

Н.Є. МІТІНА,¹ А.О. РЯБЦЕВА,^{1,2} В.М. ГАРАМУС,³ Р.Б. ЛЕСИК,⁴
К.А. ВОЛЯНІЮК,¹ О.М. ІЖИК,¹ О.С. ЗАІЧЕНКО¹

¹ Національний університет "Львівська політехніка"

(Вул. С. Бандери, 12, Львів 79013; emails: nmitina10@gmail.com, k.volianiuk@gmail.com, izhykoleh18@gmail.com, zaichenk@polynet.lviv.ua)

² Університет Квінз

(Університет Авеню 99, Кінгстон, ON K7L 3N6, Канада; e-mail: a.riabtseva@gmail.com)

³ Центр Гельмольца Геештагт: Центр матеріалознавства і дослідження узбережжя

(Max-Planck-Str. 1, 21502 Geesthacht, Germany; e-mail: vasyk.harampus@hzg.de)

⁴ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

(Вул. Пекарська 69а, Львів 79010; e-mail: roman.lesyk@gmail.com)

МОРФОЛОГІЯ МІЦЕЛ ГРЕБЕНЕПОДІБНОГО ПЕГ-ВМІСНОГО КОПОЛІМЕРУ З ПРОТИПУХЛИННИМИ РЕЧОВИНАМИ З РІЗНОЮ РОЗЧИННІСТЮ У ВОДІ

УДК 539

Контрольована доставка протипухлинних ліків базується на їх взаємодії з молекулами-носіями. Амфифільні полімери, завдяки формуванню складних міцелярних наноконструкцій, дають змогу завантажити різноманітні ліки. Взаємодія гребінчастого ПЕГ-вмісного полімеру (полі(ВЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ) з водорозчинним протипухлинним антибіотиком доксорубіцин і водонерозчинними новими похідними тіозалідінону Les 3883 з високою протипухлинною дією досліджувалась у водних розчинах за допомогою малокутового рентгенівського розсіювання, динамічного розсіювання світла, електронної мікроскопії та люмінесценції. Було спостережено формування і структурні зміни полімерних міцел та їх комплексів з лікарськими препаратами. Аналіз даних вказує на відмінний характер в організації супрамолекулярних комплексів в залежності від водорозчинності лікарських препаратів. Підтверджено потенційні властивості полі(ВЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ для подовження циркуляції ліків.

Ключові слова: малокутове рентгенівське розсіювання, морфологія міцел, гідрофобні/гідрофільні лікарські препарати, комплекси полімер/лікарський препарат.

1. Вступ

Хіміотерапія являється на даний час основним методом лікування багатьох пухлин [1], але мультирезистентність до ліків є однією з перешкод при хіміотерапії раку. Для досягнення необхідної терапевтичної дози в організмі доводиться підвищувати концентрацію препарату [2]. Використання міцелярних носіїв з молекул амфифільних полімерів в системах доставки ліків з високою загальною токсичністю забезпечує зниження терапевтичної дози на порядок при досягненні високої терапевтичної ефективності.

© Н.Є. МІТІНА, А.О. РЯБЦЕВА, В.М. ГАРАМУС,
Р.Б. ЛЕСИК, К.А. ВОЛЯНІЮК, О.М. ІЖИК,
О.С. ЗАІЧЕНКО, 2020

Розробка нових поверхнево-активних полімерів, які утворюють міцелоподібні надмолекулярні структури, є перспективним шляхом створення стабільних водних систем для контрольованої доставки лікарських препаратів та нуклеїнових кислот, зокрема для хіміотерапії та генної інженерії. Відомо [3–5], що архітектура, функціональність і молекулярно-масові характеристики поверхнево-активних полімерів визначають колоїдно-хімічні характеристики, а саме розміри, заряд, морфологію і стабільність утворених ними міцел, везикул, міжмолекулярних комплексів та частинок в розчині, а також здатність до іммобілізації і солюбілізації фізіологічно активних субстанцій в таких контейнерах-носіях.

ПЕГ-вмісні полімери привертають підвищену увагу в біомедичних дослідженнях завдяки їх високій біосумісності і широкому діапазону регульованих фізико-хімічних властивостей [6]. Крім того, введення до складу таких кополімерів різних функціональних фрагментів, наприклад, методом кополімеризації або прищепленням гідрофобних/гідрофільних полімерних ланцюгів дозволяє варіювати властивості таких полімерів у широкому діапазоні [7, 8]. Полімерні міцели, отримувані з молекул таких поверхнево-активних полімерів, є перспективними контейнерами для систем доставки ліків, зокрема протиракових [9], які захищають їх від пошкодження і неконтрольованого вивільнення при транспортуванні в організмі, забезпечують подовжену циркуляцію в кровоносній системі, а також посилюють дію препарату в результаті сенсibiliзації в клітинах [10]. Суттєвою перевагою ПЕГ-вмісних гребенеподібних полімерів є можливість контролю розмірів та морфології утворюваних міцел, а також вмісту біологічно активних субстанцій варіюванням довжин основного та бічних ПЕГ ланцюгів [11].

