

УДК 541.183;599.323.4

Флуоресцеїновмісні тераностики на основі псевдополіамінокислот для моніторингу доставки та вивільнення лікарських засобів

С.М. Варваренко¹, В.Я. Самарик¹, В.В. Влізло², Д.Д. Остапів², Н.Г. Носова¹, І.Т. Тарнавчик¹, Н.В. Фігурка¹, М.В. Ференс¹, М.І. Нагорняк¹, Р.С. Тарас¹, І. М. Яремчук², А.С. Воронов³, С.А. Воронов¹

¹Національний університет „Львівська політехніка”

12, вул. С. Бандери, Львів, 79013, Україна

²Інститут біології тварин НААН України

38, вул. В. Стуса, Львів, 79034, Україна

³North Dakota State University NDSU

Dept. 2760, P.O. Box 6050 Fargo, North Dakota 58108-6050

Розглянуто синтез і підтверджено структуру отриманих за реакцією Стегліха макромолекул амфифільних псевдополіамінокислот (амінофункційних кополієстерів), які містять ковалентно приєднані фрагменти флуоресцеїну. Комплекс колоїдно-хімічних властивостей отриманих кополієстерів дає змогу використовувати їх як засоби доставки ліків, які забезпечують візуалізацію, транспортування та вивільнення ліків, що дає змогу відносити їх до систем доставки, які отримали назву «тераностики». Апробація міцелярних розчинів нових флуоресцеїновмісних псевдополіамінокислот як носіїв на живих об'єктах (клітинах) показала здатність їх, за даними флуоресцентної мікроскопії, проникати всередину.

Дослідженням метаболізму та виживання живих клітин оцінено вплив амфифільних флуоресцеїновмісних псевдополіамінокислот на метаболічну активність клітин, їхню цитотоксичність, встановлено межі оптимальної дози кополієстеру – основи тераностика для використання його в живих біологічних об'єктах.

Ключові слова: тераностик, псевдополіамінокислота, клітина, метаболізм.

Вступ.

Тераностики – нові полімерні системи для доставки лікарських засобів, які стали відомі останнім десятиріччям. Вони забезпечують високий рівень діагностичної візуалізації та лікування певних захворювань, у тому числі раку, а також контроль умов і швидкості вивільнення лікарських речовин. Створення тераностиків передбачає синтез гібридних амфифільних макромолекул і формування полімерних матриць носіїв – ліпосом, частинок, міцел, які б забезпечували локалізацію терапевтичних агентів (лікарських форм) і діагностичних речовин (агентів візуалізації) в одному полімерному матеріалі для контрольованого постачання та вивільнення ліків у клітини й їх візуалізації.

Полімерна матриця тераностика, згідно з сучасними вимогами, повинна мати [1, 2]: можливість пролонгованої циркуляції у крові; здатність до акумуляції у зоні патологічного процесу; здатність ефективно

переносити молекули ліків речовини у клітину й окремі органи; візуалізуючий агент у структурі, за допомогою якого можна у реальному часі спостерігати за накопиченням ліків у зонах патологічного процесу; передбачуваний період елімінації з організму, при якому не виникає додаткових подразнень чи алергічних реакцій. При цьому, до полімеру-носія висувається ряд специфічних вимог, таких як розчинність у воді, нетоксичність і біосумісність, наявність функційних груп (–ОН, –NH₂, –СНО, –СООН), до яких за м'яких умов можна приєднувати структурні блоки тераностика.

Нами вперше синтезовано ряд амфифільних полімерів на основі псевдо-поліамінокислот і доведено, що вони характеризуються поверхнево-активними властивостями та утворюють у водних розчинах різноманітні міцелярні асоціати, які здатні транспортувати лікарські

форми в організмі [3–5]. При цьому, вони біодеградабельні, нетоксичні і повністю відповідають сучасним вимогам до полімерів-носіїв. Аналіз літератури показує, що створення полімерних молекул носія з ковалентно приєднаними маркерами, які мають у складі хромофорні групи, дає змогу візуалізувати місцезнаходження макромолекул тераностика в певних органах і тканинах організму [6]. Відомо, що барвник флуоресцеїн широко застосовують у медичній діагностиці. Він біологічно нейтральний, тому його вводять в організм (у кров чи певні тканини), а потім, спостерігаючи флуоресценцію, з'ясовують проникність судин, кровопостачання у різних ділянках шкіри при трансплантації тощо [7]. Якщо флуорохром з'єднується з досліджуваною речовиною ковалентно, інтерпретація результатів вважається найбільш надійною [8].

Мета роботи – синтез нових амфіфільних полімерів-псевдополіамінокислот і флуоресцеїновмісних тераностиків як засобів транспортування лікарських форм, а також дослідження проникнення макромолекул носія, цитотоксичності і впливу на метаболізм клітин.

