

**ПОЛУЧЕНИЕ ПОРИСТЫХ БИОРЕЗОРБИРУЕМЫХ
ПОЛИМЕРОВ ОБРАБОТКОЙ ДИОКСИДОМ УГЛЕРОДА
В ГАЗООБРАЗНОМ, ЖИДКОМ И СВЕРХКРИТИЧЕСКОМ
СОСТОЯНИЯХ**

**Д. Ю. Залепугин, Н. А. Тилькунова, В. С. Мишин, Е. Н. Глухан,
И. В. Чернышова, В. Л. Королев**

*Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии,
Москва, Россия*

Поступила в редакцию 29.01.2007 г.

Изучены методы обработки биорезорбируемых полимеров (полилактида и сополимера полилактида с полигликолидом) в газообразных, жидких и сверхкритических средах. Показано, что обработка биорезорбируемых полимеров в сверхкритических средах характеризуется большими величинами адсорбции диоксида углерода в полимерной матрице, что при десорбции приводит к получению высокопористых полимерных материалов с объемом пор до 2 см³/г. При обработке биорезорбируемых полимеров в жидком и газообразном диоксиде углерода объем пор получаемых биорезорбируемых материалов равен приблизительно 0,1 ÷ 0,3 см³/г.

Ключевые слова: полимеры, пористость, сверхкритические флюиды, диоксид углерода.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время биорезорбируемые полимеры привлекают внимание в качестве основы для создания заменителей костной ткани и систем медленного дозирования лекарственных препаратов (Drug Delivery). Основным преимуществом данных полимерных материалов является их способность постепенно растворяться в физиологических жидкостях организма по мере формирования новой ткани или высвобождения содержащихся внутри полимерной матрицы лекарственных препаратов. Так, известны примеры использования полилактида и его сополимеров [1] в качестве имплантатов, а композиционного материала, состоящего из полилактида, фосфата и карбоната кальция, — для восстановления костной ткани черепа [2]. Пористый сополимер полилактида с полигликолидом использовался для регенерации костной ткани [4], сополимер полилактида с полигликолидом, импрегнированный фактором роста и клетками сосудистого эндотелия, — для регенерации сосудов [3], а пористый поликарбонат — для восстановления тканей эпителия [5].

За последние несколько десятилетий была исследована возможность использования в качестве биорезорбируемой основы широкого круга как натуральных, так и синтетических полимерных материалов. Среди натуральных биорезорбируемых полимерных материалов были исследованы бычий сывороточный альбумин, альбумин сыворотки человека, гемоглобин [6], желатин [7, 8] и коллаген [9, 10]. Широкое применение данных материалов сдерживается относительно высокой

стоимостью их получения и очистки, а также трудностями, связанными с последующей обработкой данных материалов [6].

В мире в настоящее время проводится большое количество исследований, посвященных созданию систем медленного дозирования на основе синтетических биорезорбируемых полимерных материалов. Диапазон применяемых в качестве полимерной основы материалов чрезвычайно широк. Он включает в себя полиамиды [11], полиакриламиды [12, 13], сополимеры на основе винилацетата [14, 15], полиакрилаты [16, 17], производные целлюлозы [18, 19], поли- ξ -капролактон [20], полиуретан [21, 22] и некоторые другие полимерные материалы. Однако наибольший интерес вызывают термопластические алифатические полиэфиры — полилактид (PLA), полигликолид (PGA), а также сополимеры лактида (L,D-3,6-диизопропил-1,4-диоксан-2,5-дион) и гликолида (1,4-диоксан-2,5-дион) (PLGA) с различным соотношением мономеров. Это связано с тем, что данные материалы являются полностью биосовместимыми, не вызывают воспалений, и продукты их разложения выводятся из организма с помощью регулярного обмена веществ [23]. Кроме того, они обладают сравнительно высокими механическими характеристиками и достаточно легко обрабатываются [24].

