

УДК 541.64:542.952

СИНТЕЗ И ПОЛИМЕРИЗАЦИЯ В МОНОСЛОЯХ ЛИПИДОПОДОБНЫХ МОНОМЕРОВ С МЕТАКРИЛОВЫМИ ГРУППАМИ НА КОНЦЕ УГЛЕВОДОРОДНОЙ ЦЕПИ

© 1997 г. Е. А. Барышникова, С. Ю. Зайцев, В. П. Зубов

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

117871 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 27.11.96 г.

Принята в печать 25.12.96 г.

Синтезированы поверхностью-активные мономеры, содержащие метакриловую группу на конце углеводородной цепи: 12-метакрилоилоксисодекановая кислота, 12-(метакрилоилоксисодеканоил)-глицерофосфатидилхолин, 16-метакрилоилоксигексадекановая кислота, 16-бис-(метакрилоилоксигексадеканоил)глицерофосфатидилхолин. Исследованы поверхностью-активные свойства полученных мономеров на границе раздела жидкость–газ и их полимеризация в монослоях под действием УФ-облучения (254 нм). Обнаружена экстремальная зависимость скорости полимеризации от поверхностного давления с максимумом $3.3\text{--}5.5 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ при давлениях 7.5–12 мН/м.

Полимеризация поверхностью-активных мономеров (ПАМ) в монослоях на поверхности раздела жидкость–газ является уникальным методом получения ультратонких ориентированных мембран. Такие монослои могут служить для моделирования биологических мембран, иммобилизации различных биологически активных соединений, а также использоваться для создания биосенсоров.

Получение мономерных и полимерных монослоев ПАМ и липосом на основе ПАМ, содержащих акриловые и метакриловые группы, описано в работах и обзорах Ringsdorf и др. [1–6], Зубова, Зайцева, Егорова и др. [7–10], Арсланова [11], Fendler [12]. Структура и свойства получаемых полимерных монослоев существенно зависят как от природы полимеризующейся группы, так и от ее положения в молекуле ПАМ (в гидрофильной или гидрофобной части молекулы) [1, 2, 7].

Большое внимание привлекает исследование поверхностью-активных свойств и полимеризация в монослоях на поверхности раздела жидкость–газ ПАМ, содержащих акриловые и метакриловые группы в гидрофильной части [2–6, 8, 9]. Так, например, в работе [3] проводится сравнение характеристик монослоев полиоктадецилметакрилата (ПОДМА), полученного при полимеризации в растворе и на поверхности раздела фаз. Установлено, что плотность и прочность монослоя ПОДМА, синтезированного в растворе, ниже, чем у ПОДМА, полимеризованного непосредственно в монослое. В данной работе проводится также исследование зависимости скорости полимеризации октадецилакрилата (ОДА) в монослое от давления при различных температурах. Показано, что

этая зависимость имеет экстремальный характер с максимумом в области 15 мН/м. Снижение скорости полимеризации при больших давлениях обусловлено смещением молекул ОДА относительно друг друга в вертикальной плоскости.

Подобная зависимость обнаружена для цвиттер-ионных или отрицательно заряженных липидоподобных акриловых ПАМ, например для N-акрилоилфосфатидилэтаноламина (АКФЭ), содержащего полимеризующуюся группу в гидрофильной части молекулы [9]. Максимум скорости полимеризации для АКФЭ находится в области 10–12 мН/м. Аналогичная зависимость скорости полимеризации от давления в монослоях обнаружена для ряда положительно заряженных аммониевых ПАМ [8–10]; в этих работах установлена также зависимость скорости полимеризации от поверхностного давления, концентрации мономера, температуры и других параметров.

Исследованию полимеризации смешанных монослоев ОДА и октадецилакриламида посвящена работа [13]. Оказалось, что при увеличении содержания ОДА от 0 до 10% скорость полимеризации уменьшается более чем в 6 раз, а при наличии в смеси 50% ОДА монослой вообще не полимеризуется, хотя чистый ОДА полимеризуется с довольно высокими скоростями [3].

Сравнению свойств монослоев некоторых акриловых и метакриловых соединений, полученных полимеризацией как в растворе, так и непосредственно в монослое на границе раздела жидкость–газ, удалено большое внимание в обзоре Арсланова [11].

