

УДК 541.64

# Полімерні щітки Декстран-Поліакриламід. Синтез, ідентифікація та визначення молекулярних параметрів

Н.В. Куцевол, Р.С. Сушко, Н.П. Мельник

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка  
60, вул. Володимирська, Київ, 01033, Україна

*Методом радикальної кополімеризації з використанням  $Ce^{(IV)}/HNO_3$  редокс-системи для ініціювання синтезовані щіткоподібні кополімери Декстран-Поліакриламід з довгим основним полісахаридним ланцюгом і різною кількістю щеплень при варіюванні їх довжини. Методами гель-проникної хроматографії та пружного світлорозсіювання визначено молекулярні параметри кополімерів у розчині. Показано, що синтезовані кополімери мають розгорнуту конформацію, а також здатні до утворення інтрамолекулярних структур. Доведено, що на процес кополімеризації впливає не тільки кількість введеного ініціатора, а й вихідна конформація Декстрану в розчині.*

## Вступ

Прищеплена кополімеризація – один із методів отримання полімерів нелінійної архітектури, а саме зіркоподібних та щіткоподібних полімерів. Такі сполуки можуть мати унікальні властивості завдяки керованій внутрішньомолекулярній структурі [1–2]. Водорозчинні прищеплені кополімери на основі полісахаридів і синтетичних полімерів перспективні для використання не лише в різноманітних технологічних процесах [3–4], а і як сполуки біомедичного призначення [5], зокрема для капсулювання лікарських препаратів пролонгованої дії. Однією з переваг таких сполук є їх нетоксичність, біосумісність, здатність до біодеградації полісахаридної компоненти, а також можливість регулювання конформації прищеплених ланцюгів, а отже і варіювання доступності функціональних груп на полімерних ланцюгах [1, 2, 6, 7].

Особливу увагу останнім часом привертає перспективність використання таких сполук у конструюванні каталітичних систем, які можуть бути моделлю для вивчення складних ферментативних перетворень у живій природі [8, 9]. Один із підходів, які використовуються при створенні нанокаталізаторів, – стабілізація йонів металу високомолекулярними водорозчинними нетоксичними сполуками [10]. Актуальність використання кополімерів нелінійної будови зумовлена тим, що на стабілізуючу дію та структурну організацію нанорозмірних частинок каталізатора має вплив не лише природа функціональних груп полімерного ланцюга, а й їх доступність, яка може регулюватись у прищеплених кополімерах. Такі каталізатори є аналогами природних ферментативних систем, які проявляють активність у реакціях окиснення інертних вуглеводнів у м'яких умовах [8–10].

Дана робота присвячена синтезу та ідентифікації

полімерних щіток Декстран-Поліакриламід (Д-ПАА) з особливим акцентом на дослідження впливу кількості щеплень та їх довжини на молекулярні параметри кополімерів у розчині.

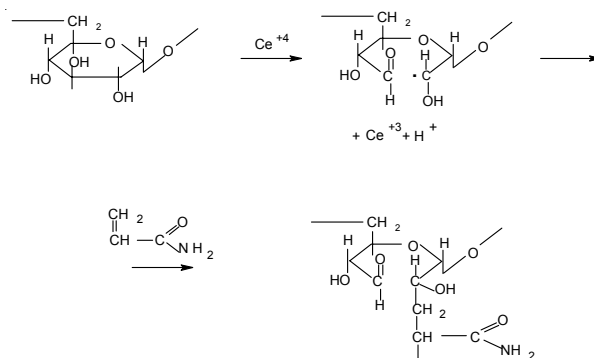
## Експериментальна частина

### Матеріали

Для синтезу використовували Декстран (Leuconostoc) з молекулярною масою  $M_w=500\ 000$  (Д500) Fluka, цератонітрат амонію (IV) Aldrich (США) – ініціатор, Акриламід (AA) Reanal (Угорщина), тричі перекристалізований з хлороформу.

