

УДК 541.64:615.272

Л. Куницька, канд. хім. наук
larisa_kunitskaya@ukr.net;
Т. Желтоножська, д-р хім. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ФУНКЦІОНАЛІЗАЦІЯ БЛОК-КОПОЛІМЕРІВ, ЩО МІСТЯТЬ ПОЛІАКРИЛАМІД ТА ПОЛІЕТИЛЕНОКСИД

*Досліджено полімераналогічні перетворення триблок-кополімерів (ТБК) ПАА-*b*-ПЕО-*b*-ПАА шляхом амінометилування акриламідних ланок диметиламіном та формальдегідом за реакцією Манніха. Методом потенціометричного титрування проведено кінетичні дослідження закономірностей протікання реакції Манніха в ТБК порівняно з поліакриламідом (ПАА). Встановлено, що продукти амінометилування кополімерів та ПАА представляють собою поліамфоліти. Виявлено наявність одночасного протікання амінометилування та гідролізу амідних груп з перевагою процесу гідролізу.*

Ключові слова: блок-кополімери, поліакриламід, поліетиленоксид, амінометилування.

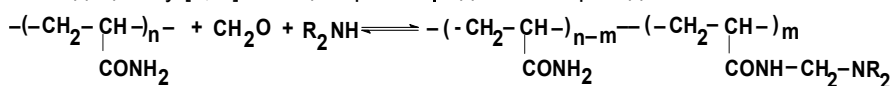
Вступ. Полімерні наноконтейнери міцелярного типу вважаються одним з найбільш перспективних носіїв, які дозволяють реалізувати адресну доставку токсичних і/або нерозчинних у воді ліків в певних клітинах живих організмів. Раніше нами було показано, що асиметричні блок-кополімери типу ПАА-*b*-ПЕО-*b*-ПАА та МОПЕО-*b*-ПАА, що містять хімічно комплементарні поліакриламід (ПАА) та полі(етиленоксид) (ПЕО) або його моноетер (МОПЕО) утворюють міцелярні структури в розбавлених водних розчинах [1, 2]. Такі міцели містять гідрофобне комплексне "ядро", створене ділянками зв'язування ПЕО і ПАА ланцюгів за рахунок водневих зв'язків, і гідрофільну "корону", що складається із незв'язаних сегментів довших блоків ПАА. Встановлено вплив проти-пухлинного препарату доксорубіцину (ДРЦ) на процес міцелування в результаті його взаємодії з міцелами кополімерів. Це відкрило нові перспективи для дослідження таких кополімерів і їх використання як наноконтейнерів для транспортування ДРЦ та інших токсичних і погано розчинних лікарських препаратів.

Адресна доставка міцелярних наноконтейнерів з лікарськими препаратами в певні органи і тканини організму є завжди внутрішньоклітинною. Для її забезпечення носії лікарських субстанцій (та біополімерів) повинні мати в своєму складі певні ліганди або вектори, такі як сахариди, пептиди, білки, антитіла, фолієві кислоти тощо [3–7]. За допомогою таких векторів носії розпізнають відповідні рецептори на поверхні тих чи інших клітин, взаємодіють з ними, і проникають у внутрішньоклітинний простір шляхом ендоцитозу [8, 9]. В міцелярний

носій, який є продуктом самозбірки макромолекул амфільних блок-кополімерів, можна ввести сахаридний вектор в результаті ковалентного "пришивання" до одного з блоків або в результаті адсорбції. Перша стратегія є більш перспективною, оскільки дозволяє контролювати кількість і положення векторів в міцелі. Існують дві методології введення сахаридів у блок-кополімери за допомогою ковалентних зв'язків: 1) в ході синтезу блок-кополімеру і 2) в процесі додаткової функціоналізації раніше отриманого кополімеру. Підбір відповідної методології до конкретного блок-кополімеру залежить від хімічної природи блоків та головного постулату про те, що вектор повинен знаходитись в "короні" міцел. Для ефективної функціоналізації блоків ПАА у складі блок-кополімерів на основі ПЕО/ПАА частину амідних груп необхідно перевести у карбоксильні або аміногрупи шляхом реакцій полімераналогічного перетворення.

