

С. А. Лукашевич, Р. А. Рожнова, Н. А. Галатенко, Г. А. Козлова

Епоксиполіуретанові композиційні матеріали, що наповнені полігідроксипутиратом і доксорубіцином для виготовлення кісткових імплантатів

(Представлено академіком НАН України Є. В. Лебедєвим)

На основі епоксиполіуретанової (ЕПУ) композиції з використанням наповнювачів полігідроксипутирату (ПГБ) і доксорубіцину були отримані нові біологічно-активні полімерні матеріали, які можуть бути використані як кісткові імплантати. Вивчено вплив наповнювачів на фізико-механічні властивості отриманих ЕПУ композиційних матеріалів та встановлено оптимальний масовий склад ПГБ 0,1 й 0,3%. Методом ІЧ спектроскопії показано вплив наповнювачів на структуру композицій. На прикладі модельної реакції доксорубіцину з фенілгліцидиловим ефіром показана можливість хімічної іммобілізації лікарського препарату на ЕПУ носії.

Збільшення хворих з патологіями кісткової тканини в Україні спонукає розробляти біосумісні та біоактивні матеріали з лікувальною дією. Створення таких матеріалів дає змогу отримати ефективні засоби для кісткової пластики [1].

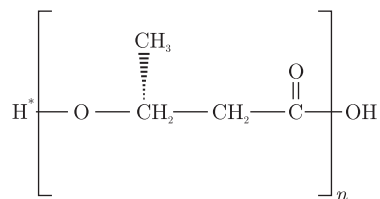
Сучасне розроблення нових композиційних матеріалів полягає в модифікації відомих полімерних носіїв наповнювачами з різними характеристиками і як результат отримання нових матеріалів з комплексом необхідних властивостей [2]. Завдяки різноманітній просторовій будові та здатності до біодеградації, біосумісності, поліуретани (ПУ) є одними з найзастосовуваніших матеріалів у медицині [3].

Вибір епоксиполіуретанової матриці для створення біологічно активного композиційного матеріалу зумовлений біосумісністю поліуретанової складової за рахунок близькості будови уретанової групи з пептидною групою білків (амідний зв'язок) та високими міцнісними властивостями епоксидної складової. З наукових джерел [наприклад, 3–5] відомо ряд епоксиполіуретанових композиційних матеріалів для виготовлення імплантатів тривалого використання, здатних пролонговано вивільняти лікарські речовини і місцево чинити лікувальну дію в місці імплантації.

Для оптимізації використання поліуретанів, покращання їх фізико-механічних властивостей, підвищення біосумісності та надання біологічної активності застосовують методи структурної та структурно-хімічної модифікації полімерної матриці шляхом введення до її структури та складу різних модифікаторів властивостей. Одними з таких речовин можуть бути біорезорптивні біосумісні матеріали та лікарські речовини з широким спектром дії [4].

Як модифікатор властивостей епоксиполіуретану може бути використаний полігідроксипутират (ПГБ) (біорезорптивний поліестер мікробіологічного синтезу) такої структурної формули:

© С. А. Лукашевич, Р. А. Рожнова, Н. А. Галатенко, Г. А. Козлова, 2015

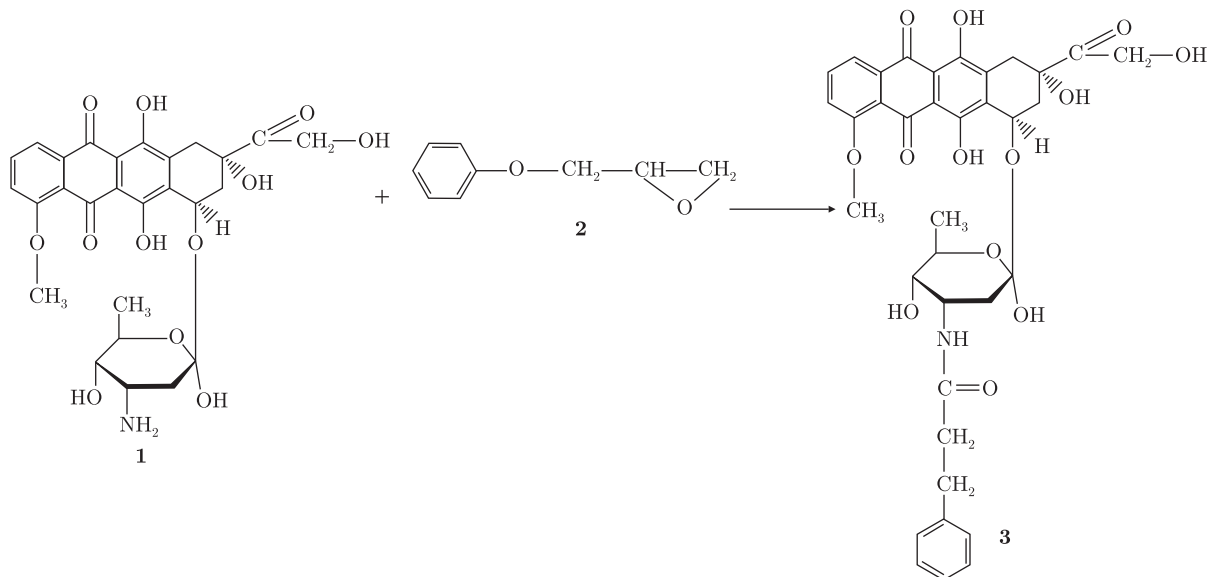


Інтерес до ПГБ зумовлений його високою біосумісністю, здатністю до ферментативної та гідролітичної деструкції [6]. Згідно з проведеними дослідженнями ПГБ-вмісних поліуретанів, ПГБ є біосумісним та біодеградабельним матеріалом, який можна використовувати при створенні композиційних матеріалів медичного призначення та розробці полімерних лікарських форм [6].

Введення до складу ЕПУ-матриці ПГБ дозволить покращити фізико-механічні властивості композиційного матеріалу, підвищити його біосумісність та здатність до біодеградації [7, 8].

Як лікарський препарат відзначимо доксорубіцин — протипухлинний антибіотик антрациклінового ряду, який вже понад 30 років використовують при лікуванні гематологічних онкологічних захворювань та інших пухлин різної локалізації (саркома м'яких тканин, остеогенна саркома) [9].

Схему модельної реакції доксорубіцину (Докс) з фенілгліцидиловим ефіром (ФГЕ) представлено так:



Тут **1** — Докс; **2** — ФГЕ; **3** — продукт реакції Докс й ФГЕ.

Таким чином, на основі ЕПУ-матриці, ПГБ і Докс можна отримати біологічно активні матеріали, які будуть поєднувати в собі корисні властивості вихідних сполук. В процесі варіювання вмісту компонентів у композиційному матеріалі можна змінювати його кінцеві властивості [9, 10].

Мета роботи — розробка нових епоксиоліуретанових композицій, які містять у своєму складі ПГБ і Докс та дослідження впливу наповнювачів на їх структуру та властивості.

Матеріали і методи дослідження. Синтез ЕПУ проводили в три стадії. На першій — отримували ізоціанатний форполімер на основі поліетеру (ПОПГ 2000) та 2,4(2,6)-толуїден-

діізоціанату (ТДІ 80/20) при мольному співвідношенні 1 : 2,2. На другій — епоксиполіуретановий кополімер шляхом взаємодії ізоціанатних груп ІФП з вторинними гідроксильними групами епоксидного олігомеру ЕД-20 (М 420, епоксидне число 21,6) при мольному співвідношенні 1 : 3,2. ЕД-20 використовували як розчинник і носій вторинних гідроксильних груп. Третя стадія — синтез ЕПУ основи. У реакційну суміш вводили подовжувач макроланцюга 1,4-бутандіол. В результаті отримували реакційну суміш ЕПУ кополімеру, лінійного ПУ та ЕД-20.

Композиційні матеріали були отримані при введенні в ЕПУ основи ПГБ (ТУ 22-001-03533441-2004, Красноярський інститут біофізики РАН) у масовій кількості від 0,1 до 3,0%. Доксорубіцин (Київмедпрепарат, КМП) був введений до складу ЕПУ в масовій кількості 0,29% (40 мг/14 г), що не перевищувало його терапевтичної дози [11]. Наважки ПГБ і Докс попередньо розчиняли в хлороформі (20 мл). Композиції отверджували аміним отверджувачем Л-20 епоксидних смол при температурі $(65 \pm 5)^\circ\text{C}$ впродовж 3-х діб [6]. Усі ЕПУ композиції отримували з однаковим вмістом Докс при варіюванні вмісту ПГБ.