### Синтез прищеплених кополімерів

$Ce^{(IV)}/HNO_3$  редокс-система була вибрана для ініціювання радикальної прищепленої кополімеризації, оскільки в даному разі радикали виникають виключно на полісахаридному ланцюзі і не відбувається гомополімеризація АА [11]. У процесі ініціювання відбувається розрив ковалентного зв'язку  $\text{>C-C<}$ , і радикал утворюється на атомі вуглецю [12]. Реакція прищепленої кополімеризації йде за схемою [6, 12]:



Таблиця 1. Співвідношення компонентів у реакційній суміші в процесі синтезу кополімерів Д-ПАА

| Зразок     | [Ce <sup>4+</sup> ]/[Д], | АА, моль/л | Д, ммоль/л |
|------------|--------------------------|------------|------------|
| Д500-ПАА1к | 25                       | 0,1        | 0,02       |
| Д500-ПАА1д | 25                       | 0,2        | 0,02       |
| Д500-ПАА2к | 50                       | 0,2        | 0,02       |
| Д500-ПАА2д | 50                       | 0,4        | 0,02       |

*Методика синтезу:* 0,02 ммоль Декстрану розчинили у 100 мл води при перемішуванні і продували очищеним аргеном протягом 15 хв. Краплями вводили розчин розрахованої для кожного випадку кількості цератонітрату амонію (IV) у 0,125 N HNO<sub>3</sub>. Мономер АА додавали через 10 хв. після введення ініціатора. Полімеризацію проводили 24 год. за кімнатної температури. Отриманий в'язкий розчин розбавляли водою, потім полімер висаджували ацетоном та ліофільно висушували.

Синтезовано чотири кополімери Д500-ПАА (табл. 1). Зразки Д500-ПАА1 теоретично повинні мати 25 щеплень, Д500-ПАА2 – 50 щеплень. Тобто кополімери Д500-ПАА1 і Д500-ПАА2 різняться відстанню між щепленнями на полісахаридній основі. Довжину щеплень варіювали введенням у реакційну суміш різної кількості мономеру АА. Як видно з табл. 1, кількість мономеру АА збільшували пропорційно кількості щеплень.

*Інструменти і методи*

Утворення прищеплених кополімерів підтверджували гель-проникною хроматографією (SEC) та <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопією.

Хроматограф був оснащений трьома колонками (WATERS) по 30 см (Shodex OH-pak: 803HQ, 804HQ, 806HQ), мультикутовим детектором розсіювання світла DAWN F (WYATT TECHNOLOGY), рефрактометром R410 (WATERS). Як елюент використовували 0,1 М водний розчин NaNO<sub>3</sub>.

<sup>1</sup>H ЯМР-спектри записували на спектрометрі Gemini-200BB (200 МГц). Розчини кополімерів готували у D<sub>2</sub>O.

Елементний аналіз на азот і вуглець використовували для аналізу вмісту декстранової та поліакриламідної компоненти в кополімерах, а також для розрахунку молекулярної маси синтезованих зразків (табл. 2).

Методика розрахунку молекулярної маси за відомою молекулярною масою декстранової компоненти

Таблиця 2. Результати елементного аналізу

| Зразок  | C, %  | N, %  |
|---------|-------|-------|
| ПАА     | 45,01 | 16,79 |
| Д-ПАА1к | 44,17 | 13,09 |
| Д-ПАА1д | 45,22 | 15,86 |
| Д-ПАА2к | 45,09 | 14,99 |

та з урахуванням вмісту азоту та вуглецю у зразках за даними елементного аналізу описана в роботі [6]. Розрахунок молекулярної маси з урахуванням лише вмісту азоту проводився за допомогою розв'язку системи двох рівнянь:

$$\begin{cases} M_K = M_D + N \times M_{AA} \\ X_n = \frac{14 \times N}{M_K} \end{cases}$$

де: M<sub>K</sub> – молекулярна маса кополімеру; M<sub>D</sub> – молекулярна маса декстранової компоненти (M<sub>D</sub>=500 000); N – кількість мономерних ланок акриламідів у кополімері; M<sub>AA</sub> – молекулярна маса мономеру акриламідів (M<sub>AA</sub>=71); X<sub>n</sub> – процентний вміст азоту в кополімері.

