

OCENA BUDOWY CHEMICZNEJ, STRUKTURY FAZOWEJ ORAZ SAMOORGANIZACJI MAKROCZĄSTECZEK POLI(ALIFATYCZNO/ AROMATYCZNYCH-ESTRO- AMIDO-ETERÓW) (PAAEAE)

JOANNA GAJOWY, MIROŚLAWA EL FRAY*

ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET TECHNOLOGICZNY W SZCZECINIE,
INSTYTUT POLIMERÓW,
ZAKŁAD BIOMATERIAŁÓW I TECHNOLOGII MIKROBIOLOGICZNYCH,
AL. PIASTÓW 45, 70-322 SZCZECIN

* E-MAIL: MIRFRAY@ZUT.EDU.PL

Streszczenie

Celem pracy było zbadanie wpływu metoksy poli(glikolu etylenowego) (mPEG) o dwóch różnych masach molowych na strukturę chemiczną, mikro-separację fazową oraz samoorganizację makrocząstek w środowisku wodnym poli(alifatyczno/aromatycznych-estro-amido-eterów) (PAAEAE). Do określenia budowy chemicznej produktów reakcji wykorzystano metodę spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR) oraz różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) do oceny struktury fazowej kopolimerów. Samoorganizację makrocząstek PAAEAE do form micelarnych/nanosferycznych w środowisku wodnym oceniano wykorzystując transmisyjną mikroskopię elektronową (TEM). Spektroskopia ^1H NMR potwierdziła oczekiwaną budowę chemiczną zsyntetyzowanych materiałów. Analiza DSC wykazała, że użycie mPEG o wysokiej masie molowej, czyli 5000 g/mol prowadzi do utworzenia materiału o dobrze zdefiniowanej strukturze fazowej. Materiał ten wykazuje zdolność do samoorganizacji w micelle/nanosfery o hydrofobowym wnętrzu i hydrofilowej powłoce. Może być używany w medycynie do enkapsulacji/immobilizacji różnych witamin i białek.

Słowa kluczowe: nanosfery, metoksy poli(glikol etylenowy), poliestry, pochodne tyrozyny, dimer kwasu tłuszczowego

[Inżynieria Biomateriałów 120 (2013) 30-34]

Wprowadzenie

Syntetyczne materiały polimerowe odegrały na przestrzeni ostatnich lat znaczącą rolę w zastosowaniach medycznych. Polimerowe biomateriały ze względu na łatwość ich wytwarzania i przetworstwa, racjonalny koszt produkcji oraz pożądane właściwości mechaniczne i fizyczne są stosowane w protetyce, okulistyce, stomatologii, implantologii oraz jako systemy dostarczania i kontrolowanego uwalniania leków [1].

W związku z ogromnymi możliwościami aplikacyjnymi biomateriałów polimerowych, opracowano nową rodzinę kopolimerów – poli(alifatyczno/aromatyczne-estro-amido-eter), zawierające w swojej strukturze pochodne tyrozyny (DTR), dimer kwasu linoleinowego (DLA) oraz poli(glikol etylenowy) (PEG) lub metoksy poli(glikol etylenowy) (mPEG). Koncepcja opracowania tych materiałów zakładała połączenie bioaktywnych i nietoksycznych monomerów,

EVALUATION OF CHEMICAL STRUCTURE, MICROPHASE SEPARATION AND SELF-ASSEMBLING OF POLY(ALIPHATIC/AROMATIC- ESTER-AMIDE-ETHER)S (PAAEAE)S

JOANNA GAJOWY, MIROŚLAWA EL FRAY*

WEST POMERANIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY SZCZECIN,
POLYMER INSTITUTE,
DIVISION OF BIOMATERIALS AND MICROBIOLOGICAL TECHNOLOGIES,
AL. PIASTÓW 45, 70-322 SZCZECIN, POLAND

* E-MAIL: MIRFRAY@ZUT.EDU.PL

Abstract

In this paper we discuss the influence of poly(ethylene glycol) methyl ether (mPEG) of two different molecular masses on chemical structure, microphase separation and self-assembling of poly(aliphatic/aromatic-ester-amide-ether)s (PAAEAE)s. We used NMR spectroscopy to evaluate chemical structure of synthesized materials as well as DSC analysis to estimate the phase structure. The self-organization of PAAEAEs into micellar/nanospheric structures in aqueous environment was evaluated using transmission electron microscopy (TEM). NMR spectroscopy confirmed chemical structure of synthesized materials. DSC analysis indicated that mPEG of high M_n , namely 5000 g/mol formed a microphase separated structure. The obtained polymeric materials capable to self-organize into micelles/nanospheres with hydrophobic core and hydrophilic shell can be used for medical applications to encapsulate/immobilize various vitamins or antibacterial peptides.

