

УДК 541.64:547.39

## СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НОВЫХ ГИДРОФИЛЬНЫХ СОПОЛИМЕРОВ НА ОСНОВЕ КАРБОКСИ-*n*-ПРОПИЛАКРИЛАМИДА<sup>1</sup>

© 2004 г. Р. М. Исаков\*, Е. О. Батырбеков\*, Б. А. Жубанов\*, А. Kikuchi\*\*, Т. Okano\*\*

\*Институт химических наук им. А.Б. Бектюрова  
480100 Алматы, ул. Ч. Валиханова, 106

\*\* Institute of Biomedical Engineering, Tokyo Women's Medical University  
Kawadacho 8-1, Shinjuku, 162-8666, Tokyo, Japan

Поступила в редакцию 09.04.2003 г.  
Принята в печать 16.12.2003 г.

Реакцией *n*-аминомасляной кислоты с акрилоилхлоридом в водной суспензии гидроксида кальция получен новый мономер – карбокси-*n*-пропилакриламид. Радикальной сополимеризацией этого мономера в водных растворах синтезированы новые гидрофильные сополимеры с диметилакриламидом или акриламидом, которые при pH 4 и температуре ниже 27°C образуют комплексы, стабилизованные внутри- и межмолекулярными водородными связями между карбонилом и карбоксильной группой звеньев мономера. Установлено, что оптимальное комплексообразование происходит в сополимерах, имеющих в своем составе около 20 мол. % мономера. Выше 30°C комплексы разрушаются из-за ослабления водородных связей. Комплексы остаются водорастворимыми при низких температурах благодаря гидрофильному амидному фрагменту в боковой цепи карбокси-*n*-пропилакриламида, не участвующему в образовании водородной связи.

### ВВЕДЕНИЕ

Гидрофильные полимеры представляют значительный интерес для использования в фармацевтике, медицине и биотехнологии. Наряду с жесткими требованиями биосовместимости и биодеградации такие полимеры должны обладать высоким содержанием функциональных групп или активных центров, способных реагировать на воздействия окружающей среды, либо образовывать стабильные комплексы полимер–лекарство [1–3]. Широкое распространение получили исследования по комплексообразованию между ПАК и полимерами на основе акриламида и диметилакриламида (DMA) [4, 5]. Эти полимеры способны образовывать при низких температурах стабильные комплексы за счет водородных связей между карбоксильной и карбонильной группами. Однако такие комплексы нестабильны и легко разрушаются при повышении температуры. Быстрые фазовые переходы при температурных изменениях в комплексах ПАК и полиакриламида (ПАА)

происходят также за счет резкого сдвига в гидрофильно-гидрофобном балансе. Данный эффект был использован для контролируемого вы свобождения модельных лекарств при пошаговом изменении температуры среды [6, 7]. Скорость таких фазовых переходов при ассоциации гомополимеров усиливалась за счет так называемого механизма передачи цепи [8, 9]. Комплексы сополимеров акриламида и акриловой кислоты уменьшили свою чувствительность к быстрым фазовым переходам как из-за понижения растворимости отдельных звеньев цепи, так и из-за нерегулярного расположения звеньев, препятствующих реакции передачи цепи [8]. Комplexообразование затруднялось также стерическими препятствиями, возникающими между соседними амидными и карбоксильными группами.

Основная цель настоящей работы – получение новых гидрофильных сополимеров, имеющих активные функциональные группы и способных к комплексообразованию и термоиндуцируемым фазовым переходам. В качестве сомономера для сополимеризации с акриламидом или DMA мы использовали карбокси-*n*-пропилакриламид (КПА), который содержит как амидную, так и карбоксильную группы. Последняя присоединена через

<sup>1</sup> Работа выполнена при финансовой поддержке Japan Society for the Promotion of Science (грант JSPS P00169).

E-mail: riskakov@mail.ru, riskakov@hotmail.com (Исаков Ринат Маратович).