Для визначення молекулярних характеристик кополімерів у розчині, а саме середньомасової молекулярної маси M<sub>w</sub>, радіуса інерції R<sub>z</sub> макромолекулярного клубка та другого віріального коефіцієнта A<sub>2</sub>, використовували метод пружного розсіювання світла. Коефіцієнт надлишкового розсіювання вертикально-поляризованого світла у водних розчинах вимірювали на приладі фірми SEMATECH (Франція) з He-Ne лазером (λ=632,8 нм) в області кутів розсіювання від 30 до 150°. Як еталон використовували бензол. Усі розчини і розчинник фільтрували через фільтри Millipore 0,45 мкм безпосередньо у вимірювальну кювету. Результати аналізували за методом Зіма [13], використовуючи рівняння:

$$\frac{KC}{R(q)} = \frac{1}{M_w} \left[ 1 + \frac{q^2}{3} \right] + 2A_2C$$

Інкремент показника заломлення dn/dC розчинів кополімерів для розрахунку оптичної сталої K визначали інтерферометричним методом [14].

Віскозиметричні дослідження проводили за T=298,0 ± 0,1 К у капілярному віскозиметрі Оствальда. Розраховували характеристичну в'язкість [η] за рівнянням [15]:

$$\frac{\eta_{num}}{C} = [\eta] + k_H [\eta]^2 C$$

*Результати та обговорення*

На рис. 1 а, б, як приклад, подана гель-хроматограма кополімеру Д500-ПАА2к. Один пік на хроматограмах кополімерів підтверджує те, що в результаті синтезу та очищення отримали монопродукт. Подальші дослідження синтезованих зразків методом <sup>1</sup>H ЯМР показали, що поряд із сильними сигналами протонів ПАА компоненти кополімеру, а саме метинових груп при 2,2–2,3 ppm та метиленових груп при 1,6–1,7 ppm [16, 17] реєструються характеристичні резонансні піки протонів метиленових і метинових груп глікозидного кільця при 3,4–3,9 ppm і 4,9 ppm, тобто основного декстранового ланцюга. Як приклад, на рис. 2 поданий спектр зразка Д-ПАА1д. Таким

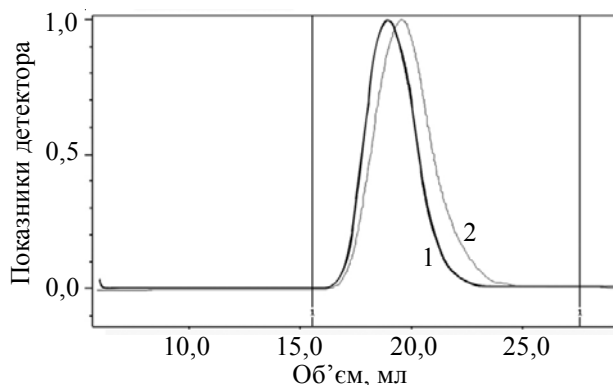


Рис. 1. Хроматограма для кополімеру Д-ПАА2к: 1 – детектор розсіяння світла, 2 – рефрактометричний детектор

чином, базуючись на даних гель-хроматографії та  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопії, можна стверджувати, що синтезовані зразки – прищеплені кополімери Д-ПАА.