Синтез производных фосфолипидов, содержащих метакриловую группу на конце углеводородной цепи, описан в работе Regen и др. [14], однако в данной работе исследована полимеризация этих соединений только в липосомах. Свойства и полимеризация таких ПАМ в монослоях до настоящего времени не исследовались.

Цель этой работы – синтез ПАМ с полимеризующейся группой на конце углеводородной цепи (16-метакрилоилоксигексадекановой кислоты, 12-метакрилоилоксидодекановой кислоты и соответствующих производных фосфатидилхолина), изучение поверхностно-активных свойств

ПАМ, а также исследование кинетики их полимеризации в монослое на границе раздела фаз.

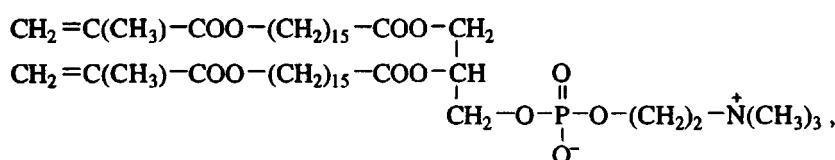
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез поверхностно-активных мономеров

Синтезированы следующие ПАМ: 16-метакрилоилоксигексадекановая кислота (I)



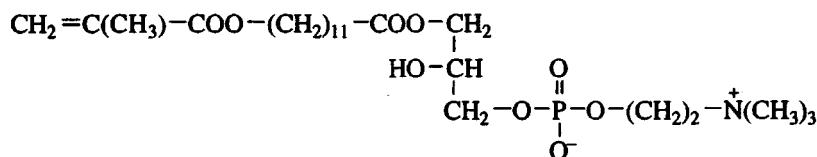
16-бис-(метакрилоилоксигексадеканоил)глицерофосфатидилхолин (II)



12-метакрилоилоксидодекановая кислота (III)

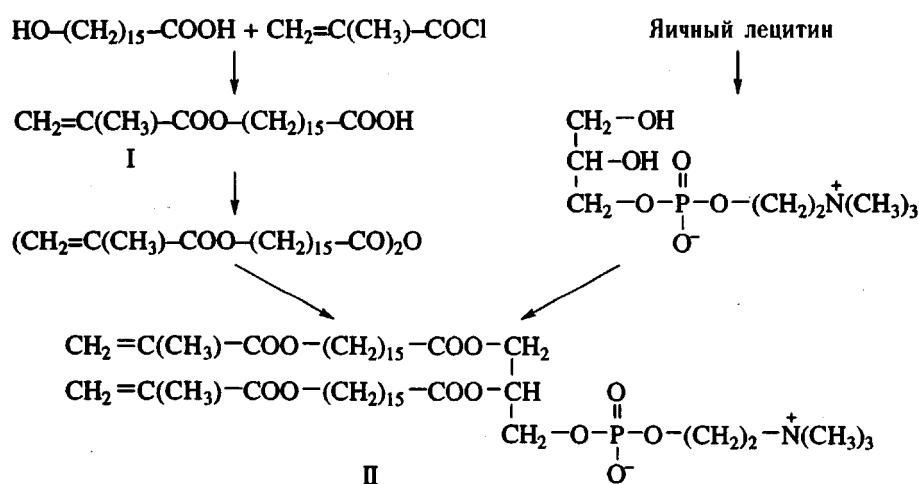


12-(метакрилоилоксидодеканоил)глицерофосфатидилхолин (IV)



Синтез ПАМ проводился по следующей схеме (на примере соединений I и II), предложенной в

работе [14]:



16-Метакрилоилоксигексадекановая кислота (I). 1.0 г (3.67 ммоля) 16-гидроксигексадекановой кислоты (16-ГДК) ("Aldrich", USA) при постоянном перемешивании растворяли в 15 мл ТГФ и

помещали в круглодонную колбу объемом 100 мл. После добавления пиридина (0.4 г, 5.56 ммоля) раствор охлаждали до 0°C и при постоянном перемешивании по каплям добавляли метакрило-

илхлорид (0.29 г, 3.67 ммоля) в 6.0 мл ТГФ. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 15 ч. Затем растворитель удаляли испарением при пониженном давлении, а твердый осадок растворяли в 10.0 мл диэтилового эфира. Смесь промывали дистиллированной водой и эфирный слой осушали безводным сульфатом магния. Эфир удаляли при пониженном давлении. Полученное вещество очищали на колонке с SiO_2 (40 мкм) в системе этилацетат : гексан = 1 : 2. Чистоту полученного продукта контролировали методом ТСХ на силикагелевых пластинках в системе этилацетат–гексан (1 : 2). Выход 0.36 г. $R_f = 0.72$.

