

SYNTEZA POLI(KWASU ASPARAGINOWEGO) – POLIMERU STOSOWANEGO W INŻYNIERII BIO-MEDYCZNEJ

JOLANTA POLACZEK, JAN PIELICHOWSKI, EWA DZIKI

SAMODZIELNA KATEDRA CHEMII I TECHNOLOGII TWORZYW SZTUCZNYCH
POLITECHNIKA KRAKOWSKA

Wstęp

Poli(kwas asparaginowy) (PKA) jest poli(aminokwasem) o specyficznych, zmieniających się właściwościach. W zależności od metody otrzymywania, rodzaju substratów oraz sposobu prowadzenia polimeryzacji powstaje polimer o zróżnicowanych właściwościach, znajdujący szereg dobranych do tych właściwości zastosowań. Nazwa poli(kwas asparaginowy) odnosi się do całej grupy polimerów różniących się strukturą lub ciężarem cząsteczkowym.

PKA jest polimerem nietoksycznym, higroskopijnym, biodegradowalnym, o wysokiej odporności termicznej, rozpuszczalnym w niektórych rozpuszczalnikach organicznych, może być rozpuszczalny w wodzie. Jego degradacja prowadzi do powstawania aminokwasów, a więc związków przyjaznych dla człowieka. Poli(kwas asparaginowy) należy do grupy kwaśnych poliamidów, dlatego też jego właściwości chemiczne wynikają z obecności grup karboksylowych oraz amidowych.

Poli(kwas asparaginowy) może występować w dwóch formach. W czasie syntezy PKA otrzymuje się bezwodną formę cykliczną tzw. polisukcynimid (PSI), z której w wyniku reakcji hydrolizy można otrzymać formę liniową poli(kwasu asparaginowego). W tradycyjnych syntezach otrzymuje się poli(kwas asparaginowy) zawierający zarówno struktury α -jak i β - . Możliwe jest też otrzymanie polimerów zawierających tylko jeden rodzaj struktury. Powyższe odmiany charakteryzują się różnymi właściwościami. Odmiana α nie jest rozpuszczalna w wodzie, w przeciwieństwie do odmian α, β i β które rozpuszczają się w wodzie. W zależności od temperatury synteza PKA przebiega z różną konwersją. Powstają polikwasy o różnej barwie: różowej, żółtej, brązowej, czyli o różnym stopniu przereagowania. Konwersja PKA o barwie różowej wynosi ok. 70% [1].

Budowa i warunki syntezy umożliwiają szerokie prowadzenie modyfikacji tego polimeru w kierunku otrzymania np. rozpuszczalnych w wodzie poliesterów lub też kopolimerów z kwasem mlekowym czy innymi aminokwasami.

Jednym z najważniejszych zastosowań związków poliasparaginowych jest wykorzystanie ich jako materiałów biomedycznych, w bardzo szerokim zakresie. Tak więc, polimery te mogą służyć jako czasowe substytuty sztucznej skóry w leczeniu oparzeń, czasowe osłony zapobiegające przyleganiu tkanek, do wytwarzania syntetycznych tkanek, implantów ortopedycznych, membran selektywnych oraz w różnych urządzeniach medycznych. Jednym z przykładów jest zastosowanie poli(kwasu asparaginowego) jako domeny transmembranowej, wrażliwej na pH w syntetycznej membranie polimerowej [2].

Inna z kolei jest rola PKA stosowanego jako dodatek w implantach ortopedycznych. Jego celem jest zapewnienie

SYNTHESIS OF POLY-(ASPARTIC ACID) – POLYMER USED IN BIOMEDICAL ENGINEERING

JOLANTA POLACZEK, JAN PIELICHOWSKI, EWA DZIKI

DEPARTMENT OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF POLYMERS
TECHNICAL UNIVERSITY CRACOW

Introduction

Poly(aspartic acid) (PKA) is a poly(amino acid) which properties strongly depend on synthesis method, kind of starting materials and the course of polymerisation's process.

PKA shows such specific properties as atoxicity, hygroscopicity, biodegradability, high thermal stability, solubility in some organic solvents and in water. Its degradation gives environmentally-friendly amino acid.

PKA belong to acidic polyamides therefore its properties are associated with a presence of carboxylic and amide group - FIG. 1.