Поскольку полилактид, полигликолид и особенно сополимеры лактид/гликолид наиболее широко применяются для создания систем медленного дозирования, остановимся более подробно на физико-химических свойствах данных материалов. Полилактид может быть получен как в форме оптически активного стереорегулярного полимера L-PLA, так и в форме оптически не активного рацемического полимера D,L-PLA. Оптически активная форма имеет высокую степень кристалличности, а D,L-PLA является полностью аморфным полимером [25]. В системах медленного дозирования, как правило, используют аморфный полимер, так как он более доступен и обеспечивает гомогенное распределение препарата внутри полимерной матрицы. Чистый полигликолид имеет высокую степень кристалличности из-за отсутствия боковых метильных групп, присутствующих у полилактида [26]. Степень кристалличности сополимера лактид/гликолид зависит от типа используемых мономеров, а также от их соотношения. Так, сополимеризация оптически чистого L-изомера лактида с гликолидом приводит к получению кристаллического полимера, в то время как использование в качестве мономера рацемической смеси L- и D-изомеров дает полностью аморфный полимер. Кроме того, увеличение доли гликолида в сополимере до 70 % и более также приводит к получению полимера с высокой степенью кристалличности [27]. Соответственно, степень кристалличности определяет такие свойства данных полимеров, как механическая прочность, способность к набуханию и скорость гидролиза. Эти факторы, а также молекулярный вес и молекулярно-массовое распределение определяют как скорость биорезорбции, так и возможности импрегнации полимера лекарственным препаратом. В случае сополимера лактид/гликолид наибольшая скорость биорезорбции достигается при соотношении мономеров 50 : 50 [28].

Предполагается, что биорезорбция полилактида, полигликолида и сополимера полилактид/полигликолид происходит в водной среде за счет медленного гидролитического распада эфирных связей и включает три стадии процесса [29]. На первой стадии происходит разрыв полимерных цепей, приводящий к существенному снижению молекулярной массы полимера, но при этом не происходит никаких потерь массы. На второй стадии дальнейшее снижение молекулярной массы сопровождается существенными потерями массы полимера за счет образования растворимых олигомеров и мономеров, а на третьей стадии происходит

превращение высвободившихся мономерных продуктов в растворимые олигомерные фрагменты. Данная стадия завершает процесс полного растворения полимера.

Образовавшиеся растворимые продукты метаболизируют в организме с образованием воды и углекислого газа [29].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одной из важнейших характеристик полимерной матрицы является пористость. Поэтому представляется перспективным получение пористых полилактида и сополимера полилактид/полигликолид посредством обработки диоксидом углерода.

Эксперименты по обработке образцов полилактида и сополимера полилактид/полигликолид диоксидом углерода в сверхкритическом, жидком и газообразном состояниях были проведены на установке, представленной на рис. 1.

Обработку полимера сверхкритическим диоксидом углерода (СК- CO_2) проводили следующим образом: образец полимера ($5 \times 10 \times 15$ мм) помещали в ячейку высокого давления E объемом 3,2 мл, находящуюся в термостате T ; насосом H из баллона подавали жидкий диоксид углерода; при достижении заданного давления включали термостат T и разогревали ячейку до заданной температуры; образец выдерживали при этих условиях определенное время, при этом постоянное давление в ячейке автоматически поддерживалось насосом H ; по окончании опыта ячейку охлаждали до комнатной температуры, затем через регулируемый рестриктор PP медленно сбрасывали давление диоксида углерода до атмосферного.

В сверхкритических условиях даже при минимальном времени обработки 2 мин в сравнительно мягких условиях (давление 150 атм и температура 40°C) после сброса давления происходит очень сильное увеличение объема образцов. Внешний вид исходного образца полилактида и образцов, обработанных в СК- CO_2 , представлен на рис. 2.

Так как опыты, проведенные в сверхкритических условиях, показали, что полилактид очень хорошо сорбирует CO_2 , то была изучена возможность обработки этого полимера в более мягких условиях — в жидком и газообразном CO_2 . Оказалось, что и в случае жидкого и газообразного CO_2 также происходит суще-

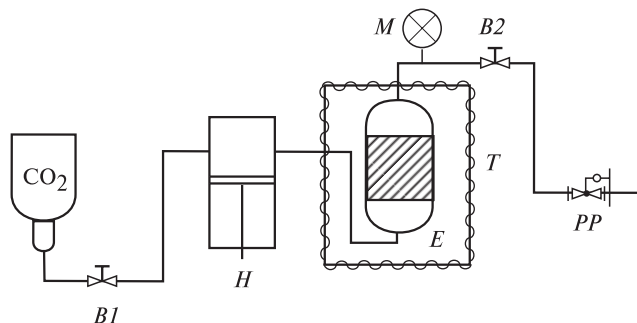


Рис. 1. Принципиальная схема установки для обработки биорезорбируемых полимерных материалов:

$B1$, $B2$ — вентили; H — насос; T — термостат; E — ячейка высокого давления; M — манометр; PP — регулируемый рестриктор

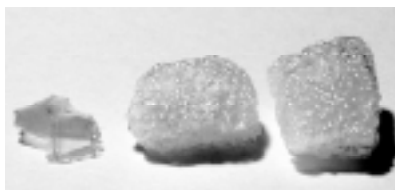


Рис. 2. Внешний вид образцов полилактида, обработанных в СК-СО₂ (слева направо: исходный полилактид; полилактид, обработанный в СК-СО₂ при 40 °С и давлении 150 атм в течение 2 мин; полилактид, обработанный в СК-СО₂ при 40 °С и давлении 150 атм в течение 10 мин)

ственное увеличение объема образцов после сброса давления (хотя и в меньшей степени). Кроме изменения объема, после обработки наблюдалось увеличение веса образцов, т. е. происходила сорбция СО₂ полимером. Данные по привесу образцов полилактида и сополимера полилактид/полигликолид, обработанных в различных условиях, приведены на рис. 3. Вес образцов измерен сразу после разгрузки реактора.

Из приведенной на рис. 3 гистограммы видно, что адсорбция СО₂ биорезорбируемыми полимерами зависит от условий (температуры, давления

и времени) обработки, а также агрегатного состояния диоксида углерода. Привес образцов увеличивается при переходе от газообразного СО₂ (обр. 1—2) к жидкому (обр. 3—6) и сверхкритическому (обр. 7). Оказалось, что изменение веса очень чувствительно к изменению температуры обработки. Например, при снижении температуры обработки с 20 °С (обр. 4) до 10 °С (обр. 5) при одинаковом давлении привес образца снижается в два раза. Кроме того, в случае обработки сополимера полилактид/полигликолид увеличение массы существенно ниже, чем

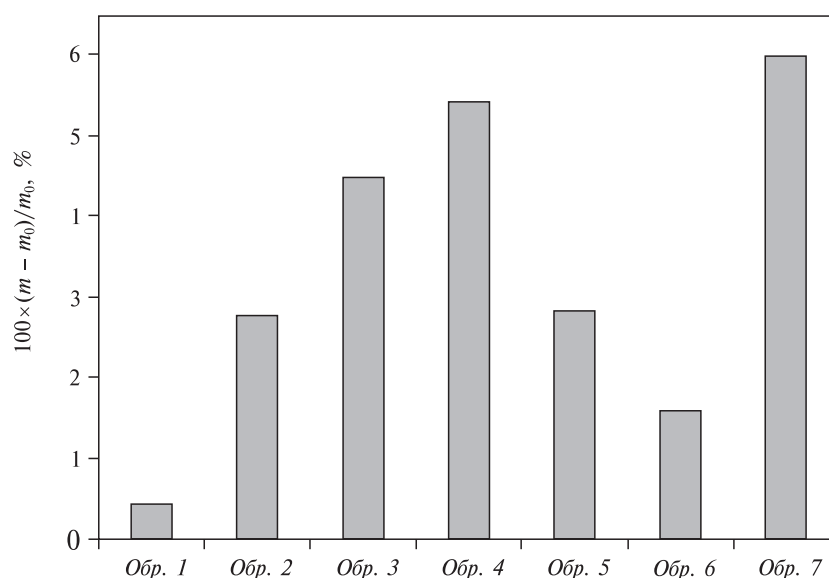


Рис. 3. Изменение массы образцов полилактида и сополимера полилактид/полигликолид после обработки СО₂:

обр. 1 — полилактид, обработка газообразным СО₂ (20 атм) 10 мин при 20 °С; *обр. 2* — полилактид, обработка газообразным СО₂ (50 атм) 5 мин при 20 °С; *обр. 3* — полилактид, обработка жидким СО₂ (150 атм) 5 мин при 20 °С; *обр. 4* — полилактид, обработка жидким СО₂ (150 атм) 10 мин при 20 °С; *обр. 5* — полилактид, обработка жидким СО₂ (150 атм) 10 мин при 10 °С; *обр. 6* — полилактид/полигликолид (75 ÷ 25 %), обработка жидким СО₂ (150 атм) 5 мин при 20 °С; *обр. 7* — полилактид, обработка СК-СО₂ (150 атм) 2 мин при 40 °С

