



МАРИН СИМЕОНОВ СИМЕОНОВ

**ПОЛИАКРИЛАТНИ ВЗАИМНОПРОНИКВАЩИ ПОЛИМЕРНИ
МРЕЖИ: СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И ПРИЛОЖЕНИЕ КАТО
ЛЕКАРСТВО-ДОСТАВЯЩИ СИСТЕМИ**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертация, представена за присъждане на
образователна и научна степен „Доктор“
по Специалност „Химия на високомолекулните съединения“,
професионално направление 4.2 – Химически науки

Научни ръководители: доц. д-р Елена Василева
и доц. д-р Бистра Костова

Рецензенти:

Доц. д-р. Елена Каменска
Проф. дхн. Петър Петров

Научно жури:

Доц. д-р. Елена Каменска
Проф. дхн. Петър Петров
Проф. д-р. Димитър Рачев
Доц. д-р. Христо Цачев
Доц. д-р. Бистра Костова

София, 2016

Дисертацията съдържа 149 страници, в които са включени 59 фигури, 19 таблици, 3 схеми. Цитирани са 166 литературни източника.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от съвета на Катедра Фармацевтична и приложна органична химия, Факултет по химия и фармация на СУ „Св. Климент Охридски“, на 24.10.2016г.

Дисертантът е бил редовен докторант към Катедра Фармацевтична и приложна органична химия, ФХФ-СУ. Понастоящем е назначен на асистентска длъжност в същата катедра.

Защитата на дисертационният труд ще се състои на _____от _____ часа в Заседателната зала (етаж 1, стая 108) на Факултета по химия и фармация на СУ „Св. Климент Охридски“.

I. Увод

Контролираното доставяне на лекарствени вещества представлява набор от подходи, формулировки, технологии и системи за транспорт на лекарствени вещества, които целят безопасното осъществяване на желания терапевтичен ефект. Контролираното доставяне на лекарствени вещества в организма се базира на приложението на основни физико-химични и биологични принципи, с цел осъществяване на *in vivo* контролирано доставяне на лекарствените молекули с времето, а също така и на *in vivo* контрол върху разпределението им в човешкия организъм с цел оптимален терапевтичен ефект. Когато лекарственото вещество бива въведено в организма, само малка част от дозата достига до съответния рецептор или желаното място на действие. В действителност, по-голямата част от дозата бива отклонена от прицелното място на действие: а) уловена от „погрешна“ тъкан, б) изхвърлена твърде бързо от целевата тъкан, преди да успее да осъществи терапевтичния си ефект или (в) бива унищожена по пътя към нея. Това обуславя и двете основни цели на контролираното доставяне на лекарства: (1) повишаване на ефективността на лекарственото вещество и (2) намаляване на неговите страничните ефекти.

Няколко са причините, поради които контролираното лекарствено доставяне се превръща в предизвикателство: (i) появата на нови нискомолекулни или биомакромолекулни лекарствени вещества с ниска разтворимост във вода и/или слаба проникваемост в тъканите, (ii) нарастващата употреба на биологични материали със слабо изучени физични свойства и кратка продължителност на живота и (iii) осъзнаването, че ако част от дозата, отговорна за неблагоприятните (странични) ефекти, може да бъде пренасочена от местата, където те се проявяват, това би било благоприятно за крайния терапевтичен ефект. Ето защо, лекарство-доставящите системи трябва да дават възможност за прецизен контрол върху разпределението на лекарственото вещество в организма и по възможност да откликват подходящо на промени в локалната среда, с цел постигане на динамично и ефективно влияние върху патологията и физиологията на реципиента.

Полимерите и полимерните материали притежават изключителен потенциал като системи за пренос и контролирано освобождаване на лекарствени вещества, тъй като те могат да осигурят:

- удължено лекарствено освобождаване чрез имобилизиране на лекарственото вещество в полимерна матрица;
- целево доставяне на лекарственото вещество до конкретен орган или тъкан, напр. туморни клетки;
- доставяне на терапевтични гени или олигонуклеотиди в клетките;
- сорбция на лекарственото вещество в участъци на гастроинтестиналния тракт, които осигуряват оптималното му терапевтично действие;
- „интелигентно“ освобождаване на лекарственото вещество под действие на определен външен стимул, напр. в „дефиниран“ температурен и/или рН интервал или под действието на ензими.

Настоящата дисертация е един нов опит да се демонстрира потенциала на полимерните системи и в частност този на взаимнопроникващите полимерни мрежи, като системи за удължено лекарствено доставяне. За моделно ЛВ бе избран ВПХХ, тъй като той е широко използван и подходящ за прием чрез система за удължено освобождаване с оглед на неговата фармакокинетика. За полимерна система носител на ВПХХ бяха избрани акрилатни ВПМ, за да се оползотворят предимствата на ВПМ като лекарство-доставящи системи, както бяха описани в литературния обзор, като в същото време се отрази спецификата на избраното ЛВ. Четири основни параметъра бяха определени като ключови за приложението на ВПМ като лекарство-доставящи системи. Чрез всеки един от тях може да се контролира профила на лекарствено освобождаване. Те са:

➤ *Функционалността* на ВПМ служи за дефиниране на определен тип взаимодействие с ЛВ, т.е. тя се определя от това какво за какво ЛВ се разработва полимерната система-носител. Функционалността на ВПМ може да бъде контролирана чрез подходящ подбор на съставните полимери. За демонстриране на тази възможност, в дисертацията бе избран състав на ВПМ на базата на поликиселина и неутрален полимер.

Като поликиселини бяха избрани ПАК и ПМАК, за да се осигури възможност за електростатично взаимодействие между ЛВ (ВПХХ) и полимерния носител. Като неутрален полимер бе избран ПААМ, за да придаде афинитет за образуване на водородни връзки.

➤ *Хидрофилно-хидрофобен баланс* на ВПМ чрез замяната на поликиселината във ВПМ от ПАК с ПМАК е още един начин за контрол върху профила на лекарствено освобождаване. Тази смяна има за цел да сравни как слабо нарастване на *хидрофобността* на системата ще повлияе нейните характеристики като система за лекарствено доставяне на ВПХХ.

➤ Концепцията на ВПМ предопределя възможност за контрол върху *тоталната гъстота на полимерната мрежа* на ВПМ, която от своя страна е ключов параметър за дифузията на ЛВ във ВПМ.

➤ Присъщото за ВПМ, получени чрез последователния метод, *фазово разделяне* е още един начин да се повлияе дифузията на ЛВ в тези системи, а оттам и профила на лекарствено освобождаване.

Пероралният прием на ВПХХ изисква система, която е рН чувствителна с оглед на запазване на ЛВ от освобождаване в стомаха и целевото му доставяне в чревния тракт. Затова бяха избрани поликиселини, които имат рКа в слабокиселия диапазон, определяйки по този начин различна способност за набъбване в кисела и неутрална среда.

III. Цели и задачи

Целта на дисертационния труд е да демонстрира потенциала на акрилатни и метакрилатни ВПМ като системи за удължено освобождаване на верапамил хидрохлорид.

За осъществяването на тази цел, бяха решени следните задачи:

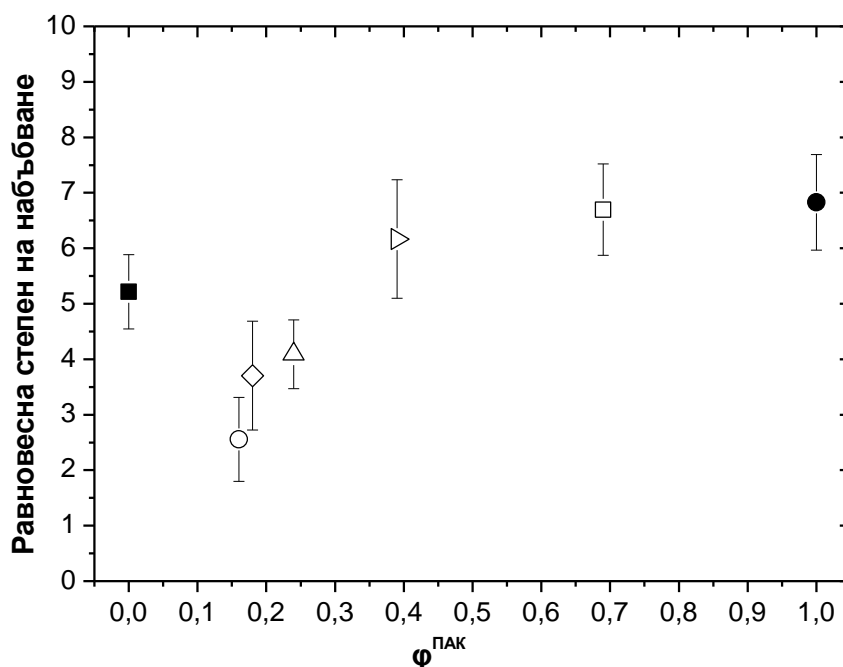
- III.1. Синтез и охарактеризиране на ВПМ поли(акрилова киселина)/полиакриламид и поли(метакрилова киселина)/полиакриламид под формата на **хидрогелове**.
- III.2. Изследване потенциала на хидрогелове на ВПМ ПАК/ПААМ и ПМАК/ПААМ като системи за удължено освобождаване на верапамил хидрохлорид.
- III.3. Синтез и охарактеризиране на ВПМ поли(акрилова киселина)/полиакриламид и поли(метакрилова киселина)/полиакриламид под формата на **микрогелове (МГ)**.
- III.4. Сравнително изследване на свойствата на МГ и хидрогелове на ВПМ ПАК/ПААМ и ПМАК/ПААМ като системи за лекарствено доставяне.

V. Резултати и обсъждане

V.1. Охарактеризиране на ВПМ ПАК/ПААМ

V.1.1. РСН на ВПМ ПАК/ПААМ

На Фигура 16 е показана зависимостта на РСН от състава на ВПМ ПАК/ПААМ. ЕМ ПАК и ВПМ1, мрежата с най- високо съдържание на ПАК ($\phi^{\text{ПАК}}=0.62$), показват най-висока РСН. Намалването на съдържанието на ПАК води до намаляване на РСН, който е по-значим при по-ниските $\phi^{\text{ПАК}}$ ($\sim 0.28 - 0.19$). ВПМ5, която има най-ниското $\phi^{\text{ПАК}}$, т.е. е с най-високо съдържание на ПААМ, има стойност на РСН, която е по-ниска от РСН на ЕМ ПААМ. Това може да бъде обяснено с взаимното проникване и преплитане на двете мрежи ПАК и ПААМ във ВПМ5, което води до повишаване на гъстотата на ВПМ в сравнение с ЕМ.



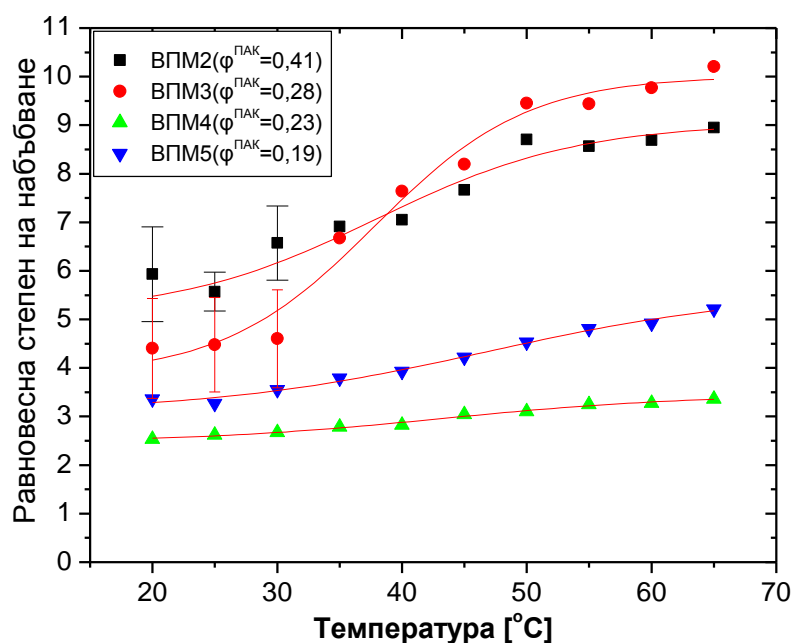
Фигура 16. Зависимост на РСН от състава на ВПМ ПАК/ПААМ.

По този начин, включването на малки количества от 2^{та} мрежа ПААМ в 1^{та} мрежа ПАК не променя значително тоталната гъстота на ВПМ. Когато, обаче, 2^{та} мрежа ПААМ преобладава във ВПМ, тоталната гъстота на ВПМ нараства значително, което води до намаляване на РСН (при $\phi^{\text{ПАК}} \sim 0.23-0.19$). По този начин съставът на ВПМ (т.е. съотношението

ПАК/ПААМ) е един надежден параметър за контрол на гъстотата на ВПМ, а оттам и на тяхната способност за контрол на лекарствено натоварване, съответно и на лекарствено освобождаване.

V.1.2. Температурна чувствителност на ВПМ ПАК/ПААМ

За полимерен материал, изграден едновременно от мономерни звена на ААМ и АК се очаква да проявява ГКТР. Зависимостта на РСН от температурата за ВПМ ПАК/ПААМ е представена на Фигура 17. Всички изследвани ВПМ проявяват температурна чувствителност, изразяваща се в плавно нарастване на РСН с увеличаване на температурата в интервала 32 - 50°. Този преход се дължи на разкъсването на водородните връзки между карбоксилните групи на ПАК и аминоките на ПААМ, което определя наличието на ГКТР.

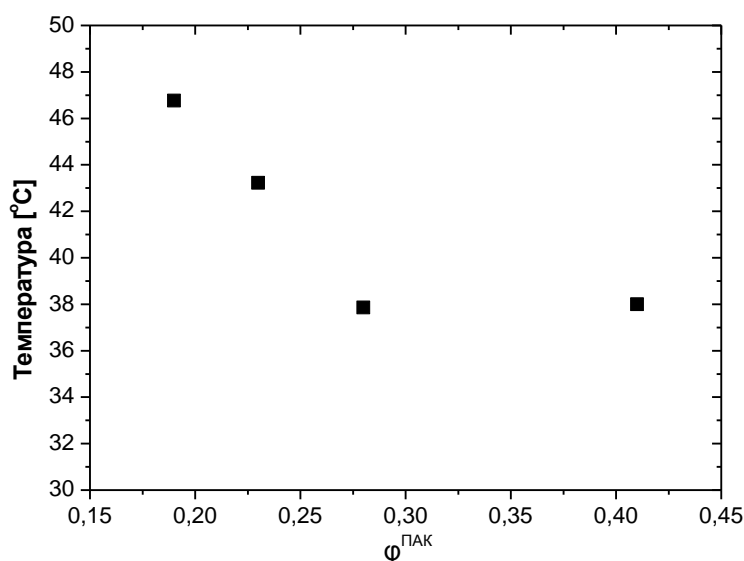


Фигура 17. Зависимост на РСН на ВПМ ПАК/ПААМ от температурата.

Наблюдаваният преход зависи от състава на ВПМ. От Фигура 17 се вижда, че ВПМ с по-голямо съдържание на ПАК (ВМП2 ($\varphi^{\text{ПАК}}=0.41$) и ВМП3 ($\varphi^{\text{ПАК}}=0.28$)) имат по-ясно изразен отклик към промяна в температурата, отколкото мрежите ВМП4 ($\varphi^{\text{ПАК}}=0.23$) и ВМП5 ($\varphi^{\text{ПАК}}=0.19$). Подобно поведение е за очакване имайки предвид че: (i) намаляването на съдържанието на ПАК води до намаляване на броя на водородните

връзки между двата типа мономерни звена, АК и ААМ, които стоят в основата на термочувствителността на системата и (ii) увеличаването на гъстотата на мрежата води до по-слаба способност за набъбване (Фигура 16), откъдето идва и по-слабата промяна в РСН при нарастване на температурата.

На Фигура 18 е представена ГКТР на ВПМ ПАК/ПААМ като функция от състава на ВПМ.

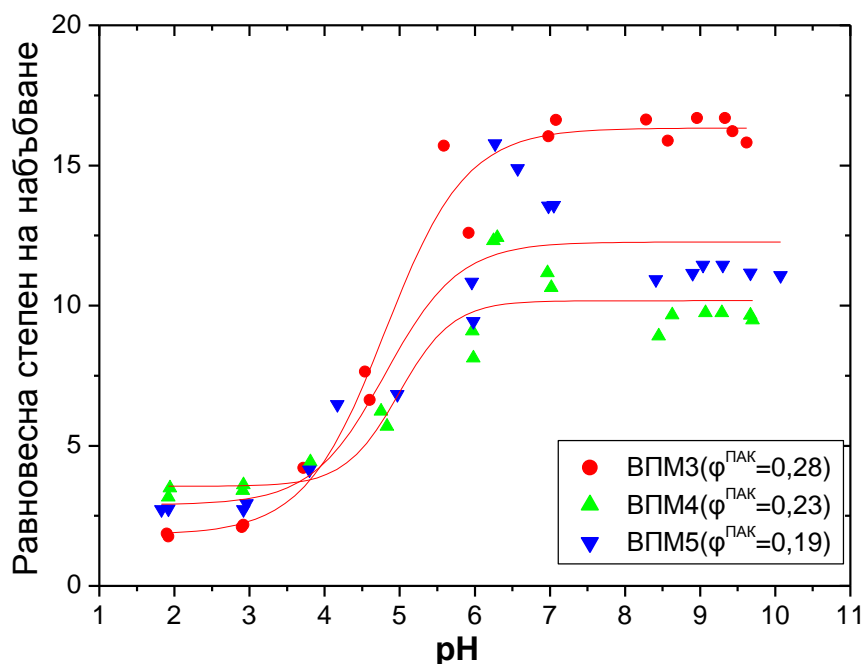


Фигура 18. Зависимост на температурната чувствителност на ВПМ ПАК/ПААМ от техния състав.

С нарастване на съдържанието на ПААМ (респективно намаляване на съдържанието на ПАК), нараства и ГКТР. С увеличаване на съдържанието на ПААМ нараства и гъстотата на мрежата на ВПМ ПАК/ПААМ (Фигура 16), което е и най-вероятната причина за увеличаване на ГКТР.

V.1.3. рН-чувствителност на ВПМ ПАК/ПААМ

ВПМ ПАК/ПААМ бе очаквано да бъде и рН чувствителна, поради наличието на COOH групите на ПАК. На Фигура 19 е представена зависимостта на РСН на ВПМ ПАК/ПААМ от рН.



Фигура 19. Зависимост на РСН на ВПМ ПАК/ПААМ от рН.

рН чувствителността на ВПМ ПАК/ПААМ зависи от техния състав, аналогично на тяхната температурна чувствителност. Причината е аналогична – промяната на способността на ВПМ да набъбва с промяната в състава ѝ. ВПМ3, която е с най-висока способност да набъбва измежду изследваните 3 състава на ВПМ ПАК/ПААМ показва и най-силна промяна в своята РСН с нарастване на рН – РСН нараства около 5 пъти при прехода от кисело към неутрално рН (Фигура 19).

