

С. М. Варваренко, Н. В. Фігурка, В. Я. Самарик, А. С. Воронов,  
І. Т. Тарнавчик, Н. Г. Носова, І. А. Дронь, Р. С. Тарас,  
С. А. Воронов

## Синтез та поверхнево-активні властивості нових поліестерів — псевдополіамінокислот на основі природних двохосновних $\alpha$ -амінокислот

(Представлено членом-кореспондентом НАН України Ю. Ю. Керчею)

*Розроблено новий метод синтезу псевдополіамінокислот на основі природних двохосновних амінокислот — глутамінової, аспарагінової та діолів поліоксіетиленового та поліоксипропіленового ряду через реакцію Стегліха. Структура та властивості нових біодеградабельних, нетоксичних поліестерів схарактеризовані ПМР та ІЧ спектроскопією, гелпроникною хроматографією. Синтезовані псевдополіамінокислоти мають певний гідрофільно-ліпофільний баланс та проявляють відповідні поверхнево-активні властивості. Полімерні дисперсії амфифільних поверхнево-активних поліестерів — псевдополіамінокислот представляють інтерес для використання як нано- і мікроконтейнери цільового транспорту ліків.*

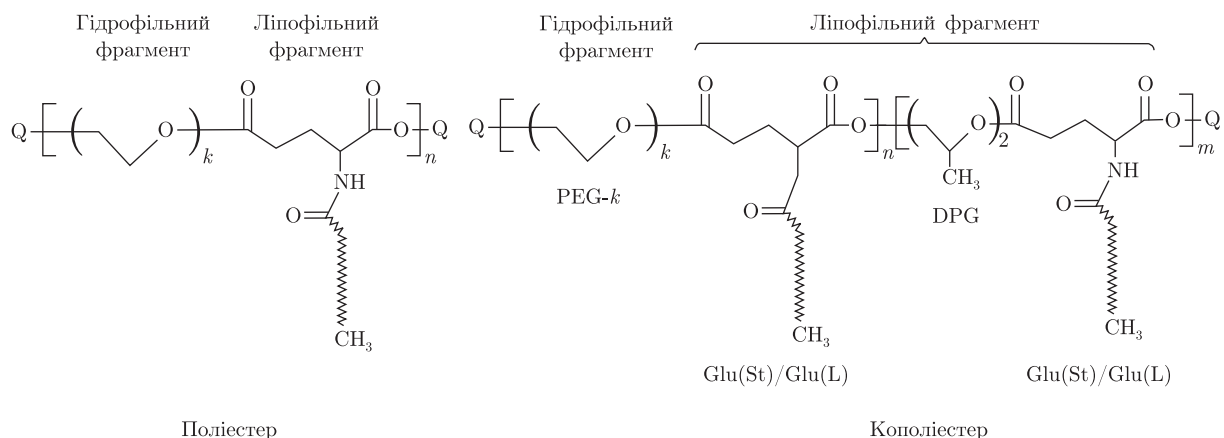
В останні роки спостерігається стрімкий розвиток полімерної хімії в області створення нових полімерних матеріалів для медичного застосування. Особливий інтерес представляють полімери, які отримали назву “псевдополіамінокислоти”. На відміну від поліамінокислот вони містять в основному ланцюзі уретанові, естерні, ангідридні та інші хімічні зв’язки [1–3]. Для створення полімерних систем доставки ліків відзначають так звані псевдополіамінокислоти (ППАК), які містять естерні зв’язки. Перевага їх полягає в тому, що вони є біодеградабельними і при введенні в організм не викликають імунної реакції. У роботах [4–6] є відомості про синтез ППАК поліестерного типу, макромолекули яких побудовані із залишків серину, лізину, тирозину та інших амінокислот. Розвиваються дослідження з синтезу ППАК на основі двохосновних амінокислот та діолів [7].