Використані в роботі водорозчинний доксорубіцин гідрохлорид є одним з найпоширеніших протиракових препаратів в клінічній практиці [12], а нерозчинна у воді синтетична похідна 4-тіазолідінона Les-3833 широко досліджується нині як ефективний препарат для лікування гліобластоми [13].

Міцели гребенеподібних ПЕГ-вмісних полімерів проявили властивості ефективних універсальних носіїв лікарських препаратів [7, 14], які надійно зв'язують та захищають від біологічного пошкодження гідрофільні і гідрофобні протипухлинні препарати, забезпечують їх адресну доставку та високу терапевтичну ефективність. Дослідження *in vitro* та *in vivo* [15] показали, що гребенеподібні ПЕГ-вмісні полімерні носії мають високу біологічну толерантність. Водночас механізми утворення комплексів таких носіїв з ліками різної природи та, відповідно, морфологія утворюваних нанорозмірних комплексів досліджені недостатньо. В сучасних структурних дослідженнях різноманітних супрамолекулярних структур: міцел, везикули та наночастинок, активно використовується малокутове розсіювання рентгенівських променів (МКРР) та нейтронів [16–19]. Це зумовило доцільність поглиблених досліджень колоїдно-хімічних характеристик та морфології полімерних міцел, утворюва-

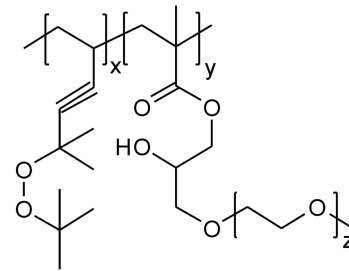


Рис. 1. Структура полімеру полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ

них полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ (рис. 1) та їх комплексів з гідрофільними та гідрофобними протираковими речовинами методами МКРР, динамічного світлорозсіювання (ДСР), трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) і фотолюмінісценції.

2. Експериментальна частина

2.1. Матеріали

Монометилловий етер поліетиленгліколю (мПЕГ, $M_n = 750$ Да), диметилсульфоксид (ДМСО), азобісизобутиронітрил (АІВН), етилетират трифториду бору були отримані від Sigma-Aldrich і використовували без додаткового очищення. Мономер гліцидилметакрилат (ГМА) (Merck, Німеччина) очищали перегонкою в вакуумі. Пероксидний мономер 5-*трет*-бутилперокси-5-метил-1-гексен-3-ін (ВЕР) був синтезований за відомою методикою [20].

Доксорубіцин (Докс) був придбаний у Arterium (Україна). Водонерозчинний препарат – гетероциклічну похідну 4-тіазолідінону Les-3833 синтезовано на кафедрі фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, як описано раніше [21].

Гребенеподібний кополімер полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-мПЕГ за структурою (рис. 1) синтезовано на кафедрі органічної хімії Національного університету “Львівська Політехніка” за методикою, описаною [7]. На першій стадії радикальною кополімеризацією, ініційованою АІВН, отримано епоксидовмісний кополімер полі(ВЕР-ко-ГМА). На другій стадії цей кополімер використовували як прекурсор для синтезу ПЕГ-вмісного полімеру. Для цього в присутності етилетирату трифториду бору, як каталізатора реакції приєднання, до роз-

чину полі(ВЕР-ко-ГМА) додавали розчин мПЕГ. Методами елементного аналізу та аналізу функціональних груп було визначено склад синтезованого кополімеру [22, 23]. Склад отриманого кополімеру був підтверджений методом ЯМР спектроскопії. Після очищення кополімер полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ містив функціональні ланки ВЕР : ГМА : ПЕГ – 1,2 : 50,2 : 48,6 % мол. Молекулярну масу полімеру вимірювали з використанням ексклюзійної хроматографії (SEC) на хроматографі Waters 150 °С з вбудованим рефрактометричним детектором (Waters Corporation, Мілфорд, МА, США), колонкою Shodex 602 (Kawasaki, Японія), швидкість потоку варіювалася (0,5 і 2,5 см³ · хв⁻¹). Визначені молекулярно масові параметри для полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ становлять: $M_n = 90$ кДа; $M_w = 165$ кДа; $D = M_w/M_n = 1,83$.

