

**Тбилисский Государственный Университет им. Ив.Джавахишвили**

*На правах рукописи*

**Непаридзе Нино**

**Синтез и исследование новых биodeградируемых  
полиэфирамидов, содержащих в боковых  
цепях n-алкиловые группы**

02.00.06 – Химия высокомолекулярных соединений

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

диссертации представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук

**Тбилиси 2006 г**

Работа выполнена на кафедре технологии органических веществ Грузинского технического университета

Научный руководитель:

**Кацарава Рамаз**  
доктор химических наук,  
профессор

Официальные опоненты:

**Мукбаниани Омар**  
доктор химических наук,  
профессор

**Симонидзе Мзия**  
доктор химических наук,  
профессор

Защита диссертации состоится **6 декабря 2006г.**, в **14<sup>00</sup>** часов  
на заседании Диссертационного совета по химии (шифр Ch 02.03. N1)  
при Тбилисском государственном университете им. Ив.Джавахишвили.  
Адрес: 0128, Тбилиси, просп. И.Чавчавадзе №3,  
аудитория № 87.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ТГУ  
Адрес: 0143, Тбилиси, ул. Университетская №1

Автореферат разослан **“ 1 ” ноября 2006** года

Ученый секретарь Диссертационного совета,  
кандидат химических наук, доцент

/Ц.Вардосанидзе/

## Общая характеристика работы

**Актуальность работы.** Одной из значительных и быстро развивающихся сфер современной макромолекулярной химии на сегодняшний день является химия и технология биомедицинских полимеров, которая относится к отрасли передовых технологий. Без преувеличения можно сказать, что биомедицинские полимеры занимают лидирующую позицию среди уникальных полимерных материалов. По заключению многих экспертов указанные полимеры по своему социальному и коммерческому значению обошли даже такие материалы, какими являются полимеры для радиоэлектроники.

Среди биомедицинских полимеров различного назначения особое внимание заслуживают биodeградируемые полимеры с высокой биосовместимостью, которые выполняют временную функцию и разлагаются в организме, например, в качестве хирургических материалов (ниток, пленок, трубок и т.п.) и систем контролируемо/непрерывного выделения лекарств.

Селективная, целенаправленная доставка лечебных препаратов в организм на сегодняшний день является одной из значительных проблем современной терапии, решение которой возможно с использованием высокомолекулярных носителей и матриксов. С этой целью различными учеными проводились испытания ряда природных полимеров и синтетических соединений: альбумина, антител, лектинов, гликопротеинов, ДНК, декстранов, эритроцитов, лимфатических клеток, искусственных клеток, липосом и др.

Большинство из перечисленных природных носителей лекарств характеризуются высокой иммуногенностью. Поэтому предпочтение отдается менее иммуногенным синтетическим полимерным системам. Особенно перспективными являются такие синтетические макромолекулярные системы, которые претерпевают эрозию с поверхности с постоянной скоростью и которую можно регулировать в широких пределах. Это особо важно, поскольку скорость эрозии определяет (контролирует) скорость выделения лекарства и ее концентрацию в прилегающих тканях. Помимо контролируемой эрозии полимерный матрикс должен характеризоваться высокой гидрофобностью для исключения неконтролируемой диффузии лекарства из изделия в результате проникновения воды внутрь изделия.

С учетом всех этих факторов, перспективными являются биodeградируемые полимеры на основе природных аминокислот. Систематические исследования указанных материалов на протяжении более 25 лет в Грузии проводятся учеными под руководством проф. Р.Кацарава. Ими получены оригинальные биоаналогичные гетероцепные полимеры ААВВ типа, в том числе полиэфирамиды, на основе которых получены полимерные препараты с активными лечебными свойствами. Один из таких препаратов, представляющий собой биodeградируемый полиэфирамид к боковым карбоксильным группам которого с помощью ковалентной связи присоединен свободный органический иминоксильный радикал, производится в США биотехнологической фирмой MediVas. Этот полимерный препарат действующий по механизму контролируемого выделения успешно применяется в качестве покрытия сосудистых стентов, для предотвращения рестеноза.

Следует отметить, что несмотря на достигнутые успехи, ковалентная иммобилизация биологически активных соединений с полимерными носителями является довольно сложным, многоступенчатым и дорогостоящим процессом. Кроме того, высвобождение активного начала не всегда происходит за счет расщепления той связи, с помощью которой оно крепится к полимеру. В этих случаях высвобожденный препарат ковалентно связан с продуктами фрагментации полимерных цепочек. Это может вызвать нежелательные эффекты, в том числе потерю активности препарата. С учетом вышесказанного, наиболее перспективными представляются использование носителей с т.н. “липкими” группами, в которых межмолекулярное взаимодействие осуществляется нековалентными связями. Среди

них наиболее привлекательным является гидрофобное взаимодействие, которое играет важнейшую роль в живой природе.

**Целью работы являлась:**

- а) синтез новых, биodeградируемых гидрофобных полиэфирамидов, содержащих в боковых цепях n-алкиловые группы;
- б) характеристика полученных полимеров стандартными физико-химическими методами (элементный анализ, поляриметрия, вискозиметрия, Фурье-инфракрасная спектроскопия, ядерный магнитный резонанс);
- в) изучение некоторых механических и физико-химических свойств полимеров, таких как прочность на разрыв, удлинение на разрыв, модуль Юнга; молекулярные массы ( $M_w$  и  $M_n$ ) и полидисперсность ( $M_w/M_n$ ) с помощью гель-хроматографии; оценка физического состояния сканирующей калориметрией и рентгеноструктурным анализом;
- г) оценка способности к биodeградации полимеров в экспериментах *in vitro* с использованием протеазы -  $\alpha$ -химотрипсина и гидролазы непротеазного происхождения – липазы.

**Научная новизна.** Впервые на основе незаменимой аминокислоты – L-лизина синтезировано 3 новых мономера – ди-п-толуолсульфонаты эфиров n-октила, n-додецила и n-гексадецила L-лизина. На их основе получено 17 новых полиамидов ААВВ типа, 3 гомополиамида. Впервые изучены фазовое состояние и термические показатели полиэфирамидов, определены их молекулярные массы и полидисперсность (молекулярно-массовое распределение). Изучена биodeградация новых полиэфирамидов (специфический гидролиз катализируемый  $\alpha$ -химотрипсином и липазой) в экспериментах *in vitro*. Показано, что регулирование скорости биodeградации полиэфирамидов возможно в широких пределах путем варьирования структуры и свойств как основной цепи, так и гидрофобного заместителя боковой цепи.

**Практическое значение.** Полученные полиэфирамиды характеризуются широким спектром свойств: специфической растворимостью в органических растворителях, пленкообразованием, способностью к биodeградации с разной скоростью, высокой эластичностью, что дает возможность их переработки в изделия и целенаправленного использования. Полученные сополиэфирамиды являются перспективными для практического применения в фармакологии в качестве контролируемых систем выделения лекарств, композитов различного свойства, рассасываемых полимерных имплантантов в хирургии, конструктивных материалов и др.