Keywords: nanospheres, poly(ethylene glycol) methyl ether, polyesters, tyrosine derivatives, dimer fatty acid

[Engineering of Biomaterials 120 (2013) 30-34]

Introduction

Synthetic polymers have played an important role in medical therapies, being applied in areas such as modulation of wound healing, implantable medical devices and artificial organs, prostheses, ophthalmology, dentistry, bone repair, and drug delivery systems. Polymeric biomaterials are relatively easy to manufacture into products with various shapes, at reasonable cost, and with desirable mechanical and physical properties [1].

We developed recently a new family of poly(aliphatic/aromatic-ester-amide-ether) (PAAEAE) copolymers containing tyrosine derivatives, dimer of linoleic acid (DLA) and poly(ethylene glycol) (PEG) or poly(ethylene glycol) methyl ether. An original approach in these systems is to combine inherently bioactive and nontoxic monomers, namely long chain fatty acids and tyrosine derivatives [2]. A combination of appropriate fatty acid (here dimerized fatty acid, DLA [3-6] and tyrosine (Tyr) derivative [7,9-11] as hydrophobic components, and hydrophilic PEG [12,13] should provide new materials with amphiphilic properties.

a mianowicie długołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz pochodnych aminokwasów [2]. Połączenie odpowiedniego kwasu tłuszczowego (tutaj dimeryzowanego kwasu tłuszczowego, DLA [3-6]) i pochodnych tyrozyny (Tyr) [7,9-11], stanowiących hydrofobową część struktury oraz hydrofilowego PEGu [12,13] powinno prowadzić do utworzenia nowych kopolimerów o amfifilowych właściwościach, zdolnych do samoorganizacji makrocząstek w środowisku wodnym.

Głównym celem pracy było zbadanie wpływu metoksy poli(glikolu etylenowego) na budowę chemiczną oraz strukturę fazową nowo otrzymanych kopolimerów. Amfifilowy charakter kopolimerów został wykazany poprzez samoorganizację makrocząstek w środowisku wodnym do form micelarnych/nanosferycznych.

Materiały i metody

Do otrzymania nowych kopolimerów amfifilowych użyto: pochodne tyrozyny tj. etylowy (DTE) i heksylowy (DTH) ester dezaminotyrozylo-tyrozyny dostarczone dzięki uprzejmości New Jersey Center for Biomaterials, USA. Uwodniony dimeryzowany kwas linoleinowy (DLA) o nazwie handlowej Pripol 1009 i masie molowej $\sim 570 \text{ g/mol}$ został dostarczony dzięki uprzejmości firmy Croda, Holandia. 1-etylo-1'-dimetyloaminopropylkarbodiimid (EDC·HCl) zakupiono w firmie GenScript Biology CRO for Drug Discovery. Inne substancje chemiczne, takie jak metoksy poli(glikol etylenowy) o różnych masach molowych, tj. 1000 g/mol (mPEG₁₀₀₀) i 5000 g/mol (mPEG₅₀₀₀) oraz 4-dimetyloaminopirydyna (DMAP) zakupiono w firmie Aldrich Chemical. W syntezach stosowano rozpuszczalniki klasy HPLC bez wstępnego oczyszczania.

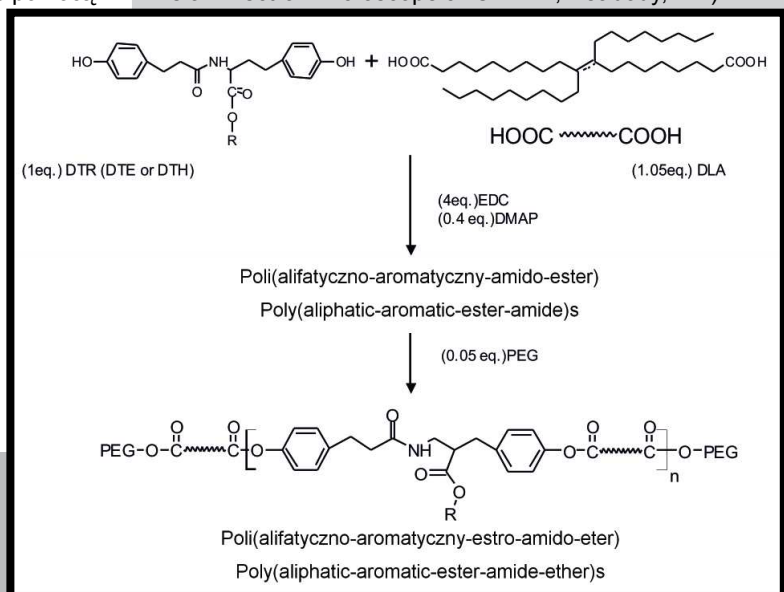
Poli(alifatyczno/aromatyczne-estro-amido-eter) (PAAEAE) były syntezowane w obecności 1-etylo-1'-dimetyloaminopropylkarbodiimidu (EDC·HCl) jako środka sprzęgającego oraz 4-dimetyloaminopirydyny (DMAP), jako katalizatora, w roztworze dichlorometanu (DCM), w temperaturze pokojowej, w atmosferze gazu obojętnego. Schemat syntezy przedstawiono na RYS. 1.

