

УДК 541.64:532.7

ПОЛИМЕРНЫЕ ГИДРОГЕЛИ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ, ОБЛАДАЮЩИЕ ЭФФЕКТОМ ПАМЯТИ

© 2011 г. В. Н. Павлюченко*, С. С. Иванчев**, О. Н. Примаченко**, С. Я. Хайкин**,
В. Ф. Даниличев*, В. С. Прошина*, В. А. Трунов***, В. Т. Лебедев***, Ю. В. Кульвелис***

* Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова
194044 Санкт-Петербург, ул. акад. Лебедева, 6

** Учреждение Российской академии наук Санкт-Петербургский филиал
Института катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения РАН

195197 Санкт-Петербург, пр. Добролюбова, 14

*** Учреждение Российской академии наук Петербургский институт ядерной физики
им. Б.П. Константинова РАН

188300 Гатчина, Ленинградская обл.

Поступила в редакцию 24.03.2010 г.

Принята в печать 12.08.2010 г.

Методом матричного синтеза при использовании в качестве матрицы лекарственного вещества — цефазолина синтезированы гидрогели на основе сшитых сополимеров 2-гидроксиэтилметакрилата и функциональных мономеров (акриловая кислота или диметиламиноэтилметакрилат), обладающие эффектом памяти. Показано, что полученные гидрогели имеют повышенную сорбционную активность по отношению к целевому лекарственному веществу и при определенных условиях замедленную скорость высвобождения лекарства из гидрогеля (эффект памяти). Синтезированные гидрогели в сочетании с цефазолином можно рассматривать как новую лекарственную форму пролонгированного действия для лечения инфекционных заболеваний.

ВВЕДЕНИЕ

Полимерные гидрогели уже давно успешно используются в качестве носителей лекарственных веществ. Преимущества таких систем связаны с возможностью реализации контролируемого поступления лекарства в соответствующие зоны живого организма и со снижением токсического действия препарата благодаря его постепенному высвобождению из гидрогеля, что исключает возникновение мгновенных высоких локальных концентраций лекарства. При лечении и профилактике офтальмологических заболеваний в качестве полимерного носителя используют гидрогелевые мягкие контактные линзы, насыщенные лекарственными веществами. В дополнение к указанным преимуществам гидрогелей мягкие контактные линзы локализуют зону поступления лекарства в области роговицы, через которую вещество большей частью поступает во внутренние структуры глаза.

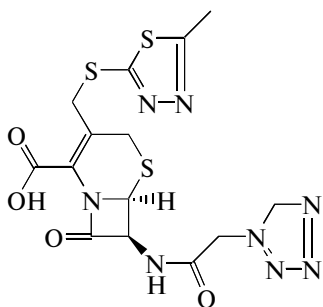
Одна из проблем, возникающих при применении мягких контактных линз, заключается в их малой массе (обычно менее 20 мг) и, следовательно, недостаточной сорбционной емкости по отношению к сорбируемым лекарствам. Указанные обстоятельства не всегда позволяют создавать в

тканях глаза терапевтически эффективные концентрации лекарственного вещества. Другая проблема обусловлена небольшой толщиной мягких контактных линз (менее 100 мкм), что приводит к быстрому высвобождению лекарства. Эти проблемы решают путем введения в состав полимера различных функциональных групп. Обычно функциональные группы являются ионогенными, что в совокупности с ионным характером лекарственного вещества обеспечивает высвобождение лекарства из гидрогеля по механизму ионного обмена. Принципиально новым подходом, активно развиваемым в последнее время, является создание полимерных гидрогелей, обладающих памятью по отношению к целевому веществу [1–5]. Эффект памяти реализуется путем матричного синтеза полимера в присутствии лекарственного вещества, используемого в качестве матрицы, и экстрагируемого после завершения синтеза. Формируемая нанопористая структура гидрогеля, при правильно выбранных условиях синтеза, приводит к увеличению его сорбционной емкости и снижению скорости высвобождения лекарства. В англоязычной научной литературе полученные таким образом гидрогели называют “imprinted” (впечатанные гидрогели). В дальнейшем мы также будем пользоваться термином “imprinted”, особенно в тех случаях, когда эффект памяти гидрогеля по отношению к лекар-

E-mail: ivanchev@SM2270.spb.edu (Иванчев Сергей Степанович).

ственному веществу еще не выявлен (на стадиях исследования процессов синтеза и определения параметров набухания гидрогелей в водной среде).

В данной статье описаны синтез и физико-химические свойства новых полимерных гидрогелей, обладающих эффектом памяти. В качестве модельного лекарственного вещества применяли цефазолин (антибиотик из группы цефалоспоринов), структура которого приведена ниже.



Выбор данного вещества обусловлен тем, что цефалоспорины широко используются для лечения и профилактики инфекционных офтальмологических заболеваний. Эти вещества мало токсичны и могут применяться в виде водных растворов с высокой концентрацией лекарства. В работах [6–8] показано, что при насыщении различных гидрогелевых мягких контактных линз из сравнительно концентрированных растворов цефалоспоринов (5–10 мас. %) удается создать лечебные линзы, содержащие достаточно большое количество лекарственного вещества. Недостатком этих линз является слишком быстрое высвобождение цефалоспорина из гидрогеля, что приводит к неэффективному расходованию лекарства, вследствие малого времени контакта вещества с роговицей глаза и его быстрого вымывания из конъюнктивной полости слезной жидкостью. В связи с этим задачей исследования является не только повышение сорбционной емкости гидрогеля по отношению к целевому веществу, но и определение условий, при которых реализуется высвобождение лекарственного препарата из гидрогеля в пролонгированном режиме.

Основным мономером при получении гидрогелей служил 2-гидроксиэтилметакрилат (ГЭМА). Сшивающий мономер – N,N-метиленбисакриламид (МБАА), мономеры, содержащие функциональные группы, – акриловая кислота (АК) (анионные группы) и 2-диметиламиноэтилметакрилат (ДМАЭМА) (катионные группы). Функциональные мономеры вводили в состав сополимера в количестве 3 мол. %. В соответствии с литературными данными [2, 9, 10] применяли повышенные концентрации сшивающего мономера (4 мол. %) для обеспечения достаточной прочности нанопор, которые должны “запомнить” форму молекул лекарственного вещества.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

Коммерческие продукты ГЭМА при $T_{\text{кип}} = 87^\circ\text{C}/665$ Па, $n_D^{20} = 1.4510$, АК при $T_{\text{кип}} = 886^\circ\text{C}/1.33 \times 10^4$ Па, $n_D^{20} = 1.4224$, ДМАЭМА фирмы “Lancaster” (Англия) при $T_{\text{кип}} = 186^\circ\text{C}$, $n_D^{20} = 1.44396$ очищали вакуумной перегонкой. МБАА при $T_{\text{пл}} = 300^\circ\text{C}$ (фирма “Sigma-Aldrich”, США) использовали без дополнительной очистки.

Инициатор пероксидисульфат аммония очищали перекристаллизацией из воды. N,N,N,N-тетраметилэтилендиамин (ТМЭДА) (Открытое акционерное общество “Вектон”, Санкт-Петербург), $T_{\text{кип}} = 121.5^\circ\text{C}$, $n_D^{20} = 1.4148$ применяли без дополнительной очистки.

Цефазолин – препарат производства Открытого акционерного общества “Биохимик” (Саранск) был взят в виде натриевой соли, хлористый натрий (Открытое акционерное общество “Вектон”, Санкт-Петербург) – в виде изотонического раствора (0.9 мас. %), двузамещенный фосфат натрия (Открытое акционерное общество “Вектон”) – в виде 0.05 М водного раствора, соляная кислота – в виде 0.1 н раствора.

Для проведения сополимеризации, приготовления растворов и при исследовании физико-химических свойств гидрогелей использовали дистиллированную воду.

Сополимеризация

Сополимеризацию в водной среде осуществляли в формах, изготовленных из фторопласта-4, при 20°C в течение 1.5 ч. Перед проведением сополимеризации реакционные смеси освобождали от растворенного кислорода путем барботажа через растворы инертного газа. При сополимеризации в водной системе пероксидисульфат аммония вводили в реакционную смесь непосредственно перед ее загрузкой в полимерную форму. Сополимеризацию осуществляли практически до полного превращения мономеров в сополимеры. При получении гидрогелей “imprinted” цефазолин вводили в реакционную смесь в расчете 1 : 4 моля звеньев АК. Такое соотношение для многих лекарственных веществ, сочетающихся с сополимерами, содержащими АК, часто является оптимальным [5, 9, 10].

