

**ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ СОРАСТВОРИТЕЛЕЙ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ
ПОРФИРИНОВ С ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫМ СОПОЛИМЕРОМ
НА ОСНОВЕ ДЕКСТРАНА И ПОЛИ(N-ИЗОПРОПИЛАКРИЛАМИДА)**

**IMPACT OF ORGANIC CO-SOLVENTS ON THE INTERACTION
OF PORPHYRINS WITH A THERMOSENSITIVE COPOLYMER BASED
ON DEXTRAN AND POLY(N-ISOPROPYLACRYLAMIDE)**

**И. В. Коблов^{1,2}, В. Каскех², И. Е. Кравченко¹,
Т. Е. Зорина¹, Н. В. Куцевол³, В. П. Зорин^{1,2}**

I. V. Kablov^{1,2}, V. Kaskeh², I. E. Kravchenko¹, T. E. Zorina¹, N. V. Kutsevol³, V. P. Zorin^{1,2}

¹Белорусский государственный университет, БГУ, г. Минск, Республика Беларусь

²Учреждение образования «Международный государственный экологический институт
имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ
г. Минск, Республика Беларусь
vpzorin@mail.ru

³Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, г. Киев, Украина

¹Belarusian State University, BSU, Minsk, Republic of Belarus

²International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU
Minsk, Republic of Belarus

³Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

«Умные» наноматериалы являются привлекательным инструментом для разработки новых фармакологических форм при инкапсуляции лекарственных соединений. Ранее нами была показана способность термочувствительного сополимера на основе декстрана и поли-N-изопропилакриламида с температурой фазового превращения 34-35 °С образовывать комплексы с арилзамещёнными порфиринами (АП). В данной работе спектрально-флуоресцентными методами было изучено влияние сорастворителей (этанола и диметилсульфоксида) на степень взаимодействия полимера с 5,10,15,20-тетра-(4-гидроксифенил)хлорином и 5-(4-гидроксифенил)-10,15,20-трифенилпорфирином. Было показано, что введение органического растворителя диметилсульфоксида в раствор сополимера во время набухания позволяет увеличить степень интегрированности АП в полимерную матрицу, добавление этанола не приводит к существенному повышению эффективности комплексообразования.

“Smart” nanomaterials are an attractive tool for the development of new pharmacological forms for encapsulation of drug compounds. We have previously shown the ability of a thermosensitive copolymer based on dextran and poly-N-isopropylacrylamide with a phase transformation temperature of 34-35 °C to form complexes with aryl-substituted porphyrins (APs). In this work, the influence of suitable solvents (ethanol and dimethyl sulfoxide) on the degree of interaction of the polymer with 5,10,15,20-tetra-(4-hydroxyphenyl)chlorin and 5-(4-hydroxyphenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin was studied by spectral fluorescence methods. It has been shown that the introduction of the organic solvent dimethyl sulfoxide into the copolymer solution during swelling allows to increase the degree of integration of APs into the polymer matrix, the addition of ethanol does not lead to a significant increase in the complexation efficiency.

Ключевые слова: декстран, поли-N-изопропилакриламид, конформационный переход, порфирины, сорастворитель.

Keywords: dextran, poly-N-isopropylacrylamide, conformational transition, porphyrins, co-solvent.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2024-1-390-393>

Стимулзависимые полимеры представляют перспективную платформу для создания новых фармакологических форм лекарственных препаратов [1]. Использование полимерных молекул, которые способны под воздействием внешних стимулов (рН, ферментов, температуры, электрического/магнитного полей, ультразвука и т.д.) переходить из водорастворимой формы в нерастворимую, позволяет добиться управляемого локального высвобождения лекарственных средств из состава полимерного носителя.

Наиболее изученными из стимулзависимых полимеров являются восприимчивые к температуре (термочувствительные) полимеры на основе поли-N-изопропилакриламида (ПНИПАМ), нижняя критическая температура растворения (НКТР) которых находится в диапазоне температур тела человека [2]. Обратимые фазовые переходы ПНИПАМ в водных растворах при воздействии температуры объясняются реорганизацией водородных связей

молекул воды с изопропильными и амидными группами в составе полимерной молекулы. При температуре ниже НКТР полимер находится в гидрофильном клубкообразном состоянии, при температуре выше НКТР – в гидрофобном глобулярном состоянии. Модифицировать НКТР для ПНИПАМ можно посредством сополимеризации с гидрофобными (снижение НКТР) и гидрофильными (повышение НКТР) структурами.

