

Р.А. Рожнова, Н.А. Галатенко, Л.І. Замуліна, І.І. Гладир

**ВИВЧЕННЯ БІОДЕСТРУКЦІЇ ЛАКТОЗОВМІСНИХ ПОЛІМЕРІВ
У МОДЕЛЬНОМУ СЕРЕДОВИЩІ МЕТОДОМ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ**

Методом ексклюзивної рідинної хроматографії визначено молекулярні маси і молекулярно-масові розподілення лактозовмісних сегментованих поліуретанів до і після експозиції їх у модельному середовищі. Показано, що на молекулярно-масові характеристики впливають як тривалість інкубації досліджуваних полімерів у модельному середовищі, так і вміст природного фрагменту в полімерному ланцюзі.

Введення в головний ланцюг поліуретанів фрагментів природних сполук надає полімерам здатність до біодеструкції під дією внутрішнього середовища організму [1]. Так, відомо [2], що блок-сополіуретани, які містять у головному ланцюзі олігосахариди, підлягають ферментативному розщепленню. Характеристична в'язкість поліуретанів, що містять в головному ланцюзі різні цукри — мальтозу, целобіозу, лактозу, сорбіт, маніт, ксиліт, значно знижувалась [3] на 21 добу інкубації в однопроцентному розчині α -амілози і β -галактозидази.

З метою вивчення біодеструкції лактозовмісних полімерів були використані синтезовані нами [4] полімери на основі 1,4-бутандіолу (1,4-БД) і лактозовмісного мономеру 2,4-толуїлен-діуретанолактози (2,4-ТДУЛ) у співвідношенні 0:1 для поліуретану Л-4, у співвідношенні 3:1 — для поліуретану Л-6 та поліуретану Р-5, що не містить лактозовмісного фрагменту (співвідношення 1:0).

У роботі [5] було показано, що серед модельних біологічно-активних середовищ найбільшу деструктивну дію на лактозовмісні полімери має модельне середовище 199, яке моделює тканинну рідину організму. Тому ми спостерігали біодеструкцію обраних полімерів у цьому середовищі, використовуючи ексклюзивний метод рідинної хроматографії, зважаючи на те, що розподілення по молекулярним вагам досліджуваних поліуретанів може відображати їх фізичні властивості.

При визначенні молекулярно-масових характеристик досліджувались контрольні зразки Л-4, Л-6 та Р-5, а також ці ж самі зразки після витримання їх у модельному середовищі протягом 1 та 6 міс.

Для виконання експерименту наважки обраних зразків полімерів розчиняли в диметилформаміді (концентрація розчинів становила 0.1 % мас.). Експеримент проводився при температурі 500 °С і тиску 43—44 бар.

Хроматографічні дослідження проводили на комплекті для рідинної хроматографії фірми Du

Pont [6]. В якості елюенту був вибраний диметилформамід тому, що область прозорості чистого елюенту є достатньою для фіксування ультрафіолетовим датчиком. Вибір датчика обумовлений задовільною видимістю полімера в даній області спектра. Датчик був налагоджений на довжину хвилі 280 нм, що відповідає поглинанню фенільного кільця в цій області.

Для визначення молекулярних параметрів використані бімодальні колонки Zorbax PSM-100 та 1000 з диференційним розподіленням пор за розміром, що охоплюють щонайширший діапазон молекулярних мас. Розрахунок констант калібровки колонки проводився по полістирольному стандарту Du Pont з молекулярною масою $M_w = 50000$ та $M_w/M_n = 1.1$ за допомогою програми Insoftus MWD.

Результати вимірювання молекулярно-масових характеристик зведені в таблицю. Всі приведені на рисунку, *a* хроматограми, побудовані в залежності від розрахованих молекулярних мас, мають бімодальне розподілення, тому в таблиці вказуються дані для кожного піку окремо.