Метою даної роботи було розроблення нового методу синтезу нових поліестерів — ППАК через реакцію Стегліха з використанням як реагентів природних двохосновних  $\alpha$ -амінокислот і поліестерів діолів різної природи та дослідження їх фізико-хімічних і поверхнево-активних властивостей.

На схемі 1 наведено загальні структурні формули ППАК, з якої видно, що в макромолекулі мономерні залишки об’єднані естерним зв’язком, який забезпечує гнучкість макромолекули та визначає можливість її біодеструкції. В наведених структурах залишки N-заміщеної глутамінової кислоти та дипропіленгліколю відіграють роль ліпофільних фрагментів, а поліоксіетиленові фрагменти — гідрофільних, що надає макромолекулі поверхнево-активні властивості.

---

© С. М. Варваренко, Н. В. Фігурка, В. Я. Самарик, А. С. Воронов, І. Т. Тарнавчик, Н. Г. Носова, І. А. Дронь, Р. С. Тарас, С. А. Воронов, 2013



Разом з тим ППАК об'єднують відомі переваги поліетерів діолів (поліетиленгліколю, поліпропіленгліколю) як складових полімерних ПАР для доставки ліків [8–11] та унікальні властивості амінокислот: біосумісність, нетоксичність, контрольоване вивільнення продуктів деградації. Через регулювання молекулярних мас ліпофільного та поліоксіетиленового фрагментів можна управляти поверхнево-активними властивостями амфифільних полімерних молекул та отримувати ієрархії наносистем полімерних дисперсій різноманітної будови для використання як нано- і мікроконтейнерів цільового транспорту ліків.

**Експериментальна частина.** *Реагенти та розчинники.* Поліетиленгліколи (PEG-300, PEG-600, PEG-1000 та PEG-2000), діетиленгліколь (DEG), дипропіленгліколь (DPG) використовували виробництва фірми “Aldrich” після осушки азеотропною відгонкою бензолу.

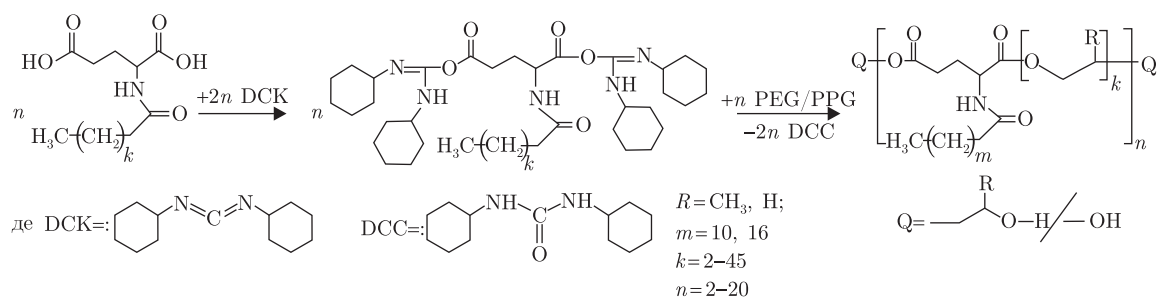
N-ацетилглутамінову кислоту (Glu(Ac)), N,N'-дициклогексилкарбодіїмід (DCK) виробництва фірми “Aldrich” застосовували без додаткової очистки. N-стеарилглутамінову кислоту (Glu(St)), N-лаурилглутамінову кислоту (Glu(L)) отримували та очищали за методикою [12], а розчинники за методиками [13, 14].