Показано, что ПНИПАМ может быть успешно использован для создания гидрогелей для введения микрочастиц, а также для создания наногелей для доставки различных лекарств [3]. Полимерные молекулы, содержащие фрагменты ПНИПАМ, могут быть инкапсулированы молекулами лекарственных соединений при температурах ниже НКТР. Фазовый переход, происходящий в области температур выше НКТР, сопровождается диссоциацией молекул воды и препаратов из состава гидрогеля.

Загрузка молекул препарата может также происходить при температурах выше НКТР. Вызванная локальная гипотермия в организме пациента приводит к набуханию гидрогеля и высвобождению молекул лекарств (рис. 1).

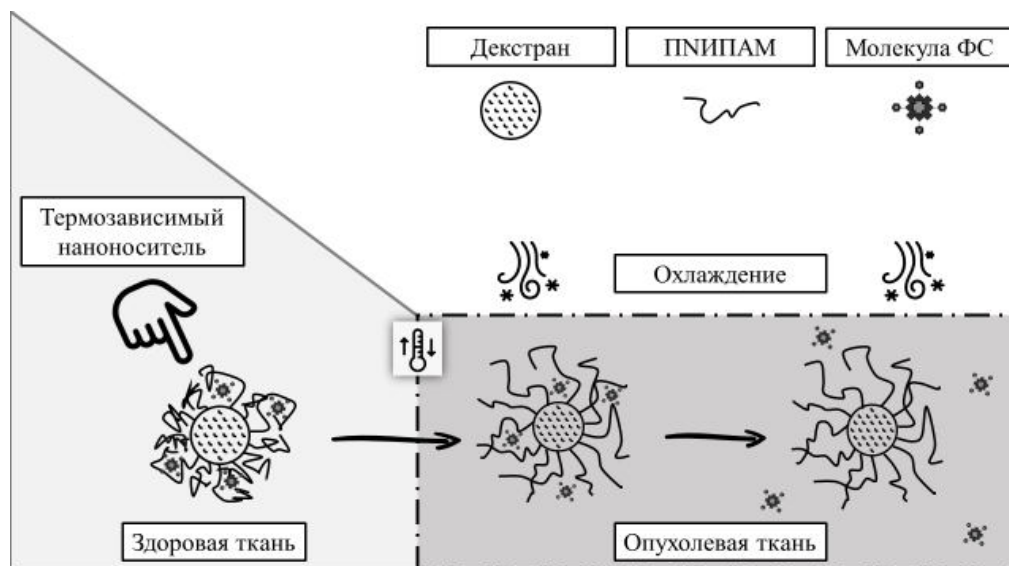


Рисунок 1 – Принципиальная схема процесса высвобождения молекул лекарственных средств из термозависимого нанонесителя на основе декстрана и поли-N-изопропилакриламида под действием температуры

Ранее проведенные исследования показали, что сополимеры на основе декстрана и ПНИПАМ могут быть использованы для введения неполярных порфириновых и хлориновых фотосенсибилизаторов (ФС), используемых в фотодинамической терапии. Установлено, что эффективность загрузки полимера молекулами ФС, в значительной степени, определяется степенью полярности молекул ФС. Так, относительно неполярный ФС – 5,10,15,20-тетра-(4-гидроксифенил)хлорин – эффективно образует комплексы с сополимером при температурах выше НКТР. Более гидрофобные порфирины, независимо от температуры раствора, практически не взаимодействуют с полимерной матрицей. Водорастворимые 5,10,15,20-тетра-(4-карбоксифенил)порфин (ТКФП) и 5,10,15,20-тетра-(4-сульфо-фенил)порфин (ТСФП) также не образуют комплексы с полимером.

Увеличить степень инкапсуляции лекарственных соединений в полимерную матрицу можно посредством использования соразтворителей. В работе [3] показано, что добавление органических растворителей, включая метанол, этанол, диметилсульфоксид, ацетон и полиэтиленгликоль, позволяет повысить степень включения куркумина в гидрогель ПНИПАМ.

В данной работе проведена оценка влияния органических соразтворителей – этанола и диметилсульфоксида (ДМСО) на эффективность встраивания молекул гидрофобных порфиринов в полимерную матрицу сополимера на основе декстрана и ПНИПАМ.

Разветвленный сополимер декстран70-поли-N-изопропилакриламид (Д70-ПНИПАМ) был синтезирован в Киевском национальном университете имени Тараса Шевченко. Значение НКТР для Д70-ПНИПАМ составляет 34-35 °C [4]. В работе исследованы ФС: 5,10,15,20-тетра-(4-гидроксифенил)хлорин (мТГФХ), производства Biolitec Research GmbH (Германия); 5-(4-гидроксифенил)-10,15,20-трифенилпорфирин (ГТФП), производства Porphyrin Products (США). Структурные формулы ФС представлены на рис. 2. Содержание основного соединения, согласно документам фирм производителей, выше 99% для мТГФХ и выше 98% для ГТФП.