Budowę chemiczną otrzymanych PAAEAE scharakteryzowano metodą magnetycznego rezonansu jądrowego (¹H NMR). Widma ¹H NMR otrzymano przy pomocy aparatu VNMRS Varian 400 MHz. Do badań zastosowano deuterowany chloroform CDCl₃ jako rozpuszczalnik, a wszelkie przesunięcia zostały określone względem tertrametylosilanu (TMS). Do analizy widm ¹H NMR wykorzystano oprogramowanie MestReNova.

Strukturę fazową PAAEAE scharakteryzowano za pomocą skaningowej kalometrii różnicowej (DSC), przy pomocy aparatu Mettler-Toledo (DSC823). Próbkę przed badaniem suszono pod próżnią w temperaturze pokojowej przez 2 dni. Proces prowadzono w trzech cyklach: pierwsze grzanie w zakresie od 25°C do 150°C, następnie chłodzenie od 150°C do -50°C i drugie grzanie w zakresie temperatur od -50°C do temperatury 180°C. Proces grzania i chłodzenia prowadzony był z szybkością 10°C min⁻¹.

Morfologia nanosfer PAAEAE powstałych na drodze samo-organizacji makrocząstek w środowisku wodnym była obserwowana przy użyciu transmisyjnego mikroskopu elektronowego (JEM 100CX Transmission Electron Microscope JEOL LTD, Peabody, MA).

RYS. 1. Schemat syntezy poli(alifatyczno-aromatycznych-estro-amido-eterów) (PAAEAE). FIG. 1. Synthesis scheme of poly(aliphatic-aromatic-ester-amide-ether)s (PAAEAE).



The major goal of this work is to investigate the influence of mPEG on the chemical structure and microphase separation of new copolymers. The amphiphilic character was tested in aqueous environment upon self-organization into micelles/nanospheres.

Materials and Methods

Tyrosine derivatives, namely desaminotyrosyltyrosine ethyl ester (DTE) and desaminotyrosyltyrosine hexyl ester (DTH) were kindly provided by the New Jersey Center for Biomaterials, USA. Dimerized fatty acid, a hydrogenated dimerized linoleic acid (DLA), trade name Pripol 1009 of molecular weight $\sim 570 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ was kindly provided by Croda, The Netherlands. 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC·HCl) was obtained from GenScript Biology CRO for Drug Discovery. Other chemicals such as poly(ethylene glycol) methyl ether of different molecular masses, namely 1000 g/mol (mPEG₁₀₀₀) and 5000 g/mol (mPEG₅₀₀₀), and 4-dimethylaminopyridine (DMAP), were obtained from Aldrich Chemical. All solvents of HPLC grade were used without further purification.

Poly(aliphatic-aromatic-ester-amide-ether)s (PAAEAE) were synthesized using of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC·HCl) as the coupling agent and 4-dimethylaminopyridine (DMAP) as catalyst, in dichloromethane solution (DCM), at room temperature, in an inert gas atmosphere. The synthesis scheme is shown in FIG. 1.