Составы реакционных смесей приведены в табл. 1. Полученные полимерные заготовки представляли собой набухшие в воде пластины толщиной 0.4–0.7 мм, из которых вырубали диски диаметром 12 мм. Диски для удаления остаточных мономеров и растворенного цефазолина промывали в различных водных растворах. Вначале об-

Таблица 1. Рецептуры получения сополимеров

Сополимер	Содержание компонентов, мас. ч.							
	ГЭМА	АК	ДМАЭМА	МБАА	ПА	ТМЭДА	цефазолин	вода
1	92.39	1.67	—	5.94	1.0	0.99	—	49.8
1 “imprinted”	92.39	1.67	—	5.94	1.0	0.99	2.64	49.8
2	90.59	—	3.63	5.78	1.01	0.50	—	50.4
2 “imprinted”	90.59	—	3.63	5.78	1.01	0.50	2.63	50.4
3	88.78	1.77	3.59	5.86	1.02	0.51	—	49.8
3 “imprinted”	88.78	1.77	3.59	5.86	1.02	0.51	2.64	49.8

разцы помещали в дистиллированную воду на 2 суток, затем в раствор фосфата натрия также на 2 суток. После этого образцы промывали в течение суток в 0.1 н HCl и затем снова в дистиллированной воде в течение 2 суток. Полноту удаления цефазолина оценивали по отсутствию в УФ-спектре на стадии заключительной водной промывки поглощения в области 270 нм. После завершения промывания образцы высушивали до постоянной массы при 50°C.

Исследование набухания полимерных образцов в водных растворах

При исследовании набухания сополимеров образцы выдерживали в водных растворах не менее 24 ч. При изучении кинетики набухания образцы периодически извлекали из раствора и удалив с их поверхности влагу фильтровальной бумагой, взвешивали на аналитических весах. Равновесную степень набухания образцов определяли по формуле

$$S_0 = \frac{W_w - W_d}{W_d}, \quad (1)$$

где W_w — масса влажного образца, W_d — масса сухого образца.

Исследование гидрогелей методом малоуглового рассеяния нейтронов

Метод малоуглового рассеяния нейтронов применяли для изучения структуры полимерных гидрогелей, синтезированных в водной среде. Исследование проводили на дифрактометре “Мембрана-2” в диапазоне переданных импульсов $q = (4\pi/\lambda)\sin(\theta/2) = 0.03\text{--}0.8 \text{ нм}^{-1}$ ($\lambda = 0.3 \text{ нм}$ — длина волны при ширине спектра $\Delta\lambda/\lambda = 0.3$, θ — угол рассеяния нейтронов). Для расшифровки структуры гидрогелей использовали метод изотопного водородно-дейтериевого контрастирования, основанного на большой разнице в амплитудах когерентного ядерного рассеяния для водорода и дейтерия [11]. С этой целью высушенные на воздухе образцы насыщали тяжелой водой D_2O до

состояния равновесного набухания в течение длительного времени (не менее суток). В объеме гидрогеля при замене легкой воды H_2O на тяжелую воду D_2O более чем на порядок усиливается контраст в рассеянии нейтронов между цепями сетки и насыщающей ее водой, что и позволяет надежно определять структуру системы. При анализе данных учитывали, что полимерные сетки содержат водород, вносящий в рассеяние значительный некогерентный вклад, пропорциональный концентрации протонов. Согласно химическому составу (табл. 1) содержание водорода в сухой сетке составляло: 7.60, 7.70 и 7.67 мас. % в образцах 1, 2 и 3 соответственно.

Чтобы выбрать оптимальные условия измерений, для образцов гидрогелей в виде пластин толщиной $d \approx 0.7\text{--}0.9 \text{ мм}$ определяли величины пропускания Tr — доли нейтронов, прошедших через образцы без рассеяния. Такие условия реализуются при толщине образцов $d_S = 1.5\text{--}1.8 \text{ мм}$ (исходные пластины складывали вдвое). При этом пропускание нейтронов Tr составляет 0.58–0.66, а величина некогерентного вклада $b = 0.07\text{--}0.08 \text{ см}^{-1}$. Выбранную толщину исследуемых объектов $d_S = 2d$ учитывали при расчете сечений рассеяния в абсолютных единицах (на 1 см^3 объема гидрогеля) $d\sigma/d\Omega = (I_S/I_w)(d_w/d_S)d\sigma_w/d\Omega$ с использованием в качестве эталона известного сечения рассеяния $d\sigma_w/d\Omega$ слоя легкой воды толщиной $d_w = 1 \text{ мм}$. Здесь I_S — интенсивность рассеяния от образца гидрогеля толщиной d_S .

Исследование поглощения цефазолина гидрогелями из водных растворов и его последующего высвобождения в изотонический раствор NaCl

При исследовании сорбции цефазолина образец сополимера массой 50–80 мг помещали в определенное количество (5–7 мл) разбавленного раствора лекарственного вещества (50 мг/л) и периодически производили измерение в растворе концентрации вещества. Процесс проводили до прекращения изменения концентрации цефазолина в растворе. Это событие считали моментом

Таблица 2. Равновесная степень набухания сополимеров в водной среде

Сополимер	Значения S_0 , г/г			
	вода	раствор фосфата натрия	раствор HCl	раствор NaCl
1	0.779	0.825	0.495	0.709
1 “imprinted”	0.783	0.764	0.653	0.818
2	0.664	0.565	0.859	0.587
2 “imprinted”	0.799	0.698	1.079	0.695
3	0.972	0.712	0.852	0.681
3 “imprinted”	1.016	0.718	1.000	0.786

установления равновесной сорбции цефазолина гидрогелем. Количество W цефазолина, поглощенного образцом, рассчитывали по формуле

$$W = (C_0 - C)V, \quad (2)$$

где C_0 и C – начальная и текущая концентрации цефазолина в растворе, V – объем раствора. Символом W_0 обозначали количество цефазолина (мг), поглощенного образцом к моменту достижения равновесной сорбции. Величину сорбции лекарства w_0 (в 1 мг цефазолина на 1 см³ гидрогеля) вычисляли по формуле

$$w_0 = w'_0 \rho / (S_0 + 1), \quad (3)$$

где ρ – плотность гидрогеля, w'_0 – сорбция лекарства (в 1 мг цефазолина на 1 г высушенного гидрогеля). Плотность гидрогеля находили при допущении, что этот параметр является аддитивной величиной, используя данные по плотности сополимеров (1.29 г/см³ [12]) и их степени набухания.

Концентрацию цефазолина в водных растворах определяли методом УФ-спектроскопии с помощью спектрофотометра СФ-2000 (Акционерное общество закрытого типа ОКБ “Спектр”, Санкт-Петербург). Измерения производили при длине волны 270 нм, соответствующей максимуму поглощения света. Предварительно получали калибровочную зависимость, из которой рассчитывали коэффициент экстинкции цефазолина (1.179×10^4 л моль⁻¹ см⁻¹).

Высвобождение цефазолина из образцов, достигших равновесного насыщения, в определенное количество (100–200 мл) изотонического раствора NaCl изучали, периодически определяя концентрацию цефазолина в растворе. Момент установления в растворе постоянной концентрации лекарства считали моментом установления равновесия. В условиях эксперимента (отношение объемов гидрогеля и раствора менее 10^{-3}) этот момент соответствовал практически полностью высвобождению цефазолина из гидрогеля, на что указывало отсутствие в спектре гидрогеля поглощения при $\lambda = 270$ нм. Таким образом, в опытах по десорбции цефазолина можно также опре-

делять W_0 и w_0 . Так как в опытах по десорбции отобранные пробы не возвращали в исходный раствор, количество лекарственного вещества, высвободившегося из гидрогеля к моменту отбора пробы, вычисляли по формуле

$$W = C_N [V_0 - (N - 1)P] + \sum_{i=1}^{N-1} C_{N-i} P, \quad (4)$$

где V_0 – начальный объем изотонического раствора NaCl, N – порядковый номер пробы, P – объем пробы (2.42 мл), C_N – концентрация цефазолина в растворе в момент отбора пробы с номером N .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Набухание синтезированных сополимеров в водных растворах

Из табл. 2 видно, что гидрогели “imprinted” имеют более высокую степень набухания по сравнению с исходными гидрогелями, полученными в отсутствие цефазолина. Этот результат может быть связан с тем, что цефазолин как высоко гидрофильное вещество с достаточно большой ММ (454 г/моль) оказывает влияние на структуру гидрогеля. Аналогичные результаты приведены в работе [13]. В цитируемой работе описаны гидрогели “imprinted” на основе сополимеров ГЭМА–АК–МБАА, полученные также в водной среде, в которых в качестве матрицы использовался 5-фторурацил. Авторы отмечают, что гидрогели “imprinted” имеют более высокую степень набухания по сравнению с аналогичными гидрогелями, синтезированными в отсутствие 5-фторурацила. В то же время гидрогели, полученные в массе или органическом растворителе в присутствии лекарства, имеют те же параметры набухания, что и обычные гидрогели аналогичного химического состава [9, 10]. Приведенные данные позволяют предположить, что изменение параметров набухания гидрогелей связано с гидратацией лекарственного вещества и образованием гидрогелей с большим общим объемом пор.