Водні дисперсії полімеру полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ і його комплекси із лікарськими препаратами (Докс та Les-3833) готували таким чином [7, 14]: 1) полімер та лікарський препарат розчиняли в ДМСО, а потім розчини переносили у воду. Для цього 45 мг полімеру розчиняли в 0,15 мл ДМСО, відповідну наважку (1,5–7,0) мг лікарського препарату розчиняли в 0,10 мл ДМСО. Розчини полімеру та лікарського препарату змішували і додавали до 4,25 мл фізіологічного розчину (0,9% водний розчин NaCl) і піддавали ультразвуковому диспергуванню (10 с). Від незв'язаного доксорубіцину позбавлялися використовуючи целюлозні діалізні мембрани (Sigma-Aldrich), які утримують полімери з молекулярною масою >3,5 кДа. Також готували контрольний розчин полімерного носія без лікарського препарату, для цього 45 мг полімеру розчиняли в 0,15 мл ДМСО і цей розчин додавали до 4,25 мл фізіологічного розчину і піддавали УЗ диспергуванню (10 секунд).

2.2. Методи досліджень

Морфологію міцел, які утворюють молекули полімеру, а також комплексів полімеру і лікарського препарату, досліджували методом малокутового розсіювання рентгенівських променів (МКРР). Вимірювання кривих МКРР здійснювали на станції P12 BioSAXS Європейської лабораторії молекулярної біології (EMBL) в накопичувальному кільці PETRA III Німецького Електронного Синхротрона (DESY, Гамбург, Німеччина) з використанням

Pilatus 2М детектора (1475–1679 пікселів; Dectris, Швейцарія) і синхротронним випромінюванням з довжиною хвилі $\lambda = 1$ Å. Відстань між зразком і детектором становила 4 м, що дозволяло проводити виміри в q -діапазоні вектора розсіювання від 0,6 до 4 нм⁻¹; q -діапазон був відкалібрований за допомогою дифрактограми стандарту – бегената срібла (C₂₂H₄₃O₂Ag). Експериментальні дані були нормалізовані з урахуванням фонового розсіювання водного буфера. Вимірювання фіксувалися кожні 0,05 с. Для того щоб переконатися, що ніяких відхилень в результаті радіаційних ушкоджень не спостерігалось, всі записані криві розсіювання порівнювалися з контрольним виміром (завичай першою експозицією) і, потім оброблялися за допомогою автоматизованої програми за методикою [24].

Розміри та форму міцел досліджували на трансмісійному електронному мікроскопі JEM-200A (JEOL, Японія) при прискорюючій напрузі 200 кВ. Зразки колоїдних розчинів готували, як описано вище, при необхідності зразки розбавляли бідистильованою водою. Зразки на підкладку наносили методом розпилення досліджуваного розчину за допомогою ультразвукового диспергатора УЗДН-1А (ТОВ “Укрросприлад”, Україна), що дозволяло отримувати однорідне покриття підкладок. Як підкладки використовувалася тонка аморфна вуглецева плівка, нанесена на мідну сітку. Середній діаметр (d_{aver}) і розподіл частинок за розміром (індекс полідисперсності – PDI) отримали статистичною обробкою принаймні 500 частинок за допомогою програми Atlas (Tescan, Брно, Чехія).

Гідродинамічні розміри полімерних міцел і комплексів полімеру з лікарськими препаратами вимірювали методом динамічного розсіювання світла (ДРС) з використанням інструментів Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments GmbH, Штутгарт, Німеччина) і DynaPro NanoStar (Wyatt Technology, Санта-Барбара, США). Зразки для вимірювань ДРС готували, як описано вище, при необхідності розбавляли бідистильованою водою, рН 6,5–7,0. Для кожного зразка проводили три-п'ять вимірів (кожне вимірювання складалося з п'яти циклів, інтервал між вимірами становив 5 хвилин). Вимірювання дзета-потенціалу проводилось на Zetasizer Nano ZS при фіксованій температурі 25 °С. Для кожного зразка проводили шість вимірювань. Дані дзета-потенціалу відтворювалися з точністю до

5%. Для проведення досліджень методами ДРС та ТЕМ були використані водні дисперсії із концентрацією полімеру 10 мг/мл.

Спектри поглинання полімеру та його комплексу з лікарським препаратом в УФ та видимій області реєструвалося на приладі Nanodrop ND-1000 (Thermo Scientific, США).

