

УДК 541.64:66.095.26-922

КОНТРОЛИРУЕМЫЙ СИНТЕЗ СОПОЛИМЕРОВ N-ВИНИЛАМИДОЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ И ВИНИЛОВОГО СПИРТА ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

© 2022 г. А. И. Гостев^а, Е. В. Сивцов^{а,*}, Д. В. Григорьев^б

^аСанкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)
190013 Санкт-Петербург, Московский пр., 24-26/49 лит. А., Россия

^бНациональный исследовательский университет ИТМО
197101 Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49, Россия

*e-mail: rheologyspb@gmail.com

Поступила в редакцию 13.10.2022 г.

После доработки 13.11.2022 г.

Принята к публикации 01.12.2022 г.

Осуществлена контролируемая радикальная полимеризация с обратимой передачей цепи по механизму присоединения–фрагментации N-винилсукцинимид с винилацетатом в присутствии дибензилтретиокарбоната. Кинетика полимеризации и молекулярно-массовые характеристики полученных полимеров изучены с помощью методов спектроскопии ЯМР и гель-проникающей хроматографии. Проведена оценка значений констант сополимеризации мономеров и описана градиентная микроструктура сополимеров. Получены водорастворимые полимерные матрицы на основе сополимеров N-виниламидоянтарной кислоты и винилового спирта, предназначенные для иммобилизации низкомолекулярных соединений, проявляющих биоактивные свойства. Показано отсутствие бактерицидной активности синтезированных матриц на моделях бактериальных культур. Осуществлен перевод в водорастворимую форму маслорастворимых ремантадина и тримекаина за счет взаимодействия с полученным сополимером.

DOI: 10.31857/S2308113922700279

ВВЕДЕНИЕ

Интерес к созданию полимерных форм лекарственных веществ, использующихся в качестве активных фармацевтических ингредиентов в составе лекарственных средств, не угасает на протяжении нескольких десятилетий. Данное направление выделилось в самостоятельную область на стыке химии высокомолекулярных соединений, медицины и биологии. Обычно идею совмещения уникальных свойств полимеров и низкомолекулярных лекарственных веществ связывают с именами Н. Ringsdorf [1, 2] и J. Корёбек [3, 4], относя зарождение целенаправленного использования полимеров для улучшения характеристик лекарственных веществ к 70-м годам XX в. Однако впервые это направление было сформулировано С.Н. Ушаковым на десятилетия ранее [5]. Действенность такого подхода обусловлена пролонгированием действия лекарственных веществ, связанных тем или иным способом с полимерной матрицей, что обеспечивает терапевтическую концентрацию в крови в течение долгого периода времени (до суток), избавляет от передозировок,

характерных при приеме низкомолекулярных форм лекарственных веществ, часто снижает токсический эффект и открывает возможности для направленного транспорта лекарственных веществ в определенные органы или ткани [6]. В качестве матриц для создания таких водорастворимых систем известны сополимеры N-виниламидоянтарной кислоты и винилового спирта [7]. Новые синтетические возможности для решения разнообразных задач, в том числе для создания полимеров медико-биологического назначения определенной архитектуры и с заданными молекулярно-массовыми характеристиками, открылись с разработкой методов контролируемой радикальной полимеризации, в частности полимеризации с обратимой передачей цепи по механизму присоединения–фрагментации (ОПЦ-полимеризация). Механизм, особенности и возникающие на пути реализации трудности ОПЦ-полимеризации в полной мере описаны в обзорах G. Moad, E. Rizzardo и S.H. Thang [8, 9] и двух монографиях [10, 11]. Применительно к сополимерам N-виниламидоянтарной кислоты и винило-

