

УДК: 54-126:678.664

О.С.Карпенко, І.Б.Демченко, Р.А.Рожнова, Н.А.Галатенко, Ю.П.Гомза

ВИВЧЕННЯ СТРУКТУРИ ТА ВЛАСТИВОСТЕЙ ФОЛАТОВМІСНИХ ПОЛІУРЕТАНСЕЧОВИН У МОДЕЛЬНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Методом ІЧ-спектроскопії, за зміною показників характеристичної в'язкості до і після інкубації в модельному середовищі та методом рентгеноструктурного аналізу вивчено структуру фолатовмісних поліуретансечовин (ПУС). Встановлено, що збільшення показників характеристичної в'язкості за 1 та 3 міс інкубації для фолатовмісних поліуретансечовин обумовлено специфічною взаємодією молекули ферменту з сечовинною групою полімеру. Присутність фолієвої кислоти надає стабільності до біодеградації фолатовмісним поліуретансечовинам протягом 6 міс порівняно з поліуретансечовинами, що не містять у своєму складі фолієву кислоту.

ВСТУП. Здатність до біодеградації є однією з найважливіших характеристик полімерів медичного призначення. Особливо важливо вивчити цей процес при створенні полімерних матеріалів з власною біологічною активністю, оскільки біодеградація пов'язана зі структурою та властивостями полімерного матеріалу, кількістю вивільнення лікарських речовин до внутрішнього середовища організму. Вивчення перебігу цього процесу в умовах, які імітують середовище організму, — один із необхідних етапів при розробці імплантаційних біологічно активних полімерних матеріалів, адже інтенсивність процесу може залежати не тільки від будови полімерного носія, наявності біологічно активних речовин в його складі, а й від впливу біологічних систем організму [1, 2].

Раніше [3—5] нами було синтезовано та досліджено ряд фолатовмісних поліуретансечовин, які передбачено для використання як імплантанти, плівкові покриття на рани та опіки. Враховуючи область застосування фолатовмісних ПУС, доцільним є вивчення їх структури та властивостей під дією модельного середовища, що імітує внутрішнє середовище організму.

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 ланцюгу і ФК як біологічно активної речовини [6]. Завантаження компонентів здійснювали за різних мольних співвідно-

шень МДІ : ДА : ФК. Зокрема, зразки МДІ—10ГМДА—ФК та МДІ—10ДАДФ—ФК, що були синтезовані за мольним співвідношенням ДА до ФК як 10:1, та зразки МДІ—3ДАДФ—ФК (ДА:ФК=3:1). ПУС на основі МДІ та ДА (ГМДА, ДАДФ) були використані як предмет порівняння з новими фолатовмісними ПУС.

Біодеградацію фолатовмісних ПУС в умовах *in vitro* досліджували методом ІЧ-спектроскопії, за зміною показників їх характеристичної в'язкості $[\eta]$ (до і після інкубації), методом рентгеноструктурного аналізу.

Як модельне середовище було обрано біологічне середовище (БС) 199, що імітує внутрішнє середовище організму, яке представляє собою складну суміш білків, амінокислот, вуглеводнів, жирів, солей, гормонів, ферментів антитіл і розчинних газів (рН 7.4).

ІЧ-спектри зняті на ІЧ-спектрометрі з Фур'є-перетворенням Tensor-37 в області 900—3500 см^{-1} методом порушеного повного внутрішнього відображення (БППВВ) з використанням Zn-Se, $N=1$, кут падіння $\phi=45^\circ$ на просвіт тонких плівок.

Характеристичну в'язкість полімерних матеріалів вимірювали за допомогою віскозиметра Уббелюде за температури $(25 \pm 0.1)^\circ\text{C}$, розчинник — ДМАА.

Ширококутові дифрактограми отримані на дифрактометрі ДРОН-2.0 у випромінюванні мідного аноду з нікелевим фільтром у первинному пучку. Оптична схема дифрактометра модифікована для проведення зйомки на просвіт. Перераховані поправки внесені в дифракційні дані,

які були приведені до однакової інтенсивності первинного пучка з використанням розрахункових процедур за методикою [7]. Реєстрацію розсіяної інтенсивності виконували в режимі крокового сканування сцинтиляційного детектора в діапазоні кутів розсіяння від 5 до 40°.