В табл. 2 подані результати елементного аналізу на вуглець та азот для індивідуальних ПАА, Декстрану та прищеплених кополімерів Д-ПАА. При порівнянні вмісту вуглецю та азоту в індивідуальних ПАА, Декстрані та прищеплених кополімерах, однозначно можна сказати, що в результаті синтезу отримано прищеплені кополімери. В табл. 3 подана молекулярна маса кополімерів Д-ПАА, розрахована за даними елементного аналізу (табл. 2) за методикою, описаною в роботі [6] з урахуванням відомої молекулярної маси полісахаридної основи, вмісту вуглецю та азоту в кополімерах та за іншою методикою, з урахуванням молекулярної маси Декстрану та вмісту лише азоту. Результат буде обговорений далі у порівнянні з молекулярною масою кополімерів, визначеною методом світлорозсіювання та гель-проникної хроматографії.

В табл. 3 також подані молекулярні параметри кополімерів, розраховані за даними світлорозсіювання, гель-проникної хроматографії та віскозиметрії. Як видно, існує кореляція між молекулярною масою кополімерів Д-ПАА, визначеною методами світлорозсіювання та гель-хроматографії, але значення кардинально різняться від величини молекулярної маси, розрахованої за даними елементного аналізу. Причому, молекулярна маса кополімерів, розрахована за двома методиками, також різна. Як було показано нами раніше [6], розрахунок молекулярної маси за

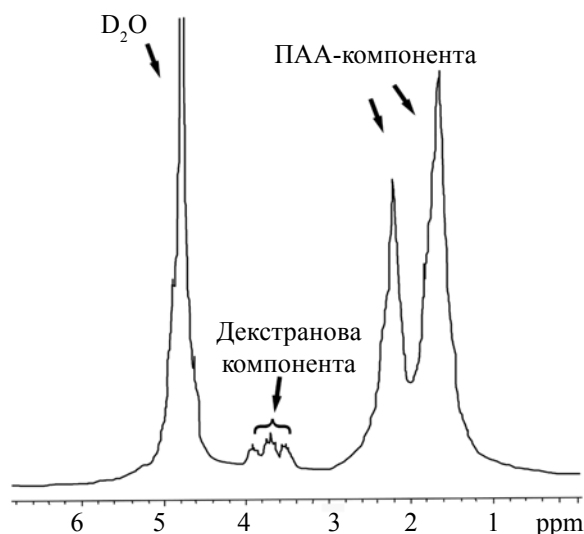


Рис. 2.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр зразка Д-ПАА1д

даними елементного аналізу для зіркоподібних прищеплених кополімерів Д-ПАА некоректний. Однією з причин було названо мізерний вміст декстранової компоненти в кополімерах (<1 %), а саме на основі відомої маси Декстрану базувались подальші розрахунки. Подані в табл. 3 результати показали, що навіть для щіткоподібних кополімерів Д500-ПАА, коли вміст полісахаридної компоненти значний (>25 %), розрахунок також некоректний. Слід звернути увагу на те, що теоретичний розрахунок вмісту вуглецю, азоту і водню в індивідуальних ПАА та Декстрані дещо різниться від даних елементного аналізу (табл. 4), тобто при розрахунку молекулярної маси кополімеру за даними елементного аналізу похибки вмісту елементів у зразках приводять до некоректності розрахунків, причому, як видно (табл. 3), при розрахунку молекулярної маси за двома елементами (N і C) похибки накладаються, тому і результат більше відрізняється від молекулярної маси, визначеної експериментально.

Отже, елементний аналіз можна використовувати лише для якісної оцінки складу складних систем, якими є прищеплені кополімери.

