

Д. В. Кулеш, Л. Ю. Нечаєва, Н. А. Галатенко

Динаміка вивільнення синтетичного імуностимулятора метилурацилу з полімерної композиції, призначеної для імплантації в умовах *in vitro*

(Представлено академіком НАН України Є. В. Лебедєвим)

Вивчено динаміку вивільнення синтетичного імуностимулятора метилурацилу в умовах *in vitro* з поліуретанового носія. В результаті проведеного дослідження показано, що метилурацил, іммобілізований на поліуретановій матриці, пролонговано вивільняється в модельне середовище впродовж 84-х діб, при цьому понад 50% введеного метилурацилу – вже до 14-ї доби дослідження, що може сприяти підвищенню ефективності регенераторних процесів у місці імплантації на початкових стадіях післяопераційного періоду.

На сьогодні різні види синтетичних полімерів знаходять все більше застосування в медичній практиці як імплантати. Серед основних полімерів можна виділити поліоксіалканоати, поліметилметакрилати, поліетилен, політетрафторетилен, поліпропілен, поліуретани тощо [1, 2]. Згідно з публікацією [3], поліуретани є перспективними імплантаційними матеріалами. Це пов'язано насамперед з наявністю в їх структурі уретанової групи $-\text{NH}-\text{CO}-\text{O}-$, близькою за хімічною природою до пептидного зв'язку $-\text{NH}-\text{CO}-$, що входить до складу білкової молекули і є складовою живого організму. Поліуретани є класом полімерів, що піддаються неферментативному гідролізу та клітинній деструкції при імплантації в живий організм [4, 5]. Крім того, їх використовують як матрицю, в склад якої можливе введення біологічно активних речовин для стимуляції та прискорення біологічних процесів в організмі.

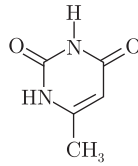
Відомо, що іммобілізація біологічно активних речовин на полімерній матриці дозволяє посилювати терапевтичну дію іммобілізованого препарату безпосередньо в місці імплантації, а також пролонгувати його терапевтичний ефект [6–8]. Пролонгація дії лікарських сполук представляє значний інтерес для таких напрямів медицини, як хіміотерапія і замісна терапія, для яких необхідна довготривала й постійна концентрація препарату в біологічних середовищах [9].

Досліди *in vitro*, що направлені на визначення динаміки вивільнення іммобілізованих на полімерній матриці речовин, дозволять спрогнозувати кількість вивільнення біологічно активної речовини за визначений період часу.

Мета роботи – вивчення динаміки вивільнення синтетичного імуностимулятора метилурацилу (МУ) з поліуретанового носія в умовах *in vitro*.

Метилурацил (2,4-діоксо-6-метил-1,2,3,4-тетрагідропіримідин) – відомий лікарський препарат, який за хімічною будовою відноситься до похідних піримідину. Відомо, що останні входять у структуру нуклеїнових кислот (ДНК й РНК) та беруть участь у синтезі білків [10]. Ще в 60-х роках минулого століття Н. В. Лазарєвим та іншими науковцями доведено, що похідні піримідину здатні стимулювати репаративну регенерацію шкіри у тварин і людей при опіках, трофічних виразках, пролежнях, ранах. В результаті метилурацил здобув широке застосування в клінічній практиці [11–13]. Експериментально встановлено, що МУ та-

кож має анаболічну й антикатаболічну активність, сприяє загоєнню ран, стимулює клітинні і гуморальні чинники імунітету, має протизапальну дію, покращує трофіку тканин [14, 15]. Структурну формулу метилурацилу представлено схемою



Як полімерну матрицю використовували біосумісний, здатний до біодеструкції, олігоєфіруретандіізоціанат на основі поліоксипропіленгліколю з молекулярною масою 2000 та суміші 2,4- й 2,6-толуїлендіізоціанату (ТДІ) з масовими частками 80/20, вміст вільних NCO-груп становив 7,78%.

Були отримані полімерні композиції з 2% за масою МУ, а також зразки поліуретану (ПУ) без вмісту метилурацилу як контроль. Полімерні композиції отримували при механічному перемішуванні олігоєфіруретандіізоціанату з метилурацилом та додаванням прискорювача полімеризації (ПП-606/2) при кімнатній температурі. Отриману суміш виливали в спеціальні форми з фторопласту та сушили в термостаті при температурі 70 °С. Отверднені поліуретанові композиції мали вигляд дрібнопористих губок.

Динаміку вивільнення метилурацилу, іммобілізованого на поліуретановій матриці, визначали спектрофотометричним методом. Для цього отримані полімерні губки (зразок № 1 — ПУ + ПП-606/2 (контроль), зразок № 2 — ПУ + ПП-606/2 + 2% за масою МУ) поміщали в бюкси з притертими пробками, додавали по 40 мл дистильованої води та інкубували в термостаті при (37 ± 1) °С. Періодично витяжки зливали та реєстрували оптичну густину на спектрофотометрі “Spesord M40” у кюветах з товщиною оптичного шару 10 мм. За контрольний використовували розчин витяжки із зразка № 1. У процесі аналізу порції дистильованої води замінювали свіжими. УФ-спектри поглинання досліджуваних розчинів МУ до і після експозиції полімерних зразків у вказаних умовах ідентичні спектру самого метилурацилу.