Криві малокутового розсіювання рентгенівських променів отримували у вакуумній камері типу Кратки у випромінюванні мідного аноду, що був монохроматизований повним внутрішнім відображенням і нікелевим фільтром. Зйомку проводили в режимі багаторазового крокового сканування сцинтиляційного детектора в діапазоні кутів розсіяння від 0.03 до 4.0, що відповідає величині хвильового вектору q від 0.022 до 2.86 nm^{-1} ($q = 4\theta \sin \pi/\lambda$, θ — половина кута розсіяння, λ — довжина хвилі рентгенівського випромінювання). Попередню обробку кривих здійснювали з використанням програми FFSAXS [8].

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ. Аналіз ІЧ-спектрів досліджуваних зразків ПУС показав, що істотних змін хімічної структури для всіх фолатовмісних ПУС не відбулось. Проте виявились деякі зміни в областях валентних коливань тільки для груп ПУС, які беруть участь в утворенні водневих зв'язків (ВЗ) (рис. 1,2).

Враховуючи те, що макромолекули полімерного матеріалу з ФК містять різні групи акцепторів протонів, такі як карбонільні групи, кисень естерного зв'язку та фенільні кільця з функціональними групами [9], можна говорити про утворення ВЗ різних типів. Після перебування фолатовмісних зразків ПУС у БС 199 на ІЧ-спектрах (рис. 1, а,б, криві 2–4) спостерігається зменшення інтенсивності поглинання в області валентних коливань уретанового фрагмента ($\nu_{\text{C=O}}$ — 1725 cm^{-1}), яке відповідає вільним від водневого зв'язку (ВЗ) групам та збільшення інтенсивності смуг сечовинного фрагмента ($\nu_{\text{C=O}}$ — 1690, 1694 cm^{-1}), яке відноситься до зв'язаних ВЗ-груп. Це вказує на те, що з часом у доменній структурі полімерів, що знаходились у БС 199, відбувався перерозподіл типів ВЗ із створенням більш міцних, при цьому саме за участю сечовинних груп. Карбонільні групи сечовинного фрагмента, виходячи з даних ІЧ-спектрів, взаємодіють із вторинними NH-групами ФК з утворенням нових ВЗ.

Також у високочастотній області смуги валентних коливань NH-груп зв'язаних ВЗ (3315 cm^{-1}) з'являється плече 3560 cm^{-1} валентних ко-

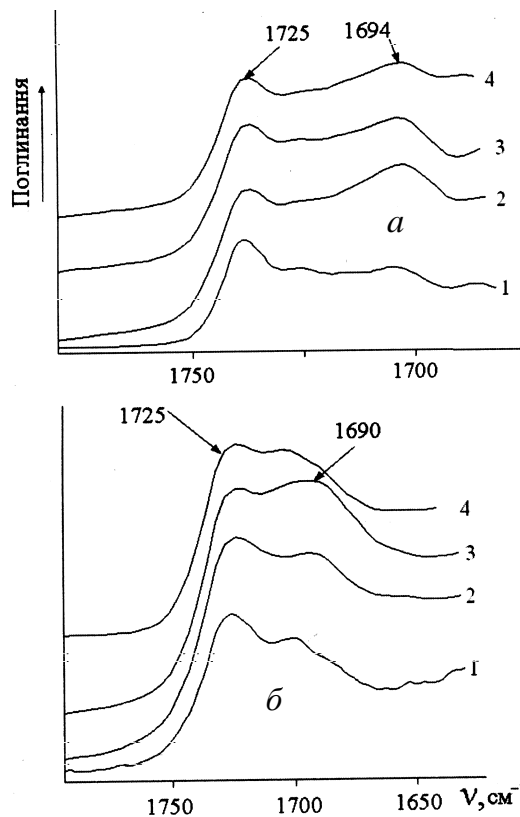


Рис. 1. Фрагменти ІЧ-спектрів зразків МДІ—10ГМДА—ФК (а) і МДІ—10ДАДФ—ФК (б) у БС 199: 1 — контроль; 2 — 1 міс; 3 — 3 міс; 4 — 6 міс.