Набухание гидрогелей в воде и водных растворах электролитов зависит от химического строе-

Таблица 3. Степень набухания гидрогелей в растворах цефазолина

Гидрогель	Степень набухания, г/г		
	1.5*/4.88**	5.0*/4.63**	10.0*/4.63**
1	0.733	0.873	1.146
1 “imprinted”	0.880	1.247	1.538
2	0.656	0.808	0.894
2 “imprinted”	0.799	0.976	1.625
3	0.733	0.811	0.976
3 “imprinted”	0.795	1.083	1.299

* Концентрация цефазолина, мас. %.

** Концентрация рН раствора.

ния сополимера. Поскольку синтезированные сополимеры имеют практически одно и то же содержание звеньев ГЭМА и сшивающего мономера МБАА, их различия в способности набухать в воде связаны прежде всего с типом звеньев функционального мономера. Наиболее высокой степенью набухания в воде обладают амфолитные гидрогели, содержащие оба типа функциональных групп (карбоксильные и аминные), общее мольное содержание которых в 2 раза выше, чем в анионных и катионных гидрогелях. Хотя следует заметить, что степень набухания амфолитных гидрогелей не является аддитивной величиной, если ее сопоставить с данными по набуханию карбоксил- и аминосодержащих гидрогелей. Величина степени набухания гидрогелей в растворах электролитов в принципе имеет ожидаемые значения, которые детального обсуждения не требуют. Все исходные гидрогели в изотоническом растворе хлористого натрия имеют меньшие величины S_0 по сравнению с соответствующими параметрами в воде. Анионные гидрогели в кислых растворах заметно коллапсируют, тогда как катионные имеют наиболее высокие параметры набухания. В растворе фосфата натрия (рН 8.1) наиболее сильно набухают анионные гидрогели. Амфолитные гидрогели имеют достаточно высокие величины S_0 во всех типах использованных водных растворов.

Ранее [6–8, 12] было показано, что наличие цефалоспоринов в водном растворе усиливает набухание некоторых гидрогелей вследствие дополнительной гидратации, обусловленной присутствием в гидрогеле высоко гидрофильных лекарственных веществ. Этот факт имеет принципиальное значение, так как дополнительное набухание гидрогеля может вызвать изменение его сорбционной активности по отношению к целевому лекарственному веществу. Поэтому целесообразно изучить набухание как обычных, так и гидрогелей “imprinted” в зависимости от

концентрации цефазолина в растворе. Из данных табл. 3 видно, что для всех типов синтезированных гидрогелей характерно увеличение степени набухания в растворах цефазолина при повышении концентрации лекарственного вещества, причем более сильно эффект выражен для гидрогелей “imprinted”. Отметим, что в большинстве случаев степень набухания у анионных гидрогелей (1 и 1 “imprinted”) несколько выше, чем у катионных (2 и 2 “imprinted”), несмотря на относительно невысокие значения рН растворов цефазолина (в растворах HCl наблюдается обратная закономерность).

Транспорт воды в полимерном гидрогеле связан с различными механизмами, главными из которых являются простая диффузия и релаксационные явления в набухающем полимере. Если перенос обусловлен преимущественно указанными процессами, то кинетика набухания гидрогеля может быть описана уравнением

$$S/S_0 = kt^n, \quad (5)$$

где S – степень набухания гидрогеля в момент времени t , k – константа, связанная с параметрами взаимодействия полимер–диффундирующее вещество, n – показатель, характеризующий механизм переноса вещества. Если транспорт вещества осуществляется по диффузионному механизму, то показатель n близок к 0.5. Строго говоря, он немного зависит от формы гидрогеля (отношение диаметра к толщине диска), но для тонких дисков при величине указанного отношения больше 20 изменяется в не очень широких пределах (0.48–0.50) [14]. Если перенос вещества лимитируется релаксационными явлениями, то $n = 1$. Иногда величина n более 0.5, но менее 1. Это значит, что одновременно работают оба механизма.

При диффузионном переносе вещества по уравнению (6) можно вычислить коэффициент диффузии D вещества, диффундирующего в гидрогель:

$$k = 4 \left(\frac{D}{\pi l^2} \right)^{0.5} \quad (6)$$

(l – толщина образца). Обычно мы вычисляли D при $t = t_{1/2}$, т.е. в момент, когда S образца достигала половины равновесной величины S_0 , по уравнению

$$D = \frac{0.25\pi l^2}{16t_{1/2}}, \quad (7)$$

На рис. 1 приведены типичные кинетические зависимости набухания гидрогелей. Угол наклона линейной части зависимости, построенной в логарифмических координатах, позволяет вычислить параметр n . Как показано в табл. 4, во всех случаях величина n близка к 0.5, что указывает на диффузионный характер переноса воды в гидро-

гелях. Вычисленные коэффициенты диффузии воды немного ниже величин, приводимых для других гидрогелей [13, 15]. Возможно, это обусловлено высокой плотностью сшивки изучаемых нами гидрогелей вследствие большого содержания сшивающего мономера в сополимере. Интересно также отметить, что для гидрогелей “imprinted” величина D несколько ниже, чем для обычных гидрогелей того же химического состава. Для всех гидрогелей характерно снижение коэффициентов диффузии воды при введении в раствор цефазолина. В этих случаях, по-видимому, величину D следует рассматривать как эффективную, в связи с тем что степень набухания определяется по массе образца, которая обусловлена наличием в образце не только воды, но и цефазолина.

Нейтронные исследования гидрогелей

Данные по набуханию гидрогелей дают представление о степени влияния лекарственного вещества на общий объем пор, которые могут быть заполнены водой. Нейтронные исследования позволяют получить сведения о внутренней структуре гидрогелей с оценкой размера пор в зависимости от условий синтеза полимеров. Ниже приведены результаты изучения гидрогелей, набухших в тяжелой воде, методом малоуглового рассеяния нейтронов.

Сравнение импульсных зависимостей сечений рассеяния $d\sigma(q)/d\Omega$ для серии гидрогелей 1–3 (а также 1–3 “imprinted”) (рис. 2) показывает, что в случае анионных гидрогелей 1 и 1 “imprinted” сечения рассеяния возрастают с уменьшением импульса при $q \leq 0.2 \text{ нм}^{-1}$ на два порядка относительно постоянного уровня некогерентного сечения, $d\sigma/d\Omega \rightarrow b \sim 0.1 \text{ см}^{-1}$ при $q \approx 0.6–0.8 \text{ нм}^{-1}$, связанного в основном с наличием протонов в составе полимеров. В отличие от гидрогелей 1 и 1 “imprinted”, катионные (2 и 2 “imprinted”) и амфолитные (3, 3 “imprinted”) гидрогели демонстрируют меньший рост сечений рассеяния (1–1.5 порядка) без радикального изменения характера импульсных зависимостей $d\sigma/d\Omega$: в верхней части диапазона q ($0.4–0.8 \text{ нм}^{-1}$) вклады некогерентного фона и когерентной компоненты, несущей информацию о структуре гидрогеля, сопоставимы.

