

А.О. Рябцева, Н.Є. Мітіна, З.Я. Надашкевич, О.С. Заїченко

СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ НОВИХ ТЕРМОЧУТЛИВИХ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЬВМІСНИХ ГРЕБЕНЕПОДІБНИХ ОЛІГОПЕРОКСИДІВ

Національний університет "Львівська політехніка", м. Львів

Синтезовані нові термочутливі поліфункціональні олігопероксиди контрольованого складу, мікроструктури та молекулярно-масових характеристик. На їх основі, шляхом полімер-аналогічних перетворень, отримано поверхнево-активні водорозчинні поліетиленглікольвмісні полімери. Показано, що отримані сполуки проявляють термочутливі властивості у діапазоні температур, характерних для організму людини, що дозволяє використовувати їх як носії для систем доставки лікарських речовин.

Вступ

В останні роки полімери, чутливі до зовнішніх чинників таких, як: температура, рН, іонна сила, світло, магнітне та електричне поля, привертають увагу завдяки їх здатності змінювати свої властивості у відповідь на їх дію. Особливо важливим є застосування таких полімерів як носіїв у системах цільової доставки та контрольованого вивільнення лікарських сполук та нуклеїнових кислот [1].

Основною характеристикою термочутливих полімерів є нижня критична температура розчинності (НКТР), яка значно залежить від балансу гідрофільних і гідрофобних груп у полімері [2]. Тому у синтезі термочутливих носіїв важливим є вибір такого складу кополімеру, який би забезпечував зміну конформації та розчинності полімеру у бажаному температурному діапазоні. Окрім того, синтезований полімер повинен відповідати вимогам, що висуваються до полімерних носіїв, а саме: бути нетоксичним, водорозчинним, біосумісним [3]. Серед таких полімерів найчастіше використовуються кополімери на основі N-ізопропілакриламід (НІПААм). Одним із варіантів регулювання властивостей таких кополімерів є наявність в їх структурі, окрім термочутливих фрагментів, інших фрагментів, що забезпечують кон'югацію лікарських речовин, біологічну сумісність, цільову доставку, взаємодію з клітинними мембранами тощо [4]. Зазвичай, їх вводять за участю реакційноздатних груп шляхом полімер-аналогічних перетворень для отримання, наприклад, гребенеподібних полімерних носіїв з бічними ланцюгами різної функціональності та довжини. Раніше [5] нами були синтезовані поліетиленглікольвмісні водорозчинні полімери на основі бінарних кополімерів 5-(трет-бутилперокси)-5-метил-1-гексен-3-іну (ВЕП) та гліцидилметакрилату (ГМА). Вони виявились нетоксичними та ефективними полі-

мерними носіями водорозчинних та нерозчинних у воді протиракових препаратів.

Метою даної роботи був синтез термочутливих кополімерів на основі НІПААм, які поєднують у структурі епоксидні та пероксидні групи для їх використання в послідовних реакціях з монозаміщеним поліетиленгліколем і прищеплення бічних ланцюгів радикальною полімеризацією, відповідно.

Матеріали та методи

Пероксидний мономер 5-третбутилперокси-5-метил-1-гексен-3-ін (ВЕП) синтезували згідно з методикою, описаною раніше [6]. Після очищення ВЕП мав наступні характеристики: $d_{4}^{20} = 0,876$, $n_{D}^{20} = 1,4480$ і вміст активного кисню = 8,79% (розрах. 8,75%). N-ізопропілакриламід (НІПААм), гліцидилметакрилат (ГМА) та етерат трифтористого бору ($BF_3 \cdot OEt_2$), монометилловий етер поліетиленгліколю (мПЕГ) $M_n = 750$ г/моль (Aldrich) використовували без додаткової очистки. Динітрил азобісізомаляної кислоти (ДАК) очищали перекристалізацією з етилового спирту. Диметилформамід використовували без додаткового очищення. Діоксан очищали за методикою [7].

Кополімери синтезували радикальною полімеризацією відповідних мономерів у диметилформаміді при температурі 70°C до конверсії 65%. Конверсію мономерів контролювали дилатометричним та гравіметричним методами. Після полімеризації реакційну масу охолоджували, концентрували, розчиняли в ацетоні та переосаджували у гексан. Процедуру повторювали 3 рази, готовий полімер сушили у вакуумі при температурі 50°C до постійної маси.

