

POLIASPARAGINIANY JAKO NOWE MATERIAŁY POLIMEROWE DO ZASTOSOWAŃ W INŻYNIERII BIOMATERIAŁOWEJ

J. POLACZEK*, J. PIELICHOWSKI, M. PIĄTKOWSKI

POLITECHNIKA KRAKOWSKA,
KATEDRA CHEMII I TECHNOLOGII TWORZYW SZTUCZNYCH,
UL. WARSZAWSKA 24, 31-155 KRAKÓW, POLSKA
* E-MAIL: JPOLACZE@USK.PK.EDU.PL

Streszczenie

W Katedrze Chemii i Technologii Tworzyw Sztucznych PK opracowano nowatorską, oryginalną metodę syntezy poli(kwasu asparaginowego)(PAA) i jego pochodnych przy wykorzystaniu techniki mikrofalowej [1]. Przeprowadzono badania nad degradacją poliasparagininów w roztworze soli fizjologicznej. Podjęto też próby zastosowania ich jako modyfikatorów tworzyw stosowanych w implantologii, podłoża do hodowli komórek oraz nośnika leku.

Słowa kluczowe: poliasparaginy, modyfikacja, mikrofae, inżynieria biomateriałów.

[Inżynieria Biomateriałów, 77-80, (2008), 84-86]

Wstęp

W ostatnich latach, w wielu ośrodkach badawczych, trwają intensywne prace w kierunku otrzymania nowych, biodegradowalnych polimerów o wysokiej czystości, które w przyszłości mogą być wykorzystane w inżynierii biomateriałów. Zarówno same polimery, jak i produkty powstające wskutek ich rozpadu w organizmie muszą być nietoksyczne, nie mogą wywoływać stanów zapalnych i innych reakcji immunologicznych, a także zmian w płynach ustrojowych. Obecnie stosowane są powszechnie pochodne kwasu mlekowego (polilaktydy) oraz poli(glikole etylenowe) [2]. Coraz częściej też, ze względu na swoje specyficzne właściwości, znajdują zastosowania różnego rodzaju poliaminokwasy, między innymi poli(kwas asparaginowy) i jego pochodne.

Część eksperymentalna

Opracowano warunki syntezy PAA oraz następujących pochodnych: kopolimer kwasu asparaginowego z kwasem mlekowym (PAL), ester poli(kwasu asparaginowego) z 1,4-butanodiolem (PAA/Bu), modyfikowany kwasem asparaginowym chitozan (AA/Ch) i skrobia (AA/S) oraz połączenie leku – grizeofulwiny z PAA (PAA/Gr) [3-5].

Syntezy prowadzono w reaktorze mikrofalowym firmy „Milestone”, metodą bezciśnieniową, w rozpuszczalniku lub w stopie, bez udziału katalizatora. W zależności od rodzaju powstającego polimeru programowano odpowiednie parametry reakcji takie jak: całkowity czas trwania reakcji, temperaturę procesu oraz moc promieniowania mikrofalowego, a także ilość cykli mikrofalowych koniecznych do przeprowadzenia syntezy. W kolbie umieszczano odpowiednią ilość monomerów oraz rozpuszczalnika i prowadzono reakcję do momentu zakończenia wydzielania wody. Następnie produkt wytrącano metanolem, acetonem lub wodą w zależności od rodzaju polimeru. W TABELI 1. przedstawiono parametry syntezy otrzymanych polimerów.

POLYASPARTATES AS A NEW POLYMERIC MATERIALS APPLICABLE IN BIOMATERIAL ENGINEERING

J. POLACZEK*, J. PIELICHOWSKI, M. PIĄTKOWSKI

CRACOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
DEPARTMENT OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF POLYMERS,
24, WARSZAWSKA STREET, 31-155 CRACOW, POLAND
* E-MAIL: JPOLACZE@USK.PK.EDU.PL

Abstract

At the Department of Chemistry and Technology of Polymers a new original method of poly(aspartic acid)(PAA) and its derivatives synthesis under microwave irradiation was developed [1]. Tests on degradation of polyaspartates in physiological salt solution as well as application as modifiers of plastics used in implantology, cell culture basis and drug carrier were carried out.

Keywords: polyaspartates, modification, microwaves, biomaterial engineering.

[Engineering of Biomaterials, 77-80, (2008), 84-86]

Introduction

Recently in many research centres experiments on synthesis of new biodegradable polymeric materials of high-purity, applicable in biomaterial engineering are pursued. As well polymers, as the products of their decomposition in the human body, should not be toxic and should not cause inflammatory states or other immunological changes. Nowadays derivatives of lactic acid (polylactides) and poly(ethylene glycols) are commonly used. Because of the specific properties of polyaminoacids, they are more and more frequently applied, among others poly(aspartic acid) and its derivatives.

