

**МЕТОД СПИНОВОГО ЗОНДА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ
ПОРИСТЫХ МАТРИКСОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЭФИРОВ,
СФОРМИРОВАННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
СВЕРХКРИТИЧЕСКОГО ДИОКСИДА УГЛЕРОДА (ОБЗОР)**

© 2018 г. **Е.Н. Голубева***, **Н.А. Чумакова**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*legol@mail.ru

Поступила в редакцию 17.09.2018 г.

Обзор посвящен исследованию методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) пористых полимерных материалов (матрикс), полученных из алифатических полиэфиров и допированных парамагнитными биологически активными веществами с помощью сверхкритических флюидных технологий. Особое внимание уделяется возможностям ЭПР-спектроскопии для установления закономерностей процессов формирования матрикс, последующей характеристики полученных материалов, а также особенностей высвобождения допантов в водные растворы *in vitro*.

Ключевые слова: пористые полимерные материалы, алифатические полиэферы, нитроксильные радикалы, электронный парамагнитный резонанс.

ВВЕДЕНИЕ

Биорезорбируемые полимерные материалы широко используются в современной медицине [1—9]. Из таких полимеров изготавливают хирургические нити и имплантаты [10, 11], лекарственные средства пролонгированного действия, а также временные протезы, в том числе в виде пористых матрикс (скаффолдов) [5, 8]. Для использования пористых полимерных структур в тканевой инженерии необходимо, чтобы они удовлетворяли определенным требованиям. Помимо биосовместимости матрикс должны обладать структурой, способствующей внедрению и адгезии клеток, их размножению, диффузии питательных веществ и газов к клеткам, а также образованию новых кровеносных сосудов [9]. Кроме того, скорость биodeградации скаффолдов должна быть сопоставима со скоростью роста тканей [2, 5, 6, 9]. Одними из наиболее широко используемых биорезорбируемых полимеров являются полилактиды и полилактогликолиды [3, 7, 8, 12—14], которые разлагаются в организме за время от нескольких недель до нескольких месяцев с образованием малотоксичных молочной и гликолевой кислот.

В полимерную матрицу могут быть добавлены биологически активные вещества — противовоспалительные, противоопухолевые, факторы роста и др., которые по мере разложения полимера постепенно выходят во внутреннюю среду организма [8, 15—17]. Перспективным подходом к изготовлению пористых полимерных матрикс, импрегнированных лекарственными веществами, являются технологии на основе сверхкритического (СК) диоксида углерода [9, 17—20]. Такие технологии позволяют проводить импрегнацию полимеров в мягких условиях без

использования токсичных растворителей с одновременным получением пористых структур. Варьирование параметров СК-флюида дает возможность изменять морфологию и свойства получаемых пористых полимерных форм в широком диапазоне [21, 22].

Основной проблемой сверхкритических флюидных (СКФ-технологий) является неравномерность условий формирования материалов, что может, в частности, приводить к неравномерному распределению допирующих молекул в полимерной матрице. Вследствие этого высвобождение биологически активных веществ в ходе набухания и гидролиза полимера может происходить неравномерно как в пространстве, так и во времени. Методом, позволяющим оценить равномерность распределения молекул допанта в полимерной матрице без ее разрушения, а также установить качественные и количественные закономерности высвобождения биологически активного вещества из скаффолда в окружающую среду, является спектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) [23, 24]. Применение этого метода ограничено тем, что вводимое в матрицу вещество должно обладать парамагнитными свойствами и быть достаточно устойчивым в условиях СКФ-импрегнации. Однако подавляющее большинство используемых биологически активных веществ диамагнитно. В связи с этим применяют два подхода. В рамках первого подбирают стабильное парамагнитное вещество, химическое и геометрическое строение которого максимально близко к строению используемого биологически активного допанта. Такое вещество называют спиновым зондом [25, 26]. Во втором варианте парамагнитный фрагмент, называемый спиновой меткой, «пришивают» к исследуемой молекуле через ковалентные связи [26]. Оба эти подхода имеют свои недостатки. Очевидно, что в первом случае не удастся добиться полного химического и геометрического соответствия спинового зонда и интересующего лекарственного соединения, поэтому свойства зонда (подвижность в полимерной матрице, скорость высвобождения в окружающую среду и т.д.) будут отражать свойства биологически активного вещества лишь качественно. В другом случае спиновая метка неизбежно изменит геометрическую и электронную конфигурацию молекулы лекарственного соединения, а также может повлиять на его биологическую активность.

В обзоре будут рассмотрены и проанализированы литературные данные по применению методов спинового зонда и спинового метки к исследованию структуры и динамики синтетических полимерных матриц на основе алифатических полиэфинов для биомедицинских целей.

