= ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И МАТЕРИАЛЫ НА ИХ ОСНОВЕ —

УДК 541.64+541.18

НАНОКОМПОЗИТЫ СЕРЕБРА НА ОСНОВЕ СОПОЛИМЕРОВ N,N-ДИАЛЛИЛ-N'-АЦИЛГИДРАЗИНОВ С АКРИЛОВЫМИ МОНОМЕРАМИ

© М. Н. Горбунова, Т. Д. Батуева, Д. В. Ерошенко, Д. М. Кисельков

Институт технической химии УрО РАН, 614013, г. Пермь, ул. Королева, д. 3 E-mail: mngorb@yandex.ru

Поступила в Редакцию 13 июля 2020 г. После доработки 28 августа 2020 г. Принята к публикации 8 сентября 2020 г.

Сополимеры N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина и N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина с акриловой кислотой, акрилонитрилом и акриламидом были синтезированы методом радикальной сополимеризации в присутствии радикального инициатора азобисизобутиронитрила. Боргидридным методом получены новые полимерные нанокомпозиты, содержащие наночастицы серебра размерами 31–55 нм, стабилизированные синтезированными сополимерами N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов. Наличие гетероатомных фрагментов и функциональных групп (карбоксильных, амидных, нитрильных, ацетильных, бензоильных, гидразиновых) в полимерной цепи способствует специфическому взаимодействию с частицами серебра, регулируя размеры частиц на наноуровне и обеспечивая их равномерное распределение в полимерной матрице. Структурные особенности нанокомпозитов исследованы с использованием УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии и сканирующей электронной микроскопии. Полученные нанокомпозиты обладают цитотоксической активностью в отношении клеток меланомы MS и рабдомиосаркомы RD и являются перспективными в качестве лекарственных средств нового поколения, предназначенных для терапии раковых опухолей.

Ключевые слова: *N*,*N*-диаллил-*N*'-ацилгидразины; акриловые мономеры; радикальная сополимеризация; нанокомпозиты; цитотоксическая активность DOI: 10.31857/S0044461821020080

На основе нанокомпозитов создаются разнообразные новые функциональные материалы для фотоники, катализаторы, препараты для биотехнологии, фармацевтической промышленности и сельского хозяйства [1–3]. В таких материалах реализуется выгодное для полимеров и наночастиц серебра взаимодействие компонентов: с одной стороны, полимеры выступают в качестве стабилизаторов наночастиц, обусловливающих уникальные свойства нанокомпозитов (биологические, каталитические, оптические, магнитные, электрические), с другой — включение наночастиц в традиционные полимеры приводит к образованию материалов с принципиально новыми функциональными свойствами. При создании полимерных наноматериалов актуальными остаются вопросы равномерного распределения наночастиц в объеме материалов, создания устойчивых нанокомпозитов, управления структурой, составом и размерами наночастиц.

Полимерная матрица выступает в качестве стабилизирующего компонента, предотвращая агрегацию металлических наночастиц. При этом на стабильность частиц значительное влияние оказывает природа полимера [4]. Перспективными высокомолекулярными соединениями для стабилизации частиц серебра являются сополимеры N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов (ДАГ), поскольку они обладают высокой сорбционной способностью по отношению к ионам металлов, которая усиливается в случае формирования хелатных комплексов. Введение в полимерную матрицу разнообразных функциональных групп (карбоксильных, амидных, нитрильных) способствует специфическому взаимодействию полимерных цепей с частицами серебра, регулируя размеры частиц на наноуровне и обеспечивая их равномерное распределение в полимерной матрице.

Цель работы — получение нанокомпозитов, состоящих из наночастиц серебра и сополимеров N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов с акриловой кислотой, акрилонитрилом и акриламидом, исследование их цитотоксической активности.

Экспериментальная часть

N,N-Диаллил-N'-ацетилгидразин (ДААГ) и N,Nдиаллил-N'-бензоилгидразин (ДАБЕГ) синтезировали из аллилхлорида и соответствующих ацилгидразинов по методике [5]. Для исследования использовали: ДААГ — фракцию с т. кип. 120°С/5 мм рт. ст., n_D^{20} 1.4771, ДАБЕГ — фракцию с т. пл. 108°С (ацетон:вода = 1:1). Чистоту контролировали элементным анализом и методом ЯМР ¹³С. Основные спектральные характеристики N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов представлены в табл. 1. Акриловую кислоту (АК) (Alfa Aesar) очищали перегонкой, использовали фракцию с т. кип. 138°С, n_D^{20} 1.4202. Акрилонитрил (АН) (Alfa Aesar) очищали перегонкой, использовали фракцию с т. кип. 78°С, n_D^{20} 1.3910. Акриламид (АА) (Alfa Aesar) перекристаллизовывали из ацетона и сушили в вакуум-шкафу до постоянной массы, т. пл. 84°С.