Experimental Part

Synthesis parameters for PAA and its derivatives such as: copolymer of aspartic acid and lactic acid (PAL), ester of poly(aspartic acid) with 1,4-butanediol (PAA/Bu), chitosan (AA/Ch) and starch (AA/S) modified with aspartic acid and combination of a drug – griseofulvin with PAA (PAA/Gr), were developed [3-5].

Syntheses were carried out in “Milestone” microwave reactor in atmospheric pressure in solvent or solid-state, without catalyst. Depending on polymer type proper reaction parameters such as: reaction time, process temperature, microwave radiation power and a number of microwave cycles necessary to complete the reaction, were programmed. In round bottom flask appropriate amount of monomers and solvent were placed. The reaction was carried out until end of water condensation was observed. The product was precipitated with methanol, acetone or water, depending on polymer type. Parameters of synthesis of received polymers are shown in TABLE 1.

TABELA 1. Parametry syntezy PKA i jego pochodnych.
TABLE 1. Parameters of synthesis of PAA and its derivatives.

Próbka Sample	Stosunek wagowy Weight ratio	Rozpuszczalnik Solvent	Czas reakcji Reaction time [min.]	Temperatura reakcji Reaction temperature [°C]	Moc Power [W]	Wydajność Yield [%]
PKA	-	PC	30	170-230	380-420	92
PKA/Gr	-	BA	53	90-100	120-140	10
PAL	1:1	PC	40	160-190	480-510	60
PKA/Bu	1:2,5	-	43	100-200	400-800	66
KA/Ch	2:1	GE	35	80-140	230-300	54
KA/S	1:1	W	43	50-90	225-240	65

PC - węgiel propylenowy/propylene carbonate, BA - alkohol benzylowy/benzyl alcohol, GE - glikol etylenowy/ethylene glycol, W - woda/water

Wszystkie otrzymane polimery miały postać proszku w kolorach od żółtego do brązowego i były rozpuszczalne w DMSO, DMF, wodzie oraz nierozpuszczalne w alkoholach. Analizy FT IR oraz ¹H NMR poli(kwasu asparaginowego) i jego pochodnych wykazały, że zawierają one w swojej strukturze fragmenty cykliczne pochodzące od imidu kwasu bursztynowego, który pod wpływem wodorotlenków (NaOH, KOH) ulega hydrolizie z utworzeniem formy liniowej. Oznaczono również ciężary cząsteczkowe polimerów metodą chromatografii żelowej (GPC), które wynoszą od 18000 (kopolimer PAL) do 60700 (układ PAA/Gr). Zbadano też ich odporność termiczną metodą analizy termogravimetrycznej (TG), która wykazała, że polimery te są odporne termicznie od temperatury 230°C (kopolimer AA/S) do temperatury 340°C (PAA).

Cenną zaletą poliasparaginianów ze względu na ich potencjalne zastosowania w inżynierii biomateriałów jest fakt, że ulegają one zarówno degradacji jak i biodegradacji. Szybkość degradacji zależy od ich struktury chemicznej jak też ciężaru cząsteczkowego. Dlatego też przeprowadzono badania nad degradacją wybranych polimerów oznaczając pH roztworów oraz ubytek masy polimeru po degradacji. Analizę prowadzono zgodnie z normą PN-EN ISO 10993 – 13. Degradację PAA prowadzono w roztworze fizjologicznym NaCl (0,9% wag). Zaobserwowane zmiany pH roztworów w ciągu 30 dni, w temperaturze 37°C zaprezentowano w TABELI 2.

Analiza FTIR wykazała, że fragmenty cykliczne PKA ulegają hydrolizie do formy liniowej, natomiast analiza GPC wykazała, że poliasparaginiany degradują do odpowiednich oligomerów.

Ze względu na szereg interesujących właściwości, jakie wykazują poliasparaginiany przeprowadzono wstępne badania aplikacyjne. W celu podwyższenia właściwości tribologicznych polietyleny HDPE i UHMW oraz polilaktidu, stosowanych w implantologii, wykorzystano jako modyfikator poli(kwas asparaginowy) o budowie cyklicznej, dodawany do tworzyw termoplastycznych w ilości od 2 do 10% wag. Przeprowadzone badania wykazały, że dodatek PAA powoduje podwyższenie ich właściwości tribologicznych rzędu kilkunastu procent [6]. Z kolei PAA o budowie liniowej zastosowano jako nośnik leku - gryzeofulwiny, który wykazuje dużą aktywność biologiczną, ale nie rozpuszcza się w wodzie. W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano gryzeofulwinę związaną z poli(kwasem asparaginowym), rozpuszczalną w wodzie, czyli układ który powoduje większą biodostępność leku, przez co możliwe jest stosowanie mniejszych dawek.