**Личный вклад автора.** Вся экспериментальная часть диссертации выполнена лично автором. Интерпретация результатов ИК, УФ, ЯМР - спектроскопии и гельпроникающей хроматографии проведена с участием автора. Спектральные анализы выполнены в лаборатории центра медицинских полимеров и биоматериалов ГТУ, а также в исследовательском центре молекулярного строения научно-национальной Академии Армянской республики.

**Публикации.** По теме диссертации опубликованы 3 статьи, 3 тезиса докладов.

**Апробация труда.** Основные результаты диссертации представлены на IV Научно-методической республиканской конференции по химии (Тбилиси, 2002 г.), на V Республиканской конференции по химии (Тбилиси, 2004 г.) и на Международных конференциях (Улан-Удэ, 2002 г. и Ереван, 2005 г.).

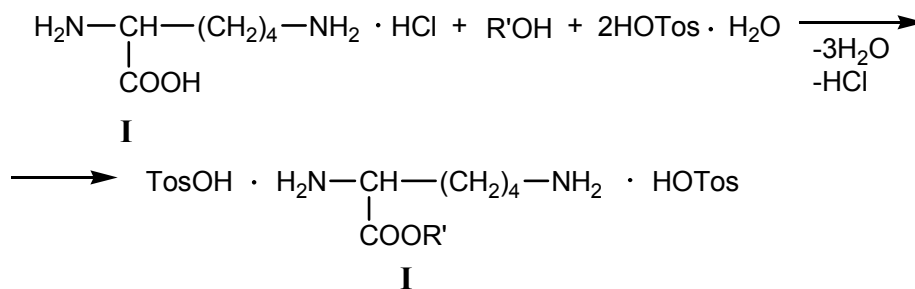
**Структура работы.** Диссертация состоит из \_\_\_\_\_ печатных страниц, введения, литературного обзора, обсуждения выполненной работы, экспериментальной части, списка цитированной литературы ( ), \_\_\_\_\_чертежа, \_\_\_\_\_таблиц.

## Основное содержание работы

### 1. Синтез мономеров

#### 1.1. Синтез бис-нуклеофилов.

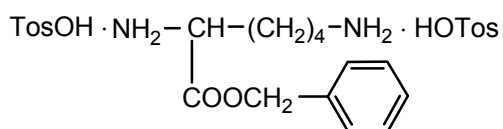
а) Ключевые мономеры нашего исследования – ди-*p*-толуолсульфокислотные соли алкиловых эфиров L-лизина получали прямой конденсацией моногидрохлорида L-лизина с соответствующим спиртом в присутствии *p*-толуолсульфокислоты по следующей схеме (схема I).



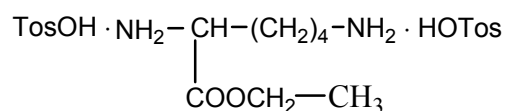
далее также будет использовано обозначение - **Lys(Alk)**.

Реакцию конденсации проводили в среде кипящего бензола. Выделенную воду собирали в насадке Динна-Старка. Процесс протекал гомогенно и практически заканчивался в течении 2-3 часов (завершение реакции контролировали количеством выделенной воды). После охлаждения до комнатной температуры для обеспечения полного осаждения продукта к осадку добавляли абсолютный этиловый эфир (или абс. этилацетат). Полученный продукт – ди-*p*-толуолсульфонаты алкиловых эфиров L-лизина – перекристаллизовывали из смеси абс. этилацетата/этанола (3/1).

Для осуществления поставленной задачи были также синтезированы известные эфиры L-лизина – бензиловый **Lys(Bz)** и этиловый **Lys(Et)**.



**Lys(Bz)**



**Lys(Et)**

**Таблица 1.**

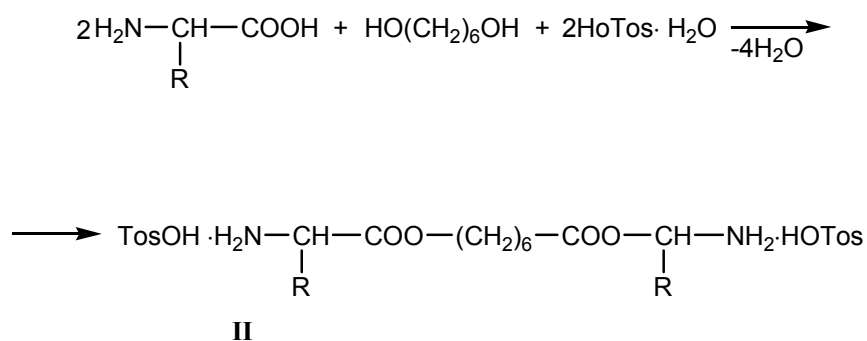
**Характеристики длинноцепных алкиловых эфиров лизина.**

№	Алкиловый эфир лизина	Выход*, %	T <sub>пл.</sub> , °C
1.	<b>I,а</b>	60	123-125
2.	<b>I,б</b>	61	121-124
3.	<b>I,в</b>	70	90-95

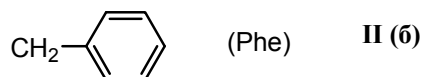
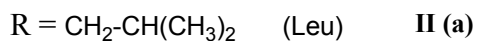
\*) Выход чистого продукта после перекристаллизации.

Структуру впервые полученных нами алкиловых эфиров L-лизина (I) установили методами элементного анализа (таблица 1) и ИК-спектроскопии.

Были синтезированы также известные бис-(α-аминокислота)-1,6-гексилендиэфиры, которые применялись в качестве сомономеров эфиров лизина для построения основной цепи макромолекулы. Бис-(α-аминокислота)-1,6-гексилендиэфиры получали на основе незаменимых аминокислот: L-лейцина и L-фенилаланина, прямой конденсацией свободных аминокислот с 1,6-гександиолом в присутствии моногидрата п-толуолсульфокислоты по следующей схеме:



где TosOH = п-Толуолсульфокислота

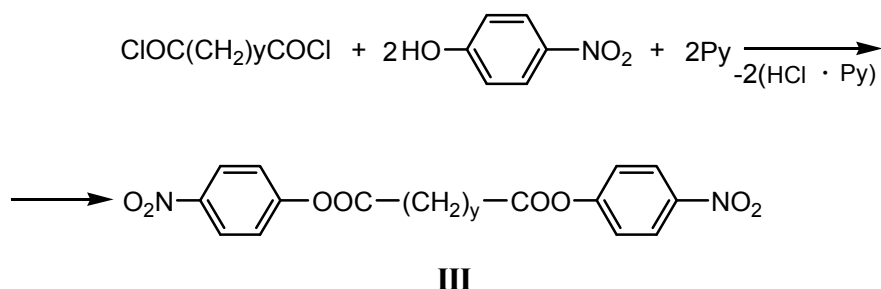


Полученные ди-п-толуолсульфонаты очищали путем перекристаллизации из воды. Температуры плавления совпадали с ранее опубликованными в литературе.

Применение солей ди-п-толуолсульфокислоты в качестве мономеров было обусловлено, с одной стороны, легкостью их получения и очистки, а с другой стороны, устойчивостью указанных соединений. Алкиловые эфиры аминокислот устойчивы только в форме солей; в виде свободных оснований они вступают в разные побочные реакции, которые катализируются CO<sub>2</sub> воздуха.