Спектр поглинання метилурацилу мав максимум при довжині хвилі $\lambda = (260 \pm 1)$ нм. Для перевірки виконання закону Бера та побудови калібрувального графіка залежності оптичної густини розчинів від їхньої концентрації було приготовлено серію водних розчинів МУ з концентраціями, %: 0,00025; 0,0005; 0,00075; 0,001.

Калібрувальний графік являв собою пряму лінію в усьому інтервалі досліджуваних концентрацій (рис. 1). Оптичну густину ($D_{сер}$) розчинів зразка № 2 в максимумі смуги поглинання та концентрації МУ в них, які обчислили за цим графіком, демонструє в табл. 1.

Кількість метилурацилу, що вивільнився з полімерних зразків, розраховували за формулами:

$$МУ = C \cdot V \cdot n,$$

$$МУ = \frac{МУ(мг)}{m} \cdot 100\%,$$

де МУ — кількість метилурацилу, що вивільнився, мг; C — концентрація МУ, що знайдена за калібрувальним графіком, %; V — об’єм розчину, в якому відбувалося вимивання, мл; n — ступінь розведення розчину в процесі аналізу, рази.

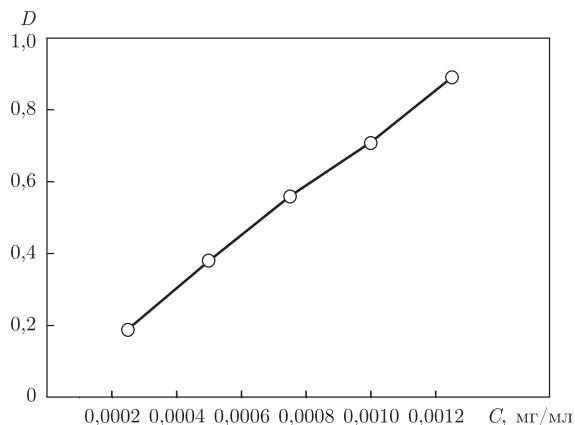


Рис. 1. Залежність оптичної густини водних розчинів метилурацилу при $\lambda = 260$ нм від їх концентрації

Результати спектрофотометричних досліджень та розрахунків представлені в табл. 2. Схематично динаміку вивільнення МУ представлено на рис. 2.

Таким чином, в результаті проведеного дослідження показано, що близько 80% метилурацилу вивільнялося з полімерної матриці впродовж 84-х діб, при цьому понад 50% — вже до 14-ї доби дослідження. Це може мати позитивний вплив на гістоморфологічні про-

Таблиця 1

Час вимивання, доба	Оптична густина витяжки	Ступінь розбавлення	Об'єм витяжки, мл	$C_{МУ}$ у витяжці, %
1	0,5716	10	40	0,00076
3	1,0588	10	40	0,00142
7	0,7400	20	40	0,00099
14	0,5843	20	40	0,00078
28	0,4727	20	40	0,00063
42	0,3673	10	40	0,00049
56	0,4069	5	40	0,00051
70	0,5424	—	40	0,00073
84	0,5626	—	20	0,00075

Таблиця 2

Час вивільнення, доба	Кількість метилурацилу			Метрологічні характеристики	
	вивільнений з моменту попереднього вимірювання, мг	вивільнений від початку дослідження, мг	що вивільнився, %	S_x	E_α
1	0,00304	0,00304	7,60	0,312	0,867
3	0,00568	0,00872	21,80	0,401	1,115
7	0,00792	0,01664	41,60	0,203	0,564
14	0,00624	0,02288	57,20	0,109	0,303
28	0,00504	0,02792	69,80	0,086	0,239
42	0,00196	0,02988	74,70	0,092	0,256
56	0,00108	0,03096	77,40	0,024	0,067
70	0,00029	0,03125	78,13	0,077	0,214
84	0,00015	0,03140	78,50	0,064	0,178

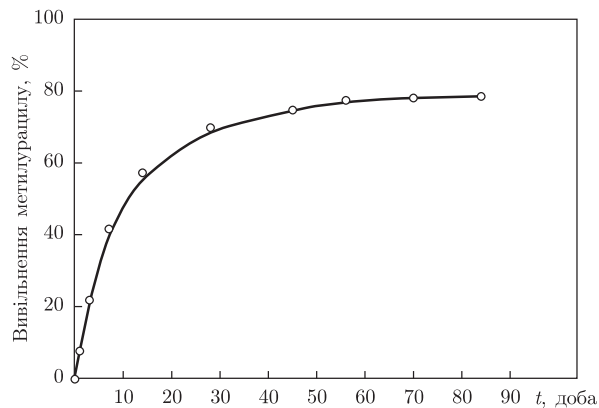


Рис. 2. Динаміка вивільнення метилурацилу з поліуретанових зразків

цеси в місці імплантації на початкових стадіях післяопераційного періоду, що сприятиме підвищенню ефективності регенераторних процесів.