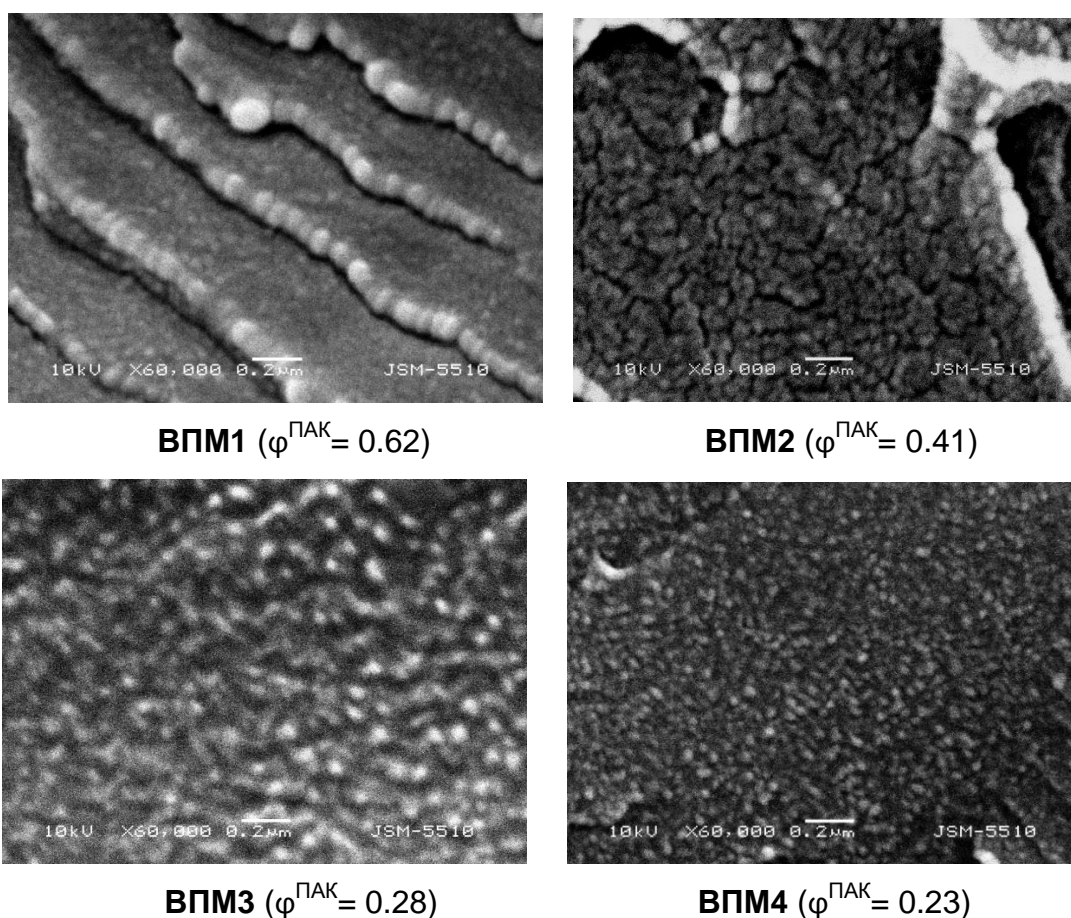
ВПМ4 и ВПМ5, които имат много сходно поведение и при температурната си чувствителност, тук отново са много близки в отклика си при промяна на рН. Причината е, че те имат по-висока гъстота на мрежата си, съответно по-ниска РСН, което ограничава способността им да променят драстично обема си с увеличаване на рН. Също така, намаляването на съдържанието на ПАК във ВПМ намалява и броя на групите, продаващи рН чувствителност, а оттам намалява и скока в РСН при прехода от кисело към неутрално рН.

По-високата стойност на РСН за ВПМ3 в сравнение с РСН за ВПМ4 и ВПМ5 при рН>6 могат да бъдат обяснени с по-високото съдържание на

COOH групи. Така, в рамките на очакваното, промяната в РСН като функция от рН е по-силно изразена при ВПМ с по-високо съдържание на поликиселината.

V.1.5. Морфология на ВПМ ПАК/ПААМ

С помощта на СЕМ бе изследвана морфологията на ВПМ ПАК/ПААМ, за да се провери наличието на фазово разделяне, очаквано в случая на ВПМ, получени по последователния метод. Морфологията на отчупена повърхност на ВПМ ПАК/ПААМ с четири различни състава – от ВПМ1 ($\varphi^{\text{ПАК}}=0,62$) до ВПМ4 ($\varphi^{\text{ПАК}}=0,23$) е представена на Фигура 21.



Фигура 21. Морфология на отчупена повърхност на ВПМ ПАК/ПААМ с различни състави.

И за четирите състава на ВПМ е показано, че притежават фазово разделена структура, състояща се от малки домени от ПААМ, равномерно диспергирани в матрицата от ПАК. Рехавата (химична) мрежа от ПААМ се вижда като по-светла на СЕМ изображенията, докато

мрежата ПАК е значително по-гъста (химично омрежване) и изглежда по-тъмна (Фигура 21). Домените от ПААМ са с размер под 100 нм за всички ВПМ, т.е. всички състави на ВПМ ПАК/ПААМ имат структура, характерна за полимерни нанокомпозити.

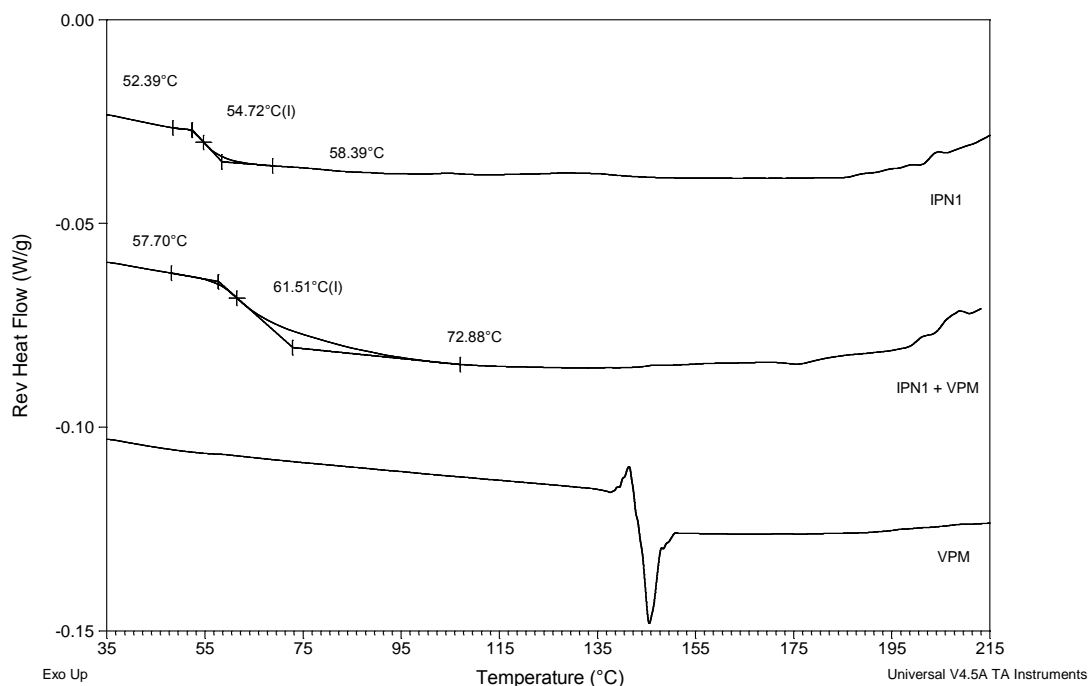
С увеличаване на съдържанието на ПААМ във ВПМ се наблюдава промяна на размера на домените от ПААМ. Това е в съгласие с известното от литературата [1] формиране на по-скоро цилиндрични, а не сферични домени от 2^{та} мрежа, които са диспергирани в 1^{та} мрежа. Тези цилиндри, обаче, при нито един състав на ВПМ ПАК/ПААМ не започват да се допират и по този начин да инициират инверсия на фазите, т.е. при ВПМ ПАК/ПААМ се наблюдава само фазово разделяне, без да се достига до етап на обръщане на фазите.

Нанофазовото разделяне на ВПМ е допълнителен фактор, определящ и контролиращ свойствата на ВПМ. Тъй като върху фазовото разделяне на ВПМ може да се повлияе чрез техния състав, то това е и начин за контрол на дифузията на ЛВ от и към ВПМ т.е. натоварването на ВПМ с ЛВ, както и освобождаването на ЛВ от ВПМ.

V.1.6. Термични свойства на ВПМ ПАК/ПААМ

С помощта на ТМДСК бе изследвано взаимното влияние, което натовареното ЛВ и полимерния носител оказват върху термичните си свойства. На Фигура 26 са показани обратимите топлинни потоци за ЛВ ВПХХ, както и за ВПМ1 – чиста и натоварена с ВПХХ. ВПХХ е твърдо кристално вещество и в неговата термограма се наблюдава ясен пик на топене при 144°C (Фигура 26). След натоварването му във ВПМ (показана е кривата само за ВПМ1, натоварено с ВПХХ), не се наблюдава пик на топене за ВПХХ (Фигура 26). Това означава, че ВПХХ става аморфен, най-вероятно поради взаимодействието си с ВПМ.

¹ L. H. Sperling "Interpenetrating Polymer Networks: An Overview" в Interpenetrating Polymer Networks; D. Klemperer, et al.; *Advances in Chemistry*; American Chemical Society: Washington, DC, 1994



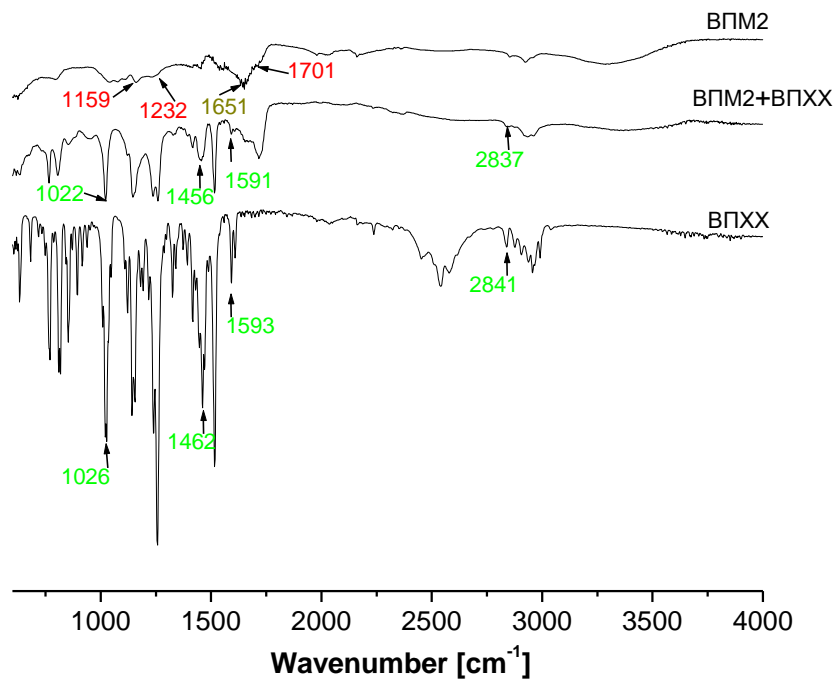
Фигура 26. ТМДСК на ВПМ1 ($\phi^{\text{ПАК}}=0.62$), ВПМ1 натоварена с ВПХХ и чист ВПХХ.

От друга страна, T_g на ВПМ ПАК/ПААМ нараства след включването на ВПХХ. Например, $T_g^{\text{ВПМ1}}$ се увеличава от $\sim 55^\circ\text{C}$ до $\sim 62^\circ\text{C}$ след натоварване с ВПХХ (Фигура 26).

Така, натоварването на ВПМ с ВПХХ води до взаимното повлияване на свойствата на ЛВ и полимерния носител, а именно: (i) включването на ЛВ повишава T_g на полимерния носител ВПМ и (ii) полимерният носител подпомага аморфизацията на ЛВ.

V.1.7. Инфрачервена спектроскопия (ИЧ)

Характеристичните за ВПХХ ивици са представени в Таблица 11. Ивицата за N-H валентно трептене във ВПХХ при $\sim 2800\text{--}2300\text{ cm}^{-1}$ намалява своя интензитет във ВПМ2, натоварена с ВПХХ, което може да се дължи на формирането на $\text{R}_3\text{NH}^+:\text{COO}^-$ йонна двойка между амино групата на ВПХХ и карбоксилния анион от ПАК т.е. на значително изменение в средата на протонираната амино група на ВПХХ, когато се натовари във ВПМ, причинено от неговото взаимодействие с COO^- от ПАК.



Фигура 28. ИЧ спектри на ВПМ ПАК/ПААМ, ненатоварена и натоварена с ВПХХ, както и на чистия ВПХХ.

Този резултат потвърждава предположението в началото на настоящата работа йонно взаимодействие между полимерен носител и катионно ЛВ, индиректно доказано също посредством резултатите от ДСК (аморфизация на ВПХХ).

Освен това полимера и лекарственото вещество взаимодействат посредством формирането на водородни връзки между тях, както показват данните от ИЧ (Фигура 28). Валентните С-Н трептения на метокси групите във ВПХХ, явяващи се при $\sim 2841 \text{ cm}^{-1}$ в чистия ВПХХ, са отместени към 2837 cm^{-1} във ВПМ2, натоварена с ВПХХ, което е допълнителна индикация за взаимодействие на полимера с ЛВ. Същото взаимодействие е причина за изчезването на валентното С=N трептене на нитрилната група в чистия ВПХХ ($\sim 2237 \text{ cm}^{-1}$). Това вероятно се дължи на формирането на силни водородни връзки между $-\text{OCH}_3$ и $-\text{C}\equiv\text{N}$ групите на ВПХХ и полимерната матрица.

Таблица 11. ИЧ характеристични ивици за чист ВПХХ и същите ивици, появяващи се във ВПМ2, натоварена с ВПХХ.

ИЧ ивица	Отнасяне	ИЧ ивица	Забележка
ВПХХ [2, 3]		ВПМ2+ВПХХ	
2841 cm ⁻¹	С-Н вибрационно трептене на метокси група	2837 cm ⁻¹	Слабо понижение в дължината на вълната поради взаимодействие с ВПМ матрицата
2800 – 2300 cm ⁻¹	N-H вибрационно трептене на протониран амин	-	Изчезва във ВПМ2, натоварена с ВПХХ, поради йонно взаимодействие с ВПМ матрицата
2237 cm ⁻¹	C=N вибрационно трептене на наситен алкилов нитрил	2235 cm ⁻¹	Слабо понижение в дължината на вълната поради взаимодействие с ВПМ матрицата
1593 cm ⁻¹	С-Н валенто трептене в бензенов пръстен	1591 cm ⁻¹	Слабо понижение в дължината на вълната поради взаимодействие с ВПМ матрицата
1516 cm ⁻¹	С-Н валенто трептене в бензенов пръстен	1516 cm ⁻¹	Без промяна
1462 cm ⁻¹	С-Н валенто трептене в бензенов пръстен	1456 cm ⁻¹	Слабо понижение в дължината на вълната поради взаимодействие с ВПМ матрицата
1257 cm ⁻¹	силно СО валентно трептене на ароматни естери	1259 cm ⁻¹	Без промяна
1026 cm ⁻¹	С-О валентно трептене на ароматни етери	1022 cm ⁻¹	Слабо понижение в дължината на вълната поради взаимодействие с ВПМ матрицата

Аналогични са и получените резултати за останалите ВПМ ПАК/ПААМ, натоварени с ВПХХ, които показват, че ВПМ ПАК/ПААМ взаимодействат с ВПХХ посредством:

² J. Sahoo, P.N. Murthy, S. Biswal, Manik; "Formulation of Sustained-Release Dosage Form of Verapamil Hydrochloride by Solid Dispersion Technique Using Eudragit RLPO or Kollidon®SR", *AAPS PharmSciTech*, **2009**, 10 (1), 27-33

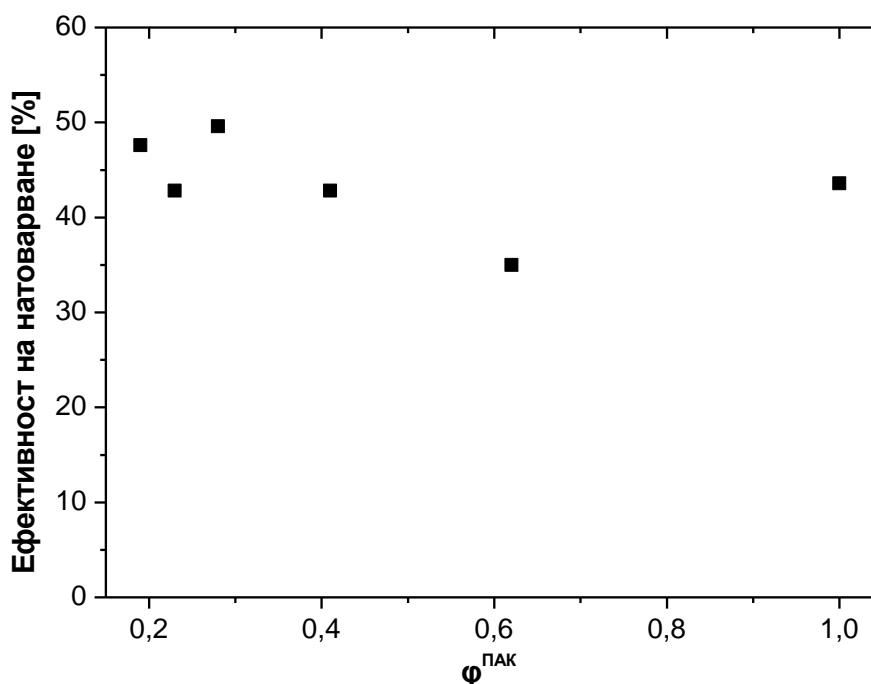
³ B.W. Tekade, V.M. Thakare, U.T. Jadhao, F. Kazi; "Optimization and In vitro evaluation of verapamil hydrochloride floating bilayer tablet", *The Pharma Innovation Journal*, **2014**, 3(6), 48-56

- (i) йонни взаимодействия между COO- от ПАК и R₃NH⁺ от ВПХХ, а също и посредством
- (ii) водородни връзки между полимерната матрица и ЛВ.

Тези резултати потвърждават ролята на функционалността на ВПМ върху взаимодействието полимерен носител-ЛВ, а оттук може да се очаква и профил на удължено лекарствено освобождаване от тази система.

V.1.8. Ефективност на натоварване

Ефективността на лекарствено натоварване беше определена по формула (6). Може да се предположи, че количеството ВПХХ във ВПМ ще зависи от броя на отрицателно заредените карбоксилни групи на ПАК т.е. с намаляване на $\varphi^{\text{ПАК}}$ ефективността на натоварване да намалява. Получените експериментални резултати са представени на Фигура 29, откъдето се вижда, че ЕН слабо се повлиява от състава на ВПМ.

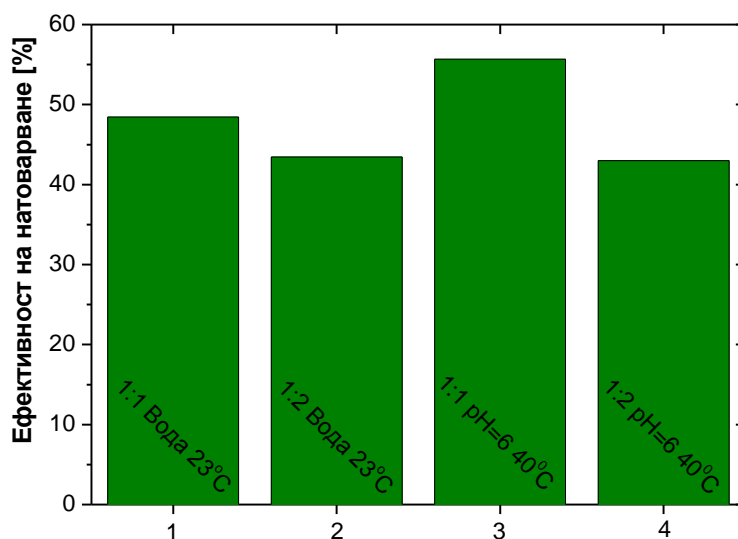


Фигура 29. Зависимост на ефективността на натоварване от състава на ВПМ ПАК/ПААМ

ЕН варира между 35% за ВПМ1 и 49,6% за ВПМ4 т.е. с увеличаване на количеството на ПАК, ЕН слабо намалява, резултат, който не отговаря на очакванията. Причината за това вероятно е, че в условията, при които се провежда натоварването, включването на ВПХХ във ВПМ се

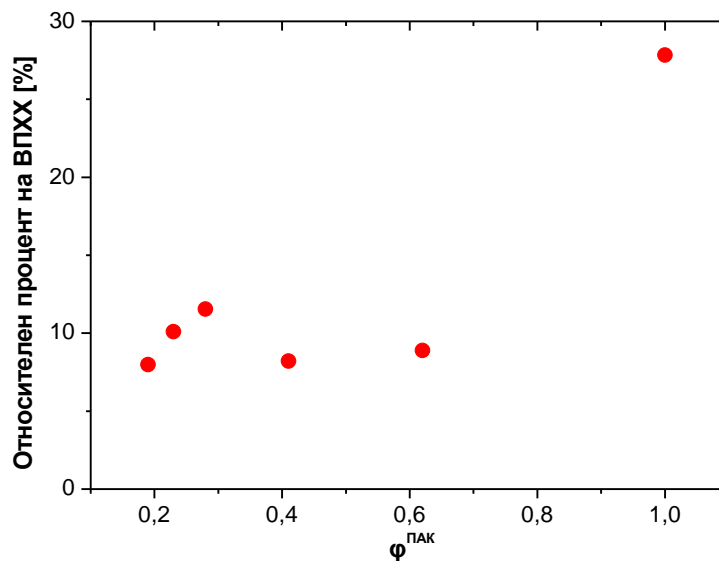
осъществява по-скоро чрез пасивна дифузия, отколкото чрез активен транспорт. Затова бе проведено допълнително изследване за един състав на ВПМ, този с най-голяма ЕН - ВПК4.

