

УДК 678.665:577.164.1

Структура фолатовмісних поліуретансечовин медичного призначення, витриманих у модельних середовищах

Р.А. Рожнова, В.В. Давиденко, О.С. Андрюшина, Ю.П. Гомза, С.Д. Несін

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України
48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна

Методами рентгенографічного та теплофізичних аналізів встановлено, що витримання фолатовмісних ПУС у модельних біологічних середовищах приводить до зміни структури полімерної матриці. Під впливом модельних середовищ відбувається нелінійне збільшення рівня мікрогетерогенності ПУС, що корелює з результатами теплофізичних досліджень, а саме зі зміною об'єму кооперативного руху при склуванні.

Ключові слова: фолатовмісні поліуретансечовини, модельні середовища, рентгенографічний аналіз, об'єм кооперативного руху.

Важливим напрямом розвитку хімії високомолекулярних сполук на сьогодні є створення полімерних матеріалів з іммобілізованими лікарськими препаратами. Одним із підходів, які дають можливість створити такі матеріали, є іммобілізація лікарських речовин (ЛР) на полімерних матрицях природного та синтетичного походження, що дає змогу отримати матеріали з потрібними лікарськими властивостями [1]. Широкі можливості в цьому напрямі мають полімери, що належать до класу поліуретанів (ПУ), завдяки широкому варіюванню властивостей шляхом зміни природи компонентів, що входять до основного ланцюга [2, 3]. Відомо, що використання діамінів як подовжувачів макроланцюга при синтезі ПУ покращує їхні міцнісні, термічні та медико-біологічні характеристики, що уможливило подальше їх використання як матеріалів медичного призначення [4–6]. ПУС використовують для отримання катетерів, протезів і судин [7]. Також відомі роботи зі створення покриттів на рани на основі гідрофільних ПУС з 5–20 %-вою добавкою гідрофобного кополімеру полідиметилсилоксану [8], контактних лінз на основі біосумісних гідратованих ПУС [9].

Увагу дослідників останнім часом привертає N-птероїл-L-глутамінова кислота (фолієва кислота (ФК)) як ЛР при іммобілізації на полімерних матрицях. ФК має в своєму складі функціональні групи (амінні, карбонільні та ін.) [10], що можуть брати участь в утворенні як фізичних, так і хімічних зв'язків з полімерними матрицями. ФК використовують як фрагмент-орієнтир різних протипухлинних препаратів, щоб збільшити їх клітинне поглинання в клітині-мішені. Так, у роботі [11] поверхню біокераміки модифікували комплексом поліоксіетилен-біс-аміні (ПЕА)-ФК для покращення внутрішньоклітинного

поглинання та орієнтування на конкретні клітини організму. Для доставки генів до пухлинних клітин у роботі [12] був запропонований носій – хітозан-поліетиленгліколь-фолієва кислота.

Раніше [13] нами було синтезовано та досліджено ряд фолатовмісних ПУС, які передбачено для використання як імплантаційні матеріали, плівкові покриття на рани та опіки. Враховуючи область їх застосування доцільним є вивчення впливу модельних середовищ, що імітують внутрішнє середовище організму, на структуру фолатовмісних ПУС, оскільки відомо, що зміни надмолекулярної структури полімерного матеріалу можуть приводити до зміни його властивостей, характеризувати перебіг процесу біодеградації.

Мета роботи – вивчення змін структурної організації фолатовмісних ПУС та їхніх теплофізичних властивостей під впливом модельних біологічних середовищ.

Експериментальна частина

Об'єкти дослідження – ПУС, синтезовані на основі макродіізоціанату (МДІ) (ПОПГ-1000, ТДІ 80/20, NCO/OH = 2), діамінів (ДА) різної хімічної будови (1,6-гексаметилендіаміну (ГМДА), 4,4'-діамінодифенілметану (ДАДФ)) як подовжувачів макромолекулярного ланцюга і ФК як біологічно активної речовини [14].