На рис. 3 а, б, як приклад, подані діаграми Зіма для двох зразків, за якими були розраховані основні молекулярні характеристики кополімерів, подані в табл. 3. Значення  $A_2$  свідчить про те, що макромолекули Д-ПАА в розбавленому розчині мають розгорнуту

Таблиця 3. Молекулярні параметри кополімерів, розраховані за даними елементного аналізу, світлорозсіювання та гель-проникаючої хроматографії

| Зразок  | $M \cdot 10^{-6}$ |            | $M_w \cdot 10^{-6}$ |      | $M_w/M_n$<br>SEC |
|---------|-------------------|------------|---------------------|------|------------------|
|         | Ел.ан. (C, N)     | Ел.ан. (N) | SEC                 | LS   |                  |
| Д-ПАА1к | 1,8               | 1,49       | 1,47                | 1,36 | 1,85             |
| Д-ПАА1д | 4,5               | 2,57       | 3,12                | 2,69 | 1,63             |
| Д-ПАА2к | 3,02              | 2,83       | 1,43                | 1,24 | 1,75             |
| Д-ПАА2д | 6,85              | 3,26       | 2,40                | 1,72 | 1,96             |

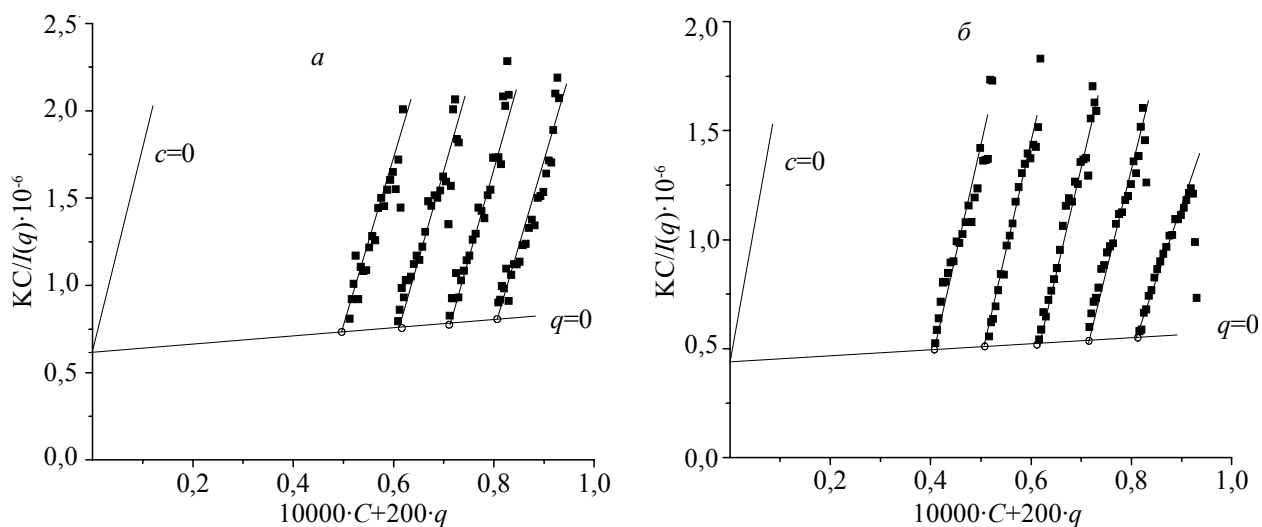


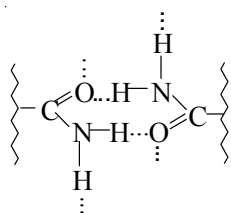
Рис. 3. Діаграми Зіма для Д-ПАА1к (а) і Д-ПАА1д (б)

Таблиця 4. Вміст вуглецю та азоту у ПАА та Декстрані за даними елементного аналізу та теоретично розраховані

| Зразок   | Теор. розрах. |      |      | Елем.аналіз |       |      |
|----------|---------------|------|------|-------------|-------|------|
|          | C, %          | N, % | H, % | C, %        | N, %  | H, % |
| Декстран | 44,4          | -    | 6,2  | 42,0        | -     | 6,6  |
| ПАА      | 50,7          | 19,7 | -    | 45,0        | 16,79 | 7,04 |

конформацію. Існує добра кореляція між розмірами макромолекулярного клубка за даними світлорозсіювання та віскозиметрії (табл. 3, рис. 4).