Експериментальна частина.

Реагенти та розчинники. Поліетиленгліколі (ПЕГ-400÷1200) далі PEG, дипропіленгліколь (ППГ-100) далі DPG (Aldrich). Для очищення від домішок води до відповідного гліколю додавали бензол і відганяли азеотропну суміш бензол–вода. Залишки бензолу видаляли вакуумуванням до постійної маси зразка поліетиленгліколю. N-стеарилглутамінову кислоту (GluSt), N,N'-дициклогексилкарбодіімід (DCC), N,N'-диметиламінопіридин (DMAP), флуоресцеїн далі F (Aldrich) використовували без додаткового очищення. Розчинник бензол марки "ХЧ" додатково очищали за методикою [9].

Синтез псевдополіамінокислот (GluSt-DPG-PEG-F) проводили в середовищі осушеного бензолу через взаємодію діолів DPG і PEG, N-захищеної глутамінової кислоти та флуоресцеїну (за мольного співвідношення реагентів GluSt:DPG:PEG:F, рівного 2:0,6:1,5:0,1). Розчин охолоджували до температури 280 К, при перемішуванні добавляли відповідну кількість 4-диметиламінопіридину та дициклогексилкарбодіімиду у вигляді розчинів в цьому ж розчиннику. Реакційну суміш витримували за температури 288 К протягом 3-х год. і прогрівали ще 3 год. за температури 308 К. Дициклогексилсечовину (DCU) відділяли фільтруванням, а розчин полімеру упарювали. Для очищення псевдополіамінокислот від каталізатора та залишків DCC готували їх розчини у бензолі, тричі промивали 15 %-вим розчином NaCl у 0,1N HCl, 15 %-вим водним розчином NaCl до нейтрального рН, сушили над сульфатом магнію, фільтрували і упарювали. Вихід полімеру становив 92–99 %. Отримані полімери – тверді, легкоотопкі аморфні речовини, безбарвні або солом'яного кольору.

Для вивчення дії флуоресцеїновмісного полімеру GluSt-DPG-PEG-1200-F на метаболізм клітин готували його стерильний 2 %-вий міцелярний розчин у воді

для ін'єкцій (стерилізували 45 хв за $T = 120\text{ }^{\circ}\text{C}$). Як тест-об'єкт використовували статеві клітини свіжоотриманих еякулятів бугаїв (досліджено 6 еякулятів; $n=6$) таких фізіологічних характеристик: об'єм 3÷5 мл, концентрація $0,71 \pm 1,12 \times 10^9$ клітин/мл і кількість живих клітин 65–85 %. Середовищем розрідження сперми був фосфатно-сольовий буфер (ФСБ) складу: NaCl–0,8 г; KCl–0,02 г; Na_2HPO_4 –0,11 г; KH_2PO_4 –0,02 г; MgCl_2 –0,01 г, H_2O до 100 мл.

Методи досліджень.

^1H ЯМР-спектри зразків мономерних фрагментів і псевдополіамінокислот отримували у дейтерохлороформі на приладі JEOL's ECA Series Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectrometer за частоти 400 МГц в автоматичному режимі сканування. Аналіз ПМР-спектрів проводили за таблицями характерних хімічних зсувів, наведених у [10], а також програмою Snem Bio Draw Ultra 11.0.1.

ІЧ-спектри зразків мономерів та олігомерів отримані на приладі Thermo Scientific Nicolet 8700. Тонкі плівки з 10 %-вих розчинів полімерів в ацетоні або інших органічних розчинниках формували на диск KBr. Зразки мономерів (порошки) змішували з подрібненим KBr за співвідношення 1:10 і формували у таблетку товщиною до 0,1 мм. Аналіз ІЧ-спектрів проводили за таблицями характерних частот поглинання [11, 12].

Молекулярну масу визначали гель-проникною хроматографією з використанням хроматографа Waters Corporation, який складався з насоса Waters 515 HPLC, рефрактометричного детектора та набору двох змішаних $10\text{ }\mu\text{m}$ PL-гель хроматографічних колонок.

Вміст карбоксильних груп у продуктах реакції визначали потенціометричним титруванням [13].

Для дослідження і оцінювання впливу амфіфільного полімеру тераностика GluSt-DPG-PEG-1200-F на метаболічну активність клітин проби сперми розбавляли фосфатно-сольовим буфером за співвідношення 1:4. У дослідні проби додавали 2 %-вий міцелярний розчин амфіфільного флуоресцеїновмісного кополімеру тераностика GluSt-DPG-PEG-1200-F в дозах: 0,01, 0,05 і 0,10 мл на мл розрідженої сперми. Як контрольні використовували проби, розріджені фосфатно-сольовим буфером за співвідношення 1:4.