Структуру та теплофізичні властивості фолатовмісних поліуретансечовин до та після їх перебування в модельних біологічних середовищах досліджували з використанням рентгенографічного аналізу, методами термогравіметрії (ТГА) та диференціальної скануючої калориметрії (ДСК) відповідно.

Ширококутові дифрактограми були зняті на дифрактометрії ДРОН-2.0 у випромінюванні мідного анода з

Таблиця. Склад ПУС та умови експерименту

Позначення	ГМДА(ДАДФ)/ФК, моль	Вміст ФК, % мас.	Час витримки в модельних середовищах, міс.		
			БС 199	Буф. р-н трипсину	Фіз. р-н
МДІ-ФК	-	38,65	3;6	3;6	3,6
МДІ-ГМДА	-	-	3;6	3;6	-
МДІ-ДАДФ	-	-	3;6	3;6	-
МДІ-ГМДА-ФК	1:1	23,2	3;6	3;6	-
МДІ-3ГМДА-ФК	3:1	13,0	3;6	3;6	-
МДІ-ДАДФ-ФК	1:1	22,6	3;6	3;6	-
МДІІ-3ДАДФ-ФК	3:1	12,5	3;6	3;6	-

нікелевим фільтром у первинному пучку. Оптична схема дифрактометра була модифікована для проведення зйомки на просвіт [15]. Реєстрація розсіяної інтенсивності проводилася в режимі покрокового сканування сцинтиляційного детектора в діапазоні кутів розсіювання від 5 до 40°.

Криві малокутового розсіювання рентгенівських променів отримували у вакуумній камері типу Кратки у випромінюванні мідного анода, що був монохроматизований повним внутрішнім відображенням і нікелевим фільтром. Зйомка проводилася в режимі багаторазового покрокового сканування сцинтиляційного детектора в діапазоні кутів розсіювання від 0,03 до 4,00°, що відповідає величинам хвильового вектора (q) від 0,022 до 2,860 nm^{-1} ($q = 4\theta \sin \pi / \lambda$, θ – половина кута розсіювання, λ – довжина хвилі рентгенівського випромінювання). При цьому забезпечується можливість вивчення мікрогетерогенних утворень (ділянок з більшою чи меншою, ніж у матриці щільністю, або мікропорожнечі) з характеристичними розмірами (зумовленими як $2\pi/q$) від 2 до 280 нм. Попередня обробка кривих проводилася з використанням програми FFSAXS [16]. При цьому використовувалися процедури видалення паразитного розсіювання камерою і матеріалом вікон кювети, нормування розсіяної інтенсивності до абсолютних одиниць і введення колімаційної поправки.

Теплофізичні властивості полімерів досліджували методом ТГА в діапазоні температур 20–700 °С на приладі TA Instrument Q50 зі швидкістю нагрівання 20 °С/хв. і методом ДСК у діапазоні температур від -90 до +200 °С на приладі TA Instrument Q2000 зі швидкістю нагрівання 20 °С/хв. Для нівелювання технологічної та температурної передісторії зразків проводили два сканування за температурою.

Зразки ПУС витримували у модельних середовищах протягом 1, 3 і 6 міс. Після витримування протягом зазначених термінів у модельних середовищах зразки сушили до постійної ваги за кімнатної температури. Склад ПУС та умови експерименту наведені в таблиці. Як модельні середовища були використані біологічне середовище 199 (БС 199), 0,01 %-вий розчин трипсину у 0,1 М буферному розчині Na_2HPO_4 та

KH_2PO_4 (рН = 8,1), фізіологічний розчин (0,9 % NaCl). БС 199 імітує плазму крові, яка являє собою складну суміш білків, амінокислот, вуглеводів, жирів, солей, гормонів, ферментів, антитіл і розчинних газів (рН = 7,4).

Результати та їх обговорення

Характер, інтенсивність та основні механізми біодеградації ПУ широко описані в роботах багатьох авторів [17, 18], в яких не тільки встановлені основні механізми, а й визначені деякі фактори [7], які впливають на перебіг цього процесу в організмі. До них належать хімічна природа полімеру, просторова будова полімерної молекули, змочуваність полімерного імплантата, густина зшивання (у випадку сітчастих поліуретанів) і структура полімеру на надмолекулярному рівні.

