

МИКРОЧАСТИЦЫ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИ-N,N-ДИАЛЛИЛ-N,N-ДИМЕТИЛАММОНИЙ ХЛОРИДА, МОДИФИЦИРОВАННОГО РЯДОМ АМИНОКИСЛОТ

© 2020 г. Л. А. Бадыкова^{1*}, Р. Х. Мударисова¹, С. В. Колесов¹

¹Уфимский Институт химии Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук, Уфа, Россия

*E-mail: badykova@mail.ru

Поступила в редакцию 14.01.2019;
после доработки 22.05.2019;
принята в печать 20.06.2019

Исследовано образование микрочастиц сополимеров N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний хлорида и N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний гидроксида, модифицированных лейцином, аланином и валином с мицеллообразующим ионогенным поверхностно-активным веществом додецилсульфатом натрия. Показано, что лиофилизующая способность полиэлектролитов и, соответственно, размеры микрочастиц зависят от степени функционализации полимера. Оптимизированы с точки зрения устойчивости к агрегации и размеров частиц условия получения комплексных систем.

Ключевые слова: полиэлектролитные комплексы, микрочастицы, модификация, аминокислоты.

DOI: 10.31857/S0207401X20010033

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время в качестве носителей лекарственных средств рассматриваются различные виды нано- и микроформ, например, наноразмерные формы углерода (фуллерены, нанотрубки), искусственные липосомы, биогенные нанотранспортные средства, полимерные объекты (дендримеры, мицеллы, полиэлектролитные комплексы) [1–4]. Микрочастицы полиэлектролитных комплексов могут быть использованы для адресной доставки лекарственных средств [5–8], при этом размер частиц играет важную роль в их транспорте и распределении в организме. Полиэлектролитные комплексы (ПЭК) представляют собой самоорганизующиеся дисперсные системы, содержащие в своем составе электростатически комплементарные молекулы, например, противоположно заряженные полиэлектролиты, полиэлектролиты и ионогенные ПАВ. Молекулярные характеристики полиэлектролитов и условия формирования дисперсной фазы ПЭК существенно образом сказываются на размерных характеристиках дисперсий и их устойчивости [9, 10]. В качестве фактора молекулярного строения необходимо рассматривать и влияние включенных в состав макромолекул фармакофорных групп. Для

формирования микрочастиц ПЭК используются различные синтетические полиэлектролиты. Например, полистиролсульфонат натрия [11], поли(анилинпропансульфоновая) кислота [12], полиакриловая кислота [13] могут выступать в качестве полианионов, а в качестве поликатионных компонентов широко используют N-содержащие полимеры, например, полиаллиламин гидрохлорид, полиэтиленмин, поли-N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний хлорид [11]. Поли-N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний хлорид (ПАМАХ) и некоторые сополимеры на основе N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний хлорида водорастворимы, нетоксичны, обладают физиологической активностью, и, как катионные полимеры, способны образовывать полиэлектролитные комплексы с мицеллообразующими ионогенными поверхностно-активными веществами [14, 15]. Соответственно, они являются перспективными компонентами носителей лекарственных соединений [16, 17]. Цель работы – получение устойчивых к агрегации микрочастиц полиэлектролитных комплексов на основе модифицированных рядом физиологически активных аминокислот сополимеров N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний хлорида и N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний гидроксида с доде-

цилсульфатом натрия и оценка влияния химической модификации на размер частиц.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Поли-N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний хлорид (ПАМАХ) получали в присутствии персульфата калия в водной среде в вакууме по известной методике [18], а средняя молекулярная масса его (45400) была определена методом седиментационного равновесия. Образец додецилсульфата натрия (Aldrich) трижды перекристаллизовывали из этанола. Аминокислоты — лейцин, аланин и валин использовали без дополнительной очистки (“Reanal”, Венгрия).

Сополимеры N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний хлорида (АМАХ) с N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний гидроксидом (АМАГ) с различной степенью гидроксирования получали путем воздействия на ПАМАХ водного раствора гидроксида калия следующим образом: в водный раствор ПАМАХ 30%-ной концентрации прикапывали при перемешивании 40%-ный водный раствор КОН в различных мольных соотношениях ПАМАХ : КОН и выдерживали в течение 2 ч [19]. Полученный сополимер осаждали ацетоном, пятикратно переосаждали из воды в ацетон, промывали ацетоном и сушили в вакууме при 50°C над пятиокисью фосфора до постоянной массы. Состав полученного продукта рассчитывали по результатам элементного анализа. При мольных соотношениях ПАМАХ : КОН, равных 1 : 0.15, 1 : 0.20 и 1 : 0.23, полученные сополимеры содержали 12, 16 и 18 мольн.% звеньев АМАГ соответственно.

В качестве модификаторов использовали аланин (*Ala*), валин (*Val*) и лейцин (*Leu*). Для модификации сополимеров молекулами аминокислот к 30%-ному водному раствору сополимера при перемешивании при комнатной температуре добавляли по каплям 20%-ный водный раствор соответствующей аминокислоты (соотношение 1.0 : 1.1) и выдерживали в течение 2 ч. Далее продукты реакции осаждали ацетоном, трижды промывали ацетоном, сушили в вакууме до постоянной массы над пятиокисью фосфора при 40–50°C. Выход конечного продукта составлял 83–85% от исходного количества реагентов.

Водные дисперсии ПЭК получали путем добавления к водному раствору ПАМАХ с концентрацией звеньев АМАХ 0.02 М по каплям 0.003 М раствор додецилсульфата натрия (ДДС). Системы полиэлектролит (ПЭ) — ПАВ характеризовали мольным отношением ζ концентрации ПАВ к концентрации звеньев АМАХ полиэлектролита: $\zeta = [\text{ДДС}]/[\text{ПЭ}]$.

Для определения размеров частиц из данных турбидиметрического титрования выбирали такие значения ζ , при которых значения оптической плотности систем, A , были равны 0.1.

ИК-спектры записывали на спектрофотометре Shimadzu IR Prestige-21 (700–3600 см⁻¹, вазелиновое масло). Образцы для записи ИК-спектров готовили следующим образом: часть осажденного продукта реакции после модификации промывали ацетоном и высушивали над пятиокисью фосфора при 40–50°C до постоянной массы, растирали в мелкодисперсный порошок в агатовой ступке и хранили до записи спектров в эксикаторе под слоем аргона.

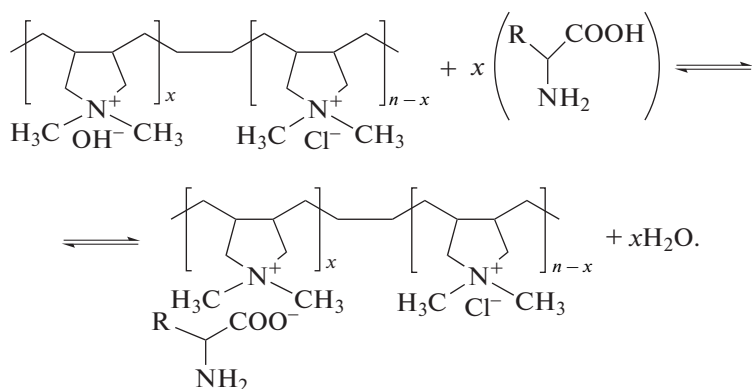
Ход реакции гидроксирования контролировали по данным элементного анализа. Состав полученного продукта рассчитывали по содержанию хлора в образце.

Размеры частиц образцов определяли методом лазерной дифракции на анализаторе SALD-7101 Shimadzu (длина волны полупроводникового УФ-лазера — 375 нм; диапазон измерения — 10 нм–300 мкм). Измерения проводили в специальных кварцевых кюветах SALD-BC с механическим вертикальным перемешиванием. Для сравнения частиц по размеру брали медианные размеры частиц, соответствующие положению точки на дифференциальной кривой распределения, слева и справа от которой расположены по 50% распределения. Для характеристики устойчивости к агрегации дисперсий ПЭК рассматривали диаметры частиц у 10, 50 и 90% на кумулятивных (интегральных) кривых распределения макромолекул по размерам.

Для турбидиметрического титрования использовали спектрофотометр UV-VIS SPECORD M40 (Zeiss, Германия). Определение оптической плотности смесей проводили при длине волны, равной 500 нм и толщине поглощающего слоя, равному 1 см. К водному раствору полиэлектролита (0.02 М) при перемешивании частями добавляли водный раствор ДДС (0.003 М) и через 5 мин измеряли оптическую плотность. Результаты приводили в виде зависимости оптической плотности раствора от мольного соотношения компонентов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Модификацию полиэлектролитов аминокислотами проводили по обменной реакции с полимерами, содержащими звенья диаллилдиметиламмоний гидроксида [19]:



При модификации сополимеров аминокислотами в ИК-спектрах полученных полимерных солей наблюдали появление полосы, относящейся к NH_2 -группе аминокислоты — 1585 см^{-1} (*Leu*), 1582 см^{-1} (*Ala*), 1579 см^{-1} (*Val*). Все полученные продукты хорошо растворимы в воде.

Методом турбидиметрического титрования растворов полиэлектролитов (ПЭ) раствором ДДС определили состав смеси $z_{\min}$, в момент начала роста оптической плотности растворов и выше которого наблюдали образование дисперсий частиц ПЭК. Для комплексов на основе ПАМАХ и модифицированных сополимеров (АМАХ–АМАГ) со степенью модификации 12, 16, 18% значения $z_{\min}$ равны соответственно: 0.56, 0.49, 0.45, 0.37. Значения $z > z_{\min}$, при которых оптические плотности систем достигали одинаковых значений ($A = 0.1$) для полученных ПЭК составили: ПАМАХ – 0.65; АМАХ–АМАГ(12%)-*Leu* – 0.57; АМАХ–АМАГ(16%)-*Leu* – 0.50; АМАХ–АМАГ(18%)-*Leu* – 0.47; АМАХ–АМАГ(18%)-*Val* – 0.50; АМАХ–АМАГ(18%)-*Ala* – 0.48. Уменьшение лиофилизирующей способности ПЭ при химической модификации (что мы связываем с уменьшением содержания ионогенных групп) приводит к уменьшению значений z , т.е. количества вводимого ДДС, необходимого для получения дисперсий, сопоставимых по оптическим характеристикам. Частицы ПЭК подобного типа стабилизированы электростатическими взаимодействиями заряженных групп ПЭ и ДДС, а также гидрофобными взаимодействиями углеводородных радикалов ПАВ с гидрофобными участками полимера [20–22]. Вероятно, это взаимодействия функционализирующих аминокислотных групп. Состав реакционной смеси, при котором в системе наблюдается резкий рост оптической плотности и процесс фазового разделения приводит к седиментационной неустойчивости системы, соответствует значению $z_{\text{пред}}$.

Размер основной массы частиц комплекса на основе исходного ПАМАХ находится в наномет-

ровом диапазоне (медианный размер частиц составляет 78 нм). У модифицированных лейцином сополимеров с ростом степени модификации размеры частиц увеличиваются и при указанных значениях z составляют для степеней модификации 12, 16 и 18 мольн.% – 105, 181 и 220 нм соответственно. Вероятно, это связано с вовлечением в формирование частиц ПЭК большего числа макромолекул за счет усиления гидрофобных взаимодействий, обеспечиваемых аминокислотными остатками.

Уменьшение содержания ионогенных групп в сополимерах влияет на лиофилизирующую способность полиэлектролитов, которая, в свою очередь, связана с размерами частиц ПЭК [21]. На рис. 1 показана зависимость размеров частиц ПЭК на основе сополимеров, модифицированных аминокислотами, от содержания в них ионо-

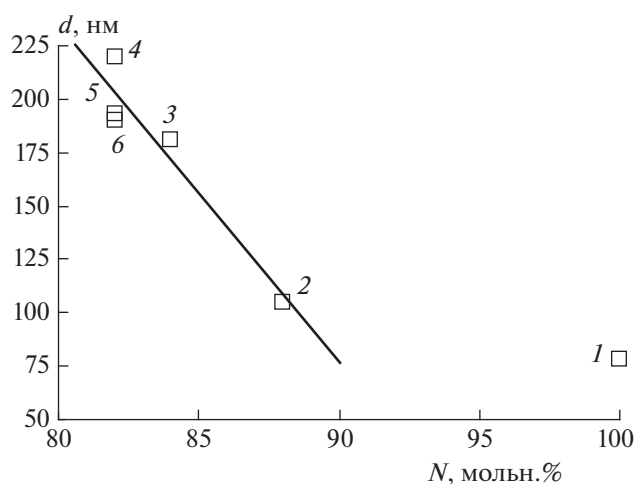


Рис. 1. Зависимость размеров частиц ПЭК на основе поли-N,N-диаллил-N,N-диметиламмоний хлорида, модифицированного аминокислотами, и ДДС от количества ионогенных звеньев (N) в макромолекулах. Полимеры: 1 – ПАМАХ, 2 – АМАХ–АМАГ(12%)-*Leu*, 3 – АМАХ–АМАГ(16%)-*Leu*, 4 – АМАХ–АМАГ(18%)-*Leu*, 5 – АМАХ–АМАГ(18%)-*Ala*, 6 – АМАХ–АМАГ(18%)-*Val*.

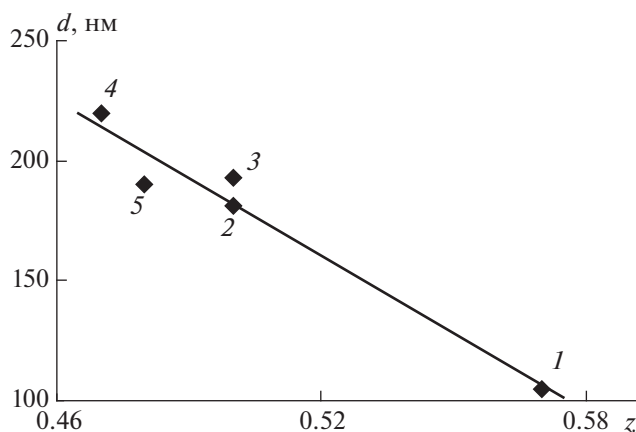


Рис. 2. Зависимость размеров частиц ПЭК от мольного соотношения компонентов: 1 – АМАХ–АМАГ(12%)-Leu, 2 – АМАХ–АМАГ(16%)-Leu, 3 – АМАХ–АМАГ(18%)-Val, 4 – АМАХ–АМАГ(18%)-Leu, 5 – АМАХ–АМАГ(18%)-Ala.

генных звеньев. Видно, что зависимость является линейной и с уменьшением количества звеньев АМАХ размеры частиц увеличиваются.

Для оценки влияния гидрофобности аминокислотного остатка на размер и устойчивость образующихся микрочастиц при образовании ПЭК были проведены опыты по модификации сополимера АМАХ–АМАГ(18%) молекулами таких аминокислот, как валин и аланин, которые различаются длиной алифатического фрагмента. Различия в структурах аминокислот на размерных характеристиках частиц сказывается весьма незначительно. Их медианные диаметры составляют: для лейцина – 220 нм, аланина – 190 нм, валина – 193 нм при значениях z , равных соответственно 0.47, 0.48 и 0.50. Для ПЭК на основе модифицированных аминокислотами образцов полимеров наблюдается линейная зависимость между размерами частиц и отношением z (рис. 2),

Таблица 1. Параметры интегрального распределения микрочастиц ПЭК по размерам на основе сополимера (АМАХ–АМАГ), модифицированного валином

Время выдержки	d_{10}^* , мкм	d_{50}^* , мкм	d_{90}^* , мкм	p^{**}
1 сут	0.128	0.175	0.278	0.86
5 сут	0.135	0.180	0.246	0.62
90 сут	0.134	0.184	0.250	0.63

Примечание: * d_{10} , d_{50} и d_{90} – диаметры 10, 50 и 90% частиц на кумулятивных (интегральных) кривых распределения макромолекул по размерам; ** $p = (d_{90} - d_{10})/d_{50}$ – полидисперсность.

которая подтверждает вклад гидрофобной части фрагментов аминокислот в формирование ПЭК.

Полученные ПЭК устойчивы к агрегации в течение длительного времени хранения. Параметры интегрального распределения частиц по размерам при выдержке комплексов в течение трех месяцев изменяются незначительно (табл. 1). Например, для ПЭК на основе АМАХ–АМАГ(18%)-Val размер 50% частиц (по интегральным кривым) при выдержке в течение суток составляет 175 нм. Через 5 сут этот размер возрастает до 180 нм, при более длительном хранении (до 90 сут) размер частиц возрастает лишь до 184 нм, т.е. изменяется незначительно. Погрешность изменения составила 1%. Оптимизируя условия получения ПЭК (мольное соотношение ПЭ : ДДС, степень модификации сополимеров), можно формировать микрочастицы комплексов с определенными размерами, что позволит применять их в соответствующей медицинской практике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на примере поли-N,N-диаллил-N,N-диметиламоний хлорида, химически модифицированного рядом аминокислот (лейцином, валином и аланином), показана возможность получения устойчивых к агрегации водных дисперсий наночастиц полиэлектролитных комплексов. Показано, что введение в состав макромолекул полиэлектролита порядка 10–20 мольн.% функциональных групп, уменьшающих содержание ионогенных звеньев в полимере и участвующих в гидрофобных взаимодействиях при формировании частиц ПЭК, приводит к увеличению размеров частиц пропорционально содержанию модифицированных групп без изменения устойчивости к агрегации дисперсных систем. Соответственно, при целенаправленном конструировании лекарственных наночастиц на основе ПЭК необходимо учитывать влияние сопряжения полиэлектролитов с лекарственными соединениями на размерные характеристики частиц.

Работа выполнена в рамках государственного задания № АААА-А17-117011910026-3 “Развитие фундаментальных основ управления структурой полимеров и кинетикой процесса в каталитической полимеризации, направленной модификации синтетических и биогенных полимеров и получение полимерных систем для биомедицинских приложений”. Анализы и измерения выполнены на оборудовании ЦКП “Химия” УФИХ УФИЦ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zakharian T.Y., Seryshev A., Sitharaman B. et al. // J. Amer. Chem. Soc. 2005. V. 127. P. 12508.

2. *Kazakov S., Levon K.* // *Curr. Pharm. Des.* 2006. V. 12. № 36. P. 4713.
3. *Bai S., Thomas C., Rawat A., Ahsan F.* // *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 2006. V. 23. № 6. P. 437.
4. *Torchilin V.P.* // *Pharm. Res.* 2007. V. 24. № 1. P. 1.
5. *Nishiyama N., Kataoka K.* // *Pharmacol. Ther.* 2006. V. 112. P. 630.
6. *Nakanishi T., Fukushima S., Okamoto K. et al.* // *J. Control. Release.* 2001. V. 74. P. 295.
7. *Rijcken C.J.F., Soga O., Hennink W.E. van Nostrum C.F.* // *J. Control. Release.* 2007. V. 120. P. 131.
8. *Zhiryakova M.V., Izumrudov V.A.* // *Polym. Sci. Pt. A.* 2008. V. 50. № 10. P. 1057.
9. *Babaev M.S., Vorob'eva A.I., Kolesov S.V.* // *Polym. Sci. Pt. A.* 2015. V. 57. № 3. P. 266.
10. *Kolesov S.V., Gurina M.S., Mudarisova R.Kh.* // *Russ. J. Gen. Chem.* 2018. V. 88. № 8. P. 1694.
11. *Bhide A., Schonhoff M., Cramer C.* // *Solid State Ionics.* 2012. V. 214. P. 13.
12. *Lvov Y., Ariga K., Ichinose I., Kunitake T.* // *J. Amer. Chem. Soc.* 1995. V. 117. P. 6117.
13. *Kalinov K., Ignatova M., Maximova V. et al.* // *Eur. Polym. J.* 2014. V. 50. P. 18.
14. *Касаикин В.А., Литманович Е.А., Зезин А.Б., Кабанов В.А.* // *Докл. АН.* 1999. Т. 367. № 3. С. 359.
15. *Власов П.С., Черный С.Н., Домнина Н.С.* // *ЖОХ.* 2010. Т. 80. № 7. С. 1148.
16. *Воробьева А.И., Султанова Г.Р., Булгаков А.К. и др.* // *Хим.-фармацевт. журн.* 2012. Т. 46. № 11. С. 21.
17. *Vorob'eva A.I., Babaev M.S., Spirikhin L.V. et al.* // *Russ. J. Appl. Chem.* 2016. V. 89. № 1. P. 160.
18. *Wandrey Ch., Jaeger W., Reinisch G. et al.* // *Acta polym.* 1981. V. 32. № 3. P. 177.
19. *Бабеев М.С., Воробьева А.И., Чернышева Ю.С. и др.* // *ЖПХ.* 2015. Т. 88. № 9. С. 1353.
20. *Шулевич Ю.В., Ковалева О.Ю., Навроцкий А.В. и др.* // *ЖПХ.* 2008. Т. 81. № 1. С. 112.
21. *Kabanov V.A.* // *Pure Appl. Chem.* 2004. V. 76. № 9. P. 1659.
22. *Шилова С.В., Третьякова А.Я., Барабанов В.П.* // *Высокомолекуляр. соединения. А.* 2010. Т. 52. № 12. С. 2092.