There are two different structures of poly(aspartic acid). A cyclic structure so-called polysuccinimide (PSI) is obtained after the synthesis and then it is converted into a linear poly(aspartic acid) by a hydrolysis reaction. In conventional synthesis poly(aspartic acid) including both α and β structures is produced. It is possible to obtain a polymer including only one kind of a structure. Described forms characterise different properties. Alfa and alfa-beta structures are insoluble in water in contrast to the beta structure which is soluble in water. The synthesis of PKA proceeds with different conversion depending on reaction temperature. The obtained products are coloured: pink, yellow, brown, depending on the conversion degree. For instance the pink PKA has 70% conversion degree [1].

The structure and synthesis conditions make possible a wide modification of this polymer towards production of e.g. water soluble polyesters or copolymers with lactic acid and other aminoacids.

One of the most important applications of polyaspartates is their use as biomedical materials. They are suitable as temporary artificial skin substrates in burn therapy and as temporary barriers for the prevention of tissue adhesion as well as for production of synthetic tissue, orthopaedic implants, selective membranes and other medical devices. One example is the use poly(aspartic acid) as a pH-sensitive transmembrane domain in a synthetic polymer membrane [2]. In orthopaedic implants PKA plays a different role. The aim is a suitable inertness assurance of implant materials in the human body. Polyaspartates prevent formation during friction of toxic by-product, which could generate inflammation. The structural implants with the addition of PKA show better durability properties and a surface modification shows better tribological properties.

Some superabsorbant materials have been produced from poly(aspartic acid) because after cross-linking this polymer is a biodegradable hydrogel that swells in water. The hygroscopic properties lead to production of different sani-



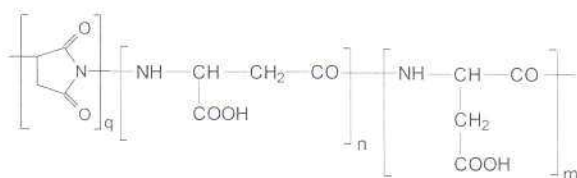
dobrego poziomu inertności materiału wszczepionego w środowisku fizjologicznym, przeciwdziałanie pojawianiu się w wyniku tarcia produktów zużycia nieobojętnych biologicznie, mogących powodować powstawanie stanów zapalnych w organizmie człowieka. Równocześnie dodatek poli(asparaginianów) poprawia właściwości wytrzymałościowe w przypadku implantów konstrukcyjnych oraz trybologiczne dla modyfikatorów powierzchni.

Bardzo ważną dziedziną wykorzystującą związki poliasparaginowe jest produkcja materiałów superabsorbujących, ze względu na to, że polimery te, po usieciowaniu mają właściwości biodegradowalnego hydrożelu o wysokiej możliwości pęcznienia w wodzie. Właściwości absorbujące pozwalają na otrzymywanie różnorodnych środków sanitarnych o bardzo dobrych właściwościach chłonnych [3].

Obecnie wiele badań medycznych nad poliasparaginianami dotyczy również wykorzystania ich w zastosowaniach farmaceutycznych. Poliasparaginiany mogą być stosowane zarówno w systemach podawania leku jak też jako nośniki leku lub środki inhibujące szkodliwy wpływ np. antybiotyku na zdrowy organ. [4].

Znane są metody otrzymywania poli(kwasu asparaginowego): polikondensacja z odpowiednich pochodnych alfa-aminokwasów, termiczna polimeryzacja kwasu asparaginowego oraz polimeryzacja kwasu aminomaleinowego (z bezwodnika maleinowego i amoniaku). W ostatnich latach pojawiły się również inne metody otrzymywania PKA, o ściśle ukierunkowanych właściwościach. Jedną z nich jest tzw. metoda biologiczna, polegająca na otrzymywaniu poli(kwasu asparaginowego) zsyntezowanego przy użyciu różnych cyjanobakterii takich jak: *Anabea cylindrica*, *Spirulina platensis*. Metoda polega na przeprowadzeniu procesu fermentacji bakterii w wyniku której otrzymuje się poli(kwas arginyloasparaginowy), który następnie podaje się reakcji hydrolizy.

Inną, bardzo interesującą metodą, umożliwiającą szybkie zsyntezowanie PKA, jest metoda opracowana w Samodzielnej Katedrze Chemii i Technologii Tworzyw Sztucznych Politechniki Krakowskiej, polegająca na zastosowaniu promieniowania mikrofalowego. Wykorzystanie promieniowania mikrofalowego, jako źródła energii potrzebnej do prowadzenia tych reakcji umożliwia skrócenie czasu reakcji do kilkunastu minut, zwiększa jej wydajność oraz prowadzi do otrzymania polimerów o większej jednorodności. Jednocześnie ten sposób prowadzenia polimeryzacji, przez szybką zmianę wszystkich parametrów reakcji pozwala na otrzymywanie bardzo różnorodnych produktów [5]. Szerokie możliwości tej metody pozwalają również na rozwinięcie wielu sposobów modyfikacji poli(kwasu asparaginowego) w kierunku otrzymania nowych, interesujących biopolimerów.