З аналізу наведених на рис. 1 ширококутових рентгенівських дифрактограм зразків поліуретансечовин МДІ-3ДАДФ-ФК до та після їх перебування в буферному розчині трипсину протягом 3-х і 6-ти міс. випливає, що незалежно від терміну інкубації в модельному середовищі всі досліджувані зразки характеризуються ближнім порядком при трансляції у просторі фрагментів їхніх макроланцюгів. На це вказує наявність у досліджуваній області кутів одного дифракційного

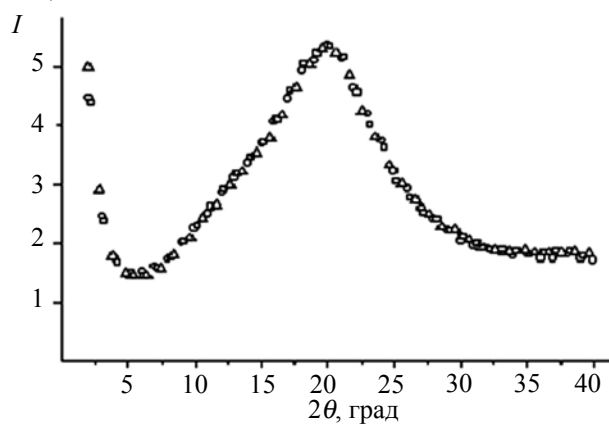


Рис. 1. Ширококутові дифрактограми розсіювання рентгенівських променів досліджуваних матеріалів: МДІ-3ДАДФ-ФК до інкубації (о); після інкубації 3 міс. (Δ) і 6 міс. (□) у буферному розчині трипсину

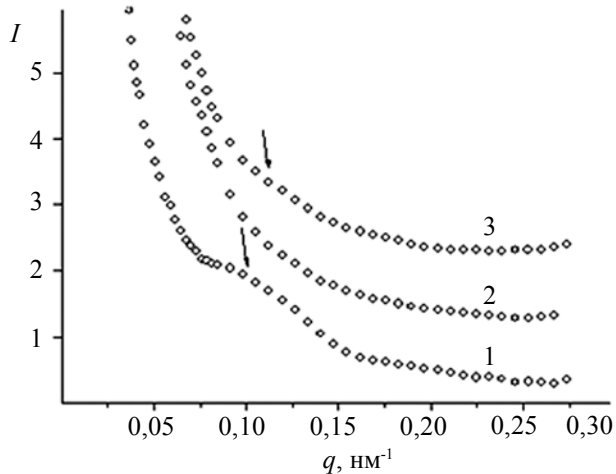


Рис. 2 Малокутові дифрактограми розсіювання рентгенівських променів досліджуваних ПУС: 1 – МДІ-3ДАДФ-ФК; 2, 3 – МДІ-3ДАДФ-ФК після 3 і 6 міс. інкубації в БС 199 відповідно

максимуму («аморфного гало») з вершиною при куті розсіювання $20,4^\circ$.

У початковій області кривої розсіювання дифузно спадає. Ця частина кривої розсіювання відповідає «хвосту» малокутового розсіювання, що стосується вкладу розсіювання нанорозмірних областей. У цьому полімерному матеріалі останні можуть представляти як жорстколанцюгові області матричної ПУС, так і області, збагачені ФК. Ширококутові дифрактограми матеріалу МДІ-3ДАДФ-ФК до та після перебування в біологічному середовищі 199 протягом 3-х і 6-ти міс. аналогічні вище наведеним.