пропильный остаток к амидной группе, тогда как в акриловой кислоте (АК) карбоксильная группа напрямую связана с основной цепью. Наличие такой вставки позволяет повысить мобильность и активность карбоксильной группы, в первую очередь благодаря снятию препятствий стерического характера. Как известно, ДМА является активным акцептором протонов, а его комплексы с карбоксилами сополимеров АК стабильны до 70°C, тогда как комплексы АК с акриламидом стабильны лишь до 25°C во многом из-за нерегулярности таких ассоциатов [10]. Нами синтезированы и исследованы сополимеры КПА с ДМА (I) и КПА с акриламидом (II).

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Очистку исходных веществ и растворителей проводили по известным методикам.

Спектры ЯМР <sup>1</sup>H регистрировали на спектрометре “Varian Unity INOVA” с рабочей частотой 400 МГц в DMSO-d<sub>6</sub> с использованием TMC в качестве внутреннего стандарта.

ММ полимеров определяли с помощью ГПХ на колонке TSK gel- $\alpha$ -5000 (“Tosoh”) при скорости элюента 1 мл/мин и температуре 40°C с использованием ПЭГ в качестве стандарта. Перед инжекцией раствор сополимера (0.1 мг/мл) фильтровали через 0.45 мкм шприцевый фильтр (Ericrodisc 13).

Количество карбоксильных групп находили титрованием 5.0%-ного раствора сополимера в 0.1 N HCl 0.1 N раствором NaOH.

Вязкость водных растворов сополимеров (2.5%-ный раствор, 2 мл) измеряли с помощью вискозиметра “Viscomate VM-1G” в 0.05 M фталатном буферном растворе в интервале 18–55°C.

Оптическое пропускание растворов сополимеров записывали на спектрофотометре “UV-VIS Jasco V-530” при длине волны 500 нм в термостатируемой ячейке при скорости нагревания 0.1 град/мин.

### Синтез КПА

Мономер получали согласно методике [11, 12], примененной для гидросукцинимидилакрилата и 6-акриламиногексиловой кислоты с модификацией для водных растворов. 40 г 4-аминомасляной кислоты растворяли в 500 мл водной суспензии,

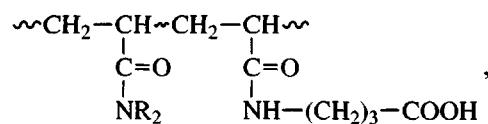
содержащей 50 г гидроксида кальция. После охлаждения суспензии до 0°C по каплям добавляли 45 мл акрилоилхлорида и выдерживали 3 ч при данной температуре. В отфильтрованную суспензию при 0°C покапельно добавляли HCl до pH 1.5, после чего растворяли в фильтрате 32 г NaCl. Мономер экстрагировали из полученного водного раствора этилацетатом и выкристаллизовывали при 0°C в течение 1 суток, промывали избыtkом холодного этилацетата и высушивали под вакуумом. Выход мономера 31.5%, ЯМР <sup>1</sup>H: δ<sub>H</sub> = 1.65 (м, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.27 (м, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH), 3.15 (м, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 5.58 (м, 1H, CH<sub>2</sub>=CHC(O)), 6.05 (д, 2H, CH<sub>2</sub>=CH), 8.08 (д, 1H, CONH).

### Синтез сополимеров

Сополимер I синтезировали радикальной сополимеризацией мономеров в ДМФА в присутствии перекиси бензоила (24.2 мг или 0.1 ммоля) в качестве инициатора при 60°C в течение 24 ч. Сополимер выделяли переосаждением в диэтиловый эфир, очищали трехдневным диализом в дистиллированной воде и сушили сублимацией под вакуумом.

Сополимер II получали сополимеризацией в водных растворах в присутствии персульфата аммония в качестве инициатора при 25°C в течение 50 мин. Сополимер очищали трехдневным диализом в дистиллированной воде и высушивали сублимацией под вакуумом.

Некоторые химико-физические характеристики синтезированных сополимеров приведены в таблице. Химическая структура сополимеров изображена ниже.