RYS. 1. Struktura poli(kwasu asparaginowego).
FIG. 1. Structure of poly(aspartic acid).

Badania

Przeprowadzono syntezy poli(kwasu asparaginowego) z kwasu asparaginowego, w reaktorze mikrofalowym firmy "Plazmotronika" o mocy do 300 W, z mieszadłem magne-

tary materials [3].

Currently, much of medical research on polyaspartates concerns the use of this polymers in pharmaceutical applications. PKA can be used in drug delivery systems as well as inhibiting agent of toxic effect of drugs, e.g. antibiotic for a living organ [4].

PKA can be synthesized according to various synthetic pathways: polycondensation of the appropriate derivatives of alfa- amino acids, thermal polymerisation of aspartic acid and polymerisation of maleic acid ammonium salt (obtained from maleic anhydride and ammonia). In the recent years another synthesis methods of PKA with specific properties have appeared. One of those is so - called biological method consisting in the production of PKA using cyanicbacteria such as: *Anabea cylindrical* or *Spirulina platensis*. In this method bacteria fermentation yields poly(arginylosapartic acid) and then poly(aspartic acid) after a hydrolysis process.

At The Department of Chemistry and Technology of Polymers at the Cracow University of Technology we have developed an efficient and fast synthesis method of poly(aspartic acid) under microwave irradiation. Application of microwave irradiation results in shortening of the reaction time, increasing of yield and gives a more homogenous polymer [5]. This kind of polymerisation makes it possible to obtain different products, through a fast change of reaction parameters. In this way modification of poly(aspartic acid) towards novel biopolymers is thorough out possible.

Experimental and results

The synthesis of poly(aspartic acid) from aspartic acid was carried out using a multimode microwave reactor 'Plazmatronika' (Poland) (maximal microwave power 300W), equipped with a magnetic mixer; water was removed from reaction. Propylene carbonate was used as a solvent. The polymerisation process was carried out mainly without a catalyst and in some synthesis phosphorus acid was used as a catalyst 3% in relation to monomer). The polycondensation was carried out to remove water from the reaction. Depending on the amount of the removed water PKA has different colours, (different conversion degree) - TABLE 1.

After polymerisation, lasting for 21 minutes, PKA was obtained with a 70% conversion. Longer reactions time did not result in higher conversion of PKA due to the fact that polycondensation reaches its equilibrium state.

Application of a catalyst results in shortening of the polymerisation time of PKA (pink colour) to 9 minutes. The polymers showed different conversion, up ca. 95% (brown colour). It should be painted out that reaction time under microwave irradiation was only from 9 to 24 minutes while in conventional method several hours.

The obtained polymers were characterised by infrared spectroscopy (IR) using a BIO-RAD WIN-IR FS 165 spectrophotometer. The analyses confirmed that mainly cyclic structure was obtained. In IR spectrum intensive absorption double band at 1715 and 1780 cm^{-1} was observed, indicating the presence of 5 - membered imide. This was confirmed by 1H NMR analysis. The methylene protons of the imide structure were observed as a peak at 2,8 ppm. Thermal stability of poly(aspartic acid) was determined on a Netzsch TG-209 thermogravimetric analyser. The ~ 4,5 mg sample was analysed at the heating rate at 10 K/min from 30°C to 600°C under nitrogen atmosphere. It was found that the intensive degradation of PKA begins at the temperature of ca. 380°C.

tycznym oraz z odprowadzeniem wody z układu, stosując jako rozpuszczalnik węgiel propyleny. Polimeryzację prowadzono bez użycia katalizatora oraz w niektórych syntezach zastosowano jako katalizator kwas fosforowy, w ilości 3.0% (w stosunku do monomeru). Reakcje prowadzono do momentu odprowadzenia maksymalnej ilości wody z układu. W zależności od ilości odprowadzonej wody, otrzymywano PKA o różnej barwie, świadczącej o różnym stopniu przereagowania.

W wyniku przeprowadzonej polimeryzacji otrzymano po 21 min PKA o stopniu konwersji ok. 70%. Dalsze wydłużenie czasu syntezy, nie prowadziło do otrzymania PKA o wyższych stopniach przereagowania, ze względu na ustalenie się stanu równowagi reakcji polikondensacji.