Спиновые зонды и спиновые метки для исследования полимеров

Стабильные соединения, имеющие в электронной оболочке один или несколько неспаренных электронов, могут быть использованы в качестве спиновых зондов [25, 26]. Последние являются уникальными датчиками, позволяющими получать информацию о структуре и динамике сред, в которых они находятся, в том числе, полимерных материалов [19, 25–28]. В настоящее время в качестве спиновых зондов наиболее широко используют стабильные нитроксильные и триарилметильные (триметильные) радикалы [24, 26, 29, 30] (см. рисунок). Преимущество нитроксильных радикалов как спиновых зондов обусловлено, прежде всего, электрон-ядерным сверхтонким взаимодействием (СТВ) неспаренного электрона с ядром азота ^{15}N (ядерный спин равен единице), приводящим к расщеплению линий в спектре ЭПР. Значения тензора СТВ отличаются в несколько раз и лежат в интервале $\sim(5-35)$ Гс. Высокая анизотропия СТВ делает спектры нитроксильных ради-

Метод спинового зонда для диагностики пористых матриц на основе
полиэфиров, сформированных с использованием сверхкритического диоксида углерода (обзор)

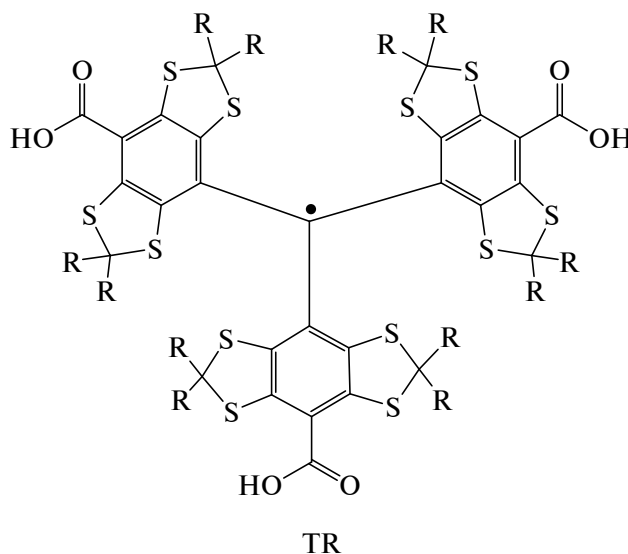
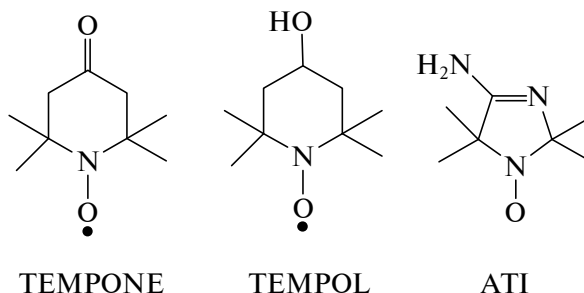


Рисунок. Структурные формулы стабильных радикалов: нитроксильных радикалов TEMPONE, TEMPOL; pH-чувствительного радикала ATI; тритильного радикала TR

калов очень чувствительными к вращательной подвижности и ориентационной упорядоченности парамагнитных молекул. Для количественного описания подвижности радикалов используют время вращательной корреляции. Оно определяется как среднее время, которое требуется для поворота молекулы на 90° [26]. Если материал, в который помещены нитроксильные радикалы, достаточно жесткий и подвижность парамагнитных молекул в нем практически заторможена (времена вращательной корреляции превышают 10^{-6} – 10^{-7} с, а молекулы зонда ориентированы случайным образом), то наблюдаемый спектр ЭПР является суммой спектров радикалов всех возможных ориентаций и характеризуется сложной структурой (спектр жесткого предела). В условиях, при которых реализуется большая подвижность (в более пластичных полимерах, при более высоких температурах, при набухании и т. д.), сверхтонкое взаимодействие усредняется и в пределе (времена вращательной корреляции менее 10^{-10} с) приводит к появлению в спектре трех узких линий, расстояние между которыми равно среднему значению константы СТВ. При временах вращательной корреляции 10^{-8} – 10^{-9} с спектры ЭПР имеют сложную форму, отражающую механизм вращательной подвижности парамагнитной молекулы [26, 31]. Необходимо отметить, что неоднородность рас-

предела свободного объема в полимерной матрице приводит к распределению спиновых зондов по вращательной подвижности, что также отражается на форме спектра ЭПР [31–33]. В настоящее время существуют подходы, позволяющие осуществлять компьютерный анализ спектров нитроксильных радикалов и получать информацию о типе движений, а также определять коэффициенты вращательной диффузии, направления осей вращения в молекулярной системе координат и параметры, характеризующие распределение радикалов по вращательной подвижности [34–35].

Тритильные радикалы значительно реже используются для определения характеристик вращательной подвижности, так как большинство из них характеризуется лишь одной узкой линией в спектре ЭПР, соответствующей неспаренному электрону, локализованному на атоме углерода ^{12}C , не обладающем ядерным магнитным моментом [30].

В том случае, если нитроксильные молекулы в полимерной матрице имеют преимущественную ориентацию в пространстве, форма спектра ЭПР зависит от положения образца относительно магнитного поля ЭПР-спектрометра. На основе компьютерного анализа серии спектров, зарегистрированных при различных положениях образца, может быть установлена ориентационная функция распределения парамагнитных молекул.

Взаимодействие магнитных диполей приводит к уширению спектров ЭПР [23, 24, 28]. На данном эффекте основаны методики, позволяющие путем анализа ширины линий спектров в отсутствие трансляционной и вращательной подвижности радикалов (в жестком пределе) оценить среднее расстояние между парамагнитными частицами [24]. Такую информацию можно получать с использованием практически всех классов спиновых зондов [24, 30]. Данный подход позволяет судить о равномерности распределения парамагнитного вещества в полимерной матрице.