где R = H (I) и CH<sub>3</sub> (II).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные гомо- и сополимеры были охарактеризованы с помощью ЯМР <sup>1</sup>H. Полосы, отнесенные к атомам углеродов с функциональными группами, имели удовлетворительное разрешение, что позволило определить содержание

## Синтез и характеристики сополимеров на основе КПА

Сомономер	Содержание КПА, мол. %		Выход, %	$M_w \times 10^{-5}$	$M_n \times 10^{-4}$	$M_w/M_n$
	исходная смесь	полимер*				
DMA	0	—	38.9	1.41	7.50	1.88
	10.0	9.4/9.1	31.1	1.13	6.42	1.76
	12.5	10.9/10.4	27.4	1.28	6.94	1.84
	14.3	12.1/11.9	29.8	1.17	6.51	1.79
	16.7	14.5/12.9	25.4	1.29	6.78	1.91
	20.0	17.3/16.1	23.7	1.26	6.90	1.82
	25.0	21.7/19.9	23.1	1.35	6.88	1.97
	50.0	40.7/—	20.4	1.12	6.12	1.83
	75.0	56.7/—	19.7	1.16	6.21	1.87
	100.0	100.0	5.6	0.72	4.31	1.67
$pK_a = 5.85$						

\* В числителе – определено титрованием, в знаменателе – методом ЯМР  $^1\text{H}$ .

мономерных звеньев в сополимерах. Как видно из таблицы, эти данные близки по значению к составу сополимеров, определенных методом титрования. Состав исходной композиции мономеров и сополимера практически не отличается, а реакционноспособность КПА незначительно ниже активности сомономеров. Вычисленные константы сополимеризации для DMA–КПА и акриламид–КПА имели значения  $1.25 \pm 0.12$  и  $1.18 \pm 0.10$ , что свидетельствует о статистическом распределении звеньев в структуре сополимеров.

Как известно [4, 5], взаимодействие между карбоксильными группами ПАК и амидными группами ПДМА или ПАА играет ключевую роль в процессе комплексообразования этих гомополимеров, обеспечивая появление в растворе ВКТР. Как уже отмечено, КПА существенно отличается от АК расположением карбоксильной группы по отношению к основной цепи. Наличие пропильного спейсера позволяет предположить, что функциональная группа КПА будет более активной в процессе комплексообразования из-за

возрастающей мобильности и понижения стерических затруднений. С этой целью нами исследовано комплексообразование в синтезированных сополимерах при различных температурах методом вискозиметрии. Измерения проводили во фталатном буферном растворе ( $\text{pH } 4$ ) при ионной силе 0.05 М с целью предотвращения диссоциации карбоксильных групп. На рис. 1 показано вискозиметрическое поведение синтезированных сополимеров при повышении температуры от 18 до 40°C. Как видно, для сополимера I происходит резкое понижение вязкости раствора при 27°C. Вязкость сополимеров при низких температурах определяется их составом и возрастает с увеличением содержания звеньев КПА в сополимере. Максимальная вязкость наблюдается для сополимера, содержащего 19.9 мас. % КПА. Однако при дальнейшем повышении содержания КПА вязкость системы уменьшается. При высоких температурах сополимеры любого состава имеют низкие вязкостные характеристики. Аналогичное поведение характерно для серии сополимеров на