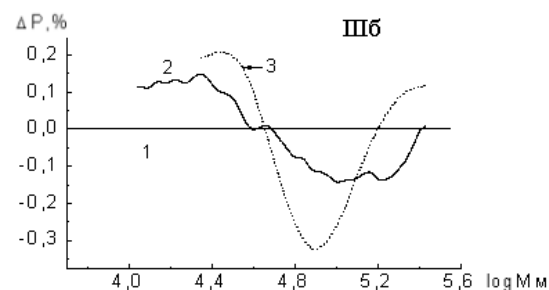
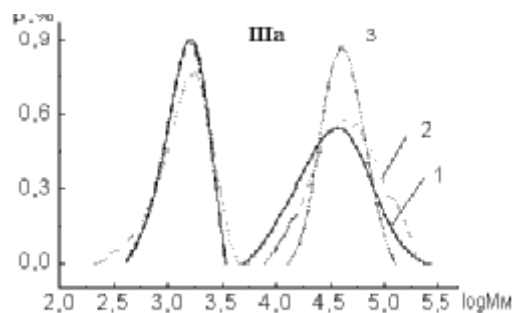
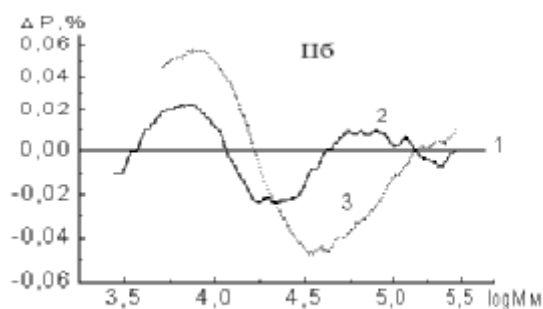
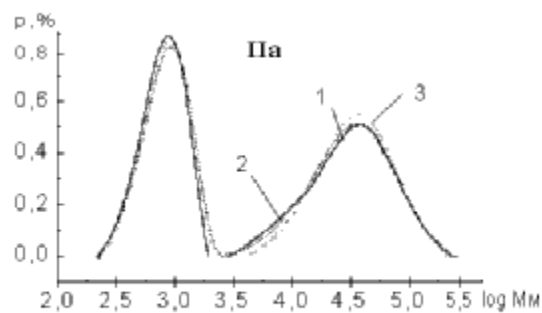
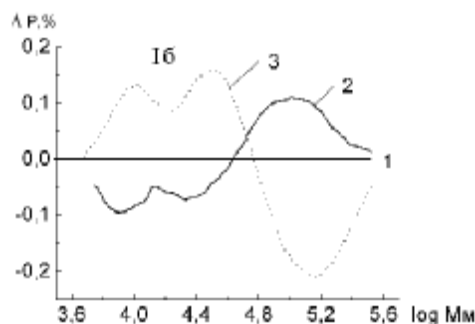
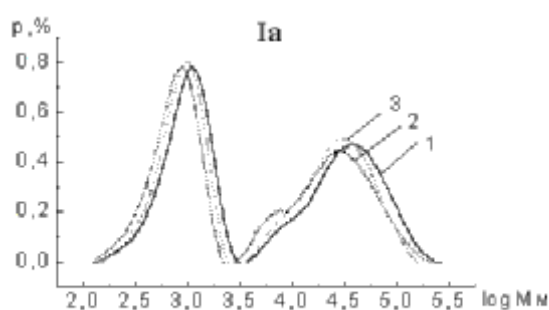
Програма розрахунку дає можливість одержувати кількісну різницю вмісту фракцій різних молекулярних мас для полімерів до і після інкубації їх в модельному середовищі.

Дані, що характеризують зміну молекулярно-масового розподілення (ММР), представлені двома типами рисунків. На рисунках з позначкою "а" показані криві ММР для контрольних зразків та цих же зразків після експозиції їх в модельному середовищі. На рисунках з позначкою "б" зображені різниці між вмістом даної фракції в контрольному і дослідному зразках. Програма розрахунку дозволяє знаходити різницю величин процентного вмісту фракції відповідних молекулярних мас.

Знаючи процентний вміст *i*-тої фракції в контрольному зразку (P_i^0) і після експозиції (P_i), ми визначили зміну вмісту фракцій різних молеку-

Результати вимірювання молекулярних характеристик досліджуваних полімерів

Зразок полімеру	Контрольний полімер		Термін експозиції в модельному середовищі			
			1 місяць		6 місяць	
	Низькомолекулярний пік	Високомолекулярний пік	Низькомолекулярний пік	Високомолекулярний пік	Низькомолекулярний пік	Високомолекулярний пік
Л-4	$M_M = 846$	$M_M = 43200$	$M_M = 814$	$M_M = 34000$	$M_M = 930$	$M_M = 34000$
	$M_n = 650$	$M_n = 23400$	$M_n = 626$	$M_n = 16800$	$M_n = 726$	$M_n = 19800$
Л-6	$M_M/M_n = 1.3$	$M_M/M_n = 1.84$	$M_M/M_n = 1.3$	$M_M/M_n = 2.01$	$M_M/M_n = 1.28$	$M_M/M_n = 1.72$
	$M_M = 948$	$M_M = 12400$	$M_M = 910$	$M_M = 42000$	$M_M = 870$	$M_M = 34000$
Р-5	$M_n = 716$	$M_n = 21800$	$M_n = 6705$	$M_n = 22000$	$M_n = 670$	$M_n = 17800$
	$M_M/M_n = 1.32$	$M_M/M_n = 1.94$	$M_M/M_n = 1.29$	$M_M/M_n = 1.9$	$M_M/M_n = 1.3$	$M_M/M_n = 1.9$
Р-5	$M_M = 878$	$M_M = 43000$	$M_M = 803$	$M_M = 55000$	$M_M = 870$	$M_M = 45000$
	$M_n = 658$	$M_n = 25500$	$M_n = 607$	$M_n = 35800$	$M_n = 648$	$M_n = 37900$
	$M_M/M_n = 1.33$	$M_M/M_n = 1.67$	$M_M/M_n = 1.32$	$M_M/M_n = 1.54$	$M_M/M_n = 1.34$	$M_M/M_n = 1.19$



Криві молекулярно-масового розподілення (а) полімерів Л-4 (I), Л-6 (II), Р-5 (III) і зміна вмісту фракцій різних молекулярних мас (б) в залежності від терміну експозиції в модельному середовищі: 1 — до експозиції; 2 — після 1 місяця експозиції; 3 — після 6 місяців експозиції.

