

Babic M., Stoika R, Kovarova J., Hevus O., Benes M.J., Klyuchivska O., Holler P. and Zaichenko A. Surface-Initiated Polymerization of 2-Hydroxyethyl Methacrylate from Heterotelechelic Oligoperoxide-Coated γ -Fe₂O₃ Nanoparticles and their Engulfment by Mammalian Cells// Chem. Mater. – 2011. – 23. – P. 2637–2649. 8. Galicia J.A., Sandre O., Cousin F. et al. Designing magnetic composite materials using aqueous magnetic fluids // J. Phys. Condens. Matter. – 2003. – № 15. – P. 1379–1402.

УДК 678: 541.64

Н.Г. Носова

Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра органічної хімії

СИНТЕЗ ПОЛІМЕРІВ НА ОСНОВІ 3-АМІНОБЕНЗЕНБОРОНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ПОЛІ(N-ГІДРОКСИМЕТИЛАКРИЛАМІДУ)

© Носова Н.Г., 2014

Досліджено синтез полімерів на основі 3-амінобензенборонової кислоти та реакційноздатного полі(N-гідроксиметилакриламід) через полімераналогічні перетворення. Підтверджено їх структуру та встановлені оптимальні умови синтезу.

Ключові слова: біосенсор, гідрогель, глюкозочутливість.

The synthesis of polymers based on the 3-aminobenzenboronic acid and reactionary poly (N-hydroxymethylacrylamide) via polymer-analogous transformations were researched. The polymer structure was confirmed and the optimal synthesis conditions were determined.

Key words: biosensor, hydrogel, glucose sensitivity.

Постановка проблеми. У зв'язку зі стрімким зростанням кількості людей, хворих на цукровий діабет, проблема створення систем контролю рівня глюкози в крові, а також швидкості зміни її концентрації є надзвичайно важливою. Одним із напрямків вирішення проблем контролю рівня глюкози у крові є застосування сучасних глюкометрів. Серед нових типів глюкометрів на особливу увагу заслуговують біосенсорні глюкометри. Вони дають змогу фактично у будь-яких умовах виміряти рівень глюкози в крові і дуже швидко, протягом 10 с отримати результат. Загалом біосенсор – це електронний пристрій, основна функція якого – реєстрація сигналу, принцип роботи якого полягає у використанні біологічного матеріалу для реєстрації концентрації хімічних речовин. Прикладами можуть бути антитіла, клітини або ферменти. У результаті реакції між біологічним матеріалом і субстратом відбуваються зміни, які за допомогою відповідного перетворювача перетворюються в електричний сигнал. Біосенсор дає можливість уловлювати різні типи змін, такі як вивільнення тепла, світло, зміна рН або маси, потік електронів або утворення нових хімічних речовин.

Перспективними для створення біосенсорів та інших біомедичних систем є нові синтетичні полімерні матеріали – гідрогелі. Гідрогелі – це 3D зшиті полімерні матриці, здатні набрякати, поглинаючи великі кількості води (водних розчинів). Завдяки високій біосумісності з тканинами людського організму гідрогелі мають значний потенціал для використання з біомедичною метою [1]. Вони використовуються для одержання м'яких контактних лінз, перев'язочних матеріалів, іонообмінних мембран та інших продуктів [2, 3].

Гідрогелі широко досліджуються як системи контрольованої та цільової доставки ліків [4, 5] та біосенсори [6] завдяки своїм унікальним стимул-специфічним властивостям: ці гідрогелі набрякають або колапсують у відповідь на специфічні чинники зовнішнього середовища, такі як температура, рН, іонна сила або склад буферу. Навіть незначна зміна певного чинника приводить

до змін у набряканні гідрогелів, які можуть бути зареєстровані фізичними методами і саме ця здатність зробила їх дуже перспективними матеріалами для створення біосенсорів [7, 8].