Синтез ПЕГ-вмісних гребенеподібних кополімерів здійснювали реакцією гідроксильної групи мПЕГ з епоксидною групою ГМА-ланок у кополімері. Мольне співвідношення мПЕГ і ГМА

ланок вихідного полімеру було 1,2:1. Як катализатор використовували $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0,0008% з розрахунку на масу реакційної суміші). Наважку полімеру розчиняли у сухому діоксані, після чого додавали краплями розчин катализатора у діоксані. Утворений розчин додавали краплями до розчину мПЕГ у діоксані при перемішуванні. Отриманий розчин перемішували протягом 6 год при 40°C . До реакційної маси додавали надлишок метилового спирту та, не змінюючи умов, перемішували ще одну годину. Розчин концентрували, продукт осаджували гексаном, промивали толуолом і сушили у вакуумі при кімнатній температурі до постійної маси.

Структури отриманих функціональних олігопероксидів підтверджували ІЧ-спектроскопією (спектрометр Tensor 27), склад визначали методами елементного та функціонального аналізів, вміст пероксидних фрагментів визначали методом газохроматографічного аналізу продуктів термічного розкладу олігомерів при 210°C . Молекулярну масу визначали методом гель-проникної хроматографії, використовуючи рідинний хроматограф „Waters GPC/HPLC» на стирогелевих колонках, елюент – тетрагідрофуран, швидкість елюювання 0,3 мл/хв. Поверхневий натяг розчинів полімерів вимірювали на приладі ППНЛ-1 за методом максимального тиску у бульбашці. Для визначення нижньої критичної температури розчинності (НКТР) синтезованих кополімерів використовували турбідиметр Turbiquant 1500T (Merck).

Результати та обговорення

Для встановлення основних закономірностей полімеризації та параметрів мікроструктури утворюваних терполімерів за допомогою методу Файнемана-Роса із експериментально визначених складів кополімерів, отриманих до конверсії 10–15%, визначено константи кополімеризації пероксидного мономеру ВЕП у бінарних системах з НІПААм та ГМА. Вони дорівнювали, відповідно, НІПААм - ВЕП ($r_1=0,35$ та $r_2=1,24$) та ВЕП-ГМА ($r_1=0,085$ та $r_2=1,21$). Також з літературних джерел відомі [8] константи кополімеризації для системи НІПААм з ГМА, що дорівнюють $r_1=0,39$ та $r_2=2,69$. Ці константи використовували для аналізу мікроструктури потрійних кополімерів.

Склад мономерних сумішей та відповідних кополімерів приведений у таблиці. Із аналізу

мікроструктури кополімерів (таблиця), розрахованої за методикою [9], видно, що у всіх випадках вміст НІПААм у складі утворюваних терполімерів нижчий у порівнянні з його концентрацією у мономерній суміші, а також, що НІПААм утворює блоки у кополімерному ланцюзі лише при дуже високій концентрації у мономерній суміші.

Введення до мономерної суміші менш активного мономеру призводить до формування кополімерів, ланки в яких мають тенденцію до чергування, а збільшення пероксидного мономеру в системі, що полімеризується, приводить до зменшення молекулярної маси кополімерів. Це пояснюється участю ВЕП в реакціях передачі та обриву молекулярних ланцюгів [10]. Таким чином, регулюючи вміст пероксидного мономеру у системі, вдається отримати кополімери із низькою молекулярною масою та дисперсністю.

Структуру отриманих кополімерів підтверджено ^1H ЯМР-спектроскопією (рис. 1).