Для дослідження можливості хімічної іммобілізації доксорубіцину на ЕПУ-матриці було проведено модельну реакцію Докс з ФГЕ. ЯМР спектри продукту реакції реєстрували на спектрофотометрі PicoSpin-45 фірми “Thermo Scientific” (США) у середовищі дейтерованого тетрагідрофурану (ТГФ).

ІЧ-спектри знімали на ІЧ спектрометрі “Tensor-37” фірми “Bruker” з перетворенням Фур’є в області $650\text{--}4000\text{ см}^{-1}$. Отримані спектри зіставляли між собою і контрольним зразком (ЕПУ) у рядах: збільшення масової концентрації ПГБ від 0,1 до 3,0% при сталій концентрації Докс.

Фізико-механічні показники, зокрема міцність на розрив і відносне подовження при розриві визначали за допомогою універсальної машини для розриву пластмас 2167 Р-50 з максимальною силою розриву 50 кН/см^2 , згідно з ГОСТ 14236-80.

Обговорення результатів. Використаний препарат доксорубіцин є відомим протипухлинним антибіотиком антрациклінового ряду з хімічною назвою (8S-цис)-10-(3-аміно-2,3,6-тридезоксис-альфа-L-ліксогексопіранозил)окси-7,8,9,10-тетра-гідро-6,8,11-тригідрокси-8-(гідроксиацетил)-1-метокси-5,12-нафтацендіон. Молекула Докс складається з тетрациклічного антрахіноїдного аглікону доксорубіцинону, з’єднаного глікозидним зв’язком з аміноцукром даунозаміном.

Цитостатичний ефект Докс обумовлений зв’язуванням з ДНК пухлинними клітинами, переважно їхнім ростом і проліферацією. Препарат може проникати між шари пар основ ДНК, пригнічуючи ДНК-залежний синтез РНК; так званий процес інтеркаляції [10].

Оскільки в молекулі доксорубіцину наявна NH_2 -група аміноцукру даунозаміну, то є можливість дослідити хімічну іммобілізацію на ЕПУ носії на прикладі модельної реакції Докс з модельною речовиною ФГЕ (див. схему).

Аналізуючи ЯМР спектр продукту реакції ФГЕ з Докс, було встановлено, що препарат піддається ковалентному зв’язуванню з ФГЕ шляхом взаємодії NH_2 -групи Докс з оксирановою групою ФГЕ (рис. 1).

На спектрі продукту реакції присутній сигнал 6,09 м.ч., що відповідає сигналу вторинного аміну (1H , $-\text{NH}-$). Сигнал 2,66 м.ч. вказує на розкриття оксиранового циклу та появу додаткової CH_2 -групи (2H , $-\text{CH}_2-$) в отриманому продукті. Таким чином, можна стверджувати, що Докс у складі ЕПУ буде піддаватися хімічній іммобілізації за рахунок взаємодії NH_2 -групи аміноцукру даунозаміну з оксирановою групою ЕД-20.

