 2937–2943.
22. Yousi Z. Synthesis of Block Copolymer from Dissimilar Vinyl Monomer by Stable Free Radical Polymerization / Yousi Z., Jian L., Rongchuan Z., [et al.]. // *Macromolecules*. – 2000. – V.33. – P. 4745–4749.
23. Benoit D. Accurate Structural Control and Block Formation in the Living Polymerization of 1,3-Dienes by Nitroxide-Mediated Procedures / Benoit D., Harth E., Fox P., [et al.]. // *Macromolecules*. – 2000. – V. 33. – P. 363-370.
24. Benoit D. Kinetics and Mechanism of Controlled Free-Radical Polymerization of Styrene and *n*-Butyl Acrylate in the Presence of an Acyclic  $\beta$ -Phosphonylated Nitroxide /

- Benoit D., Grimaldi S., Robin S., [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 2000. – V. 122. – P. 5929-5939.
25. Bosman A.W. Controlled free-radical polymerization / Bosman A.W., Frechet J.M.J., Hawker C.J. // Polym. Mater. Sci. Eng. – 2001. – V. 84. – P. 376-381.
26. Britze A. Synthesis of PPP-*b*-PS block copolymers using a combination of Suzuki-polycondensation and nitroxide-mediated radical polymerization / Britze A., Jacob J., Choudhary V., [et al.] // Polymer. – 2010. – V. 51. – P. 5294-5303.
27. Ruehl J. Nitroxide-mediated polymerization to form symmetrical ABA triblock copolymers from a bidirectional alkoxyamine initiator / Ruehl J., Nilsen A., Born S., [et al.] // Polymer. – 2007. – V. 48. – P. 2564-2571.
28. Moad G. Toward living radical polymerization / Moad G., Rizzardo E., Thang S.H. // Acc. Chem. Res. – 2008. – V. 41. – P. 113-1142.
29. Matyjaszewski K. Atom transfer radical polymerization / Matyjaszewski K., Xia J.-H. // Chem. Rev. – 2001. – V. 101. – P. 2921-2990.
30. Braunecker W.A. Recent mechanistic developments in atom transfer radical polymerization / Braunecker W.A., Matyjaszewski K. // J. Mol. Catal. A. Chem. – 2006. – V. 254. – P. 155-164.
31. Singleton D.A. Isotope effects and the mechanism of atom transfer radical polymerization / Singleton D.A., Nowlan D.T., Janed N., Matyjaszewski K. // Macromolecules. – 2003. – V. 36. – P. 8609-8616.
32. Gaynor S. Synthesis Of Well-Defined Polymers By Controlled Radical Polymerization / Gaynor S., Greszta D., Mardare D. [et al.] // Macromolecular Symposia. – 1995. – V.98. – P. 73–89.

33. Can A. Synthesis and MALDI-TOF-MS of PS-PMA and PMA-PS block copolymers / Can A., Altuntas E., Hoogenboom V, Schubert U.S. // *Eur. Polym. J.* – 2010. – V. 46. – P. 1932-1939.
34. Shipp D.A. Synthesis of Acrylate and Methacrylate Block Copolymers Using Atom Transfer Radical Polymerization / Shipp D.A., Wang J.-L. and Matyjaszewski K. // *Macromolecules.* – 1998. – V. 31. – P. 8005-8008.
35. Kotani Y. Living Radical Polymerization of Alkyl Methacrylates with Ruthenium Complex and Synthesis of Their Block Copolymers / Kotani Y., Kato M., Kamigaito M. and Sawamoto M. // *Macromolecules.* – 1996. – V. 29. – P. 6979-6982.
36. Cassebras M. Synthesis of di- and triblock copolymers of styrene and butyl acrylate by controlled atom transfer radical polymerization / Cassebras M., Pascual S., Polton A. [et al.] // *Macromol. Rapid. Commun.* – 1999. – V. 20. – P. 261-264.
37. Zhao Y. The synthesis of modified polyethylene via coordination polymerization followed by ATRP, RAFT, NMRP or ROP / Zhao Y., Wang L., Xiao A., Yu H. // *Prog. Polym. Sci.* – 2010. – V. 35. – P. 1195-1216.
38. Matyjaszewski K. Associative Polymers in Aqueous Media / Matyjaszewski K., Gaynor S.G., Qiu J. [et al.] // ACS. Washington, DC : ACS Symp. Ser. – 2000. – V.765. – P. 52

39. Monteiro M.J. Intermediate Radical Termination as the Mechanism for Retardation in Reversible Addition–Fragmentation Chain Transfer Polymerization / Monteiro M.J., de Brower H. // *Macromolecules*. – 2001. – V. 34. – P. 349-352.
40. Du F.S. An ESR Study of Reversible Addition–Fragmentation Chain Transfer Copolymerization of Styrene and Maleic Anhydride / Du F.S., Zhu M.Q., Guo H.Q., [et al.] // *Macromolecules*. – 2002. – V. 35. – P. 6739-6741.
41. Kubo K. Kinetic study on reversible addition–fragmentation chain transfer (RAFT) process for block and random copolymerizations of styrene and methyl methacrylate / Kubo K., Goto A., Sato K., Kwak Y., Fukuda T. // *Polymer*. – 2005. – V. 46. – P. 9762-9768.
42. Feldermann A. Reversible addition fragmentation chain transfer copolymerization: influence of the RAFT process on the copolymer composition / Feldermann A., Ah Toy A.A., Phan H., [et al.] // *Polymer*. – 2004. – V. 45. – P. 3997-4007.
43. Nguyen M.N. Synthesis of novel random and block copolymers of *tert*-butyldimethylsilyl methacrylate and methyl methacrylate by RAFT polymerization / Nguyen M.N., Bressy C., margailan A. // *Polymer*. – 2009. – V. 50. – P. 3086-3094.
44. Sordi M.L.T. Synthesis of block copolymers based on poly(2,3-epithiopropylmethacrylate) via RAFT polymerization and preliminary investigations on thin film formation / Sordi M.L.T., Riegel I.C., Ceschi M.A., Muller A.H.E., Petzhold C.L. // *Eur. Polym. J.* – 2010. – V. 46. – P. 336-344.
45. Yan J. Association and Aggregation Behavior of Poly(ethylene oxide)-*b*-Poly (*N*-isopropylacrylamide) in Aqueous Solution / Yan J., Ji W., Chen E., Li Z., Liang D. // *Macromolecules*. – 2008. – V. 41. – P. 4908-4913.
46. Lipscomb C.E. Poly(vinyl ester) Block Copolymers Synthesized by Reversible Addition–Fragmentation Chain Transfer Polymerizations / Lipscomb C.E. and Mahanthappa M.K. // *Macromolecules*. – 2009. – V. 42. – P. 4571-4579.
47. Zheng L. Controlled RAFT synthesis of polystyrene-*b*-poly(acrylic acid)-*b*-polystyrene block copolymers and their self-assembly in an ionic liquid [BMIM][PF6] / Zheng L., Chai Y., Zhang P. // *e-Polymers*. – 2011. – V. 11. – P. 436-444.

48. Chan S.-C. Syntheses and characterizations of the multiple morphologies formed by the self-assembly of the semicrystalline P4PVP-*b*-PCL diblock copolymers / Chan S.-C., Kuo S.-W., Lu C.-H., [et al.] // *Polymer*. – 2007. – V. 48. – P. 5059-5068.
49. Chen Y. Synthesis and self-assembly of amphiphilic gradient copolymer via RAFT emulsifier-free emulsion polymerization / Chen Y., Luo W., Wang Y., [et al.] // *J. Colloid and Interface Sci.* – 2012. – V. 369. – P. 46-51.
50. Volpert E. Associating behaviour of polyacrylamides hydrophobically modified with dihexylacrylamide / Volpert E., Selb J., Candau F. // *Polymer*. – 1998. – V. 39. – P. 1025-1033.

51. Candau F. Hydrophobically-modified polyacrylamides prepared by micellar polymerization / Candau F., Selb J. // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 1999. – V. 79. – P. 149-172.
52. Neumann M.G. Copolymers of sodium styrene sulfonate with n-butylvinylether and n-octadecylvinylether prepared by micellar copolymerization / Neumann M.G., de Sena G.L. // *Polymer.* – 1999. – V. 40. – P. 5003-5009.
53. Yahaya G.O. Solution behavior of hydrophobically associating water-soluble block copolymers of acrylamide and N-benzylacrylamide / Yahaya G.O., Ahdab A.A., Ali S.A., [et al.] // *Polymer.* – 2001. – V. 42. – P. 3363-3372.
54. Zhu Z. Hydrophobically modified associating polyacrylamide (HAPAM) synthesized by micellar copolymerization at high monomer concentration / Zhu Z., Paillet O., Desbrieres J., Grassl B. // *Eur. Polym. J.* – 2007. – V. 43. – P. 824-834.
55. Роговина Л.З. Влияние условий синтеза на строение гидрофобно модифицированных полиакриламидов и реологию их растворов и гелей / Роговина Л.З., Васильев В.Г., Чурочкина Н.А., Пряхина Т.А., Хохлов А.Р. // *Высокомолекулярные соединения. Серия А.* – 2004. – Т. 46. - № 4. – С. 644-655.
56. Smith G.L. Water-soluble polymers. 78. Viscosity and NRET fluorescence studies of pH-responsive twin-tailed associative terpolymers based on acrylic acid and methacrylamide / Smith G.L., McCormick C.L. // *Macromolecules.* – 2001. – V. 34. – P. 918-924.
57. Algi M.P. Highly stretchable self-healing poly(N,N-dimethylacrylamide) hydrogels / Algi M.P., Okay O. // *Eur. Polym. J.* – 2014. – V. 59. – P. 113-121.
58. Selen F. Preparation of photodegradable polyacrylamide hydrogels via micellar polymerization and determination of their phototunable elasticity and swelling behaviors / Selen F., Can V., Temel G. // *RSC Advances.* – 2016. – V. 6. – P. 31692-31697.
59. Gouveia L.M. Synthesis and rheological properties of hydrophobically modified polyacrylamides with lateral chains of poly(propylene oxide) oligomers / Gouveia L.M., Grassl B., Müller A.J. // *J. Colloid and Interface Sci.* – 2009. – V. 333. – P. 152-163.