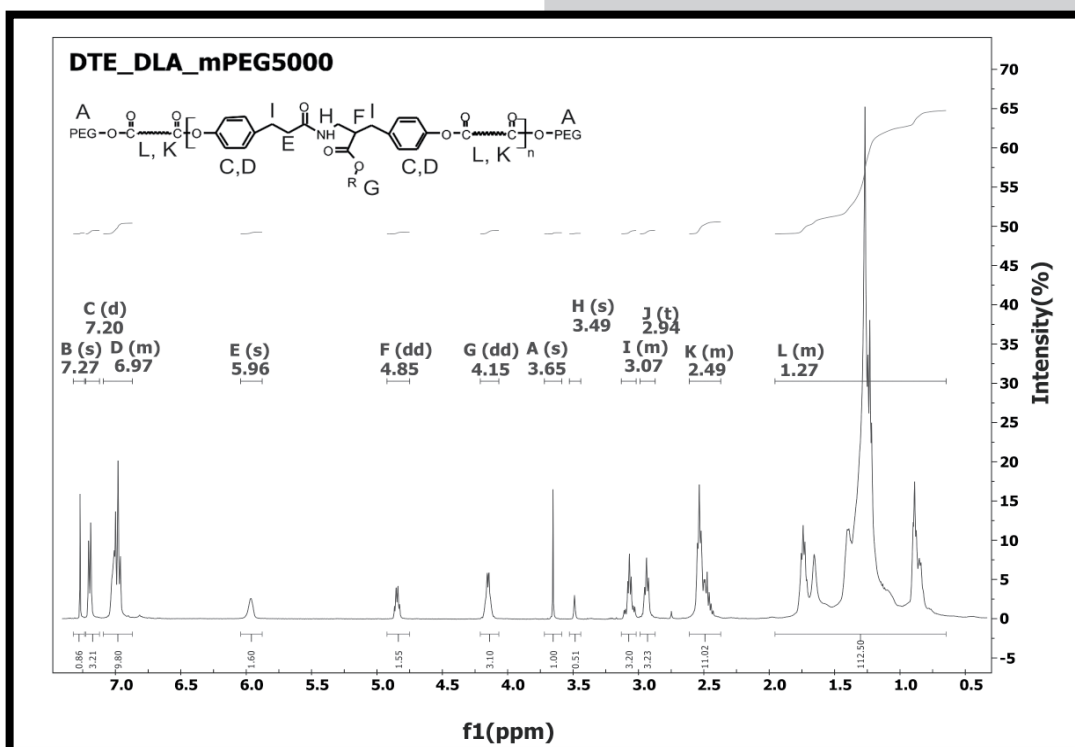
The chemical structure of poly(aliphatic-aromatic-ester-amide-ether)s (PAAEAE)s was characterized by nuclear magnetic resonance (NMR). ¹H NMR spectra were obtained using the Varian VNMRS 400 MHz. CDCl₃ was used as solvent and all shifts were determined with reference to TMS. MestReNova software was used for data analyzing.

The phase structure of PAAEAEs was characterized by differential scanning calorimetry (DSC). DSC scans were performed on the Mettler-Toledo (DSC823) apparatus. The samples were dried under vacuum at room temperature for 2 days. The process was carried out in a triple cycle: first heating in the temperature range from 25°C to 150°C, then cooling in the temperature range from 150°C to -50°C, and second heating in the temperature range from -50°C to 180°C. The rate of heating and cooling was 10°C min⁻¹.

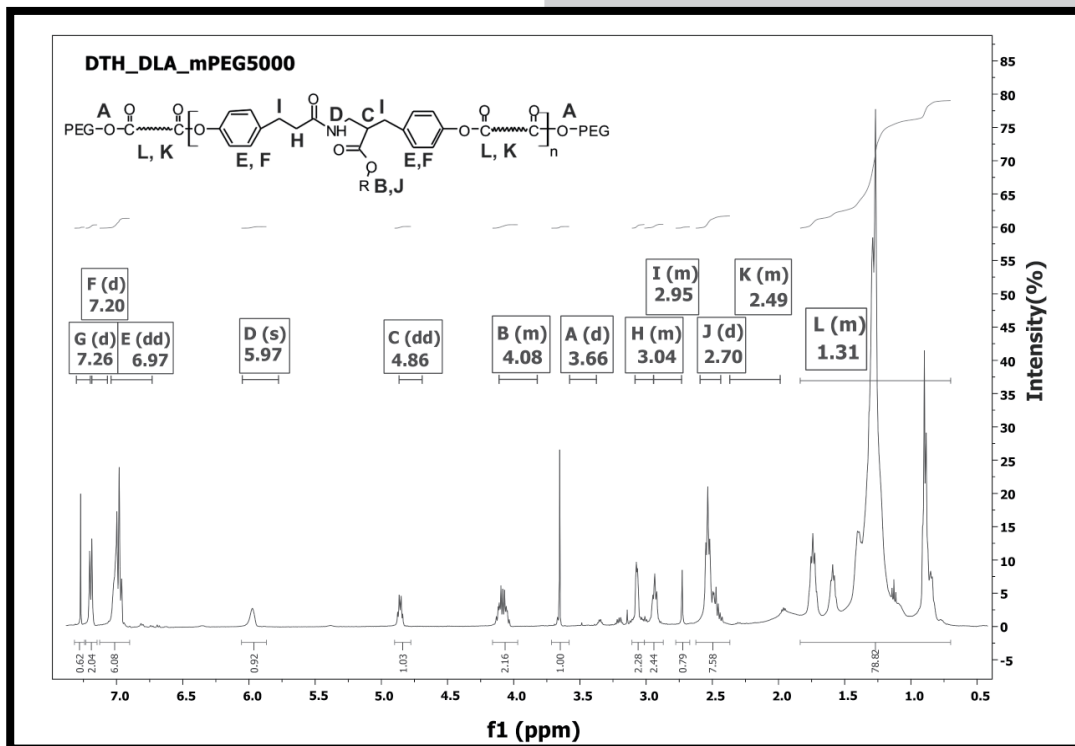
The morphology of PAAEAEs nanospheres formed by the self-assembly of macromolecules was determined using transmission electron microscopy (JEM 100CX Transmission Electron Microscope JEOL LTD, Peabody, MA).