*Синтез поліестерів.* Синтез ППАК проводили через взаємодію діолу і N-захищеної глутамінової кислоти (при різних співвідношеннях реагентів), у розчині безводного метилену хлористого. Розчин охолоджували до 280 K, при перемішуванні доливали відповідну кількість 4-диметиламінопіридину (DMAP) та дициклогексилкарбодіїмиду (DCK) у вигляді розчинів у цьому самому розчиннику. Реакційну суміш витримували при 288 K впродовж 3-х год та прогрівали ще 3 год при 308 K. Дициклогексилсечовину (DCC) відділяли фільтруванням, а розчин полімеру упарювали. Для очистки поліестерів від каталізатора та залишків DCK готували їх розчини у бензолі, тричі промивали 15%-м розчином NaCl у 0,1N HCl, 15%-м водним розчином NaCl до нейтрального рН, сушили над сульфатом магнію, фільтрували і упарювали. Вихід полімеру 92–99%. Отримані полімери є твердими, легкотопкими аморфними речовинами, безбарвними або солом'яного кольору.

*Методи досліджень.* <sup>1</sup>H ЯМР спектри полімерів отримували при застосуванні приладу JEOL's ECA Series Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectrometer, ІЧ-спектри мономерів і полімерів — при застосуванні приладу Thermo Scientific Nicolet 8700. Розмір частинок вимірювали на приладі Zeta Sizer Nano-ZS90 (Malvern). Молекулярну масу визначали гелпроникною хроматографією з використанням хроматографа Waters Corporation. Поверхневий натяг визначали методом Дю-Нуї.

**Результати та їх обговорення.** Реакція Стегліха широко використовується в органічному синтезі для формування естерної групи (схема 2). Особливості її перебігу в синтезі

низькомолекулярних сполук є достатньо дослідженими. Разом з тим є небагато робіт, які описують застосування даної реакції в синтезі поліестерів, зокрема на основі молочної кислоти.



Проте відсутні відомості про застосування естерифікації Стегліха для синтезу поліестерів на основі дикарбонових амінокислот. Реакцію незворотної поліконденсації через реакцію Стегліха можна представити схемою 2.

Нами досліджено особливості даної реакції при синтезі поліестерів на основі похідних природних двоосновних  $\alpha$ -амінокислот N-стеарил-глутамінової (Glu(St)) або N-лаурил-глутамінової кислот (Glu(L)) з діолами поліоксіетиленового (PEG- $k$ ) та/або поліоксипропіленового ряду (PPG- $k$ ).

Перша стадія (за схемою 2) — активація карбоксильної групи за допомогою DCC з утворенням активованої форми двоосновної кислоти; друга — утворення поліестеру за реакцією поліконденсації (при завантаженні реагентів у кількостях, близьких до еквімолярних). При цьому з реакційної суміші виділяється DCC, яка практично нерозчинна в більшості органічних розчинників. Це дає змогу гравіметрично відслідковувати глибину перебігу поліконденсації (конверсію).

Нами встановлено, що синтез поліестерів прямою нерівноважною гетерополіконденсацією за реакцією Стегліха описується загальними закономірностями поліконденсаційних процесів, у яких ступінь поліконденсації визначається еквівалентним або близьким до еквівалентного співвідношенням реагентів та їх конверсією. Тому будь-які реакції, які можуть змінити співвідношення реагентів у реакції поліестерифікації, будуть мати значний вплив на ступінь поліконденсації. Встановлено, що такими процесами при проведенні реакції Стегліха є побічні реакції активованої форми карбоксильної групи — циклізації, перегрупування активного естеру в неактивну ацилсечовину. Вони набувають особливої ваги при співвідношеннях реагентів, близьких до еквівалентного, що є однією з основних умов отримання полімеру.

Основним чинником, який перешкоджає отриманню поліестерів за реакцією Стегліха, є перегрупування активованої DCC карбоксильної групи в неактивну ацилсечовину. Цей процес, з одного боку, спотворює задане співвідношення реагентів (гідроксильних і карбоксильних груп), а з іншого — приводить до отримання неактивних у процесі поліестерифікації кінцевих груп макромолекул, які нездатні продовжувати матеріальний ланцюг. Отже, ступінь поліестерифікації значною мірою визначається співвідношенням швидкостей двох паралельних елементарних реакцій: утворення естерних зв'язків і перегрупування в пасивну ацилсечовину. Усі фактори, які сприяють перебігу першої реакції та уповільнюють другу, спричиняють підвищення ступеня поліконденсації ППАК. У першу чергу — це використання нуклеофільної домішки, за якої найкращі результати показує 4-диметиламінопіридин (DMAP).