лярних мас за формулою:

$$\Delta P = P_i^0 - P_i,$$

де P_i^0 — вміст (%) i -тої фракції контрольного зразка; P_i — те ж для дослідного зразка; ΔP — відхилення від вмісту даної фракції в дослідному зразку від контрольного зразка.

Похибка розрахункових величин розподілення становить $\pm 1\%$.

На залежностях ΔP , %— $\log M_m$ (рисунок, б) позитивні значення ММР відповідають процентному вмісту фракцій полімера, що знизився після інкубації його в модельному середовищі. Негативні значення — це процентний вміст фракцій, що збільшили внесок в ММР.

Як видно з рисунку Іа, для зразка Л-4 спостерігається незначне відхилення ММР у бік мультимодальності після витримування його в модельному середовищі протягом 1 міс зі значним зниженням (таблиця) вагової і чисельної молекулярної ваги. Через 6 міс експозиції цього зразка спостерігається стабілізація молекулярних мас.

Для зразка Л-6 (рисунок Іа і таблиця) спостерігається поступове зниження вагових і чисельних молекулярних мас. Полімер Р-5 (рисунок ІІа і таблиця) характеризується значним зростанням молекулярних характеристик після одного місяця перебування його в модельному середовищі і різким звуженням молекулярно-масового розподілення після 6 міс експозиції, що можна пояснити можливою рекомбінацією молекул зі зниженням вмісту низькомолекулярних фракцій.

Таким чином, дослідження показали, що найбільшу деградуючу дію модельне середовище справляє на полімер Л-4 (втрачає 9200 одиниць молекулярної ваги за весь період дослідження), що містить максимальну кількість лактозовмісного фрагменту.

Зі зниженням вмісту природної сполуки в полімерному ланцюзі (полімер Л-6) деструкція набуває поступового характеру і ступінь деструкції помітно знижується (за весь період дослідження молекулярна вага знизилась на 4000 одиниць).

Дія модельного середовища на полімер Р-5, що не містить лактозовмісного фрагменту, сприяє рекомбінації молекул, про що свідчить значне підвищення значення молекулярної ваги і суттєве звуження молекулярно-масового розподілення (рисунок ІІа).

Проведені дослідження дають змогу стверджувати, що, змінюючи вміст лактозовмісного фрагменту в полімерному ланцюзі, можна регулювати і прогнозувати термін і ступінь біодеструкції полімерів у живому організмі.

РЕЗЮМЕ. Методом ексклюзионной жидкостной хроматографии определены молекулярные массы и молекулярно-массовые распределения лактозосодержащих сегментированных полиуретанов до и после экспозиции их в модельной среде. Показано, что на молекулярно-массовые характеристики влияют как продолжительность инкубации исследуемых полимеров в модельной среде, так и содержание природного фрагмента в полимерной цепи.

SUMMARY. The molecular weights and molecular-mass distributions of the lactose-containing segmented polyurethanes before and after their exposition in the modelling environment were determined by the exclusion liquid chromatography method. It is shown, that on molecular-mass characteristics influence as duration incubation as containing natural fragment in polymeric chain.

1. Буренко Г. В., Галатенко Н. А., Кабак К. С. и др. Морфологические и биохимические аспекты биодеструкции полимеров / Под ред. Г.А. Пхакадзе. -Киев: Наук. думка, 1986.
2. Lynn M.M., Stannet V.T., Gibbert R.D. // J. Polym. Sci.: Polym. Chem. Ed. -1980. -18, № 6. -P. 1967—1977.
3. Лунатова Т.Э., Снегирев А. И., Пхакадзе Г.А. // Укр. биохим. журн. -1983. -19, № 2. -С. 539—543.
4. Рожнова Р.А., Галатенко Н.А., Замуліна Л.І., Гладир І.І. // Полімерна технологія. -2005. -№ 6. -С. 96—100.
5. Рожнова Р.А., Н.А. Галатенко, Замуліна Л.І. та ін. // Полімерний журнал. -2006. -28, № 3. -С. 195—199.
6. Stynder L.R, Kirkland J.J. Introduction to Modern Lipid Chromatography. -New-York: John Wiley and Sons, 1979.