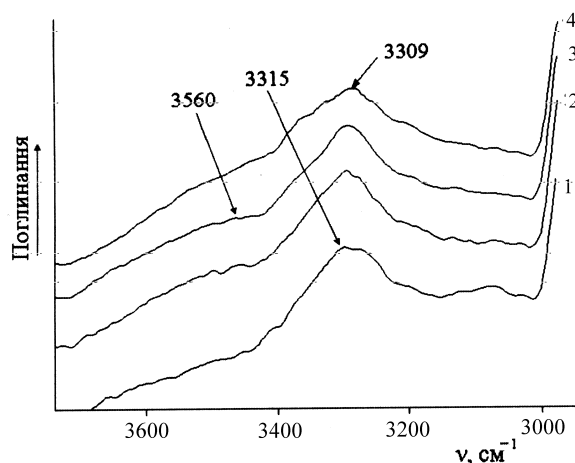


Рис. 2. Фрагменти ІЧ-спектрів зразка МДІ—10ГМДА—ФК у БС 199 (високочастотна область): 1 — контроль; 2 — 1 міс; 3 — 3 міс; 4 — 6 міс.

ливань, вільних від ВЗ аміногруп (рис. 2, криві 2–4), але при цьому чітко видно звуження смуги коливань NH-груп та зміщення смуги 3315 до

3309 cm^{-1} ($\nu_{\text{NH-зв'яз}}$), що також вказує на перерозподіл ВЗ з утворенням більш досконалої фізичної сітки в доменах.

Для полімерів, які були експоновані в розчині трипсину, помітних змін у спектрах не виявлено.

Результати досліджень зміни характеристичної в'язкості $[\eta]$ ПУС до та після перебування в БС 199 наведені на рис. 3, а,б. Зіставляючи отримані результати, можна зазначити, що найсильнішу гідролітичну дію має БС 199 на зразки

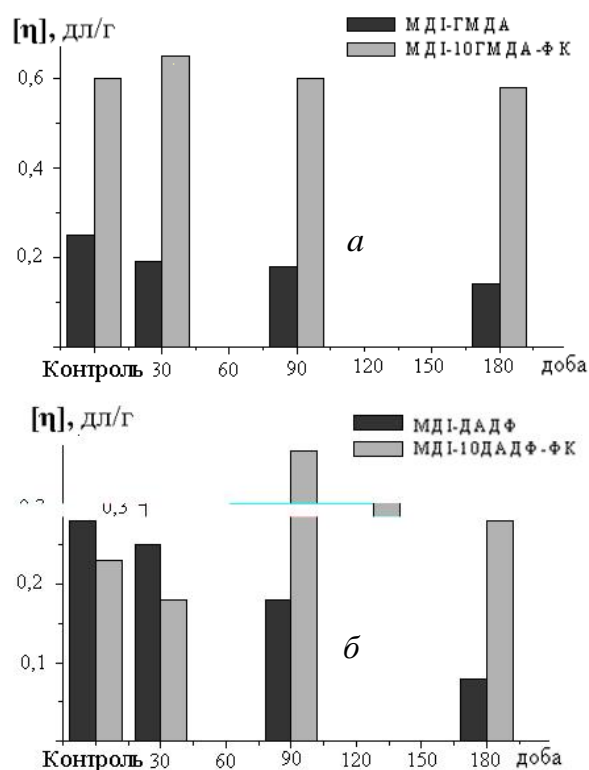


Рис. 3 Зміни показників характеристичної в'язкості $[\eta]$ зразків МДІ—10ГМДА—ФК (а) і МДІ—10ДАДФ—ФК (б) у БС 199.

без ФК (МДІ—ГМДА, МДІ—ДАДФ), при інкубації в яких протягом 1 міс показник $[\eta]$ зменшився на 24 % для зразка МДІ—ГМДА та на 11 % для зразка МДІ—ДАДФ, а після інкубації протягом 6 міс зменшився на 56 та 71 % відповідно.

Біодеградація зразків, які не містять ФК, у БС 199 проходить зі зниженням показників $[\eta]$ протягом всього періоду дослідження (1–6 міс), що типово для тривіального перебігу біодегра-

дації поліуретанів [10]. Із одержаних даних видно, що після перебування зразка МДІ—10ГМДА—ФК у БС 199 протягом 1 міс відбулося збільшення показника $[\eta]$ на 7.7 % з подальшою стабілізацією показників при 3 та 6 міс імплантації. Для зразка МДІ—10ДАДФ—ФК спостерігаємо зменшення показника $[\eta]$ на 22 % в 1-й міс інкубації, але вже на 3-й та 6-й міс інкубації показник $[\eta]$ збільшується на 38 та 18 % відповідно.