ИК-спектр, ν (см⁻¹): 2915, 2850, 1700, 1450, 1386, 1180, 1010, 910, 790, 700, 650.

ПМР-спектр, δ (м. д.): 1.30, 1.65, 2.30–2.40, 3.80, 5.90, 6.20, 6.40.

12-Метакрилоилоксидодекановая кислота (III). Получали по приведенной выше методике. Для реакции брали 2.0 г 12-гидроксидодекановой кислоты (12-ГДК). Выход 0.8 г. $R_f = 0.70$.

ИК-спектр, ν (см⁻¹): 2915, 2850, 1700, 1445, 1385, 1180, 1010, 905, 790, 700, 650.

ПМР-спектр, δ (м. д.): 1.30, 1.70, 2.30–2.40, 3.80, 5.85, 6.15, 6.40.

16-Метакрилоилоксигексадекановый ангидрид (16-АН). Соединение I (0.18 г, 0.503 ммоля) растворили в 3.6 мл ТГФ и добавляли 0.15 мл (0.72 ммоля) триэтиламина. Полученный раствор охлаждали до -18°C и к нему по каплям добавляли раствор этилхлорформиата (0.08 мл, 0.825 ммоля) в 2.5 мл ТГФ. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч, нагревали до комнатной температуры и перемешивали дополнительно 20 мин. Затем раствор снова охлаждали до -18°C и к нему добавили раствор 0.18 г соединения I и 0.15 мл триэтиламина в 3.6 мл ТГФ. Смесь перемешивали 15 ч, затем растворитель удаляли при пониженном давлении при комнатной температуре. Полученный ангидрид несколько раз промывали эфиром и сушили на роторном испарителе. Отсутствие воды контролировали по ИК-спектру. Выход ангидрида составил 0.27 г.

ИК-спектр, ν (см⁻¹): 2915, 2850, 1880, 1715, 1440, 1400, 1360, 1190, 1080, 1020.

ПМР-спектр, δ (м. д.): 1.30, 1.60, 2.45, 5.80, 6.15, 6.45.

Характеристики 12-метакрилоилоксидодеканового ангидрида (12-АН). Выход 0.63 г.

ИК-спектр, ν (см⁻¹): 2915, 2850, 1880, 1710, 1440, 1400, 1360, 1190, 1080, 1020.

ПМР-спектр, δ (м. д.): 1.30, 1.60, 2.40, 5.80, 6.10, 6.40.

L- α -глицерофосфорилхолин. Яичный лецитин (3.0 г) растворяли в 27.0 мл эфира, к полученному раствору добавляли 0.1 моль гидроксида третбу-

тиламмония (метанольный раствор). Колбу со смесью энергично встряхивали несколько раз. L- α -глицерофосфорилхолин выпадал в осадок, и жидкую фазу была декантирована. Осадок промывали эфиром и высушивали. Полученный продукт хранили в метаноле при -18°C .

16-Бис-(метакрилоилоксидодеканоил)глицерофосфатидилхолин (II). Раствор L- α -глицерофосфорилхолина (0.1 г, 0.39 ммоля) в метаноле помещали в круглодонную колбу, удаляли метанол при пониженном давлении. 0.27 г (0.407 ммоля) 16-АН растворяли в 2.0 мл хлороформа и соединяли с высущенным L- α -глицерофосфорилхолином. К полученной смеси при перемешивании добавляли 4-(диметиламино)пиридин (0.06 г, 0.48 ммоля). Содержимое колбы защищали от действия света и перемешивали в течение 72 ч. Хлороформ удаляли при пониженном давлении при комнатной температуре. Продукт растворяли в хлороформе и очищали на колонке с силикагелем. Для хроматографии применяли следующие растворители: CHCl_3 , $\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH} = 9 : 1$, $\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH} = 1 : 1$, $\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH} = 1 : 9$. Для анализа фракций использовали метод ТСХ (силикагель, $\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O} = 65 : 25 : 4$). Фракции с $R_f = 0.33$ объединяли, и растворитель удаляли при пониженном давлении. Выход продукта 0.097 г.