Динитрил азодиизомасляной кислоты (ДАК) трижды перекристаллизовывали из метанола, сушили в вакууме при комнатной температуре до постоянной массы, т. пл. 103°С, с разложением.

Сополимеризацию N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов с акриловой кислотой, акрилонитрилом и акриламидом проводили в массе и в растворе органических растворителей в присутствии радикального инициатора ДАК. Сополимеры очищали двукратным переосаждением из раствора в осадитель. Растворитель и осадитель подбирали для каждой системы отдельно: для сополимера ДААГ–АК — метанол/диэтиловый эфир; для сополимера ДААГ–АН — ацетон/метанол; для сополимеров ДААГ–АА, ДАБЕГ–АК, ДАБЕГ– АН и ДАБЕГ–АА — ДМСО/метанол. Сополимеры сушили в вакууме при 40–50°С до постоянной массы. Состав сополимеров рассчитывали по результатам элементного анализа.

Эффективные константы сополимеризации r_1 и r_2 рассчитывали методами Файнемана–Росса [6] и Келена–Тюдоша [7].

Синтез нанокомпозитов серебра и сополимеров N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов проводили следующим образом. Сополимер (10⁻³ моль) растворяли в

Coorrespondence	Химический сдвиг δ, м. д., в спектре ЯМР ¹³ С атомов								
Соединение	C _{1,1'}	C _{2,2'}	C _{3,3'}	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	
1 N-NH-C-CH ₃ //2'-3' О N,N-Диаллил-N'-ацетилгидразин 1 2-3 N-NH-C-6 0 N-NH-6 0 8	119.7	132.4	60.9 58.8	175.1	20.1	117.1	128.1	131.0	
1' N,N-Диаллил-N'-бензоилгидразин									

Таблица 1

Oc	новные	спектральные	харак	теристики	Ν,	N-диаллил-Г	N′-ацилгидразинов
----	--------	--------------	-------	-----------	----	-------------	-------------------

20 мл метилового спирта или ацетона, к полученному раствору добавляли 1%-ный раствор нитрата серебра (0.17 г, 10⁻³ моль) и перемешивали смесь 1 ч при комнатной температуре. Затем порциями добавляли боргидрид натрия (0.038 г, 10⁻³ моль) в течение 10 мин. Полученный темный раствор перемешивали в течение 10 ч при комнатной температуре. Композиты выделяли диализом и сушили в вакуумном шкафу.

ИК-спектры регистрировали на спектрометре IFS 66/S Bruker в вазелиновом масле. Спектры ЯМР ¹Н и ¹³С регистрировали на спектрометре Bruker Avance II. Спектры записаны в режимах с широкополосной развязкой по протонам и в режиме JMOD. В качестве растворителя использовали ДМСО-d₆, внутренний стандарт — тетраметилсилан. Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре СФ 2000. Содержание Ад в водных растворах определяли на атомно-абсорбционном спектрометре iCE 3500 (Thermo Fisher Scientific). Микрофотографии получали на сканирующем электронном микроскопе FEI QUANTA FEG 650 microscope (Netherlands).

Цитотоксичность синтезированных нанокомпозитов была определена по МТТ-тесту. Культуры клеток человека А549 (аденокарцинома легкого), RD (рабдомиосаркома) и MS (меланома), полученные из НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей Российского онкологического научного центра им. Н. Н. Блохина РАМН, выращивались в среде DMEM (для A549 и RD) и RPMI 1640 (для MS) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ L-глутамина и 1% гентамицина в качестве антибиотика при 37°С и 5% СО₂ в СО2-инкубаторе Isotemp Barnstead (США). Для оценки цитотоксического действия соединений в 96-луночный планшет Corning Costar (США) вносили клетки A549, RD и MS в концентрации 1.104 кл/200 мкл и инкубировали при 37°С во влажной атмосфере с 5% СО2. Через 24 ч к монослою клеток добавляли испытуемые нанокомпозиты, растворенные в ДМСО, в интервале концентраций 1.56–100 мкмоль·л⁻¹. В качестве контроля использовали лунки с добавлением 0.1% ДМСО. Аналогичным образом была исследована цитотоксичность алкалоида с высокой противоопухолевой активностью камптотецина и антибиотика с противоопухолевой активностью доксорубицина. Камптотецин (ACROS organics) и доксорубицин гидрохлорид (TOCRIS bioscience) использовали без дополнительной очистки. Выживаемость клеток оценивали через 72 ч инкубации клеток с исследуемыми нанокомпозитами с помощью МТТ-теста [8] на спектрофотометре FLUOstar OPTIMA BMG Labtech (Германия), оптическая плотность была определена при 544 нм. В качестве количественного показателя цитотоксичности по кривой доза–эффект рассчитывали концентрацию тестируемого соединения, которая вызывает гибель 50% клеток (IC₅₀). Все эксперименты проводили в 3-кратной повторности.