### 1.1. Синтез бис-электрофилов

Бис-электрофильные мономеры ди-п-нитрофениладипинат (**III а**) и ди-п-нитрофенилсебацинат (**III б**) получены известной акцепторно-каталитической реакцией путем взаимодействия дихлорангидридов с п-нитрофенолом в присутствии пиридина (Py) в качестве акцептора и катализатора реакции в среде органического растворителя (схема 3):



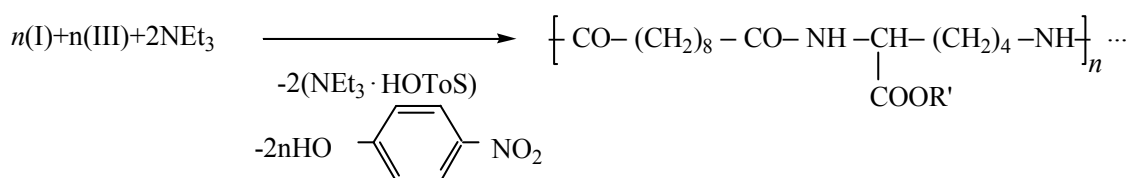
$y=4,8$  (количество метиленовых групп в дикарбоновой кислоте)

Ди-п-нитрофениладипинат (**III а**,  $y=4$ ) был получен с высоким процентным выходом и высокой чистотой в среде этилацетата, а для ди-п-нитрофенилсебацината (**III б**,  $y=8$ ) лучшие показатели были получены в ацетоне. Температуры плавления полученных диэфиров соответствовали литературным данным.

## 2. Синтез полимеров.

Полученные нами бис-нуклеофильные и бис-электрофильные мономеры были использованы для получения полиамидов и сополиэфирамидов.

**2.1. Синтез полиамидов**, содержащих длинноцепные алкиловые эфиры лизина, был осуществлен т.н. методом активированной поликонденсации путем взаимодействия ди-п-толуолсульфокислотных солей алкиловых эфиров L-лизина (**I**) с активированными диэфирами (**III**) по следующей схеме:



**IV**

$\text{R}' = (\text{CH}_2)_7\text{CH}_3; (\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3; (\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3.$

На основе впервые синтезированных нами Lys-(Alk) эфиров (**I а-в**), вначале был осуществлен синтез полиамидов исходя из двух следующих соображений: а) для проверки мономеров на поликонденсационную квалификацию (чистоту), б) для изучения физико-химических свойств полиамидов (найлонов), которые содержат сложноэфирные группы в боковой цепи, а также представляло интерес изучение этих полимеров и их сравнение с аналогичными полиамидами, полученными на основе этиловых Lys-(Et) и бензиловых Lys-(Bs) эфиров лизина.

Полиамиды были синтезированы на основе себациновой кислоты, так как полисебацинамиды растворяются в органических растворителях лучше, чем соответствующие полладипинамиды. Поэтому в данном случае полисебацинамиды являлись

более удобными для изучения влияния природы боковых заместителей на свойства полимеров.

Синтез полиамидов был осуществлен взаимодействием ди-п-нитрофенильсебагината (Ш, б) с эфирами лизина в нижеприведенных оптимальных условиях:

Растворитель – N, N' – диметилацетамид (DMA)
Акцептор – триэтиламин (Net <sub>3</sub> )
Концентрация – 1,2 моль/л
Температура – 80 <sup>0</sup> С.
Продолжительность – 18-20 ч.

Данные полученных полиамидов приведены в таблице 2.

**Таблица 2.**  
**Характеристики полисебагинамидов полученных на основе эфиров лизина.**

Полиамид	Выход, %	Mw*)	Mw/Mn
8-Lys-(Oct)	88	21800	1,17
8-Lys-(Dod)	90	**	**
8-Lys-(Hex)	80	**	**
8-Lys(Bz)	90	92400	1,45
8-Lys(Et)	88	78400	1,56

\*) В DMF, при концентрации 0,5 г/дл и температуре 25<sup>0</sup>С.

\*\*) Не растворяется в DMF при к.т. для проведения измерений.

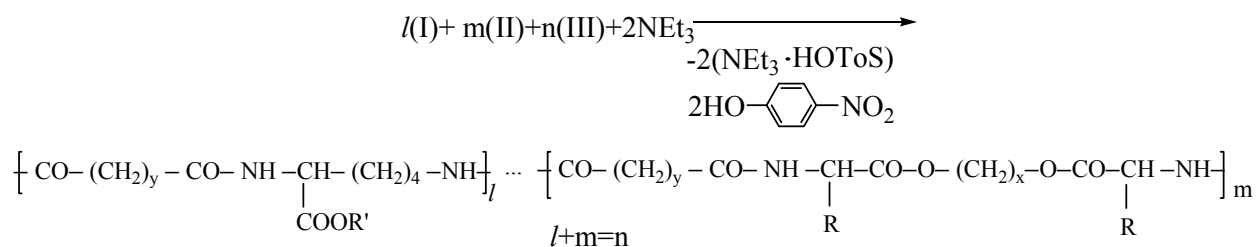
В условиях реакции синтез всех полиамидов протекает гомогенно и в результате образуются вязкие реакционные растворы. Однако, при охлаждении до комнатной температуры растворы желируются (предположительно, за счет сильного межмолекулярного гидрофобного взаимодействия). Нагреванием гелеобразная масса вновь превращается в гомогенный раствор, хотя температура превращения повышается с ростом цепи полиметиленовых спиртовых остатков и составляет: 8-Lys(Oct)- 40<sup>0</sup>С, 8-Lys(Dod)- 60<sup>0</sup>С, 8-Lys(Hex)- 80<sup>0</sup>С. Это можно объяснить тем, что вместе с удлинением цепи спиртового остатка увеличиваются силы межмолекулярного гидрофобного взаимодействия.

Как видно из таблицы 2, полиамиды получают с высоким выходами и узким молекулярно-массовым распределением. Идентификация полимеров была проведена элементарным анализом и Фурье ИК-спектрами.

## 2.2. Синтез сополиэфирамидов, содержащих длинноцепные алкиловые эфиры лизина.




Синтез сополиэфирамидов [coPEA(Alk)], содержащих боковые алкиловые длинноцепные заместители, осуществлен поликонденсацией соединений **I** и **II**, как сомономеров с п-нитрофениладипином (**III,а**) и п-нитрофенилсебацинатом (**III,б**) в среде апротонного растворителя амидного типа в оптимальных условиях по вышеприведенной схеме. Соли ди-п-толуолсульфокислот бис-( $\alpha$ -аминокислота)- $\alpha,\omega$ -алкилендиэфиров и ди-п-толуолсульфокислот длинноцепных алкиловых эфиров L-лизина выбирались в разных соотношениях (l/m), что позволяло регулировать, с одной стороны, количество боковых “липких” гидрофобных групп, а с другой стороны, концентрацию эфирных связей в основной цепи макромолекулы, а также изучить физико-химические свойства сополиэфирамидов разного состава и скорости биodeградации в экспериментах *in vitro*.