В даній роботі досліджено реакції амінометилування в міцелують триблок-кополімерах на основі ПЕО і ПАА за реакцією Манніха, оскільки створення певної кількості аміногруп на ланцюгах ПАА дає можливість не тільки розширити коло реакцій для введення необхідних сахаридів (за рахунок, наприклад, реакцій кватернізації третинних аміних груп галогенпохідними сахаридів [10]), але й розширити функції даних міцелярних наноконтейнерів в плані інкапсуляції та доставки як лікарських субстанцій, так і генетичного матеріалу [11].

Експериментальна частина. Реакція Манніха ґрунтується на високій лабільності протонів амідних груп [12], що дозволяє проводити їх амінометилування за схемою:



Співвідношення реагентів реакції у випадку ТБК підбирали такими, які забезпечували досягнення відносно невеликого (~10 моль %) ступеня перетворення ланок ПАА-блоків. Реакцію проводили при T=50°C шляхом введення у нагрітий водний розчин ТБК (C=10 кг·м⁻³) формальдегіду та очищеного диметиламіну у мольному співвідношенні 1:0.2:0.2. Значення рН розчину підтримували в межах 10,3–10,5 додаванням NaOH [12].

Вихідні зразки ТБК1 і ТБК2 були синтезовані методом радикальної матричної блок-кополімеризації ПАА до поліетиленгліколю (ПЕГ) з M_n 6 та 35 кДа безпосередньо перед проведенням реакції Манніха за розробленою методикою [2]. Паралельно у цих же умовах проводили амінометилування поліакриламідів з M_n=117 кДа. Молекулярні параметри одержаних кополімерів (ТБК1 і ТБК2) визначали перед проведенням амінометилування за даними ¹H ЯМР спект-

роскопії, використовуючи співвідношення інтегральних інтенсивностей сигналів протонів метильних або метиленових груп ПАА та сигналів протонів метиленових груп ПЕО, а також відомі значення ММ вихідних зразків ПЕГ. Дані ЯМР підтвердили наявність обох видів блоків в ТБК і дали можливість розрахувати ММ блоків ПАА (і макромолекул в цілому) за формулами [13]:

$$M_{n\text{ПАА}} = M_{0\text{ПАА}} \cdot M_{\text{ПЕГ}} \cdot A_b / M_{0\text{ПЕГ}} \cdot A_a$$

або

$$M_{n\text{ПАА}} = 2 \cdot M_{0\text{ПАА}} \cdot M_{\text{ПЕГ}} \cdot A_c / M_{0\text{ПЕГ}} \cdot A_a,$$

в яких M_{0ПАА} і M_{0ПЕГ} є ММ ланок ПАА і ПЕГ, M_{ПЕГ} - ММ ПЕГ, а A_a, A_b, A_c позначають інтегральні інтенсивності сигналів протонів метиленових груп ПЕГ, а також метиленових і метинових груп ПАА відповідно. Одержані характеристики ТБК представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Параметри триблок-кополімерів за даними ¹H ЯМР

Кополімер	M _{nПЕГ} ¹⁾ , кДа	M _{nПАА} ¹⁾ , кДа	M _{nТЕК} ²⁾ , кДа	w _{ПЕО} ³⁾ , %
ТБК1	6	416	422	1,42
ТБК2	35	1897	1932	1,81

¹⁾ Середньочислова ММ блоку ПАА. ²⁾ ММ триблок-кополімеру: M_{nТЕК} = M_{nПЕО} + 2·M_{nПАА}. ³⁾ Вагова частка ПЕО у кополімерах.

З метою встановлення кінетичних закономірностей реакції амінометилування відбирали проби модифікованих зразків через 10, 60, 120, 180 та 240 хв від початку реакції, переосаджували ацетоном і розчиняли у деіонізованій воді, підкисленій 0,5 М розчином HCl до рН~2 для стабілізації кінцевих третинних аміногруп за рахунок їх переведення у сольову форму.

Кінетику реакції амінометилування вивчали шляхом розрахунку ступеня перетворення акриламідних ланок ПАА-блоків ТБК в третинні аміногрупи, тобто ступеня амінометилування Б через певний час за даними потенціометричного титрування. Оскільки після реакції катіонні групи переводили одразу у сольову форму при рН~2, як титрант використовували 0,2 М розчин NaOH.