Ciekawe wyniki uzyskano wykorzystując modyfikowany chitozan o właściwościach foliotwórczych jako podłoże do hodowli komórek. Przeprowadzone badania in vitro potwierdziły realne możliwości aplikacji pochodnych chitozanu [7].

Received polymers were in form of yellow to brown powders, soluble in DMSO, DMF, water and insoluble in alcohols. FT IR and ¹H NMR analyses of poly(aspartic acid) and its derivatives has shown presence of cyclic fragments from succinic acid imide, which can be hydrolysed with hydroxides (NaOH, KOH) producing linear form. Polymers molecular weight was determined with use of gel permeation chromatography (GPC) and averaged from 18000 (PAL copolymer) to 60700 (combination PAA/Gr). Thermogravimetric analysis (TG) showed that polymers are thermally stable from 230°C (AA/S copolymer) to 340°C (PAA). Degradation as well as biodegradation of polyaspartates are very valuable advantages. Because of this fact it is possible application in biomaterial engineering. Degradation rate depends on polymer chemical structure and molecular weight. Studies on degradation of selected polymers were carried out, measuring mass loss and pH of solutions. The analyses were in accordance with PN-EN ISO 10993 – 13. Partial degradation of PAA was carried on in physiological NaCl solution (0,9 wt%). The change of the solution pH during 30 days, in temperature of 37°C was observed and presented in TABLE 2.

TABELA 2. Zmiany pH roztworów oraz ubytek masy próbek w trakcie degradacji.

TABLE 2. Solution pH changes and mass loss of samples during degradation.

Próbka Sample	Czas degradacji Degradation time						Ubytek masy Mass loss	
	0	24 h	48 h	7 days	15 days	30 days	g	%
PAA	5,9	3,3	3,2	3,1	3,1	3,1	1,289	72
PAL	5,9	2,3	2,5	2,1	2,0	1,9	1,687	84
AA/Ch	5,9	5,8	5,8	5,8	5,7	5,6	0,668	33
PAA/Gr	5,9	2,0	1,9	1,8	1,7	1,7	1,793	91

FT IR analysis has shown that PAA cyclic fragments hydrolyse into linear form, and GPC analysis has shown that polyaspartates degrade into oligomers.

Because of interesting properties of polyaspartates preliminary application tests were carried out. Cyclic form of poly(aspartic acid) in amount of 2 and 10wt% was used to increase tribological properties of HDPE and UHMW polyethylene and polylactide used in implantology. The increase was approximately several percent [6]. The PAA linear form was used as a drug carrier – griseofulvin, which is very biologically active but insoluble in water. Experiments resulted in receiving griseofulvin connected with poly(aspartic acid) and soluble in water. Because of this fact the drug shows greater bioaccessibility and lower dose is necessary.

Podobne zastosowania mogą też wykazywać folie wykonane ze skrobi modyfikowanej kwasem asparaginowym. Polimer o odmiennych właściwościach otrzymano dzięki zmianie środowiska reakcji chitozanu z kwasem asparaginowym. Powstał polimer o właściwościach hydrożelu, który w przyszłości może zostać wykorzystany do otrzymywania nowych, w pełni biodegradowalnych opatrunków hydrożelowych.

Podsumowanie

Zastosowanie promieniowania mikrofalowego umożliwiło całkowite wyeliminowanie ze środowiska reakcji toksycznego katalizatora H_3PO_4 , a tym samym otrzymanie polimerów o wysokiej czystości do zastosowań w inżynierii biomateriałów. Ponadto uzyskano znaczne skrócenie czasu prowadzonych syntez z kilkunastu godzin do ok. 1 godziny oraz wysoką wydajność reakcji.

Podziękowania

Badania finansowane były z grantu PB-3 T08E 029 29.

Very interesting results has shown modified film-forming chitosan applied in cell culture growth. Tests carried out in vitro confirmed possibility of modified chitosan application [7]. Similar applications for films of starch modified with aspartic acid are also possible. Because of the changing of chitosan and aspartic acid reaction medium, polymer with different properties was received. A hydrogel, which can be applied in the future as a new biodegradable dressing, was synthesised.