Для надання гідрогелевим матеріалам глюкозочутливих властивостей до їх складу необхідно ввести агент, який власне і реагує на концентрацію глюкози у крові, тому створення нових речовин, що можуть бути використанні у біосенсорах, є актуальним завданням.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. До найпоширеніших методів створення глюкозочутливих полімерних матеріалів потрібно зарахувати:

1. Введення до композиції полімерного матеріалу глюкозозв'язуючого протеїну Конканавалін А (Кон А). Для біосенсорів на основі протеїнів донедавна основним фізичним методом визначення концентрації глюкози був флуоресцентний метод. Загалом перетворення концентрації глюкози у флуоресцентну інтенсивність у таких біосенсорах відбувається завдяки резонансним переходам електронів Форстера (FRET) [9, 10] або чутливості до зміни полярності середовища. Такі біосенсори містять молекули флуоресцеїну та глюкозо-специфічні агенти, тобто протеїни. Проте необхідно зауважити, що Кон А має багато недоліків, до яких належать висока токсичність та низька здатність до зворотної реакції.

2. Введення до композиції полімерного матеріалу ферменту глюкозооксидази.

Глюкозооксидаза – це фермент, що забезпечує окислення β -D-глюкози до глюконо-1,5-лактону, який легко гідролізує до глюконової кислоти. Активний центр ензиму – флавін-аденін нуклеотид (ФАД) існує у двох формах – окисненій (ФАД) та відновленій (ФАДН₂). ФАД окислює глюкозу до глюконової кислоти, утворений ФАДН₂ може бути окислений киснем до ФАД з утворенням пероксиду водню. Як і у попередньому випадку, активність глюкозооксидази також може бути використана для створення флуоресцентних/фосфоресцентних біосенсорів – фермент окислює глюкозу, використовуючи при цьому молекулярний кисень, гаситься флуоресценцією рутенію: цей шлях був створений Uwiga та співробітниками [11].

3. Біосенсори глюкози на основі гідрогелів належать до третьої генерації. Quinn та співробітники у [12] повідомили про глюкозо-проникні гідрогелі на основі зшитого похідного поліетиленгліколю з кінцевими аміногрупами. Інші автори одержували глюкозочутливий гель за допомогою іммобілізації глюкозооксидази у рН-чутливому кополімеризованому гідрогелі на основі N-ізопропілакриламід та акрилової кислоти. В результаті ферментативної реакції під час контакту гелю з розчином глюкози, рН знижується, що зумовлює колапс гідрогелю.

Взаємодія між 3-амінобензенбороною кислотою та 1,3-діолами у водному середовищі є зворотною та майже миттєвою. Така реакція між боровмісною кислотою та гідроксильними групами, присутніми у вуглеводах, часто використовується для створення глюкозочутливих сенсорів. Тому привабливим виглядає використання борнової кислоти та її похідних, що мають доволі високу специфічність до глюкози та гідрогелів, для створення біосенсорів глюкози.

Мета роботи – одержати форполімери на основі 3-амінобензенбороною кислоти та полі(N-гідроксиметилакриламід), придатні для створення гетерогідрогелевого глюкозочутливого матеріалу біосенсорів.

Результати і обговорення. Синтез форполімерів на основі 3-амінобензенбороною кислоти та полі(N-гідроксиметилакриламід) проводили згідно із схемою реакції, показаною на рис. 1.

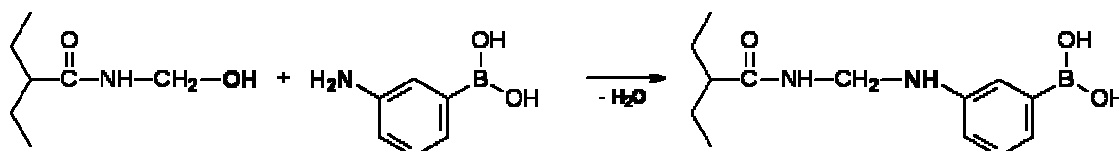


Рис. 1. Схема одержання полі(N-гідроксиметилакриламід) модифікованого 3-амінобензенбороною кислотою

Для визначення оптимальних умов синтезу форполімерів на основі полі(N-гідроксиметилакриламід) та 3-амінобензенбороною кислоти проводили вивчення впливу на хід взаємодії реагуючих речовин таких чинників – температури проведення реакції (межі досліджень 30–50 °C), водневого показника середовища (змінювали у межах від 5 до 11), мольного співвідношення між