На Фигура 30 са представени резултатите от проведеното изследване върху зависимостта на ефективността на натоварване от условията на средата. От проведеното изследване бе установено, че ЕН на ВПМ ПАК/ПААМ се влияе слабо от условията, при които се осъществява натоварването. Най-висока ЕН (55,7%) се постига при температура 40°C и рН 6 (дестилирана вода). При натоварване в дестилирана вода при 23°C се потвърждава вече намерената стойност за ЕН на същата проба - 48,4%. Увеличаването на отношението ВПХХ:ВПМ4 от 1:1 до 2:1 не повишава ЕН.



Фигура 30. Зависимост на ефективността на натоварване на ВПМ4 от условията на средата.

Относителния процент на натоварения ВПХХ във ВПМ ПАК/ПААМ варира между 7,97% за ВПМ5 и 11,5% за ВПМ4, като ясна тенденция за зависимостта на ОП от състава на ВПМ не се наблюдава (Фигура 31).



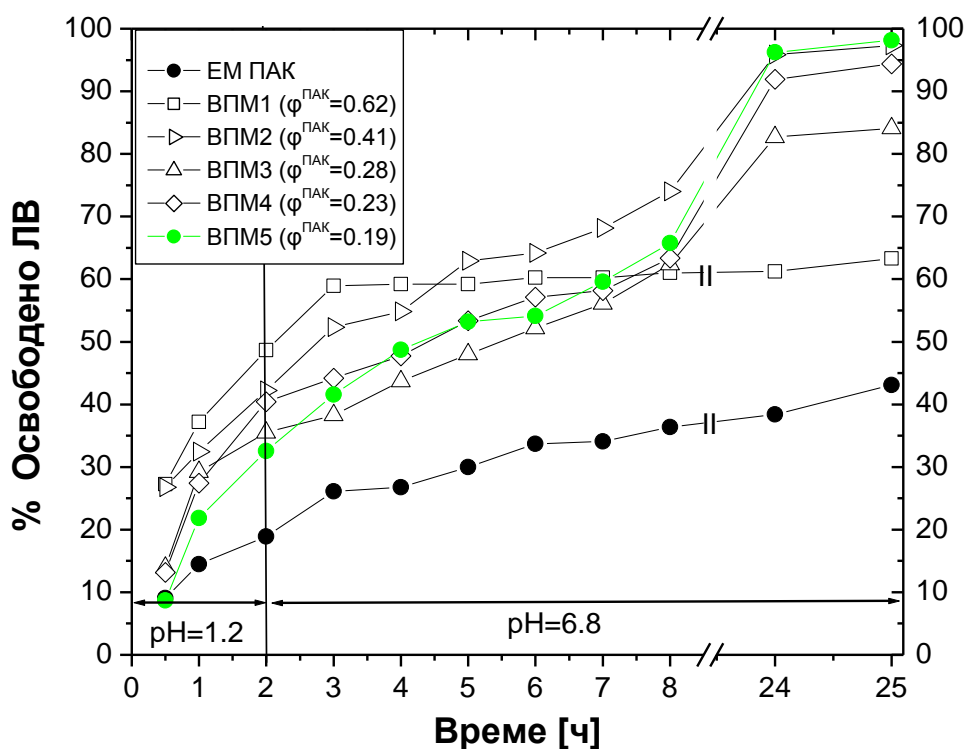
Фигура 31. Зависимост на относителния процент на ВПХХ, включен в състава на ВПМ ПААК/ПААМ от техния състав.

V.1.9. *In vitro* освобождаване на ВПХХ

За да се установи потенциала на ВПМ ПАК/ПААМ като полимерен носител за удължено освобождаване на ВПХХ, бяха проведени *in vitro* изследвания върху степента на освобождаване на ВПХХ при условия, имитиращи стомашно-чревния тракт. Резултатите са представени на Фигура 32. От фигурата се вижда, че ЕМ ПАК е неподходяща като система за удължено освобождаване на ВПХХ, тъй като след 24 часа освобождава едва 40% от натоварения ВПХХ.

Резултатите на Фигура 32 показват, че ВПМ1 ($\phi^{PAK}=0.62$) и ВПМ2 ($\phi^{PAK}=0.41$), които имат най-висока степен на набъбване и съответно най-ниска гъстота на мрежата, в сравнение с останалите ВПМ, демонстрират типичен „burst” ефект с над 25% освободено ЛВ в рамките на първите 30 мин. През първите 4.5 часа от експеримента, профила на освобождаване на ВПХХ от тези две ВПМ е много сходен. След този период, обаче, профилите на освобождаване на ВПХХ от тези две ВПМ се различават значително. На 25^{тия} час ВПМ1 освобождава едва 60% от натоварения в нея ВПХХ, докато ВПМ2 достига почти 100% освобождаване. Това добре корелира с по-високото съдържание на ПАК във ВПМ1, който определя

задържането на част от натварения ВПХХ и невъзможност за пълното му освобождаване, аналогично на чистата ПАК.



Фигура 32. Кинетика на освобождаване на ВПХХ от ВПМ ПАК/ПААМ и ЕМ ПАК.

Както може да се очаква, при ВПМ с по-ниска степен на набъбване, съответно по-висока гъстота на мрежата, напр. ВПМ3 ($\phi^{\text{ПАК}}=0.28$), ВПМ4 ($\phi^{\text{ПАК}}=0.23$) и ВПМ5 ($\phi^{\text{ПАК}}=0.19$), началният „burst“ ефект е избегнат напълно и едва ~ 12% ВПХХ е освободен за първите 30 минути. На 25^{тия} час тези ВПМ освобождават над 80% (~ 80-100%) от натоварения в тях ВПХХ.

Най-подходящ профил на удължено освобождаване на ВПХХ е демонстриран от ВПМ4 и ВПМ5, където баланса между ПАК и ПААМ е оптимален за формирането на ефективна полимерна система за удължено освобождаване на ВПХХ. При тях се съчетават липсата на burst ефект с удължено (до 24 часа) освобождаване на над 80% от натоварения ВПХХ, което показва, че тези системи са с най-балансиран състав. Така, може да бъде обобщено, че само функционалността или

само гъстотата на мрежата на използваните полимерни носители не водят до удължено освобождаване на ЛВ, а всъщност системите, в които тези два параметъра са най-оптимално съчетани са най-подходящи за удължено освобождаване на ВПХХ.

V.1.10. Кинетични модели на освобождаване

Данните от кинетиката на лекарствено освобождаване бяха екстраполирани с основните кинетични модели, описани в Литературния обзор, раздел IV.1.6.10. Резултатите са представени в Таблица 12. Освобождаването на ВПХХ от всички ВПМ ПАК/ПААМ и ЕМ ПАК се описва най-добре от модела на Хигучи. При прилагане на този модел, получените корелационни коефициенти са с най-високи стойности ($R^2 = 0.860$ до 0.993 , Таблица 12). Така, освобождаването на ВПХХ от ВПМ ПАК/ПААМ е пропорционално на квадратен корен от времето. Този резултат е очакван, тъй като уравнението на Хигучи описва освобождаването на разтворимо ЛВ от неразтворима матрица, какъвто е и изследвания случай [4].

Разлика в механизмите на освобождаване на ВПХХ, в зависимост от състава на ВПМ, може да се види по-ясно при прилагане на модела на Корсмайер-Пепас. От данните, получени чрез екстраполиране по модела на Корсмайер-Пепас бяха намерени дифузионните коефициенти (D) за ВПМ ПАК/ПААМ (Фигура 33) по формула (16):

$$D = \sqrt[n]{\frac{k}{4}} \pi l^2 \quad (16)$$

където k е константата на Корсмайер-Пепас, π е Лудолфовото число ($\pi = 3,14$), l е дебелината на пробата в метри, а n е дифузионния експонент (Таблица 12, Фигура 33). От получените данни се вижда, че освобождаването на ВПХХ от ЕМ ПАК, и ВПМ от 1 до 4 се осъществява чрез Фикова дифузия (Таблица 12, Фигура 33). Това означава, че подвижността на молекулите на ВПХХ е определящият параметър за тяхната дифузия във ВПМ/ЕМ. С намаляване на количеството на ПАК, т.е. увеличаване на количеството на ПААМ, дифузионният експонент на

⁴ H. Fessi, J.-P. Marty, F. Puisieux, J.T. Carstensen „The Higuchi square root equation applied to matrices with high content of soluble drug substance“ Int. J. of Pharm. 1 (5), 265-274 (1978)

ВПХХ расте. Най-голям е той за ВПМ5 ($\phi^{ПАК}=0.19$), т.е. състава от изследваната серия, при който се осъществява удължено освобождаване на ВПХХ с най-добри характеристики.

Таблица 12. Данни, получени след прилагане на теоретичните модели за описване на лекарствено освобождаване.

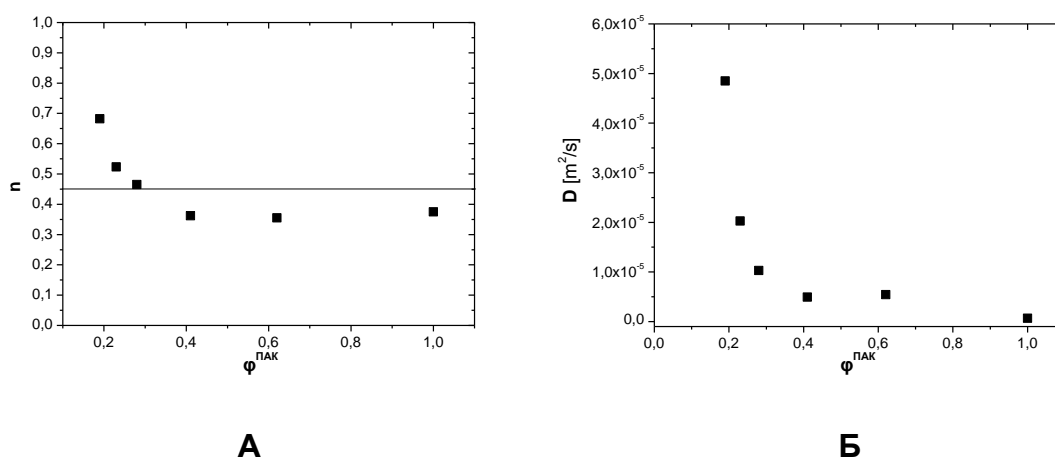
Проба/ Модел	ПАК ($\phi^{ПАК}=1$)	ВПМ1 ($\phi^{ПАК}=0.62$)	ВПМ2 ($\phi^{ПАК}=0.41$)	ВПМ3 ($\phi^{ПАК}=0.28$)	ВПМ4 ($\phi^{ПАК}=0.23$)	ВПМ5 ($\phi^{ПАК}=0.19$)
Нулев						
K_{ZO}	0.879	1,000	1,600	1,697	1,560	1,814
R^2_{ZO}	0.887	0.631	0,852	0,919	0.891	0.914
Първи						
K_{FO}	0.022	0.043	0.063	0.048	0.052	0.055
R^2	0.922	0.709	0.955	0.973	0.955	0.970
Хигучи						
K_H	2,845	3,583	5,266	5,410	5,029	5,770
R^2_H	0.989	0.860	0.982	0.993	0.984	0.984
Корсмайер- Пепас						
K_p	0.146	0.365	0.336	0.234	0.234	0.179
n	0.375	0.355	0.362	0.465	0.523	0.682
R^2	0.903	0.961	0.988	0.928	0.931	0.946
$D [m^2/s]$	6,76E-07	5,43E-06	4,93E-06	1,03E-05	2,03E-05	4,85E-05

ВПМ5 се отличава с дифузионен експонент за ВПХХ, характерен за аномална “не-Фикова” дифузия - $n=0.68$ ($R^2=0.946$). Това означава, че подвижността на молекулите на ЛВ и подвижността на полимерните сегменти стават сравними. Това е за очакване, тъй като увеличаването на количеството на ПААМ увеличава тоталната гъстота на мрежата на ВПМ, т.е. затруднява релаксацията на полимерните сегменти, т.е. тя става по-бавна.

Наблюдава се и ясна зависимост на D от състава на ВПМ, като с увеличаване на количеството на ПАК във ВПМ, дифузионния коефициент на ВПХХ в хидрогела намалява, т.е. молекулите на ВПМ забавят своята дифузия. Причините са най-вероятно:

- (а) регистрираното с ИЧ спектроскопия взаимодействие между ПАК (анион) и ВПХХ (катион) – електростатично и чрез водородни връзки, както и
- (б) промяната във вътрешната структура на хидрогела на ВПМ с промяната на неговия състав.

Намаляването на дифузионния коефициент на ВПХХ подкрепя предположената промяна в скоростопределящия етап на дифузията на ВПХХ във ВПМ с намаляване на съдържанието на ПАК от дифузионно контролирана към релаксационно контролирана.



Фигура 33. Дифузионен експонент (А) и дифузионен коефициент (Б) на ВПХХ, освобождавано от ВПМ ПАК/ПААМ с различен състав, определени по модела на Корсмайер-Пепас.

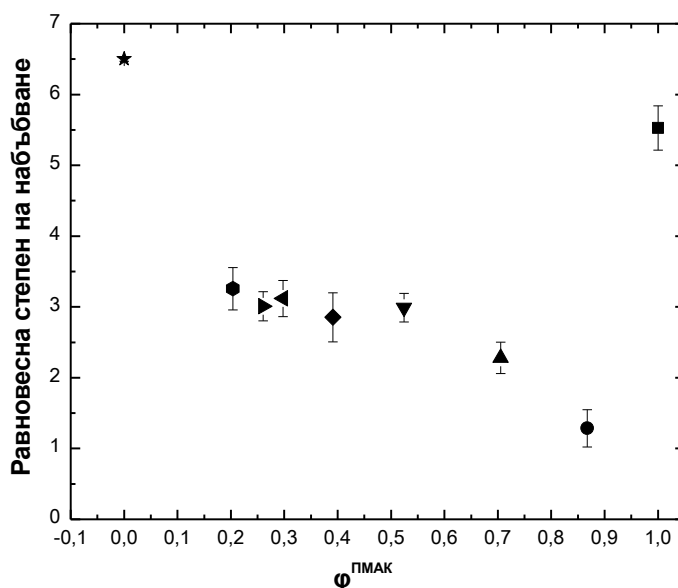
Така, резултатите от зависимостта на дифузионния коефициент от състава на ВПМ потвърждават изводите, направени за кинетиката на освобождаване на ВПХХ от ВПМ ПАК/ПААМ. Този резултат на практика доказва правилността на избора на компонентите на ВПМ според ЛВ, за което е разработена системата, и по-генералната начална предпоставка да бъде постигнато удължено освобождаване на катионното ЛВ ВПХХ, използвайки за целта анионна полимерна система.

V.2. Охарактеризиране на ВПМ ПМАК/ПААМ

ВПМ на ПМАК/ПААМ бяха охарактеризирани с методи и по начин, аналогичен на показания дотук за ВПМ ПАК/ПААМ.

V.2.1. РСН на ВПМ ПМАК/ПААМ

Зависимостта на РСН от състава на ВПМ ПМАК/ПААМ е представена на Фигура 34. И двете ЕМ ПМАК и ПААМ имат по-висока РСН в сравнение с техните ВПМ. Тази разлика може да бъде обяснена с по-високата гъстота на omрежване на ВПМ в сравнение с ЕМ. Последната е частично обусловена от присъщите преплитания и взаимно проникване на двете съставни мрежи (ПМАК и ПААМ), както беше отбелязано за ВПМ ПАК/ПААМ. В допълнение, формирането на водородни връзки между двата компонента, както бе установено и за ВПМ ПАК/ПААМ, също допринася за увеличаване на гъстотата на мрежата, респективно понижаване на РСН. Така факторите, влияещи върху РСН на ВПМ ПАК/ПААМ, са в сила и при ВПМ ПМАК/ПААМ.



Фигура 34. Равновесна степен на набъбване като функция от състава на ВПМ ПМАК/ПААМ

При тази система, обаче, се очаква да повлияе и още един фактор, а именно по-хидрофобната природа на ПМАК в сравнение с ПАК. При неутрално рН, ПМАК има сравнително по-ниска степен на йонизация ($pK_a^{\text{ПМАК}} = 5.5$) спрямо ПАК и поради това веригите ѝ имат конформация на статистическо кълбо, която допълнително усилва непроницаемостта на ПМАК за разтворителя (вода). По този начин три фактора имат сходно

влияние върху цялостната гъстота на мрежата, като ефективно я увеличават, което води до наблюдаваното понижениe на РСН.

Сравнявайки РСН само за ВПМ ПМАК/ПААМ, ясно се забелязва тенденция на намаляване на способността за набъбване с увеличаване на съдържанието на ПМАК, т.е. увеличаването на $\phi^{\text{ПМАК}}$ води до понижаването на РСН. ВПК7, т.е. ВПМ с най-ниско съдържание на ПМАК ($\phi^{\text{ПМАК}}=0.2$), показва най-висока способност да набъбва, т.е. най-висока стойност за РСН. Това наблюдение е точно противоположно на зависимостта на РСН от състава на ВПМ за ВПМ ПАК/ПААМ (вж. V.1.1, Фигура 16). Разликата в зависимостта на РСН от състава на ВПМ, наблюдавана при ВПМ ПМАК/ПААМ и при ВПМ ПАК/ПААМ, може да се обясни със следните фактори:

- *ЕМ ПМАК е по-хидрофобна* и има по-ниска способност да набъбва във вода, в сравнение с ЕМ ПАК, особено при ниски и средни стойности на рН. При ниски степени на дисоциация на ПМАК, водата е лош разтворител за ПМАК [5]. Сравнявайки киселинните свойства на ЕМ от ПМАК и ПАК, получени при едни и същи концентрации на мономер, омрежващ агент и инициатор, една и съща температура и реакционно време, и т.н., РСН на ЕМ ПАК е ~ 7 (вж. V.1.1, Фигура 16), докато за ЕМ ПМАК е около 5 (Фигура 34).

- При ниски стойности на рН, веригите на ПМАК формират *компактни хидрофобни клъстери*, свързани помежду си посредством къси издължени части от веригите на ПМАК [6]. Тези клъстери са формирани посредством силно привличане между хидрофобните метилови групи, свързани с гръбнаците на макромолекулите на ПМАК (т.е. взаимодействия от близък порядък). По този начин допълнително се намалява способността на областите от ПМАК във ВПМ ПМАК/ПААМ да набъбват.

- Зависимостта на РСН от състава на ВПМ е повлияна и от *взаимодействието между компонентите на ВПМ*. Формирането на водородни връзки от макромолекулите на ПМАК е възможно в по-широк

⁵ M.S. Sulatha, U. Natarajan; *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2011**, 50, 11785

⁶ L. Ruiz-Perez, A. Pryke, M. Sommer, G. Battaglia, I. Soutar, L. Swanson, M. Geoghegan; *Macromolecules*, **2008**, 41, 2203

интервал на рН в сравнение с ПАК, защото ПАК има по-ниска pK_a ($pK_a \sim 4.5$) в сравнение с ПМАК ($pK_a = 5.5$) [7]. Така, при $pH < 5.5$ ПМАК може да формира водородни връзки, докато за ПАК това е възможно при $pH < 4.5$. Формирането на водородни връзки от ПМАК е наблюдавано и доказано при съвместни материали на ПМАК с поли(N-изопропилакриламид) (ПНИПААМ), където водородни връзки се формират между карбоксилните групи на ПМАК и amidните групи на ПНИПААМ [8]. По подобен начин, COOH групите на ПМАК вероятно формират водородни връзки с amidните групи на ПААМ, както и между самите тях.

Всички тези фактори, действащи заедно, водят до наблюдаваното понижение на РСН (увеличаване на гъстотата на мрежата) с увеличаване съдържанието на ПМАК във ВПМ ПМАК/ПААМ.