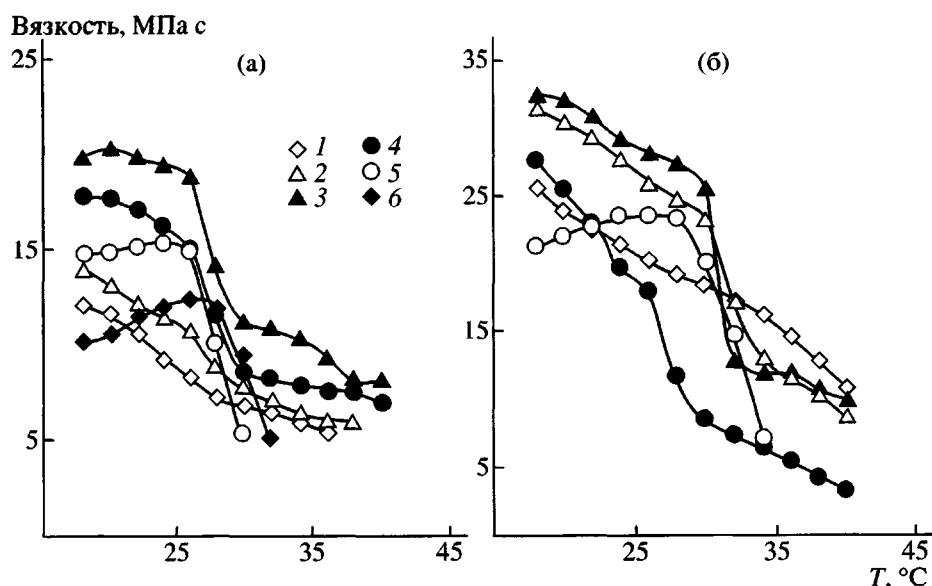


Рис. 1. Температурные зависимости вязкости растворов сополимеров I (а) и II (б). Содержание звеньев КПА в сополимерах 0 (1), 10.9 (2), 14.5 (3), 21.7 (4), 56.7 (5) и 100 мол. % (6). Фталатный буфер: pH 4, 0.05 моль/л. Масштаб экспериментальных точек соответствует величине погрешности.

основе КПА и акриламида. Но температура вязкостного перехода сдвигается в сторону более высоких значений при увеличении содержания звеньев КПА в сополимере. Так, при содержании КПА в сополимере в количестве 10.9 мол. % температура перехода равна 27°C, при повышении содержания КПА до 14.5 и 21.7 мол. % температура возрастает до 30 и 32°C соответственно.

Поскольку сополимер содержит как амидные, так и карбоксильные группы, то наблюдаемые явления можно объяснить их межмолекулярными взаимодействиями за счет водородных связей [13, 14]. Такие взаимодействия усиливаются при низких температурах, увеличивая вязкость системы благодаря комплексообразованию, и ослабеваются с повышением температуры, что вызывает резкое понижение вязкости [15]. Очевидно, что интенсивность такого взаимодействия можно регулировать, изменяя протонную активность среды. Как известно, мочевина является сильным конкурентом за активные протоны, участвующие в образовании водородных связей [10]. Кроме того, изменение кислотности среды также сильно влияет на протонную активность при ассоциациях, связанных с такого рода взаимодействиями. На рис. 2 показано влияние концентрации мочевины и pH среды на вязкостные свойства 2.5 мас. % растворов сополимеров в температурном интервале 18–40°C. Как видно, при добавлении мочеви-

ны резко понижается вязкость растворов сополимеров при низких температурах. Так, при концентрации мочевины 0.1 М значение вязкости при 25°C резко уменьшается с 19.2 до 13.3 МПа с для сополимера I и с 29.5 до 17.4 МПа с для сополимера II. При концентрации мочевины 3 моль/л температурного перехода в растворах обоих сополимеров не наблюдается и вязкость монотонно уменьшается с повышением температуры. Очевидно также, что рост pH с 4.0 до значений выше  $pK_a$  сополимеров должен понижать протонную активность соединений и их способность к водородным взаимодействиям. Вязкость сополимера I монотонно понижается с увеличением температуры при pH 7.4 в фосфатном буфере, при одинаковой ионной силе растворов (рис. 2, кривая 1). Высокое абсолютное значение вязкости растворов можно объяснить объемным расширением полимерных цепей из-за взаимного отталкивания одноименно заряженных карбоксилат-анионов. С другой стороны, сополимер II демонстрирует лишь незначительное падение вязкости в точке температурного перехода при pH 7.4 (рис. 2, кривая 2). Этот переход менее выражен, чем тот, что происходит при низких значениях pH. По-видимому, формирование водородных связей в сополимере II не ограничивается парами карбоксил-карбонил амида, характерными для сополимера I, но включает и взаимодействия типа карбонил КПА–водород