60. Cölfen H. Double-hydrophilic block copolymers: synthesis and application as novel surfactants and crystal growth modifiers / Cölfen H. // *Macromol. Rapid Commun.* – 2001. – V. 22. – P. 219-252.
61. Nagarajan S. Block copolymerization of poly(ethylene glycol) with methacrylate using redox macroinitiators / Nagarajan S., Sabdham K., Srinivasan V. // *Die Angewandte Makromolekulare Chemie.* – 1997. – V. 245. – P. 9-22.
62. Topp M.D.C. Thermosensitive Micelle-Forming Block Copolymers of Poly(ethylene glycol) and Poly(*N*-isopropylacrylamide) / Topp M.D.C., Dijkstra P.J., Talsma H., Feijen J. // *Macromolecules.* – 1997. – V. 30. – P. 8518-8520.
63. Nagarajan S. Synthesis of poly(ethylene glycol) block copolymers by a redox process and their spectral characterization / Nagarajan S., Srinivasan K. // *Macromol. Rapid Commun.* – 1996. – V. 17. – P. 261-267.
64. Nagarajan S. Block copolymerization initiated by Ce(IV)-poly(ethylene glycol) redox system—kinetics and characterization / Nagarajan S., Srinivasan K. // *Eur. Polym. J.* – 1994. – V. 30. – P. 113-119.
65. Yan J. Association and aggregation behavior of poly(ethylene oxide) –*b*-poly(*N*-isopropylacrylamide) in aqueous solution / Yan J., Ji W., Chen E., Li Z. and Liang D. // *Macromolecules.* – 2008. – V. 41. – P. 4908-4913.
66. Cui Q. Novel amphiphilic diblock copolymers bearing acid-labile oxazolidine moieties: synthesis, self-assembly and responsive behavior in aqueous solution / Cui Q., Wu F., Wang E. // *Polymer.* – 2011. – V. 52. – P. 1755-1765.
67. Walther A. Bis-Hydrophilic Block Terpolymers via RAFT Polymerization: Toward Dynamic Micelles with Tunable Corona Properties / Walther A., Millard P.-E., Goldmann A.S., [et al.] // *Macromolecules.* – 2008. – V. 41. – P. 8608-8619.
68. Chong Y.K. A More Versatile Route to Block Copolymers and Other Polymers of Complex Architecture by Living Radical Polymerization: The RAFT Process / Chong Y.K., Le T.P., Moad G., Rizzardo E., Thang S.H. // *Macromolecules.* – 1999. – V. 32. – P. 2071-2074.

69. Vidts K.R.M. Design of water-soluble block copolymers containing poly(4-vinylpyridine) by atom transfer radical polymerization / Vidts K.R.M., Du Prez F.E. // *Eur. Polym. J.* – 2006. – V. 42. – P. 43-50.
70. Vircheva S. Synthesis and characterization of diblock copolymers based on poly(ethylene glycol) and poly(4-vinyl pyridine) via atom transfer radical polymerization / Vircheva S., Bryaskova R., Miloshev S., Dishovsky N. // *J. Chem. Technology and Metallurgy.* – 2015. – V. 50. – № 2. – P. 135-140.
71. Jankova K. Synthesis of Amphiphilic PS-*b*-PEG-*b*-PS by Atom Transfer Radical Polymerization / Jankova K., Chen X., Kops J., Batsberg W. // *Macromolecules.* – 1998. – V. 31. – P. 538-541.
72. Bednarek M. Synthesis of block copolymers by atom transfer radical polymerization of *tert*-butyl acrylate with poly(oxyethylene) macroinitiators / Bednarek M., Biedron T., Kubisa P. // *Macromol. Rapid Commun.* – 1999. – V. 20. – P. 59-65.
73. Krishnan R. Controlled/"living" atom transfer radical polymerization of methyl methacrylate in the synthesis of triblock copolymers from a poly(oxyethylene) macroinitiator / Krishnan R., Sabdham K., Srinivasan V. // *Eur. Polym. J.* – 2003. – V. 39. – P. 205-210.
74. Tang X. Double hydrophilic block copolymers PEO-*b*-PGA: synthesis, application as potential drug carrier and drug release via pH-sensitive linkage / Tang X., Pan C.-Y. // *J. Biomed. Mater. Research Part A* – 2008. – V. 86A. - № 2. – P. 428-438.
75. Garcia M. Water soluble triblock and pentablock poly(methacrylic nucleosides) from copper-mediated living radical polymerization using PEG macroinitiators / Garcia M., Beecham M.P., Kempe K., [et al.] // *Eur. Polym. J.* – 2015. – V. 66. – P. 444-451.
76. Wang L. Synthesis and characterization of macroinitiator –amino terminated PEG and poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamate)-PEO-poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamate) triblock copolymer. / Wang L., Wang S. and Bei J.Z. // *Polym. Adv. Technol.* – 2004. – V. 15. – P. 617-621.
77. Xu F.J. Polymer vectors via controlled/living radical polymerization for gene delivery / Xu F.J., Yang W.T. // *Prog. Polym. Sci.* – 2011. – V. 36. – P. 1099-1131.

78. Lee J. Thermogelling aqueous solutions of alternating multiblock copolymers of poly(l-lactic acid) and poly(ethylene glycol) / Lee J., Bae Y.H., Sohn Y.S. and Jeong B. // *Biomacromolecules*. – 2006. – V. 7. – P. 1729-1734.
79. Nguyen T.B.T. Reverse micelles prepared from amphiphilic polylactide-*b*-poly(ethylene glycol) block copolymers for controlled release of hydrophilic drugs / Nguyen T.B.T., Li S., Deratani A. // *Intern. J. Pharm.* – 2015. – V. 495. – P. 154-161.
80. Danquah M. Self-assembling methoxy(ethylene glycol)-*b*-poly(carbonate-co-L-lactide) block copolymers for drug delivery / Danquah M., Fujiwara T., Mahato R.I. // *Biomaterials* – 2010. – V. 31. – P. 2358-2370.
81. Vangeyte P. Self-Assembly of Poly(ethylene oxide)-*b*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) Copolymers in Aqueous Solution / Vangeyte P., Leyh B., Heinrich M., [et al.] // *langmuir*. – 2004. – V. 20. – P. 8442-8451.
82. Rieger J. Controlled synthesis and interface properties of new amphiphilic PCL-*b*-PEO copolymers / Rieger J., Dubois P., Jerome R. and Jerome C. // *Langmuir*. – 2006. – V. 22. – P. 7471-7479.
83. Azzam T. Monolayer-protected gold nanoparticles by the self-assembly of micellar poly(ethylene oxide)-*b*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) block copolymer / Azzam T. and Eisenberg A. // *Langmuir*. – 2007. – V. 23. – P. 2126-2132.
84. Signori F. New self-assembling biocompatible-biodegradable amphiphilic block copolymers / Signori F., Chiellini F., Solaro R. // *Polymer*. – 2005. – V. 46. – P. 9642-9652.
85. Aliabadi H.M. Micelles of methoxy poly(ethylene oxide)-*b*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) as vehicles for the solubilization and controlled delivery of cyclosporine A / Aliabadi H.M., Mahmud A., Sharifabadi A.D., Lavasanifar A. // *J. Controlled Release*. – 2005. – V. 104. – P. 301-311.
86. Ropson N. Macromolecular engineering of polylactones and polylactides. 20. Effect of monomer, solvent and initiator on the ring-opening polymerization as initiated with aluminium alkoxides / Ropson N., Dubois P., Jerome R., Teyssie P. // *Macromolecules* – 1995. – V. 28. – P. 7589-7598.

87. Kricheldorf H.R. The reactivity of cyclic and noncyclic dibutyltin bisalkoxides as initiators in the polymerization of lactones / Kricheldorf H.R., Stricker A., Langake D. // *Macromol. Chem. Phys.* – 2001. – V. 202. – P. 2525-2534.
88. Kricheldorf H.R. Biodegradable polymers with variable architectures via ring-expansion polymerization / Kricheldorf H.R. // *J. Polym. Sci. Part A: Polymer Chemistry* – 2004. – V. 42. – P. 4723-4742.
89. Kowalski A. Kinetics and mechanism of cyclic esters polymerization initiated with tin(II) octoate. 1. Polymerization of  $\epsilon$ -caprolactone / Kowalski A., Duda A., Penczek S. // *Macromol. Rapid Commun.* – 1998. – V. 19. – P. 567-572.
90. Kowalski A. Kinetics and mechanism of cyclic esters polymerization initiated with tin(II) octoate. 3. Polymerization of L,L-dilactide / Kowalski A., Duda A., Penczek S. // *Macromolecules.* – 2000. – V. 33. – P. 7359-7370.
91. Kricheldorf H.R. Polylactones 48. SnOct<sub>2</sub>-initiated polymerization of lactide: a mechanistic study / Kricheldorf H.R., Kreiser-Saunders I. and Stricker A. // *Macromolecules.* – 2000. – V. 33. – P. 702-709.
92. Polowinski S. Template polymerization and co-polymerization / Polowinski S. // *Prog. Polym. Sci.* – 2002. – V. 27. – P. 537-577.
93. Загданская Н.Е. Исследования кинетики привитой полимеризации полиакриламида к поливинилового спирту / Загданская Н.Е., Желтоножская Т.Б., Сыромятников В.Г. // *Вопросы химии и химической технологии.* – 2002. - №3. – С. 53-58.
94. Permyakova N. Double-hydrophilic block copolymers forming intramolecular polycomplexes / Permyakova N., Zheltonozhskaya T. and Oboznova N. // *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* – 2008. – V. 497. – P. 639-647.
95. I. Hamley. *The Physics of Block Copolymers* / I.Hamley; – Oxford : – Oxford University Press., 1998. – 424 p.
96. I. Hamley. *Crystallization in Block Copolymers* / I.Hamley; – Berlin : – Springer-Verlag, *Adv. In Polym. Sci.*, 1999. – 220 p.
97. Riess G. Micellization of block copolymers / Riess G. // *Prog. Polym. Sci.* – 2003. – V. 28. – P. 1107-1170.