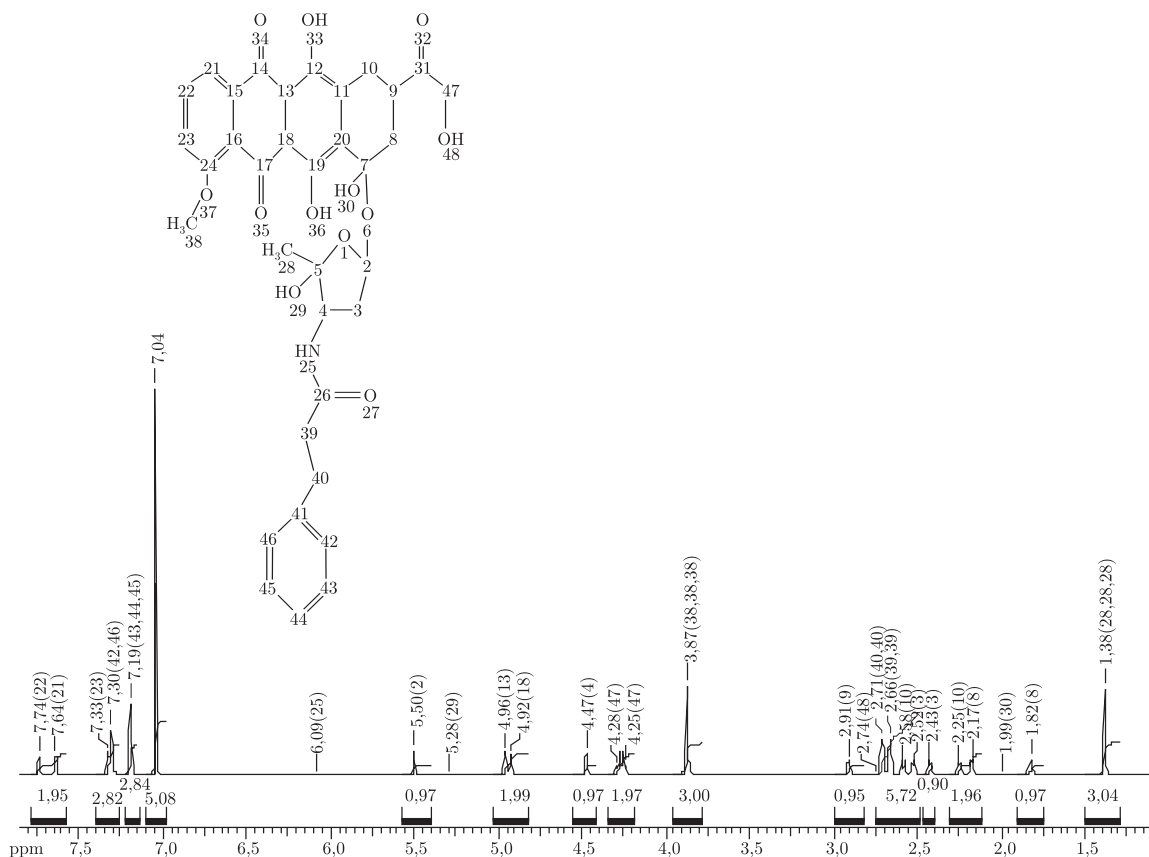


Рис. 1. ЯМР спектр продукту взаємодії доксорубіцину з фенілгліцидиловим ефіром

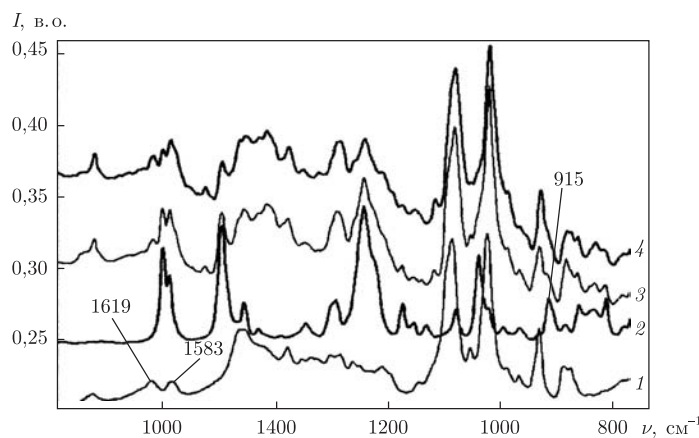


Рис. 2. ІЧ-спектри вихідних речовин і продукту реакції фенілгліцидилового ефіру і доксорубіцину: 1 – Докс; 2 – ФГЕ; 3 – ФГЕ + Докс на початку реакції; 4 – продукт реакції ФГЕ й Докс

Порівнюючи ІЧ-спектри продукту модельної реакції і вихідних речовин, спостерігали зміни інтенсивності смуг поглинання, що свідчить про хімічну взаємодію аміногруп препарату з епоксидними групами ФГЕ (рис. 2).