Обсуждение результатов

Как было установлено ранее в работе [9], в присутствии радикальных инициаторов (динитрил азодиизомасляной кислоты, перекись бензоила) N,Nдиаллил-N'-ацилгидразины вступают в реакции гомо- и сополимеризации с виниловыми мономерами и диоксидом серы.

Сополимеры N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина и N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина с акриловой кислотой, акрилонитрилом и акриламидом были синтезированы методом радикальной сополимеризации в присутствии ДАК. Исследования сополимеризации N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов с акриловыми мономерами показали, что при сополимеризации независимо от среды образующиеся продукты имеют



Рис. 1. Зависимость состава сополимера N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина (1-3) и N,N-диаллил-N'бензоилгидразина (4-6) с акриловой кислотой (1, 4), акрилонитрилом (2, 5) и акриламидом (3, 6) от состава исходной смеси мономеров.

[Динитрил азодиизомасляной кислоты] = 3 мас%, T = 80°C.

- *M*₂ и *m*₂ содержание акрилового мономера в исходной смеси и в сополимере соответственно.
- *1*, 4 в массе; 2, 5 диметилсульфоксид, [M₁ + M₂] = = 2.2 моль·л⁻¹; 3, 6 — метанол, [M₁ + M₂] = 2 моль·л⁻¹; [M₁ + M₂] — суммарная концентрация мономеров.

статистическое распределение сомономерных звеньев в макромолекуле. При сополимеризации акриловый мономер значительно активнее ДАГ, поэтому при всех исходных соотношениях мономеров образующиеся сополимеры обогащены звеньями акрилового мономера (рис. 1). Поскольку молекула N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов практически не способна присоединиться к растущему радикалу, оканчивающемуся звеном ДАГ [5, 9], при любом соотношении мономеров в исходной смеси сополимеры не могут содержать звеньев ДАГ более 50 мол%.

Зависимость состава сополимера от состава исходной мономерной смеси для системы ДААГ (M₁)–АН формально соответствует крайне редко встречающемуся случаю, когда обе эффективные константы сополимеризации $r_1 > 1$ и $r_2 > 1$ (табл. 2). Численные значения эффективных констант сополимеризации, рассчитанные методом Файнемана–Росса, равны $r_1 = 1.1$ и $r_2 = 8.42$ соответственно. В этом случае в системе наблюдается тенденция к последовательной гомополимеризации мономеров, что, вероятно, связано с низкой реакционной способностью радикалов N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина. Тем не менее анализ ЯМР ¹³С спектра сополимера подтвердил наличие в сополимере звеньев как акрилонитрила, так и N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина. В этом случае радикал акрилонитрила предпочтительно реагирует со «своим» мономером, и происходит образование длинных блоков последовательностей акрилонитрила с включениями звеньев N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина.

В спектрах ЯМР ¹³С сополимеров N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов с акриловыми мономерами, синтезированных в присутствии инициатора ДАК при температуре 60–90°С, сигналы атомов двойной связи отсутствуют (см. схему, табл. 3). N,N-Диаллил-N'ацетилгидразин и N,N-диаллил-N'-бензоилгидразин вступают в реакции сополимеризации с акриловыми мономерами с участием обеих двойных связей с образованием пирролидиновых структур. Звенья N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов, представляющие собой пирролидиновые циклы, состоят из смеси *цис-*, *транс*-стереоизомеров со значительным преобладанием *транс*-изомерных гетероциклов.

Сополимер N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина с акрилонитрилом практически не содержит длинных блоков звеньев акрилонитрила и имеет упорядоченную структуру, в то время как в структуре сополимера N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина с акрилонитрилом преобладают блочные фрагменты винилового

Сополимеры N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина и N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина с акриловой кислотой, акрилонитрилом и акриламидом



M1	Условия сополимеризации	M ₂	r_1	<i>r</i> ₂	$r_1 r_2$	r_1/r_2
N,N-Диаллил-N'-	В массе	Акриловая кислота	0.12 ± 0.03	3.58 ± 0.74	0.429	0.033
ацетилгидразин	Диметилсульфоксид	Акрилонитрил	1.10 ± 0.31	8.42 ± 0.98	9.262	0.131
	Метанол	Акриламид	0.12 ± 0.11	2.54 ± 0.55	0.305	0.047
N,N-Диаллил-N'-	В массе	Акриловая кислота	0.01 ± 0.00	1.27 ± 0.23	0.012	0.008
бензоилгидразин	Диметилсульфоксид	Акрилонитрил	0.05 ± 0.01	1.21 ± 0.14	0.061	0.041
	Метанол	Акриламид	0.59 ± 0.21	1.62 ± 0.22	0.956	0.364

мономера с включениями звеньев N,N-диаллил-N'- ацетилгидразина.