V

где x=6; y=4; 8

R=CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (Leu); CH<sub>2</sub>- (Phe)

R'=(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>; (CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>CH<sub>3</sub>; (CH<sub>2</sub>)<sub>15</sub>CH<sub>3</sub>

Из реакционной среды полимер выделяли осаждением в воде. В течение нескольких дней осажденный полимер промывался от растворителя (DMA) и низкомолекулярных продуктов поликонденсации (п-нитрофенол и NET<sub>3</sub>·TosOH), вследствие чего он постепенно переходит в твердую смолообразную или эластичную каучукообразную массу (в зависимости от структуры). Для полного очищения полимер переосаждали из раствора хлороформа в этилацетат.

Все полученные сополимерэфирамиды характеризуются пленкообразующими свойствами. Методом полива их хлороформных растворов на гидрофобную поверхность получены эластичные пленки.

Характеристики полученных сополиэфирамидов приведены в таблице 3. Предполагаемую структуру полиэфирамидов установили данными элементного анализа Фурье ИК- и ЯМР- спектроскопии.

**Таблица 3.**

**Характеристики сополиэфирамидов, полученных на основе длинноцепных алкиловых эфиров лизина.**

№	Сополиэфирамид	Выход, %	$\eta_{\text{прив.}}$	Mw	M <sub>w</sub> /M <sub>n</sub>

1	4-[Leu-6] <sub>0,8</sub> [Lys(Oct)] <sub>0,2</sub>	98	0,49	65000	1,25
2	4-[Leu-6] <sub>0,6</sub> [Lys(Oct)] <sub>0,4</sub>	97	0,46	65800	1,25
3	4-[Leu-6] <sub>0,4</sub> [Lys(Oct)] <sub>0,6</sub>	99	0,44	57100	1,27
4	8-[Leu-6] <sub>0,8</sub> [Lys-Oct)] <sub>0,2</sub>	96	0,46	66200	1,28
5	8-[Leu-6] <sub>0,8</sub> [Lys(Dod)] <sub>0,2</sub>	99	0,40	44800	1,29
6	8-[Leu-6] <sub>0,8</sub> [Lys(Hex)] <sub>0,2</sub>	100	0,41	45000	1,26
7	4-[Phe-6] <sub>0,8</sub> [Lys(Oct)] <sub>0,2</sub>	98	0,11	25000	1,25
8	4-[Phe-6] <sub>0,4</sub> [Lys(Oct)] <sub>0,6</sub>	98	-	-	-
9	4-[Phe-6] <sub>0,2</sub> [Lys(Oct)] <sub>0,8</sub>	99	-	-	-
10	8-[Phe-6] <sub>0,8</sub> [Lys(Oct)] <sub>0,2</sub>	97	0,37	41600	1,27
11	8-[Phe-6] <sub>0,4</sub> [Lys(Oct)] <sub>0,6</sub>	98	0,47	70000	1,5
12	8-[Phe-6] <sub>0,8</sub> [Lys(Dod)] <sub>0,2</sub>	99	0,29	32400	1,17
13	8-[Phe-6] <sub>0,6</sub> [Lys(Dod)] <sub>0,4</sub>	100	0,19	22700	1,13
14	8-[Phe-6] <sub>0,4</sub> [Lys(Dod)] <sub>0,6</sub>	99	*	*	*
15	8-[Phe-6] <sub>0,8</sub> [Lys(Hex)] <sub>0,2</sub>	99	0,35	32900	1,38
16	8-[Phe-6] <sub>0,6</sub> [Lys(Hex)] <sub>0,4</sub>	100	*	*	*
17	8-[Phe-6] <sub>0,4</sub> [Lys(Hex)] <sub>0,6</sub>	100	*	*	*

\*) не растворяется в DMF при комнатной температуре; —) не измерено.

### 2.3. Синтез сополиэфирамидов на основе бис-(L-фенилаланина) и бис-(L-лейцина)-1,6-гексилен-диэфиров.

Синтез сополиэфирамидов проводили методом активированной поликонденсации при взаимодействии сомономеров (II, а) и (II, б), взятых в определенных молярных соотношениях, с активированными диэфирами, аналогично схеме V при вышеприведенных оптимальных условиях. В результате получили высокомолекулярные пленкообразующие полимеры. Некоторые характеристики этих полимеров приведены в таб.4.

Таблица 4.

#### Характеристики сополиэфирамидов полученных на основе бис-(L-α-аминокислота)-1,6-гексилен-диэфиров

№	PEA	Выход, %	η <sub>дл/г</sub>	Mw	Mw/Mn
1	8-[Phe-6] <sub>0,95</sub> [Leu-6] <sub>0,05</sub>	98	0.39	53300	1.47
2	8-[Phe-6] <sub>0,9</sub> [Leu-6] <sub>0,1</sub>	97	0.30	38100	1.40

3	8-[Phe-6] <sub>0.8</sub> [Leu-6] <sub>0.2</sub>	98	0.27	31500	1.37
4	4-[Phe-6] <sub>0.8</sub> [Leu-6] <sub>0.2</sub>	98	0.42	60000	1.45
5	4-[Phe-6] <sub>0.6</sub> [Leu-6] <sub>0.4</sub>	96	0.31	32300	1.4

Остатки солей бис-( $\alpha$ -аминокислота)- $\alpha,\omega$ -алкилендиэфира ди-*p*-толуолсульфокислоты обозначены как: Leu-6, Phe-6 ( $x=6$ ),  $x$  – остаток диола (1,6-гександиол).  
Нап.: 8-[Phe-6]<sub>0.8</sub>[Leu-6]<sub>0.2</sub> обозначает: со-PEA состоит из себаценовой кислоты ( $y=8$ ), L-лейцина (Leu), 1,6-гександиола ( $x=6$ );

### 3. Изучение свойств полимеров

#### 3.1. Растворимость полимеров.

Большинство синтезированных полимеров растворимы в органических растворителях в тех или иных условиях. В этаноле, хлороформе и диметилформамиде наблюдается общая тенденция – растворимость полиамидов, полученных на основе лизинового эфира ухудшается с возрастанием содержания гидрофобных заместителей алкила. Хотя в бензоле происходит противоположное явление – растворимость полимеров улучшается вместе с увеличением гидрофобности заместителей.

В общем, тенденция растворимости сополиэфирамидов, изученная на примере некоторых образцов (таблица 5), аналогична растворимости полиамидов. С удлинением боковых алкильных заместителей снижается растворимость сополиэфирамидов в этаноле, а в бензоле – повышается, причем, на процесс влияние оказывают как количество введенных лизиновых фрагментов, так и длина входящего в их состав алкильного радикала (гидрофобность) - таблица 5.