Спектр Докс в області $1500\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ має дві інтенсивні смуги 1619 cm^{-1} й 1583 cm^{-1} валентних коливань NH_2 -груп (див. криву 1 на рис. 2). Ці смуги відсутні в продукті реакції,

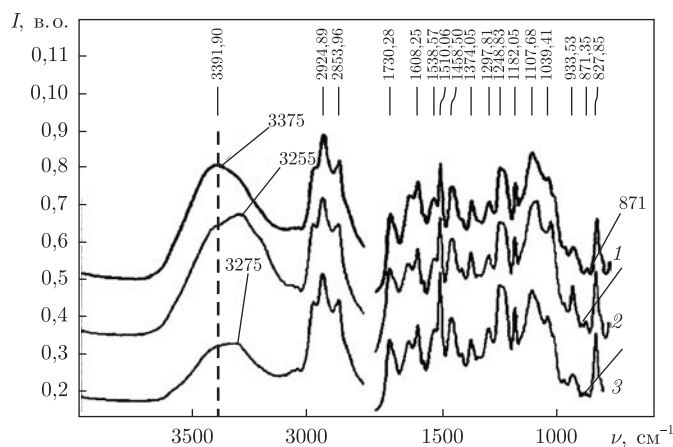


Рис. 3. ІЧ-спектри епоксиполіуретанових композиційних матеріалів, наповнених доксорубіцином і поліглідроксibuтиратом:

1 — ЕПУ (контроль); 2 — ЕПУ + 0,3% за масою ПГБ; 3 — ЕПУ + 0,3% за масою ПГБ + Докс

що свідчить про перетворення первинного аміну у вторинний (див. криві 3, 4). На спектрі ФГЕ присутня смуга 915 см^{-1} валентних коливань С–О зв'язків епоксидних груп (див. криву 2), але на спектрі продукту реакції ФГЕ з Докс (див. криві 3, 4) вона відсутня, що свідчить про розкриття епоксидного циклу. Поява широких смуг в області $1200\text{--}1600\text{ см}^{-1}$ вказує на утворення додаткової кетонної групи С=О та CH_2 -групи у залишку ФГЕ (див. криві 3, 4).

Методом ІЧ спектроскопії досліджено структуру отриманих композитів: ЕПУ вихідний, наповнений ПГБ різної масової концентрації 0,1, 0,3, 0,6, 3,0%, а також Докс у кількості 0,29% за масою (рис. 3).

За результатами ІЧ спектроскопії встановлено (див. рис. 3), що введення наповнювачів до ЕПУ приводить до перерозподілу системи водневих зв'язків і часткової зміни структури полімеру. В області $800\text{--}1000\text{ см}^{-1}$ при введенні Докс спостерігається зменшення інтенсивності смуги 871 см^{-1} , що відповідає за валентні коливання оксиранового циклу. Це вказує на взаємодію оксиранового циклу ЕПУ основи з аміногрупою Докс. При введенні ПГБ у композицію в кількості 0,3% за масою (див. криву 2) спостерігається перерозподіл інтенсивності смуги поглинання в області $3100\text{--}3600\text{ см}^{-1}$, чутливої до водневих зв'язків. Смуга при 3275 см^{-1} , яка характеризує валентні коливання асоційованих NH- й OH-груп при введенні ПГБ до 0,3% за масою збільшує свою інтенсивність і зсувається в бік менших частот ($\sim 3255\text{ см}^{-1}$), що говорить про виникнення більш зв'язаних водневими зв'язками груп NH й OH. Формується більш щільна структура, що в свою чергу приводить до покращання фізико-механічних властивостей досліджуваних композицій. При введенні Докс у композицію смуга валентних коливань 3323 см^{-1} зсувається в область більших частот 3375 см^{-1} . Утворюються менш зв'язані водневими зв'язками групи NH й OH, що, вірогідно, пов'язано з перегрупуванням сітки міжмолекулярних водневих зв'язків в присутності Докс, його ковалентним зв'язуванням з ЕПУ-матрицею за оксирановим циклом.

При проведенні фізико-механічних досліджень встановлено, що міцність ЕПУ композицій залежно від ПГБ і Докс має нелінійний характер (табл. 1).