реагентами (мольне співвідношення реакційноздатних метилольних груп полі(*N*-гідроксиметилакриламід) до 3-амінобензенборонової кислоти змінювали у межах від 1:0,3 до 1:1) та часу реакції (від 2 до 4 год). Для визначення вмісту введеного до структури форполімеру залишків 3-амінобензенборонової кислоти проводили УФ- та ПМР-спектроскопічні дослідження, ІЧ-спектроскопічні дослідження з Фур'є-перетворенням, а молекулярну масу зразків визначали за допомогою гелі-проникної хроматографії.

На рис. 2 показано ПМР спектр форполімеру, одержаного на основі полі(*N*-гідроксиметилакриламід) та 3-амінобензенборонової кислоти. Наявність у ПМР-спектрі сигналів із зміщенням 6,5–7,2 ppm, які можна зарахувати до протонів бензенового кільця 3-амінобензенборонової кислоти, вказує на проходження реакції прищеплення та по співвідношенню інтегралів дає змогу розрахувати величину входження 3-амінобензенборонової кислоти у полімерний ланцюг.

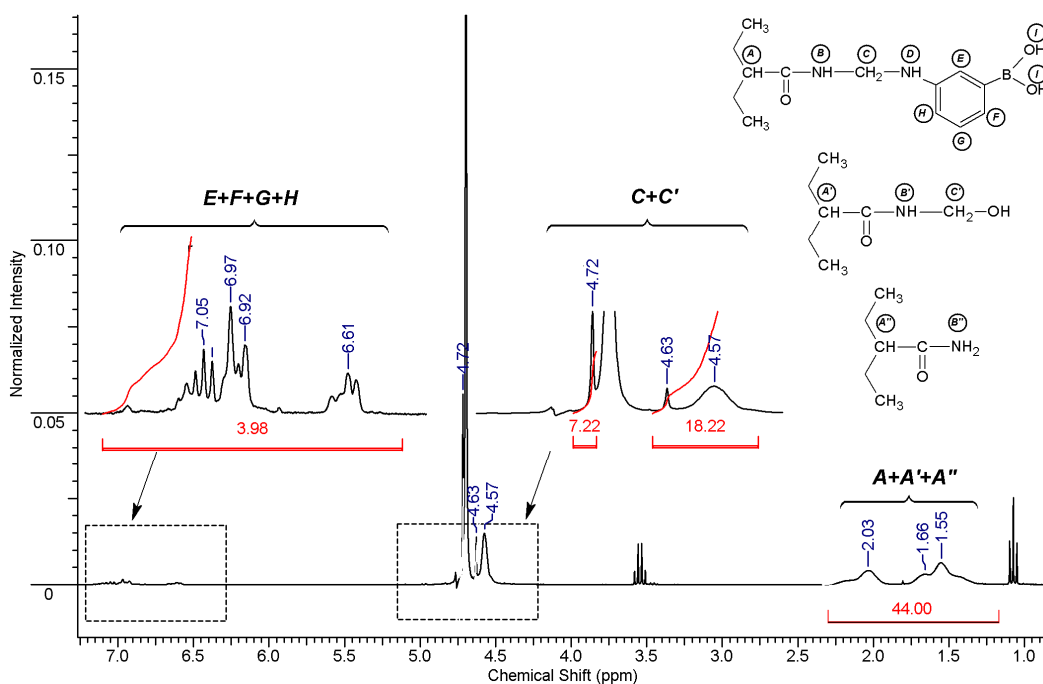


Рис. 2. ПМР-спектр форполімеру, одержаного на основі полі(*N*-гідроксиметилакриламід) та 3-амінобензенборонової кислоти (розчинник D_2O , 300 МГц)

У таблиці наведені характеристики зразків форполімерів, синтезованих на основі полі(*N*-гідроксиметилакриламід) та 3-амінобензенборонової кислоти (АРВА).

