

УДК 541.64:532.72

рН- И ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ НОСИТЕЛИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ¹

© 2005 г. И. Л. Валуев, И. В. Обыденнова, Г. А. Сытов, Л. И. Валуев, Н. А. Платэ

Институт нефтехимического синтеза им. А. В. Топчева Российской академии наук
119991 Москва, Ленинский пр., 29

Поступила в редакцию 07.10.2004 г.
Принята в печать 25.11.2004 г.

Методом радикальной сополимеризации синтезированы сополимеры N,N-диэтилакриламида и акриловой кислоты. Показано, что при содержании акриловой кислоты до 45% полученные сополимеры обладают НКТС, которая зависит от pH окружающей среды. Максимальное значение НКТС соответствует наибольшему содержанию акриловой кислоты в сополимере при наибольшей величине pH окружающей среды (общая гидрофильтность системы максимальна). Минимальная НКТС наблюдается у тех же сополимеров в кислой области.

Последние годы большое внимание исследователей привлекают так называемые “smart” полимеры, способные менять свои характеристики при изменении параметров окружающей среды, в частности ее температуры, pH или химического состава [1–3]. Такие полимеры могут быть использованы для создания систем, которые, обмениваясь с окружающей средой информацией, энергией или веществом и соответствующим образом реагируя на изменение этих параметров, будут моделировать некоторые функции живой материи. Одной из наиболее перспективных, а главное реальных областей применения указанных полимеров является направленный транспорт лекарств в живом организме [4, 5]. Для этого лекарство иммобилизуют на полимере, который в зависимости от внешних условий растворим или не растворим в водной среде. Затем полученное производное вводят в систему кровообращения, когда в органе-мишени имеются иные, чем во всем остальном организме условия, обеспечивающие выделение полимера в отдельную фазу, что приводит к концентрированию полимера и химически связанного с ним лекарства в данном органе. К условиям, влияющим на растворимость полимера внутри организма, в первую очередь относятся температура и pH.

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 04-03-32225).

E-mail: ivaluev@ips.ac.ru (Валуев Иван Львович).

Известно, что любая воспалительная реакция сопровождается локальным повышением температуры, а в поврежденных областях организма, в частности в области ран и ожогов, наблюдается подкисление окружающих тканей [6]. Следовательно, при введении лекарственных препаратов, иммобилизованных на полимерах, способных претерпевать фазовый переход при повышении температуры и понижении pH, возможна избирательная самопроизвольная концентрация всего лекарства в очагах поражения.

Дополнительный интерес к полимерам, конформация которых чувствительна не только к изменению температуры, но и к pH окружающей среды, обусловлен тем, что большинство биологически активных соединений проявляют максимальную активность при определенной величине pH [7]. Введение к состав полимера ионизирующихся групп позволяет в достаточно широких пределах варьировать локальное значение pH, а значит, и активность иммобилизованного соединения [8].

Цель настоящей работы – синтез полимерных систем, чувствительных к изменению сразу двух параметров окружающей среды (температуры и pH), и исследование их поведения вблизи точки фазового перехода. В качестве таких систем были выбраны сополимеры N,N-диэтилакриламида (ДЭАА) и акриловой кислоты (АК), имеющие НКТС вблизи физиологической температуры человека 37°C.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали ДЭАА и АК фирмы "Sigma" (США).

Сополимеры ДЭАА и АК получали сополимеризацией 10%-ных водных растворов соответствующих мономеров при комнатной температуре, используя в качестве инициатора окислительно-восстановительную систему персульфат аммония – N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин. По окончании сополимеризации, проведившейся до 10%-ной конверсии, полученные сополимеры выделяли гель-фильтрацией на колонке (1.5×60 см) с Сефадексом G-100, уравновешенной бидистиллированной водой. Детектирование осуществляли спектрофотометрически на спектрофотометре "Hitachi U-3410" (Япония) при 220 нм.

Температуру фазового расслоения определяли по помутнению 5%-ных растворов полимеров, регистрируемому при 600 нм.