Спектрально-флуоресцентные свойства ФС в растворах и в составе комплексах с сополимером Д70-ПНИПАМ определяли на спектрофлуориметре Solar CM-2203 (SOLAR, Беларусь), оборудованном термостатируемой ячейкой с магнитной мешалкой. Исследования спектров электронного поглощения проводили с помощью спектрофотометра Solar PV 1251с (SOLAR, Беларусь).

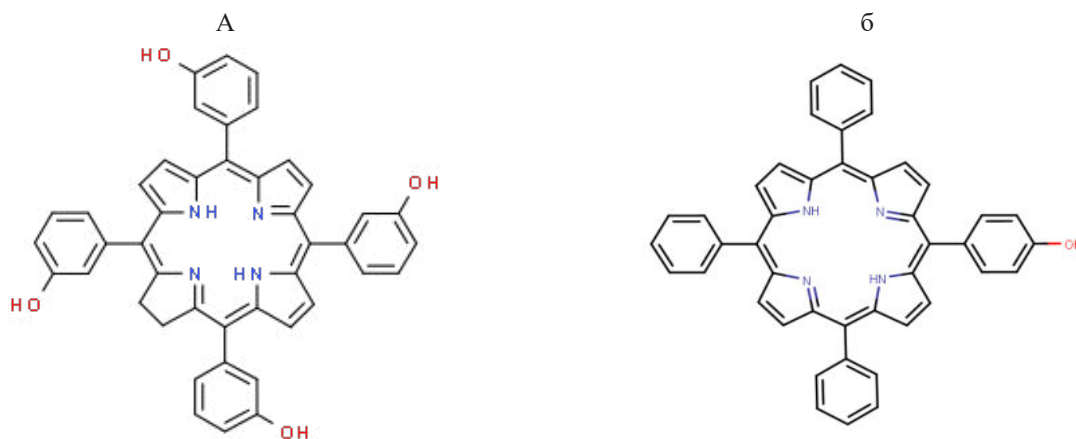
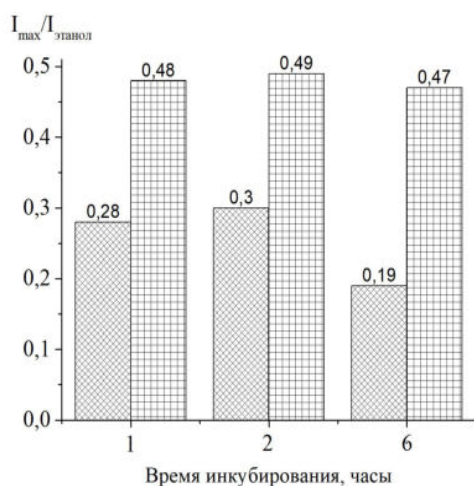


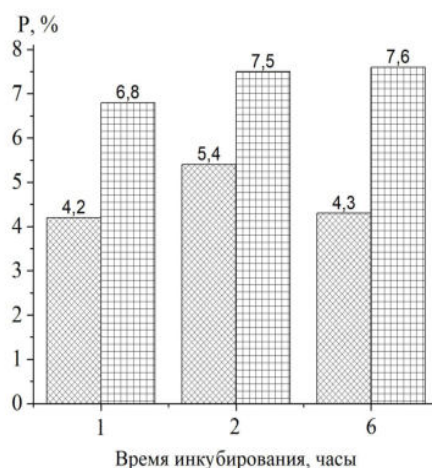
Рисунок 2 – Молекулярная структура фотосенсибилизаторов: а) мТГФХ и б) ГТФП

Для оценки степени интегрирования ФС в сополимер Д70-ПНИПАМ были использованы флуоресцентные характеристики ФС. При температурах ниже НКТР в водном растворе молекулы мТГФХ находятся в агрегированном состоянии и не взаимодействуют с сополимером Д70-ПНИПАМ. Об этом свидетельствуют низкие значения интенсивности флуоресценции. С повышением температуры выше НКТР происходит рост относительного квантового выхода флуоресценции мТГФХ до значений, которые характерны для ФС в органическом растворителе. Можно заключить, что мономерные молекулы мТГФХ легко встраиваются и образуют комплексы с глобулами сополимера. Этот вывод подтверждается значительным увеличением степени поляризации флуоресценции. Аналогичные результаты получены и при исследовании процессов взаимодействия Д70-ПНИПАМ с порфириновым аналогом мТГФХ – мезо-тетрагидроксифенипорфином (мТГФП). Можно предполагать, что основную роль в образовании комплексов играют гидрофобные взаимодействия молекул данных фотосенсибилизаторов с полимерными молекулами в конденсированном состоянии. Действительно анализ характеристик флуоресценции водорастворимых ТКФП и ТСФП показывает, что они практически не связываются с сополимером. Снижение степени полярности молекулы ФС посредством замещения части фенильных колец бензольными также приводит к уменьшению, в сравнении с мТГФХ и мТГФП, эффективности образования комплексов с сополимером в конденсированном состоянии. Так для ГТФП в растворе сополимера при температурах выше критической наблюдается лишь частичная дезагрегация, вследствие чего интенсивность флуоресценции достигает 25-30 % от максимально возможной для раствора мономерного ФС. Данный показатель слабо зависит от концентрации полимера в растворе, причем с увеличением продолжительности инкубирования происходит снижение значений относительного квантового выхода флуоресценции.