Zastosowanie katalizatora spowodowało skrócenie czasu polimeryzacji PKA (o barwie różowej) do 9-u minut. Równocześnie otrzymano polimery o różnej konwersji, aż do ok. 95% (polimer o barwie brązowej). Należy jednak pamiętać, że w porównaniu do konwencjonalnej metody otrzymywania PKA trwającej od kilku do kilkunastu godzin, czas syntezy polikwasu w reaktorze mikrofalowym wynosi tylko od 9 min do 24 min.

Otrzymane polimery scharakteryzowano przy pomocy spektroskopii w podczerwieni (IR), na aparacie firmy "Bio-rad" typ TS 165. Wyniki analiz potwierdzają, że otrzymano polikwas z przewagą formy cyklicznej, ponieważ przy 1715 cm^{-1} i 1780 cm^{-1} pojawił się intensywny dublet pochodzący od cyklicznego, pięciocłonowego pierścienia imidowego. Potwierdziła to również analiza $^1\text{H NMR}$, przy zakresie 2,8 ppm pojawiło się intensywne pasmo pochodzące od sygnałów protonów grup $-\text{CH}_2-$ jednostek sukcyinoimidowych. Odporność termiczną poli(kwasów asparaginowych) scharakteryzowano przy użyciu analizatora termogravimetrycznego Netzsch TG-209. Próbki o masie $\sim 4,5\text{ mg}$ analizowano przy szybkości ogrzewania 10 K/min w atmosferze argonu, w zakresie temperatur $30^\circ\text{C} - 600^\circ\text{C}$. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że intensywny rozkład PKA rozpoczyna się dopiero w temperaturze ok. 380°C .

Podsumowanie

W wyniku polimeryzacji termicznej kwasu asparaginowego przeprowadzonej w warunkach promieniowania mikrofalowego, w węglanie propyleny, otrzymano poli(kwasu asparaginowego) z przewagą formy cyklicznej, odporne do temperatury ok. 380°C , o różnej barwie, czyli różnym stopniu konwersji. W porównaniu do metody konwencjonalnej, skrócono czas polimeryzacji z kilku godzin do ok. pół godziny. Zastosowanie jako katalizatora kwasu fosforowego spowodowało dalsze skrócenie czasu reakcji do kilku minut.

Podziękowania

Praca jest finansowana przez Komitet Badań Naukowych (KBN), grant 082/T08/06.

| Próbka Samples | Czas Time [min] | Temperatura Temperature [$^\circ\text{C}$] | Moc Power [W] | Barwa Colour |
|-------------------|-----------------------|--|---------------------|---------------------------|
| 1 | 3 | 150 | 150 | Biała white |
| 2 | 12 | 180 | 165 | Biała white |
| 3 | 3 | 190 | 180 | jasnoróżowa light pink |
| 4 | 3 | 200 | 225 | Różowa pink |

TABELA 1. Wpływ warunków syntezy PKA w reaktorze mikrofalowym, bez udziału katalizatora, na barwę poli(kwasu asparaginowego).

TABLE 1. Influence of synthesis condition of PKA without a catalyst in microwave reactor, on the colour of poly(aspartic acid).

| Próbka Samples | Czas Time [min] | Temperatura Temperature [$^\circ\text{C}$] | Moc Power [W] | Barwa Colour |
|-------------------|-----------------------|--|---------------------|------------------------|
| 1 | 9 | 180 | 165 | Różowa Pink |
| 2 | 3 | 190 | 180 | Pomarańczowa Orange |
| 3 | 3 | 200 | 195 | Czerwona Red |
| 4 | 9 | 200 | 225 | Brązowa Brown |

TABELA 2. Wpływ warunków syntezy PKA w reaktorze mikrofalowym, z udziałem katalizatora, na barwę poli(kwasu asparaginowego).

TABLE 2. Influence of synthesis condition of PKA with a catalyst in microwave reactor, on the colour of poly(aspartic acid).

Conclusions

Thermal polymerisation of aspartic acid under microwave irradiation in propylene carbonate as a solvent leads mainly to cyclic structure of poly(aspartic acid). Depending on the synthesis conditions different conversion degree can be reached. The polymer indicate thermal stability up to temperature of 380°C . In comparison to the conventional method the microwave heating results in shortening of the reaction time from several hours to couple of minutes. Application of phosphorus acid as a catalyst gives additional shortening of the reaction time. Further research on this new method of synthesis of PKA is currently underway.

Acknowledgements

This work was supported by Polish Committee, grant 082/T08/06.