Результати та їх обговорення. На рис. 1 наведено дані титрування, одержані шляхом розрахунку кривих поглинання гідроксил-йонів (залежності величини поглинання гідроксил-йонів σ_{OH^-} від рН) для модифікованих

зразків ТБК1, ТБК2 та індивідуального ПАА. Видно, що криві поглинання для модифікованих ТБК і ПАА складаються з двох S-подібних ділянок і нагадують аналогічні криві поглинання для поліамфолітів, що свідчить про наявність в їх складі не тільки амінометильованих, але й карбоксильних груп, які утворюються, імовірно, в результаті протікання паралельної реакції гідролізу амідних груп. В більшості випадків криві поглинання складаються з ділянки титрування -COOH груп (від рН~4,03-4,80 до рН~8,0), подальшої ділянки титрування -NH⁺(CH₃)₂ груп (від рН~8,5-8,7 до рН~11,0-11,5) та області так званої "мінімальної" буферної ємності (від рН~8,0 до рН~8,5-8,7), існування якої на кривих поглинання поліамфолітів свідчить про суттєво різні (на ~3-4 порядки) константи дисоціації першого та другого типу йоногенних груп. В цьому випадку області титрування йоногенних груп не перекриваються, і на кривих поглинання з'являється область "мінімальної" буферної ємності.

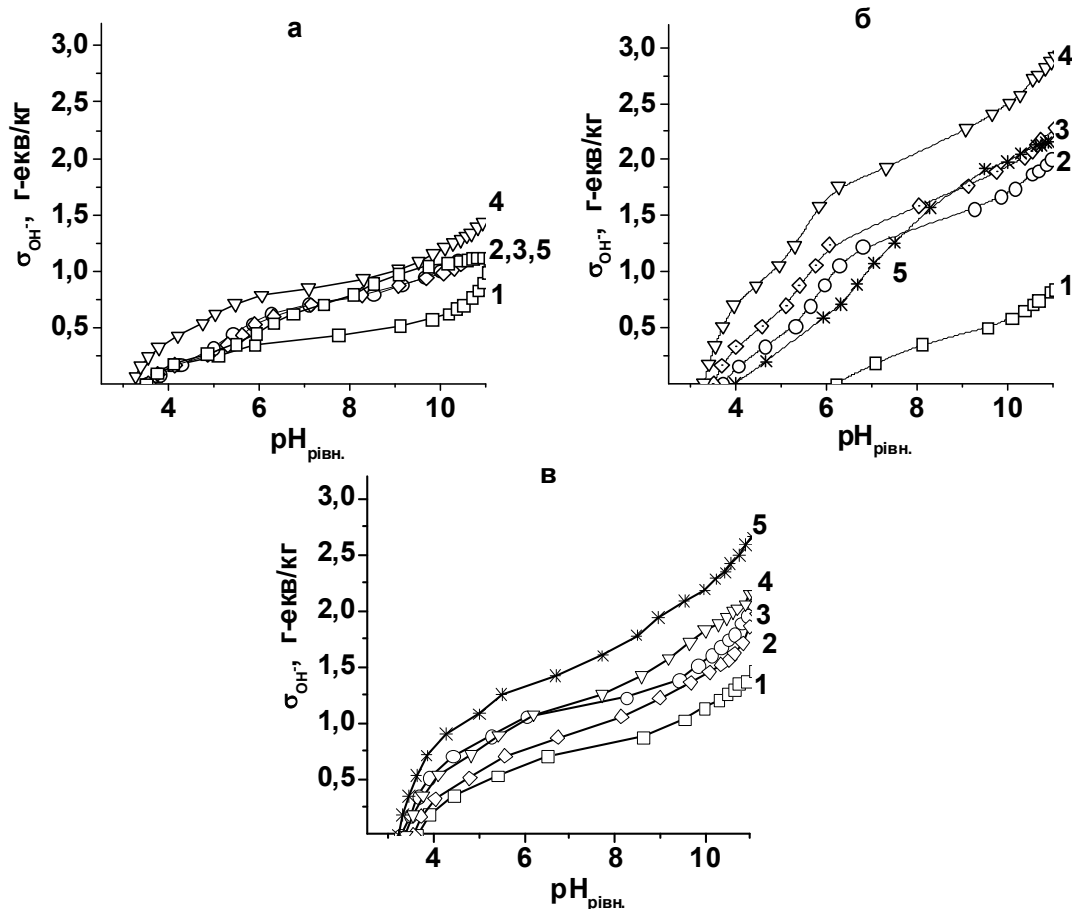
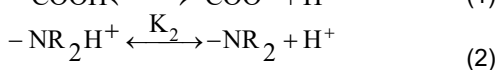