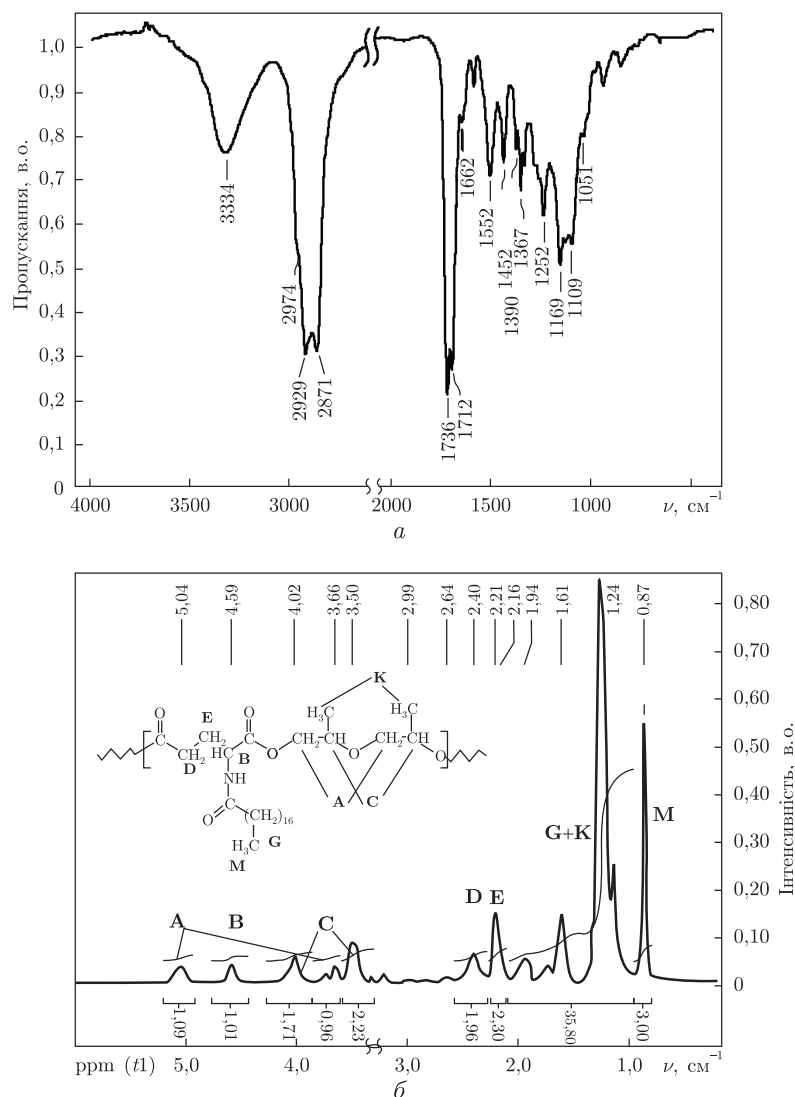


Рис. 1. Спектри зразків поліестерів: *a* — ІЧ-спектр зразка co-Glu(St)-co-PEG-300; *b* — ПМР-спектр зразка co-Glu(St)-co-DPG у дейтерованому бензолі

У результаті проведених досліджень встановлено умови оптимального проведення цієї реакції: температура 286–291 К; використання надлишку гідроксильних груп — до 20% щодо карбоксильних груп; загальна концентрація реагентів 1–3 моль/л; кількість ДСК 10% надлишку до кількості карбоксильних груп, DMAP 5–15% мольних від кількості ДСК. Встановлено, що проведення реакції поліестерифікації в оптимізованих умовах мінімізує побічні процеси. При цьому поліестерифікація за реакцією Стегліха, особливо при використанні стеарильного та лаурильного захисту аміногрупи, проходить з високими виходами, здатними забезпечити високу ступінь поліконденсації синтезованих ППАК ( $M_n = 15000\text{--}20000$  г/моль).