**Получение пористых биорезорбируемых полимеров
обработкой диоксидом углерода в газообразном, жидком и сверхкритическом состояниях**

при обработке чистого полилактида. Повышение давления от 20 до 50 атм при обработке полилактида газообразным CO_2 приводит почти к шестикратному увеличению содержания диоксида углерода в полимере. Обработка полилактида жидким CO_2 не приводит к существенному увеличению количества сорбированного диоксида углерода (примерно в $1,4 \div 1,5$ раза). Наибольшая эффективность обработки полилактида наблюдается при использовании диоксида углерода в сверхкритическом состоянии: количество СК- CO_2 , адсорбированного полилактидом при 150 атм всего за 2 мин, превышает количество адсорбированного CO_2 при обработке полимера жидким CO_2 (при 50 атм) за 5 мин.

Сорбированный полилактидом диоксид углерода достаточно быстро десорбируется из полимера при атмосферном давлении и комнатной температуре. Типичная зависимость десорбции от времени после обработки приведена на рис. 4.

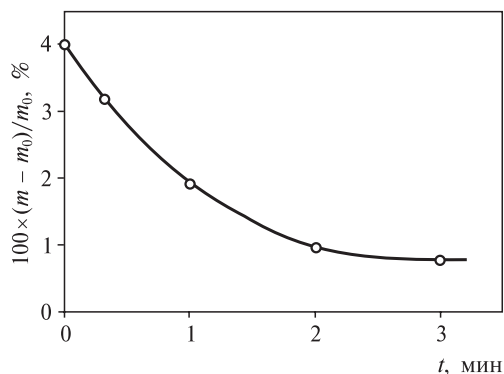


Рис. 4. Кинетика десорбции CO_2 из образца полилактида, обработанного газообразным CO_2 в течение 10 мин при 20°C и давлении 60 атм

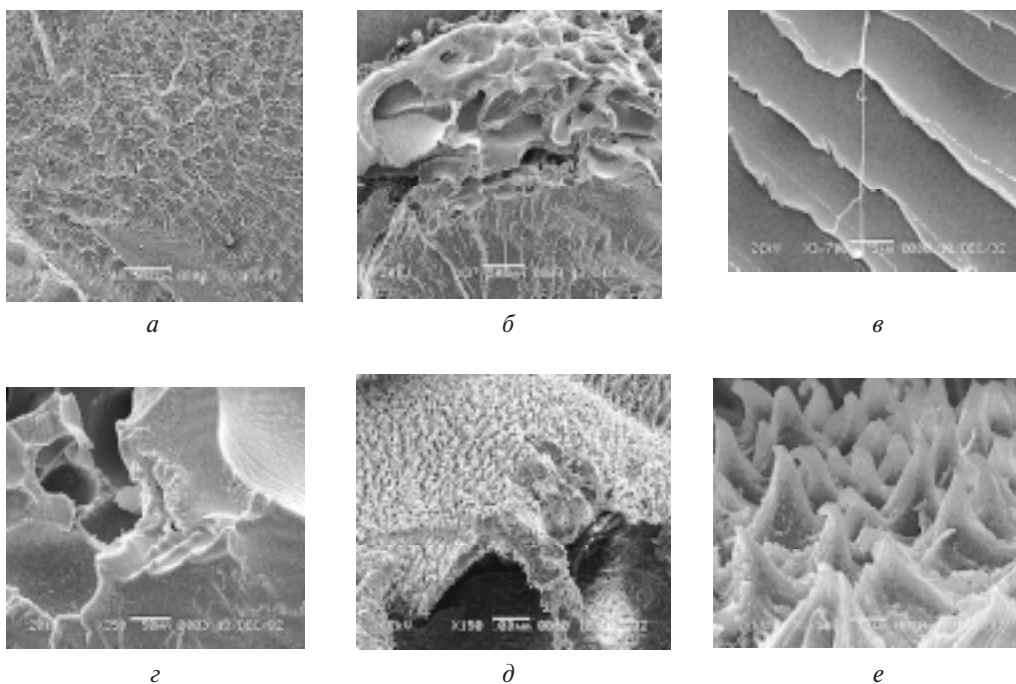


Рис. 5. Микрофотографии исходного полилактида и полилактида, обработанного в СК- CO_2 в течение 10 мин при 40°C и давлении 150 атм