В заключение, може да бъде обобщено, че съставът на ПМАК/ПААМ е параметър, чрез който може да се контролира гъстотата на мрежата на ВПМ ПМАК/ПААМ, а оттук и на тяхната способност да набъбват. Имайки пред вид крайната цел на работата, а именно разкриване на потенциала на тези ВПМ като лекарство-доставящи системи за ВПХХ, промяната в техния състав е начин да се контролира дифузията на ЛВ, както при неговото натоварване, така и при неговото освобождаване.

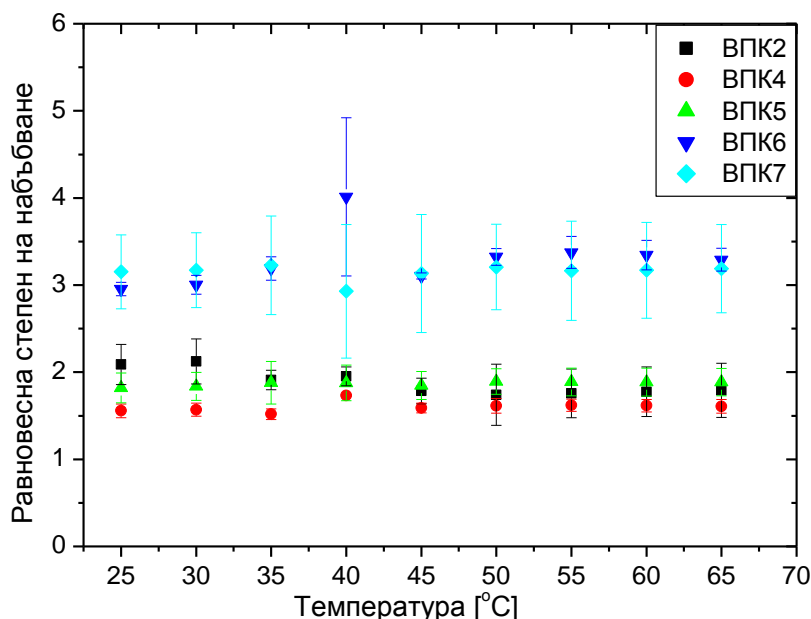
V.2.2. Температурна чувствителност на ВПМ ПАК/ПААМ

Може да се предположи, че полимерен материал, изграден от мономерни звена, съдържащи карбоксилни и amidни групи, от една страна ще: (i) проявява ГКТР, поради наличието на водородни връзки между двата типа групи; докато от друга (ii) ще проявява ДКТР вследствие на повишената хидрофобност на ПМАК и способността на веригите ѝ да формират компактни хидрофобни клъстери. Ето защо бе интересно да се проследи зависимостта на РСН на такава система от температурата. На Фигура 35 са представени температурните зависимости на РСН за ВПМ ПМАК/ПААМ. Получените резултати потвърждават зависимостта на РСН от състава на ВПМ ПМАК/ПААМ,

⁷ J. Zhang, N.A. Peppas; "Molecular Interactions in Poly(methacrylic acid)/ Poly(Nisopropylacrylamide) Interpenetrating Polymer Networks", *Journal of Applied Polymer Science*, **2001**, *82*, 1077-1082

⁸ D. E. Owens III, Y. Jian, J. E. Fang, Br. V. Slaughter, Yi-H. Chen, N. A. Peppas; *Macromolecules*, **2007**, *40*, 7306-7310

(Фигура 34), тъй като по-високите стойности на $\phi^{\text{ПМАК}}$ са свързани с по-ниска степен на набъбване на съответната ВПМ ПМАК/ПААМ. В изследвания температурен интервал, обаче, не се наблюдава ясна температурна зависимост на РСН, т.е. РСН не се променя с увеличаване на температурата.



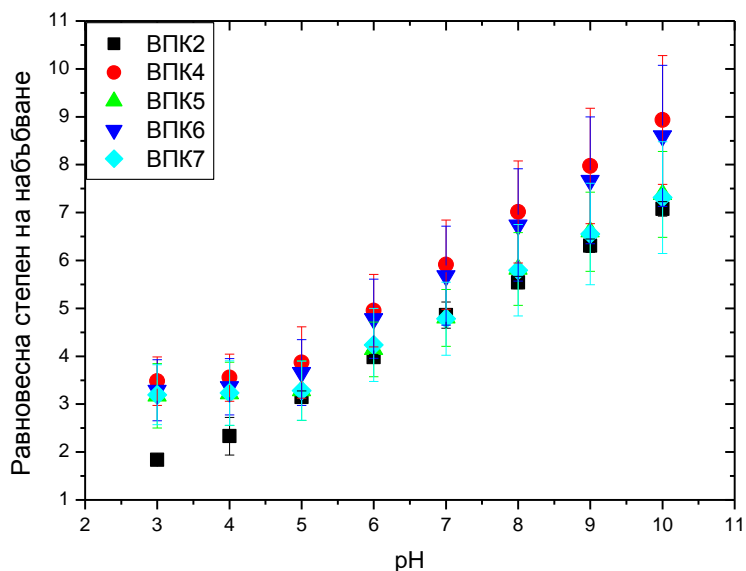
Фигура 35. Зависимост на РСН на ВПМ ПАК/ПААМ от температурата.

Най-вероятно, това се дължи на факта, че двата очаквани ефекта – на хидрофобните мономерни звена и на формирането на водородни връзки между тях, действат в противоположна посока един на друг и взаимно се неутрализират. Хидрофилната природа на карбоксилните групи, в това число способността им да формират водородни връзки, се компенсира от формирането на хидрофобни клъстери от гръбнаците на макромолекулите на ПМАК. Резултатът е, че синтезираните нови ВПМ на ПМАК/ПААМ не проявяват температурна чувствителност.

V.2.3. pH чувствителност на ВПМ ПМАК/ПААМ

На Фигура 36 е представена зависимостта на РСН на ВПМ ПМАК/ПААМ от рН. За всички изследвани ВПМ ПМАК/ПААМ, с изключение на ВПК2, с повишаване на рН, се наблюдава плато за стойности на рН от 3 до 5, а при рН >5, РСН започва линейно да

нараства, което много добре съответства на pK_a на ПМАК. Само ВПК2, т.е. ВПМ с най-високо съдържание на ПМАК, демонстрира линейно увеличение на РСН с увеличаване на рН, без наблюдаваното при останалите състави плато при ниски рН.



Фигура 36. Зависимост на РСН на ВПМ ПАК/ПААМ от рН.

Вероятно платото е свързано с образуването на водородни връзки между ПМАК и ПААМ, които се разрушават след $pH \sim 5$. При ВПМ с най-високо съдържание на ПМАК, броя на тези водородни връзки е прекалено малък и не повлиява поведението на ВПМ.

Така, всички състави на ВПК, показват ясна рН зависимост на тяхната РСН. Тази зависимост определя и техния потенциал да бъдат използвани като носители за ЛВ, които да бъдат освобождавани при промяна на рН. Трябва да се отбележи, че с промяната на рН от кисело до неутрално, т.е. в условия, наподобяващи прехода в стомашно-чревния тракт, степента на набъване на ВПМ ПМАК/ПААМ нараства двукратно. Това е по-слаб скок в РСН в сравнение с ВПМ ПАК/ПААМ, но въпреки това достатъчен за да определи ВПМ на ПМАК/ПААМ като подходящи носители за перорален прием на ЛВ.

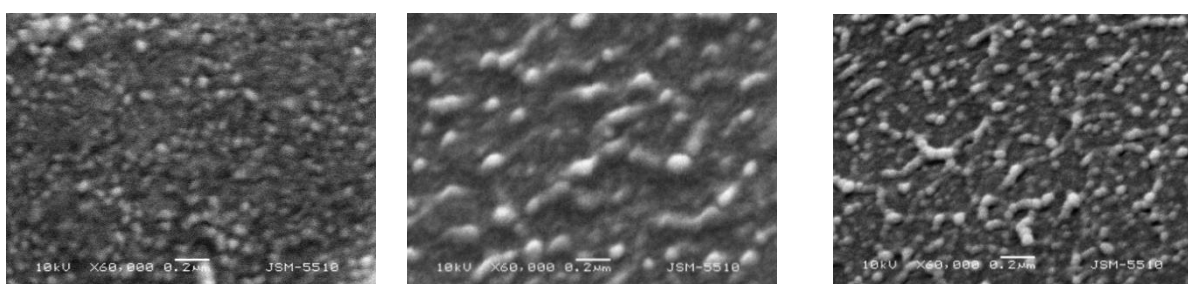
V.2.5. Морфология на ВПМ ПМАК/ПААМ

ВПМ ПМАК/ПААМ, получени посредством последователния метод, са очаквани да бъдат с фазово-разделена структура, поради спинодалното разделяне (*spinodal decomposition*), което протича при формирането на

ВПМ [1]. За да проверим дали това твърдение е вярно, бе изследвана морфологията на отчупена повърхност на ВПМ ПМАК/ПААМ с различен състав (Фигура 38). Всяка от изследваните проби ВПМ демонстрира фазово-разделена структура, състояща се от малки домени от ПААМ (2^{ра} мрежа), равномерно разпределени в матрицата от ПМАК (1^{ва} мрежа). Порехавата мрежа от ПААМ е синтезирана с 40 пъти по-ниска концентрация на омрежващия агент в сравнение с мрежата на ПМАК, затова тя изглежда по-светла на снимките, направени със СЕМ (Фигура 38).

Увеличаването на съдържанието на ПААМ в състава на ВПМ ПМАК/ПААМ, т.е. увеличаването на съотношението 2^{ра} към 1^{ва} мрежа, води до развиването на два типа морфолгия, в зависимост от състава на ВПМ:

- За $\phi^{\text{ПМАК}} > 0.52$ морфологията на ВПМ се характеризира с присъствието на малки домени от ПААМ (2^{ра} мрежа), равномерно разпределени в матрицата от ПМАК (1^{ва} мрежа). Размерът на тези домени се променя с увеличаване на количеството на ПААМ – от под 100 нм за ВПК1 ($\phi^{\text{ПМАК}} = 0.86$) те достигат до 200 нм за $\phi^{\text{ПМАК}} = 0.30$ (Фигура 38). Процесът на фазово разделяне се възпрепятства от високата гъстота на химичното омрежване на ПМАК, която държи домовете на втората мрежа ПААМ сравнително малки.



ВПК1 ($\phi^{\text{ПМАК}} = 0.86$)

ВПК3 ($\phi^{\text{ПМАК}} = 0.52$)

ВПК5 ($\phi^{\text{ПМАК}} = 0.30$)

Фигура 38. Морфология на ВПМ ПМАК/ПААМ с различен състав.

- За $\phi^{\text{ПМАК}} < 0.52$ настъпва инверсия на фазите, процес при който домовете на ПААМ започват да се „докосват“ и сливат един с друг (ВПК3 и ВПК5, Фигура 38). Така, те формират взаимно свързани

цилиндри, когато съдържанието на ПААМ във ВПМ започне да преобладава, т.е. при ниски стойности на $\phi^{\text{ПМАК}}$ [9].

Ключов състав за ВПМ на ПМАК/ПААМ е този, при който ПААМ и ПМАК са в тегловно съотношение $\sim 1/1$, т.е. ВПКЗ ($\phi^{\text{ПМАК}} = 0.52$). При този състав зависимостите на РСН, МТВ и морфологията от състава на ВПМ подчертано променят поведението си.

Може да бъде направено заключението, че морфологията на ВПМ ПМАК/ПААМ се променя в зависимост от състава на ВПМ, което от своя страна води до наблюдаваните промени в техните свойства. Например, мрежата ПААМ започва да формира взаимно свързани цилиндри в матрицата от ПМАК при $\phi^{\text{ПМАК}} < 0.52$. С увеличаване на съдържанието на ПМАК при $\phi^{\text{ПМАК}} < 0.52$, стойностите за МТВ се увеличават не само поради факта, че компонентът с по-висока МТВ (ПААМ) започва да преобладава, но също така, защото той започва да формира своя собствена „мрежа“, посредством свързването между неговите домейни.

При $\phi^{\text{ПМАК}} > 0.52$, когато съдържанието на ПМАК преобладава, т.е., МТВ на ВПМ намалява, се променя морфологията на ВПМ. Така, малките домейни от „по-твърдата“ мрежа ПААМ „плуват“ в матрицата от „по-меката“ мрежа ПМАК. За подобни системи е известно, че тяхната МТВ се определя главно от МТВ на „по-мекия“ компонент, който в случая е ПМАК [10]. В заключение, морфологията на ВПМ определя и може да обясни наблюдаваната зависимост на МТВ от състава на ВПМ.

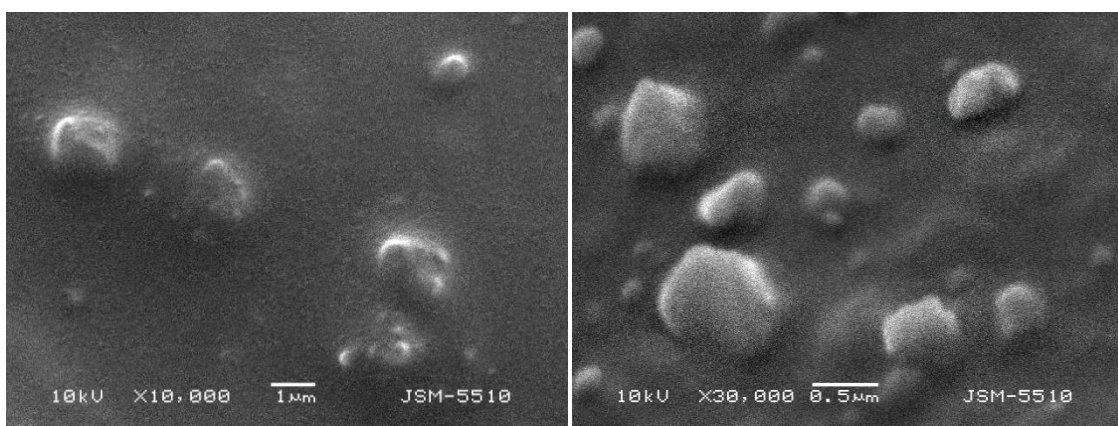
Морфологията представена на Фигура 38, отново, както и при ВПМ ПАК/ПААМ, наподобява нанокomпозитна структура, при която наноразмерните домейните от ПААМ са диспергирани в матрицата от ПМАК. Наблюдаваното нано-фазово разделяне във ВПМ се контролира от гъстотата на първата мрежа (в случая ПМАК), както и от съотношението на двете мрежи ПААМ/ПМАК. Това специфично фазово разделяне във ВПМ е допълнителен начин за контрол на дифузията на ЛВ във ВПМ, т.е. предсатвлява допълнителен начин за промяна на характеристиките на новополучените ВПМ като лекарство-доставящи системи с удължено освобождаване.

⁹ D. Bahl, R.H. Bogner; *AAPS PharmSciTech*, **2008**, 9, 146

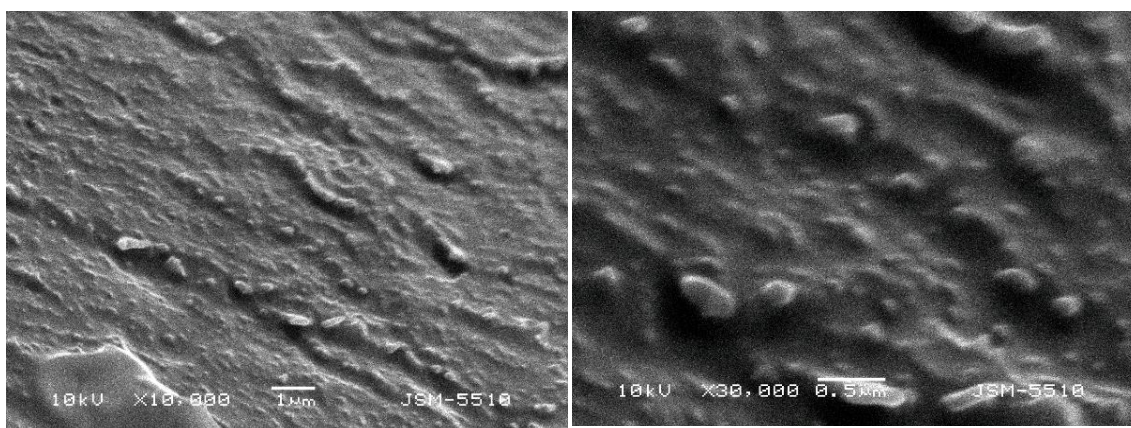
¹⁰ F.J. Balta Calleja, S. Fakirov Eds.; *Cambridge University Press*, **2000**, 220

Морфологията на ВПМ ПМАК/ПААМ (Фигура 38) се различава от морфологията на ВПМ ПАК/ПААМ (Фигура 20) [11]. При последните, увеличаването на съотношението 2-ра към 1-ва мрежа води до нарастване на размера и броя на домейните от 2-та мрежа, без те да формират своя мрежа от взаимносвързани цилиндри. Така при ВПМ ПАК/ПААМ не се наблюдава обръщане на фазите. Причина за тази разлика е най-вероятно по-голямата хидрофобност на ПМАК в сравнение с ПАК, която улеснява и подпомага фазовото разделяне.

Натоварването на ВПМ ПМАК/ПААМ с ВПХХ довежда до промяна в тяхната морфология. На Фигура 39 е представена морфологията на отчупена повърхност на ВПМ ПМАК/ПААМ с различен състав, след натоварване с ВПХХ.



ВПК3 ($\phi^{\text{ПМАК}}=0.52$)



ВПК2 ($\phi^{\text{ПМАК}}=0.71$)

Фигура 39. Морфология на счупена повърхност на ВПМ ПМАК/ПААМ с различен състав, след натоварване с ВПХХ.

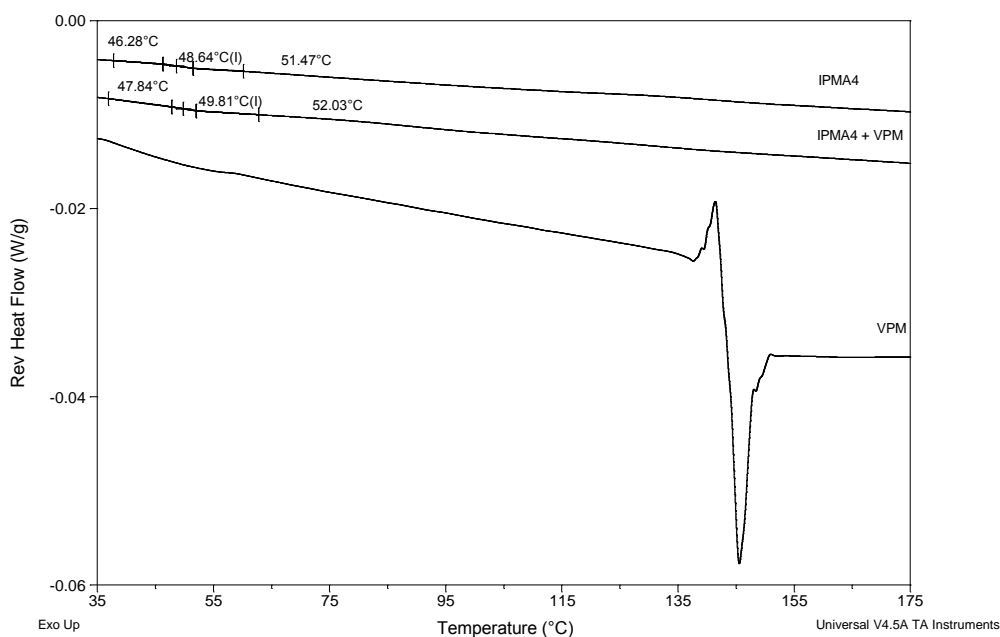
¹¹ M. Simeonov, B. Kostova, E. Vassileva; „Interpenetrating Polymer Networks of Poly(Acrylic Acid) and Polyacrylamide for Sustained Verapamil Hydrochloride Release“, *Macromol. Symp.*, **2015**, 358, 225–231

Ясно се вижда включването на ЛВ в полимерната матрица. Частиците ВПХХ са неравномерно диспергирани във ВПМ за всички изследвани състави на ВПМ. Морфолията на ВПМ след натоварване с ВПХХ е много по-груба и финото нано-фазово разделяне, наблюдавано при ненатоварените ВПМ (Фигура 38) е трудно забележимо. Това показва успешното натоварване на ВПХХ в сърцевината на ВПМ, а не само в повърхностния им слой. В допълнение, то потвърждава ролята на специфичното фазово разделяне на ВПМ ПМАК/ПААМ за успешното натоварване на ВПХХ.