Кинетические исследования показали, что при увеличении содержания N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов (M₁) в исходной мономерной смеси значения скорости сополимеризации всех исследуемых систем снижаются (рис. 2). Скорость сополимеризации N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина выше, чем N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина.

Сополимеры N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов с акриловыми мономерами представляют собой свет-

лые порошки. Все сополимеры растворимы в ДМСО, сополимеры N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина с акриловой кислотой и акриламидом растворимы также в воде, сополимер N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина с акриловой кислотой растворим в ацетоне.

Для синтеза нанокомпозитов серебра были выбраны растворимые в воде сополимеры N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина с акриловой кислотой и акриламидом и растворимые в ацетоне сополимеры N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина с акриловой кислотой. Синтез нанокомпозитов серебра проводили

Таблица 3 Спектры ЯМР ¹³С сополимеров N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов с акриловыми мономерами (диметилсульфоксид-d₆, тетраметилсилан, 25°С)

Coortinoutro	Химический сдвиг и мультиплетность сигналов δ, м. д., атомов										
Соединение	C1	C ₂	C ₃	C ₄	C5	C ₆	C ₇	C ₈	C9	C10	C ₁₁
N,N-Диаллил-N'-	58.7	32.2	52.4	173.0	20.4	42.2	55.8	174.76			
ацетилгидразин-	60.0	33.3	53.5	с	к	Т	д	175.15			
акриловая кислота	Т	д	Т					с			
N,N-Диаллил-N'-	58.9	40.4	30.9	173.0	20.6	26.9	33.2	120.3			
ацетилгидразин-	60.2	40.8	32.1	с	к	Т	Т	с			
акрилонитрил	Т	д	Т								
N,N-Диаллил-N'-	58.4	42.5	36.1	172.8	20.9	31.8	48.7	177.0			
ацетилгидразин-	60.2	43.9	36.6	с	к	Т	Т	с			
акриламид	Т	д	Т								
N,N-Диаллил-N'-	57.8	40.7	49.7	165.2	134.1	127.4	128.5	128.9	43.1	45.3	174.3
бензоилгидразин-	59.2	41.3	50.8	c	с	д	д	Д	Т	д	c
акриловая кислота	Т	д	Т								
N,N-Диаллил-N'-	57.9	40.4	29.8	164.8	134.2	127.1	128.1	131.0	32.7	28.0	120.0
бензоилгидразин-	61.0	41.8	31.2	с	с	Д	Д	д	33.8	Д	121.2
акрилонитрил	Т	д	Т						Т		c
N,N-Диаллил-N'-	58.5	40.7	35.8	167.9	133.4	127.7	128.0	131.1	34.5	49.6	177.2
бензоилгидразин-	59.3	42.0	37.2	c	с	д	д	д	Т	Т	c
акриламид	Т	д	Т								

Примечание. с — синглет, д — дублет, т — триплет, к — квадруплет.



Рис. 2. Зависимость начальной скорости сополимеризации N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина (1, 2) и N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина (3, 4) с акриловой кислотой (1, 3) и акрилонитрилом (2, 4) от состава исходной смеси мономеров.

[Динитрил азодиизомасляной кислоты] = 3 мас%, $T = 80^{\circ}$ С.

M₁ — содержание N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов в исходной смеси.

I, 3 — в массе; 2, 4 — диметилсульфоксид, $[M_1 + M_2] = 2.2$ моль·л⁻¹; $[M_1 + M_2]$ — суммарная концентрация мономеров.