Відхилення від прямолінійної залежності концентраційних кривих при великих кутах розсіювання на діаграмі Зіма (рис. 2) свідчить про утворення певних інtermолекулярних структур. Очевидно, це обумовлено особливістю розгалуженої архітектури синтезованих зразків, їх розгорнутою конформацією у розчині, а також наявністю амідних груп на прищеплених ланцюгах кополімерів, здатних до утворення водневих зв'язків:



Таблиця 5. Молекулярні параметри кополімерів, розраховані за даними світлорозсіювання, гель-хроматографії та віскозиметрії

| Зразок  | $R_z$ , нм | $A_2 \cdot 10^4$ , см <sup>3</sup> /г | $R_z$ , нм | $A_2 \cdot 10^4$ , см <sup>3</sup> /г | [?], дл/г |
|---------|------------|---------------------------------------|------------|---------------------------------------|-----------|
|         | LS         | LS                                    | SEC        | SEC                                   |           |
| Д-ПАА1к | 67         | 3,01                                  | 84,7       | 0                                     | 3,0       |
| Д-ПАА1д | 85         | 2,65                                  | 137,5      | 0                                     | 4,7       |
| Д-ПАА2к | 67         | 2,96                                  | 77,1       | 0                                     | 3,1       |
| Д-ПАА2д | 76         | 2,89                                  | 106,6      | 0                                     | 4,0       |

Саме цей ефект пояснює проблеми з фільтрацією зразків через фільтри Millipore в області концентрацій  $C \geq 0,02\%$  при підготовці розчинів для експерименту зі світлорозсіювання, а також той факт, що значення  $A_2$  та радіусів інерції  $R_z$  (табл. 5), отримані методом світлорозсіювання та гель-хроматографії дещо відрізняються. Причиною такої розбіжності є різне приготування розчинів для вищезгаданих експериментів. Для світлорозсіювання розчини нагрівались до 50 °С, потім охолоджувались до кімнатної температури ( $A_2 > 0$ ). Для гель-проникної хроматографії та віскозиметрії розчини готувалися при кімнатній температурі ( $A_2 = 0$ ), тому  $A_{2(LS)} > A_{2(SEC)}$  та  $R_{z(LS)} < R_{z(SEC)}$ .

Як видно з табл. 3, молекулярна маса зразків, розрахована за даними світлорозсіювання та гель-проникної хроматографії в парах Д-ПАА1к - Д-ПАА2к та Д-ПАА1д - Д-ПАА2д практично однакова. Проте за навантаженням синтезу (табл. 1), у зразках серії Д-ПАА2 молекулярна маса повинна була бути вищою. На нашу думку, причиною розбіжності теоретично передбачених і отриманих молекулярних характеристик кополімерів Д-ПАА може бути макромолекулярна структура декстрану в розчині. Декстран складається із залишків D-глюкози, які з'єднані переважно  $\alpha$ -1,6-зв'язками, що забезпечує більшу гнучкість ланцюга у порівнянні з такими жорстколанцюговими полісахаридами як целюлоза та агароза [18]. Відомо, що макромолекули декстрану у розчині мають клубкоподібну, досить компактну конформацію за рахунок утворення

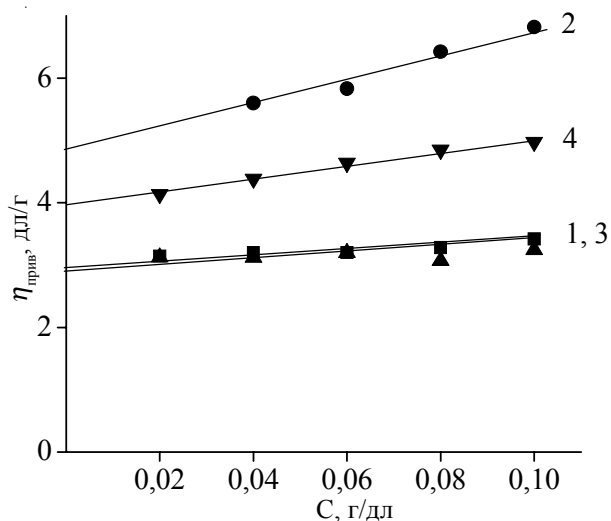


Рис. 4. Концентраційна залежність приведеної в'язкості для Д-ПАА1к (1), Д-ПАА1д (2), Д-ПАА2к (3) і Д-ПАА2д (4)