Доведено, що композиції, які містять Докс або ПГБ, мають нижчі значення міцності на розрив, ніж композиції, в яких присутні обидва наповнювачі. Введення до складу

Таблиця 1. Фізико-механічні показники композитних матеріалів залежно від складу

Зразок	Масовий склад композиції, %	Міцність на розрив, МПа	Відносне подовження, %
1	ЕПУ	18,7 ± 0,2	13,6 ± 0,3
2	1. ЕПУ + 0,1 ПГБ	8,2 ± 0,4	34,4 ± 0,3
3	2. ЕПУ + 0,3 ПГБ	7,4 ± 0,4	43,7 ± 0,2
4	3. ЕПУ + 0,6 ПГБ	6,7 ± 0,2	39,3 ± 0,5
5	4. ЕПУ + 3 ПГБ	8,5 ± 0,4	33,75 ± 0,4
6	ЕПУ + Докс 0,29	14,0 ± 0,6	7,0 ± 0,3
7	ЕПУ + Докс 0,29 + 0,1 ПГБ	17,0 ± 0,3	10,0 ± 0,4
8	ЕПУ + Докс 0,29 + 0,3 ПГБ	18,0 ± 0,1	8,8 ± 0,1
9	ЕПУ + Докс 0,29 + 0,6 ПГБ	10,0 ± 0,2	6,4 ± 0,3
10	ЕПУ + Докс 0,29 + 3,0 ПГБ	13,0 ± 0,3	6,6 ± 0,2

ЕПУ доксорубіцину призводить до зменшення міцності на розрив вихідного ЕПУ з 18,7 до 14,0 МПа. У композиціях, наповнених як ПГБ, так і доксорубіцином, цей показник підвищується. Максимальне значення міцності на розрив спостерігається для композицій з ПГБ у кількості 0,1 й 0,3% за масою та постійним вмістом Докс 0,29% за масою. При цьому зменшується відносне подовження в 1,4–2,1 раза, що може бути пов'язано з утворенням більш щільної структури композиційного матеріалу, яка зумовлює міцнісні властивості. В зразках ЕПУ з ПГБ, навпаки, спостерігається збільшення відносного подовження в порівнянні з контрольним зразком в 2,5–3,2 раза. Враховуючи отримані результати, введення ПГБ до складу ЕПУ у масових концентраціях 0,1 й 0,3% є найбільш оптимальними з точки зору розробки нових композиційних матеріалів для медицини з достатньою міцністю та еластичністю.

Зміни в ІЧ-спектрах отриманих зразків ЕПУ композиційних матеріалів, наповнених ПГБ й Докс, зумовлені перерозподілом та утворенням нових міжмолекулярних зв'язків, зокрема водневих, а також хімічною іммобілізацією доксорубіцину по аміногрупі. Отримані результати корелюють з даними фізико-механічних досліджень.

Таким чином, у результаті проведених досліджень вивчено вплив наповнювачів на фізико-механічні властивості отриманих ЕПУ композиційних матеріалів. Показано, що введення ПГБ до складу ЕПУ у масових концентраціях 0,1 й 0,3% є найбільш оптимальними з точки зору розробки нових композиційних матеріалів для виготовлення кісткових імплантатів, які б володіли достатньою міцністю та еластичністю.

На прикладі модельної реакції Докс з ФГЕ методами ЯМР й ІЧ спектроскопії підтверджено можливість хімічної іммобілізації Докс на ЕПУ носії взаємодією NH₂-групи аміноцукру даунозаміну Докс з оксирановою групою ЕД-20.

За результатами ІЧ спектроскопічних досліджень введення до складу епоксиполіуретану ПГБ та Докс приводить до змін у структурі полімеру за рахунок перерозподілу та утворення нових міжмолекулярних водневих зв'язків і ковалентного зв'язування лікарського препарату з полімерною матрицею, що, в свою чергу, впливає на кінцеві фізико-механічні властивості композита.

За своїми фізико-механічними властивостями досліджувані епоксиполіуретанові композиційні матеріали, які містять у своєму складі полі-3-гідроксибутират і доксорубіцин можуть бути використані для створення нових біологічно активних імплантатів кісткової тканини.