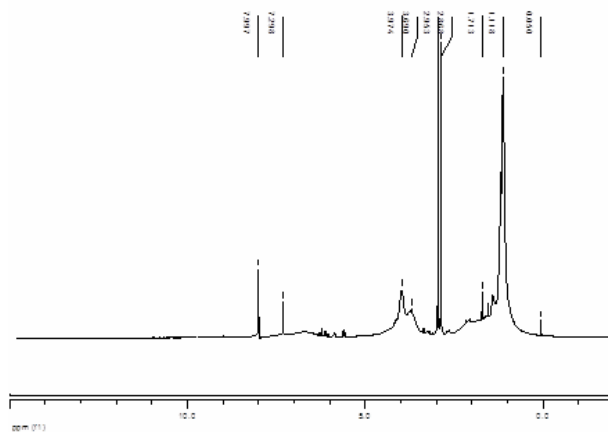


Рис. 1. ^1H ЯМР-спектр кополімеру полі(НІПААм-ВЕП-ГМА) складу 65,94:10,56:23,5

Про присутність у кополімерах полі(НІПААм-ВЕП-ГМА) ланок ВЕП свідчать наступні сигнали: широкі піки з хімічними зсувами 1,41 м.ч., що відповідають протонам гем-диметильних груп $\text{RCMe}_2\text{OObu-t}$ пероксиізопропільної частини ВЕП; пік з хімічним зсувом 1,71 м.ч. відповідає протонам метиленових груп; піки з хімічним зсувом 1,1 м.ч., які відповідають сигналам протонів трет-бутилпероксигрупи $\text{Me}_3\text{COOCMe}_2\text{R}$. ГМА-ланки

Мікроструктура та молекулярно-масові характеристики кополімеру НІПААм-ВЕП-ГМА

Склад мономерної суміші, мас.%			Вміст мономерних ланок у складі кополімеру, мас.%			Характеристика мікроструктури			R	M_n , г/моль	D
НІПААм	ВЕП	ГМА	НІПААм	ВЕП	ГМА	$I_{\text{НІПААм}}$	$I_{\text{ВЕП}}$	$I_{\text{ГМА}}$			
81,36	7,28	11,36	73,05	11,65	15,3	2,15	1,06	1,35	74,9	—	—
70,0	10,0	20,0	65,94	10,56	23,5	1,63	1,05	1,62	80,0	2050	1,3
60,0	20,0	20,0	54,78	21,12	24,1	1,38	1,11	1,49	79,6	1100	1,3

Примітка: 1 – середня довжина блоків з мономерних ланок, R – кількість блоків з однакових ланок на 100 ланок кополімеру, M_n – середньчисельнамолекулярна маса, D – полідисперсність.

у полімері можна ідентифікувати за такими сигналами: сигнали протонів основного ланцюга, що проявляються у області 2,05 м.ч.; широкий пік з хімічним зсувами від 3,7 м.ч. до 4,5 м.ч., які відповідають сигналам метиленових протонів $-\text{AcO}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{O})\text{CH}_2$ між ацетокси- та епоксидною групами. НІПААМ-ланки у полімері можна ідентифікувати за такими сигналами: сигнал у області 1,12 м.ч. відповідає протонам метильних груп ізопропільної групи; пік з хімічним зсувом 3,97 м.ч. відповідає протонам метинової групи.

Наявність в структурі кополімерів реакційних епоксидних груп обумовлює можливість їх використання для отримання поліетиленгліколь-вмісних полімерних носіїв за схемою (рис. 2).