внутрішньомолекулярних водневих зв'язків. Очевидно, що така особливість молекулярної структури декстрану утруднює проникнення ініціатора всередину макро клубка, тому реакційно здатними залишаються лише гідроксильні групи глікозидного кільця, які знаходяться на поверхні макро клубка (рис. 5). Однак відомо [19], що ініціатор може як створювати активні центри на полімерному ланцюзі, так і обривати зростаючий ланцюг. Очевидно, при збільшенні кількості ініціатора в 2 рази при синтезі кополімерів серії Д-ПАА2 (табл. 1), він витрачався не лише на утворення активних центрів на полісахаридному ланцюзі, а й брав участь в обриві ПАА ланцюгів.

#### Висновки

Синтезовано щіткоподібні кополімери декстран-поліакриламід з різною кількістю щеплень при варіюванні

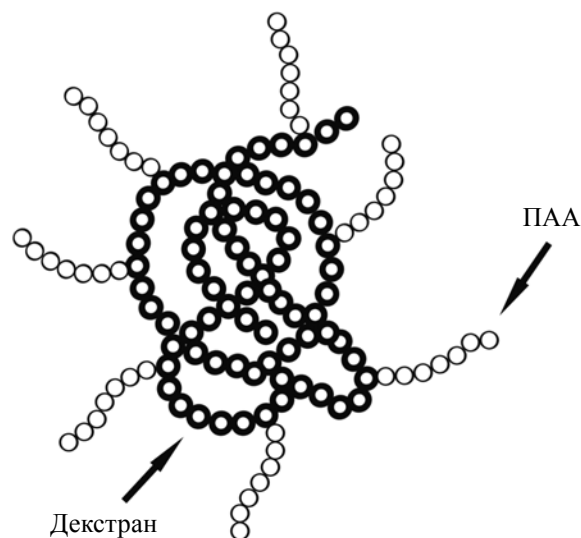


Рис. 5. Схематичне зображення макромолекули Д-ПАА

їх довжини. Виявлено, що кополімери Д-ПАА, завдяки нелінійній архітектурі та розгорнутій конформації в розчині, здатні до утворення інтрамолекулярних структур навіть у розведеному розчині. Доведено, що на процес кополімеризації впливає не лише кількість введеного ініціатора, а й вихідна конформація Декстрану.

Робота виконана за підтримки гранту французького уряду за програмою CFUCUS.

*Автори вдячні проф. Ж-М. Гене (J-M. Guenet) інституту Шарля Садрона, CNRS, м. Страсбург, Франція за консультацію при обговоренні результатів світлорозсіювання та А. Рамо (A. Rameau) за гел-хроматографічне дослідження кополімерів.*