Більш повна інформація про зміни у структурній організації зразків МДІ-3ДАДФ-ФК до та після інкубації в БС 199 протягом 3-х і 6-ти міс. була отримана за даними малокутової рентгенографії. Так, з аналізу профілів інтенсивності малокутового розсіювання рентгенівських променів, поданих у залежності I від q (рис. 2, 3), де I – інтенсивність розсіювання без внесення колімаційної поправки, а q – наведене значення одиничного вектора у зворотному просторі, контрольного та інкубованого 3 і 6 міс. у біологічному середовищі зразків МДІ-3ДАДФ-ФК, впливає, що всі зразки ПУС характеризуються мікрогетерогенною структурою на нанорозмірному рівні. З кривих рис. 2 видно, що результатом 3-х місячного витримування ПУС у БС 199 є помітна зміна профілю розсіяної інтенсивності – різке зростання рівня дифузного малокутового розсіювання в початковій частині кривої і практично повне зникнення спостережуваного дискретного максимуму. Такі зміни інтенсивності розсіювання свідчать про виникнення в системі додаткової гетерогенності, яка в цьому матеріалі, вочевидь, представляє нанорозмірні порожнини, які утворилися внаслідок вимивання ФК з полімерної матриці [19]. Значення середнього квадрата флуктуації електронної

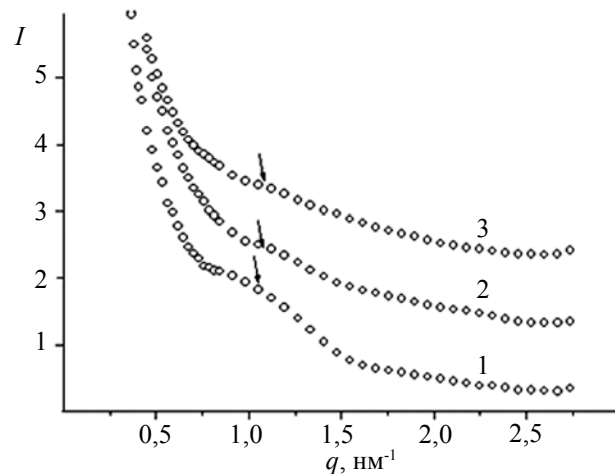


Рис. 3 Малокутові дифрактограми розсіювання рентгенівських променів досліджуваних ПУС: 1 – МДІ-3ДАДФ-ФК; 2, 3 – МДІ-3ДАДФ-ФК після інкубації 3 і 6 міс. у буферному розчині трипсину відповідно

густини ($\Delta\rho^2$), що, як відомо [15], є загальною мірою гетерогенності для вихідного матеріалу, становить $0,722 \cdot 10^{-3}$ (моль ел) 2 /см 6 , а в результаті тримісячного витримування в БС 199 зростає до $0,798 \cdot 10^{-3}$ (моль ел) 2 /см 6 , тобто приріст цього параметра становить 10,5 %. Подальше витримування в БС 199 (крива 3, рис. 2) приводить до невеликого зростання інтенсивності малокутового розсіювання хвостової частини кривої і до прояву на ній дуже слабо вираженого дискретного максимуму. Значення $\Delta\rho^2$ при цьому становить $0,775 \cdot 10^{-3}$ (моль ел) 2 /см 6 , що трохи нижче, ніж у зразка, що піддався тримісячному витримуванню, і свідчить про зниження рівня його гетерогенності.

З рис. 3 видно, що як і у випадку попереднього експерименту, результатом послідовного витримування в буферному розчині трипсину є загальне зростання рівня малокутової інтенсивності. Значення середнього квадрата флуктуації електронної густини, як і в попередньому випадку, максимальні для матеріалу, витриманого 3 міс. $0,787 \cdot 10^{-3}$ (моль ел) 2 /см 6 і знижуються зі збільшенням часу впливу до $0,734 \cdot 10^{-3}$ (моль ел) 2 /см 6 , що відрізняється від відповідного значення для вихідного матеріалу всього на 1,7 %. Однак, дискретний максимум, що свідчить про наявність просторово-періодичної структури, спостерігається, на відміну від попереднього експерименту, і у випадку зразка з мінімальним часом витримування.