98. Jiang S. Crystallization and ring-banded spherulite morphology of poly(ethylene oxide)-*b*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) diblock copolymer / Jiang S., He C., An L., [et al.] // *Macromol. Chem. Phys.* – 2004. – V. 205. – P. 2229-2234.
99. Rashkov I. Synthesis, characterization and hydrolytic degradation of PLA/PEO/PLA triblock copolymers with short poly(L-lactic acid) chains / Rashkov I., Manolova N., Li S.M., [et al.] // *macromolecules.* – 1996. – V. 29. – P. 50-56.
100. Берштейн В.А. Дифференциальная сканирующая калориметрия в физикохимии полимеров / Берштейн В.А., Егоров В.М.; - Ленинград: - “Химия”, 1990. – 256 с.
101. Hamley I. Introduction to block copolymers. In: Hamley I., editor. *Developments in block copolymer science and technology.* Chichester: John Wiley & Sons; 2004. p. 1-29.
102. Haiduk D.A. The Gyroid: A New Equilibrium Morphology in Weakly Segregated Diblock Copolymers / Haiduk D.A., Harper P.E., Gruner S.M., [et al.] // *Macromolecules.* – 1994. – V. 27. – P. 4063-4075.
103. Matsen M.W. Block copolymer microstructures in the intermediate-segregation regime / Matsen M.W. and Bates F.S. // *J. Chem. Phys.* – 1997. – V. 106. – P. 2436-2448.
104. Hamley I. Small-angle scattering of block copolymers in the melt, solution and crystal states / Hamley I., Castelletto V. // *Prog. Polym. Sci.* – 2004. – V. 29. – P. 909-948.
105. Sun J. Study on crystalline morphology of poly(L-lactide)-poly(ethylene glycol) diblock copolymer / Sun J., Hong Z., Yang L., [et al.] // *Polymer.* – 2004. – V. 45. – P. 5969-5977.
106. Mothe C.G. Phase behavior of biodegradable amphiphilic poly(L, L-lactide)-*b*-poly(ethylene glycol)-*b*-poly(L, L-lactide). / Mothe C.G., Drumond W.S., Wang S.H. // *Thermochim. Acta.* – 2006. – V. 445. – P. 61-66.
107. Müller A.J. Nucleation and crystallization in diblock and triblock copolymers // Müller A.J., Balsamo V., Arnal M.L. // *Adv. Polym. Sci.* – 2005. – V. 190. – P. 1-63.
108. Floudas G. Crystallization kinetics of poly(ethylene oxide) in poly(ethylene oxide)-polyesterene- poly(ethylene oxide) triblock copolymers / Floudas G., Tsitsilianis C. // *Macromolecules.* – 1997. – V. 30. – P. 4381-4390.
109. Richardson P.H. Differential scanning calorimetry and optical microscopy investigations of the isothermal crystallization of a poly(ethylene oxide)-poly(methyl

- methacrylate) block copolymer / Richardson P.H., Richards R.W., Blundell G.J., [et al.] // *Polymer*. – 1995. – V. 36. – P. 3059-3069.
110. Quiram D.J. Dynamics of Structure Formation and Crystallization in Asymmetric Diblock Copolymers / Quiram D.J., Register R.A., Marchand G.R., Ryan A.J. // *Macromolecules*. – 1997. – V. 30. – P. 8338-8343.
111. Loo Y.L. Polymer crystallization confined in one, two or three dimensions / Loo Y.L., Register R.A., Ryan A.J., Dee G.T. // *Macromolecules*. – 2001. – V. 34. – P. 8968-8977.
112. Shiomi T. Crystallization of semicrystalline block copolymers containing a glass amorphous component / Shiomi T., Tsukada H., Takeshita H., [et al.] // *Polymer*. – 2001. – V. 42. – P. 4997-5004.
113. Vasilev C. Crystallization of block copolymers in restricted cylindrical geometries / Vasilev C., Reiter G., Pispas S., Hadjichristidis N. // *Polymer*. – 2006. – V. 47. – P. 330-340.
114. Sun Y. Crystal orientation within lamellae-forming block copolymers of semicrystalline poly(4-vinylpyridine)-*b*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) / Sun Y., Chung T., Li Y., [et al.] // *Macromolecules*. – 2007. – V. 40. – P. 6778-6781.
115. Chung T. Polymeric crystallization under nanoscale 2D spatial confinement / Chung T., Wang T., Ho R., Sun Y., Ko B. // *Macromolecules*. – 2010. – V. 43. – P. 6237-6240.
116. Zhu L. Initial-stage growth controlled crystal orientations in nanoconfined lamellae of a self-assembled crystalline-amorphous diblock copolymer / Zhu L., Calhoun B.H., Ge Q., [et al.] // *Macromolecules*. – 2001. – V. 34. – P. 1244-1251.
117. Zhang F. Boundary Effect of Relief Structure on Crystallization of Diblock Copolymer in Thin Films / Zhang F., Chen Y., Huang H., [et al.] // *Langmuir*. – 2003. – V. 19. – P. 5563-5566.
118. Nojima S. Crystallization of block copolymers. 1. Small-angle X-ray scattering study of an epsilon-caprolactone butadiene diblock copolymer / Nojima S., Kato K., Yamamoto S., Ashida T. // *Macromolecules*. – 1992. – V. 25. – P. 2237-3342.

119. Floudas G. Microphase separation in poly(isoprene-b-ethylene oxide) diblock copolymer melts. I. Phase state and kinetics of the order-to-order transitions / Floudas G., Ulrich R., Wiesner U. // *J. Chem. Phys.* – 1999. – V. 110. – P. 652-663.
120. Floudas G. Poly(ethylene oxide-b-isoprene) diblock copolymer phase diagram / Floudas G., vazaiou B., Schipper F. [et al.] // *Macromolecules.* – 2001. – V. 34. – P. 2947-2957.
121. Chen H. Crystallization-induced deformation of spherical microdomains in block copolymer blends consisting of a soft amorphous phase / Chen H., Li H., Huang Y., Chiu F. // *Macromolecules.* – 2002. – V. 35. – P. 2417-2422.
122. Nojima S. Size dependence of crystallization within spherical microdomain structure / Nojima S., Toei M., Hara S., [et al.] // *Polymer.* – 2002. – V. 43. – P. 4087-4090.
123. Ho R. Crystallization-induced undulated morphology in polystyrene-b-poly(L-lactide) block copolymer / Ho R., Lin F., Tsai C., [et al.] // *Macromolecules.* – 2004. – V. 37. – P. 5985-5994.
124. Rawlinson C.F. Polymer-mediated disruption of drug crystallinity / Rawlinson C.F., Williams A.C., Timmins P., Grimsey I. // *International Journal of Pharmaceutics.* – 2007. – V. 336. – P. 42-48.
125. Castillo R.V. Crystallization and morphology of biodegradable or biostable single and double crystalline block copolymers Castillo R.V., Müller A.J. / *Prog. Polym. Sci.* – 2009. – V. 34. – P. 516-560.
126. Sakurai T. Morphological evolution during isothermal crystallization observed in a crystalline-crystalline diblock copolymer / Sakurai T., Ohguma Y., Nojima S. // *Polymer.* – 2008. – V. 40. – P. 971-978.
127. Higa T. Crystal orientation of poly( $\epsilon$ -caprolactone) blocks confined in crystallized polyethylene lamellar morphology of poly( $\epsilon$ -caprolactone)-block-polyethylene copolymers / Higa T., Nagakura H., Sakurai T., Nojima S. // *Polymer.* – 2010. – V. 51. – P. 5576-5584.
128. Sakurai T. Crystallization of poly( $\epsilon$ -caprolactone) blocks confined in crystallized lamellar morphology of poly( $\epsilon$ -caprolactone)-block-polyethylene copolymers: effects of