a — исходный образец (1×500 мкм); *б* — обработанный образец, скол в жидком азоте (1×500 мкм); *в* — исходный образец (1×5 мкм); *г* — обработанный образец, скол в жидком азоте (1×50 мкм); *д* — обработанный образец, снимок поверхности (1×100 мкм); *е* — обработанный образец, снимок поверхности (1×10 мкм)

Структура полилактида была исследована методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Микрофотографии исходного и обработанного СК-СО₂ образцов приведены на рис. 5. На снимках видно, что в исходном полилактиде пористость полностью отсутствует. Обработанный образец содержит поры размером 400 ÷ 500 мкм, причем поры появляются только в обработанном поверхностном слое. Необработанная внутренняя часть образца остается монолитной, что позволяет сохранять его механические свойства.

Наличие пористой структуры было также подтверждено результатами измерения пористости обработанных полимеров по заполнению водой под давлением 300 атм и температуре 20 °С (описание методики измерения подробно приведено в [30]). Данные по измерению пористости даны на гистограмме рис. 6.

Из представленных на рис. 6 данных видно, что общий объем пор образцов можно варьировать в широких пределах, изменяя условия обработки образцов. Например, обработка образца жидким диоксидом углерода (обр. 2) позволяет получать полимер пористостью около 1,6 см³/г, в то время как обработка в газовой фазе дает около 0,3 см³/г (обр. 5). Кроме того, можно регулировать пористость полилактида с помощью последующей термообработки при атмосферном давлении (обр. 3). Термообработка приводит к снижению общего объема пор, но существенно увеличивает механическую прочность образца.

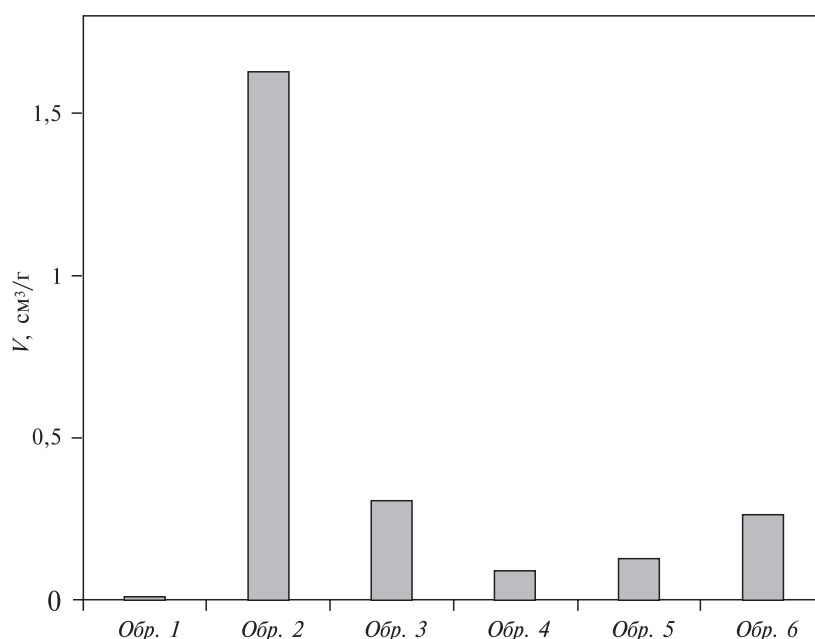
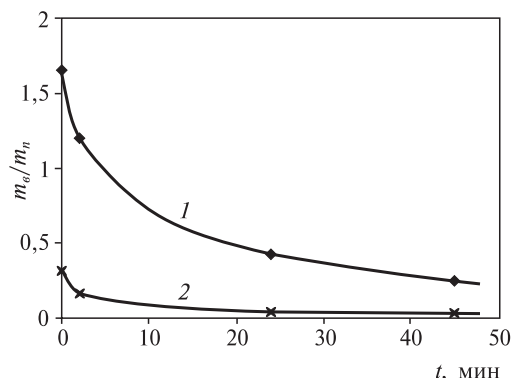