Добавление в раствор полимеров небольших количеств органических растворителей (соразтворителей) может существенно влиять на степень иммобилизации в них различных соединений. В данной работе мы исследовали влияние двух соразтворителей – этанола и ДМСО на процессы взаимодействия ГТФП с Д70-ПНИПАМ. Добавление ДМСО (1-4 %) при температуре выше критической приводило к значительному увеличению количества и скорости включения ФС в сополимер. Об этом свидетельствует значительное увеличение интенсивности и степени поляризации флуоресценции ГТФП (рис. 3). Добавление этанола практически не изменяет флуоресцентные характеристики ГТФП, что, очевидно, свидетельствует об отсутствии влияния этого соразтворителя на процессы связывания молекул фотосенсибилизатора полимером. В отличие от ДМСО в присутствии этанола не наблюдается ускорения процесса встраивания молекул ФС в состав полимерных глобул. Наблюдаемые различия в эффектах исследованных растворителей могут быть связаны с особенностями их взаимодействия с полимером. Локальная концентрация ДМСО внутри ПНИПАМ в глобулярном состоянии равна его концентрации в водной фазе. Присутствие внутри полимерной глобулы ДМСО, являющегося хорошим растворителем для гидрофобных порфиринов, способствует мономеризации и включению молекул ГТФП в сополимер. В тоже время методами молекулярной динамики показано, что молекулы этанола в небольших концентрациях в растворах ПНИПАМ при температурах выше НКТР преимущественно локализованы в водной фазе вне полимерных глобул и, следовательно, не влияют на образование внутримолекулярных водородных связей ПНИПАМ [5].



▨ – Д70-ПНИПАМ + ГТФП



▨ – Д70-ПНИПАМ + ДМСО + ГТФП

Рисунок 3 – Диаграммы изменения флуоресцентных и поляризационных характеристик ГТФП при инкубировании с Д70-ПНИПАМ в присутствии и без ДМСО при температуре выше НКТР

Полученные результаты показывают, что возможность использования органических сорастворителей для повышения эффективности встраивания гидрофобных арилзамещённых порфиринов в Д70-ПНИПАМ в значительной степени определяется процессами взаимодействия сорастворителя с полимерной молекулой в конденсированном состоянии.

Работа выполнена при поддержке ГПНИ «Конвергенция-2025» (задание 3.03.7.2) и ГПНИ «Биотехнологии-2» (задание 1.29).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ho, T.C. Hydrogels: Properties and Applications in Biomedicine / T.C. Ho [et al.] // *Molecules* – 2022. – Vol. 27, № 9. – P. 2902-2931.
2. Fan, R. Thermosensitive Hydrogels and Advances in Their Application in Disease Therapy / R. Fan [et al.] // *Polymers (Basel)* – 2022. – Vol. 14, № 12. – P. 2379-2400.
3. Ayar, Z. A rechargeable drug delivery system based on pNIPAM hydrogel for the local release of curcumin Z. Ayar [et al.] // *Journal of Applied Polymer Science* – 2021. – Vol. 138, № 40. – P. 51167-51180.
4. Kutsevol, N. Evaluation of a Dextran-Poly(N-Isopropylacrylamide) Copolymer as a Potential Temperature-Dependent Nanocarrier for Photosensitizers with Different Properties / N. Kutsevol [et al.] // *Ukrainian Journal of Physics* – 2020. – Vol. 65, № 7. – P. 638-646.
5. Tavagnacco L., Molecular description of the coil-to-globule transition of Poly(N-isopropylacrylamide) in water/ethanol mixture at low alcohol concentration / L. Tavagnacco, E. Zaccarelli, E. Chiessi // *Journal of Molecular Liquids* – 2020. – Vol. 297. – P. 111928-111950.