Summary

The use of microwave irradiation enables elimination of toxic catalyst H_3PO_4 from reaction medium and synthesis polymers of high-purity applicable in biomaterial engineering. Moreover great shortening of reaction time from several hours to ca. 1 hour and high yield was gained.

Acknowledgements

This researches were financed by the PB-3 T08E029 29 project.

Piśmiennictwo

- [1] J.Polaczek, J.Pielichowski, i inni, *Polimery*, 50, nr.11-12, 2005.
- [2] Huang Y.S., Cui F.Z, *Current Applied Physics* 5 (2005) 546–548.
- [3] J.Ortyl, J.Polaczek, J.Pielichowski, *Modern Polymeric Materials for Environmental Applications* vol.3, 155-159, 2008.
- [4] J.Pagacz, J.Polaczek, J.Pielichowski, *Modern Polymeric Materials for Environmental Applications* vol.3, 163-167, 2008.

References

- [5] J.Polaczek, M.Piątkowski, A.Bała, J.Pielichowski, *Modern Polymeric Materials for Environmental Applications* vol.3, 185-189, 2008.
- [6] J.Pielichowski, J.Polaczek, J.Pagacz, *Engineering of Biomaterials*, vol.10, 52-54, 2007.
- [7] T.Drewa, J.Adamowicz, A.Krawczyk, J.Polaczek, J.Pielichowski, J.Lysik, *Current Urology*, 1 (2007) 72-75.

BIOAKTYWNOŚĆ WARSTW TLENOAZOTOWANYCH NA STOPIE TYTANU Ti6Al4V

J.R. SOBIECKI¹, M. OSSOWSKI¹, J. SOB CZAK²,
A. ZAJĄ CZKOWSKA³, E. CZARNO WSKA³, T. WIERZCHOŃ¹

- ¹ POLITECHNIKA WARSZAWSKA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,
02-507 WARSZAWA, UL. WOŁOSKA 141, POLSKA
² POLSKA AKADEMIA NAUK, INSTYTUT CHEMII FIZYCZNEJ,
01-224 WARSZAWA, UL. KASPRZAKA 44/52, POLSKA
³ INSTYTUT „POMNIK” CENTRUM ZDROWIA DZIECKA,
04-730 WARSZAWA, AL. DZIECI POLSKICH 20, POLSKA

[*Inżynieria Biomateriałów, 77-80, (2008), 86-89*]

Tytan i jego stopy należą do najbardziej perspektywicznych biomateriałów metalicznych m.in. z uwagi na najlepszą odporność na korozję, dobre właściwości mechaniczne przy niskiej gęstości oraz najniższy moduł sprężystości (dwukrotnie mniejszy niż stali austenitycznych oraz stopu CoCrMo), i biogodność. Badania tytanu i jego stopów w środowisku symulującym płyn ustrojowy wykazały, że na ich powierzchni tworzy się samorzutnie warstwa fosforanów wapnia. Jest ona wprawdzie stosunkowo cienka rzędu kilku nanometrów po kilkunastu dniach ekspozycji w płynie SBF [1,2], niemniej jednak wpływa ona korzystnie na wiązanie się implantu z kością. Mechanizm tworzenia się fosfora-

BIOACTIVITY OF OXYNITRIDED LAYERS PRODUCED ON THE Ti6Al4V TITANIUM ALLOY

J.R. SOBIECKI¹, M. OSSOWSKI¹, J. SOB CZAK²,
A. ZAJĄ CZKOWSKA³, E. CZARNO WSKA³, T. WIERZCHOŃ¹

- ¹ WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING
141, WOŁOSKA STR., 02-507 WARSZAW, POLAND
² PAS, INSTITUTE OF PHYSICAL CHEMISTRY
44/52, KASPRZAKA STR., 01-224 WARSZAW, POLAND
³ THE CHILDREN'S MEMORIAL HEALTH INSTITUTE
20, DZIECI POLSKICH AV., 04-730 WARSZAWA, POLAND

[*Engineering of Biomaterials, 77-80, (2008), 86-89*]

Titanium and its alloys belong to the group of the most prospective metallic biomaterials, which is due to their best corrosion resistance, advantageous mechanical properties combined with low density, the lowest Young modulus (half of the moduli of austenitic steels and the CoCrMo alloy), and good biocompatibility. It has appeared that when titanium and its alloys are immersed in a simulated body fluid (SBF) environment, calcium phosphate layer forms spontaneously on their surface. Even though the layer is relatively thin (after several days of an exposure in SBF its thickness is of the order of a few nanometers) [1,2], it promotes the formation of a good bond between the implant and the bone. The for-