## Література

1. Klushin L.I., Birshstein T.M., Amoskov V.M. // *Macromolecules*. – 2001. – **34**. – P. 9156–9167.
2. Borisov O.V., Zhulina E.V. // *Macromolecules*. – 2005. – **38**. – P. 2506–2514.
3. Бектуров Е.А., Бакаурова З.Х. Синтетические водорастворимые полимеры в растворах. – Алма-Ата: Наука, 1981.
4. Singh R.P., Pandey J.K., Rutot D., Degee Ph., Dubois Ph. // *Carbohydrate Research*. – 2003. – **338**. – P. 1759–1769.
5. Bader H., Ringsdorf H., Schmidt B. // *Angew. Macromol. Chem.* – 1984. – **123/124**. – P. 457.
6. Kutsevol N., Guenet J.-M., N. Melnik N. et al. // *Polymer*. – 2006. – **47**. – P. 2061.
7. Куцевол Н.В., Вітовецька Т.В., Висоцька В.І., Єжова Т.Г. // *Вопросы химии и хим. технологии*. – 2006. – № 2. – С. 57–60.
8. Zharmagambetova A.K., Bekturov E.A. // *Reactive Polymers*. – 1994. – **24**. – P. 21–25.
9. Zharmagambetova A.K., Golodov V.A., Saltykov Yu. P. // *J. Mol. Catal.* – 1989. – **55**. – P. 406–414.
10. Помогайло А.Д. // *Кинетика и катализ*. – 2004. – **45**. – № 1. – С. 67–114.
11. Owen D.R., Shen T.C. *Structure Solubility Relationship in polymers*. / Eds Harris F.W., Seymour R.P. – New York: Academic Press, 1977.
12. Hinta H.Z., Jonson D.C. // *J. Org. Chem.* – 1967. – **32**, № 3. – P. 556–564.
13. Эскин В.Е. *Рассеяние света растворами полимеров и свойства макромолекул*. – М.: Химия, 1990. – 256 с.
14. Рафиков С.Р., Будтов В.П., Монаков Ю.Б. *Введение в физико-химию растворов полимеров*. – М.: Наука, 1978. – 328 с.
15. Твердохлебова И.И. *Конформация макромолекул*

(вискозиметрический метод оценки). – М.: Химия, 1981. – 284 с.

16. Li-Qun Wang, Kehua Tu, Yuping Li et al. // *Reactive & Functional Polymers*. – 2002. – **53**. – Issue 1. – P. 19–27.

17. John E. Lancaster, Michael N. O'Connor // *Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition*. – 1982. – **20**. – P. 547–550.

18. Преображенская М.Е. // *Успехи биологической химии*. – 1975. – **16**. – С. 214–235.

19. Гетьманчук Ю.П. *Полімерна хімія. (Ч.1. Радикальна полімеризація)*. – К.: ВЦ “Київський університет”, 1999. – 143 с.

*Надійшла до редакції 20 січня 2007 р.*

## **Полимерные щетки Декстран-Полиакриламид. Синтез, идентификация и определение молекулярных параметров**

*Н.В. Куцевол, Р.С. Сушко, Н.П. Мельник*

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко  
60, ул. Владимирская, Киев, 01033, Украина

*Методом радикальной сополимеризации с использованием  $Ce^{(IV)}/HNO_3$  редокс-системы для инициирования синтезированы щёткоподобные сополимеры Декстран-Полиакриламид с длинной основной полисахаридной цепью и разным количеством прививок при варьировании их длины. Методами гель-проникающей хроматографии и упругого светорассеяния были определены молекулярные параметры сополимеров в растворе. Показано, что синтезированные сополимеры имеют развернутую конформацию, а также способны к образованию интрамолекулярных структур. Показано, что на процесс сополимеризации влияет не только количество введенного инициатора, но и исходная конформация Декстрана в растворе.*

## **Polymer brushes Dextran-graft-Polyacrylamide. Synthesis, identification and molecular parameters determination**

*N.V. Kutsevol, R.S. Soushko, N.P. Melnyk*

Taras Shevchenko National University  
60, Volodymyrska str., Kyiv, 01033, Ukraine

*Polymer brushes Dextran-graft-Polyacrylamide copolymers with long polysaccharide backbone and various amount and length of PAA-grafts were synthesised by radical polymerization using  $Ce(IV)/HNO_3$  redox system. The molecular parameters in aqueous solution were determined by self-exclusion chromatography and light scattering methods. It was established that these graft copolymers have expanded conformation in solution and are able to intramolecular structure formation. It was shown that grafting efficiency is conditioned by amount of initiator and Dextran coil-like conformation in solution.*