Рис. 1. Криві поглинання гідроксил-йонів для ТБК1 (а), ТБК2 (б) та ПАА (в), модифікованих протягом 20 (1), 60 (2), 120 (3), 180 (4) та 240 хв (5). T=50°C

Аналіз результатів та відомих даних щодо хімічної природи основних та побічних продуктів реакції амінометилування низькомолекулярних амідів [14] і поліамідів [15] приводить до висновку, що першим типом груп, які титруються при додаванні лугу в розчини продуктів реакції Манніха, є карбоксильні групи (рівновага 1). Другим типом груп, що титруються після області мінімальної буферної ємності, є заряджені третинні аміногрупи амінометильованих ланок ТБК і ПАА (рівновага 2):



Використовуючи криві поглинання, визначали величини $\sigma_{гр}$ для кожного типу груп і ступені перетворення амідних груп в амінометильні (Б) та карбоксильні (А) при полімераналогічних перетвореннях (рис. 2). Видно, що в продуктах амінометилування вже через 60 хв досягається постійна мольна частка гідролізованих ланок (рис. 2, а), практично незмінна мольна частка амінометильованих ланок (рис. 2, б), а також міститься значна частка немодифікованих акриламідних ланок, оскільки сумарний ступінь перетворення А+Б знаходиться в межах 8-18%. Цей ефект можна вважати закономірним, оскільки умови реакції підбирали таким чином, щоб досягти невеликого ступеня амінометилування блоків ПАА (~10 моль %).

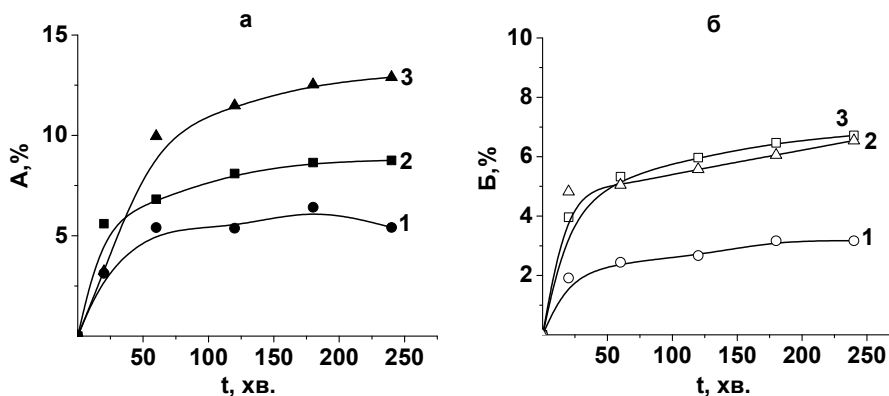


Рис. 2. Зміна ступеня гідролізу (а) та амінометилування (б) від часу реакції для ТБК1 (1), ПАА (2) та ТБК2 (3). T=50°C

Для більш детального аналізу розраховували також швидкості реакції Манніха та побічної реакції гідролізу (табл. 2). Як видно, амінометилування і гідроліз ТБК2 відбуваються інтенсивніше, ніж ПАА і ТБК1. Значну позитивну роль в цьому відіграє довжина ПАА, що є більшою у випадку ТБК2. Базуючись на даних про вплив концентрації реагуючих ланок і конформації макромо-

лекул на кінетику полімераналогічних перетворень в лінійних полімерних ланцюгах [15–17] та враховуючи факт утворення макромолекулами ТБК інтрамолекулярних полікомплексів (ІнтраПК) та міцелярних структур, можна дійти висновку, що цей ефект пов'язаний з підвищеною локальною концентрацією реагуючих акриламідних ланок в ТБК2 у порівнянні з ТБК1 та ПАА.