Отже, отримані результати свідчать на користь наступної моделі структури ПУС і динаміки її змін під впливом різних модельних розчинів. Вихідний матеріал, швидше за все, характеризується практично рівномірним розподілом модифікатора – ФК у поліуретановій матриці. На початкових етапах впливу рідкого середовища відбувається вимивання частини ФК, результатом якого є утворення в матеріалі

нанорозмірних порожнин, внесок у малокутове розсіювання яких забезпечує максимальний приріст середнього квадрата флуктуацій електронної густини. Збільшення часу впливу сприяє подальшому вимиванню модифікатора і схлопуванню значної частини таких порожнин, що відображається у відповідному зниженні значень $\Delta\rho^2$. Причому, більш висока швидкість вимивання ФК у буферному розчині трипсину веде до вищого ступеня ущільнення матричного полімерного матеріалу.

Опосередкованою характеристикою зміни структури полімеру, в тому числі під впливом модельних середовищ, є об'єм кооперативного руху при склуванні.

В роботі [20] показана можливість оцінки масштабу кооперативного руху T_g – об'єму речовини V_k , що бере участь в акті такого руху:

$$V_k = \frac{kT_g^2 \Delta C_p^{-1}}{\rho(\delta T^2)},$$

де:

$$\Delta C_p^{-1} = \frac{\Delta C_p}{C_{p(T < T_g)} C_{p(T > T_g)}};$$

ρ – густина; k – постійна Больцмана; $C_p(T < T_g) C_p(T > T_g)$ – теплоємності до та після скачка ΔC_p за T_g ; δT – напівширина інтервалу склування.

Ця величина є характеристикою розміру зони ближнього порядку в аморфному полімері поблизу температури склування і залежить від статистичного сегмента макромолекули [20].

Масштаб кооперативного руху для полімерних матеріалів із середнім і високим вмістом ФК практично не залежить від її кількості. Слід відмітити, що роль вмісту ФК у полімерних матеріалах була вивчена в роботі [19]. Однак величини V_k полімерного матеріалу з індивідуальними компонентами значно нижчі, ніж V_k сумішевих полімерних матеріалів. Залежно від кількості нагрівань, зі зменшенням температури склування (якщо подовжувач макромолекулярного ланцюга ГМДА, 2 нагрівання) V_k різко збільшується, а з підвищенням температури склування (якщо подовжувач макромолекулярного ланцюга ДФДА, 2 нагрівання) V_k різко зменшується [21]. З отриманих даних можна зробити висновок про те, що, незважаючи на значний вплив ФК на характеристики системи, реалізується різна система фізичних взаємодій і, відповідно, формується різна структура ПУС, що залежить від хімічної будови подовжувача макроланцюга (ГМДА або ДАДФ). Наявність у макромолекулярному ланцюзі фрагментів різної хімічної природи приводить до істотного збільшення обсягу кооперативного руху (статистичного сегмента), абсолютна величина якого залежить від хімічної природи і передісторії зразка [21].

Витримування в модельному середовищі також приводить до збільшення об'єму кооперативного руху

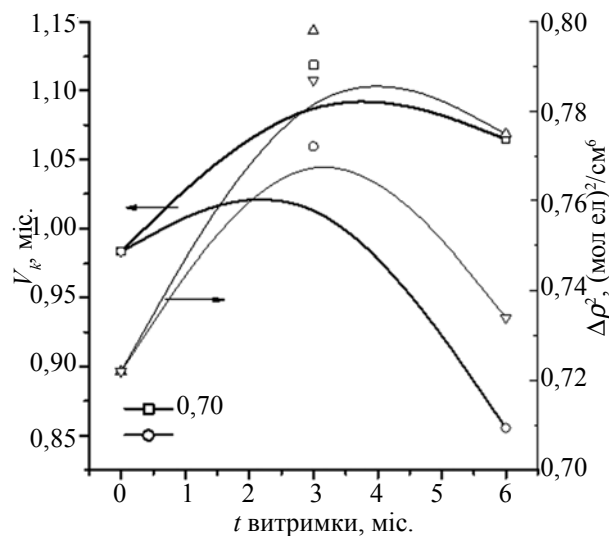


Рис. 4. Залежність об'єму кооперативного руху при склуванні (V_k) та середнього квадрата флуктуації електронної густини ($\Delta\rho^2$) від часу витримки в модельному середовищі

(рис. 4), порівняно з вихідними композиціями.