Необходимо, однако, отметить, что заметное уширение линий спектра жесткого предела наблюдается при среднем расстоянии между парамагнитными молекулами не более $\sim 70 \text{ \AA}$, и, таким образом, данный метод позволяет наблюдать локальное концентрирование радикалов в том случае, когда локальная концентрация превышает $(1-2) \cdot 10^{-2}$ моль/л.

Одной из важных характеристик биологических систем является концентрация молекулярного кислорода. Гейзенберговское обменное взаимодействие триплетных (бирадикальных) молекул кислорода со спиновыми зондами и метками приводит к заметному изменению формы спектров ЭПР. В настоящее время нитроксильные радикалы широко используются для количественного измерения содержания кислорода (оксинометрии) в различных средах, в том числе в тканях и органах [36–38].

Магнитно-резонансные параметры ряда нитроксильных радикалов существенно изменяются при протонировании парамагнитной молекулы. Такими свойствами, например, обладают нитроксильные радикалы, содержащие два атома азота в пятичленном цикле. Их часто используют для оценки усредненного и локального рН *in vitro* и *in vivo* [38–41]. Так, при помощи рН-чувствительных спиновых зондов путем пространственно-разрешенных (томографических) ЭПР-экспериментов была определена динамика изменения кислотности в различных областях полимерного образца на основе полилактида или полилактогликолида в ходе его гидролитической дегградации в водной среде [41].

Следует отметить, что большинство нитроксильных радикалов не только характеризуется невысокой токсичностью: при внутривенном введении для мышей

Метод спинового зонда для диагностики пористых матриц на основе полиэфиров, сформированных с использованием сверхкритического диоксида углерода (обзор)

в случае ТЕМПОЛа — 2,2,6,6-тетраметил-4-оксил-1-пиперидин-1-оксила — средняя летальная доза составляет 1,5 — 2,0 ммоль/кг [42], но и обладает противораковыми и антиоксидантными свойствами [42, 43]. Действительно, нитроксильный радикал является средним членом редокс-триады «гидроксиламин — нитроксильный радикал — ион нитрозония», поэтому в условиях организма он способен как к окислению, так и к восстановлению, что может быть использовано для восстановления редокс-статуса тканей и биологических жидкостей [29, 38]. Согласно последним литературным данным, во многих случаях наличие нитроксильного фрагмента в молекуле биологически активного вещества приводит к положительному синергетическому эффекту [44—51], и такие соединения можно использовать в целях тераностики [52, 53]. Термин «theranostic» был предложен в 2002 г. для описания соединений, которые обладают терапевтической активностью и одновременно могут быть использованы в диагностических целях [54].

**Получение пористых полилактоидов
и полилактогликолидов с использованием СК CO₂**

Основными представителями класса биосовместимых и биоразлагаемых алифатических полиэфиров, применяемых в медицине, являются полилактид, полигликолид и соответствующие сополимеры. Методам их получения, строению и свойствам посвящено немало обзоров, например, [12]. Данные полимеры получают из мономеров — молочной (2-гидроксипропановой) и гликолевой (гидроксиэтановой) кислот, которые, в свою очередь, получают из возобновляемых агресурсов [55]. Как молочная кислота, так и лактид проявляют оптическую активность, то есть существуют в виде L- и D-стереоизомеров. Варьируя относительное содержание этих форм в полилактиде, можно изменять свойства полимера, а также получать различные классы полилактидных материалов. Полилактид из 100 % L-лактида (PLLA) имеет высокую степень стереорегулярности, что придает ему кристалличность. Используя при полимеризации димерный мезо-лактид, имеющий как D-, так и L-оптически активные центры, получают полностью аморфный полилактид (PDLLA), температура стеклования которого составляет 50—53 °C [11].

Получение вспененных полимеров при помощи технологий на основе СК CO₂ осуществляют обычно следующим образом [9, 56—68]. Навеску полимера помещают в форму, размещенную в реакторе высокого давления. Затем реактор заполняют рассчитанным количеством диоксида углерода и повышают давление и температуру для достижения СК состояния CO₂. При этом молекулы CO₂ проникают внутрь полимера, полимер набухает в СК CO₂, и его объем увеличивается в несколько раз. Набухание полимера сопровождается увеличением подвижности полимерных цепей и снижением температуры стеклования [69], что может приводить к переходу из стеклообразного состояния в вязкоэластичное. После выдерживания полимера в СК CO₂ осуществляют спуск давления. На этой стадии происходит выход углекислого газа из полимера и вспенивание образца. В результате получают пористую 3D-структуру. Варьируя давление, температуру, время выдерживания образца в СКФ условиях и скорость снижения давления можно изменять пористость образца, средний размер пор, а также распределение пор по размерам, степень их взаимосвязанности и др. [60, 62]. В работе [62] показано, что повышение давления и увеличение времени выдерживания PDLLA (средняя молекулярная масса M_w = 52 кДа) и PLGA (соотношение лактид : гликолид = 85 : 15; 75 : 25; 65 : 35; 50 : 50; M_w в пределах 13—96 кДа) в СК CO₂ позволяет увеличить

количество молекул CO_2 , продиффундировавших в полимерную матрицу. Это приводит к росту количества зародышевых центров и, следовательно, к образованию более мелких пор. Увеличение температуры приводит к образованию пенки с большими порами, так как высокие скорости диффузии способствуют росту размера пор. Кроме того, по мнению авторов [67], понижение скорости сброса давления также способствует увеличению размеров пор вследствие увеличения времени их роста. При этом поры становятся менее однородными по размеру, но более взаимосвязанными [70]. Размер пор скаффолдов уменьшается при увеличении содержания фрагментов гликолевой кислоты в сополимерах [67].