Отримані дані по зміні $[\eta]$ в зразках фолатовмісних ПУС корелюють з даними ІЧ-спектроскопії. Так, найбільша інтенсивність смуги валентних коливань сечовинного фрагмента — 1694 cm^{-1} для зразка МДІ—10ГМДА—ФК (рис. 1, а, крива 2) спостерігається на 1-й міс інкубації в БС 199, що відповідає найбільшому значенню $[\eta]$. Для зразка МДІ—10ДАДФ—ФК найбільша інтенсивність смуги валентних коливань сечовинного фрагмента — 1690 cm^{-1} припадає на 3-й міс інкубації (рис. 1, б, крива 3), що також відповідає найбільшому значенню $[\eta]$. Отже, перерозподіл ВЗ приводить, на нашу думку, до збільшення показників $[\eta]$ на певних строках перебування фолатовмісних зразків ПУС.

Враховуючи те, що БС 199 є складною багатоконпонентною системою, збільшення показників $[\eta]$ на 1-й та 3-й міс інкубації для зразків МДІ—10ГМДА—ФК та МДІ—10ДАДФ—ФК відповідно також можна пояснити специфічною взаємодією молекули ферменту з сечовинною групою полімеру. Таким чином, присутність ФК надає стабільності до біодеградації зразкам ПУС у модельних середовищах. Причому найвища стабільність у зразка МДІ—10ДАДФ—ФК, де подовжувачем макроланцюга є ароматичний діамін. Це, вочевидь, пов'язано з конформаційними можливостями жорстких сегментів.

З результатів дослідження ширококутових рентгенівських дифрактограм зразків поліуретансечовин МДІ—3ДАДФ—ФК випливає, що незалежно від терміну інкубації в модельному середовищі 199 всі досліджувані зразки характеризуються ближнім порядком при трансляції у просторі фрагментів їхніх макроланцюгів. На це вказує наявність у досліджуваній області кутів одного дифракційного максимуму ("аморфного гало") з вершиною при куті розсіювання 20.4° (рис. 4).

Більш повна інформація про структурну організацію зразків МДІ—3ДАДФ—ФК до та після

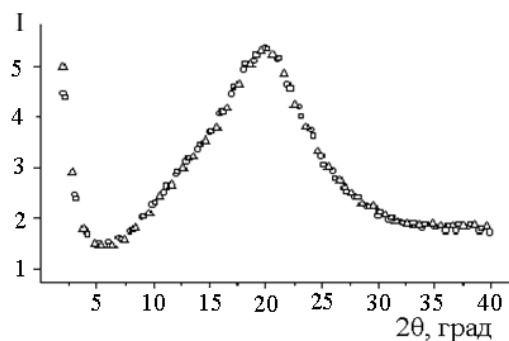


Рис. 4. Ширококутові дифрактограми розсіювання рентгенівських променів зразка МДІ—ЗДАДФ—ФК у БС 199: О – контроль; □ – 3 міс; Δ – 6 міс.

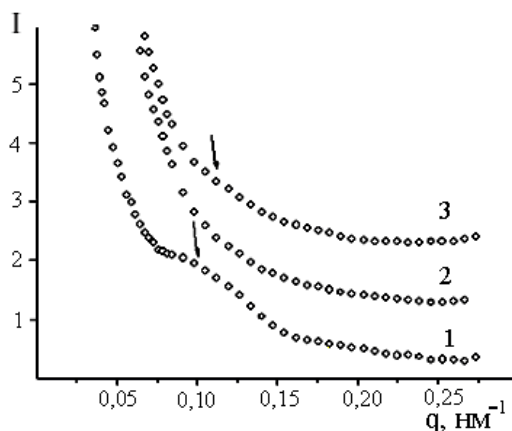


Рис. 5. Малокутові дифрактограми розсіювання рентгенівських променів зразка МДІ—ЗДАДФ—ФК у БС 199: 1 – контроль; 2 – 3 міс; 3 – 6 міс.

ля інкубації в БС 199 протягом 3 і 6 міс була отримана за даними малокутової рентгенографії. З кривих рис. 5 видно, що результатом трьохмісячного 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 порожнини (2—200 нм), які утворилися внаслідок вимивання ФК з полімерної матриці. Значення середнього квадрата флуктуації електронної густини $\Delta\rho^2$, що є загальною мірою гетерогенності для вихідного зразка МДІ—ЗДАДФ—ФК, становить $0.722 \cdot 10^{-3}$ (моль·ел) 2 /см 6 ,

а в результаті трьохмісячного витримування в БС 199 зростає до $0.798 \cdot 10^{-3}$ (моль·ел) 2 /см 6 .