1. Галатенко Н. А., Куксін А. М., Рожнова Р. А., Астапенко О. О. Поліуретан-епоксидні композиції з підвищеними механічними властивостями для реконструктивних операцій у щелепно-лицьовій хірургії // Доп. НАН України. – 2007. – № 3. – С. 142–148.
2. Горбунова Н. О., Галатенко Н. А., Рожнова Р. А., Куксін А. М. Синтез та дослідження біоактивних наноструктурованих поліуретан-епоксидних композиційних матеріалів // Там само. – 2010. – № 2. – С. 144–148.
3. Brzeska Janik H., Kowalczyk M., Rutkowska M. Preliminary investigations of biocompatibility of polyurethanes based on synthetic polyhydroxybutyrate // Eng. of Biomater. – 2011. – **14**. – P. 106–108.
4. Resiak I., Rokicki G. Modyfikowane poliuretany do zastosowac medycznych // Polimery. – 2000. – No 9. – S. 592–602.
5. Рожнова Р. А., Галатенко Н. А., Замуліна Л. І. та ін. Вивчення біодеструкції полімерних лікарських форм з іммобілізованими нестероїдними протизапальними препаратами в модельних середовищах // Доп. НАН України. – 2006. – № 8. – С. 177–181.
6. Галатенко Н. А., Куксін А. М., Рожнова Р. А., Астапенко О. О. Біодеградуемий матеріал біоактивної дії на основі поліуретан-епоксидних композицій як носій лікарських речовин // Полімер. журн. – 2008. – **230**, № 2. – С. 169–173.
7. Brzeska J., Dacko P., Janeczek H. et al. Influence of synthetic polyhydroxybutyrate on selected properties of novel polyurethanes for medicine. Polyurethanes based on aliphatic diisocyanate in hard segments // Polimery. – 2011. – **1**. – P. 27–34.
8. Brzeska J., Janik H., Kowalczyk M., Rutkowska M. The properties of polyurethanes based on synthetic polyhydroxybutyrate for medical application // Bull. of the Polish Acad. of Sci.: Techn. Sci. – 2014. – **62**, No 1. – P. 56–60.
9. Ferreira M. J., Duarte N., Gyemant N. Interaction between doxorubicin and the resistance modifier stilbene on multidrug resistant mouse lymphoma and human breast cancer cells // Anticancer Res. – 2006. – **26**, No 5A. – P. 35–41.
10. Elbl L., Vasova I., Navratil M. et al. Late cardiotoxicity in patients with malignant lymphoma treated with doxorubicin chemotherapy // J. Vnitr Lek. – 2006. – **52**, No 4. – P. 328–38.
11. Ипатова О. М., Зыкова М. Г., Торховская Т. И. и др. Возможности использования фосфолипидной наносистемы с глицирризиновой кислотой (Фосфоглив) для оптимизации лекарственных препаратов, на примере доксорубина и будесонида // Биомед. химия. – 2009. – **55**, № 2. – С. 185–194.

*Інститут хімії високомолекулярних сполук
НАН України, Київ*

Надійшло до редакції 27.07.2014

С. А. Лукашевич, Р. А. Рожнова, Н. А. Галатенко, Г. А. Козлова

Епоксиполіуретанові композиційні матеріали, наповнені полігідроксибутиратом і доксорубицином для виготовлення костних імплантатів

На основі епоксиполіуретанової (ЕПУ) композиції з використанням наповнителів полігідроксибутирата (ПГБ) і доксорубіцина були отримані нові біологічно активні полімерні матеріали, які можуть бути використані як костні імплантати. Вивчено вплив наповнителів на фізико-механічні властивості отриманих ЕПУ композиційних матеріалів і встановлено оптимальний масовий склад ПГБ 0,1 і 0,3%. Методом ІК спектроскопії показано вплив наповнителів на структуру композицій. На прикладі моделі реакції доксорубіцина з фенолглицидиловим ефіром показано можливість хімічної іммобілізації лікарського препарату на ЕПУ носії.

Epoxy polyurethane composites filled with polyhydroxybutyrate and doxorubicin for the manufacture of bone implants

On the basis of epoxy polyurethane (EPU) compositions of fillers (polyhydroxybutyrate) (PHB) and doxorubicin), the new biologically active polymer materials that can be used as bone implants are obtained. The effect of fillers on the physical and mechanical properties of the EPU composite materials is studied, and the optimum compositions of PHB to be 0.1 and 0.3 wt. % are determined. The method of IR spectroscopy shows the effect of fillers on the structure of the compositions. By the example of a model reaction of doxorubicin with phenyl glycidyl ether, the possibility of the chemical immobilization of the drug on the EPU carrier is shown.