вого спирта, прекурсором которых являются сополимеры N-винилсукцинимид (ВСИ) с винилацетатом (ВА), ОПЦ-полимеризация представляет особый интерес, так как позволяет решить одновременно несколько проблем. Прежде всего это вопрос композиционной неоднородности, характерной для сополимеров, получающихся из разноактивных мономеров, к которым относятся ВСИ и ВА. Другим достоинством является возможность синтеза полимеров с заданной величиной молекулярной массы и узким молекулярно-массовым распределением, что является ключевым требованием для прохождения гистогематического барьера организма [12]. При применении полимеров в составе лекарственных средств их постепенное, но полное выведение из организма обеспечивается ограничением по молекулярной массе, которая не должна превышать нескольких десятков тысяч [7], например 25×10^3 для гиалуроновой кислоты [13], однако пороговые значения могут достигать и $(30-50) \times 10^3$ в зависимости от гибкости и архитектуры цепи [12]. Кроме того, применение ОПЦ-полимеризации позволяет избежать ряд технологических трудностей. При проведении гомо- и сополимеризации ВСИ в массе мономера кинетика является неконтролируемой, характеризуется ярко выраженным гель-эффектом и часто является причиной получения сшитых, не растворимых ни в одном из растворителей продуктов [14, 15]. Аналогичная проблема существует и в радикальной полимеризации ВА, осложняющаяся еще реакцией передачи цепи на мономер [16, 17]. Эффективный контроль, обеспечиваемый агентом ОПЦ, снижает или даже подавляет гель-эффект, уменьшает роль процессов передачи цепи на полимер, являющихся причиной сшивки [18]. Отдельный вопрос – выбор агента ОПЦ. В настоящей работе в этом качестве использован дибензилтретиокарбонат (БТК), проявивший себя эффективным ОПЦ-агентом в полимеризации широкого ряда винильных мономеров и, в частности, в гомополимеризации ВСИ [19]. Другим важным его достоинством является доступность и относительная простота получения.

Цель настоящей работы – изучение сополимеризации N-винилсукцинимид с винилацетатом в присутствии БТК в условиях обратимой передачи цепи по механизму присоединение–фрагментация с целью получения на их основе водорастворимых сополимеров N-виниламидоянтарной кислоты с виниловым спиртом, способных к связыванию низкомолекулярных лекарственных веществ, используемых в качестве активных фармацевтических ингредиентов в составе лекарственных средств.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

N-винилсукцинимид синтезировали по методике, описанной в работе [20], очистку проводили путем трехкратной перекристаллизации из раствора в изопропиловом спирте ($T_{пл} = 48.5^\circ\text{C}$, $n_D^{50} = 1.5020$), выход 46%. ЯМР ^1H (400.13 Гц, DMSO-d_6): $\delta = 2.66$ (4H, c), 5.02 (1H, д, $J = 9.78$ Гц), 5.95 (1H, д, $J = 16.38$ Гц), 6.64 (1H, дд, $J = 16.38$, 9.78 Гц). Винилацетат перед полимеризацией дважды перегоняли ($T_{кип} = 72^\circ\text{C}$): ЯМР ^1H (400.13 Гц, DMSO-d_6): $\delta = 2.13$ (3H, s), 4.64 (1H, дд, $J = 6.32$, 1.47 Гц), 4.89 (1H, дд, $J = 13.94$, 1.47 Гц), 7.21 (1H, дд, $J = 13.94$, 6.32 Гц). Дибензилтретиокарбонат синтезировали по методике [21]. Выход БТК, представляющего собой кристаллическое вещество желтого цвета, составлял 83.6%. Идентификация по спектру ЯМР ^1H (400.13 МГц, 25°C , CDCl_3) δ , м.д.: 4.69 (4H CH_2 , c), 7.28–7.42 (10H, Аг, м). ДАК дважды перекристаллизовывали из этанола при $50 \pm 2^\circ\text{C}$, и сушили в вакууме при 20°C ($T_{пл} = 104^\circ\text{C}$). ДМФА и ДМСО (оба – х.ч., Акционерное общество “Вектон”) перед использованием перегоняли в вакууме. NaOH (98%), ч.д.а., КОН (86%), х.ч. (оба – Общество с ограниченной ответственностью “НеваРеактив”), диэтиловый эфир (ч.д.а., Общество с ограниченной ответственностью “Кузбасоргхим”), дейтерированный диметилсульфоксид и дейтерированный хлороформ, 99.5% (оба – Cambridge Isotope Laboratories), LiBr, $\geq 99\%$ (“Sigma Aldrich”, номер продукта 73036), катионит КУ-2-8, H^+ -форма (Общество с ограниченной ответственностью Производственное объединение “ТОКЕМ”), ремантадина хлоргидрат и тримекаина хлоргидрат (оба – Акционерное общество “Олайнфарм”), сухой питательный агар (ГРМ-АГАР, Акционерное общество “ЛенРеактив”, код товара 013057) использовали без дополнительной подготовки. Дистиллированную воду получали на бидистилляторе “Steuergerat purator-bi” (“Kombinat Technisches Glas”, Ilmenau).