ИК-спектр, ν (см⁻¹): 2915, 2850, 1700, 1640, 1590, 1530, 1400, 1200, 1090, 1060, 980.

ПМР-спектр, δ (м. д.): 1.30, 1.90, 2.20, 2.45, 3.52, 5.80, 6.10.

12-(Метакрилоилоксидодеканоил)глицерофосфатидилхолин (IV). Соединение получали по приведенной выше схеме. $R_f = 0.20$ (как у лизоформы лецитина). Выход 0.0153 г.

ИК-спектр, ν (см⁻¹): 3500–3200, 2915, 2850, 1700, 1640, 1590, 1530, 1400, 1200, 1090, 1060, 980.

ПМР-спектр, δ (м. д.): 1.30, 2.00, 2.20, 2.35, 3.50, 3.70, 5.80, 6.10.

Получение монослоев и полимеризация

Монослои ПАМ получали и исследовали на пленочных весах фирмы "Lauda" (ФРГ). Санти-молярный раствор мономера в хлороформе (10 мкл) наносили на поверхность воды (рН 7.0, 20°C) между подвижным и измерительным барьерами. Изотермы поверхностное давление π –площадь A (на 1 молекулу) получали путем поджатия монослоя подвижным барьером с постоянной скоростью 1 см/мин.

Полимеризацию монослоев ПАМ проводили при инициировании УФ-облучением ($\lambda = 254$ нм, 10 мВ/см²) в отсутствие инициатора при постоянном поверхностном давлении. Скорость полимеризации рассчитывали по формуле

$$v_p = (\Delta h_i / \Delta h_{\max}) / \Delta t,$$

где Δh – начальная контракция монослоя за время Δt , Δh_{\max} – общая контракция за все время полимеризации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Все синтезированные ПАМ способны образовывать монослои на границе раздела вода–воздух. На рис. 1 приведены π - A -изотермы для 16-ГДК и 12-ГДК (кривые 1), а также для синтезированных ПАМ (кривые 2, 3). На π - A -изотермах для соединений I и III (кривые 2), как и для гидроксикислот, наблюдается хорошо выраженное плато на изотермах при давлениях 14–16 и 12–14 мН/м, что соответствует переходу между жидкостянутым (малые давления, большие площади) и жидкоконденсированным (большие давления, малые площади) состояниями монослоя. Однако на изотермах для кислот с метакриловыми группами переход между двумя состояниями выражен менее четко, что связано, по-видимому, с уменьшением гидрофильности метакриловых групп по сравнению с гидроксильными. Данный переход соответствует переориентации метакриловых групп с поверхности воды в воздух.

Площадь на молекулу при давлении коллапса для соединений I и III возрастает по сравнению с гидроксикислотами до 0.28 нм², что объясняется наличием более объемной метакриловой группы на конце углеводородной цепи в молекулах этих соединений.

Довольно низкое давление коллапса (24 и 27 мН/м для соединений I и III соответственно) также обусловлено присутствием метакриловых групп, способствующих смещению молекул ПАМ относительно друг друга в вертикальной плоскости.

На изотерме для соединения II (рис. 1а, кривая 3) переход между двумя состояниями монослоя выражен менее четко, что объясняется присутстви-

ем объемной полярной фосфатидилхолиновой группы. Еще более сильно это влияние видно для соединения IV (рис. 1б, кривая 3). В этом случае переход между состояниями монослоя вообще не выражен. Площадь на молекулу при давлении коллапса для соединений II и IV определяется площадью фосфатидилхолиновой группы и составляет ~0.55 нм² на молекулу. Также благодаря наличию фосфатидилхолиновой группы, препятствующей смещению молекул этих ПАМ относительно друг друга в вертикальной плоскости, увеличивается давление коллапса по сравнению с соединениями I и III, т.е. повышается устойчивость монослоя к воздействию давления.