Указанные различия величин и поведения сечений рассеяния $d\sigma(q)/d\Omega$ свидетельствуют о том, что в гамме гидрогелей образцы 1 и 1 “imprinted” обладают наиболее масштабными структурами. Чтобы получить представление о размерах элементов этих структур, данные для гидроге-

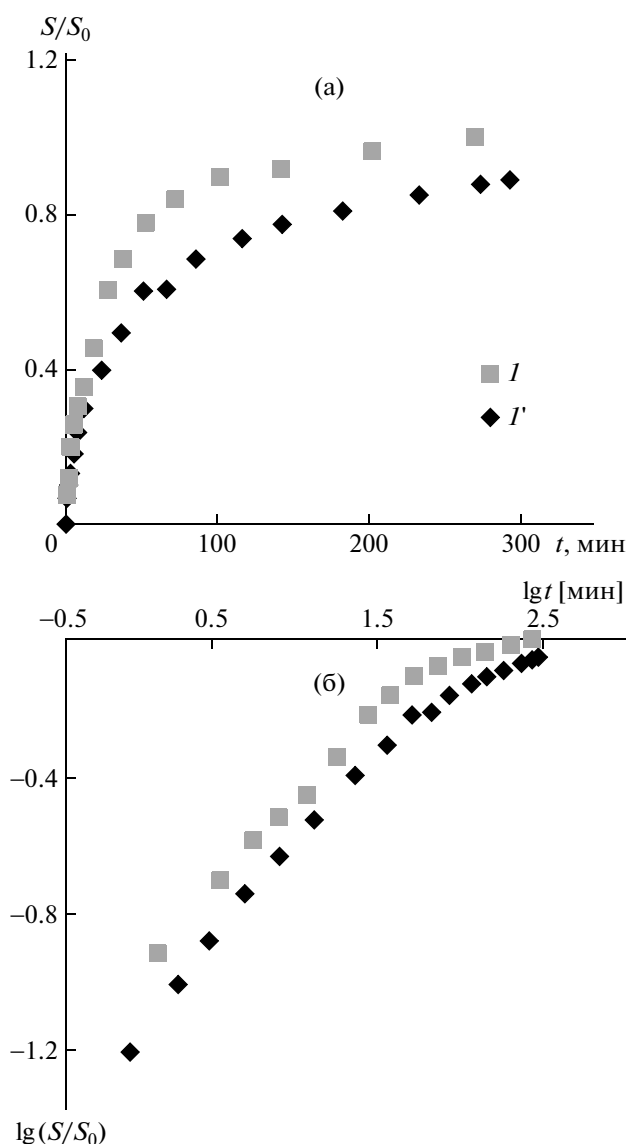


Рис. 1. Кинетические зависимости набухания в растворе цефазолина (5 мас. %) для гелей 1 (I) и 1 “imprinted” (I') в линейных (а) и логарифмических координатах (б).

лей 1 и 1 “imprinted” были аппроксимированы моделью Гинье в трехмодовом приближении

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \sum_{i=1}^3 \sigma_{0i} e^{-qR_{gi}} + b, \quad (8)$$

где b – вклад некогерентного фона, σ_{0i} – парциальные когерентные сечения рассеяния в пределе $q \rightarrow 0$, а R_{gi} – радиусы инерции наблюдаемых в рассеянии структурных элементов гидрогеля (ячейки сетки и другие поры, заполненные водой) (табл. 5).

Данные для гидрогелей 2, 3 и 2 “imprinted”, 3 “imprinted” описываются той же функцией (8), но с использованием констант

Таблица 4. Кинетические параметры набухания гидрогелей в воде и растворе цефазолина (5.0 мас. %)

Гидрогель	Среда для набухания	l , мм	n	$-\lg k$	$t_{1/2}$, мин	$D \times 10^7$, см ² /с
1	Вода	0.55	0.53	0.991	20.0	1.23
1 “imprinted”	»	0.55	0.55	1.038	21.0	1.18
2	»	0.63	0.55	1.115	30.2	1.07
2 “imprinted”	»	0.47	0.55	1.111	29.7	0.61
3	»	0.56	0.44	0.850	17.7	1.45
3 “imprinted”	»	0.56	0.44	0.862	18.9	1.36
1	Раствор цефазолина	0.55	0.49	0.969	23.1	1.07
1 “imprinted”	То же	0.55	0.51	1.130	43.3	0.57
2	»	0.63	0.46	1.005	34.0	0.96
2 “imprinted”	»	0.47	0.47	1.014	33.5	0.54
3	»	0.56	0.53	1.051	25.4	1.01
3 “imprinted”	»	0.56	0.50	1.132	46.7	0.55

$$b_H = b(N_H/N), \quad (9)$$

вычисленных из экспериментальных значений b для гидрогелей 1 и 1 “imprinted” (табл. 5) с поправками на разную степень набухания образцов. Здесь N_H/N – отношение объемной концентрации протонов в гидрогелях 2, 3 и 2 “imprinted”, 3 “imprinted” к аналогичной величине для гидрогеля 1. Учитывая, что массовые содержания протонов во всех сухих полимерах практически одинаковые, а плотности полимеров и гидрогелей

также являются близкими друг к другу, получаем оценку

$$N_H/N = (W_{dH}/W_{wH})/(W_d/W_w), \quad (10)$$

где W_d/W_w – отношение массы сухого и набухшего образца 1, а W_{dH}/W_{wH} – аналогичное отношение для гидрогелей 2, 3 и 2 “imprinted”, 3 “imprinted”. Данные по сечениям рассеяния гидрогелей 2, 3 и 2 “imprinted”, 3 “imprinted” были аппроксимированы функцией (8) с использованием констант b_H . Полученные параметры σ_{0i} и R_{gi} приведены в табл. 5.

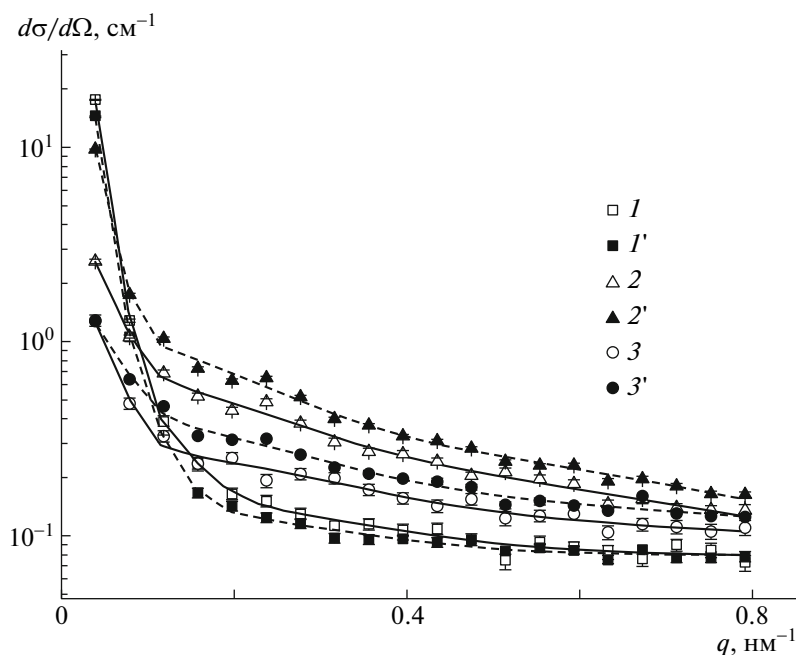


Рис. 2. Импульсные зависимости сечений рассеяния $d\sigma(q)/d\Omega$ для набухших в тяжелой воде гидрогелей 1 (1), 1 “imprinted” (1’), 2 (2), 2 “imprinted” (2’), 3 (3), 3 “imprinted” (3’). Линиями показана аппроксимация данных функцией (9) для образцов 1–3 (сплошные) и 1–3 “imprinted” (пунктирные).

Таблица 5. Параметры гинье-аппроксимации кривых рассеяния нейтронов на образцах гидрогелей функцией (9)

Гидрогель	$I_{01}, \text{см}^{-1}$	$R_{g1}, \text{нм}$	$I_{02}, \text{см}^{-1}$	$R_{g2}, \text{нм}$	$I_{03}, \text{см}^{-1}$	$R_{g3}, \text{нм}$	$b, \text{см}^{-1}$
1	0.10 ± 0.02	4.8 ± 0.8	0.9 ± 0.3	16.8 ± 1.9	51.2 ± 1.8	45.5 ± 0.9	0.083 ± 0.004
1 “imprinted”	0.074 ± 0.014	5.3 ± 0.7	1.4 ± 0.6	21.0 ± 2.0	46.0 ± 4.0	48.0 ± 2.0	0.083 ± 0.002
2	0.24 ± 0.03	2.6 ± 0.2	0.43 ± 0.04	7.4 ± 0.7	3.3 ± 0.2	31.4 ± 1.1	0.075
2 “imprinted”	0.332 ± 0.015	2.46 ± 0.07	0.76 ± 0.02	7.7 ± 0.2	20.7 ± 0.3	39.6 ± 0.3	0.068
3	0.06 ± 0.05	2.0 ± 1.2	0.16 ± 0.04	5.5 ± 1.3	1.69 ± 0.16	31.2 ± 1.8	0.082
3 “imprinted”	0.10 ± 0.02	1.9 ± 0.3	0.256 ± 0.018	6.1 ± 0.5	1.32 ± 0.08	27.3 ± 1.1	0.081

Из кривых рассеяния с вычтенным некогерентным фоном b с помощью программы “gnom” пакета программ ATSAS [16] восстановлены корреляционные функции в прямом пространстве в зависимости от расстояния $\gamma(R)$. На рис. 3 показаны корреляционные функции в сферическом представлении $P(R) = \gamma R^2$, которые описывают корреляции плотности длины когерентного рассеяния в сферических слоях на расстоянии радиуса R вокруг любой выбранной частицы. Такое представление позволяет судить о наличии корреляций рассеивающих объектов разных размеров, которыми являются поры, заполненные тяжелой водой.