восстановлением нитрата серебра боргидридом натрия в растворе сополимера. При смешивании растворов сополимеров и нитрата серебра образуется хлопьевидный осадок белого цвета, который при дальнейшем перемешивании разрушается. Можно говорить, что исследуемые сополимеры на первой стадии образуют с нитратом серебра устойчивую суспензию в виде мелкой взвеси в растворе, что связано с возникающим координационным взаимодействием карбоксильных, амидных, гидразиновых, ацетильных и бензоильных фрагментов макромолекул с ионами серебра. Добавление боргидрида натрия приводит к восстановлению ионной формы серебра, находящегося в координационном взаимодействии с макромолекулами сополимеров, до металлического состояния, при этом постепенно изменяется цвет раствора от светлого до темно-коричневого. Нанокомпозиты были выделены методом диализа. В зависимости от сополимера образуются нанокомпозиты с содержанием серебра от 5 до 15%. Соотношение нитрата серебра, восстановителя и сополимера влияет на концентрацию серебра в нанокомпозитах. Характеристики исследуемых нанокомпозитов серебра, полученных методом диализа, представлены в табл. 4.

Образование нанокомпозитов сопровождается заметным изменением химической структуры полимерной матрицы. Обзорные ИК-спектры сополимеров N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина с акриловой кислотой и акриламидом и их нанокомпозитов серебра представлены в дополнительных материалах (ESM_1).

В ИК-спектрах полученных нанокомпозитов на основе сополимеров N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов с акриловой кислотой наблюдается заметное снижение интенсивности полос поглощения валентных колебаний карбонильной группы ДАГ при 1671 см⁻¹ и карбоксильной группы акриловой кислоты при 1728 см⁻¹ и небольшой сдвиг этих полос в длинноволновую область. Кроме того, исчезает полоса поглощения валентных колебаний NH-группы при 1555 см⁻¹ и появляется интенсивная полоса поглощения валентных колебаний карбоксилат-аниона при 1394 см⁻¹.

В ИК-спектрах полученных нанокомпозитов на основе сополимера N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина с акриламидом наблюдается исчезновение плеча при 1720 см⁻¹, соответствующего валентными колебаниям карбонильной группы акриламида, а также снижение интенсивности полосы поглощения валентных колебаний карбонильной группы N,N-диаллил-N'ацетилгидразина при 1670 см⁻¹ и сдвиг этой полосы в область 1657 см⁻¹. Аналогично нанокомпозитам на основе сополимеров с акриловой кислотой проис-

Таблица 4

Характеристики исследуемых нанокомпозитов серебра на основе сополимеров N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина с акриловой кислотой и акриламидом и N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина с акриловой кислотой

Характеристика	N,N-Диаллил-N'- ацетилгидразин–акриловая кислота	N,N-Диаллил-N'- ацетилгидразин– акриламид	N,N-Диаллил-N'- бензоилгидразин–акриловая кислота	
Содержание Ад, мас%	5	11	8	
Средний размер частиц, нм	51	31	55	
Растворители для нанокомпозитов	Вода, димети	Ацетон, диметилсульфоксид		

ходит исчезновение полосы поглощения валентных колебаний NH-группы при 1555 см⁻¹ и появляется полоса поглощения валентных колебаний С—О при 1389 см⁻¹. Можно отметить также заметное увеличение полос поглощения валентных колебаний NH₂-группы при 3401 и 3208 см⁻¹ и их сдвиг в область 3306 и 3182 см⁻¹ соответственно. Подобные изменения подтверждают взаимодействие полимерной матрицы с поверхностью наночастиц серебра, обеспечивающее их стабилизацию.

Исходя из вышеприведенных данных связывание ионов серебра теоретически возможно по кислороду и азоту в звеньях N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов и в звеньях акриловой кислоты и акриламида. Можно предположить, что частичный отрицательный заряд на атоме азота в амидной группе будет чрезвычайно низок вследствие сопряжения несвязывающей электронной пары атома азота с карбонильной группой. Это позволяет считать, что атом азота в амидной группе не способен эффективно вступать в координацию с ионом металла. И координация иона серебра с амидной группой возможна только по карбонильному атому кислорода, в то время как взаимодействие с карбоксилат-анионом возможно по двум атомам кислорода.

В УФ-спектрах водного раствора нанокомпозита на основе сополимера N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина с акриламидом наблюдается характерная полоса плазмонного поглощения с максимумом в



Рис. 3. УФ-спектры поглощения растворов нанокомпозитов серебра с сополимерами.

I - N, N-диаллил-N'-ацетилгидразин-акриловая кислота, этанол, $c = 0.8 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹; 2 - N, N-диаллил-N'-ацетилгидразин-акриламид, вода, $c = 10^{-3}$ моль·л⁻¹; 3 - N, N-диаллил-N'-бензоилгидразин-акриловая кислота, этанол, $c = 0.5 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹.

области 400–409 нм, в спектрах спиртовых растворов нанокомпозитов на основе сополимеров N,Nдиаллил-N'-ацилгидразинов с акриловой кислотой пик наблюдается в области 450 нм (рис. 3). Вид спектров поглощения и полуширина максимума свидетельствуют об образовании золей с изолированными наночастицами серебра [10].