Таблиця 2

Кінетичні параметри реакції амінометилування при T=50°C

Полімер	$v_{\text{амін}} \cdot 10^5$ ¹⁾ , осн-моль·м ⁻³ ·с ⁻¹	$B_{\text{гр}}$ ²⁾ , %	$v_{\text{гідр}} \cdot 10^5$ ³⁾ , осн-моль·м ⁻³ ·с ⁻¹	$A_{\text{гр}}$ ⁴⁾ , %
ПАА	3,30	6,54	4,66	8,75
ТБК1	1,60	3,16	2,61	5,41
ТБК2	4,19	6,71	2,69	12,89

¹⁾ Швидкість амінометилування. ²⁾ Ступінь амінометилування. ³⁾ Швидкість реакції гідролізу. ⁴⁾ Ступінь гідролізу.

Висновки. Таким чином, продукти реакції амінометилування кополімерів і ПАА представляють собою поліамфоліти. При цьому вміст карбоксильних груп в модифікованих ТБК через 60 хв реакції майже у 2 рази більший, ніж третинних аміногруп. Той факт, що реакція гідролізу відбувається більш активно, ніж амінометилування для всіх досліджених зразків нашою думкою про роль стеричних ускладнень, пов'язаних з більшим розміром атакуючої групи в реакції амінометилування порівняно з реакцією лужного гідролізу, в результаті чого зменшується доступ амінометилуючого агента до акриламідних ланок. В літературі висловлювалась думка про можливість одночасного протікання реакції амінометилування і гідролізу в ланцюгах індивідуального ПАА. Однак у роботах, присвячених дослідженню механізму цієї реакції при різних способах її проведення, утворення ланок акрилової кислоти не спостерігали. Тому особливий характер розвитку цього процесу у випадку триблок-кополімерів представляє безумовний інтерес і заслуговує більш детального вивчення.

Список використаних джерел

- Kunitskaya L.R., Zheltonozhskaya T.B., Aleinichenko V.A., Roshal A.D., Khayetsky I.K. Mol. Cryst. Liq. Cryst., 2011, 536, 390–404.
- Zheltonozhskaya T., Nedashkovskaya V., Khutoryanskiy V., Gomza Yu., Fedorchuk S., Klepko V., Partsevskaya S., Mol. Cryst. Liq. Cryst., 2011, 536, 380–391.

Л. Куницкая, канд. хим. наук
larisa_kunitskaya@ukr.net
Т. Желтоножская, д-р хим. наук
КНУ имени Тараса Шевченко, Киев

ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ БЛОК-СОПОЛИМЕРОВ, СОДЕРЖАЩИХ ПОЛИАКРИЛАМИД И ПОЛИЭТИЛЕНОКСИД

Исследована реакция полимераналогичного превращения триблок-сополимеров (ТБК) полиакриламида и полиэтиленоксида ПАО-в-ПАА путем аминметилування акриламидных звеньев диметиламином и формальдегидом по реакции Манниха. Методом потенциометрического титрования исследованы кинетические закономерности реакции Манниха для ТБК в сравнении с полиакриламидом (ПАА). Установлено, что продукты аминметилування представляют собой полиамфолиты. Обнаружено наличие одновременного протекания реакции аминметилування и гидролиза амидных групп с преимуществом процесса гидролиза.

Ключевые слова: блок-сополимеры, полиакриламид, полиэтиленоксид, аминметилування.