З рисунка видно, що спостерігається кореляція між поведінкою об'єму кооперативного руху та середнього квадрата флуктуації електронної густини як для часу витримування, так і для типу модельного середовища. Об'єм кооперативного руху можна визначити як міру флуктуації густини (мікрогетерогенності) системи, тобто збільшення цього параметра відповідає підвищенню гетерогенності системи (збільшенню областей системи з різною густиною) [22]. Така зміна структури приводить до відмінності прозорості системи для рентгенівського випромінювання, і відповідно до зміни характеристик розсіювання, тобто зміни величини $\Delta\rho^2$. Витримування системи в модельному середовищі протягом 3 міс. приводить до максимальних змін структури матеріалів, які містять ФК. Подальше збільшення часу витримування в модельному середовищі приводить до зменшення мікрогетерогенності системи. Вище було зроблено припущення про те, що вимивання ФК призводить до утворення нанорозмірних порожнин, які схлопуються зі збільшенням часу витримування. Було показано [21], що температура склування систем, які містять ФК, слабо змінюється з часом витримування в модельному середовищі, і в більшій мірі залежить від наявності ФК у композиції. Витримування в модельних середовищах строком до 6 міс. приводить до незначного ($\sim 10^\circ\text{C}$) зменшення температури початку розкладання систем, які містять ФК, уможливаючи зміни в структурі полімерної матриці. Наведені дані свідчать про можливість зміни структури композиції за рахунок деструкції полімерної матриці, або перерозподілу системи фізичних зв'язків (релаксації) під

час витримування в модельному середовищі, що потребує подальшого вивчення.

Висновки

Отже методами рентгенографічного та теплофізичних аналізів встановлено, що витримування ПУС, які містять ФК, у модельних середовищах приводить до зміни структури полімерної матриці. Встановлено, що фолатовмісні ПУС характеризуються рівномірним розподілом ФК у поліуретановій матриці.