Визначали: виживання клітин (год.) до припинення прямолінійного поступального руху в спермі, збереженій за температури 16–18 $^{\circ}\text{C}$, дихальну активність (ex tempore) – полярографічно (нг-атом $\text{O}/0,1\text{ мл}$ сперми (С)·хв) у термостатованій комірці (температура 38,5 $^{\circ}\text{C}$) об'ємом 1,0 мл з автоматичною реєстрацією перебігу процесу; відновну активність – потенціометрично ($mV/0,1\text{ мл}$ С·хв) з використанням системи відкритих мікроелектродів, які вставляли у полярографічну комірку [14]; активність ензиму сукцинатдегідрогенази (СДГ, од/0,1мл С·год) [15]. Для оцінювання здатності амфіфільного полімеру тераностика GluSt-DPG-PEG-1200-F проникати в клітини і зв'язуватись із їхніми структурними

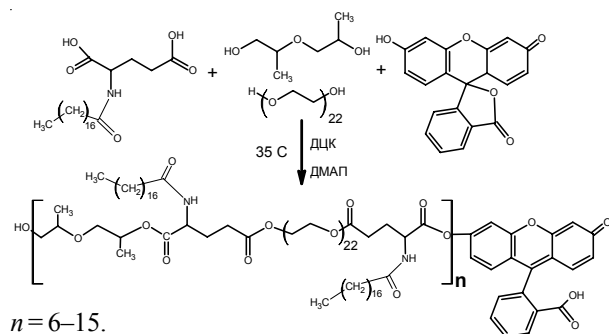


Рис. 1. Схема синтезу флуоресцеїновмісних макромолекул тераностиків (GluSt-DPG-PEG-F) через взаємодію стеарилглутамінової кислоти і поліетерів діолів за наявності флуоресцеїну за реакцією Стегліха

елементами використана люмінесцентна мікроскопія. Статистичний аналіз отриманих результатів проведено за М. О. Плохінським [16].

Результати дослідження та їх обговорення.

Синтез флуоресцеїновмісних амфіфільних псевдополіамінокислот (амінофункційних кополієстерів) з включенням фрагментів флуоресцеїну в основний ланцюг макромолекули здійснювали через кополіконденсацію реагентів у бензолі за схемою:

Синтез флуоресцеїновмісних макромолекул тераностиків (GluSt-DPG-PEG-F) через взаємодію стеарилглутамінової кислоти та поліетерів діолів за наявності флуоресцеїну здійснювали за реакцією Стегліха. Відомо, що реакція Стегліха перебігає при активації карбоксильних груп (у нашому випадку стеарилглутамінової кислоти) N,N' -дициклогексилкарбодіїмідом з подальшою взаємодією активованої форми з субстратом нуклеофільної природи (у нашому випадку діоли та флуоресцеїн). При завантаженні реагентів за співвідношень, близьких до еквімолярних, перебіг реакції приводить до отримання псевдополіамінокислоти (рис. 1). Заміна частини діолів на флуоресцеїн у реакції кополіконденсації дала можливість отримати флуоресцеїновмісний кополієстер GluSt-DPG-PEG-F.

У неводних середовищах (бензол) флуоресцеїн може існувати у декількох таутомерних формах, які відрізняються кількістю реакційноздатних груп. Вважається, що за цих умов найбільш імовірно є структура, яка передбачає наявність одного фенольного гідроксилу та карбоксильної групи у вигляді лактону (рис. 1) [17, 18]. Дійсно, нами встановлено, що при синтезі кополієстерів на основі стеароїлглутамінової кислоти та поліетердіолів за реакцією Стегліха молекули флуоресцеїну обривають матеріальні ланцюги кополієстерів з утворенням відповідних кінцевих фрагментів макромолекул (рис. 1). Результати тонкошарової хроматографії вказують на відсутність не прищепленого флуоресцеїну у складі реакційної суміші.

Разом з тим, під час очищення та виділення кополієстеру відбувається розкриття лактону і утворення