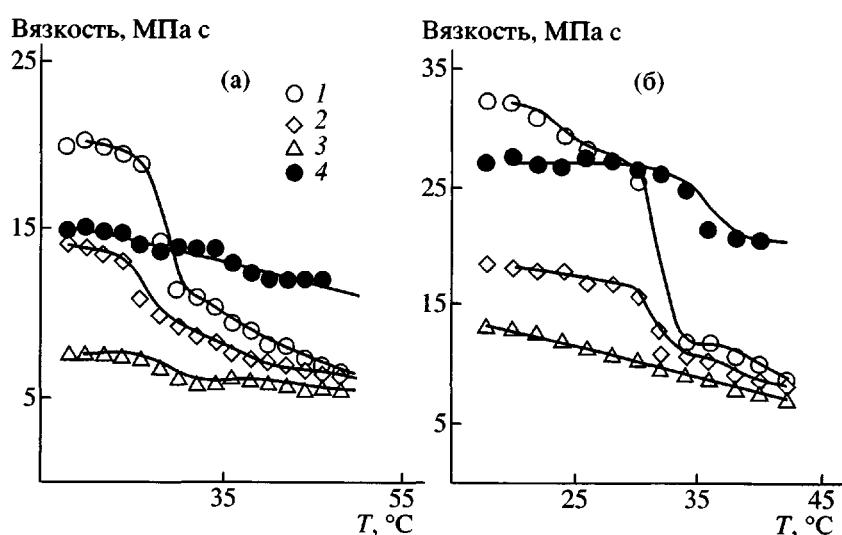


Рис. 2. Влияние содержания мочевины на температурную зависимость вязкости растворов сополимеров I (а) и II (б) при содержании звеньев КПА 14.5 мол. %. Фталатный буфер: pH 4, 0.05 моль/л. 1 – без мочевины, 2, 3 – содержание мочевины 0.1 (2) и 3 моль/л (3); 4 – растворы без мочевины при pH 7.4 (фосфатный буфер: 0.05 моль/л).

амида акриламида. Благодаря наличию дополнительных двух протонов у азота акриламида и одного активного протона у азота КПА возможны водородные взаимодействия между кислородом и азотом амидных групп в соседних звеньях сополимера. Возможный сдвиг вязкостного перехода в данном сополимере при изменении состава его сомономеров мог являться следствием таких дополнительных взаимодействий по водородным связям (рис. 1, кривая 2). Как было отмечено ранее, ПАА способен образовывать меж- и внутриполи-

мерные комплексы типа карбонил–водород амидных групп за счет образования водородных связей [5, 16]. Было показано значительное влияние меж- и внутримакромолекулярной ассоциации с водородными связями на вязкость растворов ПАА, в частности параметр Флори–Хаггинса при 20°C для ПАА был значительно выше, чем для ПДМА [5, 17]. Для синтезированных сополимеров I основной вклад в ассоциацию по водородным связям вносят только взаимодействия типа карбоксил КПА–карбонил ДМА.

Наибольшая вязкость при низких температурах достигается при содержании КПА в сополимере 21.7 и 18.6 мол. % для сополимеров I и II (рис. 3). Такое соотношение карбоксильных и амидных групп, видимо, является наиболее оптимальным для образования водородных связей. Так, максимальное взаимодействие наблюдается при эквимольном соотношении карбоксильных и амидных групп для системы ПКПА–ПДМА и при содержании ПКПА 40.0 мол. % в его комплексе с ПАА. Возможно, в этом случае происходит дополнительное макромолекулярное взаимодействие за счет водородных связей типа карбонил амида–водород амида. Тем не менее, комплексы в сополимерах существенно отличаются по составу от комплексов гомополимер–гомополимер: звенья в сополимере участвуют как в меж-, так и внутримакромолекулярных взаимодействиях. Если первый тип взаимодействий оказывает вли-



Рис. 3. Влияние содержания звеньев КПА на вязкость растворов сополимеров I (1) и II (2) при 24°C, а также смеси гомополимеров ПКПА–ПДМА (1') и ПКПА–ПАА (2'). Фталатный буфер: pH 4, 0.05 моль/л.