V.2.6. Термични свойства на ВПМ ПМАК/ПААМ, ненатоварени и натоварени с ВПХХ

Интересно е да се проследи как натоварването на ВПМ с ВПХХ се отразява върху термичните свойства, както на полимерната матрица, така и на самото лекарствено вещество. На Фигура 42 са представени обратимите топлинни потоци за чистия ВПХХ, както и за ВПК4 ($\phi^{\text{ПМАК}}=0.39$), ненатоварена и натоварена с ВПХХ. Когато ВПХХ е натоварен във ВПМ, пикът на стапяне за ЛВ изчезва, поради неговата аморфизация. Аморфизацията при ЛВ е начин за подобряване на тяхната разтворимост и скорост на разтваряне, а така също и на тяхната бионаличност [12]. ВПХХ става аморфен в конкретния случай поради взаимодействието си с полимерната матрица. Това взаимодействие е доказано от слабото понижение ($\sim 1^\circ\text{C}$) в T_g на ВПК4 след натоварване с ВПХХ (Фигура 42).

¹² S. Mallick; "The Solid State Amorphization of Poorly Water Soluble Drugs", *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2004**, 66, 729-734



Фигура 42. ТМДСК на ВПК4 ($\phi^{\text{ПМАК}}=0.39$), ВПК4 натоварена с ВПХХ и чист ВПХХ.

Промените в термичните свойства на двете ВПМ ПМАК/ПААМ и ВПХХ са сходни с резултатите, получени за ВПМ ПМАК/ПААМ, натоварени с ВПХХ. При тях ЛВ и полимерния носител взаимно повлияват термичните си свойства, поради взаимодействието между тях. Като резултат от това взаимодействие, T_g на ВПМ се увеличава, а пикът на топене на ВПХХ изчезва. Наблюдаваното повишаване на T_g за ВПМ ПМАК/ПААМ не е толкова силно, както наблюдаваното за ВПМ ПАК/ПААМ, което може да бъде обяснено с факта, че ПАК е по-силна киселина в сравнение с ПМАК.

V. 2.7. Инфрачервена спектроскопия (ИЧ)

Характеристичните за ВПХХ ивици са представени в Таблица 14. Ивицата за N-H валентно трептене във ВПХХ при $\sim 2800 - 2300 \text{ cm}^{-1}$ изчезва във ВПК1, натоварена с ВПХХ, което може да се дължи на формирането на $R_3NH^+ : COO^-$ йонна двойка между аминната група на ВПХХ и карбоксилния анион от ПМАК т.е. на значително изменение в средата на протонираната аминна група на ВПХХ, когато се натовари във ВПМ, причинено от неговото взаимодействие с COO^- от ПМАК. Този резултат потвърждава предположението в началото на

настоящата работа йонно взаимодействие между полимерен носител-катионно ЛВ, индиректно доказано също посредством резултатите от ДСК (аморфизация на ВПХХ).

Таблица 14. ИЧ характеристични ивици за ВПХХ, чист и натоварен във ВПК1.

ИЧ ивица	Отнасяне	ИЧ ивица	Забележка
ВПХХ [2, 3]		ВПК1+ВПХХ	
2841 cm ⁻¹	С-Н вибрационно трептене на метокси група	2838 cm ⁻¹	Слабо понижение в дължината на вълната поради взаимодействие с ВПМ матрицата
2800 – 2300 cm ⁻¹	N–H вибрационно трептене на протониран амин	-	Изчезва във ВПК1, натоварена с ВПХХ, поради йонно взаимодействие с ВПМ матрицата
2237 cm ⁻¹	С= вибрационно трептене на наситен алкилов нитрил	2235 cm ⁻¹	Слабо понижение в дължината на вълната поради взаимодействие с ВПМ матрицата
1593 cm ⁻¹	С-Н валентно трептене в бензенов пръстен	1591 cm ⁻¹	Слабо понижение в дължината на вълната поради взаимодействие с ВПМ матрицата
1516 cm ⁻¹	С-Н валентно трептене в бензенов пръстен	1516 cm ⁻¹	Без промяна
1462 cm ⁻¹	С-Н валентно трептене в бензенов пръстен	1458 cm ⁻¹	Слабо понижение в дължината на вълната поради взаимодействие с ВПМ матрицата
1257 cm ⁻¹	силно СО валентно трептен на ароматни естери	1257 cm ⁻¹	Без промяна

Освен това полимера и ЛВ взаимодействат посредством формирането на водородни връзки между тях, както показват данните от ИЧ (Фигура 44). Валентните С-Н трептения на метокси групите във ВПХХ, явяващи се при ~2841 cm⁻¹ в чистия ВПХХ, са отместени към 2838 cm⁻¹ във ВПК1, натоварена с ВПХХ, което е допълнителна индикация за взаимодействие на полимера с ЛВ.

Същото взаимодействие е причина и за лекото понижение в вълновото число за валентното C=N трептене в наситения алкилов нитрил в чистия ВПХХ (~2237 cm⁻¹), което се появява при ~2235 cm⁻¹ във ВПК1. Промяната във формата на пика (Фигура 44) и позицията на ивицата (Таблица 14) за валентните трептения на –OCH₃ и –C≡N групите от ВПХХ могат да бъдат обяснени с образуването на водородни връзки между ВПХХ и полимерната матрица.

Ивицата при 1655 cm⁻¹, съответстваща на валентното C=O трептене в amidната група на ПААМ не променя позицията си извън резолюцията на апарата за никой от изследваните състави. Ивицата при 1610 cm⁻¹, съответстваща на деформационното N-H трептене на amidната група се отмества до 1608 cm⁻¹. Това отместване обаче в рамките на разделителната способност на апарата (2 cm⁻¹) и не би могло да се направи заключение дали се формират водородни връзки между ВПХХ и ПААМ.

Изследването посредством ИЧ показва, че ВПМ ПМАК/ПААМ взаимодействат с натоварения ВПХХ посредством:

- (i) йонни взаимодействия между COO⁻ от ПМАК и R₃NH⁺ от ВПХХ, а също и посредством
- (ii) водородни връзки между полимерната матрица и лекарствено веществото.

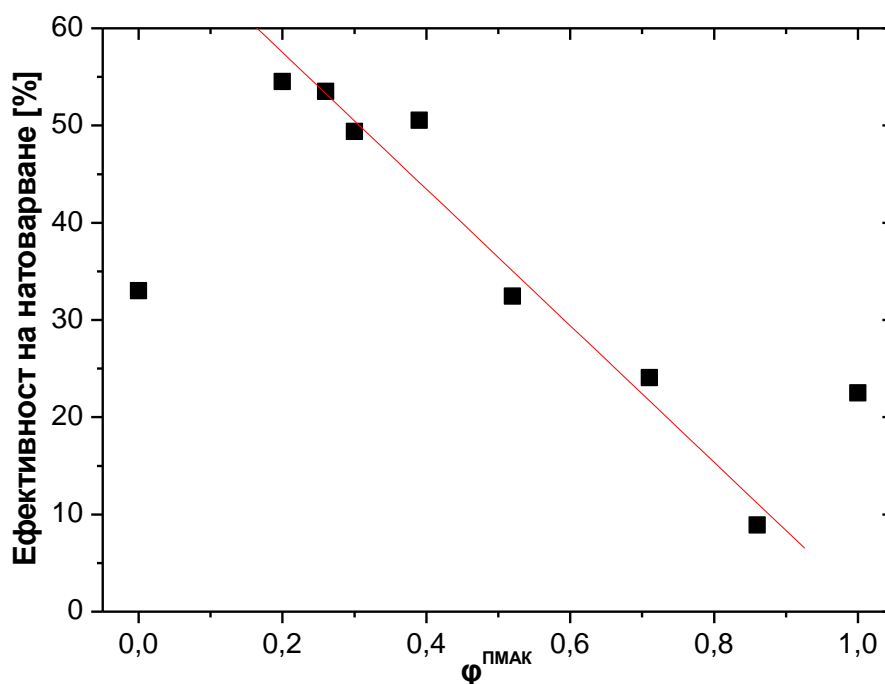
Тези резултати потвърждават ролята на функционалността на ВПМ върху взаимодействието полимерен носител-ЛВ, което се очаква да повлияе върху профила на лекарствено освобождаване.

V.2.8. Ефективност на натоварване на ВПМ ПМАК/ПААМ с ВПХХ

Ефективността на натоварване (ЕН) с ВПХХ като функция на състава на ВПМ е представена на Фигура 45. ЕН следва същата зависимост с промяната на състава на ВПМ, както и РСН - повишаването на съдържанието на ПМАК води до понижаване на ЕН. Това не е напълно очаквано имайки предвид, че именно от киселинния компонент на ВПМ (ПМАК), бе очаквано да обуслови взаимодействие с катионното лекарствено вещество, ВПХХ. Възможните причини за това поведение могат да бъдат:

- (i) понижена способност за набъбване на ВПМ ПМАК/ПМАА поради частично хидрофобния характер на ПМАК и
- (ii) по-ниската степен на йонизация на ВПМ при неутрално рН, определена от по-високата pK_a стойност на ПМАК.

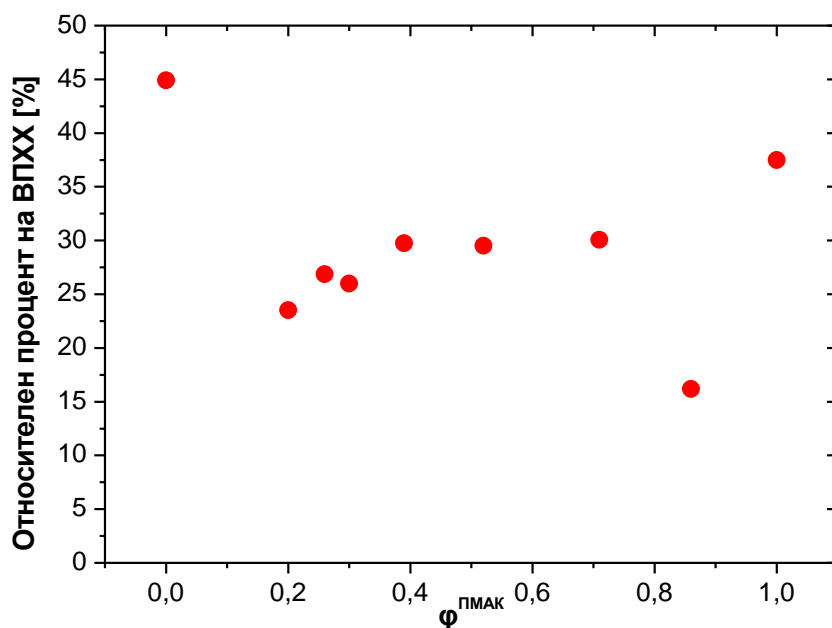
ЕН се увеличава от 10% за ВПК1 (ВПМ с най-високо съдържание на ПМАК) до 55% за ВПК6 и ВПК7, които имат най-ниско съдържание на ПМАК, но и най-висока РСН от всички ВПМ.



Фигура 45. Зависимост на ЕН на ВПХХ от състава на ВПМ ПМАК/ПААМ.

Така, ВПМ, при които ПААМ преобладава, имат значително по-висока ЕН (~50-55%) за разлика от ВПМ, при които преобладава ПМАК. ЕН намалява почти линейно с увеличаване съдържанието на ПМАК (правата на Фигура 45, $R^2=0.98$).

За ОП на ВПХХ във ВПМ ПМАК/ПААМ не се наблюдава ясна зависимост от състава (Фигура 46). За почти всички състави на ВПМ, процентът на включен ВПХХ е ~25-30%, което е повече, в сравнение с ВПМ ПАК/ПААМ.



Фигура 46. Зависимост на относителния процент натоварен ВПХХ от състава на ВПМ ПМАК/ПААМ.

В заключение, съставът на ВПМ повлиява ЕН на ВПХХ по-скоро като контролира дифузията на ЛВ (т.е. чрез гъстотата на мрежата), отколкото чрез йонните взаимодействия между ПМАК и ВПХХ. Това е основна разлика с ВПМ на ПАК/ПААМ. Също така, ЕН и ОП са по-високи при ВПМ ПМАК/ПААМ в сравнение с ВПМ ПАК/ПААМ.

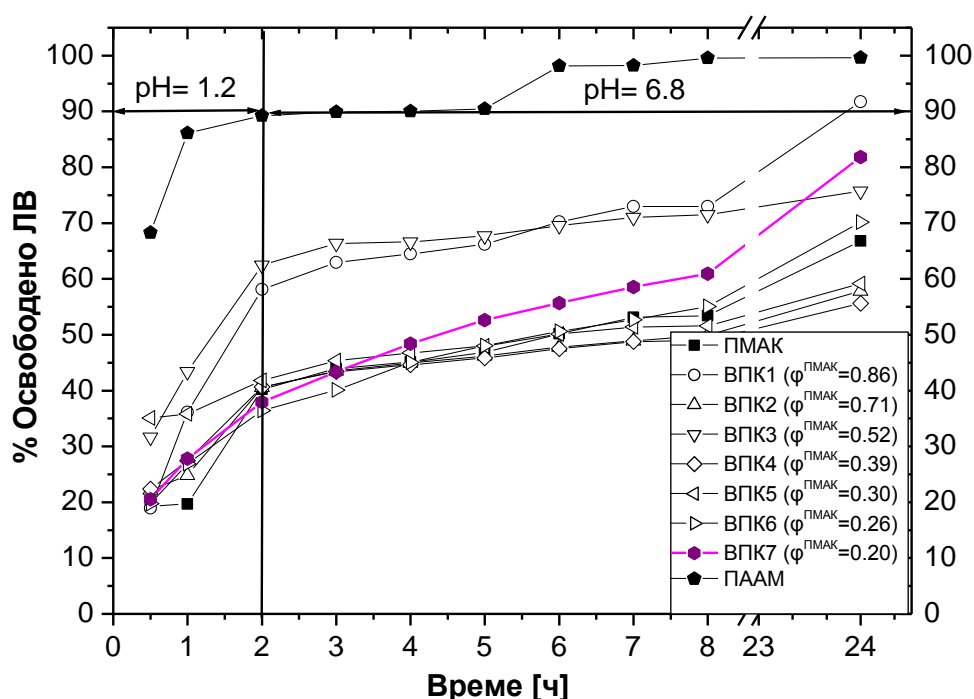
V.2.9. *In vitro* освобождаване на ВПХХ

На Фигура 47 са представени резултатите от *in vitro* освобождаването на ВПХХ от ВПМ ПМАК/ПААМ. За сравнение е представено и освобождаването на ВПХХ от ЕМ ПМАК и ЕМ ПААМ.

ЕМ ПААМ е неподходяща като система за удължено освобождаване на ВПХХ, тъй като освобождава повече от 85% от натоварения в нея ВПХХ за по-малко от 1 час. Причината е силната способност на ПААМ да набъбва и неговата хидрофилна природа (той е суперабсорбент), която позволява висока ЕН за ВПХХ, но също така и бързото му освобождаване. Липсата на ефективен контрол върху освобождаването на ЛВ от хидрогелове бе спомената вече като един от техните

недостатъци като лекарство-доставящи системи, а сега нагледно е илюстриран с поведението на ЕМ ПААМ.

ЕМ ПМАК също е неподходяща като система за удължено освобождаване на ВПХХ, защото след 24 часа освобождава едва 65% от натоварения в нея ВПХХ. Това най-вероятно се дължи на силното взаимодействие между полимер и ЛВ, което не позволява пълното освобождаване на натовареното ЛВ. В това отношение ЕМ ПМАК има аналогично поведение на това на ЕМ ПАК.



Фигура 47. Освобождаване на ВПХХ от ВПМ ПМАК/ПААМ, ЕМ ПМАК и ЕМ ПААМ.

ВПМ демонстрират различни профили на освобождаване на ВПХХ в зависимост от техния състав (Фигура 47). ВПК1 е ВПМ с най-незадоволителни характеристики като система за удължено освобождаване на ВПХХ. За този състав на ВПМ, се очаква най-силно взаимодействие полимерен носител-ЛВ, поради най-високото съдържание на ПМАК. Въпреки това, обаче, тази ВПМ има най-ниска ЕН (~10%) и показва “burst” ефект, макар че за 24 часа освобождава ~90% от натоварения ВПХХ.

ВПК5 показва добър потенциал за удължено освобождаване на ВПХХ. Тази ВПМ има ЕН~50%, почти линеен профил на освобождаване между 2^{ри} и 8^{ми} час, но освобождава само около 60% от натоварения ВПХХ, най-вероятно поради силните взаимодействия с ЛВ.

Най-добри характеристики като система за удължено освобождаване на ВПХХ показва ВПК7, т.е. ВПМ с най-ниско съдържание на ПМАК. Тази ВПМ има най-висока ЕН (~55%), не проявява “burst” ефект и постига почти линейно освобождаване на ВПХХ между 2^{ри} и 8^{ми} час (т.е. в условия имитиращи условията в червата, R²= 0.990).

V.2.10. Кинетични модели на освобождаване

В Таблица 15 са обобщени данните, получени след прилагане на кинетичните модели от т. IV.1.6.10 за профилите на освобождаване на ВПХХ от ВПМ ПМАК/ПААМ.

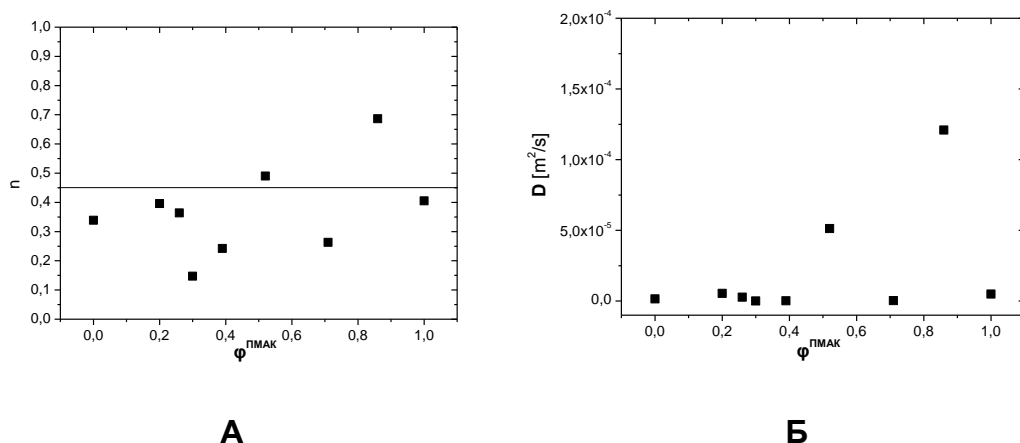
Таблица 15. Данни получени от прилагане на теоретичните модели на лекарствено освобождаване.

Проба/ Модел	ПМАК ($\phi_{\text{ПМАК}}=1$)	ВПК1 ($\phi_{\text{ПМАК}}=0,86$)	ВПК2 ($\phi_{\text{ПМАК}}=0,71$)	ВПК3 ($\phi_{\text{ПМАК}}=0,52$)	ВПК4 ($\phi_{\text{ПМАК}}=0,39$)	ВПК5 ($\phi_{\text{ПМАК}}=0,30$)	ВПК6 ($\phi_{\text{ПМАК}}=0,26$)	ВПК7 ($\phi_{\text{ПМАК}}=0,20$)	ПААМ ($\phi_{\text{ПМАК}}=0$)
Нулев									
K _{ZO}	2,523	1,370	2.271	4.247	4.650	4.093	5.969	6.916	3.760
R ² _{ZO}	0.771	0.729	0.680	0.617	0.667	0.556	0.812	0.842	0.805
Първи									
K _{FO}	0.037	0.066	0.030	0.056	0.029	0.027	0.038	0.046	0.038
R ² _{FO}	0.838	0.843	0.745	0.730	0.740	0.658	0.894	0.928	0.878
Хигучи									
K _H	8.512	4.699	7.968	15.267	16.407	14.953	19.996	22.894	12.616
R ² _H	0.933	0.912	0.890	0.849	0.886	0.789	0.969	0.982	0.964
Корсмайер-Пепас									
K _p	0.249	0.329	0.290	0.441	0.299	0.379	0.266	0.277	0.261
n	0.405	0.686	0.263	0.490	0.242	0.147	0.364	0.396	0.339
R ²	0,906	0,992	0,885	0,998	0,891	0,978	0,990	0,996	0,902
D [m ² /s]	4,86E-06	1,21E-04	2,14E-07	5,13E-05	1,02E-07	5,04E-10	2,69E-06	5,44E-06	1,47E-06

Профилите на лекарствено освобождаване от ВПМ ПМАК/ПААМ, се описват най-добре от модела на Хигучи (Таблица 15). В сравнение с

освобождането на ВПХХ от ВПМ ПАК/ПААМ, обаче, регресионните коефициенти не са толкова близо до 1, колкото при ВПМ ПАК/ПААМ.