Гидрогели 1 и 1 “imprinted” (анионные) не сильно отличаются друг от друга и имеют широкое распределение рассеивающих объектов по размерам (до 95–100 нм) с преобладанием корреляций объектов средних размеров (около 50 нм) (рис. 3а). Гидрогель с памятью имеет немного меньшую интенсивность корреляций, что говорит о немного меньшем количестве объектов рассеяния, но их размеры и распределение для двух образцов одинаковы.

Гидрогели 2 и 2 “imprinted” (катионные) сильно различаются (рис. 3б), что определяется их значительной разницей по степени набухания и содержанию воды. Эти гидрогели содержат рассеивающие объекты с размерами до 80 нм. В гидрогеле 2 велика доля объектов небольшого и среднего размера, до 40 нм. В гидрогеле 2 “imprinted” преобладают объекты с размерами 40–60 нм. Иначе говоря, при введении в катионные гидрогели цефазолина значительно меняется их структура – сохраняются поры небольшого размера и значительно увеличивается количество пор большего размера. Гидрогель становится более пористым, что увеличивает его способность к влагопоглощению.

В амфифильных гидрогелях 3 и 3 “imprinted” (рис. 3в) наблюдаются корреляции с размерами до 80 нм, причем в гидрогеле 3 содержатся объекты как небольшого размера (3–5 нм), так и более крупные (30–50 и 70 нм). В гидрогеле 3 “imprinted” наблюдается смещение корреляций в сторону

меньших размеров, преобладают объекты небольших (3–5 нм) и средних размеров (20–40 нм).

Сами кривые рассеяния с вычтенным некогерентным фоном b наилучшим образом описываются моделью

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{A}{q^4} + \frac{B}{1 + (qR_C)^2}, \quad (11)$$

где первое слагаемое относится к плотным объектам больших размеров, отвечающим рассеянию на самых малых импульсах q . Такие объекты состоят из более рыхлых небольших ячеек полимерной сетки, описываемых вторым слагаемым и имеющих размер порядка радиуса корреляции R_C (рис. 4; табл. 6). Параметр A пропорционален площади поверхности больших образований, а коэффициент B зависит от количества малых ячеек.

Такая обработка позволила установить двухуровневый характер строения гидрогелей и оценить радиусы ячеек сетки (на уровне ≈ 4 –7 нм). При этом подтверждаются выводы, сделанные из анализа корреляционных функций. Так, для анионных гидрогелей наличие цефазолина при синтезе приводит к некоторому уменьшению количества рассеивающих объектов. Для катионных гидрогелей “imprinted” наблюдается сильный рост количества ячеек и больших образований, заполненных водой, что объясняет большие различия величин S_0 для образцов 2 и 2 “imprinted”. В амфифильных гидрогелях с памятью увеличивается количество малых ячеек и уменьшается ко-

Таблица 6. Параметры аппроксимации функцией (12) кривых рассеяния нейтронов на образцах гидрогелей

Гидрогель	$A \times 10^5, \text{см}^{-1} \text{нм}^{-4}$	$B, \text{см}^{-1}$	$R_C, \text{нм}$
1	4.42 ± 0.02	0.18 ± 0.04	6.7 ± 1.1
1 “imprinted”	3.673 ± 0.015	0.11 ± 0.03	6.9 ± 1.3
2	0.461 ± 0.018	0.83 ± 0.03	4.58 ± 0.13
2 “imprinted”	2.246 ± 0.013	1.108 ± 0.016	4.28 ± 0.05
3	0.241 ± 0.017	0.30 ± 0.02	4.1 ± 0.3
3 “imprinted”	0.212 ± 0.011	0.454 ± 0.014	4.07 ± 0.11

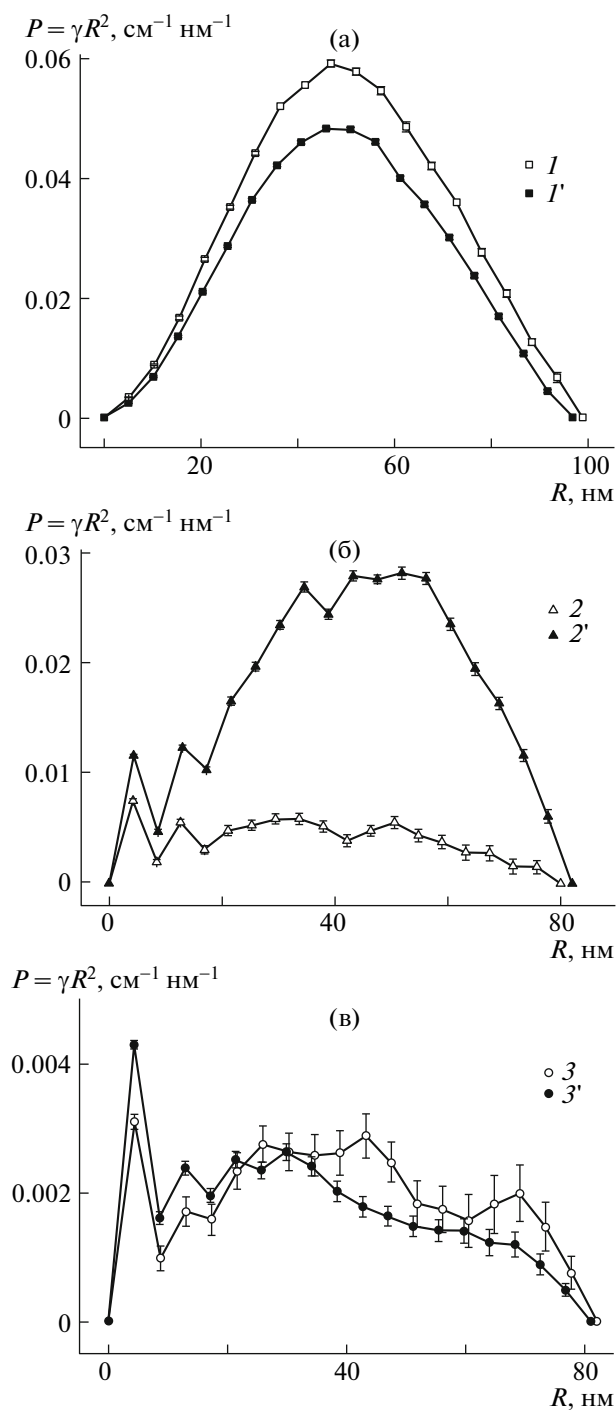


Рис. 3. Корреляционные функции, восстановленные из кривых рассеяния, для образцов 1 и 1 "imprinted" (1, 1') (а), 2 и 2 "imprinted" (2, 2') (б), 3 и 3 "imprinted" (3, 3') (в).

личество больших образований, при этом размеры самих ячеек (R_c) остаются практически неизменными.

Таким образом, показана связь эффекта памяти при использовании целевого лекарственного вещества (цефазолина) с внутренним строением

гидрогелей, в зависимости от их состава. В анионных образцах при введении цефазолина при синтезе наблюдается незначительное изменение количества пор, способных удерживать воду. В катионных гидрогелях при этом значительно увеличиваются количество и средние размеры пор, что приводит к увеличению степени набухания образца при насыщении водой. В амфифильных образцах введение цефазолина при синтезе приводит к уменьшению среднего размера пор при мало изменяющейся степени набухания гидрогеля в насыщенном состоянии, что указывает на сохранение общего объема пор.