Исследование тройных систем СК CO_2 /полимер/допант методом ЭПР *in situ*

Как уже было сказано ранее, импрегнация пористых матриц биологически активными веществами может быть осуществлена на этапе вспенивания полимеров с использованием СК-флюидов. Процесс набухания полимера в растворителе любой природы связан с увеличением свободного объема полимера, а также с изменением распределения элементов свободного объема по размерам, что приводит к существенному изменению вращательной подвижности и, следовательно, формы спектров ЭПР нитроксильных радикалов в полимерной матрице [26, 35]. Известно также, что набухание полимера в СК CO_2 , которое сопровождается увеличением подвижности полимерных цепей, может приводить к снижению температуры стеклования и к переходу полимера из стеклообразного состояния в вязкоэластичное. Данный процесс сопровождается увеличением подвижности спиновых зондов [71, 72]. Таким образом, спектроскопия ЭПР — чувствительный и информативный метод для установления закономерностей процессов набухания полимерных материалов в СК CO_2 .

Стандартным подходом, используемым для описания подвижности нитроксильных радикалов в полимерах, является измерение расстояния между высокопольной и низкопольной компонентами спектра ЭПР ($2A_{zz}$) [26]. В жестком пределе данная величина соответствует удвоенному значению константы сверхтонкого взаимодействия неспаренного электрона с ядром атома азота нитроксильного фрагмента. При увеличении подвижности парамагнитной молекулы данное расстояние уменьшается; в области температуры стеклования значение $2A_{zz}$ составляет около 50 Гс. Построение зависимости величины $2A_{zz}$ от параметров СКФ-растворителя позволяет определить значения параметров, соответствующих резкому изменению подвижности цепей полимерной матрицы [72]. Намного более детальную информацию об изменении свойств полимера при набухании в различных средах можно получить на основании компьютерного моделирования спектров ЭПР.

Таким образом, метод ЭПР в варианте методики спинового зонда имеет хорошие перспективы для исследования процессов, происходящих в полимерах при их набухании в СКФ-растворителе. Тем не менее, насколько нам известно, в настоящее время имеется лишь несколько работ, посвященных пластификации полимеров, в том числе на основе полилактидов и полилактогликолидов, в диоксиде углерода при повышенном давлении [71, 72]. В данных работах было обнаружено изменение формы спектров ЭПР нитроксильных радикалов различной структуры в полимерных матрицах в зависимости от давления CO_2 . В некоторых случаях было зафиксировано раздвоение высокопольной и низкопольной компонент спектра, которое интерпретировалось авторами с точки зрения изменения распределе-

ния радикалов по вращательной подвижности, которое, в свою очередь, связано с изменением распределения по размерам элементов свободного объема полимера [72]. В СК CO_2 такие эксперименты до настоящего времени не проводились. Метод спинового зонда также не применялся для установления динамических закономерностей изменения структуры полимера при высвобождении СКФ-растворителя в процессе спуска давления.

Диагностика пористых матриц, сформированных с использованием СКФ технологий

Характеризация макроскопической структуры пористых матриц, сформированных с использованием сверхкритических сред, представлена в целом ряде работ [18, 20—22, 60—63]. Основными параметрами, используемыми для описания вспененных полимеров, являются пористость, форма и размеры пор, а также степень их связанности. Действительно, медицинское применение пористых полимеров возможно только при условии проницаемости образцов для водной среды. Для определения формы и размеров образованных пор, как правило, используют сканирующую электронную микроскопию (СЭМ) (см., например, [59]). Часто на основе микрофотографий СЭМ делают выводы и о связанности пор, однако данный метод не может считаться надежным. Другим подходом к установлению объема и степени связанности пор является продавливание через образец воды или ртути [73, 74]. В этом случае возможно разрушение перегородок между порами в ходе анализа, что делает полученные результаты не вполне соответствующими изначальным характеристикам образцов. В работе [18] был предложен способ оценки степени связанности пор на основании проницаемости образца для водного раствора красителя. Следует однако отметить, что данная методика не может применяться для анализа полимерных материалов, скорость деградации которых в водной среде сравнима с временем проведения эксперимента (несколько суток).

В случае допирования пористой полимерной матрицы биологически активным веществом на этапе пластификации в СКФ-среде и последующего вспенивания, важной характеристикой полученного материала является равномерность распределения допанта по образцу. Спектроскопия ЭПР позволяет устанавливать макроскопическое распределение парамагнитного вещества по образцу, а также наблюдать его локальное концентрирование. В работе [18] была продемонстрирована зависимость равномерности распределения спинового зонда ТЕМ-ПОЛ в пористом биodeградируемом полимере PDLLA, сформированном в среде СК CO_2 , от условий СКФ процесса. В частности, в этой работе было показано, что равномерность распределения допанта по образцу в значительной степени определяется временем выдерживания полимера в растворе зонда в СКФ-растворителе и от скорости снижения давления. Полученные результаты свидетельствуют об относительно низкой скорости диффузии диоксида углерода и органического парамагнитного вещества в набухшем полилактиде и о необходимости детального изучения этих процессов на молекулярном уровне. Также авторами [18] было установлено, что при быстром снижении давления (за несколько минут) внутри полимерной матрицы образуются микрофазы парамагнитного вещества. Такой эффект не наблюдался при времени снижения давления около 8 часов. Таким образом, процесс снижения давления СКФ флюида является важной стадией импрегнации, определяющей равномерность распределения допанта в полимере.