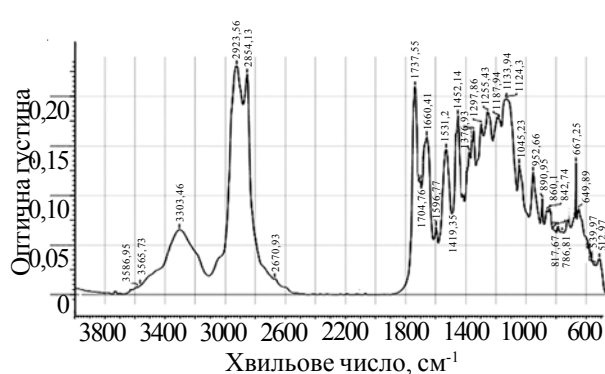


Рис. 2. ІЧ-спектр флуоресцеїновмісної псевдополіамінокислоти GluSt-DPG-PEG-F

карбоксильної групи у складі фрагмента флуоресцеїну з одночасним формуванням хромофорної системи спряжених зв'язків. На це вказує збільшення інтенсивності флуоресценції за збільшення рН водного розчину тераностика у порівнянні з флуоресценцією кополієстеру в конденсованій фазі. Структуру отриманих кополієстерів підтверджено ІЧ- та ЯМР-спектроскопією. Наявність в ІЧ-спектрах (рис. 2) синтезованих продуктів смуг поглинання з частотами 2923 (ν_s , CH_2 , CH_3), 2854 (ν_s , CH_2 , CH_3), 1452 (δ_s , CH_2 , CH_3), 1348 (δ_s , CH_3) та 1045 cm^{-1} (ν , $\text{C}-\text{C}$) підтверджує наявність аліфатичних фрагментів у складі полімерів, зокрема залишку стеаринової кислоти та фрагментів дипропіленгліколю.

Наявність естерних груп у складі молекул підтверджується наявністю смуг поглинання 1737 (ν , $\text{C}=\text{O}$) та 1188 cm^{-1} (ν , $\text{O}-\text{C}-\text{O}-\text{C}$). Входження поліоксіетиленового фрагмента у склад псевдополіамінокислот підтверджується наявністю смуги поглинання 1124 cm^{-1} (ν , $\text{C}-\text{O}-\text{C}$). Наявність смуг поглинання 1596, 1419 і 786 cm^{-1} підтверджує наявність фрагментів флуоресцеїну в макромолекулі. Крім того, у спектрах наявні характерні для амідної групи смуги поглинання 3300 (ν_{NH}), 1660 (ν , $\text{C}=\text{O}$) та 1531 cm^{-1} (δ , NH), які належать стеароїл-заміщеній аміногрупі глутамінової кислоти. Разом з тим, слід відмітити, що у всіх спектрах синтезованих псевдополіамінокислот відсутні характерні смуги поглинання для N,N' -дициклогексилкарбодіїмиду (2120 cm^{-1} , ν , $\text{N}=\text{C}$) та 4-диметиламінопіридину (1605 cm^{-1} , δ_s , $\text{C}-\text{NH}-\text{C}$), що підтверджує відсутність цих домішок у полімерах.

На рис. 3 та 4 наведені схема віднесення сигналів протонів у структурі GluSt-DPG-PEG-F і ^1H ЯМР-спектр флуоресцеїновмісної псевдополіамінокислоти.

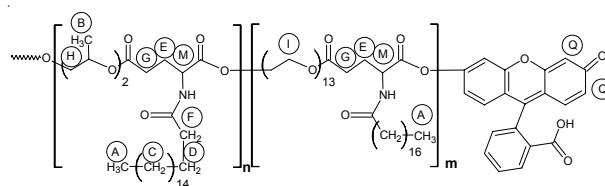


Рис. 3. Схема віднесення сигналів протонів у структурі GluSt-DPG-PEG-F

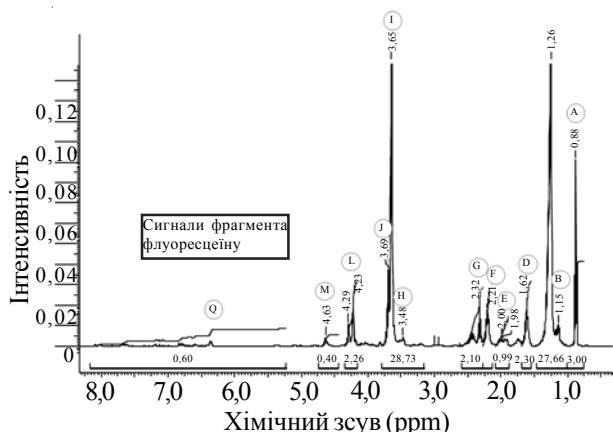


Рис. 4. ^1H ЯМР-спектр флуоресцеїновмісної псевдополіамінокислоти GluSt-DPG-PEG-600-F

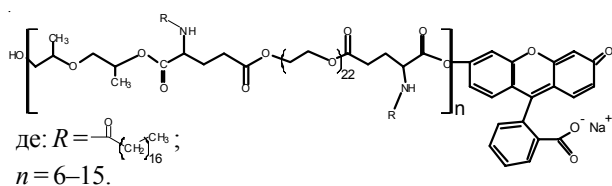


Рис. 5. Структура псевдополіамінокислоти GluSt-DPG-PEG-F у фосфатно-сольовому буферному розчині