Strukturę chemiczną zsyntetyzowanych kopolimerów PAAEAE potwierdzono metodą magnetycznego rezonansu jądrowego. Analiza widm ^1H NMR potwierdziła, że zsyntetyzowane materiały wykazują oczekiwaną budowę chemiczną. Szczegółową analizę widma ^1H NMR dla materiałów zawierających mPEG₅₀₀₀ przedstawiono na RYS. 2 i 3.

The chemical structure of synthesized PAAEAEs copolymers was verified by nuclear magnetic resonance. The analysis of ^1H NMR spectra confirmed that synthesized materials show expected chemical structure. The results with peaks assignments for materials containing mPEG₅₀₀₀ are presented in details in FIG. 2 and FIG. 3.



RYS. 2. Widmo ^1H NMR dla DTE_DLA_mPEG₅₀₀₀ wraz z przyporządkowaniem przesunięć.
FIG. 2. The ^1H NMR spectrum for DTE_DLA_mPEG₅₀₀₀ with peak assignments.



RYS. 3. Widmo ^1H NMR dla DTH_DLA_mPEG₅₀₀₀ wraz z przyporządkowaniem przesunięć.
FIG. 3. The ^1H NMR spectrum for DTH_DLA_mPEG₅₀₀₀ with peak assignments.

TABELA 1. Wartości temperatur zeszklenia, T_g oraz temperatur topnienia, T_m dla PAAEAE.

TABLE 1. Characteristic temperatures for PAAEAEs: T_g and T_m obtained from 2nd heating cycle.

Polimer / Polymer	T_g (°C)	T_m (°C)
DTE_DLA_mPEG ₁₀₀₀	3.2	-
DTH_DLA_mPEG ₁₀₀₀	-7.4	-
DTE_DLA_mPEG ₅₀₀₀	3.2	60.2
DTH_DLA_mPEG ₅₀₀₀	-9.3	60.0

Analiza widma ^1H NMR dla materiału DTE_DLA_mPEG₅₀₀₀ wykazała następujące przesunięcia: 7,27 ppm (s, chloroform-d), 6,97-7,20 ppm (Ar-H), 5,96 (s, NH), 4,85 (dd, CH - tyrozyna), 4,15 (dd, OCH₂ – boczne ugrupowanie estrowe), 3,65 (PEG - CH₂CH₂), 3,49 (s, metanol), 3,07 (d, CH₂ - DTE), 2,94 (t, CH₂ - DTE), 2,49 (m, CH₂ - DLA), 1,27 (m, CH₂ - DLA).

Analiza widma ^1H NMR dla materiału DTH_DLA_mPEG₅₀₀₀ wykazała następujące przesunięcia: 7,26 ppm (d, chloroform-d), 6,97-7,20 ppm (Ar-H), 5,97 (s, NH), 4,86 (dd, CH - tyrozyna), 4,08 (dd, OCH₂ – boczne ugrupowanie estrowe), 3,66 (PEG - CH₂CH₂), 3,04 (m, CH₂ - DTH), 2,95 (m, CH₂ - DTH), 2,70 (d, CH₂ - DTH), 2,49 (m, CH₂ - DLA), 1,31 (m, CH₂ - DLA).