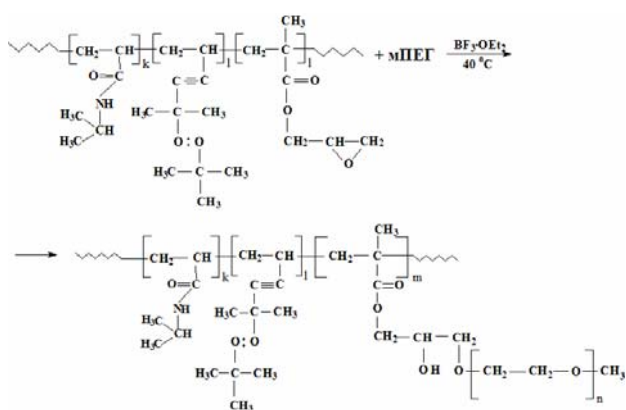


Рис. 2. Схема взаємодії мПЕГ з кополімером НІПААМ-ВЕП-ГМА

Епоксидні групи, що не прореагували з гідроксильними групами мПЕГ, розкривали додаванням метанолу. Успішне проходження модифікації підтверджували ІЧ-спектроскопією. При порівнянні ІЧ-спектрів вихідного та модифікованого НІПААМ-вмісних полімерів (рис. 3) спостерігається зменшення інтенсивності смуги поглинання при 1650 см^{-1} , яка відповідає смугі поглинання карбонілів, мабуть, за рахунок зменшення частки $-\text{CO}-\text{NHR}$ групи НІПААМ. Цим же пояснюється, очевидно, зменшення інтенсивності смуги поглинання при $1560\text{--}1535\text{ см}^{-1}$, що знаходиться у I-й амідній смугі поглинання, та при 1250 см^{-1} – II-й амідній смугі. Але в цій області проявляється також епоксидна група, що унеможливує її однозначну інтерпретацію. Смуги поглинання при $1460\text{--}1400\text{ см}^{-1}$ присутні у обох зразках та спричинені деформаційними коливаннями активних метиленових груп у зв'язках типу $-\text{CH}_2-\text{CO}-$. Смуги поглинання при 1385 см^{-1} та 1365 см^{-1} відповідають гем-диметильним та третбутильними групам та у випадку модифікованого зразка зменшуються, що може бути пов'язано із зменшенням частки ВЕП після прищеплення ПЕГу. Поява широкої смуги поглинання у ПЕГ-вмісному зразку пов'язана із збільшенням впли-

ву асиметричних валентних коливань $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ зв'язків, поглинання яких відбувається в межах $1150\text{--}1070\text{ см}^{-1}$.

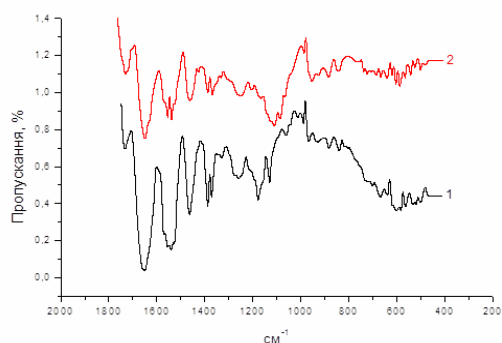


Рис. 3. ІЧ-спектри вихідного НІПААМ-ВЕП-ГМА(1) та модифікованого НІПААМ-ВЕП-ГМА-графт-ПЕГ(2) олігомерів

Як вихідний лінійний терполімер, так і ПЕГ-вмісний гребенеподібний продукт його полімер-аналогічного перетворення є водорозчинними та поверхнево-активними речовинами, здатними утворювати мицелоподібні структури в розчинах (рис. 4). Як видно з рис. 4, поверхнева активність кополімерів, які містять поліетиленгліколеві ланцюги, зменшується в результаті зміни гідрофобно-гідрофільного балансу, та ізотерма поверхневого натягу набуває плавного вигляду, що пояснюється сталою конформацією ПЕГ-вмісних кополімерів, властивою для фрагментів поліетиленгліколю.

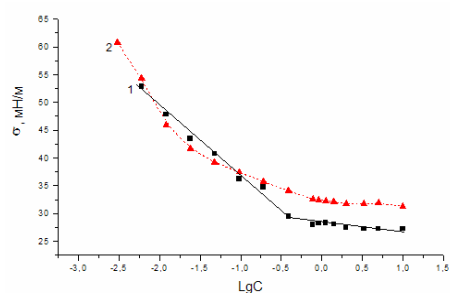


Рис. 4. Ізотерми поверхневого натягу кополімерів НІПААМ-ВЕП-ГМА (1) та НІПААМ-ВЕП-ГМА-графт-ПЕГ (2)

Із графіка залежності мутності водних розчинів вихідного і модифікованого полімерів від температури (рис. 5) видно, що термочутливими є вихідний кополімеру НІПААМ-ВЕП-ГМА та його ПЕГ-вмісний аналог, але останній більш різко змінює свою розчинність у області $35\text{--}37^\circ\text{C}$, що обумовлено значним впливом ПЕГ-ланок на зміну гідрофільно-гідрофобного балансу кополімеру.