- polyethylene crystallinity and confinement size / Sakurai T., Nagakura H., Gondo S., Nojima S. // *Polym. J.* – 2013. – V. 45. – P. 436-443.
129. Hamley I. Crystallization in Poly(l-lactide)-*b*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) Double Crystalline Diblock Copolymers: A Study Using X-ray Scattering, Differential Scanning Calorimetry, and Polarized Optical Microscopy / Hamley I., Castelletto V., Castillo R.V., [et al.] // *Macromolecules.* – 2005. – V. 38. – P. 463-472.
130. Albuerne J. Nucleation and Crystallization in Double Crystalline Poly(*p*-dioxanone)-*b*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) Diblock Copolymers / Albuerne J., Marquez L., Müller J., [et al.] // *Macromolecules.* – 2003. – V. 36. – P. 1633-1644.
131. Shiomi T. Appearance of double spherulites like concentric circles for poly( $\epsilon$ -caprolactone)-block-poly(ethylene glycol)-block-poly( $\epsilon$ -caprolactone) / Shiomi T., Imai K., Takenaka K., [et al.] // *Polymer.* – 2001. – V. 42. – P. 3233-3239.
132. Sun J. Morphology and structure of single crystals of poly(ethylene glycol)-poly( $\epsilon$ -caprolactone) diblock copolymers / Sun J., Chen X., He C., Jing X. // *Macromolecules.* – 2006. – V. 39. – P. 3717-3719.
133. Nojima S. Interactive crystallization of a strongly segregated double crystalline block copolymer with close crystallizable temperatures / Nojima S., Fukagawa Y., Ikeda H. // *Macromolecules.* – 2009. – V. 42. – P. 9515-9522.
134. Huang L. isothermal crystallization of poly( $\beta$ -propiolactone) blocks starting from lamellar microdomain structures of double crystalline poly( $\beta$ -propiolactone)-block-polyethylen copolymers / Huang L., Kiyofuji G., Matsumoto J., [et al.] // *Polymer.* – 2012. – V. 53. – P. 5856-5863.
135. Hijikawa R. Crystallization behavior of poly( $\beta$ -propiolactone)-block-polyethylen copolymers with varying polyethylene crystallinities / Hijikawa R., Huang L., Kiyofuji G., [et al.] // *Polymer.* – 2014. – V. 55. – P. 6960-6966.
136. Vo C.-D. Synthesis of zwitterionic diblock copolymers without protecting group chemistry / Vo C.-D., Armes S.P., Randall D.P., Sakai K., Biggs S. // *Macromolecules.* – 2007. – V. 40. – P. 157-167.

137. Holappa S. Self-complexation of poly(ethylene oxide)-block-poly(methacrylic acid) studied by fluorescence spectroscopy / Holappa S., Kantonen L., Winnik F.M. and Tenhu H. // *Macromolecules*. – 2004. – V. 37. – P. 7008-7018.
138. Kou S.-W. Syntheses and the study of strongly hydrogen-bonded poly(vinylphenol-*b*-vinylpyridine) diblock copolymer through anionic polymerization / Kuo S.-W., Tung P.-H., Chang F.-C. // *Macromolecules*. – 2006. – V. 39. – P. 9388-9395.
139. Huang C.-F. Syntheses and specific interactions of poly(hydroxyethyl methacrylate-*b*-vinyl pyrrolidone) diblock copolymers and comparison with their corresponding miscible blend system / Huang C.-F., Kuo S.-W., Lin F.-J., [et al.] // *Polymer*. – 2006. – V. 47. – P. 7060-7069.
140. Lin C.-L. Sequence distribution and polydispersity index affect the hydrogen-bonding of poly(vinylphenol-*co*-methyl methacrylate) copolymers / Lin C.-L., Chen W.-C., Liao C.-S., [et al.] // *Macromolecules*. – 2005. – V. 38. – P. 6435-6444.
141. Chen W.-C. Self-assembly through competitive interactions of miscible diblock copolymer/homopolymer blends: poly(vinylphenol-*b*-methyl methacrylate)/ poly(vinylpyrrolidone) blend / Chen W.-C., Kuo S.-W., Jeng U.-S. and Chang F.-C. // *Macromolecules*. – 2008. – V. 41. – P. 1401-1410.
142. Lee H.-F. Hydrogen-bonding interactions mediate the phase behavior of an A-B/C block copolymer/homopolymer blend comprising poly(methyl methacrylate-*b*-vinylpyrrolidone) and poly(vinylphenol) / Lee H.-F., Kuo S.-W., Huang C.-F., [et al.] // *Macromolecules*. – 2006. – V. 39. – P. 5458-5465.
143. Lin I.-H. Self-assembly structures through competitive interactions of miscible crystalline-amorphous diblock copolymer/homopolymer blends / Lin I.-H., Kuo S.-W., Chang F.-C. // *Polymer*. – 2009. – V. 50. – P. 5276-5287.
144. Hu N. Interchain hydrogen bonding interactions induced phase behaviors of poly(ethylene oxide)-*b*-poly(N-vinylcarbazole)/poly(acrylic acid) blend/ Hu N., Zhang Y.-S., Sun S.-T., [et al.] // *Macromolecules*. – 2012. – V. 45. – P. 5546-5555.
145. Permyakova N. Structural transitions in triblock copolymers based on poly(ethylene oxide) and polyacrylamide under the temperature influence / Permyakova N.,

Zheltonozhskaya T., Shilov V., Zagdanskaya N., Momot L., Syromyatnikov V. // *Macromol. Symp.* – 2005. – V. 222. – P. 135-142.

146. Желтоножська Т.Б. Вплив інтрамолекулярного комплексоутворення на структуру триблок-копомерів, що містять поліакриламід і поліетиленоксид / Желтоножська Т.Б., Федорчук С.В., Гомза Ю.П., Пермякова Н.М., Сиромятніков В.Г. // *Питання хімії та хімічної технології.* – 2007. – Т. 2. – С. 78-86.

147. Vamvakaki M. Micellization in pH-sensitive amphiphilic block copolymers in aqueous media and the formation of metal nanoparticles / Vamvakaki M., Papoutsakis L., Katsamanis V., [et al.] // *Faraday Discuss.* – 2005. – V. 128. – P. 129-147.

148. Dane K. Nano-sized drug-loaded micelles deliver payload to lymph node immune cells and prolong allograft survival / Dane K., Nembrini Ch., Tomei A., [et al.] // *J. Contr. Release.* – 2011. – V. 156. – P. 154-160.

149. Gohy J.-F. Block copolymer micelles / Gohy J.-F. // *Adv. Polym. Sci.* – 2005. – V. 190. – P. 65-136.

150. Lindman B., Alexandridis P. Amphiphilic molecules: small and large. In: Alexandridis P., Lindman B., editors. *Amphiphilic block copolymers: self-assembly and application.* Amsterdam: Elsevier; 2000. p. 1-12.

151. Wanka G. Phase diagrams and aggregation behavior of poly(oxyethylene)-poly(oxypropylene)-poly(oxyethylene) triblock copolymers in aqueous solutions / Wanka G., Hoffmann H., Ulbricht W. // *Macromolecules.* – 1994. – V. 27. – P. 4145-4159.

152. Lince Modeling of self-assembly of block copolymers in selective solvent. In: Alexandridis P., Lindman B., editors. *Amphiphilic block copolymers: self-assembly and application.* Amsterdam: Elsevier; 2000. p. 13-40.

153. Ragnelov S. Polymer and polymer-hybrid nanoparticles. From synthesis to biomedical applications / Ragnelov S., Pispas S.; - Boca Raton: - CRC Press, 2014. – 483 p.

154. O'Reilly R.K. Functional polymeric nanostructures prepared by self-assembly and beyond. In: Hadjichristidis N., Hirao A., Tezuka Y. Du Prez F., editors. *Complex macromolecular architectures. Synthesis, characterization and self-assembly.* Singapore: John Wiley & Sons; 2011. p. 527-560.

155. Noolandi J. Theory of block copolymer micelles in solution / Noolandi J., Hong K.M. // *Macromolecules*. – 1983. – V. 16. – P. 1443-1448.
156. Hurter P.N. Molecular modeling of micelle formation and solubilization in block copolymer micelles / Hurter P.N., Scheutjens J.M.H.M., Hatton T.A. // *Macromolecules*. – 1993. – V. 26. – P. 5592-5601.
157. Binder K. Monte Carlo simulation of block copolymers / Binder K., Muller M. // *Curr. Opin. Colloid. Interf. Sci.* – 2000. – V. 5. – P. 315-323.
158. Pam L.S. Simulation and theory of flexible equilibrium polymers under poor solvent conditions / Pam L.S., Spell L.L., Kindt J.T. // *J. Chem. Phys.* – 2007. – V. 126. – P. 134906-134920.
159. Halperin A. Tethered chains in polymer microstructures / Halperin A., Tirrell M., Lodge T.P. // *Adv. Polym. Sci.* – 1992. – V. 100. – P. 31-71.
160. Lund R. Equilibrium Chain Exchange Kinetics of Diblock Copolymer Micelles: Tuning and Logarithmic Relaxation / Lund R., Willner L., Richter D., Dormidontova E. // *Macromolecules*. – 2006. – V. 39. – P. 4566-4575.
161. Dormidontova E. Micellization Kinetics in Block Copolymer Solutions: Scaling Model / Dormidontova E. // *Macromolecules*. – 1999. – V. 32. – P. 7630-7644.
162. Denkova A.G. Non-equilibrium dynamics of block copolymer micelles in solution: recent insights and open questions / Denkova A.G., Mendes E., Coppens M.-O. // *Soft Matter*. – 2010. – V. 6. – P. 2351-2357.
163. Kelley E. Size evolution of highly amphiphilic macromolecular solution assemblies via a distinct bimodal pathway / Kelley E., Murphy R., Seppala J., [et al.] // *Nature Communications*. – 2014. – V. 5. – P. 3599-3549.
164. Cui H. Origins of toroidal micelle formation through charged triblock copolymer self-assembly / Cui H., Chen Z., Wooley K.L., Pochan D.J. // *Soft Matter*. – 2009. – V. 5. – P. 1269-1278.
165. Nagarajan R. Non-equilibrium block copolymer micelles with glassy cores: a predictive approach based on theory of equilibrium micelles / Nagarajan R. // *J. Colloid Interface Sci.* – 2015. – V. 449. – P. 416-427.