Analiza termogramów DSC wykazała, że kopolimery zawierające mPEG₁₀₀₀ charakteryzują się występowaniem tylko niskotemperaturowego zeszklenia, T_g , którego wartość przesuwa się w kierunku niższych temperatur dla kopolimerów zawierających DTH, w porównaniu do materiałów zawierających DTE. Brak mikroseparacji fazowej w tych materiałach spowodowany jest utworzeniem homogenicznej mieszaniny krótkołańcuchowego mPEG₁₀₀₀ z fragmentami DLA, tym samym nie zmieniając amorficznego charakteru całego układu. Zastosowanie mPEG₅₀₀₀ prowadzi do otrzymania materiału o dobrze zdefiniowanej strukturze fazowej, co przejawia się występowaniem niskotemperaturowego zeszklenia, T_g oraz wysokotemperaturowego topnienia, T_m . Co ciekawe, zwiększenie długości bocznego łańcucha pochodnej tyrozyny (DTH) obniża T_g do -9,3°C, w porównaniu do 3,2°C dla materiału zawierającego DTE. Wartości temperatur zeszklenia, T_g oraz temperatur topnienia, T_m zebrano w TABELI 1.

Amfifilowy charakter nowych kopolimerów został określony na podstawie procesu emulgacji organicznego roztworu polimeru w wodzie. Hydrofilową otoczkę powstałą na drodze samoorganizacji makrocząsteczek miceli/nanosfery tworzą fragmenty (mPEG), natomiast dimeryzowany kwas tłuszczowy (DLA) oraz pochodne tyrozyny (Tyr) budują hydrofobowy rdzeń struktury. Schemat miceli DLA/Tyr-PEG pokazano na RYS. 4.

Morfologię takich struktur zawierających mPEG₅₀₀₀ określono przy pomocy transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM). Jak widać na RYS. 5, w wyniku spontanicznego łączenia się makrocząsteczek w wodzie utworzyły się nanosfery o wielkości od 50 nm do 200 nm.

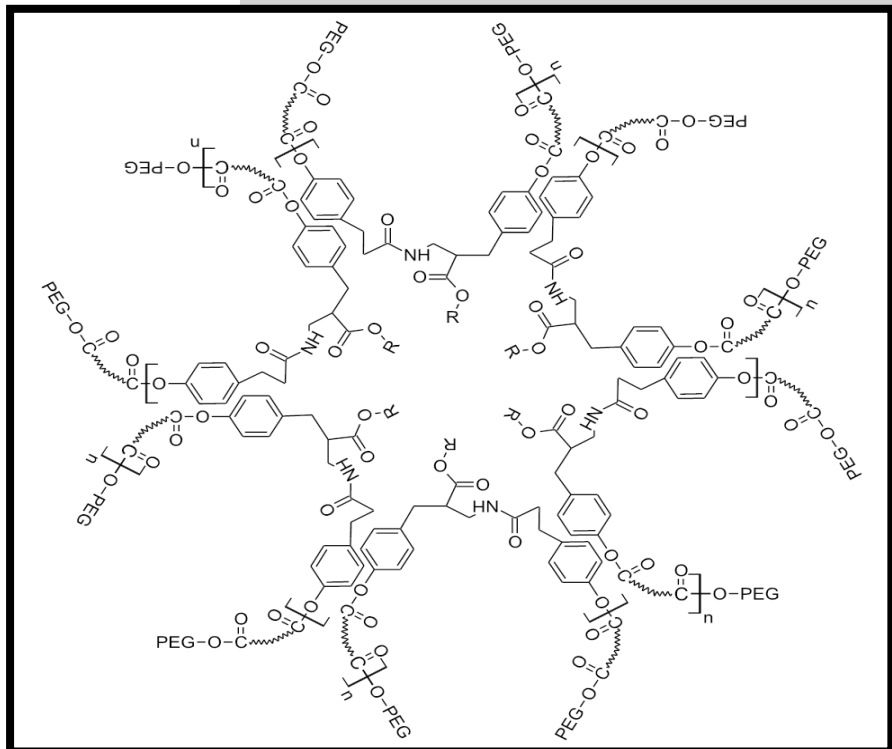
The detailed analysis of NMR spectrum for DTE_DLA_mPEG₅₀₀₀ material revealed the following shifts: 7.27 ppm (s, chloroform-d), 6.97-7.20 ppm (Ar-H), 5.96 (s, NH), 4.85 (dd, CH of tyrosine), 4.15 (dd, OCH₂ of the pendent ester group), 3.65 (CH₂CH₂ of PEG), 3.49 (s, methanol), 3.07 (d, CH₂ of DTE), 2.94 (t, CH₂ of DTE), 2.49 (m, CH₂ of DLA), 1.27 (m, CH₂ of DLA).

The detailed analysis of NMR spectrum for DTH_DLA_mPEG₅₀₀₀ material revealed the following shifts: 7.26 ppm (d, chloroform-d), 6.97-7.20 ppm (Ar-H), 5.97 (s, NH), 4.86 (dd, CH of tyrosine), 4.08 (dd, OCH₂ of the pendent ester group), 3.66 (CH₂CH₂ of PEG), 3.04 (m, CH₂ of DTH), 2.95 (m, CH₂ of DTH), 2.70 (d, CH₂ of DTH), 2.49 (m, CH₂ of DLA), 1.31 (m, CH₂ of DLA).