ММ и конформацию макромолекул сополимеров оценивали методом светорассеяния в растворе в бидистиллированной воде на приборе "Malvern-4400" (Англия) с 64-канальным коррелятором K7025. Растворы образцов (50 мг/мл) исследовали в цилиндрических ячейках при углах рассеяния от 20 до 90°. Источником света служил гелий-неоновый лазер с длиной волны 632.8 нм. Растворы обеспыливали пропусканием через мембранные фильтры "Sipor" (Чехия) с размером пор 0.17 мкм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице представлены зависимости состава и ММ полученных сополимеров от состава исходной мономерной смеси. Видно, что при любых соотношениях сомономеров полимер обогащен акриловой кислотой, которая проявляет большую активность в сополимеризации по сравнению с ДЭАА. Рассчитанные константы сополимеризации для пары ДЭАА(M_1)-АК(M_2) равны $r_1 = 0.55 \pm 0.13$, $r_2 = 1.52 \pm 0.12$. Молекулярная масса сополимеров, вычисленная из данных светорассеяния по методу Зимма [9], увеличивалась с повышением концентрации более активного мономера в исходной реакционной смеси.

На рис. 1 приведены зависимости НКТС от pH сополимеров ДЭАА и АК. Для сравнения там же

Состав и ММ полученных сополимеров

исходная мономерная смесь	Содержание АК (± 0.5), мол. %		$M \times 10^{-4}$ (± 0.1)
	сополимер		
0	0	2.5	
6.5	11.0	13.1	
12.5	19.5	15.7	
18.0	27.5	23.0	
24.0	34.0	24.3	
33.5	41.0	25.1	
40.0	50.5	26.6	
55.5	67.5	27.1	

представлена аналогичная зависимость для гомополимера ДЭАА. Видно, что в кислой области сополимеры имеют наиболее низкое значение НКТС, которое практически не изменяется в интервале pH 1.0–4.5. При дальнейшем повышении pH существенно возрастает НКТС. Обнаруженная закономерность, вероятно, обусловлена подавлением диссоциации акриловой кислоты в области кислых значений pH, вследствие чего увеличивается общая гидрофобность макромолекулы. По мере перехода к щелочным значениям pH звенья акриловой кислоты диссоциируют, повышая тем самым растворимость сополимера в воде.

В пользу этого предположения свидетельствует и тот факт, что рост НКТС начинается в обла-

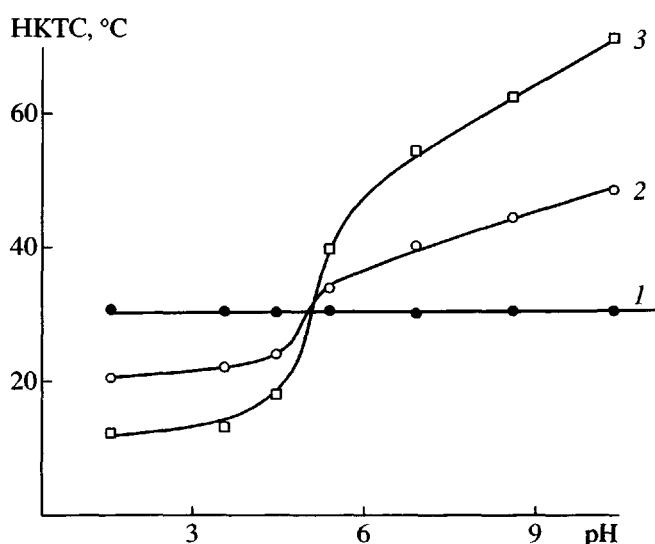


Рис. 1. Зависимость НКТС сополимеров от pH окружающей среды. Содержание акриловой кислоты 0 (1), 19.5 (2) и 41% (3).

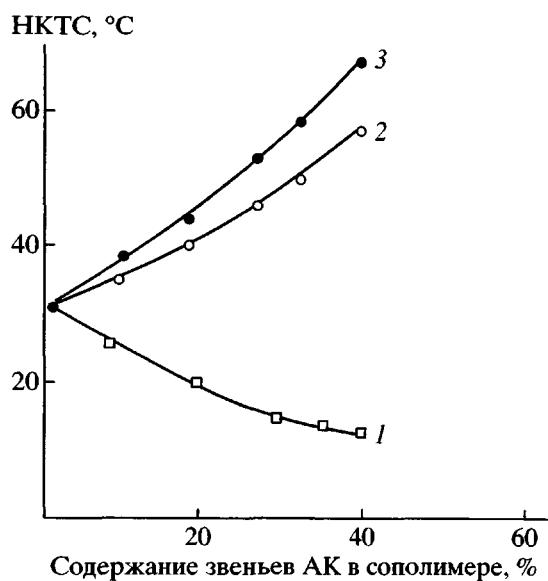


Рис. 2. Зависимость НКТС сополимеров от содержания в них АК. pH 2.0 (1), 7.0 (2) и 10.0 (3).