Рис. 6. Пористость образцов, предварительно обработанных СО₂, определенная по заполнению водой при 20 °С и давлении 300 атм в течение 30 мин:

обр. 1 — полилактид (исходный); *обр. 2* — полилактид, обработка жидким СО₂ (150 атм) 20 мин при 20 °С; *обр. 3* — полилактид, обработка жидким СО₂ (150 атм) 10 мин при 20 °С + термообработка при 80 °С в течение 30 мин; *обр. 4* — полилактид/полигликолид, обработка газообразным СО₂ (50 атм) 10 мин при 20 °С + термообработка при 80 °С в течение 30 мин; *обр. 5* — полилактид, обработка газообразным СО₂ (50 атм) 10 мин при 20 °С + термообработка при 80 °С в течение 30 мин; *обр. 6* — полилактид, обработка СК-СО₂ (50 атм) 10 мин при 33 °С + термообработка при 50 °С в течение 60 мин

Рис. 7. Кинетика десорбции воды из образцов полилактида (m_0 — масса содержащихся в порах образца воды, m_n — масса полимера), предварительно обработанных жидким CO_2 (10 мин при 20°C и 150 атм) и заполненных водой при 20°C и давлении 300 атм в течение 30 мин:

1 — обработка CO_2 ; 2 — обработка CO_2 с последующей термообработкой в течение 30 мин при 80°C



Для подтверждения того, что в образцах полилактида в результате обработки диоксидом углерода образовалась связанная система пор, имеющая выход на поверхность, была измерена динамика десорбции воды при атмосферном давлении и комнатной температуре. Полученные данные, представленные на рис. 7, показывают, что с течением времени происходит постепенная десорбция воды. Это свидетельствует о том, что поры в полимере связаны между собой и имеют выход на поверхность.

Таким образом, на основе изученных закономерностей обработки биорезорбируемых полимеров (полилактида и сополимера полилактид/полигликолид) диоксидом углерода в газообразном, жидком или сверхкритическом состояниях можно сделать вывод, что подобная обработка позволяет получать полимерные матрицы с заданным объемом пор. Образующаяся система пор является связанной, что следует из данных по десорбции адсорбированной в порах воды. Показано, что адсорбция CO_2 биорезорбируемыми полимерами зависит от условий (температуры, давления и времени) обработки, а также агрегатного состояния диоксида углерода. Полученные пористые полимерные матрицы могут найти применение как для создания имплантатов (образцы с пористостью $0,1 \div 0,3 \text{ см}^3/\text{г}$ и относительно высокой механической прочностью), так и в качестве источников для медленного высвобождения лекарств (образцы с пористостью до $2 \text{ см}^3/\text{г}$, имеющие большую емкость для импрегнации лекарственными препаратами).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yoon J. J., Park T. G. J. Biomed Mater Res. 2001. Vol. 55. No. 3. P. 401.
2. Schiller C., Rasche C., Wehmöller M., Beckmann F., Eufinger H., Epple M., Weihe S. Biomaterials. 2004. Vol. 25. P. 1239.
3. Peters M. C., Polverini P. J., Mooney D. J. J. Biomed Mater Res. 2002. Vol. 60. No. 4. P. 668.
4. Lin A. S., Barrows T. H., Cartmell S. H., Guldberg R. E. Biomaterials. 2003. Vol. 24. No. 3. P. 481.
5. Yoon J. J., Kim J. H., Park T. G. Biomaterials. 2003. Vol. 24. No. 13. P. 2323.
6. Jalil R., Nixon J. R. Microencapsulation. 1990. Vol. 7. P. 297.
7. Yaylaoglu M. B., Korkusuz P., Ors U., Korkusuz F., Hasirci V. Biomaterials. 1999. Vol. 20. No. 8. P. 711.
8. Yamamoto M., Tabata Y., Ikada Y. J. Biomater. Sci Polym. Ed. 1998. Vol. 9. No. 5. P. 439.
9. Humphrey J. S., Mehta S., Seaber A. V., Vail T. P. Clin. Orthop. 1998. Vol. 349. P. 218.
10. Hettfleisch J., Schottle H. Aktuelle Traumatol. 1993. Vol. 23. No. 2. P. 68.
11. Tang G., Zhu K., Chen Q. Drug. Deliv. 2002. Vol. 9. No. 4. P. 215.
12. Pruitt J. D., Pitt W. G. Drug. Deliv. 2002. Vol. 9. No. 4. P. 253.