Характеристики зразків форполімерів синтезованих на основі полі(*N*-гідроксиметилакриламід) через прищеплення до нього 3-амінобензенборонової кислоти

№ з/п	Умови синтезу(40 °С, 2 год)		Характеристики зразків	
	мольне співвідношення полі(<i>N</i> -гідроксиметил-акриламід) до АРВА	pH середовища	вміст АРВА у мольн. % за результатами ПМР	молекулярна маса
1	1:1	pH=5	0,07	260 000
2	1:1	pH=7	0,134	312 000
3	1:1	pH=8	0,24	340 000
4	1:0.5	pH=8	0,160	354 000
5	1:1	pH=9	0,28	355 000
6	1:0.5	pH=10	0,275	348 000
7	1:0.3	pH=10	0,184	360 000
8	1:0.7	pH=10	0,33	332 000
9	1:1	pH=10	0,454	350 000
10	1:1.2	pH=10	0,49	355 000

З аналізу даних таблиці та отриманого експериментального матеріалу можна зробити такі висновки: найменший вміст фрагментів АРВА у зразках полімеру спостерігаються під час проведення синтезу у кислому середовищі (рН=5) – лише 0,07 мольних відсотка, а найбільший вміст досягається під час проведення синтезу у лужному середовищі (рН=10) він дорівнює 0.454 мольних відсотка. Отже зміщення рН-середовища з кислої області у лужну сприяє росту вмісту АРВА у зразках. Це може бути пояснено зменшенням швидкості проходження конкуруючої реакції структурування (утворення міжмолекулярних зв'язків) полі(N-гідроксиметилакриламід), яка прискорюється у кислому та в сильно лужному (рН>10) середовищах.

Також впливати на вміст фрагментів АРВА у зразках полімерів можна, змінюючи мольне співвідношення полі(N-гідроксиметилакриламід), до АРВА під час проведення синтезів. Так, порівнюючи вміст АРВА у зразках 6, 7, 8, одержаних за сталих значень рН=10 та однакового часу реакції, можна зробити висновок, що за зміни мольного співвідношення полі(N-гідроксиметилакриламід) до 3-амінобензенборонової кислоти у межах від 1:0,3 до 1:1 спостерігається ріст входження фрагментів АРВА. За подальшого збільшення цього співвідношення спостерігається незначний ріст входження фрагментів АРВА до складу форполімеру.

Для подальших досліджень були вибрані такі умови синтезу форполімерів на основі 3-амінобензенборонової кислоти та полі(N-гідроксиметилакриламід): лужне середовище (рН=10), мольне співвідношення полі(N-гідроксиметилакриламід) до 3-амінобензенборонової кислоти у межах від 1:0.7 до 1:1, час реакції – 2 год, температура – 40 °С.

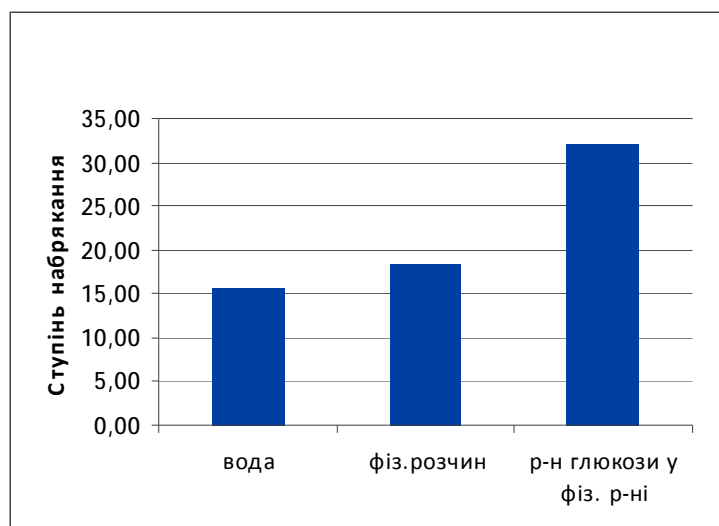


Рис. 3. Залежність ступеня набрякання АРВА-вмісного гетерогідрогелевого композиційного матеріалу у воді, фізіологічному розчині та у фізіологічному розчині, що містить глюкозу