Кривые зависимости скорости полимеризации от поверхностного давления для соединений I–IV имеют экстремальный характер с максимумом около 12 мН/м для соединений I и II в области 7–8 мН/м для соединений III и IV (рис. 2). Увеличение скорости полимеризации при возрастании давления до 8 (12) мН/м соответствует повышению плотности монослоя и увеличению степени ориентации молекул при сохранении достаточной подвижности молекул в жидкостянутом состоянии монослоя.

Дальнейший рост давления приводит к снижению скорости полимеризации, вызванному уменьшением подвижности молекул (монослой переходит в жидкоконденсированное состояние), а также, возможно, к появлению стерических затруднений при взаимодействии полимеризующихся групп молекул, смещенных относительно друг друга вблизи точки коллапса.

Таким образом, зависимость скорости полимеризации от давления хорошо коррелируется с изменением структуры монослоя. В частности, положения максимумов на кривых зависимости скорости полимеризации от давления как для соединений I и II, так и для соединений III и IV соответствуют одновременному (жидкостянутому) состоянию монослоя.

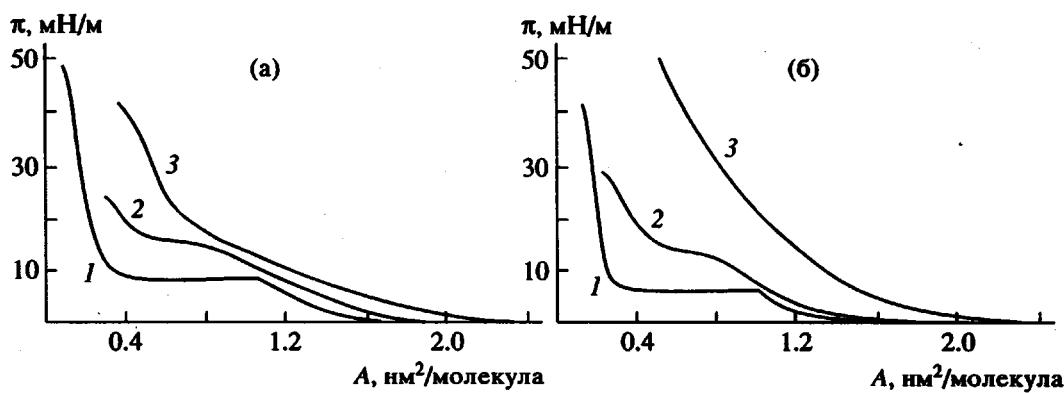


Рис. 1. π - A -изотермы для различных монослоев. а: 1 – 16-ГДК, 2, 3 – соединения I(2) и II(3); б: 1 – 12-ГДК, 2, 3 – соединения III(2) и IV(3).

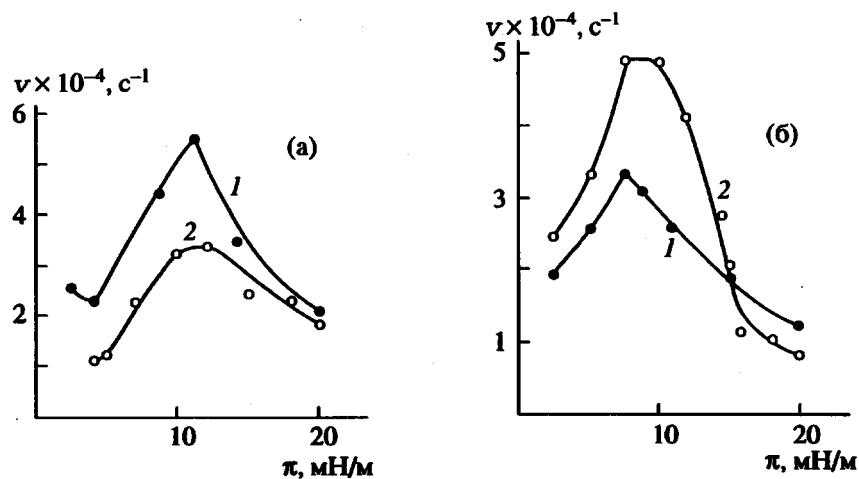


Рис. 2. Зависимость скорости полимеризации от давления для монослоев соединений I(1) и II(2) (а) и соединений III(1) и IV(2) (б).