Установление закономерностей высвобождения биологически активных веществ из пористых матриц

Одной из важнейших характеристик материалов медицинского назначения, допированных биологически активными веществами, является кинетика высвобождения лекарственного соединения из полимерной матрицы в ходе ее набухания и гидролиза. Показано, что в организме алифатические полиэфиры деградируют, как правило, путем неферментативного гидролиза [75, 76]. В ходе гидролиза вода проникает в полимер, преимущественно взаимодействуя с эфирными связями в аморфной фазе и постепенно конвертируя длинную полимерную цепь в короткие водорастворимые фрагменты. Многочисленные исследования *in vitro* свидетельствуют о том, что скорость гидролиза возрастает в присутствии продуктов разложения [75—79]. Кинетические закономерности высвобождения допанта определяются природой полимера и допанта, начальным распределением введенного вещества по образцу, а также структурой матрикса (структура поверхности, пористость, форма и размеры пор, их взаимосвязанность и т. д.) [80]. Известно, что полилактиды и полилактогликолиды разлагаются в организме за времена от нескольких недель до нескольких месяцев с образованием нетоксичных молочной и гликолевой кислот [81]. Набухание и деградация матриц, сформированных из этих полимеров, представляет собой сложный процесс, включающий в себя транспорт воды в поры матрикса, диффузию молекул воды в полимерную матрицу, гидролиз сложноэфирных связей, в том числе автокаталитический ввиду участия в нем вновь образующихся карбоксильных групп [7], диффузию продуктов гидролиза из полимера в поры, заполненные жидкостью и далее во внешнюю среду.

Существует ряд публикаций, посвященных изучению кинетических закономерностей высвобождения молекул допанта из пористых полимерных матриц на основе полилактида и полилактогликолида [82—87]. Все эксперименты по наблюдению за высвобождением биологически активных веществ из полимерных матриц *in vitro* проводились в среде с рН ~ 7 при 37 °С. Количество высвободившихся во внешнюю среду биологически активных молекул определяли методами оптической спектроскопии в УФ- и видимом диапазонах [82—84], флуориметрии [85], а также химическими методами [86—88]. Большинство кинетических кривых монотонны, не включают периодов быстрого выброса значительной доли допанта на первой стадии процесса высвобождения, а также периодов стагнации, характерных для микрочастиц [88, 89].

Анализ литературных данных показывает, что спектроскопию ЭПР ранее не применяли для количественного анализа кинетики высвобождения допантов из биодеградируемых полимерных материалов. Одной из основных причин является большая ошибка определения содержания парамагнитных частиц в разбавленных водных растворах. Высокая диэлектрическая проницаемость воды приводит к значительному снижению добротности резонатора и, следовательно, к необходимости использования образцов малого объема. С другой стороны, частая замена раствора, в который происходит высвобождение парамагнитного вещества и низкомолекулярных продуктов гидролиза полимерной матрицы, прежде всего, молочной или гликолевой кислот, для предотвращения его закисления, не позволяет создать высокую концентрацию радикалов в образце. Тем не менее, в литературе имеются примеры качественного анализа спектров ЭПР-систем, в которых происходит высвобождение парамагнитных молекул из полимерных матриц в водную среду [41, 90]. Можно надеяться, что развитие математических методов обработки сильно

зашумленных спектров ЭПР [91] позволит осуществлять не только качественный, но и количественный анализ высвобождения парамагнитных допантов методом ЭПР.