Результаты сканирующей электронной микроскопии подтверждают получение нанокомпозитов с узкодисперсным распределением наночастиц серебра в полимерной матрице (рис. 4). Установлено, что в результате образуются наночастицы сферической формы со средним диаметром 51, 31 и 55 нм для сополимеров N,N-диаллил-N'-ацетилгидразин–акриловая кислота, N,N-диаллил-N'-ацетилгидразин–акриловая кислота соответственно. При стабилизации наночастиц сополимерами N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов с



Рис. 4. Микрофотографии, полученные сканирующей электронной микроскопией, наночастиц серебра и гистограммы распределения наночастиц серебра по размерам в нанокомпозитах на основе сополимеров N,N-диаллил-N'-ацетилгидразин–акриловая кислота (1), N,N-диаллил-N'-ацетилгидразин–акриловая кислота (3).

,		1	1				
Нанокомпозит	Концентрация тестируемого соединения, вызывающая гибель 50% клеток, IC ₅₀ , мкмоль·л ⁻¹						
	RD (рабдомиосаркома)	А549 (аденокарцинома легкого)	MS (меланома)				
N,N-Диаллил-N'-ацетилгидразин- акриловая кислота	8.30 ± 90.78	Не определяли	10.25 ± 0.02				
N,N-Диаллил-N'-ацетилгидразин– акриламид	8.86 ± 3.54	26.3 ± 1.78	6.25 ± 0.02				
N,N-Диаллил-N'-бензоилгидразин- акриловая кислота	2.07 ± 0.26	35.8 ± 8.24	0.25 ± 0.04				
Камптотецин	1.72 ± 0.37	1.31 ± 0.03	0.77 ± 0.34				
Доксорубицин	1.28 ± 0.03	2.04 ± 0.22	1.29 ± 0.16				

Таблица 5 Цитотоксическая активность нанокомпозитов на основе сополимеров N.N-диаллил-N'-ацилгидразинов

акриловой кислотой наблюдается некоторая агрегация частиц, но размер агрегатов остается ниже 100 нм.

В последние годы опубликован ряд обзоров и статей, посвященных цитотоксической активности серебра в отношении опухолевых клеток [11-18]. Наночастицы серебра исследованы в качестве противораковых терапевтических средств для лечения лейкемии, рака молочной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, рака легкого, рака кожи и орального рака [14]. В этом плане применение металлполимерных конструкций для противораковой терапии открывает уникальные возможности для борьбы с теми видами опухолей, которые не поддавались лечению известными препаратами. Можно предположить, что используемые в качестве наностабилизирующих матриц сополимеры N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов будут не только предотвращать агрегацию частиц, но и обеспечивать пролонгированное биологическое действие, облегчать биодоступность и, вероятно, позволят корректировать токсичность наночастиц.

Результаты исследований цитотоксической активности показали, что нанокомпозиты обладают высокой активностью в отношении клеток меланомы MS и рабдомиосаркомы RD (табл. 5), причем по уровню активности полученные нанокомпозиты не уступают алкалоиду с высокой противоопухолевой активностью камптотецину и антибиотику с противоопухолевой активностью доксорубицину.

Исходя из представленных в литературе данных о цитотоксической активности наночастиц серебра, стабилизированных цитратом (в отношении дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* 3–5 мкмоль·л⁻¹ [19], в отношении клеток аденокарциномы легких человека А549 95 мкг·мл⁻¹ [20]), и полученной нами низкой цитотоксической активности самих сополимеров в отношении исследуемых клеток ($IC_{50} > 100$ мкмоль·л⁻¹), можно говорить об основном вкладе наночастиц серебра в цитотоксическую активность нанокомпозитов.

Выводы

Сополимеры N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина и N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина с акриловой кислотой, акрилонитрилом и акриламидом получены методом радикальной сополимеризации в массе и растворе органических растворителей в присутствии динитрила азодиизомасляной кислоты. При сополимеризации N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов с акриловыми мономерами независимо от среды образующиеся продукты имеют статистическое распределение сомономерных звеньев в макромолекуле, причем при всех исходных соотношениях мономеров образующиеся сополимеры обогащены звеньями акрилового мономера. N,N-Диаллил- N'-ацилгидразины вступают в реакции сополимеризации с акриловыми мономерами с участием обеих двойных связей с образованием пирролидиновых структур, состоящих из смеси цис-, транс-стереоизомеров со значительным преобладанием *транс*-изомерных гетероциклов.