Структура нових поліестерів підтверджена методами ПМР та ІЧ спектроскопії. Типовий ІЧ-спектр кополімеру co-Glu(St)-co-PEG-300, на якому також зроблено віднесення основних смуг поглинання, сукупність яких відповідає структурі кополімеру, ілюструє рис. 1, *a*. На рис. 1, *b* наведено типовий ПМР-спектр кополімеру co-Glu(St)-co-DPG з віднесенням сигналів, що разом з аналізом відношення їх інтегралів підтверджує структуру кополімеру.

Синтезовані ППАК при наявності в структурі гідрофільних та ліпофільних фрагментів мають певний гідрофільно-ліпофільний баланс (ГЛБ) і проявляють поверхнево-активні властивості. Залежності максимального зниження поверхневого натягу водних дисперсій синтезованих ППАК від їх структури ілюструє рис. 2, з якого видно, що поліестери co-Glu(St)-co-DPG, co-Glu(St)-co-DEG практично не є поверхнево-активними. Встановлено, що регулювання ГЛБ через збільшення величини гідрофільного фрагмента в кополімерах 1–4 (ГЛБ від 3,2 до 8,3) незначною мірою дозволяє підвищити їх поверхневу активність. Очевидно, що збільшення поверхневої активності ППАК за таким методом приводить до необхідності використання як реагенту PEG з молекулярною масою більше 3000 г/моль. Це істотно ускладнює синтез та очистку ППАК. Зменшення величини ліпофільного фрагмента в зразку полімеру 5 практично не впливало на його поверхневу активність (див. рис. 2).

Однак було встановлено, що підвищення поверхневої активності ППАК можна забезпечити за рахунок зміни структури поліестеру. Так, на стадії синтезу частину (50% (моль)) PEG було замінено на DPG і в результаті проведення реакції за схемою 2 отримано кополіестер (див. схему 1). Контроль за входженням у структуру кополіестеру DPG і PEG здійснювали методом ПМР спектроскопії за наявності характерних для них сигналів. Встановлено, що введення в склад кополіестеру фрагментів DPG спричинює зміни його поверхнево-активних властивостей (див. кополіестери 6, 7, 8, 9, ГЛБ = 2,0–15,3 на рис. 2).

При цьому, якщо кополімер co-Glu(St)-co-PEG300 (3) знижує поверхневий натяг води лише до 58,2 мН/м і не дає стійких полімерних дисперсій, то co-Glu(St)-co-DPG-co-PEG300 (6) знижує його до 52,4 мН/м з утворенням стійкої дисперсії. Решта кополіестерів цього ряду (див. кополіестери 7, 8, 9) утворюють агрегативно стійкі полімерні дисперсії. Найбільше зниження поверхневого натягу спостерігається у водних дисперсіях co-Glu(St)-co-DPG-co-PEG600(7) та co-Glu(St)-co-DPG-co-PEG1000 (8).

На рис. 3 наведено ізотерми поверхневого натягу для ряду кополіестерів загальної структури (див. схему 1, кополіестер). Видно, що для даного типу кополіестерів характерні ізотерми поверхневого натягу з двома перегинами. Ординату першого перегину (на рис. 3 ККМ<sub>1</sub>) можна інтерпретувати як критичну концентрацію міцелоутворення, а другого — як концентрацію, при якій в дисперсній фазі відбуваються структурні перетворення.