сти pH между pK_a акриловой кислоты (4.25) и средним значением pK_a полиакриловой кислоты (6.4).

На рис. 2 приведены зависимости НКТС от состава сополимеров при различных pH. Видно, что увеличение доли АК в сополимере приводит к повышению НКТС при нейтральных (7.0) и щелочных (10.0) значениях pH и к ее понижению в кислой среде (pH 2.0).

Рост температур фазового перехода в нейтральных и щелочных средах, соответствующий увеличению количества звеньев АК в сополимере, связан с дифильностью сополимера выше НКТС. При повышении температуры фрагменты ДЭАА стремятся образовать новую фазу, в то время как ионизированные звенья АК солюбилизируют конформационно измененные фрагменты ДЭАА, предотвращая их дальнейшую ассоциацию. Следует отметить, что сополимеры с содержанием акриловой кислоты более 45% вообще не имеют НКТС при щелочных значениях pH и растворимы во всем изученном интервале температур (0–100°C).

Обратная картина наблюдается в кислой среде. Здесь уже фрагменты АК пытаются образовать новую фазу при любой температуре, в чем при температуре ниже НКТС им препятствуют звенья ДЭАА.

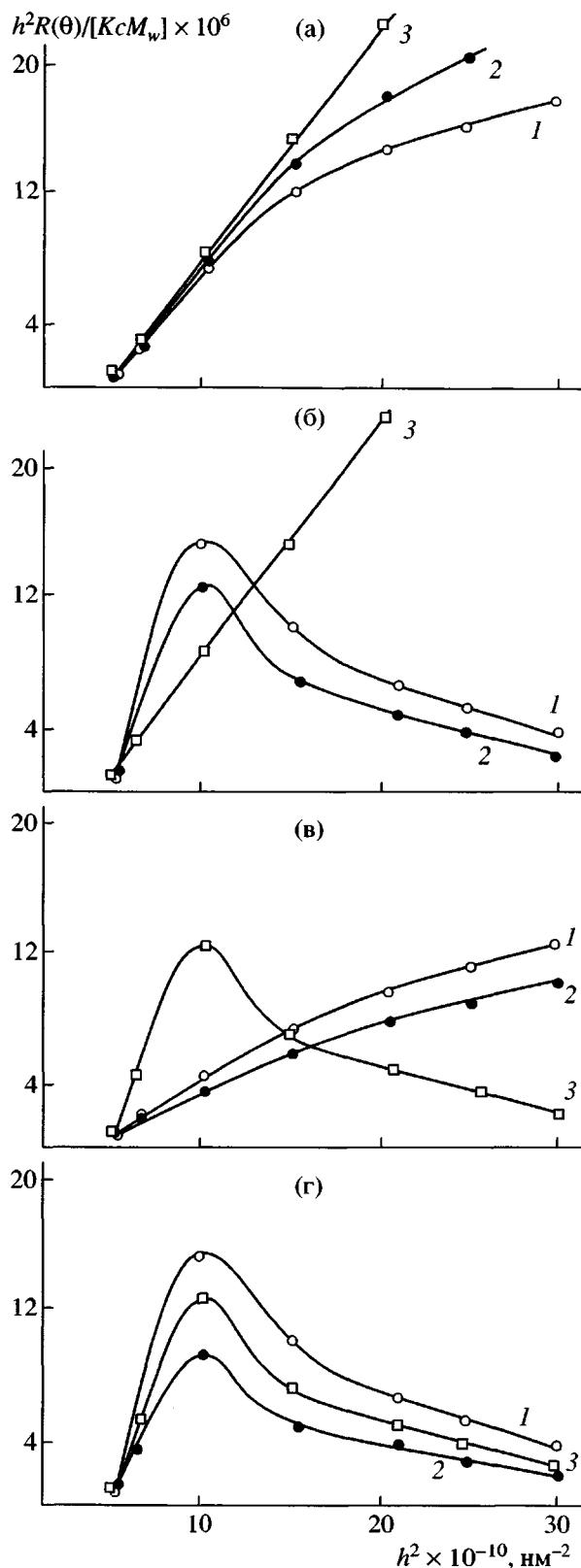


Рис. 3. Кривые светорассеяния в координатах Кратки и Порода для сополимеров ДЭАА и АК при pH 10.0 (а, б) и 2 (в, г) и температурах ниже НКТС (а, в) и в точке НКТС (б, г). Содержание АК 19.5 (1), 41.0 (2) и 67.5% (3).