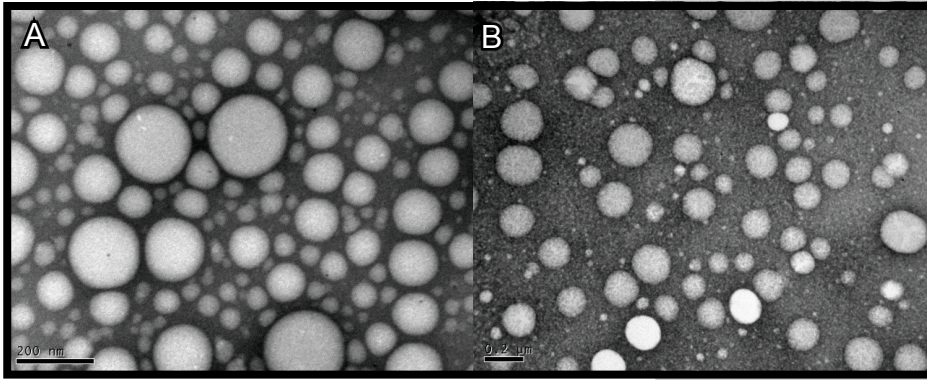
The DSC analysis of copolymers containing mPEG₁₀₀₀ show only low temperature T_g , which is shifting towards lower temperatures for copolymers containing DTH building block, as compared to materials containing DTE. Short chain mPEG₁₀₀₀ is forming a homogenous mixture with DLA soft blocks, thus the whole system is amorphous. When mPEG₅₀₀₀ is used, a microphase separated structure is formed as manifested by the presence of low temperature T_g and high temperature T_m . Interestingly, increasing the length of pendant chain in tyrosine derivative (DTH) lowered T_g to -9.3°C as compared to 3.2°C for material containing DTE. Characteristic glass transition temperature, T_g and melting temperature, T_m values are collected in TABLE 1.

The amphiphilic character of new copolymers was determined by emulsification of polymer solution in water. The hydrophilic shell is composed of (mPEG), while dimerized fatty acid (DLA)/tyrosine (Tyr) are creating hydrophobic core. The schematic structure of DLA/Tyr-PEG self-assembled micelle is shown in FIG. 4.

The morphology of such structures for PAAEAEs containing mPEG₅₀₀₀ was determined using transmission electron microscopy (TEM). As can be seen in FIG. 5, nanospheres ranging in size from 50 nm to 200 nm were spontaneously formed in aqueous environment.



RYS. 4. Budowa chemiczna miceli zawierającej DLA/Tyr-PEG.
FIG. 4. The chemical structure of micelle containing DLA/Tyr-PEG.



RYS. 5. Obrazy TEM (negatywne skonstrastowane) dla uformowanych w środowisku wodnym nanosfer DTE_DLA_mPEG₅₀₀₀ (A) oraz DTH_DLA_mPEG₅₀₀₀ (B).
FIG. 5. TEM images (negative staining) for DTE_DLA_mPEG₅₀₀₀ (A) and DTH_DLA_mPEG₅₀₀₀ (B) forming nanospheres.

Wnioski

Z powodzeniem udało nam się zsyntetyzować nowe materiały polimerowe bazując na nietoksycznych komponentach tj. pochodnej aminokwasu, kwasie tłuszczowym i metoksy poli(glikolu etylenowym) (mPEG). Protonowa spektroskopia NMR potwierdziła oczekiwaną strukturę chemiczną otrzymanych materiałów. Analiza DSC wykazała amorficzną strukturę materiałów zawierających mPEG₁₀₀₀ oraz mikroseparację fazową w PAAEAE zawierających mPEG₅₀₀₀.

Dla materiałów zawierających mPEG₅₀₀₀ przetestowano amfifilowy charakter nowo otrzymanych PAAEAE kopolimerów poprzez emulgację organicznego roztworu kopolimeru w wodzie. Utworzone w wyniku samoorganizacji makrocząsteczek formy micelarne/nanosferyczne obserwowano przy użyciu mikroskopu TEM.

Otrzymane materiały polimerowe samoorganizujące się w środowisku wodnym do form micelarnych/nanosferycznych, składające się z hydrofobowego rdzenia oraz hydrofilowej otoczki mogą być zastosowane do enkapsulacji/immobilizacji związków bioaktywnych, np. witamin lub przeciwdrobnoustrojowych peptydów dla zastosowań medycznych.