Література

1. Мазур Л. М. Синтез і дослідження нових поліуретанів, створення композицій на їх основі як носіїв лікарських речовин : автореф. дис. ... канд. хім. наук. – К.: Ін-т хім. високомолекуляр. сполук НАН України, 2007. – 20 с.
2. M.W. Laschke, A. Strohe, C. Scheuer, D. Eglin, S. Verrier, M. Alini, T. Pohlemann, M.D. Menger // *Acta Biomaterialia*. – 5, Issue 6. – 2009. – P. 1991-2001.
3. Joanne E. McBane, Soroor Sharifpoor, Kuihua Cai, Rosalind S. Labow, J. Paul Santerre // *Biomaterials*. – 32, Issue 26. – 2011. – P. 6034-6044.
4. Teng Su, Gui You Wang, Shao Lei Wang, Chun Pu Hu // *Eur. Polym. J.* – 46, Issue 3. – 2010. – P. 472-48391.
5. Шекера О.В., Бородин А.Є., Храновський В.О., Алексеева Т.Н. // *Укр. хім. журн.* – 2001. – 67, № 4. – С. 15-18.
6. Шекера О.В., Бородин А.Є., Алексеева Т.Н., Лазаренко О.Н. // *Укр. хім. журн.* – 2004. – 70, № 4. – С. 112-116.
7. Пат. 4935480 США, МКИ⁵ C08 L 75/04. Zdrhala R. J, Strand M. A. Fluorinated polyetherurethanes and medical devices therefrom. – Опубл. 19.06.90.
8. Райгородский И.М., Колганова И.В., Кирилин А.Д., Копылов В.М., Матюшин Г.А. // *Крит. технол. Мембраны*. – 2002. – № 14. – С. 18–28.
9. Пат. 4886866 США, МКИ⁴ C08 G 18/10 Braatz; James A. Kehr; Clifton L. W. R. Contact lenses based on biocompatible polyurethane and polyurea-urethane hydrated polymers. - Опубл. 12.12.89.
10. Bonechi C., Donati A., Lampariello R., Martini S., Picchi M.P., Ricci M., Rossi C. // *Spectrochimica Acta Part A*. – 60, Issue 7. – 2004. – P. 1411-1419.
11. Min-Hua Chen, Chung-King Hsu, Feng-Huei Lin, Leszek Stobinski, Jerzy Peszke // *Advances in Science and Technology*. – Vol. 53. – 2006. – P. 50-57.
12. Chan P., Kurisawa M., Chung J., Yang Y. // *Biomaterials*. – 28. – 2007. – P. 540-549.
13. Андрюшина О.С., Рожнова Р.А., Галатенко Н.А., Нарожайко Л.Ф. // *Наук. записки НаУКМА*. – 2010. – Т. 105. – С. 47-50.
14. Пат. 55891 UA МПК⁸ C08G71/00, C07D 477/00, A61L 31/00. Діаміновмісні поліуретансечовини з фолієвою кислотою як полімерні плівкотвірні біологічно активні матеріали медичного призначення / Галатенко Н.А., Рожнова Р.А., Андрюшина О.С. Опубл. 27.12.2010. - Бюл. № 24.
15. Лунатов Ю.С., Шилов В.В., Гомза Ю.П., Кругляк Н.Е. Рентгенографические методы изучения полимерных систем. – Киев: Наук. думка, 1982. – 296 с.
16. Vonk C.G. FFSAXSs Program for the Processing of Small-Angle X-ray Scattering Data. – Geleen, DSM, 1974. – 83 p.
17. Лунатова Т.Э., Пхакадзе Г.А. Полимеры в эндопротезировании. – Киев: Наук. мысль. – 1983. – 160с.
18. Пхакадзе Г.А. Биодеструктурируемые полимеры. – К.: Наук. думка, 1990. – 160 с.
19. Андрюшина О.С., Закашун Т.Є., Демченко І.Б., Рожнова Р.А. // *Доп. НАН України*. – 2011. – № 8. – С. 113–116.
20. Бернштейн В.А., Егоров В.М. Дифференциальная сканирующая калориметрия в физикохимии полимеров. – Л.: Химия, 1990. – 256 с.
21. Давиденко В.В., Андрюшина Е.С., Рожнова Р.А., Демченко И.Б. // *Полимер. журн.* – 2011. – 33, № 3. – С. 282–287.
22. Schroter K. // *J. of non-crystalline solids*. – 2006. – V. 352. – P. 3249-3254.

Надійшла до редакції 26 жовтня 2011 р.

Структура фолатсодержащих полиуретанмочевин медицинского назначения, выдержанных в модельных средах

Р.А. Рожнова, В.В. Давиденко, Е.С. Андриюшина, Ю.П. Гомза, С.Д. Несін

Институт химии высокомолекулярных соединений НАН Украины
48, Харьковское шоссе, Киев, 02160, Украина

Методами рентгенографического и теплофизического анализов установлено, что выдержка фолатсодержащих ПУМ в модельных биологических средах приводит к изменению структуры полимерной матрицы. Под воздействием модельных сред происходит нелинейное увеличение уровня микрогетерогенности ПУМ, что коррелирует с результатами теплофизических исследований, а именно с изменением объёма кооперативного движения при стекловании.

Ключевые слова: фолатсодержащие полиуретанмочевины, модельные среды, рентгенографический анализ, объём кооперативного движения.

Structure polyurethaneureas modified by folic acid for medicine goals in simulated body fluid

R.A. Rozhnova, V.V. Davidenko, O.S. Andryushina, Yu.P. Gomza, S.D. Nesin

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine
48, Kharkivske shause, Kyiv, 02160, Ukraine

It was established by X-ray diffraction method and thermophysical analysis that soaking polyurethaneureas modified by folic acid in simulated body fluid influences for polymer matrix structure. Simulated body fluid leads to a nonlinear increase microheterogeneity of polyurethaneureas modified by folic acid. It is correlated with the results of thermophysical investigations.

Keywords: polyurethaneureas modified by folic acid, simulated body fluid, X-ray analysis, the volume of the cooperative movement.