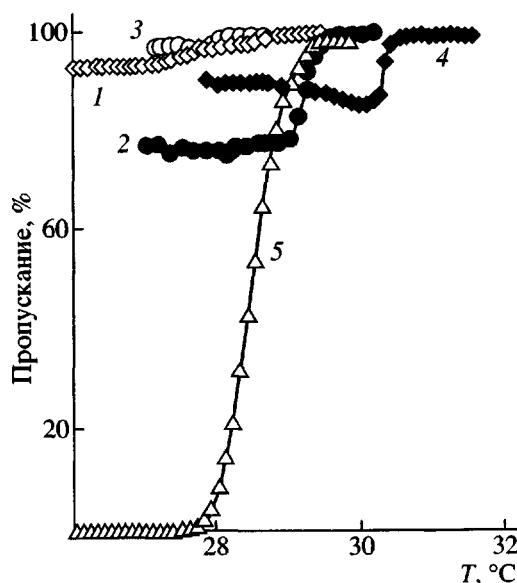


Рис. 4. Температурная зависимость оптического пропускания растворов сополимеров I (1, 2) и II (3, 4), а также смеси ПАК : ПДМА = 1 : 1 (5). Содержание звеньев КПА в сополимерах 14.5 (1, 3) и 56.7 мол. % (2, 4). Фталатный буфер: pH 4, 0.05 моль/л.

яние на вязкостные характеристики растворов, то внутримакромолекулярные водородные взаимодействия такого вклада вносить не могут.

Как отмечено выше, в системах на основе ПАК-ПДМА и ПАК-ПАА ниже точки ВКТР происходит образование устойчивых гидрофобных комплексов, стабилизированных водородными связями между карбоксильными и амидными группами. При этом комплекс на основе ДМА проявляет устойчивость до 70°C, тогда как комплекс с акриламидом распадается при 23°C [10]. На рис. 4 представлены зависимости степени пропускания растворов синтезированных сополимеров от температуры; для сравнения приведена зависимость для системы ПАК-ПАА при эквимольном соотношении компонентов. Видно, что комплексы на основе сополимеров КПА с ДМА или акриламидом, в отличие от ПАК-ПАА, оставались прозрачными в широком интервале рабочих температур, несмотря на установленное сильное комплексообразование. Слабые турбидиметрические изменения, характерные для сополимеров с высоким содержанием звеньев КПА (выше 60 мол. %), по-видимому, были вызваны усиленiem гидрофобного взаимодействия в сополимере. Исходя из строения КПА и ее отличия от звена АК можно предположить, что наличие дополнительной амидной группы в боковом звене КПА позволяет усилить гидрофильные свойства сополимера даже при полном участии карбоксильных групп в комплексообразовании. Такие амидные группы способны формировать вокруг себя кластеры из молекул воды, стабилизируя растворимость всего межмолекулярного комплекса в воде.

тельной амидной группы в боковом звене КПА позволяет усилить гидрофильные свойства сополимера даже при полном участии карбоксильных групп в комплексообразовании. Такие амидные группы способны формировать вокруг себя кластеры из молекул воды, стабилизируя растворимость всего межмолекулярного комплекса в воде.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Карбокси-*n*-пропилакриламид проявлял высокую активность в сополимеризации с ДММА и акриламидом. Синтезированные гидрофильные сополимеры I и II образовывали меж- и внутримакромолекулярные комплексы, стабилизированные водородными связями между карбоксильной группой КПА и амидной группой ДМА или акриламида. При увеличении температуры выше 27–30°C комплексы распадались из-за ослабления взаимодействий по водородным связям. В отличие от комплексов ПАК-ПДМА и ПАК-ПАА, склонных к осаждению при низких температурах, комплексы синтезированных сополимеров не подвергали осаждению из-за наличия гидрофильной амидной группы в боковом звене КПА.

Синтезированные сополимеры имеют высокую концентрацию функциональных групп и являются перспективными материалами для водородного связывания биоактивных белковых веществ, в частности гормонов роста клеток печени [18].