**Таблица 5.**  
**Растворимость сополиэфирамидов на основе длинноцепных алкиловых эфиров лизина.**

N	Сополиэфирамид	Растворимость 10 мг полимера в 10 мл растворителя				
		Этанол	CHCl <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	ДМФ	Бензол
1	4-[Leu-6]	+	+	+	+	± <i>tt</i>
2	4-[Leu-6] <sub>0.8</sub> [Lys(Oct)] <sub>0.2</sub>	+	+	+	+	± <i>tt</i>
3	4-[Leu-6] <sub>0.6</sub> [Lys(Oct)] <sub>0.4</sub>	<i>tt</i>	+	+	+	± <i>tt</i>
4	4-[Leu-6] <sub>0.4</sub> [Lys(Oct)] <sub>0.6</sub>	<i>tt,p</i>	+	+	+	± <i>tt</i>
5	8-[Leu-6]	+	+	+	+	+ <i>tt</i>
6	8-[Leu-6] <sub>0.8</sub> [Lys(Oct)] <sub>0.2</sub>	+	+	+	+	± <i>tt</i>
7	8-[Leu-6] <sub>0.8</sub> [Lys(Dod)] <sub>0.2</sub>	+	+	+	+	± <i>tt</i>
8	8-[Leu-6] <sub>0.8</sub> [Lys(Hex)] <sub>0.2</sub>	+ <i>t</i>	+	+	+	± <i>tt</i>
9	8-[Phe-6]	± <i>tt</i>	+	+	+	± <i>tt</i>
10	8-[Phe-6] <sub>0.8</sub> [Lys(Oct)] <sub>0.2</sub>	<i>tt,p</i>	+	+	+	± <i>tt</i>

11	8-[Phe-6] <sub>0.4</sub> [Lys(Oct)] <sub>0.6</sub>	+ <i>tt,p</i>	+	+	+	± <i>tt</i>
12	8-[Phe-6] <sub>0.8</sub> [Lys(Hex)] <sub>0.2</sub>	+ <i>tt,p</i>	+	+ <i>t,p</i>	+	± <i>tt</i>
13	8-[Phe-6] <sub>0.6</sub> [Lys(Hex)] <sub>0.4</sub>	+ <i>tt,p</i>	+	+	+ <i>t</i>	± <i>tt</i>
14	8-[Phe-6] <sub>0.4</sub> [Lys(Hex)] <sub>0.6</sub>	+ <i>tt,p</i>	+	+ <i>t</i>	+ <i>t,g</i>	+ <i>tt,p</i>

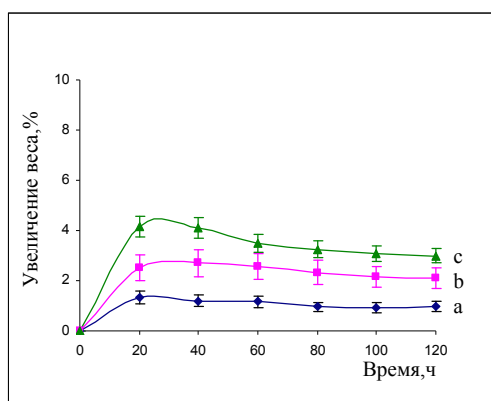
«+» - растворим при комнатной температуре; «-» - нерастворим даже при сильном нагревании; «+*t*» - растворим при слабом нагревании (~ 40-45°C); «+*tt*» - растворим при сильном нагревании (до т.кипения); «+*tt*» при сильном нагревании лишь набухает, «*g*» - формирует гель при охлаждении до к.т.; «*p*» - выпадает при охлаждении до комнатной температуре.

### 3.2. Адсорбция воды полимерными пленками

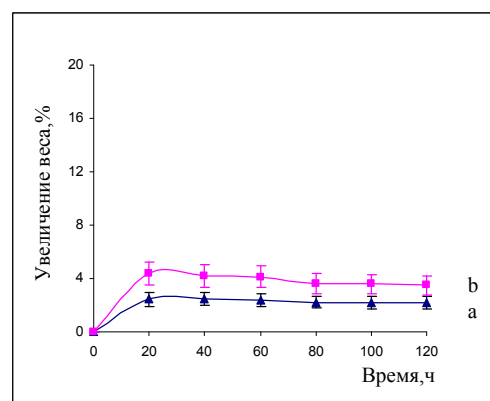
Для оценки гидрофобности сополиэфирамидов изучена адсорбция воды полимерными пленками весовым методом.

Интересной особенностью большинства полученных нами адсорбционных кривых является то, что спустя 20 часов полиэфирамидные пленки теряют значительную часть исходной массы (рис.1-4). Это явление может быть связано или с десорбцией адсорбированной воды в полимере из-за некоторых структурных реорганизаций, или с постепенным вымыванием водой из полимера низкомолекулярных примесей.

Вначале была оценена способность адсорбции воды полиэфирамидами, полученными на основе бис-(L-α-аминокислота)-1,6-гександиолдиэфиров. Как оказалось, повышение мольной доли фрагмента [Leu-6] в сополимерэфирамидах 8-[Phe-6]<sub>0.95</sub>[Leu-6]<sub>0.05</sub>; 8-[Phe-6]<sub>0.9</sub>[Leu-6]<sub>0.1</sub>; 8-[Phe-6]<sub>0.8</sub>[Leu-6]<sub>0.2</sub> выявляет тенденцию роста способности поглощения воды (рис.1). Это и ожидалось по причине сравнительно низкой гидрофобности бутильного радикала лейцина по сравнению с радикалом бензила фенилаланина.



**Рис.1.** Поглощение воды сополиэфирамидами при 37°C  
а) 8-[Phe-6]<sub>0.95</sub>[Leu-6]<sub>0.05</sub>;  
б) 8-[Phe-6]<sub>0.9</sub>[Leu-6]<sub>0.1</sub>  
в) 8-[Phe-6]<sub>0.8</sub>[Leu-6]<sub>0.2</sub>



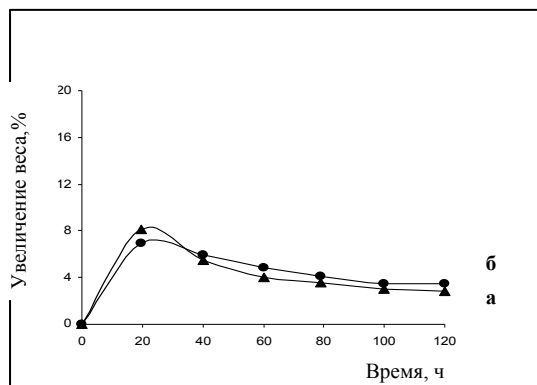
**Рис.2.** Поглощение воды сополиэфирамидами при 37°C  
а) 4-[Phe-6]<sub>0.8</sub>[Leu-6]<sub>0.2</sub>  
б) 4-[Phe-6]<sub>0.6</sub>[Leu-6]<sub>0.4</sub>

Аналогичная тенденция более четко проявляется при сравнении полимеров 4-[Phe-6]<sub>0.8</sub>[Leu-6]<sub>0.2</sub> и 4-[Phe-6]<sub>0.6</sub>[Leu-6]<sub>0.4</sub> (рис.2).