Спектри фотолюмінесценції записували на автоматизованому спектрометрі. Фотолюмінесценція збуджувалась світлом з довжиною хвилі 260 нм, яке виділялось первинним монохроматором МДР-2 (ЛОМО, Санкт-Петербург, Росія).

3. Результати та їх обговорення

3.1. Дослідження міцелярних комплексів ПЕГ-вмісного гребенеподібного полімеру з водорозчинним антибіотиком доксорубіцином (Докс)

Як видно із МКРР дифрактограм полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ та комплексу (полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ... Докс (рис. 2), верхня та нижня границі визначеної лінійної ділянки залежності інтенсивності розсіювання від вектора розсіювання в подвійних логарифмічних координатах показують розмір області, де об'єкт є фрактальним, а нахил лінійної ділянки α залежить від внутрішньої структури міцел. Враховуючи досліджувану концентрацію полімеру 0,01 г/мл можна вважати, що така концентрація відповідає верхній межі режиму розбавленого розчину і отримане значення параметрів α необхідно розглядати як "видиме" значення, тобто деякий вплив взаємодії між частинками можливо присутній. Але це не впливає на зроблені висновки по адсорбції доксорубіцину, оскільки аналізуються відносні зміни параметра α , в даному випадку "видимому" параметру α , при завантаженні доксорубіцину.

Знайдені величини α для міцел полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ (750) та для міцел комплексів цього полімеру з різною кількістю Докс відповідають структурі об'ємних та поверхневих фракталів [25]. Для чистого полімеру і при невеликій концентрації Докс величина α менша від 3, що є характерним для об'ємного фрактала з нещільної упаковкою частинок і наступним зв'язком між об'ємом (V) та лінійними розмірами (l)

$$V \sim l^\alpha. \quad (1)$$

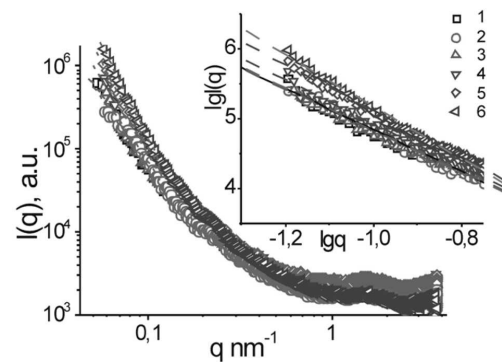


Рис. 2. МКРР дифрактограми полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ (1) та (полі(ВЕР-ко-ГМА)-графт-ПЕГ... Докс (2-6) (полімер – 10 мг/мл, [Докс] = 0,3 мг/мл (2); 0,4 мг/мл (3); 0,5 мг/мл (4); 0,6 мг/мл (5); 1,4 мг/мл (6)) (на вносці – лінійна ділянка дифрактограми). Суцільні лінії відображають собою лінійну апроксимацію відповідно до концепції масштабування

При збільшенні концентрації Докс понад 4% спостерігали збільшення параметра α в інтервалі від 3 до 4, що відповідає поверхневому фракталу – частинці з щільним ядром і фрактальною поверхнею (S) відповідно до співвідношення (2)

$$V \sim l^{6-\alpha}. \quad (2)$$

З даних ДРС та ТЕМ (табл. 1, рис. 3) спостерігається помітне зменшення Докс вмісних міцел відносно міцел, які його не містять.

Результати досліджень ДРС та ТЕМ (рис. 3) підтверджують зростання ущільнення міцелярних структур із збільшенням зв'язаних у комплекс з полімером молекул Докс.

Про утворення хімічних зв'язків Докс з полімерними молекулами в міцелі свідчить дослідження їх ζ -потенціалів. Якщо ПЕГ-вмісний кополімер має від'ємний заряд $-0,2-0,3$ мВ, а вільний Докс – позитивний заряд $+3,8$ мВ, то у їх Докс-вмісних комплексах спостерігається сумарний позитивний заряд, який збільшується зі зростанням у міцелі вмісту Докс. Оскільки використовуваний для утворення лікарського препарату Докс є гідрохлоридом аміновмісної молекули, очевидно, у водному розчині він дисоціює з утворенням позитивно зарядженої молекули Докс з аміногрупою або асоціатів з декількох його молекул, які взаємодіють з від'ємно зарядженою молекулою ПЕГ-вмісного полімеру або, скоріше, з міцелярною структурою з декількох його молекул в роз-