Порівняльна оцінка загальної інтегральної інтенсивності сигналів протонів у складі фрагмента флуоресцеїну (5,9–7,7 ppm) і протонів $\alpha\text{-CH}$ -груп глутамінової кислоти (4,75 ppm) у поліестері дає змогу оцінити співвідношення вмісту люмінофору і ланок амінокислоти у поліестері. Розрахунок співвідношень інтегралів вказує на наявність однієї молекули флуоресцеїну на 8–10 ланок N-стеароїлглутамінової кислоти. Таке співвідношення при молекулярній масі кополіестеру 4–6 тис. забезпечує наявність фрагмента флуоресцеїну в кожній другій макромолекулі псевдополіамінокислоти.

Синтезовані кополіестеретери мають амфіфільні властивості завдяки наявності в макромолекулі гідрофільних і ліпофільних фрагментів, а фрагмент хромофору (флуоресцеїну) в структурі макромолекули забезпечує емісію електронів – люмінесценцію (візуалізацію) при опроміненні світлом з довжиною хвилі 360–450 нм. У водному середовищі за наявності фосфатно-сольового буферного розчину відбувається часткова нейтралізація карбоксильної групи у фрагменті флуоресцеїну в макромолекулі тераностика (рис. 5). Це істотно збільшує інтенсивність люмінесценції фрагментів і дає змогу візуалізувати їх локалізацію у клітинах за допомогою люмінесцентної мікроскопії.

Амфіфільні кополіестери з флуоресцентним фрагментом у структурі макромолекули мають поверхнево-активні властивості – знижують поверхневий натяг на межі розділу вода–повітря до 35–40 мН/м, характеризуються величиною критичної концентрації

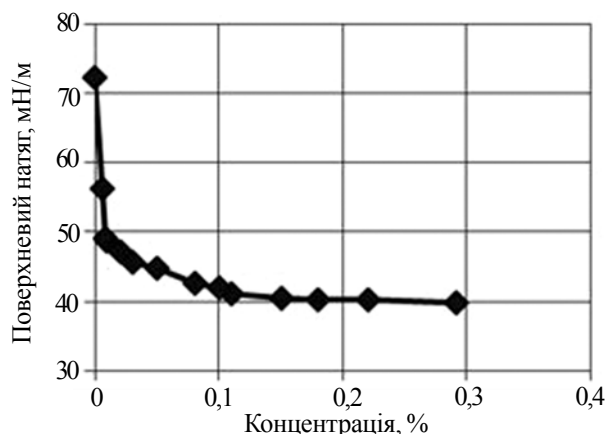


Рис. 6. Ізотерма поверхневого натягу GluSt-DPG-PEG-600-F

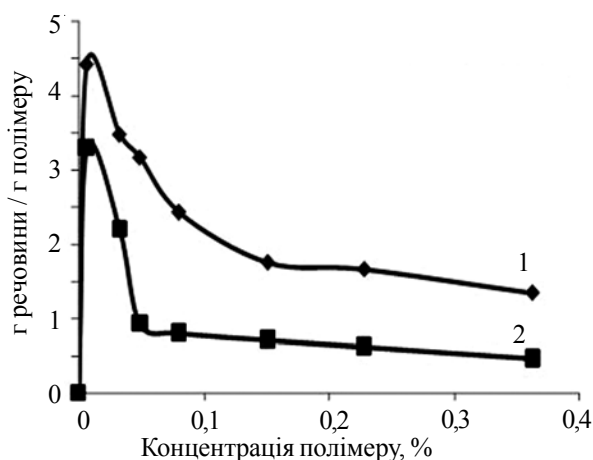


Рис. 7. Солюбілізація судану (1) і куркуміну (2) міцелами GluSt-DPG-PEG-1200-F

міцелоутворення (ККМ) у межах $0,012 \pm 0,007\%$ (рис. 6) і утворюють міцелярні структури, які здатні до солюбілізації малорозчинних у воді сполук (рис. 7), а саме судану ($4,0 \pm 4,5$ г судану на г полімеру) та куркуміну ($3,0 \pm 3,5$ г куркуміну на г полімеру).

Дослідження розмірів частинок міцел та аналіз наведеного розподілу сумісно з ізотермами поверхневого натягу показує, що за концентрацій, більших за ККМ, формуються міцелярні агрегати розміром 80 ± 110 нм (рис. 8).