166. Denkova A.G. Complex morphologies of self-assembled block copolymer micelles in binary solvent mixtures: the role of solvent-solvent correlations / Denkova A.G., Bomans P.H.H., Coppens M.-O., Sommerdijk N.A.J.M., Mendes E. // *Soft Matter*. – 2011. – V. 7. – P. 6622-6628.
167. Jensen G.V. Structures of PEP-PEO block copolymer micelles: effects of changing solvent and PEO length and comparison to a thermodynamic model / Jensen G.V., Shi Q., Deen G.R., Almdal K., Pedersen J.S. // *Macromolecules*. – 2012. – V. 45. – P. 430-440.
168. Booth C. Effect of block architecture and composition on the association properties of poly(alkylene) copolymers in aqueous solution / Booth C., Attwood D. // *Macromol. Rapid Commun.* – 2000. – V. 21. – P. 501-527.
169. Chaibundit C. Association properties of triblock copolymers in aqueous solution: copolymers of ethylene oxide and 1,2-butylene oxide with long E-blocks / Chaibundit C., Mai S.M., Heatley F., Booth C. // *Langmuir*. – 2000. – V. 16. – P. 9645-9652.
170. Hamley I. In situ atomic force microscopy imaging of adsorbed block copolymer micelle / Hamley I., Connell S., Collins S. // *Macromolecules*. – 2004. – V. 37. – P. 5337-5351.
171. Yu K. Multiple morphologies in aqueous solutions of aggregates of polystyrene-block-poly(ethylene oxide) diblock copolymers / Yu K., Eisenberg A. // *Macromolecules*. – 1996. – V. 29. – P. 6359-6361.
172. Rolland A. Preparation and characterization of PEO-PI-PEO block copolymer aggregates / Rolland A., O'Mullane J., Goddard P., Brookman L. // *J. Appl. Polym. Sci.* – 1992. – V. 44. – P. 1195-1203.
173. Jain S. On the origins of morphological complexity in block copolymer surfactants / Jain S., Bates F.S. // *Science*. – 2003. – V. 300. – P. 460-464.
174. Prochazka K. pH-dependent behavior of hydrophobically modified polyelectrolyte shells of polymeric nanoparticles / Prochazka K., Matejicek P., Uchman M., [et al.] // *Macromol. Symp.* – 2008. – V. 273. – P. 95-102.
175. van der Maarel J.R.C. Salt-induced contraction of polyelectrolyte diblock copolymer micelles / van der Maarel J.R.C., Groenewegen W., Egelhaaf S., Lapp A. // *Langmuir*. – 2000. – V. 16. – P. 7510-7519.

176. Mai Y. Self-assembly of block copolymers / Mai Y., Eisenberg A. // *Chem. Soc. Rev.* – 2012. – V. 41. – P. 5969-5985.
177. Eghbali E. Rheology and phase behavior of poly(n-butyl acrylate)-block-poly(acrylic acid) in aqueous solution / Eghbali E., Colombani O., Drechsler M., [et al.] // *Langmuir.* – 2006. – V. 22. – P. 4766-4776.
178. Burkhardt M. Polyisobutylene-block-poly(methacrylic acid) diblock copolymers: self-assembly in aqueous media / Burkhardt M., Martinez-Castro N., Tea S., [et al.] // *Langmuir.* – 2007. – V. 23. – P. 12864-12874.
179. Yao J. Association behavior of poly(methyl methacrylate-block-methacrylic acid) in aqueous medium / Yao J., Ravi P., Tam K., Gan L. // *Langmuir.* – 2004. – V. 20. – P. 2157-2163.
180. Burke S. Multiple vesicular morphologies from diblock copolymers in solution / Burke S., Shen H., Eisenberg A. // *Macromol. Symp.* – 2001. – V. 175. – P. 273-2783.
181. Förster S. Polyelectrolyte block copolymer micelles / Förster S., Abetz V., Müller A.H.E. // *Adv. Polym. Sci.* – 2004. – V. 166. – P. 173-210.
182. Liu S. Recent advances in the synthesis of polymeric surfactants / Liu S., Armes S.P. // *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* – 2001. – V. 6. – P. 249-256.
183. Biswas S. Recent advances in polymeric micelles for anti-cancer drug delivery / Biswas S., Kumari P., Lakhami P., Ghosh B. // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2016. – V. 83. – P. 184-202.
184. Richter A. Solubilization of Sagopilone, a poorly water-soluble anticancer drug, using polymeric micelles for parenteral delivery / Richter A., Obbrich C., Krause M., Kissel T. // *Int. J. Pharm.* – 2010. – V. 389. – P. 244-253.
185. Vangeyte P. About the methods of preparation of poly(ethylene oxide)-b-poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles in water. Analysis by dynamic light scattering / Vangeyte P., Gautier S., Jerome R. // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* – 2004. – V. 242. – P. 203-211.
186. Choi C. Thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide)-b-poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles for efficient drug delivery system / Choi C., Chae S., Nah J.-W. // *Polymer.* – 2006. – V. 47. – P. 4571-4580.

187. Grassous J. Design of block copolymer micelles via crystallization / Grassous J.J., Schurtenberger P., Ballauff M., Mihunt A.M. // *Polymer*. – 2015. – V. 62. – P. A1-A13.
188. Du Z.X. Regulation of Micellar Morphology of PCL-*b*-PEO Block Copolymers by Crystallization Temperature / Du Z.X., Xu J.T., Fan Z.Q. // *Macromol. Rapid Commun.* – 2008. – V. 29. – P. 467-671.
189. Zhang W. Thermoresponsive Micellization of Poly(ethylene glycol)-*b*-poly(*N*-isopropylacrylamide) in Water / Zhang W., Shi L., Wu K., An Y. // *Macromolecules*. – 2005. – V. 38. – P. 5743-5747.
190. Schilli C.M. A New Double-Responsive Block Copolymer Synthesized via RAFT Polymerization: Poly(*N*-isopropylacrylamide)-*block*-poly(acrylic acid) / Schilli C.M., Zhang M.F., Rizzardo E., [et al.] // *Macromolecules*. – 2004. – V. 37. – P. 7861-7866.
191. Holappa S. Solution Properties of Linear and Branched Block Copolymers Consisting of Acidic and PEO Blocks / Holappa S., Karesoja M., Shan J., Tenhu H. // *Macromolecules*. – 2002. – V. 35. – P. 4733-4738.
192. Billing M. Amphiphilic and double hydrophilic block copolymers containing a polydehydroalanine block / Billing M., Festag G., Bellstadt P., Schacher F.H. // *Polym. Chem.* – 2017. – V. 8. – P. 936-945.
193. Zheltonozhskaya T., Permyakova N., Momot L. Intramolecular polycomplexes in block and graft copolymers. In: Khutoryanskiy V., Staikos G., editors. *Hydrogen-bonded interpolymer complexes. Formation, structure and applications*. Singapore: World Scientific Publishing; 2009. p. 85-154.
194. Bo Q. Double-hydrophilic block copolymer for encapsulation and two-way pH change-induced release of metalloporphyrins / Bo Q., Zhao Y. // *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* – 2006. – V. 44. – P. 1734-1744.
195. Wang Z. Regimes of conformational transitions of a diblock polyampholyte / Wang Z., Rubinstein M. // *Macromolecules*. – 2006. – V. 39. – P. 5897-5912.
196. Vo C.-D. Synthesis of zwitterionic diblock copolymers without protecting group chemistry / Vo C.-D., Armes S.P., Randall D.P., [et al.] // *Macromolecules*. – 2007. – V. 40. – P. 157-167.

197. Gohy J. F. Water-soluble complexes formed by poly(2-vinylpyridinium)-block-poly(ethylene oxide) and poly(sodium methacrylate)-block-poly(ethylene oxide) copolymers / Gohy J. F., Varshney S.K., Jerome R. // *Macromolecules*. – 2001. – V. 34. – P. 3361-3366.
198. Holappa S. Soluble polyelectrolyte complexes composed of poly(ethylene oxide)-block-poly(sodium methacrylate) and poly(methacryloyloxyethyl trimethylammonium chloride) / Holappa S., Anderson T., Kantonen L., Plattner P., Tenhu H. // *Polymer*. – 2003. – V. 44. – P. 7907-7916.
199. Holappa S. Self-complexation of poly(ethylene oxide)-block-poly(methacrylic acid) studied by fluorescence spectroscopy / Holappa S., Kantonen L., Winnik F.M. and Tenhu H. // *Macromolecules*. – 2004. – V. 37. – P. 7008-7018.
200. Hernandez O. Synthesis, reactivity and pH-responsive assembly of new double hydrophilic block copolymers of carboxymethyl dextran and poly(ethylene glycol) / Hernandez O., Soliman G., Winnik F. // *Polymer*. – 2007. – V. 48. – P. 921-930.
201. Sun Y. Synthesis and pH-sensitive micellization of doubly hydrophilic poly(acrylic acid)-b-poly(ethylene oxide)-b-poly(acrylic acid) triblock copolymer in aqueous solutions / Sun Y., Peng Z., Liu X., Tong Z. // *Colloid. Polym. Sci.* – 2010. – V. 288. – P. 997-1003.
202. Torchilin V.P. Micellar nanocarriers: pharmaceutical perspectives / Torchilin V.P. // *Pharmaceutical Research*. – 2007. – V. 24. – P. 1-16.
203. Francis M.F. Polymeric micelles for oral drug delivery: why and how / Francis M.F., Crestea M., Winnik F.M. // *Pure Appl. Chem.* – 2004. – V. 76. – P. 1321-1335.
204. Kim Y. Polymeric worm micelles as nano-carriers for drug delivery / Kim Y., Dalhaimer P., Christian D.A., Discher D.E. // *Nanotechnology*. – 2005. – V. 16. – P. S484-S491.
205. Kwon G.S. Polymeric micelles for delivery of poorly water-soluble compounds / Kwon G.S. // *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* – 2003. – V. 20. – P. 357-603.
206. Torchilin V. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems / Torchilin V. // *J. Control Release*. – 2001. – V. 73. – P. 137-172.
207. Lu Y. Polymeric micelles and alternative nanosized delivery vehicles for poorly soluble drugs / Lu Y., Park K. // *Int. J. Pharm.* – 2013. – V. 453. – P. 198-214.