В целом можно заключить, что метод ЭПР позволяет устанавливать закономерности процессов импрегнации полимеров молекулами различной структуры на молекулярном уровне, определять подвижность и характер распределения введенных молекул в полимерной матрице, а также одновременно следить за высвобождением парамагнитного вещества во внешнюю среду и за процессами, происходящими в полимерной матрице в ходе ее набухания и гидролиза. Создание спин-меченых биологически активных соединений открывает широкие возможности, не реализованные ранее в полной мере, для использования данного метода при разработке способов изготовления материалов медицинского назначения.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант 14-33-00017-П) в части анализа литературных данных по парамагнитным биологически активным веществам и грантов РФФИ 18-29-06059, 17-02-00445, 16-03-00333 в части анализа литературы, посвященной ЭПР в среде СК СО₂, диагностике пористых полимерных матриц и закономерностям кинетики высвобождения парамагнитных допантов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Armentano I., Bitinis N., Fortunati E., Mattioli S., Rescignano N., Verdejo R., Lopez-Manchado M.A., Kenny J.M. *Progress in Polymer Science*. 2013. Vol. 38. No. 10—11. P. 1720.
2. Gunatillake P.A., Adhikaru R. *European Cells & Materials*. 2003. Vol. 5. P. 1.
3. Doppalapudi S., Jain A., Khan W., Domb A.J. *Polym. Adv. Technol.* 2014. Vol. 25. No. 5. P. 427.
4. Shukla S.K., Shukla S.K., Govender P.P., Giri N.G. *RSC Adv.* 2016. Vol. 6. No. 97. P. 94325.
5. Mao D., Li Q., Li D., Chen Ya., Chen X., Xu X. *Materials and Design*. 2018. Vol. 142. P. 1.
6. Okamoto M., John B. *Progress in Polymer Science*. 2013. Vol. 38. No. 10—11. P. 1487.
7. Armentano I., Dottori M., Fortunati E., Mattioli S., Kenny J.M. *Polymer Degradation and Stability*. 2010. Vol. 95. No. 11. P. 2126.
8. Grebenik E.A., Grinchenko V.D., Churbanov S.N., Minaev N.V., Shavkuta B.S., Melnikov P.A., Butnaru D.V., Rochev Yu.A., Bagratashvili V.N., Timashev P.S. *Biomed. Mater.* 2018. Vol. 13. No. 5. P. 054103.
9. Garcia-Gonzalez C.A., Concheiro A., Alvarez-Lorenzo C. *Bioconjugate Chem.* 2015. Vol. 26. No. 7. P. 1159.
10. Cutright D.E., Hunsuck E.E. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1971. V. 31. No. 1. P. 134.
11. Voche P., Merle M., Member H., Fockens W. *The J. of Hand Surgery*. 1995. Vol. 20. No. 6. P. 1032.
12. Garlotta D.J. *Polym. Environ.* 2001. Vol. 9. No. 2. P. 63.
13. Tyler B., Gulotti D., Mangravity A., Utsuki T., Brem H. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016. Vol. 107. P. 163.
14. Santoro M., Shah S.R., Walker J.L., Mikos A.G. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016. Vol. 107. P. 206.
15. Schwendeman S.P., Shah R.B., Bailey B.A., Schwendeman A.S. *J. of Controlled Release*. 2014. Vol. 190. P. 240.
16. Fu Y., Kao W.J. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2010. Vol. 7. No. 4. P. 429.
17. Богородский С.Э., Кротова Л.И., Курсаков С.В., Минаева С.А., Попов В.К., Севастьянов В.И. *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2014. Т. 9. № 2. С. 64.
18. Чумакова Н.А., Голубева Е.Н., Иванова Т.А., Воробьева Н.Н., Тимашев П.С., Баграташвили В.Н. *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2018. Т. 13. № 1. С. 86.