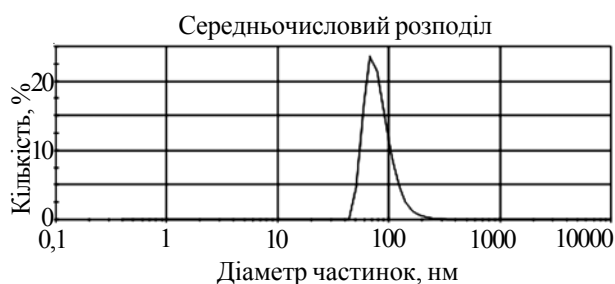


Рис. 8. Середньочисловий розподіл міцел наноносія тераностика GluSt-DPG-PEG-F за концентрації 0,025 %

Таблиця. Активність ензиму сукцинатдегідрогенази та виживання клітин за дії кополіестеру GluSt-DPG-PEG-1200-F

№ п/п	Умови інкубування клітин	V*, мл	Якість статевих клітин (усереднені значення)	
			виживання, год.	активність СДГ, од/0,1мл С·год.
1	Контрольні проби (клітини : ФСБ = 1:4)	-	124,0±6,73	34,2±3,42
2	Дослідні проби (ФСБ+2,0% GluSt-DPG-PEG-F)	0,01	132,0±4,90	50,0±5,27**
3		0,05	120,0±5,66	36,7±6,84
4		0,10	124,0±3,65	33,3±9,10

Примітки. *Кількість доданого міцелярного розчину кополіестеру GluSt-DPG-PEG-1200-F. **Різниця статистично вірогідна порівняно з контролем: $p < 0,05$.

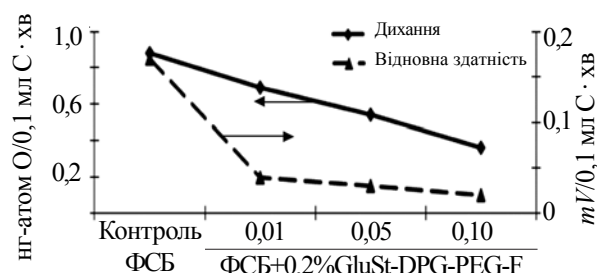


Рис. 9. Залежність дихальної активності та відновної здатності клітин сперми від кількості доданого розчину кополіестеру GluSt-DPG-PEG-1200-F

Отримані міцелярні агрегати псевдополіамінокислот GluSt-DPG-PEG-F мають розмір, який дає змогу їм проникати в клітини, ковалентно зв'язані фрагменти флуоресцеїну в їх структурі надають їм здатність до флуоресценції. Вони сольобілізують нерозчинні у воді лікарські засоби (рис. 7). Отже отримані макромолекули флуоресцеїновмісних псевдополіамінокислот GluSt-DPG-PEG-F мають властивості тераностиків.

Міцелярні розчини отриманих тераностиків досліджували у процесах взаємодії з мембранами та органами клітин на прикладі тест-об'єкту – спермійв бугаїв. Встановлено, що інтенсивність споживання кисню клітинами становить 0,88 нг-атом О/0,1 мл С · хв. і пропорційно знижується за додавання полімеру на 21,4; 38,7 і 59,1 % при використанні 0,01; 0,05 і 0,10 мл розчину GluSt-DPG-PEG-1200-F відповідно (рис. 9).

Аналогічні зміни спостерігали при дослідженні відновної здатності, яка нижча на 76,2; 82,2 і 89,3 % при додаванні 0,01; 0,05 і 0,10 мл GluSt-DPG-PEG-1200-F відповідно, порівняно з контролем (0,17 mV/0,10 мл С·хв). Отже, додавання до сперми наростаючих доз кополіестеру GluSt-DPG-PEG-1200-F призводить до гальмування окисних процесів метаболізму в клітинах. Разом з тим, введення 0,01 мл кополіестеру GluSt-DPG-PEG-1200-F в розріджену сперму підвищує активність сукцинатдегідрогенази на 31,6 % ($p < 0,05$) і на 6,1 % виживання клітин (таблиця). При наступному підвищенні дози полімеру (0,05 і 0,10 мл) у зразках сперми активність СДГ і виживання клітин перебувають на рівні контролю і становлять 33,3±36,7 од/0,1мл С·год. і 120±124 год. відповідно.

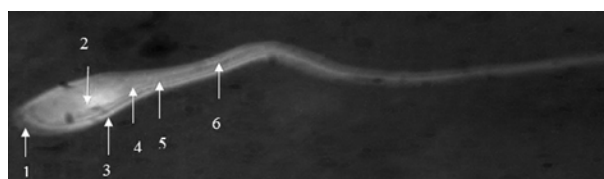


Рис. 10. Фотографія люмінесцентної мікроскопії спермія бугая за впливу флуоресцеїновмісного кополіестеру GluSt-DPG-PEG-1200-F; збільшення x900

Ймовірно, кополіестер GluSt-DPG-PEG-1200-F взаємодіє з компонентами як плазматичної мембрани (білками й ліпідами), так і з органелами (мітохондріями) після проникнення у клітину. При цьому кополіестер GluSt-DPG-PEG-1200-F дозою 0,01 мл впливає на використання субстратів живими сперміями, що проявляється активуванням ФАД-залежної ланки ланцюга дихання мітохондрій (ензим СДГ) і підвищенням фізіологічної характеристики – часу виживання. Це припущення підтверджується здатністю кополіестеру GluSt-DPG-PEG-1200-F проникати у клітину і взаємодіяти зі структурами клітин: мембраною (рис. 10, 3), проникати в голівку (рис. 10, 2), шийку (рис. 10, 4) і тіло (рис. 10, 5).