Можливі структурні перетворення дисперсної фази зі збільшенням концентрації кополіестеру було розглянуто через аналіз даних динамічного світлорозсіювання. Так, рис. 4 демонструє гістограми розподілу частинок дисперсної фази за розміром (див. *B*) при концентрації в області значень ККМ<sub>2</sub>, а третій (див. *B*) — при концентрації, що значно перевищує ККМ<sub>2</sub>. Перші два розподіли частинок дисперсної фази мають бімодальний характер з розміром основної фракції 200 нм та фракцією, що відповідає частинкам 600–850 нм. При цьому з ростом концентрації дисперсної фази спостерігається поступове збільшення частки частинок, що за розміром відповідають другій фракції. Аналіз наведених розподілів сумісно з ізотермами поверхневого натягу показує, що при перевищенні концентрації кополіестеру у воді (більше за ККМ<sub>1</sub>) формуються частинки дисперсної фази з розміром 200 нм. Подальше збільшення концентрації полімеру приводить до зростання розміру частинок, а не збільшення їх кількості. При концентраціях полімеру (вищих за ККМ<sub>2</sub>) дисперсія складається тільки з частинок другої фракції 600–850 нм (див. *B*).

Таким чином, з використанням реакції Стегліха розроблено метод синтезу поліестерів та кополіестерів на основі N-заміщених природних двохосновних  $\alpha$ -амінокислот та діолів поліоксіетиленового та поліоксипропіленового ряду.

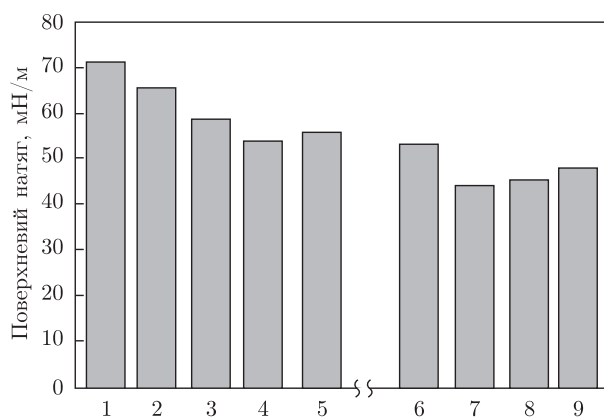


Рис. 2. Залежність поверхневого натягу водних розчинів ППАК від їх структури.

*Поліестери:* (див. схему 1, поліестер): 1 – co-Glu(St)-co-DPG; 2 – co-Glu(St)-co-DEG; 3 – co-Glu(St)-co-PEG300; 4 – co-Glu(St)-co-PEG600; 5 – co-Glu(L)-co-PEG300.

*Кополіестери:* (див. схему 1, кополіестер): 6 – co-Glu(St)-co-DPG-co-PEG300; 7 – co-Glu(St)-co-DPG-co-PEG600; 8 – co-Glu(St)-co-DPG-co-PEG1000; 9 – co-Glu(St)-co-DPG-PEG2000