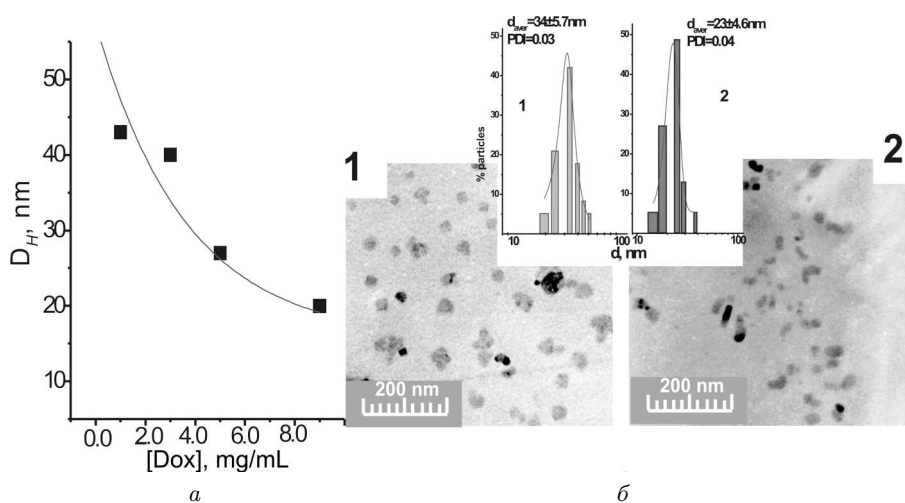


Рис. 3. Залежність гідродинамічного розміру полімерних міцел від концентрації Докс (а) та відповідні TEM-зображення полімерних міцел (1) і їх комплексів з Докс (0,3 мг/мл) (2) (на вставці: відповідні гістограми розподілу за розмірами) (б). Концентрація полі(БЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ – 10 мг/мл, рН = 6.7

Таблиця 1. Характеристики міцел, утворенні полімерним носієм полі(БЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ, та його міцелярних комплексів з доксорубіцином

Полімер	ДРС середній гідродинамічний діаметр (нм)	ТЕМ середній діаметр (нм)	ζ-потенціал (мВ)
Полі(БЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ(750)	59,0	34,0 ± 5,7	-0,25
Комплекс Докс з полі (БЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ(750)	40,6	23,4 ± 4,6	+1,6 ... + 3,1

чині. Адукт взаємодії полімеру з Докс набуває загального позитивного заряду і дорівнює +1,6 мВ, що підтверджує зв'язування молекул Докс з міцелюю, утвореною з декількох молекул гребенеподібного полімеру, в результаті електростатичної взаємодії. Зростання електропровідності розчину полімеру при додаванні розчину Докс (рис. 4, а) внаслідок витіснення в розчин катіонів гідроксонію при утворенні комплексу полімерного носія з Докс свідчить на користь припущення цього механізму. При цьому додавання до дистильованої води розчину Докс незначно впливає на зростання провідності.

Про наявність у водній системі зв'язаного Докс свідчать електронні спектри в ультрафіолетовій та видимій областях водних систем, які містять комплекси Докс ... носій (рис. 4, б). Причому, зсув

смуги поглинання зв'язаного Докс при 230 нм (рис. 4, б, лінія 4) в батохромну область пояснюється, очевидно, утворенням його комплексів із полі(БЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ. Із спектрів збудження та люмінесценції водних розчинів Докс та продуктів його взаємодії з полімерним носієм (рис. 4, б) спостерігається, що їх основні піки збігаються. З приведених даних можна побачити, що люмінесцентні властивості в дослідженій області проявляє лише Докс. Однак, спостерігається суттєве зростання інтенсивності люмінесценції Докс внаслідок його зв'язування з полімером. Це пояснюється, на нашу думку, тим, що вода має здатність "гасити" люмінесценцію, а полімерний носій "захищає" лікарську речовину від контакту з водним середовищем, усуваючи таким чином "гасіння" люмінесценції. Це свідчить про