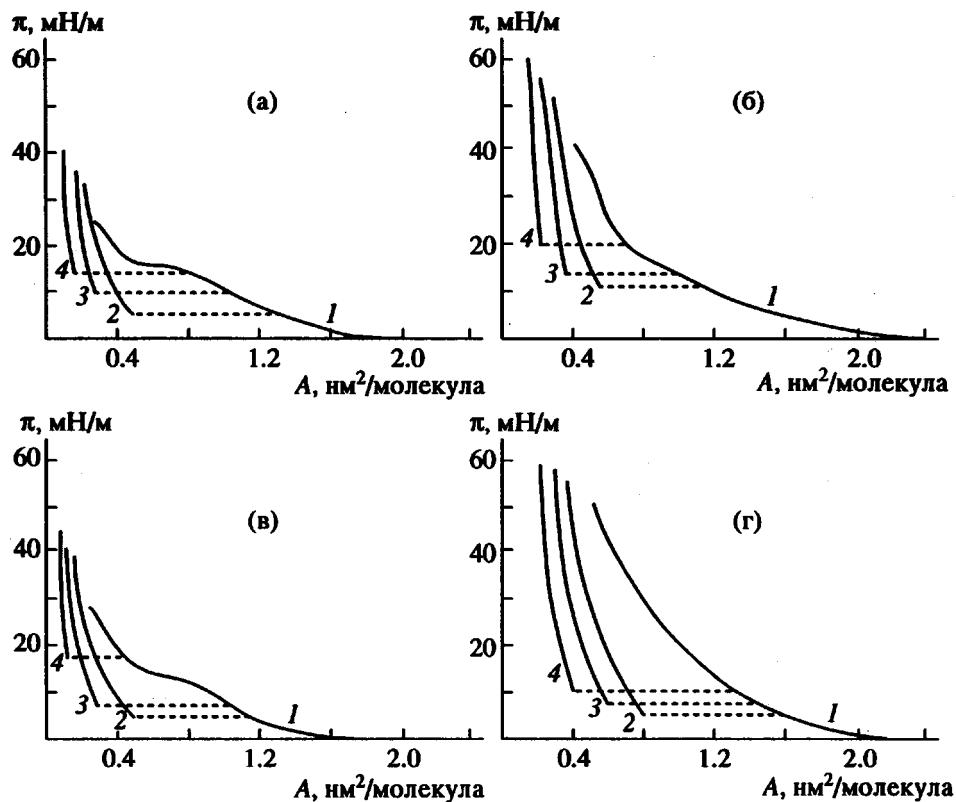


Рис. 3. π - A -изотермы соединений I(а), II(б), III(в), IV(г) для мономерного монослоя (1) и полимерных монослоев, полученных при различных давлениях (2–4). а: $\pi = 5.0$ (2), 7.5 (3) и 10.0 mH/m (4); б: $\pi = 5.0$ (2), 7.5 (3) и 12.0 mH/m (4); в: $\pi = 5.0$ (2), 10.0 (3) и 14.0 mH/m (4); г: $\pi = 5.0$ (2), 7.5 (3) и 10.0 mH/m (4).

Абсолютная скорость полимеризации ПАМ в монослое существенно выше таковой при полимеризации в растворе в сопоставимых условиях [10], что объясняется высокой степенью ориентации молекул в монослое.

Максимальная скорость полимеризации для соединения II ($5.5 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$) в монослое выше, чем для соединения I ($3.37 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$) (рис. 2а, кривые 1 и 2 соответственно), что обусловлено наличием в

молекуле соединения II двух углеводородных цепочек с метакриловыми группами, общее сечение которых примерно совпадает с размерами фосфатидилхолиновой группы, за счет чего полимеризующиеся группы имеют более высокую степень ориентации.

Максимальная скорость полимеризации соединения IV ($3.33 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$), наоборот, ниже, чем для соединения III ($4.89 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$) (рис. 2б, кривые 1 и 2).