208. Rösler A. Advanced drug delivery devices via self-assembly of amphiphilic block copolymers / Rösler A., Vandermulen G.W.M., Klok H.A. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2012. – V. 64. – P. 270-279.
209. Torchilin V.P. Passive and active drug targeting: Drug delivery to tumors as an example / Torchilin V.P. // *Handbook of Experimental Pharmacology.* – 2010. – V. 197. – P. 3-53.
210. Friechels H. Sugar-labeled and PEGylated (bio)degradable polymers intended for targeted drug delivery systems / Friechels H., Jerome R., Jerome C. // *Carbohydrate Polymers.* – 2011. – V. 86. – P. 1093-1106.
211. Wang Y.-C. Functionalized micelles from block copolymer of polyphosphoester and poly( $\epsilon$ -caprolactone) for receptor-mediated drug delivery / Wang Y.-C., Liu X.-Q., Sun T.-M., [et al.] // *J. Controll. Release.* – 2008. – V. 128. – P. 32-40.
212. Shuai X. Core-crosslinked polymeric micelles as paclitaxel carriers / Shuai X., Merdan T., Schaper A., [et al.] // *Bioconjug. Chem.* – 2004. – V. 15. – P. 441-448.
213. Tyrrell Z.L. Fabrication of micellar nanoparticles for drug delivery through the self-assembly of block copolymers / Tyrrell Z.L., Shen Y., Radosz M. // *Prog. Polym. Sci.* – 2010. – V. 35. – P. 1128-1143.
214. Guo X. pH-triggered intracellular release from actively targeting polymer micelles / Guo X., Shi C., Wang J., Di S., Zhou S. // *Biomaterials.* – 2013. – V. 34. – P. 4544-4554.
215. Eckman A.M. Drug release patterns and cytotoxicity of PEG-poly(aspartate) block copolymer micelles in cancer cell / Eckman A.M., Tsakalozou E., Kang N.Y., Ponta A., Bae Y. // *Pharm. Res.* – 2012. – V. 29. – P. 1755-1767.
216. Palao-Suay R. Self-assembling polymer systems for advanced treatment of cancer and inflammation / Palao-Suay R., Gomez-Mascaraque L.G., Aguilar M.R., [et al.] // *Prog. Polym. Sci.* – 2016. – V. 53. – P. 207-248.
217. Cho H. Poly(ethylene glycol)-block-poly( $\epsilon$ -caprolactone) micelles for combination drug delivery: evaluation of paclitaxel, cyclophosphamide and gossypol in intraperitoneal xenograft models of ovarian cancer / Cho H., Lai T.C., Kwon G.S. // *J. Controlled Release.* – 2013. – V. 166. – P. 1-9.

218. Sah H. Concepts and practices used to develop functional PLGA-based nanoparticulate systems / Sah H., Thoma L.A., Desu H.R., [et al.] // Int. J. Nanomed. – 2013. – V. 8. – P. 747-765.
219. Oberoi H.S. Cisplatin-loaded core cross-linked micelles: comparative pharmacokinetics, antitumor activity, and toxicity in mice / Oberoi H.S., Nukolova N.V., Laquer F.C., [et al.] // Int. J. Nanomed. – 2012. – V. 7. – P. 2557-2569.
220. Felber A.E. pH-sensitive vesicles, polymeric micelles and nanospheres prepared with polycarboxylates / Felber A.E., Dufresne M.H., Leroux J.C. // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2012. – V. 64. – P. 979-992.
221. Deng H. Balancing the stability and drug release of polymer micelles by the coordination of dual-sensitive cleavable bonds in cross-linked core / Deng H., Zhang Y., Wang X., [et al.] // Acta Biomater. – 2015. – V. 11. – P. 126-136.
222. Ильин А.А. Влияние строения полисахаридов на процесс привитой полимеризации и свойства полученных сополимеров. Дис... канд. хим. наук: 02.00.06/ - Москва, 1981. – 199с.
223. Желтоножская Т.Б. Процессы получения линейных блок-сополимеров / Желтоножская Т.Б., Федорчук С.В., Сыромятников В.Г. // Успехи химии – 2007.- Т.76.- С. 784-820.
224. Торопцева А.М., Белгородская А.В., Бондаренко В.М. Лабораторный практикум по химии и технологии высокомолекулярных соединений. - Ленинград.Химия., 1972.- 415 с.
225. Лосев И.П., Федотова О.Я. Практикум по химии высокополимерных соединений. – М.: Госхимиздат, 1692. – 228 с.
226. Rieger J. Controlled Synthesis and Interface Properties of New Amfifilic PCL-g-PEO Copolymers / Rieger J., Dubois P., Jérôme R., Jérôme C. // Langmuir. - 2006.- V. 22. - P. 7471-7479.
227. Yoon J.S. Effect of poly(ethylene glycol)-*block*-poly(L-lactide) on the poly[(R)-3-hydroxybutyrate] / poly(L-lactide) blends / Yoon JS., Lee WS., Kim KS., Chin IJ., Kim MN., Kim C. // European Polym. J. – 2000. - V. 36. - P. 435-442.
228. Слоним И.Я. Применение метода ЯМР высокого разрешения для исследования

- полимеров. – В кн.: Современные физические методы исследования полимеров. – М.: Наука, 1982. – С.106–121.
229. Воловенко Ю.М., Туров О.В.. Ядерний магнітний резонанс. К. Ірпінь: ВТФ “Перун”, 2007, - 480 с.
230. Липатов Ю.С. Рентгенографические методы изучения полимерных систем. / Липатов Ю.С., Шилов В.В., Гомза Ю.П., Кругляк Н.Е. – Киев: Наук. думка, 1982. – 296 с.
231. Пентин Ю.А. Физические методы исследования в химии. / Пентин Ю.А., Вилков Л.В. – Москва: ООО “Издательство АСТ”, 2003. – 683 с.
232. Дехант Н. Инфракрасная спектроскопия полимеров / Дехант Н., Данц Р., Киммер В., Шмольке. – М.: Химия, 1976. – 470 с.
233. Эскин В.Е. Рассеяние света растворами полимеров и свойства макромолекул. / Эскин В.Е. – Москва: Химия, 1990. – 256 с.
234. Khougar K. Determination of the critical micelle concentration of block copolymer micelles by static light scattering / Khougar K., Gao Z, Eisenberg A. // *Macromolecules*. - 1994. – V. 27. - P. 6341-6346.
235. Khougaz K., Micellization in block polyelectrolyte solutions.3. Static light scattering characterization / Khougaz K., Astafieva I., Eisenberg A. // *Macromolecules*. – 1995. – V. 28. – P. 7135-7147.
236. Khougaz K. Aggregation and Critical Micelle Concentrations of Polystyrene-*b*-poly(sodium acrylate) and Polystyrene-*b*-poly(acrylic acid) Micelles in Organic Media / Khougaz K., Zhong X., Eisenberg A. // *Macromolecules*. – 1996. – V. 29. – P. 3937-3949.
237. Спектроскопия оптического смешения и корреляция фотонов. Камминс Г. и Пайк Э., ред. – Москва: Мир, 1978. – 584 с.
238. Аверко-Антонович И.Ю. Методы исследования структуры и свойств полимеров / Аверко-Антонович И.Ю., Бикмулин Р.Т. – Казань: КГТУ, 2002. – 604 с.
239. Морозкіна, Т.С. Вітаміни. Короткий посібник для лікарів і студентів медичних, фармацевтичних і біологічних спеціальностей / Морозкіна Т.С., Мойсеенок А.Г. - М.: Асар, 2002. - 112 с.
240. Никитина Л.П. Клінічна вітамінологія / Нікітіна Л.П., Соловійова Н.В. – Чита:

ИИЦ ЧГМА, 2002. - 66 с.

241. Kabanov V.A. Polyelectrolyte complexes in solution and in bulk / Kabanov V.A. // Russ. Chem. Rev. – 2005. – V. 74. – № 1. – P. 3-20.

242. Zheltonozhskaya T.B. Graft copolymers with chemically complementary components as a special class of high-molecular-weight compounds / Zheltonozhskaya T.B., Zagdanskaya N.E., Demchenko O.V., Momot L.N., Permyakova N.M., Syromyatnikov V.G., Kunitskaya L.R. // Russ. Chem. Rev. – 2004. – V. 73. – № 8. – P. 811-829.

243. Пермякова Н.М. Синтез та поведінка у розчині міцелотворюючих триблок-кополімерів з поліетиленоксидом та поліакриламідом / Пермякова Н.М., Федорчук С.В., Желтоножська Т.Б., Загданська Н. Є., Сиромятніков В.Г. // Питання хімії та хімічної технології. – 2007. – Т. 2. – С. 108-114.

244. Шрайнер Р. Идентификация органических соединений / Шрайнер Р., Фьюзон Р., Кертин Д., Моррилл Т. – М: Мир, 1983. – С.170-171.