Сополимеры N,N-диаллил-N'-ацилгидразинов с акриловыми мономерами выступают в качестве подходящих стабилизаторов наночастиц серебра. Результаты сканирующей электронной микроскопии подтверждают образование серебряных наночастиц сферической формы со средним диаметром 51, 31 и 55 нм для сополимеров N,N-диаллил-N'-ацетилгидразина с акриловой кислотой, акриламидом и N,N-диаллил-N'-бензоилгидразина с акриловой кислотой соответственно.

Высокая цитотоксическая активность полученных нанокомпозитов в отношении клеток меланомы MS и рабдомиосаркомы RD делает их перспективными для разработки новых высокоэффективных противоопухолевых лекарственных средств.

Благодарности

Авторы благодарят Центр коллективного пользования ПФИЦ УрО РАН «Исследование материалов и вещества» за спектральные, аналитические и биологические исследования.

Финансирование работы

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Пермского края (грант № 19-43-590019-р_а).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Дополнительные материалы

Дополнительные материалы к статье представлены в файле ESM_1.

Информация об авторах

Горбунова Марина Николаевна, к.х.н., ст.н.с. ИТХ УрО РАН,

ORCID: http://orcid.org/0000-0003-2639-6069

Батуева Татьяна Дмитриевна, к.х.н., с.н.с. ИТХ УрО РАН,

ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6708-7062

Ерошенко Дарья Владимировна, к.б.н., н.с. ИТХ УрО РАН,

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4225-6691

Кисельков Дмитрий Михайлович, к.т.н., н.с. ИТХ УрО РАН,

ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0237-2743

Список литературы

[1] Nanomaterials and polymer nanocomposites. Raw materials to applications. Ch. 2. Silver Nanomaterials and Their Polymer Nanocomposites / Ed. by N. Karak. Elsevier, 2019. P. 47–89.

https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814615-6.00002-3

- [2] Sustainable polymer composites and nanocomposites. Ch. Impact of nanoparticle shape, size, and properties of silver nanocomposites and their applications / Eds S. Inamuddin, R. Thomas, Kumar Mishra, A. M. Asiri. Springer, Cham, 2019. P. 1067–1091. https://doi.org/10.1007/978-3-030-05399-4 37
- [3] Крутяков Ю. А., Кудринский А. А., Оленин А. Ю., Лисичкин Г. В. Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы // Успехи химии. 2008. Т. 77. № 3. С. 242–269 [Krutyakov Yu. A., Kudrinskiy A. A., Olenin A. Yu., Lisichkin G. V. Synthesis and properties of silver nanoparticles: Advances and prospects // Russ. Chem. Rev. 2008. V. 77. N 3. P. 233–257. http://dx.doi.org/10.1070/ RC2008v077n03ABEH003751].
- [4] Вегера А. В., Зимон А. Д. Синтез и физико-химические свойства наночастиц серебра, стабилизированных кислотным желатином // ЖПХ. 2006. Т. 79. № 9. С. 1419–1422 [Vegera A. V., Zimon A. D. Synthesis and physicochemical properties of silver nanoparticles stabilized by acid gelatin // Russ. J. Appl. Chem. 2006. V. 79. N 9. P. 1403–1406.

https://doi.org/10.1134/S1070427206090023].

- [5] Гусев В. Ю., Воробьева А. И., Радушев А. В., Колесов С. В., Маслухов Р. Р., Толстиков А. Г. Диаллилацилгидразины как мономеры для полифункциональных водорастворимых полимеров // Изв. АН. Сер. хим. 2003. № 12. С. 2603– 2605 [Gusev V. Yu., Radushev A. V., Tolstikov A. G., Vorob'eva A. I., Kolesov S. V., Muslukhov R. R. Diallylacylhydrazines as monomers for polyfunctional water-soluble polymers // Russ. Chem. Bull. 2003. N 12. P. 2750–2751. https://doi.org/10.1023/ B:RUCB.0000019896.10849.fd].
- [6] Finemann M., Ross S. D. Linear method for determining monomer reactivity ratios in copolymerization // J. Polym. Sci. 1950. V. 5. P. 259–262. https://doi.org/10.1002/pol.1950.120050210
- [7] Kelen T., Tüdős F. Analysis of the linear methods for determining copolymerization reactivity ratios. I. A new improved linear graphic method // J. Macromol. Sci., Chem. 1975. V. 9. N 1. P. 1–27. https://doi.org/10.1080/00222337508068644
- [8] Scudiero D. A., Shoemaker R. H., Paull K. D., Monks A., Tierney S., Notziger T. H., Currens M. T., Seniff D., Boyd M. K. Evaluation of a soluble tetrazolium/ formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines // Cancer Res. 1988. V. 48. P. 4827–4833.
- [9] Воробьева А. И., Горбунова М. Н., Гусев В. Ю., Муслухов Р. Р., Колесов С. В., Толстиков А. Г. Сополимеры на основе диаллилгидразинов // ЖПХ. 2004. Т. 77. № 7. С. 1174–1179 [Vorob'eva A. I., Gorbunova M. N., Gusev V. Y., Muslukhov R. R., Kolesov S. V., Tolstikov A. G., Monakov Yu. B. Copolymers based on diallylhydrazines // Russ. J.