Авторы признательны проф. Т. Aoyagi (Tokyo Women's Medical University) и Е.А. Бектурову (Институт химических наук Министерства образования и науки Республики Казахстан) за полезные комментарии и обсуждение.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Okano T., Yoshida R. // Biomedical Applications of Polymeric Materials / Ed. by Tsuruta T. Boca Raton: CRC Press, 1993.
2. Филиппова О.Е. // Высокомолек. соед. С. 2000. Т. 42. № 12. С. 2328.
3. Жубанов Б.А., Батырбеков Е.О., Исаков Р.М. Полимерные материалы с лечебным действием. Алматы: Комплекс, 2000.
4. Кленина О.В., Файн Э.Г. // Высокомолек. соед. А. 1981. Т. 23. № 6. С. 1298.

5. *Bae Y. H., Okano T., Kim S. W.* // *J. Polym. Sci., Polym. Phys.* 1990. V. 28. P. 923.
6. *Sasase H., Aoki T., Katono H., Sanui K., Ogata N., Ohata R., Okano T., Sakurai Y.* // *Macromol. Chem., Rapid Commun.* 1992. V. 13. P. 577.
7. *Yoshida R., Kaneko Y., Sakai K., Okano T., Sakurai Y., Bae Y.H., Kim S.W.* // *J. Control. Rel.* 1994. V. 32. P. 97.
8. *Katono H., Sanui K., Ogata N., Okano T., Sakurai Y.* // *Polym. J.* 1991. V. 23. № 10. P. 1179.
9. *Katono H., Maruyama A., Sanui K., Ogata N., Okano T.* // *J. Control. Rel.* 1991. V. 16. P. 215.
10. *Aoki T., Kawashima M., Katono H., Sanui K., Ogata N., Okano T., Sakurai Y.* // *Macromolecules.* 1994. V. 27. № 4. P. 947.
11. *Schnaar R.L., Weigel P.H., Roseman S., Lee Y.C.* // *Meth. Enzymol.* 1982. V. 83. P. 306.
12. *Kuckling D., Adler H.-J.P., Arndt K.-F., Ling L., Hieber W.D.* // *Macromol. Chem. Phys.* 2000. V. 201. P. 273.
13. *Abe K., Koide M., Tsushida E.* // *Macromolecules.* 1977. V. 10. P. 1259.
14. *Osada Y.* // *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* 1979. V. 17. P. 3485.
15. *Painter P.C., Graf G., Coleman M.M.* // *J. Chem. Phys.* 1979. V. 92. P. 6166.
16. *Day J.C., Robb I.D.* // *Polymer.* 1981. V. 22. P. 1530.
17. *Silberberg A., Eliassaf J., Katchalsky A.J.* // *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.* 1957. V. 23. P. 259.
18. *Iskakov R., Kikuchi A., Okano T.* // *J. Control. Rel.* 2002. V. 80. P. 57.

## Synthesis and Properties of New Hydrophilic Copolymers Based on Carboxy-*n*-Propylacrylamide

**R. M. Iskakov\*, E. O. Batyrbekov\*, B. A. Zhubanov\*, A. Kikuchi\*\*, and T. Okano\*\***

\*Bekturov Institute of Chemical Sciences, Academy of Sciences of Kazakhstan,  
ul. Ch. Valikhanova 106, Almaty, 480100 Kazakhstan

\*\*Institute of Biomedical Engineering, Tokyo Womens's Medical University,  
Kawadacho 8-1, Shinjuku, 162-8666, Tokyo, Japan

**Abstract**—A new monomer, carboxy-*n*-propylacrylamide, was obtained by the reaction of *n*-aminobutyric acid with acryloyl chloride in an aqueous suspension of calcium hydroxide. The free-radical copolymerization of this monomer with dimethylacrylamide or acrylamide in aqueous solutions afforded new hydrophilic copolymers which at pH 4 and temperatures below 27°C give rise to complexes stabilized by intra- and intermolecular hydrogen bonds involving carbonyl and carboxyl groups of monomer units. It was shown that the optimum complexation takes place in copolymers containing ~20 mol % of the monomer units. Above 30°C, these complexes dissociate due to weakening of hydrogen bonds. Complexes remain water-soluble at lower temperatures since a hydrophilic amide fragment occurring in the side chain of carboxy-*n*-propylacrylamide is not involved in hydrogen bonding.