Як видно з отриманих результатів (рис. 10), полімер, проникаючи в клітину через мембрану (пасивним транспортом чи змінюючи проникливість), у тому числі й мітохондрій, впливає на активність окремих ензимів, зокрема сукцинатдегідрогенази. Менш інтенсивно кополіестер GluSt-DPG-PEG-1200-F зв'язується з акросомою (рис. 10, 1) і центральними осьовими волокнами хвоста (рис. 10, 6) – внутрішній акросомальний простір і центральні осьові волокна зафарбовуються слабше, порівняно з іншими структурними елементами.

Висновки.

Синтезовані нові амфифільні полімери – флуоресцеїновмісні тераностики через кополіконденсацію стеароїлглутамінової кислоти та полідіолів за наявності флуоресцеїну і встановлена можливість їх використання як засобів доставки ліків. Показано, що кополіестер GluSt-DPG-PEG-1200-F проникає в структурні

компоненти клітин і може бути візуалізований методом люмінесцентної мікроскопії. Встановлено межі оптимальної дози кополіестеру GluSt-DPG-PEG-1200-F

для використання його в живих клітинах дослідженням метаболізму тест-об'єктів, активності ФАД-залежної ланки ланцюга дихання та виживання сперміїв.

Література

1. *Torchilin V.P.* Multifunctional nanocarriers // *Adv. Drug. Ddiv. Rev.* - 2006. – **59**, № 14. - P. 1532-1555.
2. *Gross L., Ringsdorf H., Schupp H.* Polymeric Anti-Tumor Agents on a Molecular and on a Cellular Level // *Angew. Chem. Int. Edit.* - 1981. – **20**, № 4. - P. 305-325.
3. S. Varvarenko, I. Tarnavchuk, A. Voronov et. Synthesis and colloidal properties of polyesters based on glutamic acids and glycols of different nature // *Chemistry and Chemical Technology.* - 2013. – **7**, № 2. - P.164-168.
4. Варваренко С.М., Фігурка Н.В., Самарик В.Я. та ін. Синтез та поверхнево-активні властивості нових поліестерів – псевдополіамінокислот на основі природних двоосновних α-амінокислот // *Доп. НАН України.* - 2013. - № 5. - С. 131-139.
5. Варваренко С.М., Фігурка Н.В., Самарик В.Я. та ін. Нові амфифільні поліестери псевдополіамінокислоти на основі природних двоосновних α-амінокислот та діолів, одержані через реакцію естерифікації Стегліха // *Полімер. журн.* - 2013. – **35**, № 3. – С. 282-290.
6. *Shimizu N, Kawazoe Y.* A new method for permeabilization of the plasma membrane of cultured mammalian cells. III. Internalization of fluorescent dextrans into cultured mammalian cells by vortex-stirring in the presence of high molecular weight polyacrylic acid. // *Biol. Pharm Bull.* - 1996. – **19**, № 8. - P. 1023-1028.
7. *Барский И.Я., Поляков Н.И., Якубскас В.А.* Контактная микроскопия. - М.: Медицина, 1976. - 159 с.
8. *Фрайштат Д.М.* Реактивы и препараты для микроскопии. - М.: Химия, 1980. - 480 с.
9. *Вайсберг А., Проскауэр Э., Риддис Д. и др.* Органические растворители. – М.: Иностран. л-ра, 1976. – 541 с.
10. *Казицина Л.А., Куплетская Н.Б.* Применение УФ-, ИК-, ЯМР- спектроскопии в органической химии. – М.: Высшая школа, 1971. – 264 с.
11. *Белами Л.* Инфракрасные спектры сложных молекул./ Белами Л. [Пер. с английского Акимова В.М., Пентина Ю.А., Тетерина Ю.Г. под ред. Пентина Ю.А.]. – М.: Изд-во иностр. л-ры, 1963. – 590 с.
12. *Workman J.* Handbook of Organic Compounds. Ni, Ir, Raman, and Uv-Vis Spectra Featuring Polymers and Surfactants // San Diego: Buckram Pabliher. AcademicPress. - 2001. – 428 p.
13. *Торопцева А.М., Белгородская К.В., Бондаренко В.М.* Лабораторный практикум по химии и технологии высокомолекулярных соединений. – Л.: Химия, 1976. – 415 с.
14. Амперометрическое определение ферроцианида в присутствии субклеточных структур / К.Ф. Штольц, И.М. Мосолова, Л.А. Дронова. Биохимические методы. – М.: Наука, 1980. – С. 147–150.
15. *Чухрій Б.М., Клевець Л.О., Остапів Д.Д.* Колориметричний спосіб визначення активності сукцинатдегідрогенази в спермі бугаїв. // *Вісн. аграрної науки*, 1995. – № 11. – С. 73–75.
16. *Плохинский Н.А.* Биометрия. – М.: МГУ, 1970. – С. 53–60.
17. *Jang Y.H., Hwang S., Chung D.S.* // *Chem. Lett.* – 2001. – P. 1316-1317.
18. *Мчедлов-Петросян Н.О.* Флуоресцеиновые красители в растворах – хорошо изученные системы? // *Вісн. Харків. нац. ун-ту.* – 2004. – № 626. Хімія. – Вип. 11(34). – С. 221–312.