Подальше витримування в БС 199 (рис. 5, крива 3) приводить до невеликого зростання інтенсивності малокутового розсіювання хвостової частини кривої. Значення $\Delta\rho^2$ при цьому становить $0.775 \cdot 10^{-3}$ (моль·ел) 2 /см 6 , це трохи нижче, ніж у зразка, що піддався трьохмісячному витримуванню, і свідчить про зниження рівня його гетерогенності [8].

ВИСНОВКИ. Отже, отримані результати свідчать на користь наступної моделі структури ПУС і динаміки її змін під впливом БС 199. Вихідний матеріал характеризується практично рівномірним розподілом ФК у поліуретансечовинній матриці, результатом якого є утворення в матеріалі порожнин (2—200 нм). На початкових етапах впливу рідкого середовища відбувається вимивання частини ФК. Витримування системи в БС 199 протягом 3 міс викликає максимальні зміни структури фолатовмісних ПУС. Подальше збільшення часу витримування в БС 199 приводить до зменшення мікрогетерогенності системи. Наведені дані свідчать про можливість зміни структури композиції за рахунок перерозподілу системи фізичних зв'язків (релаксації) під час витримування в модельному середовищі. Тобто присутність фолієвої кислоти надає стабільності до біодеградації фолатовмісним поліуретансечовинам протягом 6 міс порівняно з поліуретансечовинами, що не містять у своєму складі фолієву кислоту. Зазначені полімерні матеріали можна охарактеризувати як біостабільні.

РЕЗЮМЕ. Методом ИК-спектроскопии, по изменению показателей характеристической вязкости до и после инкубации в модельной среде и методом рентгеноструктурного анализа изучена структура фолатсодержащих полиуретанмочевин. Установлено, что увеличение показателей характеристической вязкости за 1 и 3 мес инкубации для фолатсодержащих полиуретанмочевин обусловлено специфическим взаимодействием молекулы фермента с мочевинной группой полимера. Присутствие фолієвої кислоти придает стабильность к биодеградации фолатсодержащим полиуретанмочевинам на протяжении 6 мес в сравнении с полиуретанмочевинами, которые не содержат в своем составе фолієвую кислоту.

SUMMARY. By IR-spectroscopy, due to changes of parameters of the intrinsic viscosity before and after

incubation in a model fluids, and X-ray diffraction pattern have been studied folat-containing polyurethaneureas. An increase of the intrinsic viscosity after of 1 and 3 month of incubation folat-containing polyurethaneureas due to interaction of specific enzyme molecules with urea groups of the polymer. The presence of folic acid gives stability to biodegradation of folat-containing polyurethaneureas after at 6 months in composition compared with polyurethaneureas that do not contain folic acid in composition.

ЛІТЕРАТУРА

1. Рожнова Р.А., Галатенко Н.А., Замулина Л.І., Гладир І.І. // Укр. хим. журн. - 2007. -**73**, № 11. -С. 64—66.
2. Липатова Т.Э., Пхакадзе Г.А. Полимеры в эндопротезировании. -Киев: Наука, 1983.
3. Андрюшина О.С., Рожнова Р.А., Галатенко Н.А., Нарожайко Л.Ф. // Наук. записки НаУКМА. -2010. -**105**. -С. 47—50.
4. Андрюшина О.С., Рожнова Р.А., Галатенко Н.А., Кисельова Т.О. // Полімер. журн. -2010. -**32**, № 1. -С. 84—88.
5. Давиденко В.В., Андрюшина Е.С., Рожнова Р.А., Демченко И.Б. // Там же. -2011. -**33**. -С. 282—287.
6. Машковский М.Д. Лекарственные средства. -М.: Медицина, 1998.
7. Липатов Ю.С., Шилов В.В., Гомза Ю.П., Кругляк Н.Е. Рентгенографические методы исследования полимеров. -Киев: Наук. думка, 1982.
8. Vonk C.G. FFSAXSs program for the processing of small-angle X-ray scattering data. -Geleen, 1974.
9. Губський Ю.І. Біологічна хімія. -Київ: Нова книга, 2009.
10. Пхакадзе Г.А. Биодеструктурируемые полимеры. - Киев: Наук. думка, 1990.

Інститут хімії високомолекулярних сполук
НАН України, Київ

Надійшла 21.09.2012