На основі синтезованого форполімеру було проведено формування гетерогідрогелів через структурування форполімеру з АРВА та поліакриламідом згідно з методикою, наведеною в [13]. Введення фрагментів АРВА до складу форполімеру надає останньому властивостей глюкозочутливого гелю. На рис. 3 показано залежність ступеня набрякання АРВА-вмісного гетерогідрогелевого композиційного матеріалу у воді, фізіологічному розчині та у фізіологічному розчині, що містить глюкозу. Як можна побачити з цього рисунка, введення до складу гідрогелевої композиції форполімеру з АРВА приводить до збільшення набрякання гідрогелю фактично у два рази порівняно з набряканням контрольних зразків. Цей ефект дає змогу побудувати на основі створеного АРВА-вмісного гетерогідрогелевого композиційного матеріалу біосенсори для визначення концентрації глюкози.

Висновки. Проведено синтез форполімерів на основі 3-амінобензенборонової кислоти та полі(N-гідроксиметилакриламід), доведено їх структуру і вибрано оптимальні умови одержання зразків, а саме: рН=10, мольне співвідношення полі(N-гідроксиметилакриламід) до 3-амінобензенборонової кислоти – у межах від 1:0.7 до 1:1, час реакції – 2 год, температура – 40 °С. Одержані форполімери можуть бути використанні для створення гетерогідрогелевого глюкозочутливого матеріалу для біосенсорів.

1. Hoffman A. S. *Conventional and environment-sensitive hydrogels for medical and industrial uses: a review paper.* – *Polym. Preprints*, 1990. – 31 (1). – P. 220–221. 2. Kost J., Langer R. – *Equilibrium swollen hydrogels in controlled release applications.* – In: *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, N.A. Peppas Ed., CRC Press, Boca Raton. – 1986. – 3. – P. 95–107. 3. Peppas N.A. – *Other biomedical applications of hydrogels.* – In: *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, N.A. Peppas Ed., CRC Press, Boca Raton, 1986. – 3. – P. 177–194. 4. Langer R., Hsieh D.S.T., Rhine W., Folkman J. – *Control of release kinetics of macromolecules from polymers.* – *J. Membr. Sci.* – 1980. – 7. – P. 330–350. 5. Falamarzian M., Moxley B.C., Firestone B.A., Siegel R.A. – *pH sensitive drug release from hydrophobic polyelectrolyte hydrogels.* – *Proceed. Intern. Control. Rel. Bioact. Mater.* – 1988. – 15, 23. 6. Siegel R.A., Falamarzian M., Firestone B.A., Moxley B.C. – *pH-controlled release from hydrophobic/polyelectrolyte copolymer hydrogels.* – *J. Contr. Release.* – 1988. – 8. – P. 179–182. 7. Холмберг К., Йенссон Б., Кронберг Б. и др. *Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах.* — М., 2007. 8. Corrigan O.I., Healy A.M. *Surfactants in Pharmaceutical Products and Systems.* In: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology.* – Marcel Dekker, 2002. 9. Liao, K.C., et al. *Percutaneous fiber-optic sensor for chronic glucose monitoring in vivo.* *Biosens Bioelectron.* – 2008. – 23(10). – P. 1458–65. 10. Ballerstadt R. and J.S. Schultz *A fluorescence affinity hollow fiber sensor for continuous transdermal glucose monitoring.* *Anal. Chem.* – 2000. – 72–17. – P. 4185–4192. 11. Uwira N., N. Opitz and D.W. Lubbers. *Influence of enzyme concentration and thickness of enzyme layer on the calibration curve of the continuously measuring glucose optode.* *Advances in Experimental Medicine and Biology.* – 1984. – 169. – P. 913–921. 12. Quinn C. A., Connor R. E., Heller A. *Biocompatible, glucose-permeable hydrogel for in situ coating of implantable biosensors // Biomaterials.* – 1997. – 18. – 1665 p. 13. *Формування гідрогелів, прищеплених до пероксидованої полімерної поверхні: автореф. дис. канд. хім. наук: 02.00.06 / Ігор Тарасович Тарнавчик.* – Львів: Б.в., 2008. – 21 с.