- Fahmy T.M., Fong P.M., Goyal A., Saltzman W.M., Materials Today, 2005, 8(8), 18–26.
- Mahmud A., Xiong X.-B., Aliabadi Hamidreza M., Lavasanifar A., J. Drug Target., 2007, 15, 553–584.
- Marcucci F., Lefoulon F. Drug Discov. Today, 2004, 9(5), 219–228.
- Shi M., Lu J., Shoichet M.S., J. Mater. Chem., 2009, 19, 5485–5498.
- Sutton D., Nasongkla N., Blanko E., Gao. J. Pharm. Res. 2007, 24, 1029–1040.
- Svenson S. Am. Chem. Soc., ACS Symp. Ser., 2004, 879, 2–23.
- Cho K., Wang X., Nie S., Chen Z., Shin D.M., Wang X., Nie S., Chen Z., Shin D.M., Clin. Cancer Res., 2008, 14, 1310–1316.
- Rieger J., Stoffelbach F., Cui D., Imberty A., Lameignere E., Putaux J.L. Biomacromolecules, 2007, 8, 2717–2725.
- Lee Y., Kataoka K. Adv. Polym. Sci., 2012, 249, 95–134.
- Тавризова О.А., Вейцер Ю.И., Клячко Ю.А. Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева, 1986, 31(1), 110–112.
- Tavrizova O.A., Vejcer Yu.I., Klyachko Yu.A. Zhurn. Vsesoyuz. him. o-va im. D.I. Mendeleeva, 1986, 31(1), 110–112 (In Russian).
- Zheltonozhskaya T., Shembel E., Fedorchuk S., Kunitskaya L., Maksyuta I., Pemyakova N., Gomza Y. J. Res. Updates Polym. Sci., 2012, 1, 1–12.
- Верлинская Р.М., Кисленко В.Н., Берлин А.А. Журн. прикл. химии, 1998, 9, 1505–1509.
- Verlinskaya R.M., Kislenco V.N., Berlin A.A. Zhurnal prikladnoi khimii, 1998, 9, 1505–1509. (In Russian).
- Leung W.M., Axelson D.E., Syme D. Colloid. Polym. Sci., 1985, 263, 812–817.
- McDonald C.J., Beaver R.H. Macromolecules, 1979, 12, 203–208.
- Федтке М. Химические реакции полимеров. М.: Химия, 1990, 152 с.
- Fedtke M. Chemical reactions of polymers. Moscow, Chemistry, 1990, 152 p. (In Russian).

Надійшла до редколегії 10.06.16

L. Kunitskaya, PhD
 larisa_kunitskaya@ukr.net,
 T. Zheltonozhskaya, Dr. Sci.
 Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

FUNCTIONALIZATION OF BLOCK COPOLYMERS COMPRISING POLYACRYLAMIDE AND POLY(ETHYLENE OXIDE)

The application of micelle-type polymeric nanocontainers is considered as one of the most perspective ways to solve the problem of a targeted delivery of toxic and poorly soluble drugs into certain cells of living organisms. Asymmetric micelle forming triblock copolymers (TBC) comprising polyacrylamide (PAAm) and poly(ethylene oxide) (PEO) have hydrophobic complex "core" formed by the hydrogen-bonded PEO/PAAm chains and hydrophilic "corona" of the surplus segments of longer PAAm blocks. They can bind colloid particles, organic substances and different ions in water solutions. The influence of the anticancer agent doxorubicin on the micellization process of mentioned TBC due to its interaction with the copolymer micelles opened new prospects for using such copolymers as nanocontainers for toxic and poorly soluble drugs. For the successful implementation of mentioned TBC for a drug delivery, they have to contain special ligands or vectors (saccharides, peptides, proteins or antibodies). Such vectors can recognize corresponding receptors on a cellular surface, interact with them, and penetrate into the intracellular space by the endocytosis pathway. In order to introduce the necessary vectors into TBC, corona forming PAA blocks have to contain active groups. In this aspect the methods of TBC functionalization are particularly important. Reactions of polymer analogous modification are well known, comparatively simple and reliable method of functional groups transformation. In the present work the polymer-analogous conversion of triblock copolymers (TBC) PAAm-*b*-PEO-*b*-PAAm by the aminomethylation reaction in PAAm blocks under the effect of dimethylamine and formaldehyde (Mannich's reaction) was studied. Kinetic investigations of the Mannich's reaction in TBC as compared to that in pure PAAm were performed by potentiometric titration. It was established that products of copolymers and PAAm aminomethylation possess the properties of polyampholites. The existence of two competitive polymer-analogous transformations in PAAm chains such as aminomethylation and alkaline hydrolysis of amide groups was established and discussed.

Keywords: block copolymers, polyacrylamide, poly(ethylene oxide), aminomethylation, potentiometric titration.