Appl. Chem. 2004. V. 77. N 7. P. 1160-1164. https:// doi.org/10.1023/B:RJAC.0000044167.00715.3b].

- [10] Карпов С. В., Слабко В. В. Оптические и фотофизические свойства фрактально-структурированных золей металлов. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2003. C. 89-122.
- [11] Ostad S. N., Dehnad S., Nazari Z. E., Fini Sh. T., Mokhtari N., Shakibaie M., Shahverdi A. R. Cytotoxic activities of silver nanoparticles and silver ions in parent and tamoxifen-resistant T47D human breast cancer cells and their combination effects with tamoxifen against resistant cells // Avicenna J. Med. Biotechnol. 2010. V. 2. N 4. P. 187-196.
- [12] Ананян М. А., Демченко А. Г., Садыкова В. С., Люндуп А. В., Громовых Т. И., Фельдман Н. Б., Луценко С. В. Получение стабилизированных наночастиц серебра и изучение их антимикробной и цитотоксической активности в отношении клеток гепатомы человека линии HepG2 // Рос. нанотехнологии. 2019. Т. 14. № 5-6. С. 91-98 [Ananyan M. A., Demchenko A. G., Sadvkova V. S., Lvundup A. V., Gromovykh T. I., Feldman N. B., Lutsenko S. V. Preparation of stabilized silver nanoparticles and study of their antimicrobial and cytotoxic activity on the human hepatoma HepG2 cell line // Nanotechnologies in Russia. 2019. V. 14. P. 273-279.

https://doi.org/10.21517/1992-7223-2019-5-6-91-98].

- [13] Mohanta Y. K., Panda S. K., Jayabalan R., Sharma N., Bastia A. K., Mohanta T. K. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activity of silver nanoparticles synthesized by leaf extract of Erythrina suberosa (Roxb.) // Frontiers Mol. Biosci. 2017. V. 4. P. 14/1-14/9. https://doi.org/10.3389/fmolb.2017.00014
- [14] Wei L., Lu J., Xu H., Patel A., Chen Z. S., Chen G. Silver nanoparticles: Synthesis, properties, and therapeutic applications // Drug. Discov. Today. 2015. V. 20. P. 595-601.

https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.11.014

- [15] Zhang T., Wang L., Chen Q., Chen Ch. Cytotoxic potential of silver nanoparticles // Yonsei Med. J. 2014. V. 55. P. 283-291. https://doi.org/10.3349/ymj.2014.55.2.283
- [16] Goodman A. M., Cao Y., Urban C., Neumann O., Avala-Orozco C., Knight M. W., Joshi A., Nordlander P., Halas N.J. The Surprising in vivo instability of near-IR-absorbing hollow Au-Ag nanoshells // ACS Nano. 2014. V. 8. P. 3222-3231. https://doi.org/10.1021/nn405663h
- [17] Braun G. B., Friman T., Pang H.-B., Pallaoro A., Hurtado de Mendoza T., Willmore A.-M. A., Kotamraju V. R., Mann A. P., She Zh.-G., Sugahara K. N., Reich N. O., Teesalu T., Ruoslahti E. Etchable plasmonic nanoparticle probes to image and quantify cellular internalization // Nat. Mater. 2014. V. 13. P. 904-911. https://doi.org/10.1038/nmat3982
- [18] Ong C., Lim J. Z. Z., Ng C.-T., Li J. J., Yung L.-Y. L., Bay B.-H. Silver nanoparticles in cancer: Therapeutic efficacy and toxicity // Curr. Med. Chem. 2013. V. 20. P. 772-781.
 - https://doi.org/10.2174/0929867311320060003
- [19] Klimov A. I., Zherebin P. M., Gusev A. A., Kudrinskiy A. A., Krutyakov Y. A. The silver ions contribution into the cytotoxic activity of silver and silver halides nanoparticles // IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 2015. 012034/1-012034/9 https://doi.org/10.1088/1757-899X/98/1/012034
- [20] Mala R., Ruby Celsia A.S., Malathi Devi S., Geerthika S. Comparison on bactericidal and cytotoxic effect of silver nanoparticles synthesized by different methods // IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 2017. 012155/1-012155/11. https://doi.org/10.1088/1757-899X/225/1/012155