

УДК 541.64:547.65

## МОНО- И БИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ 2,4-ДИНИТРОФЕНИЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ПОЛИЭТИЛЕНОКСИДА

Казанский К. С., Каминский А. Я., Птицына Н. В.,  
Романова В. С., Топчиева И. Н.

Моно- и бифункциональные 2,4-динитрофенильные производные ПЭО синтезированы двумя способами: анионной полимеризацией окиси этилена с последующей дезактивацией «живых» полимеров соответствующими агентами, а также путем замещения групп ОН коммерческих полиэтиленгликолов. Полимеры, имеющие ММ в интервале 900–102 000, идентифицированы методами УФ-спектроскопии, химического анализа и по молекулярно-массовым характеристикам. Сравнение использованных способов синтеза показывает, что первый из них дает более высокую конечную функциональность по 2,4-динитрофенильным группам. Синтезированные препараты обладают иммуногенными свойствами.

Функциональные полимеры на основе ПЭО с одной или двумя концевыми группами разнообразной природы доступны в препаративном отношении и привлекают все большее внимание. К настоящему времени синтезировано множество такого рода продуктов [1–4], которые могут иметь самостоятельное применение или использоваться в качестве промежуточных веществ, например телехеликов [5] или макромеров [6].

Недавно показано, что производные ПЭО, содержащие в качестве гаптенов 2,4-динитрофенильные (ДНФ) концевые группы, обладают значительной иммунной активностью [7, 8]. Среди широко исследуемых в последние годы искусственных антигенов на макромолекулярной основе [9] эта группа веществ является, несомненно, простейшей, причем уникальна здесь возможность синтеза полимеров с узким ММР и строго заданными ММ и функциональностью. Использование таких практически индивидуальных моно- и дивалентных антигенов на основе ПЭО позволяет детально исследовать механизм их действия на иммунокомпетентные клетки [10].

В этой связи, а также из-за имеющихся расхождений в данных разных групп авторов по активности моно- и бифункциональных производных ПЭО требуется усовершенствование собственно методов синтеза и идентификации указанных соединений, что и являлось целью настоящей работы.

**Исходные вещества.** Окись этилена (ОЭ), содержащую 99,97% основного вещества, подвергали четырехкратной низкотемпературной перегонке на вакуумной установке в присутствии  $\text{CaH}_2$  до влажности не более 0,005%. Монобутиловый эфир этиленгликоля (МБЭЭГ) и диэтilenгликоль (ДЭГ) сушили в течение 1 сут  $\text{CaH}_2$  и перегоняли в ампулы с перегородками при 13,3 Па и 33 и 20° соответственно. Полиэтиленгликоли применяли без дополнительной очистки. 2,4-Динитрофторбензол (ДНФБ) сушили в экскаторе над  $\text{P}_2\text{O}_5$  и использовали в виде раствора в ТГФ или диметоксистане (ДМЭ). ТГФ очищали обычным способом и хранили в виде раствора комплекса калий – терфенил. Остальные растворители – бензол, МЭК и ДМЭ квалификации ч. – подвергали одноразовой перегонке. Гидроокись тетрабутиламмония (ГТБА) использовали в виде 10%-ного водного раствора. Триэтиламин (ТЭА) кипятили с KOH и перегоняли над свежей порцией KOH.

**Инициаторы.** Монофункциональный калиевый алкоголяят МБЭЭГ (КМБЭЭГ) получали реакцией МБЭЭГ в ТГФ с зеркалом металлического калия в вакууме. Полнота превращения МБЭЭГ в алкоголяят составляла 99,0–99,5% по данным кислотного титрования. Бифункциональный калиевый алкоголяят ДЭГ (КДЭГ) получали взаимодействием ДЭГ с дифенилметилкалием согласно работе [11]. Инициаторы хранили в виде растворов в ТГФ в стеклянных ампулах с разбиваемыми перегородками для последующего смещения с ОЭ.

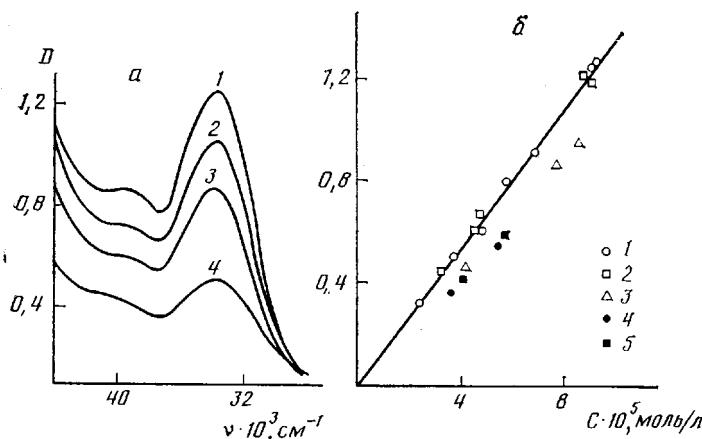


Рис. 1. Спектры поглощения растворов (а) и концентрационная зависимость оптической плотности полосы ДНФ-группы (б). а: 1 – 2,4-динитроанизол (концентрация  $9,8 \cdot 10^{-5}$  моль/л); 2, 4 – монофункциональный ДНФ-производный ПЭО ( $M=6 \cdot 10^3$  и  $3,1 \cdot 10^4$ ; 0,49 и  $1,46$  г/л соответственно); 3 – бифункциональный ДНФ-производный ПЭО ( $M=3,6 \cdot 10^4$ ,  $1,34$  г/л). Этанол, длина кюветы 1 см. б: 1 – 2,4-динитроанизол и 1-(β-метоксиэтокси)-2,4-динитробензен (прямая линия); 2, 3 – монофункциональные ДНФ-производные ПЭО ( $M=3 \cdot 10^3$ ,  $6 \cdot 10^3$  (2) и  $3,1 \cdot 10^4$  (3)); 4, 5 – бифункциональные ДНФ-производные ПЭО ( $M=3,6 \cdot 10^4$  (4) и  $10,2 \cdot 10^4$  (5)). Этанол, 293 нм

**Синтез и очистка ДНФ-производных ПЭО.** В работе использовали три метода получения ДНФ-производных ПЭО.

**Метод А (реакция (1)).** В ампулу с раствором инициатора конденсировали ОЭ на вакуумной установке, количество которой дозировали из калиброванных сосудов. Полимеризацию проводили в интервале 15–40°; время реакции рассчитывали по данным работы [12]. Например, 5 г ОЭ (0,114 моля) полимеризовали в присутствии 0,259 г ( $1,67 \cdot 10^{-3}$  моля) КМБЭГ в 20 мл ТГФ при 20° в течение 20 ч с выходом 99,5% и  $M=3 \cdot 10^3$ . Затем реакционную массу разливали в вакууме на две ампулы, в одну из которых через перегородку вводили двукратный избыток ДНФБ, а другую открывали на атмосферу. Нефункционализированный ПЭО использовали для контроля ММ.

**Метод Б (реакция (2)).** ПЭГ растворяли в сухом ДМЭ и реакцией с двадцатикратным избытком металлического натрия в течение 1 ч превращали в алкалият. К декантированному раствору добавляли ДНФБ в ДМЭ и кипятили в течение 5 ч. Осадок, выпадающий при охлаждении реакционной смеси, отфильтровывали. Например, для функционализации ПЭГ ( $M=6 \cdot 10^3$ ) взято 3 г ( $5 \cdot 10^{-4}$  моля) ПЭГ, 50 мл ДМЭ, 1 г ( $5 \cdot 10^{-3}$  моля) ДНФБ.

**Метод В (реакция (3)).** Реакцию концевых групп ПЭГ осуществляли в присутствии ТЭА. Так, 3 г ( $5 \cdot 10^{-4}$  моля) ПЭГ с  $M=6 \cdot 10^3$  растворяли в 50 мл бензола, содержащего 0,18 г ( $2,5 \cdot 10^{-3}$  моля) ТЭА, после чего в раствор вводили 1 г ( $5 \cdot 10^{-3}$  моля) ДНФБ в 5 мл бензола и кипятили 25 ч.

Очистку полимеров от избытка ДНФБ и других низкомолекулярных примесей производили трехкратным переосаждением из этанола или ТГФ путем кристаллизации при 5°. Полимеры с  $M>1,5 \cdot 10^4$  очищали диализом водных растворов в диализных мешках фирмы LKB (6390-1) против воды с последующей лиофильной сушки. Чистоту препаратов контролировали методом ТСХ на пластинках «Silufol», используя этанол в качестве подвижной фазы и ДНФБ как свидетель.

**Анализ полимеров.** Среднечисленную ММ образцов в интервале до  $10^4$  определяли методом измерения тепловых эффектов конденсации (ИТЭК) в МЭК при 50°. Средневязкостную ММ рассчитывали из характеристической вязкости, измеренной на вискозиметре Уббелоде в бензоле при 25°, по уравнению  $[\eta]=3,97 \cdot 10^{-4} \cdot M_{\eta}^{0,689}$  [13]. Полимеры анализировали методом ГПХ<sup>1</sup> на приборе «Water C-200» с колонками из стирогеля ( $10^2$ ,  $5 \cdot 10^2$ ,  $10^3$  и  $10^4$  Å) с ТГФ в качестве элюента. Среднечисленную функциональность  $f_n$ , равную отношению количества групп ДНФ в образце к общему числу макромолекул, определяли двумя методами: спектральным и химическим.

Концентрацию групп ДНФ рассчитывали из оптических плотностей растворов полимеров в этаноле и воде. Коэффициенты поглощения ( $1,3 \cdot 10^4$  при 293 нм и  $1,0 \cdot 10^4$  л/моль·с при 300 нм соответственно) находили с помощью модельных соединений – 2,4-динитроанизола и 1-(β-метоксиэтокси)-2,4-динитробензола, спектры поглощения которых и исследуемых образцов идентичны (рис. 1, а). На рис. 1, б сопоставлены данные по оптическим плотностям модельных соединений и некоторых образцов, синтезированных методом А. Отклонения от прямой, полученной для

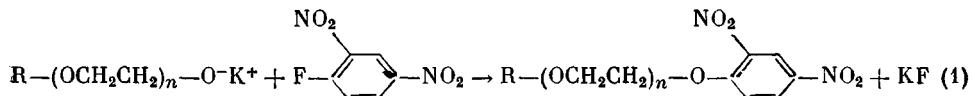
<sup>1</sup> Авторы выражают благодарность А. И. Кузаву за помощь в определении ММ характеристик препаратов методом ГПХ.

стандартов, свидетельствуют о неполной степени замещения по сравнению с расчетной. При химическом определении связь, соединяющую группу ДНФ с цепью, подвергали гидролитическому расщеплению под действием ГТБА в ДМФА при 90°; количество выделившегося при этом 2,4-динитрофенола измеряли фотометрически ( $\varepsilon=1,3 \cdot 10^4$  л/моль·см, 360 нм).

Функциональные производные ПЭО получают как непосредственно полимеризацией ОЭ, так и заменой концевых групп ПЭГ [4]. Оба эти способы использовали в настоящей работе.

Анионная полимеризация ОЭ, протекающая по механизму «живущих» цепей [12], дает возможность количественно ввести желаемые концевые группы на стадиях инициирования или дезактивации активных центров. Попытка проведения полимеризации по первому из этих путей показала, что основным продуктом реакции ОЭ с пикратом калия является спирокомплекс, который не ведет полимеризацию [14]. При использовании в качестве инициатора 2,4-динитрофенолята калия активные центры также не образуются, хотя спирокомплекс в этом случае непосредственно не обнаружен.

Более плодотворным оказался второй путь, где синтез ДНФ-производных осуществляли полимеризаций ОЭ под действием традиционных анионных инициаторов, а функциональные группы вводили на стадии дезактивации после завершения процесса



Возможности метода продемонстрированы в предварительной стадии работы синтезом группы моно-, ди- и тринитрофенильных производных ПЭО с  $M \sim 2 \cdot 10^4$ , которые обнаружили заметную иммуногенность и тем самым стимулировали дальнейшие исследования [8]. Вариация  $n$  условиями синтеза, введение спейсера в виде нескольких метиленовых групп между бензольным ядром и галоидом, выбор природы последнего позволяют получить практически любые производные ПЭО такого типа.

В условиях живой полимеризации величина ММ определяется, как известно, соотношением исходных концентраций мономера и инициатора. На рис. 2 полученные из спектральных данных концентрации концевых групп, эквивалентные концентрациям центров роста в момент дезактивации, сопоставлены с исходными концентрациями инициатора; как видно, они взаимно коррелируют. Это соответствие выражается также в совпадении наблюдаемых и вычисленных ММ (табл. 1), которое сохраняется и в более широком интервале, однако в условиях гораздо более прецизионной очистки реагентов [12]. Корреляция, показанная на рис. 2, демонстрирует также стабильность всех центров роста в момент исчерпания мономера и введения дезактиватора, и используемую реакцию (1) можно рассматривать как метод концевых меток (end-capping), нашедший широкое применение в катионной полимеризации [15].

Таблица 1

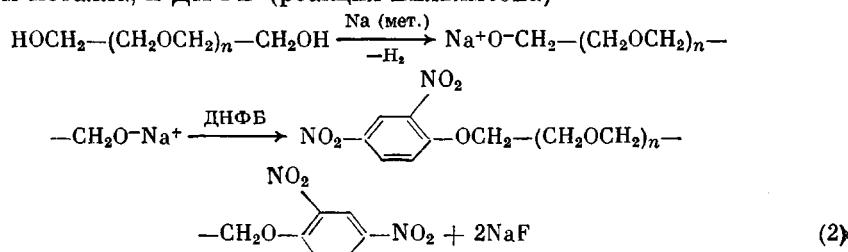
ДНФ-производные ПЭО, полученные анионной полимеризацией ОЭ

Планируемые параметры	Экспериментальные характеристики						
	$M \cdot 10^{-3}$	$f_n$	$\bar{M} \cdot 10^{-3}$			$\bar{M}_w/\bar{M}_n$	Функциональность по методу
			$\bar{M}_n$ (ИТЭК)	$\bar{M}_n$ (ГПХ)	$\bar{M}_n$		
3,00	1	2,95	2,95	2,92	1,02	1,02	0,91
6,00	1	5,95	6,12	5,90	1,01	1,00	0,92
15,00	1	14,80	14,92	14,70	1,03	0,91	0,91
20,00	1	—	23,13	22,81	1,15	1,00	0,56
31,00	1	—	—	30,40	—	0,87	0,80
36,00	2	—	—	36,13	—	1,80	1,74
62,00	1	—	—	61,87	—	0,99	1,00
100,00	2	—	—	102,50	—	1,52	1,00

В табл. 1 приведены молекулярные характеристики ДНФ-производных ПЭО, полученных дезактивацией живых полимеров. Как видно по величинам ММ и функциональности, синтез протекает в соответствии с «планом». Наиболее важным является достижение функциональности, близкой к идеальной.

Введение функциональных групп в ПЭГ или их моноэфиры путем количественного замещения групп OH налагает определенные требования на реакцию, которая должна быть необратимой и не сопровождаться деструкцией или спшиванием исходных макромолекул. В описанном методе получения ДНФ-производных [9] активацию OH-групп ПЭГ проводили под действием *n*-BuLi, который, как известно [16], является деструктирующим агентом по отношению к ПЭО. Во избежание указанных осложнений в настоящей работе использовали другие методы активации. Результаты их применения приведены в табл. 2.

Один из них — реакция между алкоголятом ПЭГ, полученным прямым действием металла, и ДНФБ (реакция Вильямсона)



вполне приемлем для синтеза ДНФ-производных с низкими ММ, но при высоких протекает с осложнениями. Низкие значения функциональности производных, полученных по методу Б, обусловлены скорее всего недостаточно полным превращением OH-групп ПЭГ в алкоголятные, а также их сильной ассоциацией друг с другом или с непрореагировавшими OH-группами [17].

Замещение происходит в более мягких условиях, если в качестве катализатора использовать ТЭА, который активирует OH-группу ПЭГ путем образования водородной связи

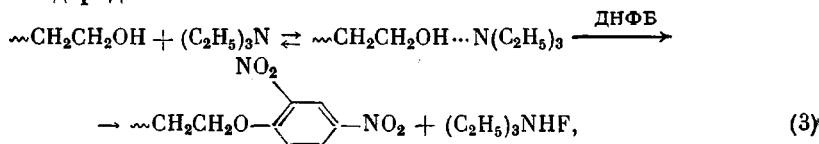


Таблица 2

ДНФ-производные ПЭО, полученные методами функционализации ПЭГ

Исходные ПЭГ *		Метод	Экспериментальные характеристики *			
$\bar{M}_n \cdot 10^{-4}$	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$		$\bar{M}_n \cdot 10^{-4}$	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$	функциональность по методу	
					спектральному	химическому
0,75	1,10	Б	0,88	1,08	0,52	0,47
1,05	1,01	Б	1,03	1,02	0,15	0,10
2,85	1,08	Б	2,42	1,02	0,70	0,60
2,85	1,08	В	2,42	1,02	1,76	1,65
3,80	1,03	Б	3,98	1,11	0,60	0,12
3,80	1,03	В	5,20 **	—	1,67	1,90
5,70	1,08	Б	6,10	1,03	0,54	0,41
15,40	1,20	Б	15,00	1,20	0,49	0,38
17,70	1,36	В	18,30	1,46	1,46	1,24
32,00	1,34	Б	35,90	1,27	—	0,10
40,00 ***	—	В	—	—	0,66	0,61

\* По данным ГПХ.

\*\* По данным ИТЭК.

\*\*\* Монофункциональный ПЭГ.

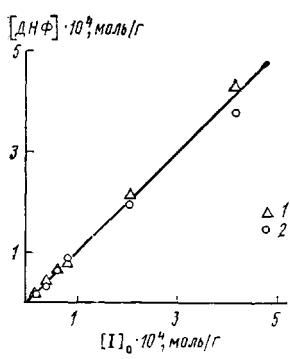


Рис. 2

Рис. 2. Сопоставление концентраций инициатора I и концевых ДНФ-групп по данным спектрального (1) и химического методов (2)

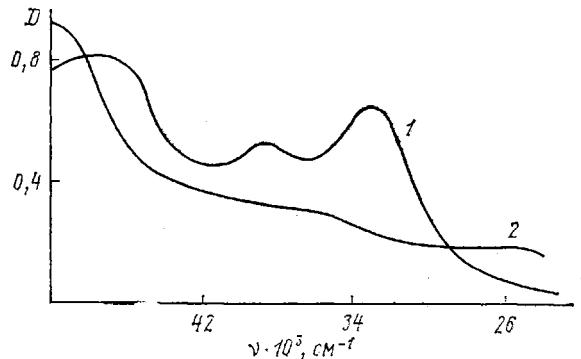


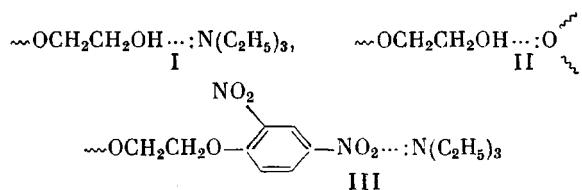
Рис. 3

Рис. 3. Спектры поглощения растворов бифункциональных ДНФ-производных ПЭГ в воде при длине кюветы 1 см. 1 —  $M=6 \cdot 10^3$ ,  $f_n=0,54$ ; 2 —  $M=4 \cdot 10^4$ ,  $f_n=0,66$ . Концентрация  $1,2 \cdot 10^{-4}$  моль/л

что ранее использовано для синтеза ДНФ-эфиров низкомолекулярных спиртов [18]. В случае ПЭГ для количественного замещения потребовалася существенно более высокий избыток ТЭА. Это может быть вызвано, с одной стороны, образованием водородной связи групп OH с атомами кислорода полиэфирной цепи [19], с другой, — недостаточно высокой константой ассоциации OH-групп с ТЭА, составляющей 17 л/моль [20].

Активация третичными аминами предпочтительнее, поскольку сама стадия получения алкоголята в реакции (3) обратима, что в условиях избытка амина обеспечивает превращение в активное состояние, по существу в алкоголят четвертичного аммония, практически всех исходных групп OH. В соответствии с этим функциональности, достигаемые по методу В, существенно выше. Данные табл. 2, характеризующие ММР исходных и функционализированных полимеров, показывают, что используемые методы модификации не приводят к каким-либо процессам деструкции или сшивания.

Следует отметить, что при попытках определения спектральным методом в водных растворах функциональности продуктов, синтезированных по методу В, для высокомолекулярных производных ( $M > 1,5 \cdot 10^4$ ) получены спектры поглощения, по форме напоминающие спектры мутности (рис. 3), тогда как в случае низкомолекулярных полимеров наблюдали обычный спектр с хорошо разрешенной полосой хромофора. Не исключено, что в протекании реакции (3) существенную роль могут играть процессы фазового разделения системы, обусловленные ассоциацией реагентов. После протекания функционализации на некоторую глубину реакционная смесь состоит из непрореагированного ПЭГ, продукта реакции, низкомолекулярных реагентов, а также их комплексов



Используя исходные вещества, а также ДНФ-производные, можно моделировать любой из типов взаимодействий и установить его роль в процессе фазового разделения, исследуя спектральные характеристики растворов.

Естественно полагать, что комплексы типа I—III должны существовать только в органических средах. Изучение спектральных характеристик соответствующих модельных систем в бензоле показало, что здесь не наблюдается каких-либо аномалий. В то же время если из раствора, содержащего комплекс типа I, выделить осаждением твердый полимер, а затем растворить его в воде, то оптическими методами обнаружено образование коллоидных частиц. Для моделирования поведения частично функционализированного полимера, полученного по методу В, ДНФ-производное с  $\bar{f}_n=1$  смешивали в водном растворе с комплексом I. Спектры в этом случае вовсе утратили полосу поглощения ДНФ-группы (рис. 3, спектр 2). Аналогичные эксперименты с системами, содержащими комплексы типа II и III, приводят к полностью гомогенным растворам с нормальными спектрами.

Эти данные позволяют предположить, что молекулы ТЭА, находящиеся на концах полимерной цепи в виде Н-комплексов, при растворении в воде остаются фиксированными на макромолекулах, образуя гидрофобные связи между ними. Аналогичные явления наблюдали и при синтезе других производных ПЭГ [21].

Подчеркнем, что метод живой анионной полимеризации ОЭ, обеспечивающий полный переход инициатора в активные центры, стабильность этих центров до конца процесса и их быструю последующую реакцию с дезактиватором, позволяет получить действительно моно- или бифункциональные производные ПЭО с любой заданной ММ вплоть до  $10^5$ . Эти полимеры в наибольшей степени приближаются к индивидуальным веществам и пригодны для модельных исследований влияния типа функциональности и ММ на свойства, в данном случае иммуногенную активность. Модификация ОН-групп коммерческих ПЭГ, в препаративном отношении более доступная, не дает столь четких результатов, однако ее целесообразно использовать в тех случаях, когда задачи ограничиваются только прививкой соответствующих функций для их солюбилизации, придания им лучших транспортных свойств, регулирования динамики, совместимости и т. п.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Топчиеva И. Н. // Успехи химии. 1980. Т. 49. № 3. С. 494.
2. Bayer E., Zheng H., Abert K., Geckeler K. // Polymer Bull. 1983. V. 10. № 5. P. 231.
3. Harris J., Struck E., Case M., Pabley M. // J. Polymer Sci. Polymer Chem. Ed. 1984. V. 22. № 2. P. 341.
4. Harris J. // J. Macromolec. Sci. C. 1985. V. 25. № 3. P. 325.
5. Берлин А. А., Королев Г. В., Кефели Т. Я. Акриловые олигомеры и материалы на их основе. М., 1983. С. 16.
6. Rempp P., Franta E. // Advances Polymer Sci. 1984. V. 58. № 1. P. 1.
7. Петров Р. В., Кабанов В. А., Хаитов Р. М., Топчиеva И. Н., Хаустова Л. И., Салинова И. В., Казанский К. С. // Тез. докл. Всесоюз. симпоз. «Перспективы биоорганической химии в создании новых лекарственных веществ». Рига, 1982. С. 23.
8. Peacock J., Krakauer T., Perryman L., Krakauer H. // Cell. Immunol. 1979. V. 43. № 4. P. 384.
9. Кабанов В. А., Петров Р. В., Хаитов Р. М. // ЖВХО им. Менделеева. 1982. Т. 27. № 4. С. 417.
10. Кабанов В. А., Топчиева И. Н., Казанский К. С., Хаитов Р. М., Хаустова Л. И. // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. 1984. № 5. Р. 15.
11. Candau F., Afshar-Taromi F., Fridmann E., Rempp P. // C. R. Acad. Sci. C. 1977. V. 284. № 20. P. 837.
12. Соловьев А. А., Казанский К. С. // Высокомолек. соед. А. 1970. Т. 12. № 9. С. 2114.
13. Allen G., Booth C., Hurst S., Joney M. // Polymer. 1967. V. 8. № 7. P. 391.
14. Топчиева И. Н., Каминский А. Я., Гершкович И. М., Кузнецов А. И. // Вестн. МГУ. Сер. 2. Химия. 1983. Т. 24. № 4. С. 406.
15. Sawamoto M., Furukawa A., Higashimura T. // Proc. of 28th IUPAC Macromolec. Symp. Amherst. 1982. P. 148.
16. Vandenberg E. // J. Polymer Sci. Polymer Chem. Ed. 1972. V. 10. № 10. P. 2887.
17. Соловьев А. А., Казанский К. С. // Высокомолек. соед. А. 1977. Т. 19. № 7. С. 498.
18. Whatley W. // J. Chem. Soc. 1950. № 12. P. 2241.

19. Филиппова О. Е., Кучанов С. И., Топчиеva И. Н., Олоновский А. Н., Халатур П. Г., Плетнёва С. Г. // Высокомолек. соед. А. 1985. Т. 27. № 9. С. 1892.
20. Филиппова О. Е. Дис. ... канд. хим. наук. М.: МГУ, 1985.
21. Пекель Н. Д., Топчиеva И. Н., Мелентьева Т. А. // Журн. общ. химии. 1983. Т. 53. № 4. С. 893.

Институт химической физики  
АН СССР

Поступила в редакцию  
14.V.1986

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

**MONO- AND BIFUNCTIONAL 2,4-DINITROPHENYL DERIVATIVES  
OF POLYETHYLENE OXIDE**

**Kazanskii K. S., Kaminskii A. Ya., Ptitsyna N. V.,  
Romanova V. S., Topchieva I. N.**

**S u m m a r y**

Mono- and bifunctional 2,4-dinitrophenyl derivatives of PEO have been synthesized by two methods: by anionic polymerization of ethylene oxide with subsequent deactivation of «living» polymers with corresponding agents and by substitution of OH groups of commercial PEG. Polymers having M=900-102000 have been identified by UV-spectroscopy, chemical analysis methods and from the molecular mass characteristics. The comparison of two methods of synthesis shows that the first one results in higher final functionality towards 2,4-dinitrophenyl groups. The synthesized polymers have the immunogenic properties.