След прилагане на модела на Корсмайер-Пепас, бяха определени дифузионните експоненти и дифузионните коефициенти на ВПХХ във ВПМ ПМАК/ПААМ кати функция от състава на полимерния носител (Таблица 15, Фигура 48).



Фигура 48. Дифузионни експоненти (А) и дифузионни коефициенти (Б) на ВПХХ във ВПМ на ПМАК/ПААМ, изчислени от модела на Корсмайер-Пепас.

За всички ВПМ ПМАК/ПААМ, с изключение на ВПК1 ($\phi^{\text{ПМАК}}=0.86$), дифузионните експоненти на ВПХХ във са със стойност ≤ 0.50 , което отговаря на субдифузия на ВПХХ във ВПМ ПМАК/ПААМ (Фигура 48А). Отново ВПМ с най-гъстата мрежа (респективно с най-ниската РСН), а именно ВПК1, е тази, която показва аномален транспорт на ВПХХ, т.е. дифузия, контролирана едновременно от релаксацията на полимерните вериги и подвижността на самите ВПХХ молекули. Това се потвърждава и от високата стойност на дифузионния коефициент на ВПХХ в тази мрежа (Фигура 48Б).

Субдифузия е наблюдавана, например за ибупрофен в хидрогелове на циклодекстрини и е обяснена с ограничената дифузия на ЛВ в полимерната мрежа, поради наличието на нанопори [13]. Субдифузията

¹³M. Ferro, F. Castiglione, C. Punta, L. Melone, W. Panzeri, B. Rossi, F. Trotta, A. Mele „Anomalous diffusion of Ibuprofen in cyclodextrin nanosponge hydrogels: an HRMAS NMR study“ *Beilstein J. Org. Chem.* 2014, 10, 2715–2723

е често срещана в живите организми, например в клетките, където тя се обяснява със:

(а) геометрични препятствия, създадени от молекулно пренаселване (molecular crowding);

(б) забавяния, причинени/определени от вискоеластичността на средата и

(в) случайно захващане/улавяне (trapping) на молекулите от налични свързващи места [14].

Всички тези причини могат да бъдат отнесени и за наблюдаваната субдифузия на ВПХХ във ВПМ ПАК/ПААМ. Когато ЛВ не взаимодейства силно с полимерните сегменти на носителя, се наблюдава Фикова дифузия при неговия транспорт в носителя. Отклоненията от Фиковата дифузия се обясняват с различен отклик на полимерните сегменти при набъбването им в разтворител, какъвто е случая и с двете ВПМ ПАК/ПААМ и ПАК/ПААМ. Транспорта на ЛВ през среда със *сложна, комплексна структура* не се описва добре от закона на Фик [15]. Дифузионният процес разчита на степента на пакетирание на полимерните вериги, на свободния обем и на плътността на полимерния носител. Създаването на свободни пространства в носителя, от своя страна, зависи от сегментната подвижност на полимерните вериги и на кохезивната енергия на полимера. Също така, дифузията зависи и от кристалността и степента на омрежване както и от наличието на добавки, като например усилващ агент/пълнител.

Вискоеластичните свойства на полимера играят много важна роля за дифузионния процес, тъй като те контролират отклика на полимера към промени в средата. Времевата скала на полимерната релаксация е свързана с типа на дифузионния процес. Когато характеристичното време на дифузия е много по-голямо от времето за релаксация на полимера, дифузионния процес се дефинира като Фикова (или Тип I) дифузия. Това е случая на дифузията на ВПХХ във ВПМ ПАК/ПААМ. Ако характеристичното време на дифузия е много по-малко от времето за

¹⁴ T. Miyaguchi, T. Akimoto „Intrinsic randomness of transport coefficient in subdiffusion with static disorder“ Physical Review E 83, 031926 (2011)

¹⁵ D. De Kee, Q. Liu, J. Hinestroza “Viscoelastic (Non-Fickian) Diffusion” The Canadian Journal of Chemical Engineering , 83, 913-929 (2005)

релаксация на полимера, се наблюдава Тип II дифузия. Аномалната дифузия се отличава с това, че времената на релаксация и дифузия са съизмерими. Именно аномална е дифузията на ВПХХ в двата състава на ВПМ ПАК/ПААМ и ВПМ ПМАК/ПААМ с най-гъста мрежа, съответно най-ниски стойности на РСН, респективно ВПМ 5 и ВПК 7.

Според теорията за свободния обем, дифузията в полимери става като малки молекули пътуват през наличните свободни пространства (дупки) между полимерните вериги. Наличието на малките молекули увеличава свободния обем на полимера, т.е. увеличава сегментната подвижност на полимерните вериги. В резултат, дифузията на молекулите се улеснява и тяхната локална концентрация нараства. Това е т. нар. пластификация на полимерите. При нарастване на концентрацията на разтворителя, полимера в стъкловидно състояние омеква и над определена концентрация на разтворителя полимера преминава от стъкловидно във вискоеластично състояние. Дифузионния коефициент във вискоеластичното състояние е много по-голям от този в стъкловидно. Това е най-вероятно процесът, който определя промяната на дифузионния коефициент на ВПХХ при промяна на състава на ВПМ ПАК/ПААМ (Фигура 33). Това се случва и при дифузията на ВПХХ във ВПМ7 (Фигура 48Б).

В случая на ВПМ ПМАК/ПААМ, обаче, нещата са по-различни поради наличието на области, изградени изцяло от по-хидрофобната ПМАК. От литературата е известно, че наличието на частички пълнител в една полимерна матрица влияе на дифузията в композита, като намаляването на размера на пълнителя ограничава подвижността и гъвкавостта на полимерните вериги. Така, проникваемостта на композитния материал намалява с намаляване на размера на пълнителя. Аналогично е и поведението на дифундиращи молекули в частично кристални полимери – кристалните домени са непроницаеми за проникващите в полимерната матрица молекули, които дифундират и се абсорбират само в аморфните области. Така, с увеличаване на кристалността на полимера, дифузията на малки молекули в него се забавя поради намаляване на аморфните региони. Също така, дифундиращите молекули имат много по-затруднен път поради непроницаемите кристални области.

По аналогичен начин, областите от ПМАК във ВПМ ПМАК/ПААМ са по-слабо проницаеми за молекулите на ВПХХ, а оттам техният път става все по-затруднен. Ето защо ВПХХ дифундира през ВПМ ПМАК/ПААМ по-бавно (показва субдифузия) в сравнение с ВПМ ПАК/ПААМ.

Дифузионните коефициенти на освобождаване на ВПХХ от ВПМ ПМАК/ПААМ (уравнение 16), представени на Фигура 48Б не показват ясна зависимост от състава на ВПМ. Вероятна причина за това е, че гъстотата на мрежата при почти всички състави на ВПМ ПМАК/ПААМ е доста близка, и само ВПК1 се отличава със своята ниска РСН.

В заключение, най-добра система за удължено освобождаване на ВПХХ от серията ВПМ ПМАК/ПААМ е ВПК7, която съчетава най-подходящата комбинация между функционалност (придавана от ПМАК) и способност за набъбване (придавана от ПААМ). За този състав на ВПМ ПМАК/ПААМ, тези два фактора са най-оптимално съчетани за избраното ЛВ – ВПХХ. Това потвърждава и избора на най-подходяща система за удължено освобождаване на ВПХХ от ВПМ на ПАК/ПААМ, където бе направен аналогичен извод – съчетаното действие на гъстота на мрежа и функционалност дава най-добрия профил на освобождаване на ВПХХ. По този начин, концепцията за многостранното приложение на ВПМ за удължено лекарствено освобождаване бе доказана успешно.

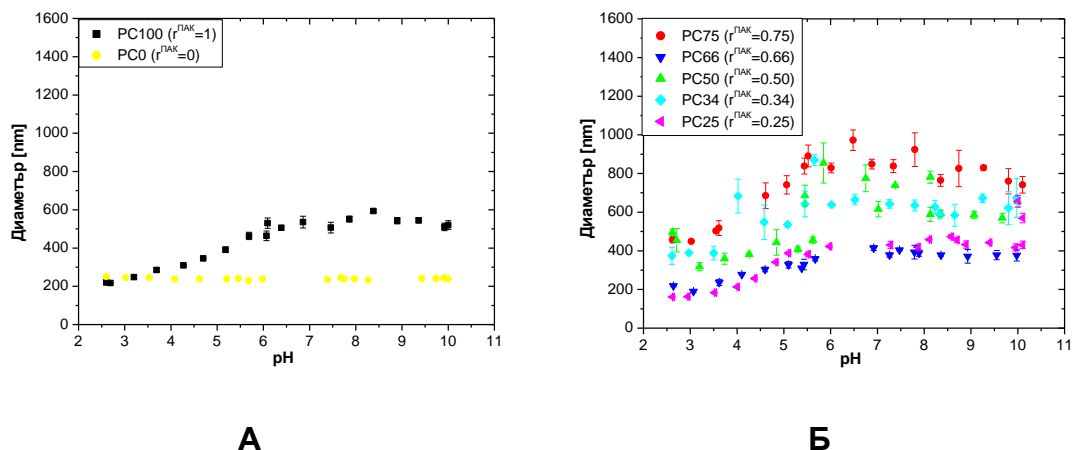
V. 3. Микрогелове (МГ) от ВПМ на ПАК/ПААМ и ВПМ ПМАК/ПААМ

В тази част на дисертацията бе поставен въпроса как промяната в размера на полимерния носител би се отразила върху техния потенциал като лекарство-доставящи системи. Ето защо, по-долу е направен опит за изясняване на влиянието на размера на полимерните носители, базирани на ВПМ ПАК/ПААМ и ПМАК/ПААМ, върху техните „интелигентни“ свойства и потенциал за модифицирано лекарствено доставяне.

V.3.1. Размер на МГ от ВПМ ПАК/ПААМ в условия на рН титруване

За да се проследи рН чувствителността на МГ от ВПМ ПАК/ПААМ бе използвано динамично лазерно светоразсейване (ДЛС) в условия на рН титруване. Размерът на МГ на ЕМ ПАК и ЕМ ПААМ и МГ от техните ВПМ е представен съответно на Фигура 49А и 49Б. Както може да се очаква,

МГ от ЕМ ПААМ (PC0) не показват зависимост на своя размер от рН (pK_b на полиакриламид е ~ 18). За целия изследван рН интервал, диаметърът на частиците е около 200 nm (Фигура 49А).



Фигура 49. Размер на МГ на ЕМ ПАК и ЕМ ПААМ (А) и МГ от техните ВПМ (Б), определен чрез ДЛС в условия на рН титруване.

За разлика от тях, размерът на МГ от ПАК постепенно нараства от ~ 200 nm при $pH \sim 2$ до около 500 nm при $pH \sim 6$. Това нарастване се дължи на йонизирането на $COOH$ групите на ПАК до COO^- (pK_a на ПАК е $\sim 4.5-4.9$). Последващото повишаване на рН (до 10) не повлиява размера на микрогеловите (МГ) от ПАК. Наблюдаваното насищане се дължи на химичното omрежване на ВПМ, което не позволява по-нататъшно увеличение на размера на МГ.

Всички МГ от ВПМ на ПАК/ПААМ показват поведение, аналогично на МГ от ЕМ ПАК в условия на рН титруване (Фигура 49Б). При преход от ниско $pH \sim 2$ до $pH \sim pK_a^{PAAK}$, техният размер нараства за всички състави на ВПМ ПАК/ПААМ. При достигане на $pH \sim 6$ ($> pK_a$ на ПАК), размерът на МГ на ВПМ достига област на насищане, подобно на частиците от ЕМ ПАК (Фигура 49Б). По-нататъшното повишаване на рН не води до промяна в размера на частиците от ВПМ, което отново се обяснява с ограничаващото действие на химичната мрежа.

От Фигура 49 би могъл да бъде направен извод за зависимостта на размера на частиците от ВПМ от техния състав. С увеличаване на ПАК във ВПМ, този размер нараства, като изключение е само PC66. Тази зависимост се дължи на увеличения брой карбоксилни групи във ВПМ,

тъй като зависимостта е по-ясна при $pH > 6$, когато всички карбоксилни групи са йонизирани. Превръщането на карбоксилните групи в карбоксилни аниони от своя страна води до увеличаване на размера на МГ, поради увеличаването на електростатичното отблъскване между тях. Същата зависимост на РСН от състава бе наблюдавана и за хидрогелове на ВПМ ПАК/ПААМ (Фигура 16).

Друга особеност, наблюдавана на Фигура 49Б е по-малкия размер на МГ РС25 в сравнение с МГ на ЕМ ПАК. Това вече бе наблюдавано при описаното по-горе изследване на хидрогелове на ВПМ ПАК/ПААМ със същия състав (Фигура 16). Обяснението там бе с по-преплетената структура, характерна за ВПМ, която води до увеличаване на броя на физичните възли в общата мрежа, а оттук и намаляване на способността за набъбване. Същото обяснение е в сила и при МГ на ВПМ ПАК/ПААМ, където намаляването на способността за набъбване води до намаляване и на размера на МГ. Така, намаляването на размера на ВПМ ПАК/ПААМ до микрогелове не променя нито тяхната способност да набъбват във вода, нито тяхната рН чувствителност.

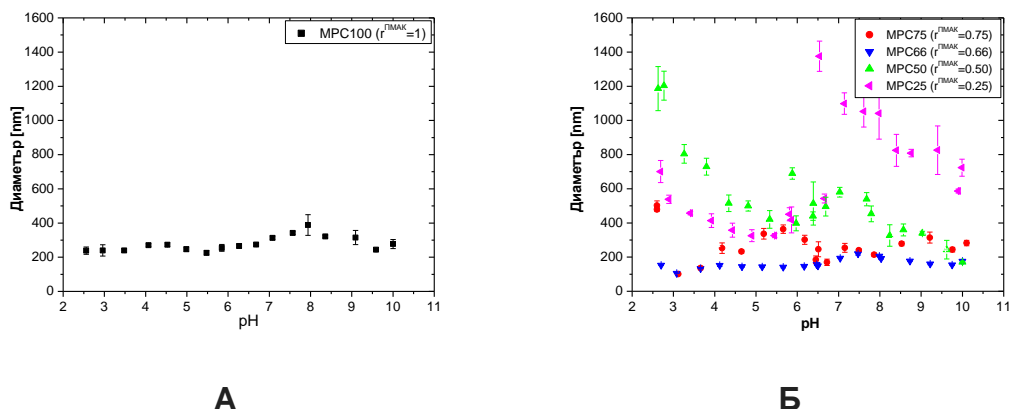
Изключение от горното обобщение правят МГ РС66, които въпреки високото съдържание на ПАК в тях, имат размер, близък до този на РС25. Тези МГ показват по-различно поведение и по отношение на други свои свойства, както ще бъде показано по-нататък в работата. Както вече бе споменато в литературния обзор, подобно поведение е наблюдавано за частици ядро-обвивка, в които обвивката е от ВПМ ПААМ/ПАК [16,17,18]. За тях, именно еквимоларното отношение ПААМ/ПАК води до колапс на микрогелове при температура под ГКТР, както е случая с МГ, изследвани на Фигура 49. Причината е оптималния брой водородни връзки между ПАК и ПААМ при еквимоларно отношение, които водят до по-малък размер на МГ.

¹⁶X.C. Xiao, L.Y. Chu, W. M. Chen, J. H. Zhu; "Monodispersed thermoresponsive hydrogel microspheres with a volume phase transition driven by hydrogen bonding", *Polymer*, **2005**, 46 (9), 3199-3209

¹⁷X. C. Xiao, R. X. Zhuo, J. Xu, L. G. Chen; "Effects of reaction temperature and reaction time on positive thermosensitivity of microspheres with poly(acrylamide)/poly(acrylic acid) IPN shells", *European polymer journal*, **2006**, 42 (2), 473-478

¹⁸X.C. Xiao, L.Y. Chu, W.M. Chen, S. Wang, Y. Li; "Positively thermo-sensitive monodisperse core-shell microspheres", *Advanced functional materials*, **2003**, 13 (11), 847-852

Промяната на размера на МГ на ЕМ ПМАК и МГ на ВПМ ПМАК/ПААМ в условия на рН титруване е представен на Фигура 50.



Фигура 50. Размер на МГ на ЕМ ПМАК (А) и на МГ ВПМ ПМАК/ПААМ (Б) като функция от рН.

Зависимостта на размера на МГ на ВПМ ПМАК/ПААМ от съдържанието на ПМАК показва, че колкото по-високо е съдържанието на ПМАК, толкова по-малък е размера на МГ, т.е. способността за набъбване на съответния състав е по-малка. Това е в съгласие със зависимостта, наблюдавана за РСН на ВПМ ПМАК/ПААМ със същия състав, както изследваните МГ (Фигура 34). Така МГ MPC25, които са с най-ниско съдържание на ПМАК, проявяват най-висока способност да набъбват почти в целия интервал от рН стойности, при които е проведено титруването. Следващата проба с по-високо съдържание на ПМАК е MPC50 и нейното набъбване е по-малко в сравнение с MPC25, но по-високо в сравнение с това на другите МГ на ВПМ на ПМАК/ПААМ, включително чиста ПМАК (MPC100). МГ на MPC с най-високо съдържание на ПМАК, MPC75, се държат по подобен начин както MPC50 и тези на МГ на чистия ПМАК (MPC100).

МГ MPC66 имат най-малкия диаметър измежду МГ на ВПМ ПМАК/ПААМ и техният размер най-слабо зависи от рН в сравнение с останалите МГ с други състави. В това отношение поведението на МГ на MPC66 (ВПМ ПМАК/ПААМ) е подобно на това на МГ PC66 (ВПМ ПМАК/ПААМ). Така, и при двата състава на ВПМ съотношението между поликиселината и ПААМ определя по-различно поведение. Отново

обяснението е, че при този състав се образуват най-голям брой водородни връзки между поликиселината (ПАК или ПМАК) и ПААМ, т.е. има най-силно взаимодействие между двата компонента на ВПМ. Оттам, размерът на получените МГ е най-малък и те набъбват най-слабо във вода.

Намаляването на размера на МГ на ПМАК/ПААМ с увеличаването на съдържанието на ПМАК би могло да бъде обяснено по начина, използван за обяснение на същата зависимост на техните хидрогелове. Там бяха посочени следните три причини:

- по-хидрофобния характер на ПМАК спрямо ПАК, като при увеличаване на съдържанието на по-хидрофобния компонент намалява способността за набъбване във вода на МГ на тези ВПМ
- преплетени вериги и заплетена структура, която е типична за ВПМ. В резултат се увеличава броя на възлите в общата мрежа на ВПМ, т.е. намалява способността за набъбване и
- специфичната фазово разделена морфология на ВПМ, показана за ВПМ в маса от ПАК/ПААМ [11] и ПМАК/ПААМ [19], както и за МГ на ВПМ ПАК/ПААМ (V.3.3). Фазово разделената структура зависи от състава на ВПМ и води до формирането на домени от ПААМ, които от сфери преминават във взаимосвързани цилиндри с увеличаване на съдържанието на ПААМ при хидрогеловите на тези ВПМ. Така намаляването на съдържанието на ПМАК, респективно увеличаването на това на ПААМ във ВПМ, води до по-висока способност за набъбване на ВПМ ПМАК/ПААМ.