Podziękowania

Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, nr projektu: DEC-2011/03/B/ST8/06353. Doktorantka, Joanna Gajowy pragnie podziękować New Jersey Center for Biomaterials za możliwość odbycia stażu, w trakcie którego wykonała większość prac opisanych w niniejszej publikacji.

Conclusions

We successfully synthesized a new polymeric materials based on amino acid, fatty acid and poly(ethylene glycol)methyl ether (mPEG). The proton NMR spectroscopy confirmed the expected chemical structure of these new materials. DSC analysis evidenced an amorphous structure for materials containing mPEG₁₀₀₀, and microphase separated structure for poly(aliphatic/aromatic-ester-amide-ether)s containing mPEG₅₀₀₀.

The amphiphilic character of these materials was tested upon emulsification where self-organization of DTR_DLA_mPEG₅₀₀₀ into micellar/nanospheric structures in aqueous environment was noticed. The nanospheres formation was evidenced by TEM.

The obtained results give a good promise for further work on self-organization of PEA EA into well-defined micells/nanospheres with hydrophobic core and hydrophilic shell, thus being capable to encapsulate/immobilize various vitamins or antibacterial peptides for medical applications.

Acknowledgements

This work was financially supported by the National Research Centre (NCN) project DEC- 2011/03/B/ST8/06353. PhD student, J. Gajowy would like to thank the New Jersey Center for Biomaterials for support during her summer internship.

Piśmiennictwo

- [1] Wang Y.A., Robertson J.L., Spillman W.B. Jr., Claus R.O.: Effects of the chemical structure and the surface properties of polymeric biomaterials on their biocompatibility. *Pharmaceutical Research* 21 (2004) 1362-1373.
- [2] Bourke S.L., Kohn J.: Polymers derived from the amino acid L-tyrosine: polycarbonates, polyarylates and copolymers with poly(ethylene glycol). *Advanced Drug Delivery Reviews* 55 (2003) 447-466.
- [3] El Fray M., Prowans P., Slonecki J.: Biocompatibility studies of new multiblock poly(ester-ester)s composed of poly(butylene terephthalate) and dimerized fatty acid. *Biomaterials* 23 (2002) 2973-2978.
- [4] El Fray M., Altstädt V.: Fatigue behaviour of multiblock thermoplastic elastomers. 1. Stepwise increasing load testing of poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymers. *Polymer* 44 (2003) 4635-4642.
- [5] El Fray M., Altstädt V.: Fatigue behaviour of multiblock thermoplastic elastomers. 2. Dynamic creep of poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymers. *Polymer* 44 (2003) 4643-4650.
- [6] El Fray M., Altstädt V.: Fatigue behaviour of multiblock thermoplastic elastomers. 3. Stepwise increasing strain test of poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymers. *Polymer* 45 (2004) 263-273.
- [7] Macario D.K., Enters I., Bolikal D., Kohn J., Nackman G.B.: Iodine inhibits antiadhesive effect of PEG: Implications for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 86B (2008) 237-244.

References

- [8] Nardin C., Bolikal D., Kohn J.: Nontoxic Block Copolymer Nanospheres: Design and Characterization. *Langmuir* 20 (2004) 11721-11725.
- [9] Kilfoyle B.E., Sheihet L., Zhang Z., Laohoo M., Kohn J., Michniak-Kohn B.: Development of paclitaxel-TyroSpheres for topical skin treatment. *Journal of Controlled Release* 163 (2012) 18-24.
- [10] Sheihet L., Garbuzenko O.B., Bushman J., Gounder M.K., Minko T., Kohn J.: Paclitaxel in tyrosine-derived nanospheres as a potential anti-cancer agent: In vivo evaluation of toxicity and efficacy in comparison with paclitaxel in Cremophor. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 45 (2012) 320-329.
- [11] Batheja P., Sheihet L., Kohn J., Singer A.J., Michniak-Kohn B.: Topical drug delivery by a polymeric nanosphere gel: Formulation optimization and in vitro and in vivo skin distribution studies. *Journal of Controlled Release* 149 (2011) 159-167.
- [12] Chawla K., Lee S., Lee B.P., Dalsin J.L., Messersmith P.B., Spencer N.D.: A novel low-friction surface for biomedical applications: Modification of poly(dimethylsiloxane) (PDMS) with polyethylene glycol(PEG)-DOPA-lysine. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 90 (2009) 742-749.
- [13] Kobayashi M., Terayama Y., Kaido M., Suzuki A., Ishihara K., Takahara A.: Friction behavior of high-density poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) brush in aqueous media. *Soft Matter* 3 (2007) 740-746.