При изучении конформационного поведения макромолекул установлено, что в нейтральных и щелочных средах увеличение содержания звеньев АК в сополимере приводит к постепенному "разворачиванию" макромолекул, которое проявляется в приближении кривой светорассеяния в координатах Кратки и Порода к линейной функции, соответствующей конформации идеальной палочки (рис. 3а) [10]. Это явление обусловлено действием электростатических сил, возникающих между одноименно заряженными группами, которые пытаются развернуть статистический клубок. При нагревании (рис. 3б) наблюдался либо переход конформации макромолекул в глобулярную (экстремальный характер кривой) с последующим фазовым разделением, либо (при содержании АК более 45%) никакого изменения не происходило и гомогенность среды сохранялась.

При кислых значениях pH даже при низкой температуре сополимеры имели конформацию достаточно плотного клубка (рис. 3в), а при нагревании быстро превращались в глобулы, ассоциировали между собой и выпадали в осадок (рис. 3г).

Таким образом, максимальное значение НКТС имеют сополимеры с наибольшим содержанием АК (45%) при наибольшем значении pH окружающей среды (общая гидрофильность системы максимальна). Минимальное значение НКТС наблюдается в кислой области при максимальном содержании АК (45%). При дальнейшем увеличении содержания АК сополимеры уже не имеют НКТС и приобретают ярко выраженные свойства поликислоты. Обнаруженные законо-

мерности позволяют синтезировать полимерные носители, способные к избирательному концентрированию в областях с определенными значениями pH и температуры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jeong B., Gutowska A. // Trends Biotechnol. 2002. V. 20. № 7. P. 305.
2. Hoffman A.S. // Clin. Chem. 2000. V. 46. № 9. P. 1478.
3. Галаев И.Ю. // Успехи химии. 1995. Т. 64. № 5. С. 505.
4. Eeckman F., Moes A.J., Amighi K. // Int. J. Pharm. 2002. V. 241. № 1. P. 113.
5. Hinrichs W.L., Schuurmans-Nieuwenbroek N.M., van de Wetering P., Hennink W.E. // J. Control. Release. 1999. V. 60. № 2–3. P. 249.
6. Чазов Е.И., Смирнов В.Н., Торчилин В.П. // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева. 1987. Т. 32. С. 485.
7. Самсонов Г.В., Пономарева Р.Б., Юрченко В.С. // Тез. докл. IX Всесоюз. симп. "Синтетические полимеры медицинского назначения". Звенигород, 1991. С. 145.
8. Валуев Л.И., Маклакова И.А., Валуева Т.А., Колосова Г.В., Мосолов В.В., Платэ Н.А. // Прикл. биохимия и микробиология. 1983. Т. 19. № 5. С. 654.
9. Zimm B.H. // J. Chem. Phys. 1948. V. 16. № 12. P. 1099.
10. Kratky O., Porod G. // J. Colloid and Interface Sci. 1949. V. 4. P. 35.

pH- and Thermosensitive Polymeric Carriers for Biologically Active Compounds

I. L. Valuev, I. V. Obydennova, G. A. Sytov, L. I. Valuev, and N. A. Plate

*Topchiev Institute of Petrochemical Synthesis, Russian Academy of Sciences,
Leninskii pr. 29, Moscow, 119991 Russia*

Abstract—Copolymers of N,N-diethylacrylamide and acrylic acid were synthesized by free-radical copolymerization. It was shown that, when the content of acrylic acid units is less than 45%, the copolymers show a LCST that depends on the pH of the surrounding medium. The maximum LCST value corresponds to the highest content of acrylic acid units in the copolymer at the highest pH of the surrounding (the maximal total hydrophilicity of the system). The minimal LCST is observed for the same copolymers in the acidic region.