соответственно). Это можно объяснить влиянием объемной фофатидилхолиновой группировки ("головы"), имеющей площадь в ~2 раза больше, чем у метакрилового фрагмента ("хвоста"), и препятствующей более плотной упаковке молекул соединения IV в монослое. Аналогичные эффекты были обнаружены для некоторых катионных ПАМ с акриловыми группами [10].

По π - A -изотермам после полимеризации (рис. 3, кривые 2–4) видно, что давление коллапса монослоя несколько увеличивается. Это свидетельствует о повышении прочности последнего. Площадь, приходящаяся на мономерное звено в полимерном монослое, значительно уменьшается по сравнению с площадью молекулы мономера, что указывает на более плотную упаковку звеньев в полимерном монослое.

Таким образом, показано влияние структуры ПАМ на скорость полимеризации, а именно уменьшение последней при наличии в молекуле ПАМ объемной гидрофильной группы (соединения II и IV), а также при увеличении длины цепи с 12 до 16 атомов углерода (соединения I и II), что, кроме того, приводит и к смещению максимума скорости в область более высоких давлений.

Следовательно, изменения давление в монослое при полимеризации ПАМ, можно регулировать его структуру. Полученные полимерные мономолекулярные пленки могут быть использованы как матрицы для иммобилизации различных поверхностно-активных соединений при создании моделей биологических мембран.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ringsdorf H., Schlarb B., Venzmer J. // Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1988. V. 27. № 1. P. 113.
2. Bader H., Dorn K., Hupfer B., Ringsdorf H. // Adv. Polym. Sci. 1985. V. 64. № 1. P. 11.
3. Naegele D., Ringsdorf H. // J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed. 1977. V. 15. № 3. P. 2821.
4. Ackermann R., Inacker O., Ringsdorf H. // Kolloid-Z. und. Z. für Polymere. 1971. B 249. № 1/2. S. 1118.
5. Lashewsky A., Ringsdorf H., Schmidt G., Schneider J. // J. Am. Chem. Soc. 1987. V. 109. № 3. P. 788.
6. Naegele D., Lando J.-B., Ringsdorf H. // Macromolecules. 1977. V. 10. № 6. P. 1339.
7. Егоров В.В., Зайцев С.Ю., Зубов В.П. // Высокомолек. соед. А. 1991. Т. 33. № 7. С. 1587.
8. Зайцев С.Ю., Зубов В.П. // Makromol. Chem., Macromol. Symp. 1991. V. 46. P. 9.
9. Зайцев С.Ю., Клямкин А.А., Плясова Е.П., Верещетин В.П., Зубов В.П. // Высокомолек. соед. Б. 1995. Т. 37. № 10. С. 1762.
10. Егоров В.В., Зайцев С.Ю., Клямкин А.А., Зубов В.П. // Высокомолек. соед. А. 1990. Т. 32. № 5. С. 949.
11. Арсланов В.В. // Успехи химии. 1994. Т. 63. № 1. С. 3.
12. Fendler J.H. Membrane-Mimetic Approach to Advanced Materials. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 1994.
13. Miyashita T., Sakaguchi K. // Langmuir. 1992. V. 8. № 1. P. 336.
14. Regen S.L., Singh A., Oehme G., Singh M. // J. Am. Chem. Soc. 1982. V. 104. № 3. P. 791.

Synthesis and Monolayer Polymerization of Lipid-like Monomers with Terminal Methacrylic Groups

E. A. Baryshnikova, S. Yu. Zaitsev, and V. P. Zubov

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117871 Russia*

Abstract—A series of monomer surfactants, containing methacrylic groups at the end of the hydrocarbon chain, was synthesized including 12-methacryloylhydroxydodecanoic acid, 12-(methacryloylhydroxydodecanoyl)glycerophosphatidylcholine, 16-methacryloylhydroxyhexadecanoic acid, and 16-bis-(methacryloylhydroxyhexadecanoyl)glycerophosphatidylcholine. The monomers were characterized with respect to the surfactant properties at the liquid–gas interface. The polymerization in monolayers of these monomers, induced by the UV irradiation (254 nm), was studied. The polymerization rate exhibited a nonmonotonic dependence on the surface tension, with a maximum rate of $(3.3\text{--}5.5) \times 10^{-4}$ c⁻¹ observed at a surface tension of 7.5–12 mN/m.