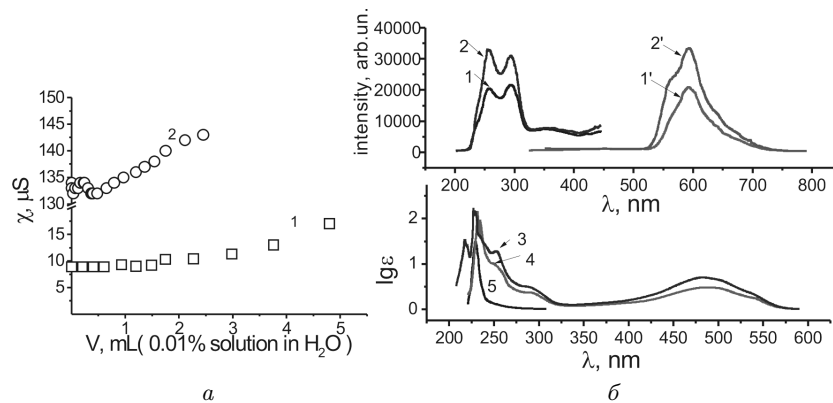


Рис. 4. Залежність електропровідності води (1) та водного розчину полімеру (2) від кількості Докс (а) та спектри збудження (1, 2) і люмінесценції (1', 2') водних розчинів вільного Докс та Докс, зв'язаного з носієм, а також електронні спектри вільного Докс (3), комплексу Докс з полі(БЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ (4) та полі(БЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ (5) у воді (б)

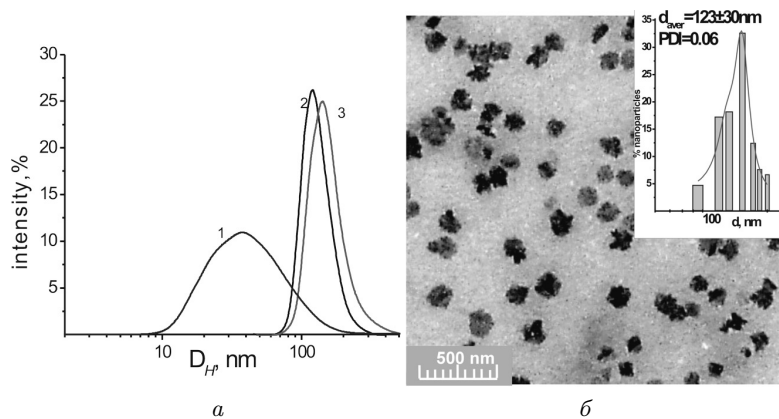


Рис. 5. ДСР визначені розміри міцел з комплексами полі(БЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ та Докс (1), Les 3883 (2, 3) (полімер – 10 мг/мл, (1); [Les 3883] = 0,4 мг/мл (2); 0,8 мг/мл (3)) (а) та ТЕМ-зображення частинок Les-3883 з полі(БЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ (на вставці: гістограма розподілу частинок за розміром) (б)

утворення ізольованих гідрофобних зон, які містять зв'язаний Докс, і погоджується з результатами МКРР дослідження колоїдно-хімічних характеристик комплексів.

3.2. Дослідження міцелярних комплексів ПЕГ-вмісного гребенеподібного полімеру з гідрофобними похідними тіозалідинону (Les 3883)

На відміну від розміру міцел, які утворює ПЕГ-вмісний гребенеподібний полімерний носій, та його міцелярних структур з водорозчинним протипухлинним антибіотиком Докс, розміри структур, які утворює нерозчинний у воді новий протипу-

хлинний препарат Les3883 з полімерним носієм, за результатами досліджень ДСР і ТЕМ є суттєво більшими 100–140 нм і мало залежать від вмісту тіозалідинону (рис. 5, а та 5, б).

На дифрактограмах МКРР (рис. 6) спостерігається, що структури, утворені Les 3883 з полімером, характеризуються щільнішим наповненням, про що свідчить значне зростання параметра α , який стає близьким до 4. Це підтвержує формування суцільно щільних частинок з гладкою поверхнею. Морфологія структур, утворених водонерозчинною речовиною Les 3883 з полімерним носієм у воді, мало залежить від вмісту Les 3883 в супрамолекулярній структурі. Сукупність результатів досліджень дозволяє запропонувати механізм

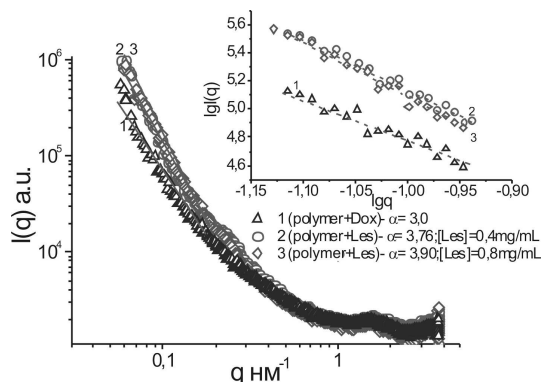


Рис. 6. МКРР дифрактограми міцелярних комплексів (полі(ВЕП-ко-ГМА)-графт-ПЕГ з Докс (1) та частинок Les 3883 (2, 3) (полімер – 10 мг/мл, [Докс] = 0,3 мг/мл (1); [Les 3883] = 0,4 мг/мл (2); 0,8 мг/мл (3)) (на виносці – лінійна ділянка дифрактограми) Суцільні лінії являють собою лінійну апроксимацію відповідно до концепції масштабування

утворення частинок Les 3883 в результаті їх нуклеації в присутності міцел полімерного сурфактанта як м'якого темплата-нанореактора, який зумовлює утворення частинок приблизно однакової форми та розміру з адсорбційною оболонкою з полімерних молекул на поверхні.