245. Долгоплоск Б.А. Окислительно-восстановительные системы как источники свободных радикалов. / Долгоплоск Б.А., Тинякова Е.И. – Москва: Наука, 1972. – 240 с.

246. Özeroglu C. Polymerization of acrylamide initiated with Ce(IV)- and KMnO<sub>4</sub>-mercaptosuccinic acid redox system in acid-aqueous medium / Özeroglu C., Sezgin S. // Expr. Polym. Letters. – 2007. – V. 1. – № 3. – P. 132-141.

247. Dincer B. Radical polymerization of acrylamide initiated by ceric ammonium nitrate-methionine redox initiator system / Dincer B., Bayülken S., Sarac A.S. // J. Appl. Polym. Sci. – 1997. – V. 63. – P. 1643-1648.

248. Erbil C. Polyaminocarboxylic acids – Ce(IV) redox systems as an initiator in acrylamide polymerization / Erbil C., Cin C., Soydan A.B. and Sarac A.S. // J. Appl. Polym. Sci. – 1993. – V. 47. – P. 1643-1648.

249. Пилюгин В.В. Об активных центрах радиационной полимеризации акрилонитрила, адсорбированного на силикагеле / Пилюгин В.В., Крицкая Д.А., Пономарев А.Н. // Химия высоких энергий. – 1981. – Т.15. – с. 493.

250. Alami E. Aggregation of Hydrophobically End-Capped Poly(ethylene oxide) in Aqueous Solutions. Fluorescence and Light-Scattering Studies / Alami E., Almgren M., Brown W., Francois J. // *Macromolecules*. – 1996. – V. 29. – P. 2229-2243.
251. Прег Э. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных / Прег Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К. – М.: Мир, 2006. – 438 с.
252. Plate N.A., Litmanovich A.D., Noah O.V. *Macromolecular Reactions*. Chichester: Wiley, 1995. 287 p.
253. Lowman A.M. Analysis of the Complexation/Decomplexation Phenomena in Graft Copolymer Networks / Lowman A.M. and Pappas N.A. // *Macromolecules*. – 1997. – V. 30. – P. 4959-4965.
254. Kabanov V.A. Physico-chemical basis and the prospects of using soluble interpolyelectrolyte complexes / Kabanov V.A. // *Polym. Sci. A* – 1994. – V. 36. – P. 143-157.
255. Izumrudov V.A. Complexation and competitive interpolyelectrolyte reactions involving a poly(N-oxyethyl-4-vinylpyridinium) cations / Izumrudov V.A., Zhiryakova M.V. // *Polym. Sci. A* – 2009. – V. 51. – P. 622-629.
256. Permyakova N.M. Temperature effect on hydrogen bonds in triblock copolymers of poly(ethylene oxide) and polyacrylamide / Permyakova N.M., Zheltonozhskaya T.B., Fedorchuk S.V. [et al.] // *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* – 2007. – V. 468. – P. 405-413.
257. Shen H. Thermodynamics of crew-cut micelle formation of polystyrene-b-poly(acrylic acid) diblock copolymers in DMF/H<sub>2</sub>O mixtures / Shen H., Zhang L., Eisenberg A. // *J. Phys. Chem.* – 1997. – V. 101. – P. 4697-4708.
258. Denkova A.G. Effects of salts and ethanol on the population and morphology of triblock copolymer micelles in solution / Denkova A.G., Mendes E. and Coppens M.-O. // *J. Phys. Chem. B*. – 2008. – V. 112. – P. 793-801.
259. Liu F. Association properties of poly(ethylene oxide) modified by pendant aliphatic groups / Liu F., Frere Y., Francois J. // *Polymer*. – 2001. – V. 42. – P. 2969-2983.

260. Allen C. Polycaprolactone-*b*-poly(ethylene oxide) copolymer micelles as a delivery vehicle for dihydrotestosterone / Allen C., Han J., Yu Y., Maysinger D., Eisenberg A. // *J. Controlled Release*. – 2000. – V. 63. – P. 275-286.
261. Bogdanov B. Synthesis and thermal properties of poly(ethylene glycol)-poly( $\epsilon$ -caprolactone) copolymers / Bogdanov B., Vidts A., Bulcke A.V.D., [et al.] // *Polymer*. – 1998. – V. 39. – P. 1631-1636.
262. Zheltonozhskaya T. Processes for obtaining linear block copolymers / Zheltonozhskaya T., Fedorchuk S., Syromyatnikov V. // *Russ. Chem. Rev.* – 2007. – V. 76. – № 8. – P. 731-765.
263. Yuan M. Polymerization of Lactides and Lactones. 10. Synthesis, Characterization, and Application of Amino-Terminated Poly(ethylene glycol)-*co*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) Block Copolymer / Yuan M., Wang Y., Li X., [et al.] // *Macromolecules*. – 2000. – V. 33. – P. 1613-1617.
264. Soo P.L. Incorporation and Release of Hydrophobic Probes in Biocompatible Polycaprolactone-*block*-poly(ethylene oxide) Micelles: Implications for Drug Delivery / Soo P.L., Luo L., Maysinger D., Eisenberg A. // *Langmuir*. – 2002. – V. 18. – P. 9996-10004.
265. Kricheldorf H.R. Stereocomplexes of A-B-A Triblock Copolymers Based on Poly(L-Lactide) and Poly(D-Lactide) A Blocks / Kricheldorf H.R., Rost S., Wutz Ch., Domb A. // *Macromolecules*. – 2005. – V. 38. – P. 7018-7025.
266. Huang M. Synthesis and degradation of PLA-PCL-PLA triblock copolymer prepared by successive polymerization of  $\epsilon$ -caprolactone and dl-lactide / Huang M., Li S., Vert M. // *Polymer*. – 2004. – V. 45. – P. 8675-8681.
267. Meng F. Epoxy resin containing poly(ethylene oxide)-*block*-poly( $\epsilon$ -caprolactone) diblock copolymer: Effect of curing agents on nanostructures / Meng F., Zheng S., Liu T. // *Polymer*. – 2006. – V. 47. – P. 7590-7600.
268. Krishnamoorthy S. Nanoscale patterning with block copolymers / Krishnamoorthy S., Hinderling C., Heinzelmann H. // *Materials Today*. – 2006. – V.9. - № 9. – P.40-47.
269. Takeshita H. Formation of lamellar structure by competition in crystallization of both components for crystalline-crystalline block copolymers / Takeshita H., Fukumoto K.,

- Ohnishi T., [et al.] // *Polymer*. – 2006. – V. 47. – P. 8210-8218.
270. Zhao Y.-F. Synthesis and characterization of diblock copolymers based on crystallizable poly( $\epsilon$ -caprolactone) and mesogen-jacketed liquid crystalline polymer block / Zhao Y.-F., Fan X., Chen X., Wan X., Zhou Q.-F. // *Polymer*. – 2005. – V.46. – P. 5396-5405.
271. Wu C. A comparison of the structure, thermal properties and biodegradability of polycaprolactone/chitosan and acrylic acid grafted polycaprolactone/chitosan / Wu C. // *Polymer*. – 2005. – V. 46. – P. 147-155.
272. Fedorchuk S.V. Structural peculiarities of triblock copolymers containing poly(ethylene oxide) and polyacrylamide / Fedorchuk S.V., Zheltonozhskaya T.B., Permyakova N.M., Gomza Y.P., Nessin S.D., Klepko V.V. // *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* – 2008. – V. 497. – P. 268-281.
273. Terreau O. Effect of poly(acrylic acid) block length distribution on polystyrene-*b*-poly(acrylic acid) block copolymer aggregates in solution. 2. A partial phase diagram / Terreau O., Bartels C., Eisenberg A. // *Langmuir* – 2004. – V.20. – P.637-645.
274. Semenov A. Associating polymers: equilibrium and linear viscoelasticity / Semenov A., Joanny J., Khokhlov A. // *Macromolecules* – 1995. – V.28. – P.1066-1075.
275. Svenson S. Carrier-based drug delivery. In: Svenson S, editor. ACS Symposium Series, vol. 879. Washington, DC: American Chemical Society; 2004. p. 2–23.
276. Lee S.C. pH-controlled, polymer-mediated assembly of polymer micelle nanoparticles / Lee S.C., Lee H.J. // *Langmuir*. – 2006. – V. 23 – P. 488–495.
277. Park J.-S. Preparation and characterization of polyion complex micelles with a novel thermosensitive poly(2-isopropyl-2-oxazoline) shell via the complexation of oppositely charged block ionomers / Park J.-S., Akiyama Y., Yamasaki Y., Kataoka K. // *Langmuir*. – 2007. – V. 23. – P. 138–146.
278. Khutoryanskiy V.V. Pharmaceutical applications of interpolymer complexes. In: Khutoryanskiy V., Staikos G., editors. Hydrogen-bonded interpolymer complexes. Formation, structure and applications. Singapore: World Scientific Publishing; 2009. p. 235-258.