Надійшла до редакції 11 грудня 2014р.

Флуоресцеиносодержащие тераностики на основе псевдополиаминокислот для мониторинга доставки и высвобождения лекарственных средств

С.М. Варваренко¹, В.Я. Самарик¹, В.В. Влизло², Д.Д. Остапів², Н.Г. Носова¹, И.Т. Тарнавчик¹, Н.В. Фигурка¹, М.В. Ференс¹, М.И. Нагорняк¹, Р.С. Тарас¹, И.М. Яремчук², А.С. Воронов³, С.А. Воронов¹

¹Национальный университет „Львівська політехніка”

12, ул. С. Бандеры, Львов, 79013, Украина

²Институт биологии животных НААН Украины

38, ул. В. Стуса, Львов, 79034, Украина

³North Dakota State University NDSU

Dept. 2760, P.O. Box 6050 Fargo, North Dakota 58108-6050

Рассмотрен синтез и подтверждена структура полученных за реакцией Стеглица макромолекул амфифильных псевдополиаминокислот (аминофункциональных сополиэфиров), которые содержат ковалентно присоединенные фрагменты флуоресцеина. Комплекс коллоидно-химических свойств полученных сополиэфиров позволяет использовать их в качестве средств доставки лекарств, которые обеспечивают визуализацию, транспортировку и высвобождение лекарств, что позволяет относить их к системам доставки получивших название «тераностики». Апробация мицеллярных растворов новых флуоресцеиносодержащих псевдополиаминокислот как носителей на живых объектах (клетках) показала их способность, по данным флуоресцентной микроскопии, проникать внутрь. Исследованием метаболизма и выживания живых клеток оценено влияние амфифильных флуоресцеиносодержащих псевдополиаминокислот на метаболическую активность клеток, их цитотоксичность, установлены границы оптимальной дозы сополиэфира – основы тераностика для использования его в живых биологических объектах.

Ключевые слова: тераностик, псевдополиаминокислота, клетка, метаболизм.

Fluorescein-containing theranostics based on the pseudo-poly(amino acid)s for monitoring of drug delivery and release

S. Varvarenko¹, V. Samaryk¹, V. Vlizlo², D. Ostapiv², N. Nosova¹, I. Tarnachyk¹, N. Fihurka¹, M. Ferens¹, M. Nagornyak¹, R. Taras¹, M. Yaremchuk¹, A. Voronov³, S. Voronov¹

¹Lviv Polytechnic National University

12, S. Bandera str., Lviv, 79013, Ukraine

²Institute of animal biology NAAS of Ukraine

38, V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

³North Dakota State University NDSU

Dept. 2760, P.O. Box 6050 Fargo, North Dakota 58108-6050

The synthesis of amphiphilic pseudo-poly(amino acid)s (aminofunctional copolyesters) containing covalently grafted fluorescein was developed and structure thereof was confirmed. Such copolyesters colloidal properties allow using them as drug delivery carriers providing visualization, drug transport and release. This allows considering them as so-called theranostics. Approbation of micellar solution of novel fluorescein-containing pseudo-poly(amino acid)s as carriers in live cells showed their ability to penetrate into cells according to the fluorescent microscopy.

The study of metabolism and live cells survival estimated the effect of amphiphilic fluorescein-containing pseudo-poly(amino acid)s on metabolic cell activity and cytotoxicity thereof. Thus, optimal limits of copolyester dosage – theranostic base – for usage in living biological objects were determined.

Keywords: theranostic, pseudo-poly(amino acid), cell, metabolic.