Висновки

Показано можливості цільового синтезу нових гребенеподібних термочутливих кополімерів шляхом послідовних реакцій радикальної кополі-

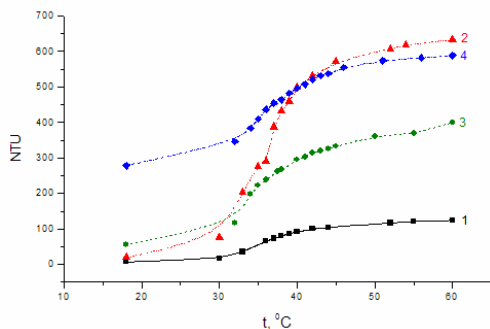


Рис. 5. Залежність мутності водних розчинів кополімеру складу НПААМ-ВЕР-ГМА (1 – 73,05:11,65:15,3; 3 – 65,94:10,56:23,5; 4 – 54,78:21,12:24,1) та НПААМ-ВЕР-ГМА-графт-ПЕГ (2) від температури

меризації N-ізопропілакриламідів та пероксид- і епоксидовмісних вінільних мономерів та подальших полімер-аналогічних перетворень за участю бічних епоксидних груп та монозаміщеного поліетиленгліколю. Синтезовані нові термочутливі поліфункціональні олігопероксиди контрольованого складу, мікроструктури та молекулярно-масових характеристик. Вперше визначено константи кополімеризації у бінарних системах N-ізопропілакриламідів та гліцидилметакрилату з ненасиченим пероксидом та досліджено структурні і молекулярно-масові характеристики нових функціональних кополімерів. На їх основі, шляхом полімер-аналогічних перетворень, отримано поверхнево-активні водорозчинні поліетиленглікольвмісні полімери. Показано, що такі сполуки є поверхнево-активними речовинами, проявляють термочутливі властивості у діапазоні температур, характерних для організму людини. Окрім того, встановлено, що після модифікації поліетиленгліколем такі термочутливі полімери більш різко змінюють свою розчинність у діапазоні температур 35–37°C, що дозволяє їх розглядати як потенційні носії для контрольованих доставки та вивільнення лікарських сполук.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Dirk Schmaljohann. Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery / *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2006. – Vol.58. – P.1655-1670.
2. Engineering Temperature-Sensitive Poly(N-Isopropylacrylamide) Polymers as Carriers of Therapeutic Proteins / H. Uludag, B. Norrie, N. Kousinioris, T. Gao // *Biotechnology and Bioengineering*. – 2001. – Vol.73. – № 6. – P.510-521.
3. Polymeric drug delivery systems for localized cancer chemotherapy / R. Souza, P. Zahedi, Ch. Allen, M. Piquette-Miller // *DrugDelivery*. – 2010. – Vol.17. – № 6. – P.365-375.
4. PEGylation of Nanocarrier Drug Delivery Systems: State of the Art / M.D. Howard, M. Jay, T.D. Dziubla, X. Lu // *Biomed. Nanotechnol.* – 2008. – Vol.4. – P.133-148.
5. Structural and Colloidal-chemical Characteristics of Nanosized Drug Delivery Systems Based on Pegylated Comb-like Carriers / A. Riabtseva, N. Mitina, N. Boiko et al. // *Chemistry and Chemical Technology*, – 2012. – Vol.6. – № 3. – P.291-295.
6. The success of the chemistry of organic peroxy compounds and autoxidation / T. Yurzenko et al. // Publishing house: Chemistry, Moscow. – 1969. – P.59-64.
7. Органические растворители / Вайсберг А., Проскавер Э., Риддик Дж. и др. – М.: Иностр. лит., 1958. – 520 с.
8. J. Virtanen, H. Tenhu Studies on Copolymerization of N-Isopropylacrylamide and Glycidyl Methacrylate // *J. of Polymer Science. Part A: Polymer Chemistry*. – 2001. – Vol.39. – P.3716-3725.
9. Зильберман Е.Н. Параметры микроструктуры многокомпонентных сополимеров // *Высокомолекулярная химия*. – 1979. – Т.21Б. – № 1. – С. 33-36.
10. Об эффекте слабого ингибирования радикальной полимеризации пероксидами с сопряженными системами связей / Токарев В.С., Минько С.С., Заиченко А.С. и др. // *Наука. Доклады Академии Наук СССР*. – 1987. – Т.292. – № 6. – С.1434-1436.

Надійшла до редакції 29.11.2012