Д. Ю. Залепугин, Н. А. Тилькунова, В. С. Мишин, Е. Н. Глухан, И. В. Чернышова, В. Л. Королев

13. *Nichiyama N., Nori A., Malugin A., Kasuya Y., Kopeckova P., Kopecek J.* Cancer Res. 2003. Vol. 63. No. 22. P. 7876.
14. *Allen C., Eisenberg A., Mrcic J., Maysinger D.* Drug. Deliv. 2000. Vol. 7. No. 3. P. 139.
15. *Fan Y.L.* Drug. Deliv. 2003. Vol. 10. No. 1. P. 35.
16. *Desai S.D., Blanchard J.* Drug. Deliv. 2000. Vol. 7. No. 4. P. 201.
17. *Gimeno M.J., Garcia-Esteo F., Garcia-Honduvilla N., Bellon J.M., Bujan J., Roman J.S.* Drug. Deliv. 2002. Vol. 9. No. 4. P. 233.
18. *El-Kattan A.F., Asbill C.S., Kim N., Michniak B.B.* Drug. Deliv. 2000. Vol. 7. No. 3. P. 147.
19. *Varshosaz J., Tavakoli N., Saidian S.* Drug. Deliv. 2002. Vol. 9. No. 4. P. 127.
20. *Dasaratha M., Dhanaraju Vema K., Jaya-Kumar R., Vamsadhara C.* Int. J. Pharm. 2003. Vol. 268. No. 1, 2. P. 23.
21. *Rozhnova R., Galatenko N., Tolstopyatov B., Konovalenko V.* Bioactive polyurethane implants. 7th European Society for Biomaterials Conference, Barcelona, Spain. 2001. Vol. 84.
22. *Schierholz J.M., Steinhauser H., Rump A.F., Berkels R., Pulverer G.* Biomaterials. 1997. Vol. 18. No. 12. P. 839.
23. *Athanasίου K.A., Niederauer G.G., Agarwal C.M.* Biomaterials. 1996. Vol. 17. P. 93.
24. *Jain R., Shah N.H., Malic A.W., Rhodes C.T.* Drug Dev. Ind. Pharm. 1998. Vol. 24. No. 8. P. 703.
25. *Wu X.S.* in Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering (D.L. Wise et. al. eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, 1995. P. 1015.
26. *Cohen S., Alonso M.J., Lager R.* Int. J. Technol. Assessment in Health Care. 1994. Vol. 10. No. 1. P. 121.
27. *Gilding D.M., Reed A.M.* Polymer. 1979. Vol. 20. P. 1459.
28. *Kitchell J.P., Wise D.L.* Meth. Enzymol. 1985. Vol. 112. P. 436.
29. *Raghuvanshi R.S., Singh M., Talwar G.P.* Int. J. Pharm. 1993. Vol. 93. P. 1.
30. Патент РФ № 2263894. 2005.

FORMATION OF POROSITY IN BIORESORBABLE POLYMERS BY THEIR TREATMENT IN GASEOUS, LIQUID AND SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE

D. Yu. Zalepugin, N. A. Til'kunova, V. S. Mishin, E. N. Glukhan, I. V. Chernysheva, V. L. Korolev

State Research Institute of Organic Chemistry and Technology, Moscow, Russia

Methods of processing of bioresorbable polymers (polylactide and polylactide/polyglycolide copolymers) in gas, liquid and supercritical media are studied. It is shown that processing of such polymers in supercritical medium results in high amounts of carbon dioxide absorbed in a polymer matrix. The following desorption of carbon dioxide leads to the creation of highly developed porosity (up to 2 cm³/g). The treatment of the polymers under study with liquid and gaseous carbon dioxide gives the total pore volume of 0.1 ÷ 0.3 cm³/g.

Key words: polymers, porosity, supercritical fluids, carbon dioxide.