За хидрогеловите на ВПМ ПАК/ПААМ и ПМАК/ПААМ в маса, бе показано, че замяната на АК с МАК променя свойствата им [159, 166]. По подобен начин, МГ МРС имат различно поведение в сравнение с МГ РС. Например, докато за всички МГ РС (ВПМ ПАК/ПААМ), зависимостта на техния размер от рН за всички състави представлява крива с насищане, то за МГ МРС (ВПМ ПМАК/ПААМ) се наблюдава зависимост, при която размера им минава през максимум при рН~7 (Фигура 50). С увеличаване

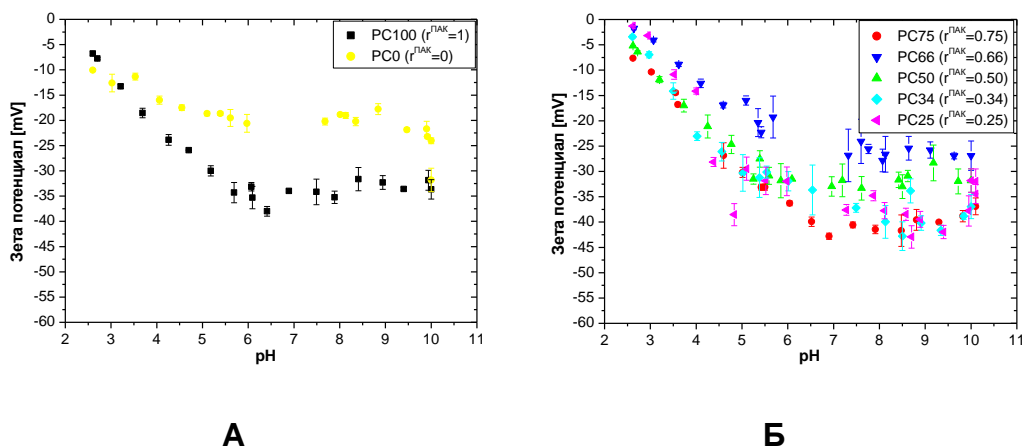
¹⁹ M. Simeonov, B. Kostova, E. Vassileva, *Interpenetrating polymer networks of poly(methacrylic acid) and polyacrylamide: synthesis, characterization and potential application for sustained drug delivery*, *RSC Adv.*, **2016**, 6, 64239-64246

на съдържанието на ПМАК във ВПМ, този максимум се отмества към по-високи стойности на рН. Същата зависимост на размера от рН показват и МГ от чиста ПМАК (MPC100). Максимумът при неутрално и по-високо рН е най-вероятно свързан с превръщането на всички COOH групи в COO-аниони, но последвалото леко намаляване на размера най-вероятно е свързано с известния от литературата преход при ПМАК свързан с трансформацията нагънато кълбо-разгънато кълбо (globule-coil), който протича при неутрално рН. Този преход се обяснява с наличието на хидрофобни взаимодействия между ПМАК мономерните звена и води до формиране на хидрофобни донейни, които от своя страна водят до свиване на МГ. Този преход е видим тук поради по-малкия размер на МГ и високата чувствителност на ДЛС метода.

V.3.2. Зета потенциал на МГ от ВПМ ПАК/ПААМ и ВПМ ПМАК/ПААМ в условия на рН титруване

Едновременно с размера, бе измерван и зета потенциала на същите МГ в условия на рН титруване. Резултатите са представени на Фигура 51А и 51Б. Зависимостта на ЗП от рН за МГ на ЕМ ПАК потвърждават обясненията, направени за рН зависимостта на техния размер. Йонизацията на страничните карбоксилни групи е свързана с понижаване на ЗП от ~ -5 при рН $\sim 2-3$ до ~ -35 mV при рН ≤ 6 (Фигура 51А).

Частиците от ЕМ ПААМ, които не показваха никаква промяна в размера си при промяна в рН (Фигура 49А), демонстрират промяна в своя ЗП от ~ -10 до ~ -20 mV при прехода от кисела в алкална среда (Фигура 51А). Тази промяна, обаче, не е свързана с промяна в техния размер и по този начин не би могла да се дължи например на хидролиза на $-\text{CONH}_2$ до $-\text{COOH}$. Присъствието на анионния ПАВ АОТ, не напълно измит в процедурата на получаване на МГ (ЯМР измервания, които не са показани в рамките на дисертацията потвърждават неговото наличие), който има отрицателно заредени сулфо групи в молекулата си, е една възможна причина за намаляването на ЗП на МГ ПААМ. Известно е от литературата, че ПААМ взаимодейства с анионни ПАВ и поради това вероятно задържа част от използвания ПАВ.

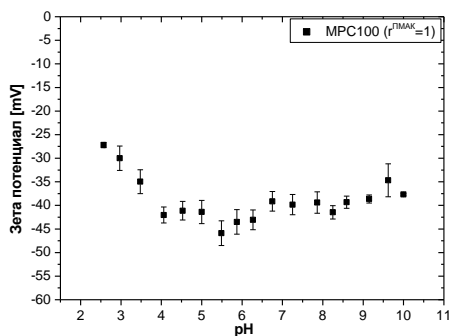


Фигура 51. Зета потенциал на МГ на ЕМ ПАК и ЕМ ПААМ (А) и МГ на техните ВПМ (Б) в условия на рН титруване

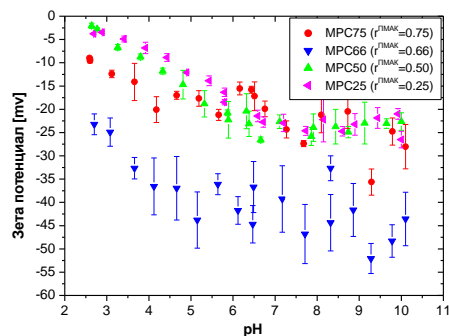
Друго възможно обяснение на отрицателния ЗП за МГ на ПААМ е присъствието на остатъци в МГ, идващи от инициатора ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), които са ковалентно свързани с полимерните вериги.

Слабото намаляване на ЗП с промяна на рН може да бъде обяснено и при двете изтъкнати по-горе обяснения с увеличаването на повърхностната площ при МГ и излагането на повече краища на полимерните мрежи, завършващи с част от молекулата на инициатора на повърхността им. Необходими са, обаче, допълнителни изследвания за пълно изясняване на наблюдаваната зависимост. Отговор на този въпрос не бе намерен в литературата, макар да има подобни публикувани данни, които обаче не са обяснени.

Поведението на МГ от ВПМ ПАК/ПААМ е много подобно на това на МГ от ПАК, т.е. техния ЗП намалява с нарастване на рН. Предложеното обяснение за МГ на ПАК би следвало да е в сила и тук, а именно: мономерните звена на ПАК се йонизират при средни стойности на рН и ЗП намалява. Намаляването на ЗП е по-силно при МГ на ВПМ ПАК/ПААМ, отколкото при МГ от ЕМ ПАК (Фигура 51Б). Тази разлика би могла да се дължи на факта, че присъствието на втората мрежа (от ПААМ) уголемява частиците, те набъбват повече, а оттам се увеличава повърхностната им площ, така се увеличава и броя на карбоксилните аниони по повърхността на МГ от ВПМ.



А



Б

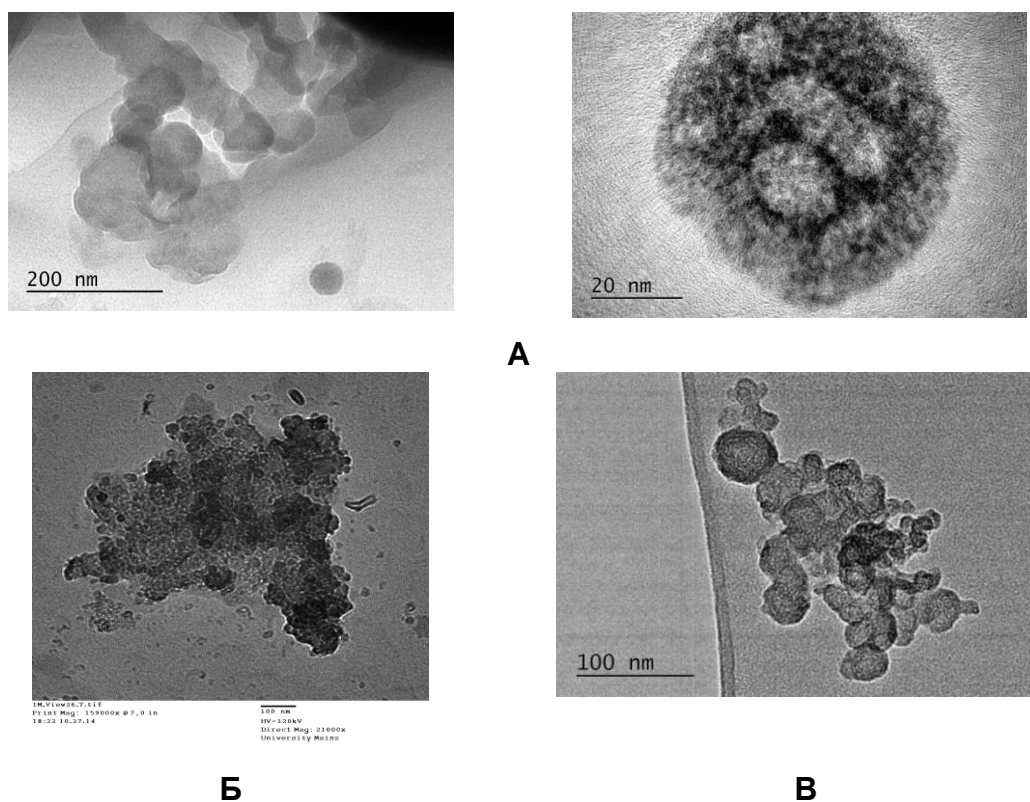
Фигура 52. ЗП на МГ ЕМ ПМАК(А) и на МГ ВПМ ПМАК/ПААМ(Б) като функция на рН

В условията на рН титруване бяха измерени и стойностите на ЗП за МРС в зависимост от рН (Фигура 52). ЗП за всички МГ МРС, включително от чист ПМАК (МРС100) (Фигура 52А), има подобна зависимост от рН, както ЗП за МГ от ВПМ на ПАК/ПААМ. В кисела среда се наблюдава рязък спад в ЗП, докато при $pH > pK_a$ на ПМАК (~ 5.5), ЗП достига насищане. Точката, в която започва насищането е около $pH \sim 7$, където се появява и максимума в размера на МГ МРС (Фигура 52Б). Насищането на ЗП като функция на рН може да се обясни по същия начин, както при ЗП на МГ от ВПМ ПАК/ПААМ – с достигане на максимално набъбване (уголемяване) на полимерната мрежа.

V.3.3. Изследване на МГ на ВПМ ПМАК/ПААМ с трансмисионна електронна микроскопия (ТЕМ)

МГ на ВПМ ПАК/ПААМ бяха изследвани с помощта на ТЕМ (Фигура 53). Тези изследвания потвърждават, че в сухо състояние получените частици имат нано размери. Например, за РС75, размерът на частиците в сухо състояние е ~ 100 nm и по-малък. По-големият размер, определен с ДЛС (Фигура 49), се дължи на набъбването на МГ във воден разтвор и увеличаването по този начин на размера им. На ТЕМ изображенията, получени за РС75 (Фигура 53А), се вижда много добре фазово-разделената структура, характерна за ВПМ, получени чрез последователния метод. ПАК играе ролята на матрица (в сиво, защото е по-омрежен), в която са диспергирани домени от ПААМ (в бяло, защото е

с по-рехавя мрежа). Така, получаването на ВПМ ПАК/ПААМ под формата на МГ не променя тяхната фазова разделеност, според данните от ТЕМ.



Фигура 53. Снимки, направени с ТЕМ на МГ от ВПМ с различен състав: PC75 (А), PC50 (Б), PC25 (В).

V.3.4. Фракциониране в поток на асиметрично поле (AF4)

Фракционирането в поток на асиметрично поле (AF4) е метод, използван за фракциониране и разделяне на макромолекули и частици в суспензия, при който не се използва стационарна фаза. Особено често е използван за системи, за които с други методи не би било възможно да се разделят желаните частици. За разделянето на макромолекули и наночастици, AF4 е алтернативен метод, особено когато последните взаимодействат със стационарната фаза при хроматографията. AF4 също се използва за изследване на агрегация на частици в разтвор.

В Таблица 16 са обобщени експерименталните данни относно инерционния радиус (R_g) и хидродинамичния радиус (R_h) на МГ ВПМ ПАК/ПААМ с AF4 метода. Резултатите са представени графично на Фигура 54.

Таблица 16. Стойности за R_g , R_h и тяхното отношение (R_g/R_h) за МГ ВПМ ПАК/ПААМ

Проба	R_g (нм)	R_h (нм)	R (R_g/R_h)	Форма
PC0	317	168	1.89	Издължени
PC25	279	173	1.61	Издължени
PC33	200	279	0.71	Сферични
PC50	214	271	0.79	Сферични
PC66	195	275	0.71	Сферични
PC75	1012	242	4.2	Издължени

Получените с AF4 метода данни за размера на МГ до голяма степен потвърждават резултатите, получени от рН титруването (Фигура 49). Установеното с ДЛС нарастване на хидродинамичния радиус (R_h) на МГ на ВПМ ПАК/ПААМ с увеличаване на количеството на ПАК в състава им се наблюдава и тук. Това е очаквано, тъй като хидродинамичния радиус отразява както ефекта на разтворителя, така и ефекта на формата. Ето защо зависимостта на R_h от състава на МГ добре отговаря на зависимостта на способността на тези МГ да набъбват в разтворителя (вода).

Отношението на инерционния към хидродинамичния радиус (R) дава информация за формата на получените МГ в разтвор. Ясна зависимост на формата от състава не се наблюдава, макар, че частиците с крайно съотношение на двата компонента (т.е. с преобладаваща ПАК или преобладаващ ПААМ) имат издължена форма, за разлика от съставите на МГ, при които ПАК и ПААМ се доближават до съотношение 50:50, които имат сферична форма. Тази разлика може да се обясни с образуването на водородни връзки между двата компонента ПАК и ПААМ, които са най-многобройни при съотношения близки до 50:50 и така определят по-малък размер и по-здраво свързване между компонентите.

Стойностите на R_g и R_h , както и тяхното отношение (R_g/R_h) за всички МГ ПМАК/ПААМ са представени в Таблица 17.

Подобно на МГ ПМАК/ПААМ, състава на МГ ПМАК/ПААМ повлиява хидродинамичния им радиус, като той намалява. Това намаляване е в

съответствие с намаляването на способността на техните ВПМ в маса (in bulk) да набъбват с увеличаване на съдържанието на по-хидрофобния компонент - ПМАК. Тези резултати съвпадат с описания по-горе лек спад в размера на МГ ПМАК/ПААМ (Фигура 51) с увеличаване на съдържанието на ПМАК, който се потвърждава и тук.

Таблица 17. Стойности за R_g , R_h и тяхното отношение (R_g/R_h) за МГ ВПМ ПМАК/ПААМ.

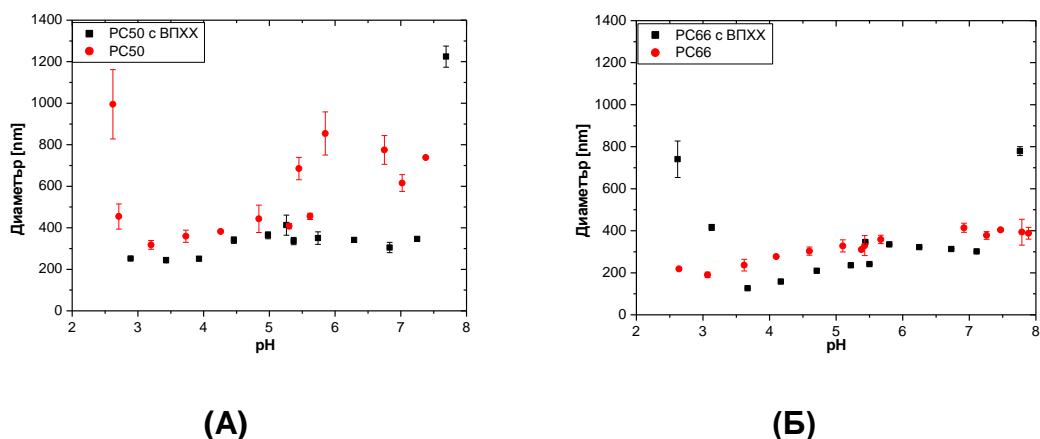
Проба	R_g [нм]	R_h [нм]	R (R_g/R_h)	форма
МРС25	295 ± 6	303 ± 7	0.97	Издължени
МРС50	385 ± 8	278 ± 9	1.38	Издължени
МРС 66	213 ± 2	220 ± 23	0.97	Издължени
МРС75	230 ± 3	229 ± 5	1.00	Издължени
МРС100	320 ± 3	243 ± 5	1.32	издължени

Причината за това е в повишаването на хидрофобността на мрежата с увеличаване на количеството на по-хидрофобния компонент ПМАК и формирането на вече споменатите *хидрофобни клъстери*. Стойностите на отношението R_g/R_h (Таблица 17) варират в много по-тесни граници в сравнение с МГ ПАК/ПААМ, въпреки, че зависимост на формата на тези МГ от състава им не се наблюдава.

V.3.5. Изследване на влиянието на ВПХХ върху размера на МГ в условия на рН титруване

Две от пробите МГ на ВПМ ПАК/ПААМ (РС50 и РС66) бяха натоварени с ВПХХ следвайки описаната в експерименталната част процедура. След натоварването, пробите бяха означени съответно РС50ВПХХ и РС66ВПХХ. Тяхното поведение в условия на рН титруване бе изследвано с помощта на ДЛС (Фигура 56А и 56Б). И за двете проби МГ, включването на ВПХХ намалява размера им (Фигура 56А и 56Б) в рН интервала ~2-4.3. Също така, намалява и скока в размера на натоварените с ВПХХ МГ при рН~4.5, дължащ се на йонизирането на страничните карбоксилни групи на ПАК, т.е. отклика на МГ към промени в рН намалява. Причината, най-вероятно, е взаимодействието МГ-ЛВ, което екранира отблъскването между част от карбоксилните аниони и предотвратява значителното увеличаване на размера на МГ при

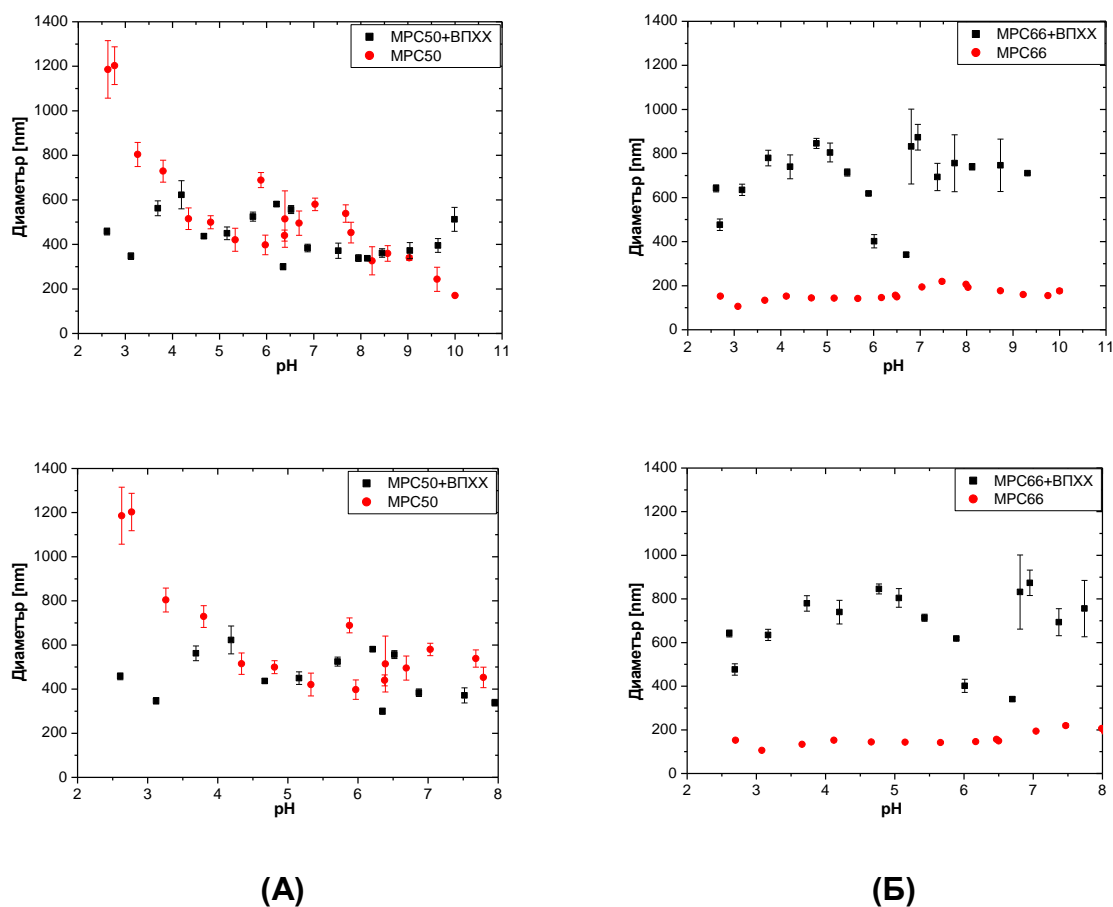
нарастване на рН. Това само по себе си е индикация за взаимодействие полимерен носител-лекарствено вещество.