Контролируемый синтез сополимеров ВСИ с ВА при содержании ВСИ 25 мол. % в мономерной смеси и разной концентрации агента ОПЦ проводили в массе мономеров при 70°C в течение 72 ч в стеклянных ампулах объемом 10 cm^3 , где создавали инертную атмосферу Аг путем проведения трехкратного цикла замораживание–вакуумирование–размораживание–заполнение Аг. Использовали следующие загрузки: ВСИ 1.50 г, ВА 3.19 г, БТК 0.0025 г (1.8×10^{-3} моль/л), ДАК 0.0007 г (8.6×10^{-4} моль/л), выход сополимера 67%, содержание звеньев ВСИ 34.8 мол. %; ВСИ 1.50 г, ВА 3.22 г, БТК 0.0065 г (4.5×10^{-3} моль/л), ДАК 0.0007 г (8.6×10^{-4} моль/л), выход сополимера 50%, содержание звеньев ВСИ 45.8 мол. %; ВСИ 1.50 г, ВА 3.22 г, БТК 0.0127 г (8.8×10^{-3} моль/л),

ДАК 0.0007 г (8.6×10^{-4} моль/л), выход сополимера 35%, содержание звеньев ВСИ 50.6 мол. %. По окончании полимеризации реакцию массу растворяли в 1,4-диоксане и дважды осаждали в воду, сушили в вакууме при 60°C до постоянной массы.

Классическую сополимеризацию ВСИ с ВА в ДМСО ([ДАК] = 2.0×10^{-2} моль/л) при разном составе мономерной смеси проводили в стеклянных ампулах, как описано выше, при 70°C в течение 72 ч. Использовали следующие загрузки: для исходной смеси мономеров состава ВСИ : ВА = 25 : 75 мол. %, ВСИ 0.161 г, ВА 0.355 г, ДАК 0.0026 г, ДМСО 0.280 г (выход сополимера 41%, содержание звеньев ВСИ 29.0 мол. %); для эквимолярного состава брали ВСИ 0.296 г, ВА 0.209 г, ДАК 0.0033 г, ДМСО 0.5552 г (выход сополимера 51%, содержание звеньев ВСИ 49.3 мол. %); для состава 75 : 25, ВСИ 0.408 г, ВА 0.108 г, ДАК 0.0039 г, ДМСО 0.7625 г (выход сополимера 58%, содержание звеньев ВСИ 59.7 мол. %). По окончании полимеризации сополимер дважды переосаждали из раствора в ДМСО в воду, сушили в вакууме при 80°C до постоянной массы.

Контролируемый синтез сополимеров ВСИ с ВА при разном составе мономерной смеси проводили в стеклянных ампулах, как описано выше, в массе мономеров при 70°C ([ДАК] = 1×10^{-3} моль/л, [БТК] = 5×10^{-3} моль/л) в течение 1, 2.5 и 4 ч. Использовали следующие загрузки: для исходной смеси мономеров состава ВСИ : ВА = 25 : 75 мол. %, ВСИ 2.96 г, ВА 6.12 г, БТК 0.0126 г, ДАК 0.0015 г; для состава 50 : 50, ВСИ 5.92 г, ВА 4.08 г, БТК 0.0145 г, ДАК 0.0018 г; для состава 75 : 25, ВСИ 8.88 г, ВА 2.05 г, БТК 0.0162 г, ДАК 0.0018 г. По окончании полимеризации реакцию массу растворяли в диоксане и дважды осаждали в воду, сушили в вакууме при 60°C до постоянной массы.