Сорбция цефазолина гидрогелями

При определении равновесной сорбции цефазолина в большинстве случаев данные получали из экспериментов по десорбции, находя максимальное количество лекарства, выделившееся из гидрогеля после равновесного насыщения из относительно концентрированного раствора вещества. В таких условиях концентрация лекарства в растворе изменяется незначительно. Получение данных по сорбции из прямого эксперимента (по убыли концентрации цефазолина в растворе) возможно при использовании очень разбавленных растворов цефазолина. Результаты таких экспериментов представлены на рис. 5, 6 и в табл. 7. Обработку полученных данных проводили так же, как в опытах по набуханию гидрогелей, используя равновесные C_0 и текущие C концентрации цефазолина в растворе и соответствующие им количества поглощенного гидрогелем вещества (W_0 и W).

Из табл. 7 видно, что сорбция цефазолина гидрогелями в сухом состоянии и состоянии равновесного набухания в воде примерно одинакова. Однако кинетика поглощения лекарственного вещества зависит от исходного состояния гидрогеля. Если в раствор цефазолина погружаются высушенные образцы, то величина параметра n , связанного с механизмом транспорта вещества в гидрогеле, заметно выше 0.5, что указывает на определенный вклад релаксационных процессов, сопровождающих одновременное поглощение полимером воды и цефазолина. Напротив, при сорбции цефазолина образцами, подвергнутыми предварительному равновесному набуханию в воде, величина n даже немного меньше 0.5, что свидетельствует о преобладании простого диффузионного механизма переноса вещества, т.е. гидрогель до начала сорбции цефазолина находится уже в отрелаксированном состоянии. При этом состояние гидрогеля в процессе сорбции практически не изменяется ввиду малой концентрации цефазолина. Вычисленные коэффициенты диффузии для цефазолина существенно ниже соответствующих величин для воды, что связано с вы-

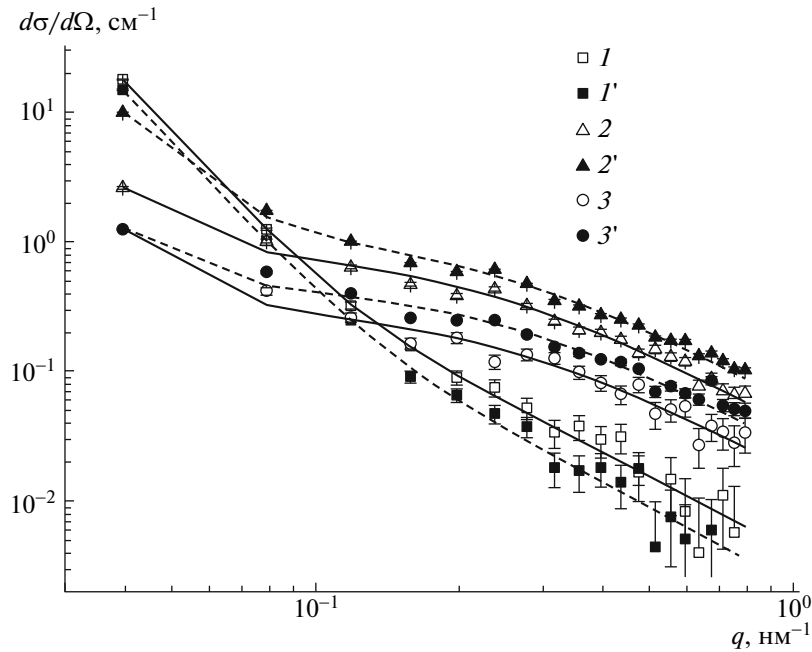


Рис. 4. Импульсные зависимости сечений рассеяния $d\sigma(q)/d\Omega$ для набухших в тяжелой воде гидрогелей 1 (1), 1 “imprinted” (1’), 2 (2), 2 “imprinted” (2’), 3 (3), 3 “imprinted” (3’). Линиями показана аппроксимация данных функцией (12) для образцов 1–3 (сплошные) и 1–3 “imprinted” (пунктирные).

сокой молекулярной массой лекарственного вещества. Следует обратить внимание на то, что коэффициенты диффузии цефазолина, так же как и воды (табл. 4), в гидрогелях “imprinted” меньше, чем в аналогичных обычных гидрогелях, несмотря на более высокие величины S_0 для систем первого типа.

Данные по сорбции цефазолина из более концентрированных растворов приведены в табл. 8.

Из них видно, что величина сорбции лекарственного вещества практически пропорциональна его концентрации в растворе. Во всех случаях гидрогели “imprinted” сорбируют большие количества цефазолина по сравнению с обычными гидрогелями того же химического состава. Этот результат является прямым доказательством наличия эффекта памяти в гидрогелях первого типа. По мере увеличения концентрации лекарства в растворе

Таблица 7. Кинетические параметры сорбции цефазолина из раствора с концентрацией 0.055 мг/см³ катионными гидрогелями

Гидрогель	Исходное состояние гидрогеля	w_0 , мг/см ³	w'_0 , мг/г	l , мм	n	$-\lg k$	$t_{1/2}$, мин	$D \times 10^9$, см ² /с
2	Высушенный	3.12	4.40	0.63	0.56	2.036	1286	2.52
2 “imprinted”		3.14	4.80	0.47	0.60	2.131	1137	1.59
2	Равновесно набухший в воде	3.13	4.41	0.63	0.44	1.580	765	4.24
2 “imprinted”		3.18	4.86	0.47	0.46	1.672	929	1.95

Таблица 8. Параметры сорбции цефазолина гидрогелями из растворов с концентрацией 15, 50 и 100 мг/см³ соответственно

Гидрогель	w_0 , мг/см ³	w'_0 , мг/г	K
1	10.10/27.99/54.90	15.0/45.38/103.8	0.673/0.560/0.549
1 “imprinted”	12.89/33.02/71.72	21.0/65.73/146.7	0.859/0.676/0.660
2	24.32/51.12/78.41	34.27/79.7/128.8	1.621/1.022/0.784
2 “imprinted”	25.26/69.99/103.55	38.65/120.6/244.8	1.684/1.400/1.035
3	21.74/44.44/78.82	32.29/73.4/135.8	1.449/0.889/0.788
3 “imprinted”	22.70/55.55/93.21	35.10/101.6/190.3	1.513/1.111/0.932

Примечание. Первое, второе и третье значения относятся к концентрации цефазолина 15, 50 и 100 мг/см³ соответственно.

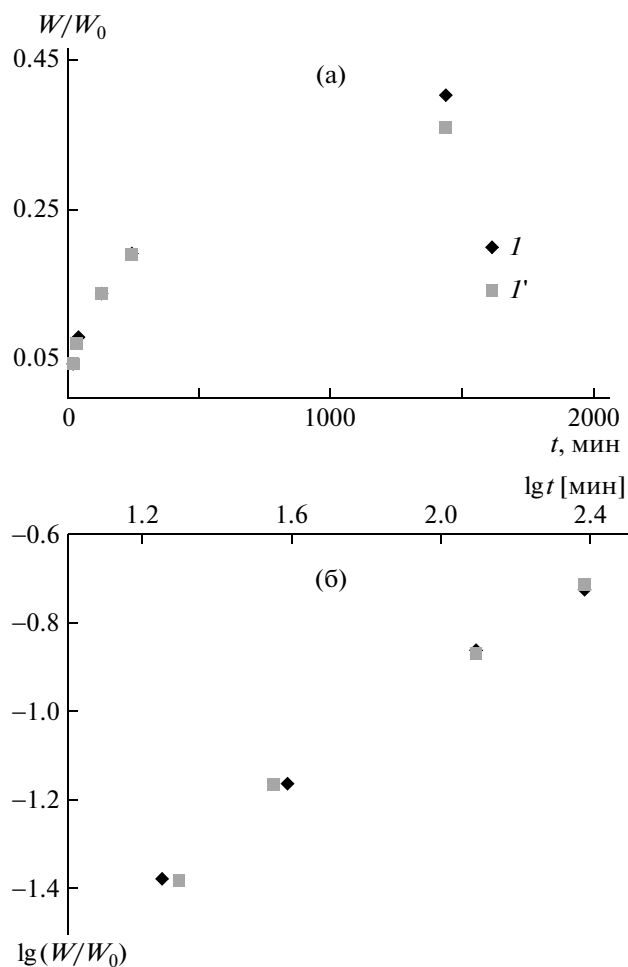


Рис. 5. Кинетические зависимости сорбции цефазолина гидрогелями 2 (*I*) и 2 “imprinted” (*I'*) в линейных (а) и логарифмических координатах (б). Исходное состояние гидрогелей – высушенные образцы, концентрация раствора цефазолина 0.055 мг/см^3 .