Фигура 56. Влияние на натоварването с ВПХХ върху размера на МГ РС50 (А) и РС66 (Б)

По аналогичен начин бяха приготвени и проби на МГ ПМАК/ПААМ, натоварени с ВПХХ. МРС50ВПХХ и МРС66ВПХХ обозначават, съответно МГ МРС50 и МРС66, натоварени с ВПХХ. Промените в техния размер при условия на рН титруване са представени на Фигура 57А и 57Б. Натоварването на МГ МРС50 с ВПХХ измества максимума в рН зависимостта на размера на МГ МРС50 към по-ниски стойности на рН. Тъй като тази промяна обяснихме с прехода глобула-разгънато кълбо, който е характерен за ПМАК, наблюдаваното изместване може да се разглежда като доказателство за йонните взаимодействия между ПМАК и ВПХХ, които стоят в основата на успешното натоварване на МГ МРС с ВПХХ. Същото може да бъде и обяснението за наблюдаваното изместване на максимума при ниски рН в същата зависимост при сравняването на ненатоварени МГ МРС50 и натоварени с ВПХХ МГ МРС50 (МРС50-ВПХХ, Фигура 57А).

Поведението на МРС66ВПХХ (Фигура 57Б) се различава в голяма степен от това на МРС50ВПХХ. Присъствието на ВПХХ в системата води до увеличаване на размера на МРС66ВПХХ, докато този на МРС50ВПХХ не се променя. Това може би се дължи на по-висока степен на натоварване на МРС66 в сравнение с МРС50, което именно увеличава размера на натоварените с ВПХХ МГ МРС66.



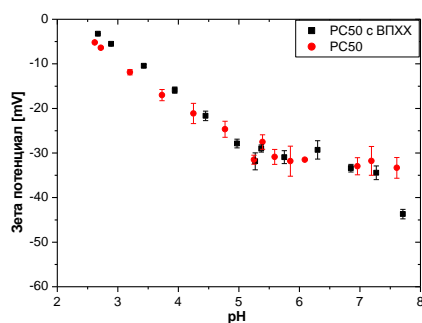
Фигура 57. pH зависимост на размера на МГ MPC50 (А) и MPC66 (Б), ненатоварени и натоварени с ВПХХ.

V.3.6. Изследване на влиянието на ВПХХ върху ЗП на МГ в условия на pH титруване

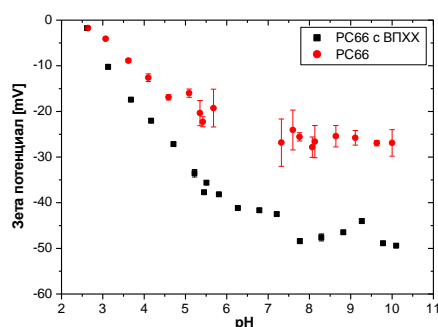
ЗП на ненатоварените с лекарствено МГ PC50 и PC66 са сравнени с тези на натоварените с ВПХХ (съответно PC50ВПХХ и PC66ВПХХ) на Фигура 58А и 58Б. И за двата състава на ВПМ, включването на ВПХХ в МГ води до повишаване на ЗП, като ефекта от включването на ЛВ е много по-изразен при МГ PC66 (респективно PC66ВПХХ). Това може да бъде свързано с по-високата степен на натоварване на ВПХХ в тези МГ.

Резултатите за зависимостта на ЗП от промяната в pH на МГ ПМАК/ПААМ са представени на Фигура 59А и 59Б. Те отново предполагат йонно взаимодействие ПМАК-ВПХХ, тъй като натоварените с ВПХХ МГ MPC50 показват по-високи стойности на ЗП си в сравнение с ненатоварените. Това нарастване на ЗП подкрепя частичното

компенсиране на отрицателни заряди в MPC50, поради взаимодействието ПМАК-ВПХХ.



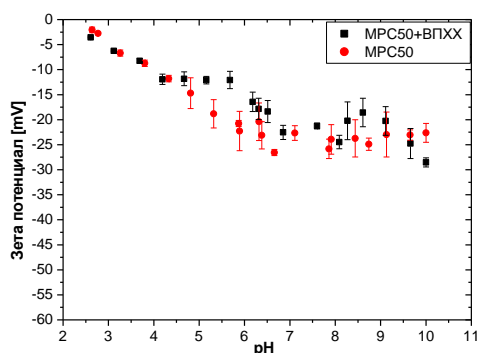
А



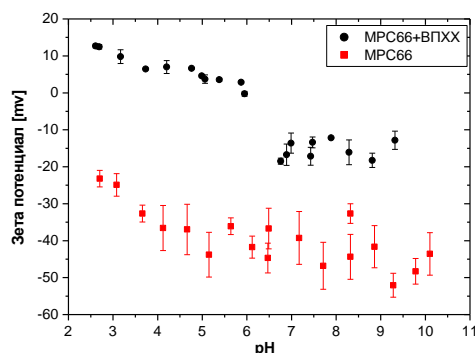
Б

Фигура 58. Влияние на натоварването с ВПХХ върху ЗП на МГ РС50 (А) и РС66 (Б).

Поведението на МГ MPC66 е подобно по отношение на зависимостта на ЗП от рН при сравнение на ненатоварени и натоварени с ВПХХ МГ. Отново, натоварените с ВПХХ МГ MPC66 имат по-високи стойности на ЗП в целия изследван рН интервал. При това, разликата между ЗП на ненатоварените и натоварените МГ MPC66 е значително по-голяма в сравнение с МГ MPC50ВПХХ. Това може да се дължи на факта, че натоварването с ВПХХ за MPC66 е най-високото сред МГ MPC с различни състави, тъй като при тях взаимодействието ПМАК-ВПХХ е най-интензивно. Подобни резултати бяха получени и за МГ РС66.



(А)



(Б)

Фигура 59. рН зависимост на размера и ЗП на МГ MPC50 (А) и МГ MPC66 (Б), ненатоварени и натоварени с ВПХХ.

V.3.7. *Оценяване на потенциала на МГ от ВПМ ПМАК/ПААМ като носители на ВПХХ с помощта на AF4 метода*

Влиянието на ВПХХ върху МГ ВПМ ПМАК/ПААМ бе допълнително изследвано с помощта на AF4 метода. Резултатите от изследването на размера и формата на МГ е представен в Таблица 18.

Таблица 18. Стойности за Rg, Rh и тяхното отношение (Rg/Rh) за МГ ВПМ ПМАК/ПААМ

Проба	Rh [nm]	Rg/Rh	Форма
МРС25ВПХХ	225	1.10	издължени
МРС50ВПХХ	222	1.51	издължени
МРС66ВПХХ	233	0.91	издължени
МРС75ВПХХ	199	1.06	издължени
МРС100ВПХХ	223	0.99	издължени

Резултатите от изследването показват, че включването на ВПХХ не оказва влияние върху размера на получените МГ ПМАК/ПААМ. Също така те запазват издължената си форма.

В допълнение AF4 метода предоставя възможност за оценка на ефективността на натоварване в МГ. В Таблица 19 са представени данните за ефективността на натоварвана на ВПХХ в МГ на ВПМ ПМАК/ПААМ, получени от AF4 метода.

Таблица 19. Количество ВПХХ в състава на някои МГ ПМАК/ПААМ, определен с AF4.

Проба	ВПХХ свързано (%)
МРС25-ВПХХ	6.95 ± 0.86
МРС66-ВПХХ	52.82 ± 0.39
МРС75-ВПХХ	31.17 ± 0.31
МРС100-ВПХХ	28.07 ± 0.15

Количеството ВПХХ, включен в МГ на ВПМ ПМАК/ПААМ зависи от техния състав. Увеличаването на количеството на ПМАК води до по-висока ефективност на натоварването. Това е зависимост, която е обратна на тази, наблюдавана за хидрогелове в маса на същите ВПМ. Тя може да се обясни с увеличената повърхностна площ при прехода от хидрогел към микрогел, което води до увеличаване на броя свободни карбоксилни групи по повърхността на ВПМ и до възможността за по-ефективно взаимодействие между полимерния носител и катионното лекарствено вещество.

Така, с помощта на AF4 метода бе регистрирано влиянието на размера върху ЕН на едни и същи по състав полимерни носители. Това е едно от малкото на брой изследвания, известни в литературата, с AF4 метода върху ЕН на полимерни носители с микро и наноразмери. Предстоят *in vitro* експерименти за определяне на освобождаването на натоварените ВПХХ.

VI. Основни изводи и заключения

1. Синтезирани и охарактеризани са ВПМ на ПАК/ПААМ под формата на хидрогелове и микрогелове. Синтезирани и охарактеризани са за първи път ВПМ на ПМАК/ПААМ под формата на хидрогелове и микрогелове.
2. Синтезираните хидрогелове демонстрират различия в способността си за набъбване, поради по-хидрофобния характер на ПМАК в сравнение с ПАК.
3. Установено е, че ВПМ ПАК/ПААМ има поведение на интелигентен полимерен материал, проявяващ чувствителност едновременно към два външни стимула - рН и температура. ВПМ ПМАК/ПААМ проявява само рН чувствителност.
4. ВПМ на ПАК/ПААМ и ВПМ на ПМАК/ПААМ показват фазово-разделена структура с наноразмер на фазите (под 100 нм), т.е. представляват полимерни нанокомпозиции.
5. Функционалността на двете ВПМ, определена чрез началния избор на компонентите им, определя взаимодействия с моделното лекарствено вещество ВПХХ, които са доказани с ИЧ спектроскопия. Тези взаимодействия водят до аморфизацията на ВПХХ.
6. Най-подходящи системи за удължено освобождаване на ВПХХ са тези състави на двата типа ВПМ, в които съдържанието на ПААМ е най-високо. По този начин, оптималната комбинация от *функционалност* и *гъстота на тоталната мрежа* на ВПМ обуславя и потенциала на ВПМ ПАК/ПААМ и ВПМ ПМАК/ПААМ като системи за удължено освобождаване на ВПХХ.
7. ВПМ под формата на МГ запазват своята рН чувствителност, стабилни са при неутрално и алкално рН, а съставът им оказва влияние върху техните форма и размер.
8. Намаляването на размера на ВПМ – от хидрогел към микрогел, повлиява ефективността на натоварване на ВПХХ.

VII. Списък с научните публикации:

VII.1. По темата на дисертацията

1. M. Simeonov, B. Kostova, and E.Vassileva,

Interpenetrating Polymer Networks of Poly(Acrylic Acid) and Polyacrylamide for Sustained Verapamil Hydrochloride Release.

Macromol. Symp. 2015, 358: 225–231 (IF=0.913)

2. M. Simeonov, B. Kostova, and E.Vassileva,

Interpenetrating polymer networks of poly(methacrylic acid) and polyacrylamide: synthesis, characterization and potential application for sustained drug delivery

RSC Adv., 2016,**6**, 64239-64246 (IF=3.289)

VII.2. Извън темата на дисертацията

1. M. Simeonov, I. Yankova, A. A. Apostolov, E. Vassileva, D. Rabadjieva, S. Tepavitcharova

“Calcium Phosphates Precipitation In Gelatin Nanocapsules Colloidal System”

Nanosc.&Nanotech., 2011, **11**, 203-206

2. M. Simeonov, A. A. Apostolov and E. Vassileva,

In situ calcium phosphates deposition in hydrogels of poly(acrylic acid)-polyacrylamide interpenetrating polymer networks,

RSC Adv., 2016,**6**, 16274-16284 (IF=3.289)

VIII. Списък с изяви на научни форуми за периода 02.2013 - 10.2016г.

1. М. Симеонов, А. А. Апостолов, Д. Рабаджиева, С. Тепавичарова, Е. Василева
„Взаимнопроникващи полимерни мрежи на поли(акрилова киселина)(ПАК) и полиакриламид(ПААМ) като матрици за in situ утаяване на калциеви фосфати”
Устен доклад на XII Национална конференция по химия за студенти и докторанти, 15-17май, 2013, София, България
2. М. Симеонов, А. А. Апостолов, Д. Рабаджиева, С. Тепавичарова, Е. Василева
“Хибридни материали на базата на калциеви фосфати и взаимнопроникващи полимерни мрежи на поли(акрилова киселина)(ПАК) и полиакриламид) (ПААМ)”
Устен доклад на Научен семинар на катедра Приложна органична химия, 31май - 2 юни, 2013, Гьолечица, България
3. М. Симеонов, Е. Василева, А. А. Апостолов, Д. Рабаджиева, С. Тепавичарова
“Хибридни органично-неорганично материали на базата на взаимнопроникващи полимерни мрежи на на поли(акрилова киселина) (ПАК) и полиакриламид) (ПААМ) и калциев хидроксилпатит”
4-та постерна сесия "Младите учени в света на полимерите", 06.06.2013 г., Институт по полимери, БАН.
4. Х. Грънчарова, П. Шестакова, М. Симеонов, Е. Василева
„Кинетика на набъбване и термични свойства на полисулфобетайнови хидрогелове“
Постер, представен на 27 ECIS конференция, 1 - 6 Септември 2013, София, България
5. М. Simeonov, A. Lederer, E. Vassileva
„Synthesis and characterization of poly(acrylic acid)/polyacrylamide nanogels“
Постер, представен на конференция „Advanced Functional Materials”, 3-6.09.2014, Несебър, България
6. М. Simeonov, A. Lederer, E. Vassileva
„Synthesis and characterization of poly(acrylic acid)/polyacrylamide nanogels“
Постер, представен на 17th International Symposium On Field- and Flow- Based Separations”(FFF 2014), 12-16 октомври 2014, Солт Лейк Сити, Юта, САЩ

7. M.Simeonov, A. Lederer, S. Boye, E. Vassileva
„Micro- and nanogels based on poly(acrylic acid)/polyacrylamide interpenetrating polymer networks“
 Постер, представен на научна сесия по повод **120 годишнина от рождението на академик Димитър Иванов**, 29-31 октомври 2014, Институт по органична химия с център по фитохимия, БАН, София, България

8. M. Simeonov, A. Lederer, S. Boye, E. Vassileva
„Nanogels of Poly(Acrylic Acid)/Polyacrylamide Interpenetrating Polymer Networks: Synthesis and Characterization“
 Постер, представен на 16ти международен научен семинар **„Nanoscience and nanotechnology“**, **07-08 ноември 2014**, Технически университет, София, България

9. М. Симеонов, Б. Костова, Е. Василева
„Взаимнопроникващи полимерни мрежи на поли(акрилова киселина) и полиакриламид като носители за удължено освобождаване на верапамил хидрохлорид“
 Устен доклад на XIV национална конференция по химия за студенти и докторанти, 20-22 май 2015 г., София

10. М. Симеонов, С. Бойе, А. Каспери, А. Ледерер, Е. Василева
„Наногелове на взаимнопроникващи полимерни мрежи на поли(акрилова киселина) и полиакриламид като потенциални носители на лекарствени вещества“
 Устен доклад на ежегодния научен семинар на катедра „Фармацевтична и приложна органична химия“, Гьолечица, юни, 2015 г.

11. M. Simeonov, A. Lederer, S. Boye, E. Vassileva
Synthesis and characterization of poly(acrylic acid)/polyacrylamide nanogels
 Постер на ежегодния научен семинар „Младите учени в света на полимерите“, ИП-БАН, юни, 2015 г., София /постера е награден с II място/

12. М. Симеонов, А. А. Апостолов, Е. Василева
„Биоактивни композитни пасти (цименти и инжекционни суспензии) за костни и дентални приложения“
 Работна среща по проект ДФНИ Т 02-5/12.12.2014, „Изследване на връзката *синтез-структура-фазовогранични преходи-механични свойства-биологични свойства* при композитни калциево-фосфатни биоматериали с приложение в костната хирургия и денталната медицина“), 27-28, ноември, Баня, 2015 г.

13. M. Simeonov, E. Vassileva
„Synthesis and characterization of micro and nanogels based on interpenetrating polymer networks“

Постер на научна среща на Факултет по химия и фармация, декември, 2015 г., София

14. М. Симеонов, А. Ледерер, С. Бойе, Б. Костова, Е. Василева
Полиакрилатни и полиметакрилатни Взаимнопроникващи полимерни мрежи - синтез, свойства и приложение като системи за удължено доставяне на лекарства
Устен доклад на XV национална конференция по химия за студенти и докторанти, май 2015 г., София
15. М. Симеонов, Б. Костова, Е. Василева
Хидрогелове на полиакрилатни и полиметакрилатни Взаимнопроникващи полимерни мрежи - синтез, свойства и приложение като лекарственодоставящи системи
Устен доклад на ежегодния научен семинар „Младите учени в света на полимерите“, ИП-БАН, юни, 2016 г., София /Награда за най-добра презентация/
16. М. Simeonov, P. Shestakova, A. Lederer, S. Boye, E. Vassileva
Microgels of Poly(Acrylic Acid)/Polyacrylamide Interpenetrating Polymer Networks: Synthesis and Characterization
Постер, представен на CEUM 2016, 18 - 20 Септември 2016, София, България
17. М. Simeonov, B. Kostova, E. Vassileva
Hydrogels of polyacrylate and polymethacrylate based interpenetrating polymer networks as drug delivery systems
Устен доклад, представен на IX-та Национална конференция по химия, 18 Национален симпозиум по полимери, Сесия, посветена на 80та годишнина на Професор Стойко Факиров, София, България
18. M. Simeonov, B. Kostova, E. Vassileva
Drug delivery systems based on hydrogels of acrylate and methacrylate interpenetrating polymer networks
Постер, представен на VI-ти Конгрес по фармация с международно участие под мото „PharmaceutiQoL Challenges and Avenues“, **13- 16 октомври 2016 г.**, Сандански, България.

IX. Специализации в чужбина за периода 02.2013 -10.2016г.

1. Юни-юли, 2015 г. за 1 месец в Лайбниц институт по полимерни изследвания, Дрезден, Германия по проект Проект BG051PO001/3.3-05-0001 “Наука и бизнес“
2. Януари-февруари, 2015 г. за 2 месеца в Лайбниц институт по полимерни изследвания, Дрезден, Германия по проект, Проект ДНТС Германия 01/12
3. Септември, 2015 г. за 1 месец в Лайбниц институт по полимерни изследвания, Дрезден, Германия по проект Проект ДНТС Германия 01/12

X. Участия в научни проекти за периода 02.2013 -10.2016г.

1. Проект ДФНИ-Т02/5, финансиран от Фонд „Научни изследвания“, 2014г. на тема: **„Изследване на връзката синтез-структура-фазовогранични преходи-механични свойства-биологични свойства при композитни калциево-фосфатни биоматериали с приложение в костната хирургия и денталната медицина“**(**Биоактивни композитни пасти за костни и дентални приложения**).
2. Проект ДФНИ-Т02/15, финансиран от Фонд „Научни изследвания“, 2014г. на тема: **„Полимерни материали с ултра ниска протеинова адсорбция на основата на полицвитерйони за лечение на рани“**
3. Проект ДНТС Германия 01/12, финансиран от ДААД, 2014г.
4. Проект BG051PO001/3.3-05-0001 “Наука и бизнес”, финансиран от Министерство на образованието и науката, 2014г. на тема: **“Фракциониране в асиметричен поток чрез поточно поле на микро- и наногелове на взаимнопроникващи полимерни мрежи на хидрофилни мономери”**
5. Проект 119, финансиран от СУ „Св. Климент Охридски“, 2014 г. на тема: **„Синтез, охарактеризиране и приложение като лекарствени носители на взаимнопроникващи полимерни мрежи“**.