1. Бакаева Т. В. Современные биоинтегрируемые имплантационные материалы, применяемые в хирургии орбиты экспериментально-клиническое исследование: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.01.07 "Глазные болезни". – Москва, 2011. – 20 с.
2. Николаев О. О. Композиционные материалы медицинского назначения на основе смесей сверхвысокомолекулярного полиэтилена и полисилоксана: Автореф. дис. ... канд. техн. наук: спец. 02.00.16 "Медицинская химия". – Ст.-Петербург, 2000. – 20 с.
3. Grigoreva M. V. Polyurethane composites as drug carriers: release patterns // *Biotechnol. Acta.* – 2013. – 6, No 5. – P. 41–48.
4. Пхакадзе Г. А. Биодеструктурируемые полимеры. – Киев: Наук. думка, 1990. – 160 с.
5. Буренко Г. В., Галатенко Н. А., Кабак К. С. и др. Морфологические и биохимические аспекты биодеструкции полимеров. – Киев: Наук. думка, 1986. – 152 с.
6. Жерновая Л. М., Руденко А. В., Луговская Г. Г. и др. Биосовместимые ПУ-композиции с антибактериальной активностью // Доп. НАН України. – 2002. – № 5. – С. 185–189.
7. Мазур Л. М., Будилова И. Ю., Нечаева Л. Ю., Галатенко Н. А. Изучение динамики выхода лекарственного вещества из полимерной композиции с антинаркотическим действием // Там само. – 2004. – № 2. – С. 157–160.
8. Григор'єва М. В., Мазур Л. М., Галатенко Н. А. Медико-біологічні аспекти оцінки полімерної депо-форми антаксону // Пласт. та реконструкт. хірургія. – 2005. – № 1(IV). – С. 23–31.
9. Макаров К. А., Кибардин С. А. Иммуобилизованные биопрепараты в медицине. – Москва: Медицина, 1980. – 128 с.
10. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Леман И. Основы биохимии. – Москва: Мир, 1981. – Т. 2. – 691 с.
11. Камиллов Ф. Х., Лазарева Д. Н., Плечев В. В. Пиримидины и их применение в медицине. – Уфа: Изд-во Башкир. гос. мед. ин-та, 1992. – 156 с.
12. Билич Г. Л., Колла В. Э. Регуляция регенерации – клетка, ткань, организм // Фармакологическая регуляция регенераторных процессов в эксперименте и клинике: (Межвуз. сб. ГГУ). – Горький: Изд-во Горьк. ун-та, 1978. – С. 10–20.
13. Лазарева Д. Н., Волков С. С., Зарудный Ф. С. Иммунная система и регенераторные процессы // Иммунология. – 1995. – № 4. – С. 59–61.
14. Ноздрин В. И., Белоусова Т. А., Яцковский А. Н. Морфологические аспекты дерматотропного действия метилурацила в условиях кожного применения // Морфология. – 2002. – № 5. – С. 74–78.
15. Толстиков Г. А., Исмагилова А. Ф., Зарудный Ф. С. и др. Влияние некоторых производных пиримидина на репаративную регенерацию кожи лабораторных животных при стрессе // Эксперим. и клин. фармакология. – 2000. – № 4. – С. 68–69.

Інститут хімії високомолекулярних сполук
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 20.08.2014

Д. В. Кулеш, Л. Ю. Нечаева, Н. А. Галатенко

Динамика высвобождения синтетического иммуностимулятора метилурацила из полимерной композиции, предназначенной для имплантации в условиях *in vitro*

*Изучена динамика высвобождения синтетического иммуностимулятора метилурацила в условиях *in vitro* из полиуретанового носителя. В результате проведенного исследования показано, что метилурацил, иммобилизованный на полиуретановой матрице, пролонгировано высвобождался в модельную среду в течение 84-х сут, при этом больше 50% введенного метилурацила — уже до 14-ти сут исследования, что может способствовать повышению эффективности регенераторных процессов в месте имплантации на начальных стадиях послеоперационного периода.*

D. V. Kulyesh, L. U. Nechaeva, N. A. Galatenko

The dynamics of freeing of the synthetic immunostimulator methyluracilum from a polymeric composition intended for the implantation *in vitro*

*The dynamics of freeing of the synthetic immunostimulator (methyluracilum) from polyurethane is studied *in vitro*. It is shown that methyluracilum immobilized on a polyurethane matrix prolongedly frees itself in a model medium during 84 days. Thus, above 50% of the entered methyluracilum has freed itself already in 14 days that can assist an increase of the efficiency of regenerator processes at the place of implantation on the initial stages of the postoperative period.*