различия по величине сорбции между “imprinted” и обычными гидрогелями усиливаются. Наиболее сильно эффект выражен для катионных гидрогелей. В данном случае при сорбции из концентрированных растворов полимерная часть гидрогеля “imprinted” способна связать почти в два раза больше цефазолина в сравнении с обычным гидрогелем. Это объясняется тем, что антибиотик связывается с полимером не только благодаря образованию водородных связей, но и вследствие ионного обмена. Коэффициенты распределения K , выраженные через отношение концентраций цефазолина в гидрогеле и растворе, при увеличении концентрации антибиотика в растворе снижаются, что связано с приближением системы гидрогель–раствор к предельной сорбции w_∞ , которая может быть вычислена из уравнения Ленгмюра

$$1/K = (1 + k_1 w_\infty) + (1/w_\infty)C, \quad (12)$$

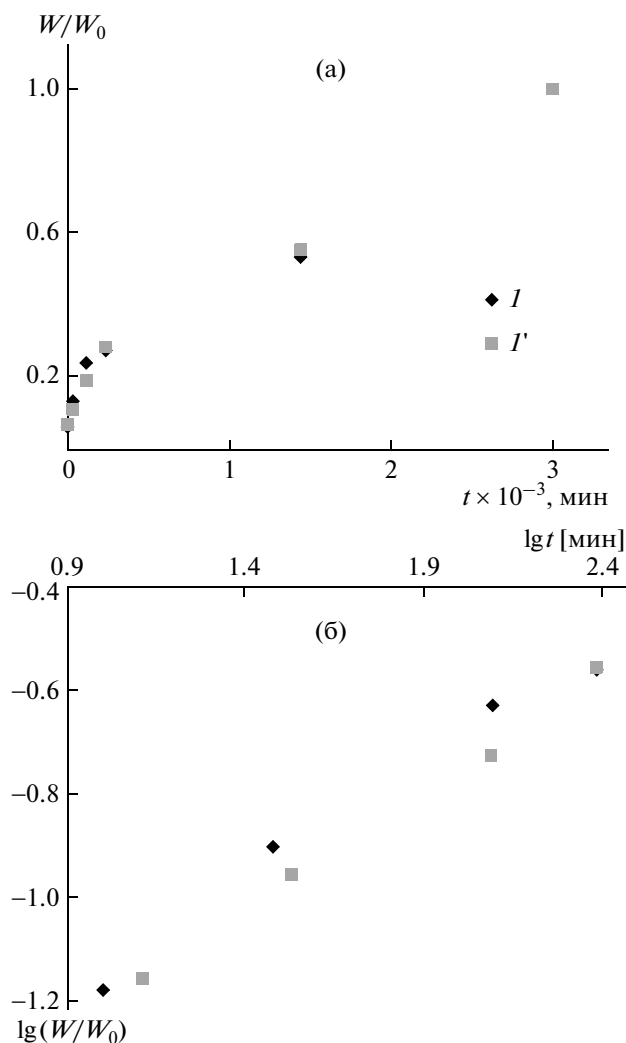


Рис. 6. Кинетические зависимости сорбции цефазолина гидрогелями 2 (*I*) и 2 “imprinted” (*I'*) в линейных (а) и логарифмических координатах (б). Исходное состояние гидрогелей – равномерно набухшие в воде образцы, концентрация раствора цефазолина 0.055 мг/см^3 .

по тангенсу угла наклона зависимости, построенной в координатах $1/K-C$ (рис. 7).

Например, для катионных гидрогелей 2 и 2 “imprinted” величина w_∞ равна 131 и 227 мг/см^3 соответственно. Приведенные данные можно также рассматривать как проявление эффекта памяти в гидрогелях “imprinted”.

Высвобождение цефазолина из гидрогелей

Выделение цефазолина из гидрогеля является процессом, обратным сорбции данного вещества из раствора. Поэтому для его кинетического описания можно использовать те же закономерности, которые были рассмотрены при насыщении гидрогелей цефазолином. Отличие заключается в

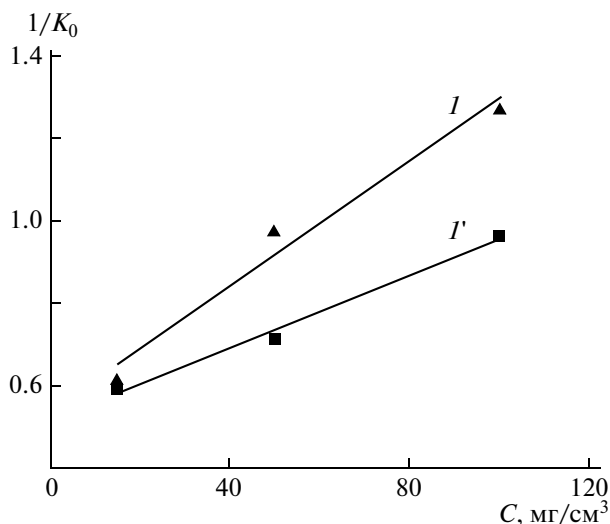


Рис. 7. Зависимость обратной величины коэффициента распределения цефазолина от его концентрации в растворе для катионных гидрогелей 2 (I) и 2 “imprinted” (I’).

концентрации вещества в растворе. При сорбции используются сравнительно концентрированные растворы, тогда как при десорбции концентрация близка к нулю, поскольку высвобождение лекарства осуществляется в большой объем изотонического раствора хлористого натрия. Иными словами и в том, и в другом случае концентрацию можно считать постоянной величиной, а наблюдаемые кинетические особенности относить только за счет изменения концентрации вещества в объеме гидрогеля. На рис. 8 в качестве примера приведены кинетические зависимости десорбции цефазолина из катионных гидрогелей, в которых под величиной W следует понимать количество вещества, выделившееся из гидрогеля к определенному моменту времени. Параметры n и время полувыделения лекарства $t_{1/2}$ вычисляли из линейной части зависимостей, построенных в логарифмических координатах. Ввиду того, что экспериментальные образцы имели различную толщину, для более объектив-

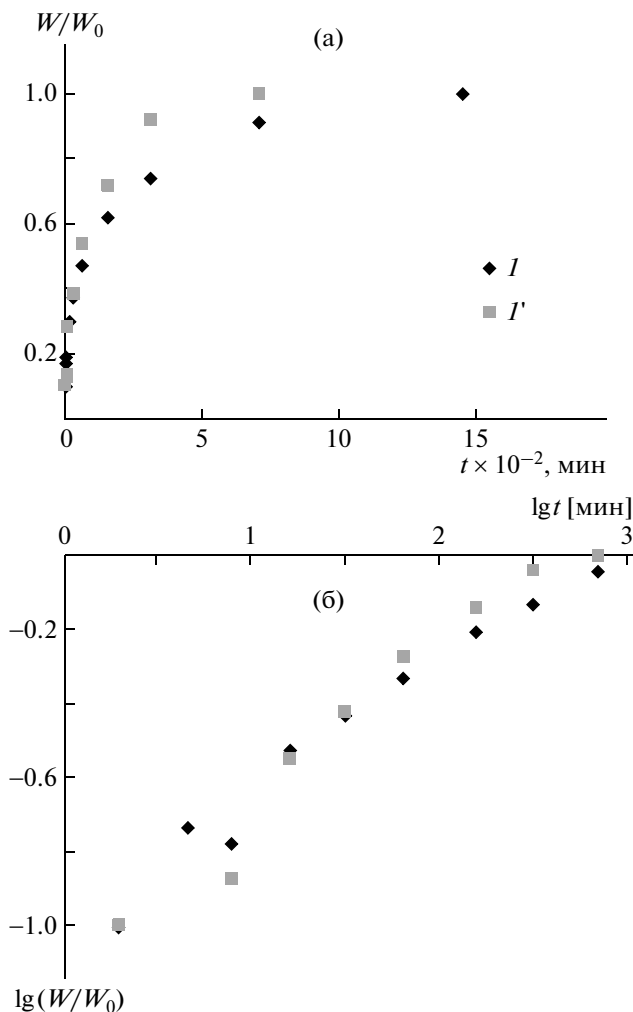


Рис. 8. Кинетические зависимости высвобождения цефазолина из гидрогелей 2 (I) и 2 “imprinted” (I’) в изотонический раствор NaCl в линейных (а) и логарифмических координатах (б).

ной оценки параметров десорбции также использовали величины $t_{1/2}/l^2$.