4. Висновки

Спостерігається суттєва взаємодія між полімером і водорозчинним лікарським препаратом. Молекули водорозчинного доксорубіцину адсорбуються в ядрах полімерних міцел, що приводить до ущільнення упаковки внутрішньої частини міцел і це узгоджується даними МКРР та фотолюмінесценції. Основною діючою силою цієї взаємодії є електростатика, оскільки полімер негативно заряджений, а лікарський препарат несе позитивний заряд. Зростання концентрації вільних іонів під час такої взаємодії веде до зростання ентропії в системі і посилює формування полімер-Докс комплексів. У випадку гідрофобного лікарського препарату Les 3883 взаємодія з полімером набагато менша і структура щільно упакованих частинок препарату практично незалежить від їх концентрації в розчині і значно більша за розміри полімерних міцел. Це пояснюється седиментаційно-нуклеаційним механізмом утворення і стабілізації у водній системі частинок нерозчинної у воді речовини, при якому міцели поверхнево-активного ПЕГ-вмісного полі-

меру виконують функцію нанореакторів, в яких відбувається нуклеація частинок, та створюють на їх поверхні стабілізуючу гідрофільну оболонку.

Автори висловлюють подяку проф. А.С. Волошиновському та проф. В.В. Вістовському (ЛНУ ім. І. Франка) за допомогу при вивченні люмінесцентних властивостей полімерних комплексів та с.н.с. В.О. Глазунівій (ДонФТІ НАН України) за ТЕМ дослідження полімерних комплексів.

1. L. Falzone, S. Salomone, M. Libra. Evolution of cancer pharmacological treatments at the turn of the third millennium. *Front. Pharmacol* **9**, 1300 (2018).
2. B. Mansoori, A. Mohammadi, S. Davudian *et al.* The different mechanisms of cancer drug resistance: A brief review. *Adv. Pharm. Bull* **7** (3), 339 (2017).
3. J. Dey, R. Ghosh, R. Das Mahapatra. Self-assembly of unconventional low-molecular-mass amphiphiles containing a PEG chain. *Langmuir* **35** (4), 846 (2018).
4. Y. Kang, K. Liu, X. Zhang. Supra-amphiphiles: a new bridge between colloidal science and supramolecular chemistry. *Langmuir* **30** (21), 5989 (2014).
5. A. Riabtseva, L.I. Kaberov, L. Noirez *et al.* Structural characterization of nanoparticles formed by fluorinated poly (2-oxazoline)-based polyphiles. *Eur. Polym J.* **99**, 518 (2018).
6. M.F. Maitz. Applications of synthetic polymers in clinical medicine. *Biosurf Biotribol.* **1** (3), 161 (2015).
7. A. Riabtseva, N. Mitina, I. Grytsyna *et al.* Functional micelles formed by branched polymeric surfactants: Synthesis, characteristics, and application as nanoreactors and carriers. *Eur. Polym. J.* **75**, 406 (2016).
8. S. Imai, M. Takenaka, M. Sawamoto *et al.* Self-sorting of amphiphilic copolymers for self-assembled materials in water: Polymers can recognize themselves. *J. Am. Chem. Soc.* **141** (1), 511 (2018).
9. S.S. Kulthe, Y.M. Choudhari, N.N. Inamdar *et al.* Polymeric micelles: Authoritative aspects for drug delivery. *Des. Monomers. Polym.* **15** (5), 465 (2012).
10. Y. Zhang, Y. Huang, S. Li. Polymeric micelles: nanocarriers for cancer-targeted drug delivery. *Aaps Pharmscitech.* **15**, 862 (2014).
11. A. Riabtseva, N. Mitina, N. Boiko *et al.* Structural and colloidal-chemical characteristics of nanosized drug delivery systems based on pegylated comb-like carriers. *Chem. Technol.* **6** (3), 291 (2012).
12. R. Murali, P. Vidhya, P. Thanikaivelan. Thermoresponsive magnetic nanoparticle-aminated guar gum hydrogel system for sustained release of doxorubicin hydrochloride. *Carbohydr. Polym.* **110**, 440 (2014).
13. L. Kobylinska, N. Boiko, R. Panchuk *et al.* Putative anticancer potential of novel 4-thiazolidinone derivatives: Cytotoxicity towards rat C₆ glioma in vitro and correlati-