19. *Champeau M., Thomassin J.-M., Tassaing T., Jerome C. J.* of Controlled Release. 2015. Vol. 209. P. 248.
20. *Davies O.R., Lewis A.L., Whitaker M.J., Tai H., Shakesheff K.M., Howdle S.M.* Advanced Drug Delivery Reviews. 2008. Vol. 60. No. 3. P. 373.
21. *Floren M., Spilimbergo S., Motta A., Migliaresi C. J.* of Biomedical Research B: Applied Biomaterials. 2011. V. 99B. No. 2. P. 338.
22. *White L.J., Hutter V., Tai H., Howdle S.M., Shakesheff K.M.* Acta Biomaterialia. 2012. Vol. 8. No.1. P. 61.
23. *Верту Дж., Болтон Дж.* Теория и практические приложения метода ЭПР. Пер. с англ. М.: Мир, 1975. 552 с.
24. *Kokorin A.I.* In: Nitroxides: Theory, Experiment and Applications. Rijeka: InTech, 2012. P. 443.
25. *Кузнецов А.Я.* Метод спинового зонда (основы и применение). М.: Наука, 1976. 206 с.
26. *Вассерман А.М., Коварский А.Л.* Спиновые метки и зонды в физикохимии полимеров. М.: Наука, 1986. 246 с.
27. *Berliner L.J.* Biomedical Spectroscopy and Imaging. 2016. Vol. 5. No. 1. P.5.
28. Современные физические методы исследования полимеров. Под ред. Г.Л. Слонимского. М.: Химия, 1982. 121 с.
29. *Плуц Е.М., Сень В.Д., Тихонов И.В.* Нитроксильные радикалы в химических и биохимических процессах. LAP LAMBERT Academic Publishing (Saarbrücken), 2013. 118 с.
30. *Bobko A.A., Dhimitruka I., Zweier J.L., Khramtsov V.V.* J. Am. Chem. Soc. 2007. Vol. 129. No. 23. P. 7240.
31. *Chernova D.A., Vorobiev A.Kh.* J. of Applied Polymer Science. 2011. Vol. 121. No.1. P. 102.
32. *Chernova D.A., Vorobiev A.Kh.* J. of Polymer Science, Part B: Polymer Physics. 2009. Vol. 47. P. 107.
33. *Chernova D.A., Vorobiev A.Kh.* J. of Polymer Science, Part B: Polymer Physics. 2009. Vol. 47. P. 563.
34. *Stoll S., Schweiger A.* Biol. Magn. Res. 2007. Vol. 27. P. 299.
35. *Vorobiev A.Kh., Chumakova N.A.* In: Nitroxides — Theory, Experiment and applications. Rijeka: InTech, 2012. P. 57.
36. *Swartz H.M.* Antioxid. Redox Sygnal. 2004. Vol. 6. No. 3. P. 677.
37. *Backer J.M., Budker V.G., Eremenko S.I., Molin Y.N.* Biochim. Biophys. Acta. 1977. Vol. 460. No. 1. P.152.
38. *Khramtsov V.V.* In: Nitroxides: Theory, Experiment and Applications. Rijeka: InTech. 2012. P. 317.
39. *Potapenko D.I., Foster M.A., Lurie D.J., Kirilyuk I.A., Hutchison J.M., Grigor'ev I.A., Bagryanskaya E.U., Khramtsov V.V.* J. Magn. Res. 2006. Vol.182. No. 1. P. 1.
40. *Maeder K., Gallez B., Liu K.J., Swartz H.M.* Biomaterials 1996. Vol. 17. No. 4. P. 457.
41. *Maeder K., Nitschke S., Stoesser R. Borhert H.-H.* Polymer. 1997. Vol. 38. No. 19. P. 4785.
42. *Matsumoto K., Krishna M.C., Mitchell J.B.* J. of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2004. Vol. 310. No. 3. P. 1076.
43. *Chatterjee P.K., Cuzzocrea S., Brown P.A.J., Zacharowski K., Stewart K.N., Mota-Filipe H., Thiernemann Ch.* Kidney International. 2000. Vol. 58. P. 658.
44. *Wilcox C.S.* Pharmacology & Therapeutics. 2014. Vol. 126. No. 2. P. 119.
45. *Glebska J., Pulaski L., Gwozdinski K., Skolimowski J.* Biometals. 2001. Vol. 14. No. 2. P. 159.
46. *Sosnovsky G., Paul B.D.* J. of Medicinal Chem. 1984. Vol. 27 No. 6. P. 782.
47. *Sosnovsky G., Li Sh. W.* Life Sciences. 1985. V. 36. No.15. P. 1479.
48. *Sosnovsky G., Lukszo J., Konieczny M., Purgstaller K., Laib F. J.* Pharm. Sci. 1994. Vol. 83. No. 7. P. 982.
49. *Tsui F.-P., Robey F.A., Engle T.W., Ludeman S.M., Zon G. J.* of Medicinal Chem. 1982. Vol. 25 No. 9. P. 1106.
50. *Yushkova Yu.V., Chernyak E.I., Morozov S.V., Grigor'ev I.A.* Chemistry of Natural Compounds. 2014. Vol.50. No. 5. P. 827.
51. *Zakharova O.D., Frolova T.S., Yushkova Yu.V., Chernyak E.I., Pokrovsky A.G., Pokrovsky M.A., Morozov S.V., Sinitsina O.I., Grigor'ev I.A., Nevinsky G.A.* European J. of Medicinal Chemistry. 2016. Vol. 122. No. 21. P. 127.
52. *Emoto M.C., Sato Sh., Fujii H.G.* Magn. Reson. Chem. 2016. Vol. 54. No. 9. P. 705.
53. *Selvendiran K., Ahmed Sh., Dayton A., Kuppusamy M.L., Tazi M., Bratasz A., Tong L., Rivera B.K., Kalai T., Hideg K., Kuppusamy P.* Free Radical Biology & Medicine. 2010. Vol. 48. No. 9. P. 1228.

Метод спинового зонда для диагностики пористых матриц на основе полиэфиров, сформированных с использованием сверхкритического диоксида углерода (обзор)