При анализе полученных результатов (табл. 9) в первую очередь следует обратить внимание на anomalно низкие значения параметра n для

Таблица 9. Параметры десорбции цефазолина из гидрогелей при различной концентрации раствора антибиотика при насыщении геля

Гидрогель	n	$t_{1/2}$, мин	$t_{1/2}/l^2$, мин/мм ²
1	0.25/0.24/0.25	45.4/38.8/27.9	150.2/128.3/92.4
1 “imprinted”	0.27/0.29/0.25	50.1/34.2/25.7	165.7/113.2/84.9
2	0.34/0.35/0.38	110.8/124.4/87.0	279.2/313.5/219.2
2 “imprinted”	0.44/0.41/0.42	84.6/64.4/40.0	382.8/291.7/181.2
3	0.41/0.33/0.33	81.9/105.2/83.7	261.3/335.6/266.8
3 “imprinted”	0.44/0.39/0.44	100.6/82.4/61.0	320.9/262.8/194.6

Примечание. Первое, второе и третье значения относятся к концентрации цефазолина 1.5, 5.0 и 10.0 мас. % соответственно.

большинства гидрогелей, причем отклонение от величины 0.5, как правило, тем больше, чем меньше общая сорбция и степень набухания гидрогеля. В связи с этим гидрогели “imprinted” характеризуются большими величинами n , чем обычные гидрогели. Подобные отклонения от законов простой диффузии (закона Фика) наблюдали и другие исследователи [13], объясняя их сильными физическими взаимодействиями лекарства с полимером. Однако такого объяснения, по-видимому, недостаточно. Необходимо также учитывать то, что в ходе десорбции происходит значительное изменение свойств гидрогеля вследствие удаления из него лекарственного вещества. Достаточно указать на изменение степени набухания гидрогелей в зависимости от содержания в них цефазолина (табл. 3).

С данным явлением связаны и параметры, определяющие скорость выделения лекарства из гидрогеля. Более медленное выделение цефазолина из гидрогеля “imprinted”, чем из его обычного аналога, наблюдалось только при насыщении полимеров из наименее концентрированных растворов лекарства. В таких системах, как видно из табл. 3, переход от гидрогеля в растворе лекарства с концентрацией 1.5 мас. % к гидрогелю в изотоническом растворе хлористого натрия (в который производилась десорбция, табл. 2) не приводит к существенным изменениям параметров набухания гидрогеля. По этой причине эффекты памяти (увеличение сорбции и пролонгация высвобождения) в данном случае проявлялись в полной мере (табл. 8 и 9). В наибольшей степени они выражены для катионных гидрогелей, характеризующихся самыми высокими значениями сорбции.

При насыщении гидрогелей из концентрированных растворов цефазолина происходит их сильное дополнительное набухание за счет сорбции лекарства. Известно, что повышение влагосодержания гидрогеля вызывает увеличение коэффициента диффузии воды [17], что приводит к ускорению высвобождения вещества, сорбированного гидрогелем. По сути наблюдаемый эффект подобен увеличению коэффициента диффузии низкомолекулярного вещества в растворе полимера при уменьшении его вязкости, которое описывается уравнением Стокса—Эйнштейна или более точно уравнением, представленным в работе [18]. В настоящем исследовании мы не пытались из данных по десорбции вычислять коэффициенты диффузии, поскольку показатель n значительно отличался от величины 0.5, хотя некоторые авторы [13], на наш взгляд ошибочно, делают это в подобных системах (при $n = 0.143–0.268$). Если рассмотреть данные, приведенные в табл. 3, то можно обнаружить, что параметры набухания гидрогелей “imprinted” существенно превышают соответствующие величины для обычных гидрогелей, особенно если насыщение

гидрогелей производится из растворов цефазолина с концентрациями 5 и 10 мас. %. Вероятно, в этих системах происходит увеличение коэффициентов диффузии лекарственного вещества, что отражается на скорости высвобождения лекарства из гидрогеля (параметры t/l^2 у гидрогелей “imprinted” выше, чем у обычных аналогов).

Таким образом, эффект памяти при рассмотрении сорбции цефазолина реализуется во всем изученном диапазоне концентраций лекарства, применяемого для насыщения гидрогеля. При использовании гидрогелей “imprinted” с целью пролонгации действия лекарственного вещества следует ограничивать концентрацию лекарства при насыщении гидрогеля, если оно оказывает влияние на характеристики гидрогеля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе ГЭМА и функциональных мономеров АК и ДМАЭМА синтезированы гидрогели, проявляющие эффект памяти при иммобилизации целевого лекарственного вещества (цефазолина).

Определены параметры набухания гидрогелей в воде и водных растворах электролитов и цефазолина, на основании которых рассчитаны коэффициенты диффузии воды и лекарственного вещества. Установлено, что присутствие цефазолина в растворе вызывает дополнительное набухание гидрогеля.

Показано, что эффект памяти проявляется в повышенной величине сорбции цефазолина гидрогелем по сравнению с обычным гидрогелем такого же химического состава, причем повышение сорбции обусловлено прежде всего особой морфологией гидрогеля, возникающей при синтезе сополимера в присутствии цефазолина.

Обнаружено замедление процесса выделения антибиотика из гидрогеля с памятью по сравнению с обычным гидрогелем в тех случаях, когда насыщение цефазолином производилось из более разбавленного раствора (1.5%). При использовании более концентрированных растворов наблюдается обратное явление, что обусловлено более сильным набуханием “imprinted” гидрогелей. Следовательно для реализации эффекта пролонгации выделения лекарства из гидрогеля необходимо насыщать последние из относительно разбавленных растворов цефазолина.

Методом малоуглового рассеяния нейтронов установлено внутреннее строение синтезированных гидрогелей и влияние на него иммобилизации цефазолина при синтезе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Cunliffe D., Kirby A., Alexander C. // Adv. Drug Del. Rev. 2005. V. 57. № 12. P. 1836.*

2. *Alvarez-Lorenzo C., Concheiro A.* // J. Chromatography. В. 2004. V. 804. № 1. P. 231.
3. *Ali M., Horikawa S., Venkatesh S., Saha J., Hong J.W., Byrne M.E.* // J. Control. Release. 2007. V. 124. № 3. P. 154.
4. *Alonso M.J., Sánchez A.* // J. Pharm. Pharmacol. 2003. V. 55. № 11. P. 1451.
5. *Hiratani H., Fujiwara A., Tamiya Y., Mizutani Y., Alvarez-Lorenzo C.* // Biomaterials. 2005. V. 26. № 11. P. 1293.
6. *Даниличев В.Ф., Иванчев С.С., Ушаков Н.А., Павлюченко В.Н., Рейтузов В.А., Бобашева А.С., Муравьева Э.В.* // Глаз. 2006. № 5. С. 11.
7. *Даниличев В.Ф., Иванчев С.С., Новиков С.А., Павлюченко В.Н., Рейтузов В.А., Хайкин С.Я.* // Современная оптометрия. 2007. № 10. С. 14.
8. Контактные линзы / Под ред. В.Ф. Даниличева, С.А. Новикова. СПб.: Рекламное агентство "Век", 2008. С. 236.
9. *Alvarez-Lorenzo C., Yanez F., Barreiro-Iglesias R., Concheiro A.* // J. Control. Release. 2006. V. 113. № 3. P. 236.
10. *Hiratani H., Alvarez-Lorenzo C.* // J. Control. Release. 2002. V. 83. № 2. P. 223.
11. *Алексеев В.Л.* Дис. ...канд. хим. наук. Л.: Ленинградский ин-т ядерной физики, 1986.
12. *Белевитин А.Б., Бойко Э.В., Даниличев В.Ф., Павлюченко В.Н.* // Вестн. Военно-медицинской академии. 2009. № 2 (26). С. 96.
13. *Singh B., Chauhan N.* // Acta Biomaterialia. 2008. V. 4. № 5. P. 1244.
14. *Ritger P.L., Peppas N.A.* // J. Control. Release. 1987. V. 5. № 1. P. 23.
15. *Solpan D., Kolge Z., Torun M.* // Macromol. Sci., Part A, Pure and Appl. Chem. 2006. V. 43. № 1. P. 129.
16. *Svergun D.I.* // J. Appl. Cryst. 1992. V. 25. № 4. P. 495.
17. *Fornasiero F., Krull F., Prausnitz J.M., Radke C.J.* // Biomaterials. 2005. V. 26. № 28. P. 5704.
18. *Панченков Г.М., Борисенко И.И., Ерченко В.В.* // Журн. физ. химии. 1970. Т. 44. С. 2668.