- on of general toxicity with balance of free radical oxidation in rats. *Carbohydr. Polym. J.* **57** (2), 151 (2016).
14. L. Kobylinska, I. Ivasechko, N. Skorokhyd *et al.* Enhanced proapoptotic effects of water dispersed complexes of 4-thiazolidinone-based chemotherapeutics with a PEG-containing polymeric nanocarrier. *Nanoscale Res. Lett.* **14** (1), 144 (2019).
 15. L. Kobylinska, I. Patereha, N. Finiuk *et al.* Comb-like PEG-containing polymeric composition as low toxic drug nanocarrier. *Cancer Nanotechnol.* **9** (1), 1 (2018).
 16. V.I. Petrenko, M.V. Avdeev, L. Almasy *et al.* Interaction of mono-carboxylic acids in benzene studied by small-angle neutron scattering. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **337** (1–3), 91 (2009).
 17. M.V. Avdeev, V.L. Aksenov, O.V. Tomchuk *et al.* The spatial diamond-graphite transition in detonation nanodiamond as revealed by small-angle neutron scattering. *J. Phys. Condens. Matter.* **25** (44), 445001 (2013).
 18. O.V. Tomchuk, L.A. Bulavin, V.L. Aksenov *et al.* Small-angle scattering from polydisperse particles with diffusive surface. *J. Appl. Crystallogr.* **47** (2), 642 (2014).
 19. L. Melnikova, V.I. Petrenko, M.V. Avdeev *et al.* Effect of iron oxide loading on magnetoferritin structure in solution as revealed by SAXS and SANS. *Colloids Surf. B* **123**, 82 (2014).
 20. S.A. Voronov, E.M. Kiselyov, S.S. Minko *et al.* Structure and reactivity of peroxide monomers. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **34** (12), 2507 (1996).
 21. D. Havrylyuk, B. Zimenkovsky, O. Vasylenko *et al.* Synthesis of new 4-thiazolidinone-, pyrazoline-, and isatin-based conjugates with promising antitumor activity. *J. Med. Chem.* **55** (20), 8630 (2012).
 22. Al. Steyermark. *Quantitative Organic Microanalysis. 2nd Edition.* (Academic Press, 1961) [ISBN: 9780323161367].
 23. N.D. Cheronis, T.S. Ma. *Organic Functional Group Analysis by Micro and Semimicro Methods* (Interscience Publishers, 1964).
 24. D. Franke, A.G. Kikhney, D.I. Svergun, *et al.* Automated acquisition and analysis of small angle X-ray scattering data. *Nucl. Instrum Methods Phys. Res., Sect. A* **689**, 52 (2012).
 25. P.W Schmidt. *In The Fractal Approach to Heterogeneous Chemistry.* Edited by D. Avnir (Wiley, 1989), p. 67.

Одержано 28.03.20

*N.E. Mitina, A.O. Riabtseva,
V.M. Garamus, R.B. Lesyk, K.A. Volyanyuk,
O.M. Izhyk, O.S. Zaichenko*

MORPHOLOGY OF THE MICELLES
FORMED BY A COMB-LIKE PEG-CONTAINING
COPOLYMER LOADED WITH ANTITUMOR
SUBSTANCES WITH DIFFERENT
WATER SOLUBILITIES

S u m m a r y

The controlled delivery of anticancer drugs is driven by their interaction with carrier molecules. By creating complicated micelle-like complexes, amphiphilic polymers provide an opportunity to load drugs of various kinds. In this work, the interaction of the comb-like PEG-containing polymer poly(VEP-co-GMA)-graft-PEG with the water-soluble antitumor antibiotic doxorubicin and new water-insoluble derivatives of thiozolidinone Les-3883 characterized by a high anticancer efficiency has been studied in aqueous solutions by means of the SAXS, DLS, TEM, and photoluminescence methods. The formation of polymer micelles and their complexes with drugs, as well as their structural changes, is observed. The obtained results give evidence that the mechanism of organization of supramolecular complexes depends on the drug solubility in water. A potential capability of poly(VEP-co-GMA)-graft-PEG to prolong the drug circulation lifetime is confirmed.