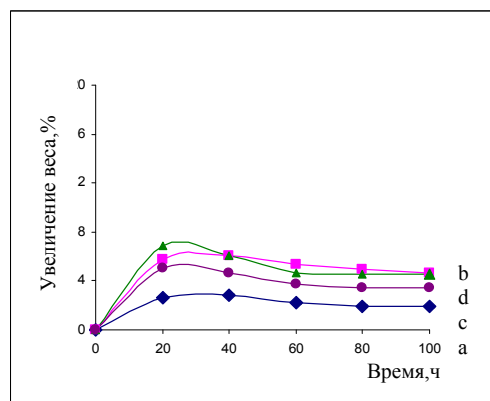
Для предварительной оценки полимеров, содержащих боковые длинноцепные алкильные заместители, было выбрано два сополиэфирамида на основе гидрофобных

аминокислот – лейцина и фенилаланина:  $8\text{-[Leu-6]}_{0,8}\text{[Lys-(Dod)]}_{0,2}$  и  $8\text{-[Phe-6]}_{0,8}\text{Lys(Dod)}_{0,2}$  (мольная доля додецилового эфира лизина одинакова в обоих полимерах).

В течении первых 20 часов возрастание массы полимерных пленок составляет приблизительно 8% (рис.3). Как видно, количество адсорбированной воды мало зависит от природы гидрофобных аминокислот (Leu и Phe), хотя в случае регулярных полиэфирамидов более гидрофобными являются Phe-содержащие полимеры, чем Leu-содержащие аналоги. При намного более высоком содержании гидрофобных додецильных групп различие в гидрофобности бутильных и бензильных радикалов, как видно, нивелируется.



**Рис.3.** Поглощение воды сополиэфирамидами при  $37^{\circ}\text{C}$   
 а)  $8\text{-[Leu-6]}_{0,8}\text{[lys(Dod)]}_{0,2}$ ,  
 б)  $8\text{-[Phe-6]}_{0,8}\text{[lys(Dod)]}_{0,2}$ ,



**Рис.4.** Поглощение воды сополиэфирамидами при  $37^{\circ}\text{C}$   
 а)  $4\text{-[Leu-6]}_{0,8}\text{[Lys(Oct)]}_{0,2}$ ,  
 б)  $4\text{-[Leu-6]}_{0,6}\text{[Lys(Oct)]}_{0,4}$ ,  
 в)  $4\text{-[Leu-6]}_{0,4}\text{[Lys(Oct)]}_{0,6}$ ,  
 д)  $4\text{-[Leu-6]}_{0,2}\text{[Lys(Oct)]}_{0,8}$ ,

При варьировании количества алкильных заместителей в сополиэфирамидах  $4\text{-[Leu-6]}_{0,8}\text{[Lys(Oct)]}_{0,2}$ ,  $4\text{-[Leu-6]}_{0,6}\text{[Lys(Oct)]}_{0,4}$ ,  $4\text{-[Leu-6]}_{0,4}\text{[Lys(Oct)]}_{0,6}$ ,  $4\text{-[Leu-6]}_{0,2}\text{[Lys(Oct)]}_{0,8}$ , резкой тенденции при поглощении воды не наблюдается (Рис.4). Это может быть вызвано двумя взаимно исключаящими эффектами: с одной стороны, возрастание эфирной доли в алкиле лизина вызывает рост гидрофобности макромолекулы, а с другой стороны возрастание содержания того же лизина вызывает рост гидрофильности за счет роста доли гидрофильных амидных связей и уменьшения доли содержания сложноэфирных связей.

В общем, на основе полученных результатов можно заключить, что варирование гидрофобно-гидрофильного баланса сополиэфирамидов возможно изменением их структуры. Широкое регулирование этого параметра имеет большое значение при конструировании систем контролируемого выделения лекарств на основе полимеров.

### 3.3. Изучение термических свойств сополиэфирамидов.

Термические свойства полученных сополиэфирамидов изучены дифференциальным сканирующим калориметром (DSC) в температурном интервале  $-20^{\circ}\text{C}$  –  $+200^{\circ}\text{C}$ . Скорость нагревания  $10\text{ K/мин}$ . Термические свойства полученных нами полимеров приведены в таблице 6.

На термограммах большинства полученных полиэфирамидов наблюдается переходы, характерные для температур ( $T_g$ ), а в некоторых случаях резкие переходы, но довольно широкие эндотермические пики. По рентгеноструктурным данным, которые были получены для полимера с наиболее сильно выраженным эндотермическим пиком, синтезированные сополиэфирамиды являются аморфными веществами. Этот факт, широкая форма пиков и

возрастание энтальпии процесса с ростом содержания боковых заместителей дает право судить, что эндотермы плавления соответствуют плавлению доменов, которые образуют боковые гидрофобные заместители.

Температура стеклования ( $T_g$ ) сополиэфирамидов меньше физиологической ( $37^\circ\text{C}$ ), что способствует их использованию в виде эластичных пленок в медицине.

### 3.4. Биодegradация полимеров в экспериментах *in vitro*.

Способность полимеров к биодegradации, изучение ее скорости и механизмов составляет ключевую задачу в химии биодegradируемых полимеров.

Исследование биодegradации синтезированных полимеров проводили гравиметрическим методом в экспериментах *in vitro* в условиях, приближенных к физиологическим ( $\text{pH}=7,4$ ;  $t=37^\circ\text{C}$ ). В качестве ферментов использовались гидролазы- $\alpha$ -химотрипсин и липаза. Кинетику биодegradации (уменьшение веса со временем,  $\text{мг}/\text{см}^2$ ) полимерных пленок изучали помещая стандартные пленки ( $d=4\text{см}$ ,  $m=0,5-0,6\text{ г}$ ) в раствор  $0,2\text{ N}$  фосфатного буфера или в раствор ферментов в том же буфере. После 20-часовой инкубации пленки доставали, промывали дистиллированной водой, сушили до постоянного веса. Описанную процедуру повторяли в течение суммарного времени биодegradации – 120 часов.

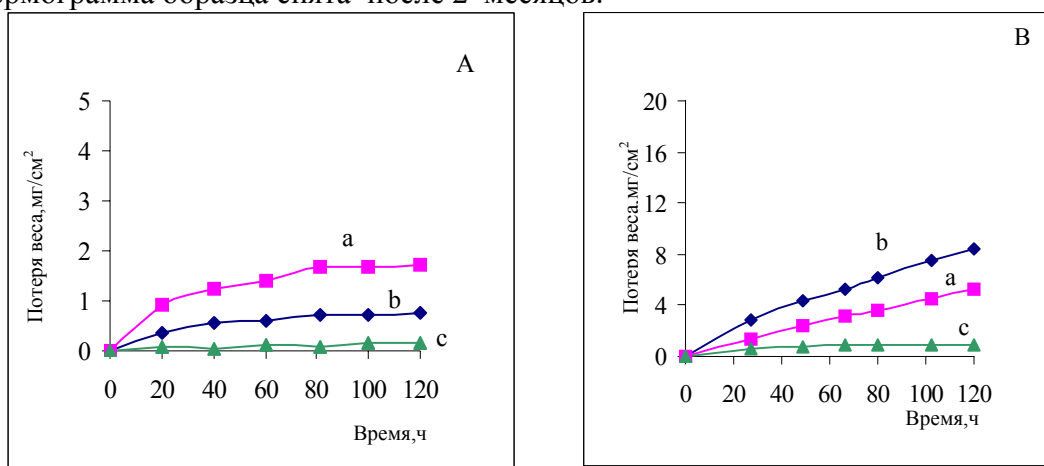
**Таблица 6.**  
**Термические характеристики полиамидов и полиэфирамидов**