УДК 541.64

О. Харченко, асп.
 oksana_kharchenko@ukr.net;
 Д. Мерживський, студ.;
 В. Смокал, канд. хім. наук;
 О. Колендо, д-р хім. наук
 КНУ імені Тараса Шевченка, Київ;
 А. Попова, асп.;
 М. Фрасинюк, канд. хім. наук
 Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, Київ

СИНТЕЗ НОВИХ МЕТАКРИЛАТІВ 6-ГІДРОКСИАУРОНІВ

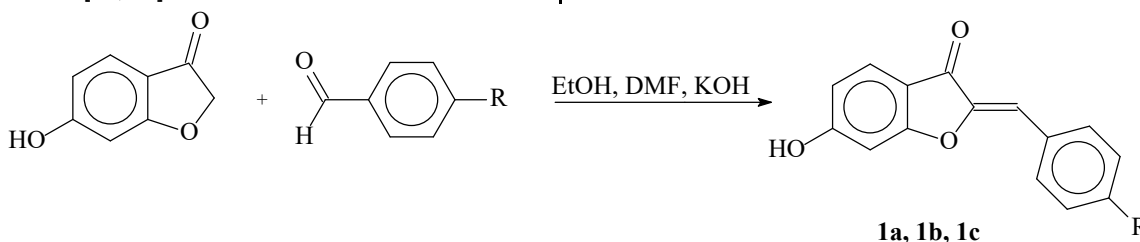
Реакцією конденсації 6-гідроксибензофуран-3-ону з ароматичними альдегідами синтезовано нові (2*Z*)-6-гідрокси-2-(4-*R*-бензиліден)-1-бензофуран-3(2*H*)-они та їх подальшим ацилюванням – нові (2*Z*)-6-метакрилокси-2-(4-*R*-бензиліден)-1-бензофуран-3(2*H*)-они для створення полімерів спеціального призначення.

Ключові слова: 6-гідроксибензофуран-3-он, 6-гідроксиаурони, метакрилові мономери.

Вступ. Аурони, 2-бензиліденбензофуран-3-(2*H*)-они, складають міночний підклас флавоноїдів, які містяться в рослинах родин Складноцвітні (*Compositae*), Бобові (*Leguminosae*), Розові (*Rosaceae*), Маренові (*Rubiaceae*), Осокові (*Syringaceae*), тощо. В рослинах аурони відіграють роль пігментів, надаючи жовтий та помаранчевий колір квітам, а також фітоалексинів – антибактеріальних та протигрибкових речовини, що виробляються рослиною у відповідь на інфекцію патогенів, забезпечуючи захист рослин від бактеріальних та грибових збудників.

Дослідження *in vitro* показали, що природні аурони та їх синтетичні аналоги виявляють антибактеріальну [1], противірусну [2], протипаразитичну [3, 4], антиоксидантну [5, 7] та протиракову [8, 9] активність.

Досліджено, що синтетично отримані аурони мають *Z*-конфігурацію екзоциклічного подвійного зв'язку і здатні до фотоізомеризації у відповідні *E*-ізмери при їх УФ-опроміненні [10, 11].



де R = –H (**a**), –NO₂ (**b**), –N(CH₃)₂ (**c**).

Далі їх ацилюванням хлорангідридом метакрилової кислоти у присутності триетиламіну як акцептора HCl

Тому отримання полімерів, що містять ковалентно введені фрагменти ауронів, є актуальним завданням.

Результати дослідження та їх обговорення. Метою роботи був синтез метакрилових мономерів на основі нових (2*Z*)-6-гідрокси-2-(4-*R*-бензиліден)-1-бензофуран-3(2*H*)-онів для подальшого вивчення їх полімеризаційної здатності в радикальній полімеризації і одержання нових полімерів для можливого застосування в оптоелектроніці та фотоніці.

Для цього, виходячи з 6-гідроксибензофуран-3-ону за допомогою реакції конденсації з ароматичними альдегідами в суміші етанолу, ДМФА та розчину луку одержано 6-гідроксиаурони **1a**, **1b** та **1c**:

при охолодженні одержано нові метакрилові похідні відповідних 6-гідроксиауронів **2a**, **2b** та **2c**: