

УДК 541.64:542.954

© 1990 г. И. Н. Топчиева

**СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛА**

Обзор

ПЭГ растворим в воде, нетоксичен, химически инертен по отношению к биологическим структурам. Эти свойства делают ПЭГ удобной полимерной основой для иммобилизации различных биологически активных соединений. Рассмотрены различные способы введения биологически активных соединений в состав ПЭГ. Традиционным способом является модификация ПЭГ по концевым гидроксильным группам, приводящая к синтезу телехеликов. Обсуждаются подходы к получению телехеликов с высокой функциональностью, основанные на учете реакционной способности концевых гидроксильных групп в ПЭГ и фазового состояния полимеров в растворе. Новым подходом к синтезу ПЭГ является использование реакций свободнорадикального замещения, позволяющих осуществлять введение реакционноспособных групп в качестве боковых в основную цепь полизифиров, что продемонстрировано как на примере гомо-, так и блок-сополимеров окиси этилена. Принципиально иной путь синтеза ПЭГ заключается в проведении анионной полимеризации окиси этилена, позволяющей вводить функциональные группы в качестве стартовых или концевых на стадии инициирования и обрыва цепи. Рассмотрены методы синтеза меченых ПЭГ, а также способы анализа функциональных групп в ПЭГ.

Полимеры, содержащие в своем составе фрагменты биологически активных веществ (БАВ), используют в качестве лекарственных соединений, а также как инструмент для изучения механизма биохимических процессов *in vitro*. В большинстве случаев биологическая активность конъюгатов на основе неионогенных полимеров обусловлена действием низкомолекулярного фрагмента, присоединенного к полимерной цепи [1]. Это объясняется отсутствием взаимодействий между полимерами данного типа и основными биологическими структурами организма и прежде всего клеточными мембранами. Особый интерес представляют биологически активные полимеры, не обладающие собственной биологической активностью, но приобретающие способность воздействовать на биологические мембранны в результате конъюгирования с БАВ [2].

К числу таких полимеров относится ПЭГ, растворимый в воде, нетоксичный, доступный в виде образцов с широким набором ММ. Благодаря тому что реакционноспособные группы ПЭГ расположены на концах полимерной цепи, его важным преимуществом по сравнению с другими водорастворимыми полимерами является возможность получения производных со строго определенной локализацией функциональных групп — телехеликов [3—5]. Наряду с полизифирами, содержащими гидроксильные группы на обоих концах полимерной цепи в качестве исходных веществ могут быть использованы и моноэфиры (МПЭГ), имеющие гидроксильную группу только на одном конце полимерной цепи.

Несмотря на имеющееся в литературе большое число примеров получения производных полиэтиленгликоля (ППЭГ)¹, лишь в немногих случаях после их модификации удается получить ППЭГ с достаточно высокой целевой функциональностью. В связи с этим возникает необходимость

¹ Это сокращение относится как к производным ПЭГ, так и МПЭГ.

изучения реакционной способности гидроксильных групп ПЭГ и способов его функционализации.

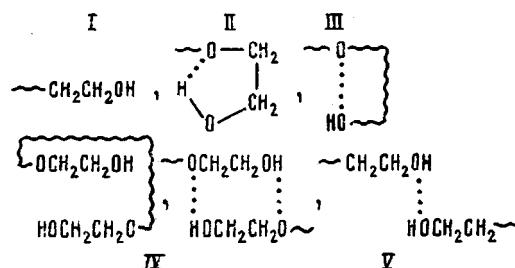
Синтез ППЭГ, обладающих функциональными группами, несущими биологические функции, как правило, осуществляется двумя способами: за счет модификации имеющихся в ПЭГ концевых OH-групп и путем прямой полимеризации (чаще всего анионной) окиси этилена с образованием телехеликов со строго заданным типом функциональности и узким ММР. Используют также реакции свободнорадикального замещения атомов водорода основной цепи с образованием полимеров с функциональными группами в боковой цепи, что было сделано на примере модификации гомо- и блок-сополимеров окиси этилена.

I. РЕАКЦИИ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛА

Гидроксильные группы ПЭГ вступают в обычные для алифатических спиртов реакции. Как правило, они протекают количественно, и некоторые из этих реакций используются для определения ММ [6]. В то же время известно, что при модификации ПЭГ часто образуются ППЭГ с заниженной по отношению к исходному полимеру целевой функциональностью [3, 7]. Наиболее распространенной версией, объясняющей этот эффект, является предположение об уменьшении реакционной способности гидроксильных групп ПЭГ по сравнению с его низкомолекулярными аналогами за счет образования водородных связей (ВС) с атомами кислорода основной цепи. В этой связи представляет интерес рассмотрение типов ВС и ПЭГ и их реакционной способности.

Водородные связи в ПЭГ. Концевые гидроксильные группы ПЭГ могут образовывать несколько типов внутри- и межмолекулярных ВС с атомами кислорода основной цепи [8]. Путем использования набора низкомолекулярных соединений, моделирующих концевые и внутренние фрагменты полимерной цепи, методом ИК-спектроскопии были изучены все типы взаимодействия гидроксильной группы с атомами кислорода О—Н...О [8].

В разбавленных растворах ПЭГ в отсутствие межмолекулярных взаимодействий можно выделить четыре формы, в которых находится гидроксильная группа ПЭГ: 1) свободная OH-группа, максимум поглощения которой находится при 3640 см^{-1} (I); 2) OH-группа, связанная во внутримолекулярный пятичленный цикл с $\lambda_{\max}=3605 \text{ см}^{-1}$ (II); 3) OH-группа, связанная во внутримолекулярные циклы с числом входящих в них атомов ≥ 8 с $\lambda_{\max}=3480 \text{ см}^{-1}$ (III); 4) форма образуется в результате взаимодействия гидроксильных групп с атомами кислорода собственной или соседней полимерной цепи с $\lambda_{\max}=3450 \text{ см}^{-1}$ (IV). При увеличении концентрации ПЭГ в растворе может быть выделен еще один тип H-связей, образующихся в результате самоассоциации OH-групп типа OH...OH, поглощение которых наблюдается при $\lambda_{\max}=3510 \text{ см}^{-1}$ (V) [9].



Реакционная способность ПЭГ в реакциях замещения и присоединения. Впервые вопрос о взаимосвязи между активностью OH-групп ПЭГ с их способностью к образованию внутри- и межмолекулярных ВС был изучен в работах Энтелиса с сотр. [10–12] и Липатовой с сотр. [13] на примере взаимодействия ПЭГ с изоцианатами. Представление о различии в реакционной способности указанных выше форм ВС в ПЭГ, соотноше-

ние между которыми зависит от ММ, позволило объяснить экстремальные зависимости константы скорости реакции от ММ [14, 15]. В тех случаях когда химическая модификация проводится в растворе, содержащем в качестве растворителей простые эфиры [15], или в масле [16], отклонений от принципа Флори не наблюдается.

Систематические количественные исследования реакционной способности всех типов Н-комплексов в растворах ПЭГ приведены в работе [17] на примере реакции бензоилирования. Было показано, что в инертных растворителях реакционная способность ПЭГ определяется только внутримолекулярно связанными в пятичленных циклах ОН-группами (форма II), причем константа скорости реакции этой формы в 30 раз превышает значение соответствующих констант для других типов Н-связей. Поскольку доля пятичленных циклов в высокомолекулярных ПЭГ одинакова, для данной реакции наблюдается выполнимость принципа Флори. В то же время сравнение реакционной способности ПЭГ с его низкомолекулярным аналогом – этоксиэтанолом показывает, что суммарные константы скорости реакции бензоилирования ПЭГ оказываются в ~2 раза ниже, чем для модельных соединений. Анализируя данные по реакционной способности ПЭГ различных ММ, можно заключить, что интервал изменений наблюдаемых констант скорости, отражающий влияние ВС на активность ОН-групп, невелик и не превышает одного порядка. Таким образом, лишь влиянием ВС на реакционную способность гидроксильных групп нельзя объяснить низкие степени замещения при проведении химической модификации ПЭГ.

Влияние фазового состояния ПЭГ на реакционную способность гидроксильных групп. Гораздо большее влияние на реакционную способность в органических растворителях оказывает ограниченная растворимость ПЭГ и их способность кристаллизоваться из разбавленных растворов [18]. Как известно, формирование упорядоченных элементов твердого тела начинается уже в растворе и проявляется в возникновении агрегатов макромолекул, входящих в состав надмолекулярных структур, реакционная способность которых должна существенно отличаться от их активности в гомогенных растворах. Следует отметить, что даже в водных растворах ПЭГ обнаружено два типа ассоциатов – кристаллиты и микрогелевые частицы, хотя доля этих надмолекулярных структур очень мала и составляет несколько процентов [19]. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что при выборе условий проведения химической модификации ПЭГ авторы не учитывали возможность кристаллизации полимера.

Таким образом, физический фактор, а именно процессы кристаллизации ПЭГ в органических растворителях, являются главной причиной, объясняющей низкую функциональность ППЭГ. Для предотвращения этого процесса химическую модификацию ПЭГ необходимо проводить в разбавленных растворах (до 10^{-2} моль/дм³), что неудобно в препартивном отношении. Избежать нежелательного действия физических факторов позволяет проведение реакции в отсутствие растворителя, в расплаве. Этому благоприятствует низкая температура плавления ПЭГ, составляющая 329–336 К. Высокая концентрация реагирующих веществ в расплаве дает возможность существенно увеличить скорость реакции и тем самым сохранить неизменными молекулярно-массовые характеристики полимера. Этим способом были успешно осуществлены реакции ацетилирования, бензоилирования и динитрофенилирования [20].

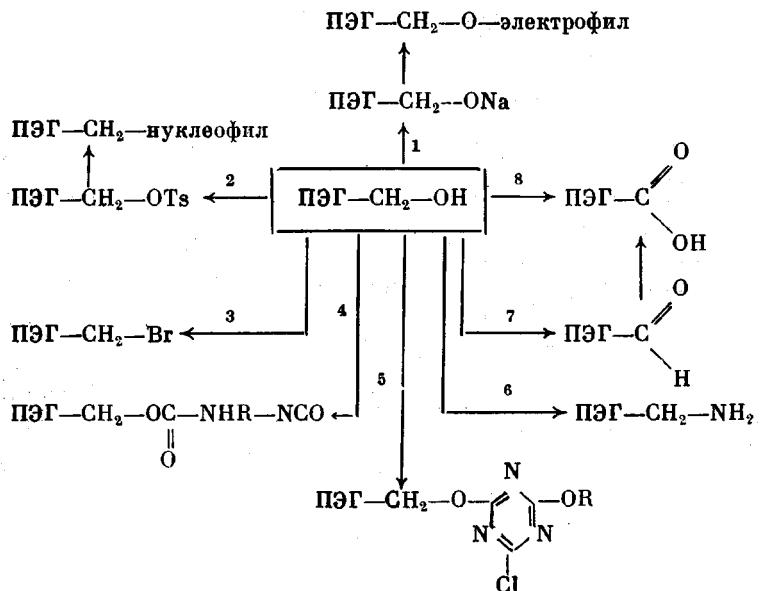
Наряду с выбором способа проведения химической модификации важную роль играет выбор последовательности химических реакций, приводящих к синтезу тех или иных ППЭГ.

Стратегия синтеза производных ПЭГ методом химической модификации. Наиболее общими требованиями к синтезу ППЭГ является выбор мягких условий проведения реакций, позволяющих получать ППЭГ без деструкций основной цепи и с высокими степенями замещения. Эти синтетические приемы заимствованы из химии природных соединений.

Одной из наиболее распространенных реакций присоединения биологически активных соединений к ПЭГ является реакция этерификации.

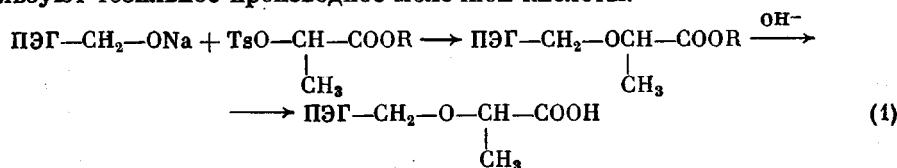
Для ее успешного осуществления используют два подхода: активацию гидроксильной группы ПЭГ, достигаемую переводом ее в производные с хорошими уходящими группами, такой, например, как тозилатная, и последующее взаимодействие с карбоновыми кислотами; и активацию карбоксильного компонента и последующую реакцию с OH-группой ПЭГ. В последнем случае используются взаимодействие с хлорангидридами [21, 22], реакций переэтерификации [23] или прямое присоединение с помощью дициклогексилкарбодиимида (ДЦК) [24–26]. Функциональность полученных продуктов, зависящая от используемого компонента, как правило, существенно ниже теоретической [3, 4]. В работах по этерификации ПЭГ различными кислотами в присутствии ДЦК [7] было показано, что реакция протекает количественной при использовании в качестве катализатора 4-диметил-аминопиридина и оксибензотриазола.

Переходя к получению других ППЭГ, можно воспользоваться рядом хорошо зарекомендовавших себя путей синтеза, многие из которых подробно описываются в обзоре [27]:



1. Синтез алкоголятов ПЭГ осуществляется при действии на полимер металлического натрия [28, 29], натрийнафтилового комплекса [30], гидрида натрия [31] или BuLi [32]. При действии на алкоголяты различных электрофильных агентов (алкил- или арилгалогенидов, тозилатов) образуются простые эфиры.

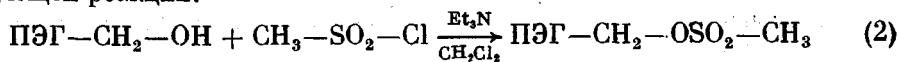
Оригинальный способ получения карбоксипроизводных ПЭГ этим способом предложен в работе [33]. В качестве электрофильного реагента используют тозильное производное молочной кислоты.



На первой стадии реакции образуется ППЭГ, содержащее в качестве концевой группы эфир молочной кислоты, последующий гидролиз которого приводит к образованию ПЭГ-COOH.

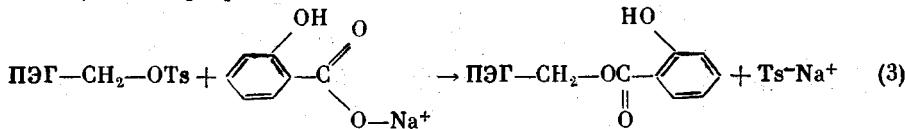
2. Тозилаты алифатических спиртов являются хорошими уходящими группами в реакциях нуклеофильного замещения. Поэтому для получения ППЭГ часто используют их реакции с алкоголятами, аминами и карбоновыми кислотами. Наиболее мягким способом получения ПЭГ-CH₂-OTs является взаимодействие ПЭГ-CH₂-ONa с TsCl [31, 32]. Более устойчивыми при хранении оказались мезилаты, образующиеся по

следующей реакции:

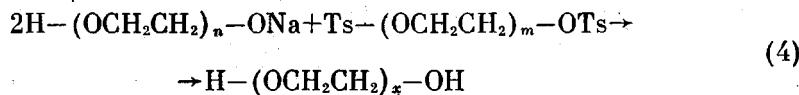


Сравнительное изучение реакционной способности тозилатов и метилатов ПЭГ в реакциях нуклеофильного замещения показало, что лучшей уходящей группой является последняя [31].

Примером успешного введения биологически активного фрагмента в состав макромолекулы ПЭГ с помощью ПЭГ-CH₂-OTs является синтез ПЭГ-салицилатов [23]

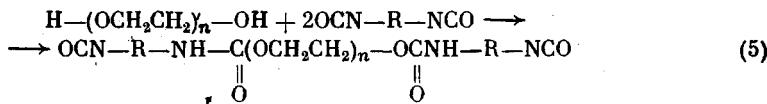


В работе [34] для получения монодисперсных ПЭГ использовали реакцию Вильямсона, протекающую с участиемmonoалкоголята ПЭГ и ПЭГ-CH₂-OTs. На каждой стадии синтеза monoалкоголят олигоэтиленгликоля реагировал с дитозилатом того же самого олигомера

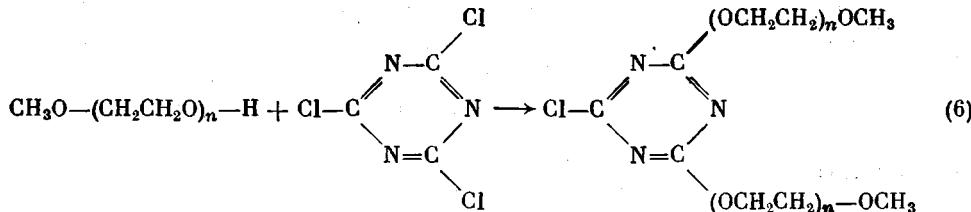


3. Удобным промежуточным продуктом, использующимся для синтеза сульфокислот и аминопроизводных ПЭГ, являются галоидпроизводные [35]. Наиболее широко применяют ПЭГ-CH₂-Br, отличающийся как своей высокой активностью в реакциях нуклеофильного замещения, так и устойчивостью при хранении.

4. ППЭГ, содержащие изоцианатные группы, используются в качестве преполимеров при синтезе блок-сополимеров или в качестве промежуточных реакционноспособных соединений для конъюгирования ПЭГ с аминами, карбоновыми кислотами, спиртами и т. п. Синтез ПЭГ-NCO осуществляется путем конденсации ПЭГ диизоцианатами [36]



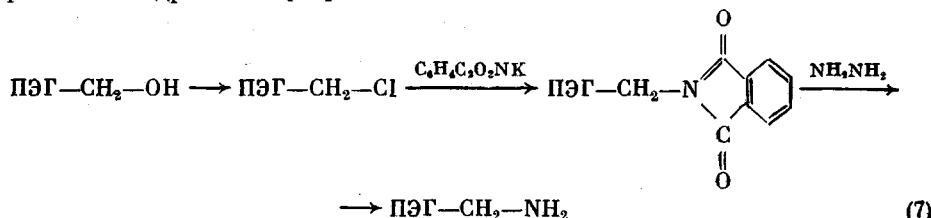
5. Взаимодействие ПЭГ с цианурхлоридом или его замещенными является способом введения в состав ПЭГ реакционноспособного галоида. Поскольку молекула цианурхлорида содержит три атома хлора, для осуществления синтеза ППЭГ, содержащего только один атом хлора, разработан следующий метод синтеза ди-ПЭГ-реагента:



Этот реагент используют далее для конденсации с NH₂-группами белков [37]. В других случаях вместо цианурхлорида используют реагент, в котором один атом хлора замещен на гидроксильную или алcoxильную группу. В таком случае при их конденсации с монофункциональным ПЭГ получают моно-ПЭГ-реагент [38].

6. Во многих случаях при синтезе ППЭГ в качестве ключевого соединения используют ПЭГ-CH₂-NH₂. Существует несколько методов получения последнего. Один из них основан на взаимодействии ПЭГ-галогенидов с фталимидом калия и последующем удалении фтаильной группы

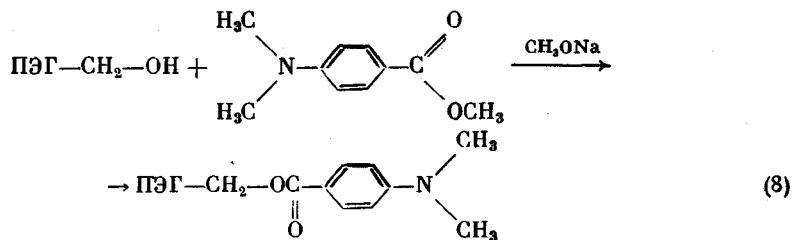
обработкой гидразином [39]:



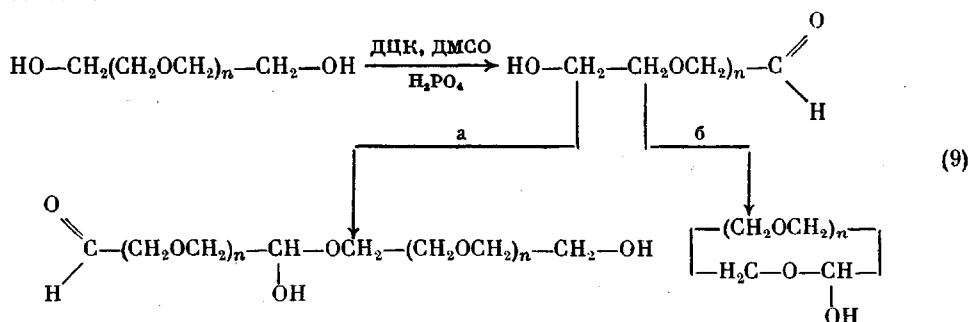
Синтез ПЭГ-CH₂-NH₂, исходя из ПЭГ-галогенидов, можно проводить также путем их конденсации с низкомолекулярными диаминами [29, 40, 41]. Разновидностью этого метода является гидразинолиз фталимидного ППЭГ, полученного при взаимодействии ПЭГ-CH₂-ONa с N-(2-брометил)фталимидом [42].

В работе [1] отдается предпочтение другому методу, включающему в качестве промежуточного соединения ПЭГ-CH₂-N₃, получаемого из ПЭГ-CH₂-Cl действием азота натрия. Восстановление ПЭГ-CH₂-N₃ до ПЭГ-CH₂-NH₂ происходит в результате катализитического гидрирования. В качестве промежуточного соединений для синтеза ПЭГ-CH₂-NH₂ используют также ПЭГ-CH₂-NCO [43].

Третичные аминогруппы можно вводить, используя реакцию перерганификации, применяя, например, в качестве реагента метиловый эфир N,N-диметиламинобензоата и метилат натрия в качестве катализатора [23]

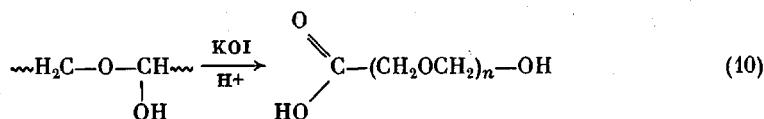


7.8. Общим способом получения карбонилсодержащих ППЭГ служит окисление гидроксильных групп. Побочно протекающие процессы деструкции и образования комплексов между металлами, входящими в состав окислителя, и полимерной цепью ПЭГ затрудняет получение ППЭГ с исходным ММР и выделение конечных продуктов. Тем не менее оптимизация условий реакции и использование эффективных способов очистки образующихся продуктов (экстракция, хроматография) позволяют получить ПЭГ-CHO, используя в качестве окислителей пиридинийхлорхромат [44] и систему ДМСО — уксусный ангидрид [31]. Интересно, что если в качестве окислительной системы использовать смесь, содержащую ДМСО—ДЦК—o-фосфорную кислоту (реакция Пфицнера — Морфата), то продуктом реакции является ППЭГ, содержащий полуацетальные связи [45]. Эта реакция оказалась удобным методом синтеза циклических ППЭГ:



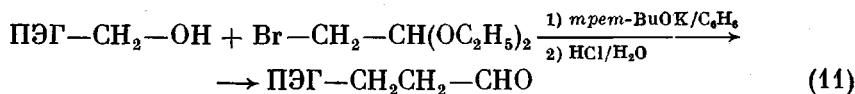
Дальнейшее окисление ППЭГ, содержащих полуацетальные связи,

типоидидом калия позволяют получать α -карбокси- ω -окси-ПЭО

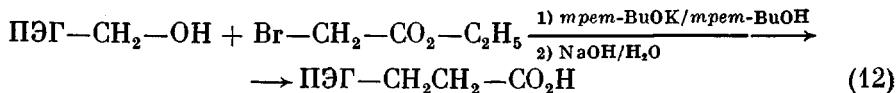


Легко расщепляемую полуацетальную группировку в ППЭГ можно рассматривать как защитную группу, предотвращающую полное окисление ПЭГ до соответствующего диальдегида. В работе [46] описан мягкий способ перевода ПЭГ—СНО в ПЭГ—COOH, использующий в качестве окислителя перекиси водорода.

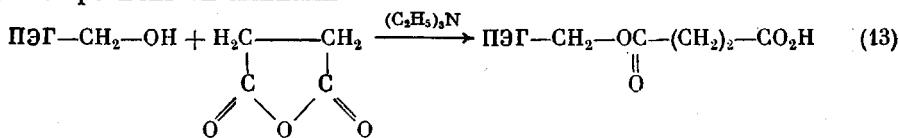
Вторая группа методов получения ППЭГ, содержащих карбоксильные группы, основана на взаимодействии ПЭГ с производными альдегидов или кислот с защищенными карбонильными группами и последующим гидролитическим отщеплением защитных групп. К их числу относится конденсация ПЭГ с диэтилацеталем бромацетальдегида [31]



Аналогичный подход позволяет получить ПЭГ—COOH, используя в качестве реагента этиловый эфир бромуксусной кислоты [47]

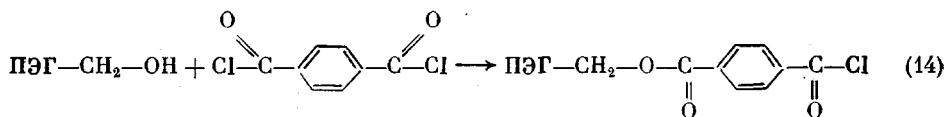


Для получения ПЭГ—COOH широко применяется реакция конденсации ПЭГ [1] или ПЭГ—CH₂—NH₂ [29] с янтарным ангидридом при катализе третичными аминами



Использование катализитических количеств диметиламинопиридина позволяет проводить эту реакцию в мягких условиях [3]. При проведении дальнейших реакций с участием ПЭГ—COOH, чаще всего амидирования, карбоксильную группу активируют, переводя ее, например, в N-оксисукцинимидный эфир [28].

В работе [48] описан способ прямого введения активированных карбонильных производных — хлорангидридных групп в состав ПЭГ:



Эта же задача может быть решена путем использования α , ω -дихлорформиатов, получаемых при взаимодействии ПЭГ с фосгеном [49].

Перечень ППЭГ, полученных методами химической модификации, представлен в табл. 1.

II. СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ ПЭГ МЕТОДОМ АНИОННОЙ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ

Функциональные ППЭГ с одной или двумя концевыми группами различной химической природы могут быть получены методами анионной полимеризации окиси этилена, протекающей по механизму «живых цепей». Функционализация полимерной цепи может проходить либо на стадии инициирования, либо дезактивации активных центров.

Таблица 1

Производные ПЭГ, полученные методом химической модификации

Концевая группа ППЭГ	Используемые реагенты, катализатор	Лите-ратура
$\text{CH}_3\text{C}-$ O	$(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O}$	[6]
$\text{CCl}_3\text{C}-$ O	$\text{CH}_3\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК CCl_3COCl CCl_3COOH , ДЦК	[16] [26]
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{C}-$ O	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{C}-$ O	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{C}-$ O	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{C}-$ O	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{C}-$ O	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{C}-$ O	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{C}-$ O	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{C}-$ O	$\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$(\text{CH}_3(\text{CH}_2)\text{CH}=\text{CH})_3(\text{CH}_2)_7\text{C}-$ O	$\text{C}_{35}\text{H}_{56}\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$\text{C}_6\text{H}_5\text{C}-$ O	$\text{C}_6\text{H}_5\text{C}(\text{Br})-\text{O}$	[20]
$\text{BrCH}_2\text{C}-$ O	$\text{C}_6\text{H}_5\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$\text{ICH}_2\text{C}-$ O	$\text{BrCH}_2\text{C}(\text{OH})-\text{O}$, ДЦК	[26]
$\text{HO}-\text{CCH}_2\text{C}(=\text{O})-$ $\text{O}-\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$ HO	$\text{HO}-\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-\text{O}$, ДЦК $\text{HO}-\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-\text{O}$, ДЦК	[26] [26]

Таблица 1 (продолжение)

Концевая группа ППЭГ	Используемые реагент, катализатор	Литература
		[1, 29]
		[50]
		[26]
		[26]
БОК-гис(Н-им-Тз)		[7]
БОК-сер(OВал)		[7]
БОК-Apr(NO ₂)		[7]
БОК-Тир(2,6-ди-ClВал)		[7]
БОК-Три		[7]
БОК-Асн		[7]
БОК-Гли		[7]
БОК-Ала		[7]
		[21]

Таблица 1 (продолжение)

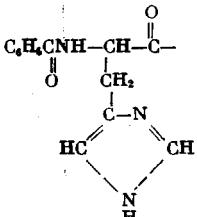
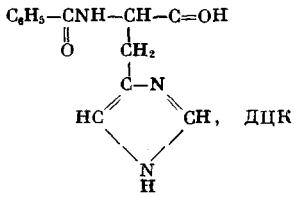
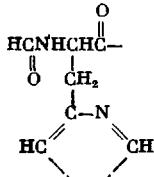
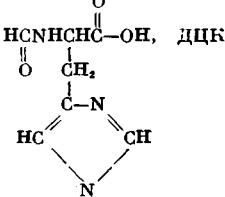
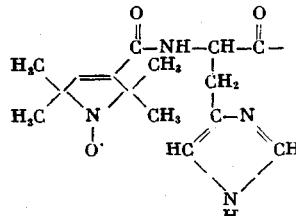
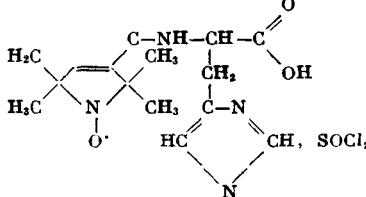
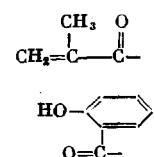
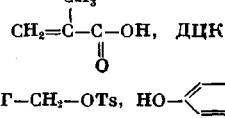
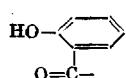
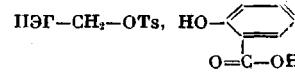
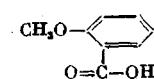
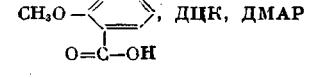
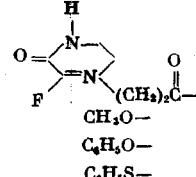
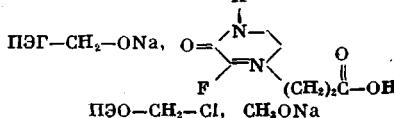
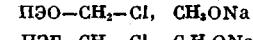
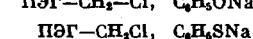
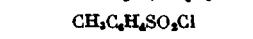
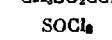
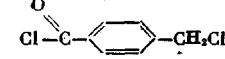
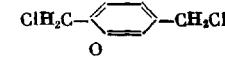
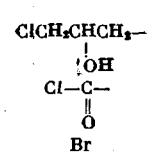
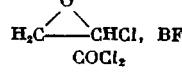
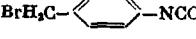
Концевая группа ППЭГ	Используемые реагент, катализатор	Лите- ратура
		[24]
		[25]
		[25]
		[51]
		[23]
		[3]
		[52]
		[53]
		[54]
		[55]
		[31, 32, 38, 56]
		[31]
		[57]
		[30]
		[30]
		[58] [48]
		[34]
		[55]

Таблица 1 (продолжение)

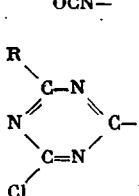
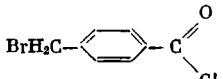
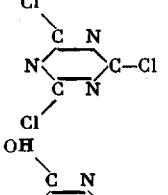
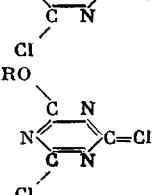
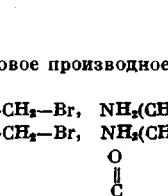
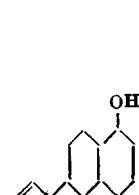
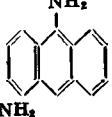
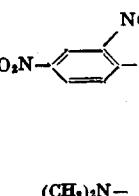
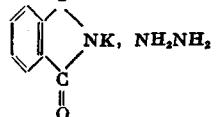
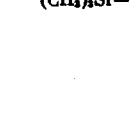
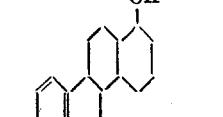
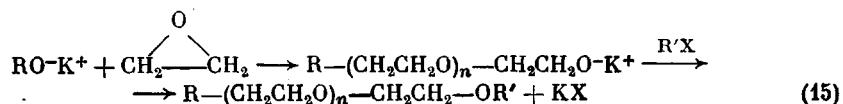
Концевая группа ППЭГ	Используемые реагент, катализатор	Лите-ратура
$\text{--O}_2\text{S--}$ HS-- OCN-- 	 ПЭГ-CH ₂ Br, Na ₂ SO ₃ ПЭГ-CH ₂ Br, KSH OCN-C ₆ H ₄ -NCO OCN-(CH ₂) ₆ -NCO	[30] [34] [58] [35]
 	  	[37] [38] [38]
 	ПЭГ-триазиновое производное,  ПЭГ-CH ₂ -Br, NH ₂ (CH ₂) ₂ NH ₂ ПЭГ-CH ₂ -Br, NH ₂ (CH ₂) ₂ NH ₂	[37] [28, 43] [40]
 	ПЭГ-CH ₂ -Br,  ПЭГ-CH ₂ -OTs, NaN ₃ , Pd/C ПЭГ-CH ₂ -Br, NaN ₃ , Pd/C ПЭГ-CHO, NH ₃ , NaCNBH ₃	[39] [3] [31]
 	ПЭГ-CH ₂ -NH ₂ ,  ПЭГ-CH ₂ -NH ₂ , O ₂ N-C ₆ H ₄ -F	[40] [43]
 	O ₂ N-C ₆ H ₄ -F (CH ₂) ₂ N-C ₆ H ₄ -C(=O)-OCH ₃	[59] [23]
 	ПЭГ-CH ₂ -Br, (CH ₂) ₂ N	[35]
 	(CH ₂) ₂ Si-Si(CH ₃) ₃ , (CH ₂) ₂ Si-Cl	[56]

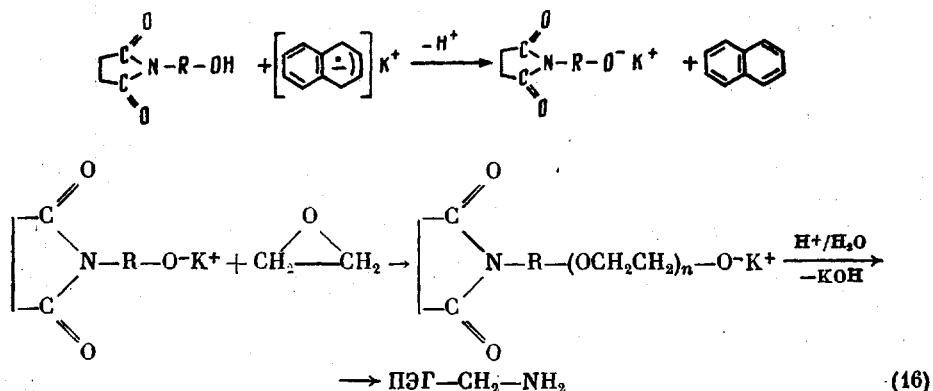
Таблица 1 (окончание)

Концевая группа ППЭГ	Используемые реагент, катализатор	Литература
		[60]
		[61]
		[60]
		[61]
	MnO2 BrCH2CH(OCH3)2 DMCO-(CH2CO)2O Cr2O3 - пиридин	[46] [31] [31] [44]
		[3]
		[28]
		[29]
	KMnO4 ПЭГ-CHO, H2O2 ПЭГ-ONa, TsO-CH-COOR	[61] [47] [32]
		[48]
	ПЭГ-C(=O)-OC2H5, CH3MgI	[28]
	ПЭГ-C(=O)-Cl,	[49]

Введение функциональных групп на стадии инициирования. Общую схему функционализации ПЭГ в процессе полимеризации окиси этилена при инициировании алкоголятами можно представить следующим образом:

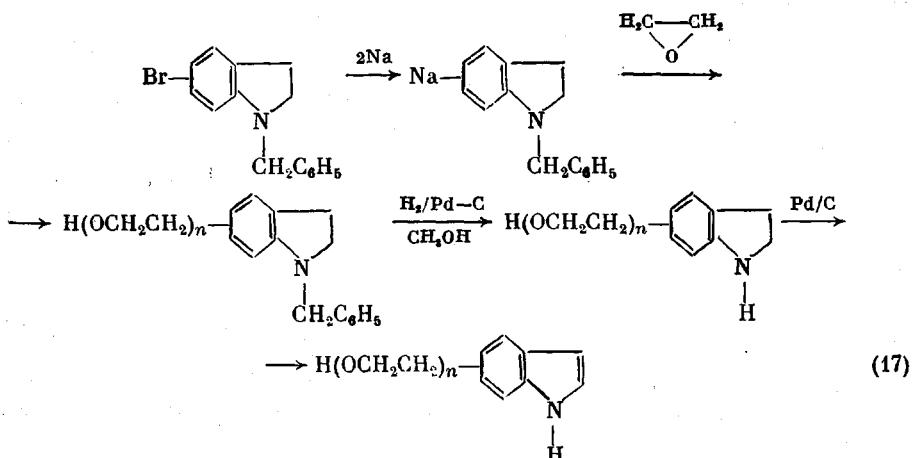


Введение некоторых реакционноспособных групп в состав ППЭГ требует их предварительной защиты. Например, для получения ПЭГ-CH₂-NH₂ в качестве инициатора используют аминоспирт, который вначале сукцинилируют по аминогруппе, а затем металлируют по гидроксильной [30]. Синтез ПЭГ-CH₂-NH₂ проходит по следующей схеме:



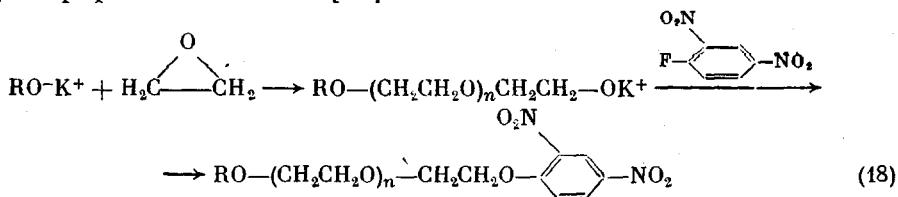
Снятие защиты проводят обработкой полимера щелочью.

При синтезе индолсодержащих ППЭГ [62] вначале при получении инициатора вторичную аминогруппу в индолине переводят в N-бензилиндинолин, а затем получают Na-органическое соединение действием металлического натрия. Снятие защиты в полученном индолинсодержащем полимере осуществляют катализитическим гидрированием. Для перевода индолиновой группы, входящей в состав ППЭГ, в индольную проводится высокотемпературная катализитическая ароматизация



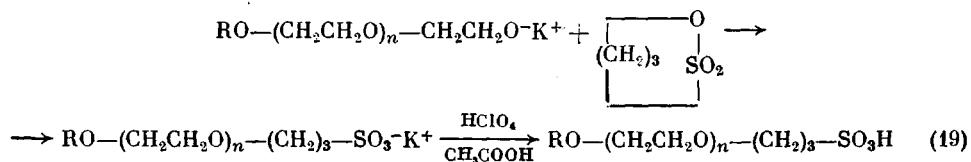
Введение функциональных групп на стадии обрыва цепи. Другой прием, используемый для получения ППЭГ, состоит в проведении полимеризации окиси этилена под действием традиционных анионных инициаторов, причем введение функциональных групп осуществляется на стадии дезактивации после завершения процесса. Таким путем осуществлен син-

тез динитрофенильных ППЭГ [63]



Для получения бифункциональных ППЭГ в качестве инициатора используют алкоголяты гликолей, а для монофункциональных — алкоголяты моноэфиров этиленгликоля.

Для получения ППЭГ, содержащих на конце сульфогруппу, в качестве дезактиватора используют 1,3-пропансульфон [30]:

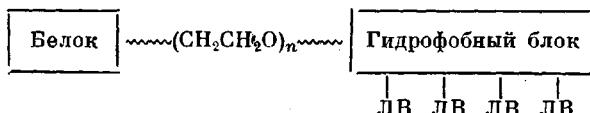


Как видно из схем (18) и (19), при введении функциональных групп на стадии обрыва цепей роль реакционноспособных ППЭГ выполняют ПЭГ-алкоголяты, которые могут быть получены также из ПЭГ по способу 1 (см. раздел I). Преимущество рассматриваемого метода анионной полимеризации состоит в том, что он по сравнению с методом химической модификации ПЭГ имеет гораздо большие возможности для получения высокомолекулярных ППЭГ с функциональностью, близкой к теоретической. Одновременное введение функциональных групп в начальную и конечную группу при полимеризации окиси этилена позволяет осуществить одностадийный синтез уникальных по свойствам ППЭГ. Такой подход был использован для синтеза иодсодержащих ППЭГ, которые после обмена на радиоактивный ^{125}I успешно использовали для исследования их динамики в организме [64].

Сравнивая метод анионной полимеризации окиси этилена, обеспечивающий высокую эффективность инициирования, стабильность активных центров до конца процесса, их высокую реакционную способность при взаимодействии с дезактиваторами и позволяющий получать ППЭГ с заданной функциональностью и ММ, с реакциями химической модификации ОН-групп ПЭГ, можно видеть, что полимеризационный метод более пригоден для получения телехеликов на основе ПЭГ, особенно для синтеза ППЭГ с высокими ММ.

Перечень ППЭГ, полученных анионной полимеризацией, приведен в табл. 2.

Использование блок-сополимеров на основе окиси этилена для иммобилизации лекарственных веществ. В последние годы большие надежды исследователей связаны с возможностью использования полимеров окиси этилена для создания лекарств нового поколения, так называемых лекарств-снарядов. Этот термин означает, что лекарство ковалентно присоединяют или инкапсулируют в составе транспортного средства, направляющего и доставляющего его к органам-мишеням. В качестве векторов, обеспечивающих направленный транспорт лекарств, обычно используют иммуноглобулины. Один из способов конструирования таких лекарств состоит в образовании его коньюгата, содержащего также и вектор с полимером-носителем [69]:



Полимер-носитель должен удовлетворять ряду требований, в том числе быть растворимым в воде, обладать дифильным строением, содержать

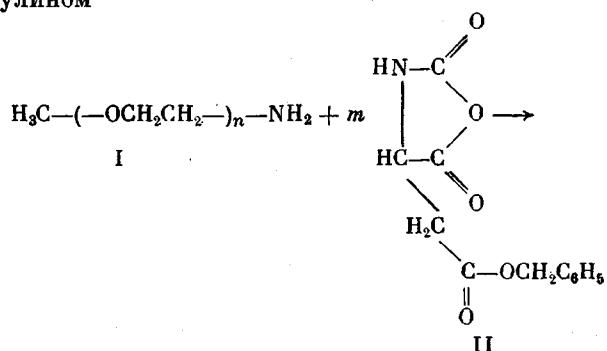
Таблица 2

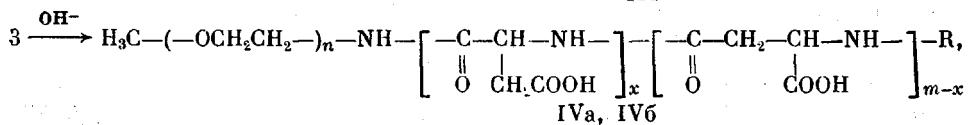
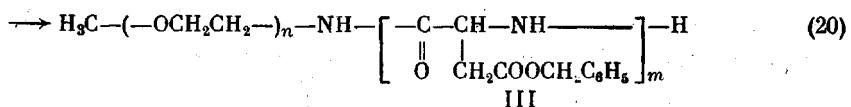
Производные ПЭГ, полученные методом полимеризации окиси этилена

Концевая группа ПЭГ	Инициатор	Дезактиватор	Лите-ратура
2,4-Динитрофенильная	$\text{C}_6\text{H}_4\text{O}^-\text{K}^+$		[64, 65]
Флуоренильная		H_2O	[66]
Холестерильная		H_2O	[67]
Индоильная		H_2O	[63]
4-Бензолазобензильная	$\text{C}_6\text{H}_5\text{N}=\text{NC}_6\text{H}_4(n)\text{CH}_2\text{O}^-\text{K}^+$	H_2O	[68]
Аминогруппа		H_2O	[30]
Диметиламиногруппа	$(\text{CH}_3)_2\text{NCH}_2\text{O}^-\text{K}^+$	H_2O	[30, 43]
Сульфогруппа	RO^-K^+		[30]
Хлорметильная	RO^-K^+		[30]
Винильная	$(\text{CH}_3)_3\text{N}$	H_2O	[69]

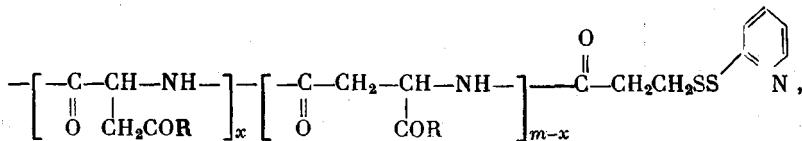
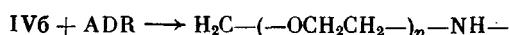
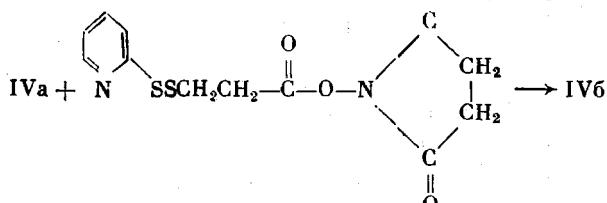
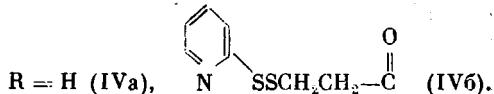
в гидрофобной части реакционноспособные группы для присоединения лекарственного вещества (ЛВ).

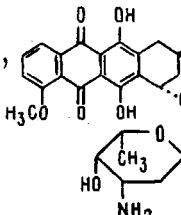
В качестве примера приведем синтез противоракового препарата — адриамицинсодержащего поли(этиленоксид)-блок-поли(аспарагиновой кислоты) [5], который авторы в дальнейшем предполагают конъюгировать с иммуноглобулином





где



где $R=OH$, ; ADR – адриамицин.

В приведенном выше примере ПЭГ–NH₂ используется в качестве макроинициатора полимеризации N-карбоксиангидрида эфира аспарагиновой кислоты.

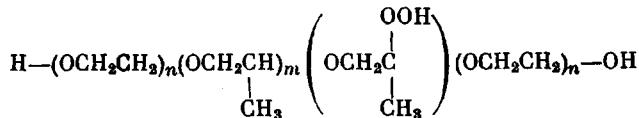
III. ВВЕДЕНИЕ РЕАКЦИОННОСПОСОБНЫХ ГРУПП В КАЧЕСТВЕ БОКОВЫХ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ В ОСНОВНУЮ ЦЕПЬ ПОЛИЭФИРОВ

Выше рассматривали реакции, приводящие к получению телехеликов. Альтернативная возможность синтеза функционализированных ППЭГ – введение реакционноспособных групп в качестве боковых в основную полимерную цепь. Предпосылками для проведения таких исследований являются данные по термоокислительной деструкции простых полизифиров, свидетельствующие о том, что первичными продуктами этого процесса являются гидроперокси – производные, в которых функциональные группы присоединены к основной цепи.

В работе [70] был развит метод селективного введения гидропероксигрупп (ГПГ), не сопровождающегося реакциями деструкции, путем использования реакции фотосенсибилизированного окисления в присутствии бензофенона. Сравнение функциональности продуктов окисления ПЭГ и полипропиленгликоля показало, что в последнем случае содержание ГПГ в полимере на порядок выше, что согласуется с представлениями о преимущественной атаке третичного атома углерода в радикальных процессах.

Этот же метод был применен для получения ГП-производных блок-сополимеров окиси этилена и пропилена, в которых ГП была локализо-

вана в полипропиленоксидном блоке



ГП-производное было использовано в качестве ключевого интермедиата для получения конъюгатов с белками [70]. С этой целью проводили реакцию окислительно-восстановительного распада ГП-группы, продуктом которого является аллоксильный макрорадикал, способный присоединяться к двойным связям белков, ацилированных непредельными жирными кислотами. Для синтеза конъюгатов, содержащих одновременно БАВ и белок, могут быть использованы также и концевые гидроксильные группы полиэфиров.

Дальнейшее развитие работ по изучению реакций свободнорадикального замещения с привлечением инициаторов радикальной полимеризации открывает перспективы для получения реакционноспособных полиэфиров нового типа.

IV. СИНТЕЗ МЕЧЕНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ И АНАЛИЗ КОНЦЕВЫХ ГРУПП ППЭГ

Использование ППЭГ в биологических и медицинских исследованиях требуют разработки чувствительных методов их обнаружения. С этой целью в состав ПЭГ вводят метки — спиновую, флуоресцентную или изотопную. Кроме этого, меченные ППЭГ дают богатую информацию о взаимодействии ППЭГ с другими макромолекулами или фрагментами биополимеров [71].

Синтез меченных ППЭГ осуществляют этерификацией ПЭГ карбоновыми или аминокислотами, содержащими нитроксильные радикалы [21, 22, 25]. В работе [72] введение спиновой метки проводили путем восстановительного аминирования, исходя из ПЭГ — СНО.

Получение флуоресцентно меченных ППЭГ проводят по реакциям между флуоресценцизотиоцианатом и ПЭГ [60].

При определении функциональности ППЭГ в зависимости от типа концевых групп используют различные методы, к числу которых относятся методы ИК- и УФ-спектроскопии [63] и неводного титрования [30]. Универсальным методом для определения функциональности ППЭГ является использование ЯМР ^{13}C [73]. Метод основан на том, что хим. сдвиг атома C_α полимерной цепи $X - \underset{\alpha}{\text{CH}_2} \underset{\beta}{\text{CH}_2} \text{O} - (\text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{O})_n - \underset{\beta}{\text{CH}_2} \underset{\alpha}{\text{CH}_2} - X$ меняется в

диапазоне 2–62 м.д. при замещении концевой гидроксильной группы. Изменение хим.сдвига для C_β существенно меньше (71–73 м.д.). В спектрах ЯМР ^1H эффекты замещения проявляются гораздо слабее [74]. Метод ЯМР ^{13}C успешно используют для анализа ППЭГ с ММ вплоть до 6000.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Платэ Н. А., Васильев А. Е. Физиологически активные полимеры. М., 1986. С. 12.
2. Топчиеva И. Н., Хаустова Л. И., Пименова Г. Н. // Иммунология. 1986. Т. 1. С. 39.
3. Zalipsky S., Gilon C., Zilkha A. // Europ. Polymer J. 1983. V. 19. № 12. P. 1177.
4. Топчиеva И. Н. // Успехи химии. 1980. Т. 49. № 3. С. 494.
5. Yokoyama M., Inoue S. // Makromolek. Chem. Rapid. Commun. 1987. B. 8. № 3. S. 431.
6. Gallin I. C., Gallin M., Calme P. // Makromolek. Chem. 1970. B. 143. № 2. S. 273.
7. Zalipsky S., Gilon C., Zilkha A. // J. Macromolec. Sci. Chem. 1984. V. 21. № 6/7. P. 839.
8. Filippova O. E., Kuchanov S. I., Topchieva I. N., Kabanov V. A. // Macromolecules 1985. V. 18. № 12. P. 1628.
9. Huggins C. M., Pimentel G. C. // J. Phys. Chem. 1956. V. 60. № 12. P. 1615.
10. Энгелис С. Г., Нестеров О. В. // Кинетика и катализ. 1966. Т. 7. № 3. С. 464.
11. Тигер Р. П., Бехли Л. С., Бондаренко С. П., Энгелис С. Г. // Журн. орган. химии. 1973. Т. 9. № 8. С. 1653.
12. Энгелис С. Г., Тигер Р. П. Кинетика реакций в жидкой фазе. Количественный учет влияния среды. М., 1973. С. 416.
13. Липатова Т. Э., Бакало Л. А. // Кинетика и механизм образования полимеров. Под ред. Липатовой Т. Э. Киев, 1977. С. 76.

14. Комратова В. В., Григорьева В. А., Батурина С. М., Энгелис С. Г. // Высокомолек. соед. А. 1975. Т. 17. № 3. С. 633.
15. Rauterkus K. I., Schimmel H. G., Kernn W. // Makromolek. Chem. 1961. В. 50. № 1. С. 166.
16. Wissman H. G., Rand L., Frisch K. C. // J. Appl. Polymer Sci. 1964. V. 8. № 6. Р. 2971.
17. Filippova O. E., Topchieva I. N., Kuchanov S. I., Kuzaev A. I. // J. Macromol. Sci. Chem. 1986. V. 23. № 10. Р. 1195.
18. Мандельберг Л. Кристаллизация полимеров. М., 1968. С. 83.
19. Polick W. F., Burchard W. // Macromolecules. 1983. V. 16. № 6. Р. 978.
20. Filippova O. E., Topchieva I. N., Kuchanov S. I. // Polymer Bull. 1986. V. 15. № 3. Р. 275.
21. Törmala P., Martinmaa J., Silvenninen K., Vaantero K. // Acta Chem. Scand. 1970. V. 24. № 8. Р. 3066.
22. Шапиро А. Б., Баймагамбетов К. А., Гольдфельд М. Г., Розанцев Е. Г. // Журн. орган. химии. 1972. Т. 8. № 11. С. 2263.
23. Bailey D., Tirrell D., Vogl O. // J. Macromol. Sci. Chem. 1978. V. 12. № 5. Р. 661.
24. Топчиева И. Н., Соловьев А. Б., Курганов Б. И., Кабанов В. А. // Высокомолек. соед. А. 1972. Т. 14. № 4. С. 825.
25. Топчиева И. Н., Пекер Г. Ф., Постникова Г. Б., Курганов Б. И. // Высокомолек. соед. А. 1973. Т. 15. № 9. С. 2153.
26. Johansson G. // Biochim. Biophys. Acta. 1976. V. 451. № 2. Р. 517.
27. Harris J. M. // J. Macromol. Sci. C. 1985. V. 25. № 3. Р. 325.
28. Anzinger H., Mutter M. // Polymer Bull. 1982. V. 6. № 11/12. Р. 595.
29. Buckmann A. F., Morr M. // Makromolek. Chem. 1984. В. 182. № 7. С. 1379.
30. Royer G. P., Anantharamiah G. M. // J. Amer. Chem. Soc. 1976. V. 101. № 11. Р. 3394.
31. Sepulchre M., Paulis G., Jerome R. // Makromolek. Chem. 1983. В. 184. № 8. С. 1849.
32. Harris J. M., Struck E. S., Case M. G., Paley M. S., Yalpani M., van Alstine J. M., Brooks D. E. // J. Polymer Sci. Polymer Chem. 1984. V. 22. № 2. Р. 341.
33. Devos R. J., Goethals E. I. // Makromolek. Chem. Rapid Commun. 1985. В. 6. № 1. С. 53.
34. Geckeler K., Bayer E. // Polymer Bull. 1979. V. 1. № 10. Р. 691.
35. Bömer B., Heitz W., Kern W. // J. Chromatogr. 1970. V. 53. Р. 51.
36. Johansson G. // Methodological Developments in Biochemistry. 1973. V. 2. № 1. Р. 155.
37. Rahman R., Avny Y. // J. Macromol. Sci. Chem. 1978. V. 12. № 8. Р. 1109.
38. Inoda Y., Takahashi K., Joshimoto P., Ajima A., Matsushima A., Saito Y. // Trends Biotechnol. 1986. V. 4. № 7. Р. 190.
39. Abuchowski A., van Es T., Palczuk N. C., Davis F. F. // Fed. Proc. 1974. V. 33. Р. 1317.
40. Geckeler K. // Polymer Bull. 1979. V. 1. № 3. Р. 427.
41. Buckmann A. F., Flanagan S. D., Borodes S. H. // J. Biol. Chem. 1975. V. 250. № 5. Р. 1484.
42. Hubert P., Dellacherie E., Neel I., Baulieu E. E. // FEBS Letters. 1976. V. 65. № 1. Р. 169.
43. Ulbrich K., Strohalm I., Kopecek J. // Makromolek. Chem. 1986. В. 187. № 1. С. 113.
44. Broze G., Lefebvre P. M., Jerome R., Teyssie P. // Makromolek. Chem. 1977. В. 178. № 10. С. 3171.
45. Топчиева И. Н., Романова В. С., Беседина Г. О., Зубов В. П. А. с. 1017701 СССР // Б. И. 1983. № 18. С. 45.
46. Topchieva I. N., Kuzaev A. I., Zybov V. P. // Europ. Polymer J. 1988. V. 24. № 9. Р. 899.
47. Bocci E., Largajolly R., Veronese F. M. // Z. Naturforsch. 1983. В. 38. № 1. С. 94.
48. Игнатов В. Н., Власов А. А., Коршак В. В., Виноградова С. В., Цейтлин Г. М. // Высокомолек. соед. А. 1988. Т. 30. № 1. С. 27.
49. Takerkart C., Segard E., Monsigny M. // FEBS Letters. 1974. V. 42. № 2. Р. 214.
50. Inagaki H., Tanaka M. // Makromolek. Chem. 1964. В. 74. № 1. С. 145.
51. Fukui S., Tanaka A., Jida T., Hagesawa E. // FEBS Letters. 1976. V. 66. № 1. Р. 179.
52. Ouchi T., Juyama H. // J. Polymer Sci. C. 1987. V. 25. № 7. Р. 279.
53. Leung Y. K. // Polymer. 1976. V. 17. № 3. Р. 374.
54. Favretto L., Marietta G. P., Gabrielli L. F. // J. Chromatogr. 1970. V. 46. № 1. Р. 255.
55. Pillai V. N. R., Mutter M., Bayer E., Gatfield J. // J. Organ. Chem. 1980. V. 45. № 26. Р. 5364.
56. Favretto L., Marietta G. P., Gabrielli L. F. // J. Chromatogr. 1970. V. 50. № 2. Р. 304.
57. Emerson D. W., Langdon W. K., Niu I. // Macromolecules. 1976. V. 9. № 3. Р. 667.
58. Топчиева И. Н., Кабанов В. А. // Высокомолек. соед. Б. 1970. Т. 12. № 7. С. 542.
59. Peacock J., Krakauer T., Perryman L., Krakauer H. // Cellular Immunology. 1979. V. 43. № 2. Р. 384.
60. Fritz D. F., Sachil A., Keller H. P., Kovats E. // Analyt. Chem. 1979. V. 51. № 4. Р. 7.
61. Tanaka H., Yanagida T., Teramoto A., Fujita H. // J. Phys. Chem. 1967. V. 71. № 8. Р. 2116.
62. Романова В. С., Топчиева И. Н., Кузнецов А. И., Михантьева О. Н., Зубов В. П., Михантьев В. Б. А. с. 1155583 СССР // Б. И. 1985. № 18. С. 23.
63. Weiner B. Z., Zilkha A. // J. Macromol. Sci. Chem. 1977. V. 11. № 6. Р. 1191.
64. Казанский К. С., Каминский А. Я., Птицына Н. В., Романова В. С., Топчиева И. Н. // Высокомолек. соед. 1987. Т. 29. № 10. С. 2219.

65. Топчиеva И. Н., Птицына Н. В., Матвеев B. A. // Тез. докл. VI Всесоюз. симпоз. «Синтетические полимеры медицинского назначения». Алма-Ата, 1983. С. 68.
66. Алексеева M. E., Архангельская З. Н., Беленький B. Г., Ганкина Э. С., Згонник B. И. // Высокомолек. соед. B. 1979. T. 21. № 9. C. 646.
67. Miya ma K., Lee T., Nakagaki M. // Chem. Pharm. Bull. Japan. 1984. V. 32. № 18. P. 3670.
68. Kammerer H., Grover P. N. // Makromolek. Chem. 1966. B. 99. № 1. S. 49.
69. Казанский K. С., Птицына Н. В. // Высокомолек. соед. B. 1987. T. 29. № 5. С. 351.
70. Рингдорф Г., Шмидт B. // ЖВХО им. Д. И. Менделеева. 1987. T. 32. № 3. С. 487.
71. Топчиеva И. Н., Ефремова Н. В., Разгянская А. А., Савинова И. В., Хруцкая M. M. // Высокомолек. соед. A. 1989. T. 31. № 11. С. 2445.
72. Бинюков B. Н., Иванов B. B., Шапиро A. B., Островский Д. Н., Жулик И. B., Короткова Т. П., Топчиеva И. Н. // Микробиология. 1989. T. 57. № 1. С. 43.
73. Bayer E., Zheng H., Albert K., Geckeler K. // Polymer Bull. 1983. V. 10. № 2. P. 231.
74. Bode K., Mutter M., Sflitman R. P., Godman M., Ribeiro A. A. // Biopolymers. 1983. V. 22. № 1. P. 163.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова

I. N. Topchieva

SYNTHESIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE DERIVATIVES OF POLYETHYLENE GLYCOL

S u m m a r y

PEG is a polymer soluble in water, nontoxic, chemically inert towards biological structures. These properties permit to use PEG as a polymer base for immobilization of various biologically active compounds. Various methods of introducing of biologically active compounds into the PEG composition are described. The traditional method is the modification of PEG via end hydroxyl groups resulting in synthesis of telehelics. Approaches to preparation of telehelics having the high functionality taking into account the reactivity of end hydroxyl groups in PEG and the phase state of polymers in solution are discussed. The new approach to synthesis of PEG includes the free-radical substitution reactions permitting to introduce the reactive groups into the backbone of polyesters as the side groups as demonstrated for homo- and copolymers of ethylene oxide. The quite different way of synthesis of PEG includes the anionic polymerization of ethylene oxide permitting to introduce the functional groups as start or end ones on the stages of chain initiation and termination. The methods of synthesis of labeled PEG and methods of analysis of functional groups in PEG are discussed.