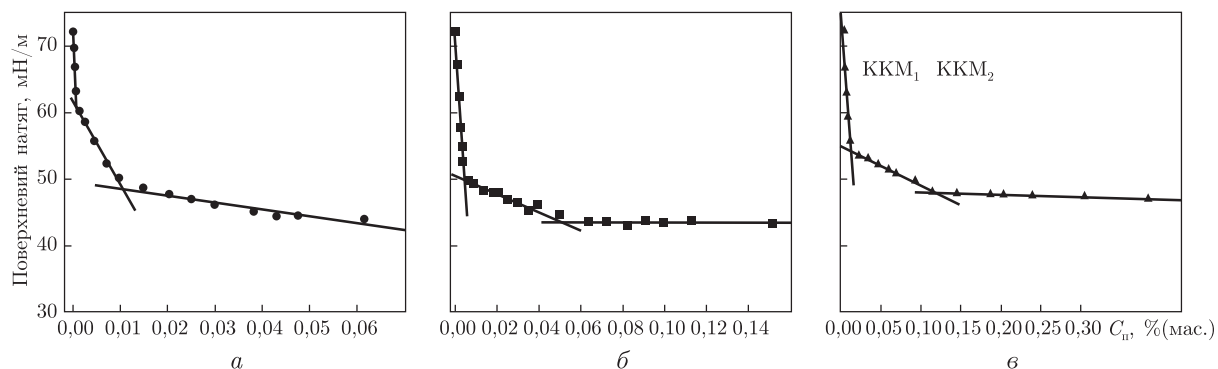


Рис. 3. Ізотерми поверхневого натягу кополіестерів co-Glu(St)-co-DPG-co-PEG-k;  $k = 600$  (а),  $k = 1000$  (б),  $k = 2000$  (в) при 293 К

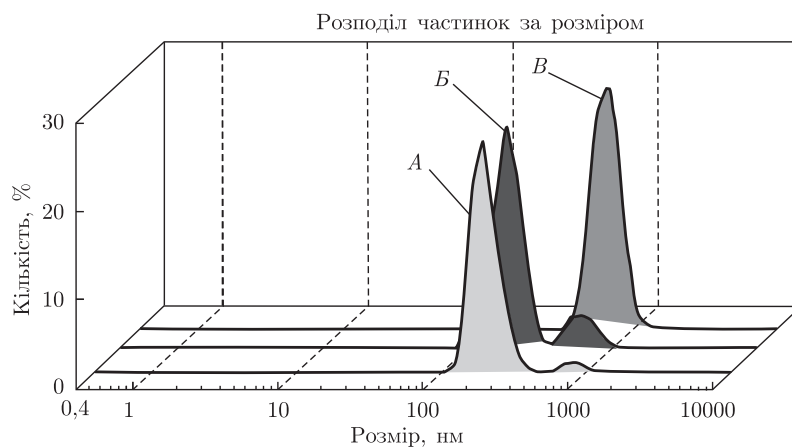


Рис. 4. Гістограми розподілу частинок дисперсної фази поліестеру co-Glu(St)-ко-DEG-ко-PEG1000 за розміром при різних концентраціях полімеру (A – 0,02%, B – 0,05%, B – 0,1%)

Нові поліестери — псевдополіамінокислоти завдяки наявності в структурі гідрофільних та ліпофільних фрагментів мають певний гідрофільно-ліпофільний баланс та проявляють відповідні поверхнево-активні властивості. Із збільшенням концентрації полімеру в розчині ізотерми поверхневого натягу мають два перегини. Це вказує на те, що зі збільшенням концентрації відбувається формування частинок дисперсної фази більшого розміру.