CO-PEA	I измерение				II измерение			
	$T_g$ ( $^\circ\text{C}$ )	$T_m$ ( $^\circ\text{C}$ )	$\Delta H$ (J/g)	$T_p$ ( $^\circ\text{C}$ )	$T_g$ ( $^\circ\text{C}$ )	$T_m$ ( $^\circ\text{C}$ )	$\Delta H$ (J/g)	$T_p$ ( $^\circ\text{C}$ )
4-[Leu-6] <sub>0.8</sub> [Lys (Oct)] <sub>0.2</sub>	11,5/26,2				24,70			
4-[Leu-6] <sub>0.6</sub> [Lys (Oct)] <sub>0.4</sub>	6,2/21,9				26,90			
4-[Leu-6] <sub>0.4</sub> [Lys (Oct)] <sub>0.6</sub>	9,3/22,1				16,10			
8-[Phe-6] <sub>0.8</sub> [Lys (Oct)] <sub>0.2</sub>	7,4/20,4	55,90	5,71	71,40	22,40	59,20	6,40	73,30
8-[Phe-6] <sub>0.4</sub> [Lys (Oct)] <sub>0.6</sub>	11,50	56,20	10,28	71,30	19,00	61,90	10,82	74,00
8-[Leu-6] <sub>0.8</sub> [Lys (Oct)] <sub>0.2</sub>	10,50				13,90			
8-[Leu-6] <sub>0.8</sub> [Lys (Dod)] <sub>0.2</sub>	13,30				18,80			
8-[Phe-6] <sub>0.8</sub> [Lys (Dod)] <sub>0.2</sub>	10,70	56,60	6,72	69,50	19,50	59,00	8,91	72,90
8-[Phe-6] <sub>0.8</sub> [Lys (Hex)] <sub>0.2</sub>	12,40	57,80	18,33	70,40	19,30	60,90	19,88	71,90
8-[Leu-6] <sub>0.8</sub> [Lys (Hex)] <sub>0.2</sub>	9,80	54,70	10,12	64,40	13,70	58,40	12,17	67,10
8-[Phe-6] <sub>0.6</sub> [Lys (Hex)] <sub>0.4</sub>	11,40	54,30	30,50	73,30	19,50	58,50	33,07	73,60
8-[Phe-6] <sub>0.4</sub> [Lys (Hex)] <sub>0.6</sub>	22,40	56,90	51,15	80,10	23,90	58,80	41,05	78,00
8-[Phe-6] <sub>0.4</sub> [Lys (Dod)] <sub>0.6</sub>	12,00	54,9/77,4	31,95	86,90	10,60	59,5/ 80,3	32,45	88,40
8-Lys(Oct)					24,30	73,10	21,84	93,90
8-Lys(Dod)					20,10	51,2 / 76,3	42,47	87,50
8-Leu-6	9,70							
8-Phe-6	21,00	54,50	15,48	88,90				

$T_m$  - T melting

Тр - Т реак

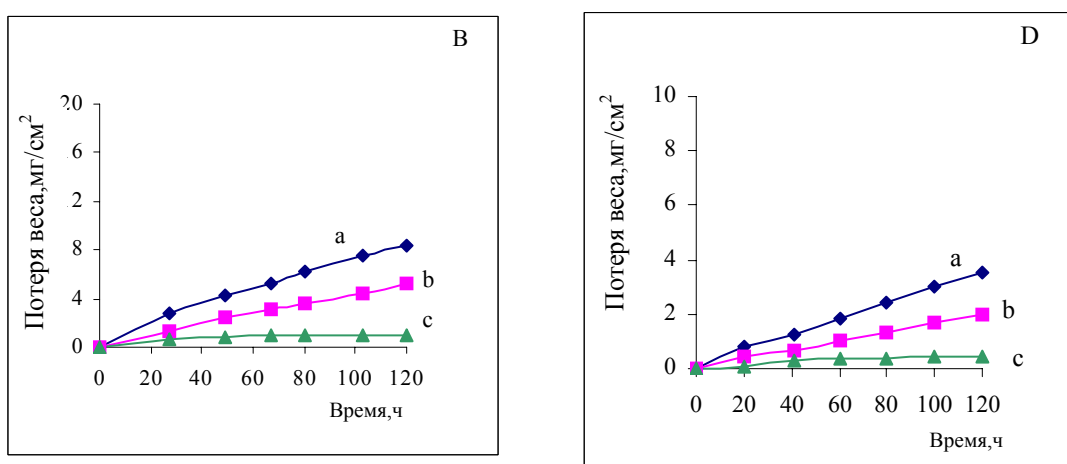
/ - означает, что на термограмме получены данные в виде ступеней или в виде двух пиков; I измерение означает –термограмма образца снята впервые; II измерение означает - термограмма образца снята после 2 месяцев.



**Рис.5.** Биодegradация сополиэфирамидов **8-[Leu-6]<sub>0,8</sub>[Lys(Oct)]<sub>0,2</sub> (A), 8-[Phe-6]<sub>0,8</sub>[Lys(Oct)]<sub>0,2</sub> (B)** в экспериментах *in vitro*; **a** – липаза; **b** – $\alpha$ -химотрипсин; **c** – буфер.

Анализ полученных результатов показал, что при наличии ферментов гидролиз протекает более глубоко и быстрее по сравнению с чистым буфером, что явно указывает на каталитический процесс с участием ферментов. Сополиэфирамиды на основе фенилаланина, содержащие Lys(Alk) в основной цепи гидролизуются быстрее в присутствии обоих ферментов, чем их аналоги, содержащие лейцин (рис.5).

Установлено, что при одной и той же мольной доле содержания лизина в сополиэфирамидных субстратах удлинение алкильного радикала уменьшает скорость биодegradации, что показано на примере полимерных субстратов, содержащих фенилаланин 8-[Phe-6]<sub>0,8</sub>[Lys(Oct)]<sub>0,2</sub>, 8-[Phe-6]<sub>0,8</sub>[Lys(Dod)]<sub>0,2</sub>, 8-[Phe-6]<sub>0,8</sub>[Lys(Hex)]<sub>0,2</sub> (рис.6). Очевидно, это связано с конкурентным ингибированием ферментов, степень которого возрастает с удлинением радикала.



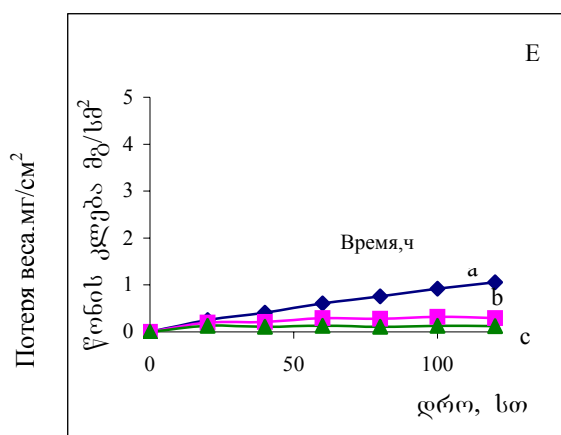


Рис. 6. биодegradация сополиэфирамидов в экспериментах *in vitro* :

**В)** 8-[Phe-6]<sub>0,8</sub>[Lys(Oct)]<sub>0,2</sub>, **Д)** 8-[Phe-6]<sub>0,8</sub>[Lys(Dod)]<sub>0,2</sub>, **Е)** 8-[Phe-6]<sub>0,8</sub>[Lys(Hex)]<sub>0,2</sub>;  
**а-** α- химотрипсин, **б-** липаза, **с-**буфер;

Контрольными опытами установлено, что гомополиамиды, полученные на основе эфиров лизина 8-Lys(Oct), 8-Lys(Dod) и 8-Lys(Hex) не претерпевают *in vitro* каталитическую биодegradацию α-химотрипсином и липазой. Это дает возможность заключить, что длинноцепные боковые сложноэфирные связи, соединенные с лизином не подвержены ферментному гидролизу и биодegradация сополиэфирамидов проходит за счет расщепления сложноэфирных связей основной цепи.

Таким образом, можем заключить, что регулирование скорости и механизма биодegradации сополиэфирамидов возможно в широких пределах, как за счет основной цепи, так и варьированием структуры и природы боковых заместителей.

## В ы в о д ы

1. Синтезировано 3 новых мономера – длинноцепные алкиловые эфиры (октила, додецила и гексадецила) незаменимой аминокислоты L-лизина в виде устойчивых ди-п-толуолсульфокислотных солей. На их основе синтезировано 3 новых гомополиамида (найлон), 17 новых сополиэфирамидов, содержащих фенилаланин и лейцин. Установлена структура синтезированных полимеров, определены их молекулярные массы и полидисперсность.
2. Изучены физико-химические свойства полученных полимеров, среди них растворимость и гидрофобность. Показано, что растворимость полимеров полученных на основе алкиловых эфиров лизина, как полиамидов, так и сополиэфирамидов в традиционных для полимеров этого класса растворителях (хлороформ, этанол, диметилформамид) уменьшается с удлинением алкильных радикалов (с ростом гидрофобности), и наоборот, увеличивается растворимость в таком нетрадиционном растворителе, как бензол. Установлено возможность регулирования гидрофобно/гидрофильного баланса полученных полимеров путем варьирования структуры и свойств как основной цепи, так и бокового гидрофобного заместителя.
3. Изучены термофизические свойства синтезированных сополиэфирамидов. Показано, что синтезированные полимеры характеризуются температурой стеклования ниже физиологической, что раскрывает перспективы их применения в биомедицине в виде эластичных пленок. На термограммах некоторых сополиэфирамидов заметны



выраженные эндотермичные пики, что можно приписать плавлению гидрофобных доменов с учетом аморфной структуры полиэфигов (установлена рентгеноструктурным анализом).

4. Проведено исследование биодegradации сополиэфирамидов (специфический гидролиз катализируемый  $\alpha$ -химотрипсином и липазой) в экспериментах *in vitro*. Установлено, что как удлинение алкильного радикала, так и увеличение его содержания в полимерной цепи уменьшает скорость биодegradации катализируемой обоими ферментами, предположительно за счет конкурирующего ингибирования. Показано, что на скорость биодegradации значительное влияние оказывает природа той аминокислоты, с помощью которой в полимерной цепи формируется биодegradируемая эфирная связь (в нашем случае фенилаланин или лейцин). Таким образом, изменение скорости и механизма биодegradации сополиэфирамидов возможно, гибко и в широких пределах, за счет варьирования различных параметров.
5. На основании полученных данных можно утверждать, что синтезированные новые биодegradируемые сополиэфирамиды с гидрофобными боковыми цепями являются перспективными материалами в биомедицине в качестве полимер-носителей лекарственных и других физиологических активных веществ в которых активное начало связано не ковалентно, а гидрофобными связями.

#### სადისერტაციო ნაშრომის ძირითადი შედეგები გამოქვეყნებულია შემდეგ შრომებში:

1. **ნეპარიძე ნ.**, მაცაიძე მ., ჯავრდაშვილი ნ., მაზანაშვილი ნ., ტაბიძე ვ., ტუგუში დ., კაცარავა რ., Биодegradируемые сополиэфирамиды с гидрофобными боковыми заместителями, «Полимеры и медицина», Россия, г. Санкт-Петербург, 2006, т.2, с. 27-33.
2. ჯობაძე გ., ნეფარიძე ნ., მაჩაიძე მ., ხარაძე დ., ქაცარავა რ., L-ლიზინის ბენზილის ეთერისა და გრძელჯაჭვიანი ალკილის ეთერების შემცველი თანაპოლიეტერამიდების ბიოდegradაცია ცდებში *in vitro*,. Georgia Chemical Journal, 2006, v. 2, p. 397-401.
3. Katsarava R., Jokhadze G., **Neparidze N.**, Zavrashvili N. , Chkhaidze E., Non-Tradional Macromolecular Systems Composed Of  $\alpha$ -amino Acids, Yerevan Institute “Plastpolymer” International conference ”New Polymer systems for Biotechnological and Biomedical Applicatios” Yerevan, Republic of Armenia July 12-14, 2005, p.66-74.
4. **Neparidze N.**, Katsarava R., Tugushi D., Gverdtsiteli G., Otiashvili G., Bashureli N. „Synthesis and Atudy of Biodegradable Functional Poly(esterethanes)s with Lateral”, Yerevan Institute „Plastpolymer” New Polymer systems for Biotechnological and Biomedical Applicatios Yerevan, Republic of Armenia July 12-14, 2005, p.140-145.
5. **ნეპარიძე ნ.**, Джохадзе Г., ჯავრდაშვილი ნ., გოგუაძე ც., კაცარავა რ. Новые биодegradируемые сополи(эфирамиды) на основе  $\alpha$ -аминокислот, алифатических диолов и дикарбоновых кислот. Всероссийская конференция с международным участием, Улан-Удэ, 2002, 22-27 августа, с.108-109.
6. ნეფარიძე ნ., ჯობაძე გ., ზავრდაშვილი ნ., გოგუაძე ც., ქაცარავა რ., ახალი

ბიოდეგრადირებადი თანაპოლიეტერამიდები  $\alpha$ -ამინომჟავების, ალიფატური დიოლების და დიკარბონმჟავების საფუძველზე, მეოთხე რესპუბლიკური სამეცნიერო-მეთოდური კონფერენცია ქიმიაში, თბილისი, 2002, 29-31 ოქტომბერი, გვ. 37-38.

7. ჩხაიძე ე., ნეფარიძე ნ., ბიოდეგრადირებადი უჯერი თანაპოლიეტერამიდების სინთეზი და მათი პოლიმერანალოგიური გარდაქმნები საქართველოს ქიმიური საზოგადოება, მეხუთე რესპუბლიკური კონფერენცია ქიმიაში. თბილისი, 2004, 28-30 ოქტომბერი, გვ. 53.