54. *Funkhouser J.* Curr. Drug. Discov. 2002. Vol. 2. P. 17.
55. *Nampoothiri K.M., Nair N.R., John R.P.* Bioresource Technology. 2010. Vol. 101. No. 22. P. 8493.
56. *Quirk R.A., France R.M., Shakesheff K.M., Howdle S.M.* Current Opinion in Solid State and Materials Science. 2004. V. 8. No. 3—4. P. 313.
57. *Fujimoto Y., Ray S.S., Okamoto M., Ogami M., Yamada K., Ueda K.* Macromol. Rapid Commun. 2003. Vol. 24. No. 7. P. 457.
58. *Ema Y., Ikeya M., Okamoto M.* Polymer. 2006. Vol. 47. No. 15. P. 5350.
59. *Cooper A.I.* Adv. Mater. 2003. Vol. 15. No. 13. P. 1049.
60. *Floren M., Spilimbergo S., Motta A., Migliaresi C.* J. of Biomedical Research B: Applied Biomaterials. 2011. Vol. 99B. No. 2. P. 338.
61. *Davies O.R., Lewis A.L., Whitaker M.J., Tai H., Shakesheff K.M., Howdle S.M.* Advanced Drug Delivery Reviews. 2008. No. 3. P. 373.
62. *White L.J., Hutter V., Tai H., Howdle S.M., Shakesheff K.M.* Acta Biomaterialia. 2012. Vol. 8. No. 1. P. 61.
63. *Reinwald Y., Johal R.K., Chaemmaghami A.M., Rose F.R.A.J., Howdle S.M., Shakesheff K.M.* Polymer. 2014. V. 55. No. 1. P. 435.
64. *Gomes M.E., Reis R.L.* International Materials Reviews. 2004. Vol. 49. No. 5. P. 274.
65. *Cabezas L.I., Vernandez V., Mazarro R., Gracia I., de Lukas A., Rodriguez J.F.* J. of Supercritical Fluids. 2012. Vol. 63. P. 435.
66. *Tayton E., Purcell M., Aarvold A., Smith J.O., Kalra S., Briscoe A., Shakesheff K., Howdle S.M., Dunlop D.G., Oreffo R.O.C.* Acta Biomaterialia. 2012. Vol. 8. No. 5. P. 1918.
67. *Tai H., Mather M.L., Howard D., Wang W., White L., Crove J.A., Morgan S.P., Chandra A., Williams D.J., Howdle S.M., Shakesheff K.M.* European Cells and Materials. 2007. P. 64.
68. *Tsvintzelis I., Sanxaridou G., Pavlidou E., Panayiotou C.* J. of Supercritical Fluids. 2016. Vol. 110. P. 240.
69. *Pini R., Storti G., Mazzotti M., Tai H., Shakesheff K.M., Howdle S.M.* J. of Polymer Science: Part B: Polymer Physics. 2008. V. 46. No. 5. P. 483.
70. *White L.J., Hutter V., Tai H., Howdle S.M., Shakesheff K.M.* Acta biomaterialia. 2012. Vol. 8. No. 1. P. 61.
71. *Connon C. S., Falk R. F., Randolph T. W.* Macromolecules. 1999. Vol. 32. No. 6. P. 1890.
72. *Harbron E. J., Bunyard W. C., Forbes M. D. E.* J. of Polymer Science: Part B: Polymer Physics. 2005. Vol. 43. No.15. P. 2097.
73. *Лисичкин Г.В., Фадеев А.Ю., Сердан А.А., Нестеренко П.Н.* Химия привитых поверхностных соединений. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2003. 592 с.
74. *Плаченов Т.Г., Колосенцев С.Д.* Порометрия. Л.: Химия, 1988. 175 с.
75. *Wang Y., Pan J., Han X., Sinka C., Ding L.* Biomaterials. 2008. Vol. 29. P. 3393.
76. *Gledall A., Pan J., Krufft M.-A., Kellomaki M.* Acta Biomaterialia. 2014. Vol. 10. P. 2223.
77. *Dunne M., Corrigan O.I., Ramtoola Z.* Biomaterials. 2000. Vol. 21. P. 1659.
78. *Zweers M.L.T., Engbers G.H.M., Grijpma D.W., Feijen J.* J. Controlled Release. 2004. Vol. 100. P. 347.
79. *Codari F., Lazzari S., Soos M., Storti G., Morbidelli M., Moscatelli D.* Polymer Degradation and Stability. 2012. Vol. 97. P. 2460.
80. *Kamaly N., Yameen B., Wu J., Farokhzad O.C.* Chem. Rev. 2016. Vol. 116. P. 2602.
81. *Therin M., Christel P., Li S., Garreau H., Vert M.* Biomaterials. 1992. Vol. 13. No. 9. P. 594.
82. *Cardea S., Baldino L., Scognamiglio M., Reverchon E.* J. of Materials Science: Materials in Medicine. 2014. Vol. 25. No. 4. P. 989.
83. *Cabezas L.I., Gracia I., de Lucas A., Rodriguez J.F.* Ind. Eng. Chem. Res. 2014. Vol. 53. No. 40. P. 15374.
84. *Velasco D., Benito L., Fernandez-Gutierrez M., San Roman J, Elvira C.* J. of Supercritical Fluids. 2010. Vol. 54. No. 3. P. 335.
85. *Nof M., Shea L.D.* J. of Biomedical Materials Research. 2002. V. 59. No. 2. P. 349.
86. *Richardson T.P., Peters M.C., Ennett A.B., Mooney D.J.* Nature Biotechnology. 2001. Vol. 19. P. 1029.
87. *Santo V.E., Duarte A.R.C., Popa E.G., Gomes M.E., Mano J.F., Reis R.L.* J. Controlled Release. 2012. Vol. 162. No. 1. P. 19.
88. *Wang J., Wang B.M., Schwendeman S.P.* J. Control. Release. 2002. Vol. 82. No. 2—3. P. 289.

89. Messaritaki A. Black S.J., van der Walle C.F., Rigby S.P. J. Control. Release. 2005. Vol. 108. No. 2—3. P. 271.
90. Blank A., Freed J.H., Kumar N.P., Wang Ch.-H. J. Control. Release. 2006. Vol. 111. No. 1—2. P. 174.
91. Srivastava M., Anderson C.L., Freed J.H. IEEE Access. 2016. DOI: 0.1109/ACCESS.2016.2587581.
-
-

SPIN PROBE METHOD FOR DIAGNOSTICS OF POLYESTER POROUS MATRIXES FORMED IN SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE

E.N. Golubeva, N.A. Chumakova

Lomonosov Moscow State University

The review is devoted to the electron paramagnetic resonance (EPR) studies of porous polymer materials (matrixes) obtained from aliphatic polyesters and doped with paramagnetic biologically active substances by means of supercritical fluid technologies. Particular attention is paid to the possibilities of the EPR-spectroscopy for establishing the regularities of the formation of the matrixes, the subsequent characterization of the materials obtained, and also the features of the dopant release to aqueous solutions *in vitro*.

Key words: porous polymeric materials, alifatic polyesters, nitroxide radicals, electron paramagnetic resonance.