279. Li X.-S. Preparation of uniform prednisolon microcrystals by a controlled microprecipitation method. / Li X.-S., Wang J.-X., Shen Z.-G., Zhang P.-Y., Chen J.-F., Yun J. // *Int. J. Pharm.* – 2007. – V. 342. – P. 26–32.
280. Ali H.S.M. Solubility of budesonide, hydrocortisone and prednisolone in ethanol + water mixtures at 298.2 K / Ali H.S.M., York P., Blagden N., Soitanpour S., Acree W.E., Jouyban Jr. and A. // *J. Chem. Eng. Data* - 2010. – V.55. – P.578-582.
281. Bellamy L. The significance of infra-red frequency shifts in relation to hydrogen bond strengths / Bellami L., Pace R. // *Spectrochimica Acta. Part A: Molecular Spectroscopy.* – 1969. – V. 25. – P. 319-328.
282. Lee J. Blood compatibility of polyethylene oxide surfaces / Lee J., Lee H., Andrade J. // *Prog. Polym. Sci.* – 1995. – V. 20. – P. 1043-1079.
283. Savic R. Micellar Nanocontainers Distribute to Defined Cytoplasmic Organelles / Savic R., Luo L., Eisenberg A., Maysinger D. // *Science.* – 2003. – V. 300. – P. 615-618.
284. Спиричев В.Б. Обогащение пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами / Спиричев В.Б., Шатнюк Л.М., Позняковский В.М. – Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2004. – 320 с.
285. Luo Y. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol, and its in vitro controlled release study / Luo Y., Zhang B., Whent M., Yu L., Wang Q. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 2011. – V. 85. – P. 145-152.
286. Левченко В.І. Ветеринарна клінічна біохімія / Левченко В.І.; - Біла Церква, 2002. – 400 с.
287. Приходько О.О. Вплив солей важких металів на біохімічні показники крові щурів різних вікових груп / Приходько О.О. // *Вісник сумськ. держ. унів. Сер. медицина* – 2010. - №2. – С.42-47.
288. Torchilin V.P. Nanoparticulates as drug carriers / Torchilin V.P., editor. – London: Imperial College Press, 2006. – 754 p.
289. Pardridge W.M. Molecular biology of the blood-brain barrier / Pardridge W.M. // *Mol. Biotechnol.* – 2005. – V. 30. – P. 57-70.
290. Chen Y. Modern methods for delivery of drugs across the blood-brain barrier / Chen Y., Liu L. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2012. – V. 64. – P. 640-665.

291. Rathbone M.J., Hadgraft J., Michael S.R. Modified-release drug delivery technology. In: *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, Vol. 126. New York, Marcel Dekker, 2003.
292. Owens D.E. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles / Owens D.E., Peppas N.A. // *Int. J. Pharm.* – 2006. – V. 307. – P. 93-102.
293. Vonarbourg A. Parameters influencing the stealthiness of colloidal drug delivery systems / Vonarbourg A., Passirani C., Saulnier P., Benoit J.-P. // *Biomaterials*. – 2006. – V. 27 – P. 4356-4373.
294. Garcia-Garcia E. Colloidal carriers and blood-brain barrier.(BBB) translocation: a way to deliver drugs to the brain? / Garcia-Garcia E., Andrieux K., Gil S., Couvreur P. // *Int. J. Pharm.* – 2005. – V. 298. – P. 274-292.
295. Nair. L.S. Biodegradable polymers as biomaterials / Nair. L.S., Laurencin C.T. // *Prog. Polym. Sci.* – 2007. – V. 32. – P. 762-798.
296. Torchilin V.P. Multifunctional nanocarriers / Torchilin V.P. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2006. – V. 58. – P. 1532–1555.

## ДОДАТОК

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи  
Київського національного  
університету імені Тараса  
Шевченка, професор



ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової, інноваційної та  
міжнародної діяльності Національного  
університету біоресурсів і  
природокористування України, академік



М.Д.Мельничук  
2013 р.

А К Т

проведення комплексних лабораторних випробувань  
міцелярних систем з інкапсульованим синтетичним  
аналогом Вітаміну Е в процесах метаболізму білих мишей

Даним актом підтверджується, що впродовж 2012–2013 років в лабораторіях факультету ветеринарної медицини ННІ ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва Національного університету біоресурсів і природокористування України, а також кафедри хімії високомолекулярних сполук хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка проведені спільні випробування *in vivo* трьох міцелярних систем доставки погано розчинних лікарських субстанцій в живих організмах з інкапсульованим синтетичним аналогом Вітаміну Е. Для випробувань використані нелінійні лабораторні білі миші.

Міцелярні носії лікарських субстанцій, розроблені на кафедрі хімії високомолекулярних сполук, є продуктами самозбірки у водному середовищі: 1) подвійних гідрофільних диблок- і триблок-кополімерів з хімічно комплементарними компонентами на основі поліетиленоксиду, поліакриламідру та поліакрилової кислоти (МОПЕО-*b*-ПАК і ПАА-*b*-ПЕО-*b*-ПАА), а також 2) амфіфільних блок-кополімерів на основі поліетиленоксиду та полікапролактону (МОПЕО-*b*-ПКЛ). Вони мали різну будову гідрофобного “ядра” і гідрофільної “корони” та різний розмір у водних розчинах. Всі компоненти блок-кополімерів є нетоксичними і біосумісними. Синтетичний аналог Вітаміну Е -  $\alpha$ -токоферолацетат ( $\alpha$ -ТОКА) розроблений в НДІ природничих і гуманітарних наук на кафедрі органічної хімії та хімії пестицидів НУБіП України.

В процесі випробувань окремої міцелярної системи з інкапсульованим аналогом Вітаміну Е використовували 4 групи мишей по 10 в кожній. Дві групи були контрольними, а дві – дослідними, яким, окрім корму для гризунів і питної води, додавали різні дози відповідної міцелярної системи, що відрізнялися у 25 разів. Одній контрольній групі додавали чистий  $\alpha$ -ТОКА у вигляді водної дисперсії з найбільшою концентрацією,

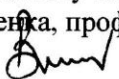
порівняно з двома дослідженими дозами у водорозчинній формі. Впродовж 3-ох місяців контролювали приріст живої маси тіла тварин, а також їх загальний вигляд, клінічний стан та густину шерстного покриву. Після 3-ох місяців визначали масу окремих органів тварин (печінки, селезінки, правої та лівої нирки) і досліджували біохімічні показники сироватки крові: АлАТ, АсАТ, коефіцієнт Рітіса, лужну фосфатазу, загальний білірубін, загальний білок, а також вміст глюкози, амілази, креатиніну та сечовини. Ці показники дозволили оцінити вплив індивідуального  $\alpha$ -ТОКА та препарату, інкапсульованого в різні міцелярні носії, на такі процеси обміну речовин в організмі мишей: білковий і вуглеводневий обмін, а також діяльність печінки, підшлункової залози та нирок. Контролювали також наявність  $\alpha$ -ТОКА в печінці та м'язах тварин.

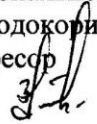
Використання всіх міцелярних систем доставки за обох досліджених концентрацій не призводило до помітного погіршення загального стану тварин та їх активності. За час випробувань жодна тварина не хворіла і не загинула. Більше того, шерстний покрив мишей в дослідних групах був на вигляд більш щільним і блискучим. Через 3 місяці випробувань у межах експериментальної похибки не було зафіксовано змін щодо маси печінки, селезінки та обох нирок тварин у разі використання всіх досліджених міцелярних систем. Разом з тим, було встановлено різний вплив міцелярних носіїв на приріст маси тіла та процеси метаболізму білих мишей, що залежало від будови і розміру носія та ступеня утримування ним аналогу Вітаміну Е (таблиці Додатку до акту випробувань).

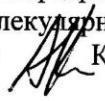
Найменший приріст маси тіла тварин, що супроводжувався певними розладами в роботі їх нирок або сечовивідних протоків, спостерігався за використання міцелярної системи на основі МОПЕО-*b*-ПКЛ. Такі ефекти були обумовлені, з одного боку, сильним утримуванням  $\alpha$ -ТОКА в міцелях даного блок-кополімеру, а з іншого, – циркуляцією міцел з інкапсульованим препаратом по всьому організму. Останній висновок підтвердив факт накопичення  $\alpha$ -ТОКА у м'язовій тканині мишей.

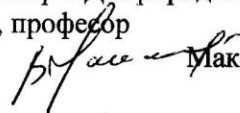
Найкращі показники приросту живої маси тварин, порівняно навіть з дією чистого  $\alpha$ -ТОКА, забезпечило використання міцелярної системи на основі МОПЕО-*b*-ПАК за обох досліджених концентрацій. Це вказувало на добре вивільнення аналогу Вітаміну Е з міцелярного носія в організмі тварин і повне засвоєння. При цьому не відбувалося суттєвих розладів в процесах метаболізму мишей порівняно з впливом чистого  $\alpha$ -ТОКА. Використання даного міцелярного носія навіть покращило деякі біохімічні показники сироватки крові (порівняно з результатами для чистого  $\alpha$ -ТОКА), такі як вміст амілази, креатиніну і сечовини. Разом з тим, було відзначено деяке пригнічення діяльності печінки мишей у разі додавання високої концентрації даної міцелярної системи. На основі

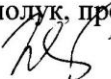
проведених досліджень була показана можливість зниження у 25 разів активної концентрації аналогу Вітаміну Е за збереження ефективності його дії у разі використання міцелярного носія на основі МОПЕО-*b*-ПАК.

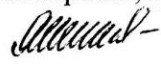
Декан хімічного факультету  
Київського національного  
університету імені Тараса  
Шевченка, професор  
 Воловенко Ю.М

Директор НДІ здоров'я тварин  
Національного університету біоресурсів і  
природокористування України,  
професор  
 Засекін Д.А.

Завідувач кафедри хімії  
високомолекулярних сполук,  
професор  Колендо О.Ю.

Директор НДІ природничих і гуманітарних  
наук, професор  
 Максим В.І.

Провідний науковий співробітник  
кафедри хімії високомолекулярних  
сполук, професор  
 Желтоножська Т.Б.

Завідувач кафедри ветеринарно-санітарної  
експертизи, професор  
 Якубчак О.М.