1. *Kohn J., Langer R.* A new approach to the development of biodegradable polymers for controlled release applications employing naturally occurring aminoacids // *Polym. Mater., Sci. and Eng.* – 1984. – **51**. – P. 119–121.
2. *Romberg B., Metselaar J., Baranyi L. et al.* Poly(aminoacids): Promising enzymatically degradable stealth coatings for liposomes // *Intern. J. Pharmaceut.* – 2007. – **331**. – P. 186–189.
3. *Гершкович А. А., Кубирев В. К.* Синтез пептидов. Реагенты и методы. – Киев: Наук. думка, 1987. – 264 с.
4. *Kohn J.* Design, synthesis, and possible applications of pseudo-poly( amino acids) // *Trends Polym. Sci.* – 1993. – **1**. – P. 206–212.
5. *Bourke S. L., Kohn J.* Polymers derived from the amino acid L-tyrosine: polycarbonates, polyarylates and copolymers with poly(ethylene glycol) // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* – 2003. – **55**. – P. 447–466.
6. *Tangpasuthadol V., Shefer A., Hooper K., Kohn J.* Thermal properties and physical aging behavior of tyrosine-derived polycarbonates // *Biomaterials.* – 1996. – **17**, No 4. – P. 463–468.
7. *Won C. Y., Chu C. C., Lee J. D.* Novel biodegradable copolymers containing pendant amine functional groups based on aspartic acid and poly(ethylene glycol) // *Polymer.* – 1998. – **39**, No 25. – P. 6677–6681.
8. *Osada K., Christie R. J., Kataoka K.* Polymeric micelles from poly(ethylene glycol) – poly(amino acid) block copolymer for drug and gene delivery // *Jap. J. R. Soc. Int.* – 2009. – No 6. – P. 325–339.
9. *Alexandridas P., Lindman B.* Amphiphilic block copolymers: Self-assembly and applications. – Amsterdam: Elsevier Sci., 2000. – 131 p.
10. *Nasongkla N., Bey E., Ren J. et al.* Multifunctional polymeric micelles as cancer-targeted, MRI-ultrasensitive drug delivery systems // *Nano-Lett.* – 2006. – No 6. – P. 27–30.
11. *Alexandridis P., Holzwarth J. F., Hatton T. A.* Micellization of poly(ethylene oxide) – poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymers in aqueous solutions: Thermodynamics of copolymer association // *Macromolecules.* – 1994. – No 27. – P. 2414–2425.
12. *Zhang Y., Song Y., Zhao Y. et al.* Chiral Discrimination in langmuir monolayers of N-acyl glutamic acids inferred from  $\pi$ -A measurements and atomic force microscopy // *Langmuir.* – 2001. – **27**, No 5. – P. 1317–1320.
13. *Вайсберг А., Проскауэр Э., Риддис Д.* Органические растворители. – Москва: Изд-во иностр. лит. – 1958. – 519 с.
14. *Гордон А., Форд Э.* Спутник химика. – Москва: Мир, 1976. – 542 с.

Національний університет “Львівська політехніка”

Надійшло до редакції 06.02.2012

**С. М. Варваренко, Н. В. Фигурка, В. Я. Самарик, А. С. Воронов,  
И. Т. Тарнавчик, Н. Г. Носова, И. А. Дронь, Р. С. Тарас, С. А. Воронов**

**Синтез и поверхностно-активные свойства новых полиэфиров —  
псевдополиаминокислот на основе природных двухосновных  
 $\alpha$ -аминокислот**

*Разработан новый метод синтеза псевдополиаминокислот на основе природных двухосновных аминокислот — глутаминовой, аспарагиновой и диолов полиоксиэтиленового и полиоксипропиленового ряда через реакцию Стеглица. Структура и свойства новых биодегра-*

*дабельных, нетоксичных полиэфиров охарактеризованы ПМР и ИК спектроскопией, гелепроникающей хроматографией. Синтезированные псевдополиаминокислоты имеют определенный гидрофильно-липофильный баланс и проявляют соответствующие поверхностно-активные свойства. Полимерные дисперсии амфифильных поверхностно-активных полиэфиров – псевдополиаминокислот представляют интерес для использования в качестве нано- и микроконтейнеров целевого транспорта лекарств.*

**S. M. Varvarenko, N. V. Fihurka, V. Ja. Samaryk, A. S. Voronov,  
I. T. Tarnavchuk, N. G. Nosova, I. A. Dron, R. S. Taras, S. A. Voronov**

**Synthesis and surface active properties of novel polyesters —  
pseudo-poly(amino acid)s based on naturally occurring dicarboxylic  
 $\alpha$ -amino acids**

*A new method for the synthesis of pseudo-poly(amino acid)s based on naturally occurring dicarboxylic glutamic and aspartic amino acids and polyoxyethylene/polyoxypropylene glycols via the Steglich reaction has been developed. Structure and properties of novel biodegradable non-toxic polyesters were characterized using IR-, NMR-spectroscopy, and gel penetrative chromatography. Synthesized pseudo-poly(amino acid)s have certain hydrophilic-lipophilic balance and possess corresponding surface active properties. Polymer dispersions of amphiphilic surface active polyester-type pseudo-poly(amino acid)s have potential as nano- and microcontainers for target delivery systems.*