Спектры ЯМР ^1H регистрировали на спектрометре "Bruker Avance III" с рабочей частотой на ядрах ^1H 400 МГц. Мониторинг сополимеризации ВСИ и ВА проводили при 70°C в специальной ампуле для ЯМР, предназначенной для дегазации/вакуумирования производства WILMAD. В ампуле создавали атмосферу Ar. За начало полимеризации принимали момент через 4 мин после опускания ампулы в нагретую измерительную ячейку. Использовали следующие загрузки: для мономерной смеси, содержащей 50 мол. % ВСИ: ВСИ 0.045 г, ВА 0.031 г, БТК 0.0012 г, ДАК – 0.1 мл раствора ДАК (0.0012 г) в 1 мл ДМСО- d_6 ; для смеси, содержащей 62.5 мол. % ВСИ: ВСИ 0.105 г, ВА 0.043 г, БТК 0.0020 г, ДАК – 0.2 мл раствора ДАК (0.0012 г) в 1 мл ДМСО- d_6 ; для смеси, содержащей 75 мол. % ВСИ: ВСИ 0.131 г, ВА 0.030 г, БТК 0.0020 г, ДАК – 0.2 мл раствора ДАК (0.0012 г) в 1 мл ДМСО- d_6 .

Для расчета текущих концентраций ВСИ, ВА и БТК производили интегрирование всего спектра от 7.6 до 0 м.д., и этот интеграл нормировали на единичную площадь. Далее по изменению интенсивностей сигналов винильных протонов мономеров и бензильных протонов БТК по отношению к интенсивностям в исходном спектре до начала реакции определяли конверсию мономеров и БТК. Для перехода к мольным концентрациям учитывали изменение объема реакционной смеси в ходе полимеризации. Это делали с использованием коэффициентов контракции мономеров при температуре синтеза. При этом упрощенно предполагали, что объем реакционной смеси является простой суммой объемов ее компонентов (мономер, передатчик цепи и растворитель – ДМСО- d_6 , вкладом инициатора пренебрегали). Объем каждого мономера при его конверсии q приближенно описывается линейной функцией

$$V = V_0(1 - kq). \quad (1)$$

Здесь V_0 – объем мономера в исходной смеси, q – его конверсия, k – коэффициент контракции, определяемый на основании значений плотности мономера и полимера ($k = (1/\rho_m - 1/\rho_p)/(1/\rho_m)$), где ρ_m и ρ_p – плотность мономера и полимера соответственно. Были использованы следующие значения k : 0.104 для ВСИ и 0.215 для ВА.

Сополимер N-виниламидоантарной кислоты и винилового спирта получали гидролизом сополимера-прекурсора 5%-ным водным раствором NaOH в течение 48 ч при комнатной температуре. От избытка щелочи сополимер очищали диализом, используя мешок с размером ячейки 1 кДа, затем лиофильно сушили. Полученную солевую форму сополимера N-виниламидоантарная кислота(Na)–виниловый спирт переводили в кислотную форму на ионообменной смоле КУ-2-8, взятой в количестве 10%-ного избытка к максимальному расчетному количеству звеньев N-виниламидоантарной кислоты(Na). Сополимер N-виниламидоантарной кислоты и винилового спирта подвергали диализу и лиофильно сушили.

Бактерицидную активность сополимеров N-виниламидоантарной кислоты с N-винилпирролидоном в виде водных растворов концентрацией 0.1, 0.01, 0.001 мг/мг H_2O исследовали классическим методом колодцев [22]. Для анализа бактерицидной активности использовали три суточные тест-культуры бактерий: грамотрицательные бактерии *Escherichia coli* и грамположительные бактерии *Staphylococcus aureus* и *Bacillus cereus*. Чистые культуры получали из музея культур кафедр технологии микробиологического синтеза Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета) и выращивали в течение 1 суток на среде сухого питательного агара при 30°C. Суточные

культуры засеивали газоном на поверхность среды сухого питательного агара в чашки Петри, после чего в этой агаризованной среде делали колодцы стерильным сверлом. Затем колодцы полностью заполняли исследуемыми растворами полимеров. Опыт повторяли два раза для каждой концентрации сополимеров. Чашки, не переворачивая, помещали в термостат при 30°C на трое суток для роста тест-культур. Анализ бактерицидной активности проводили визуально по наличию (отсутствию) роста тест-культур на поверхности сухого питательного агара вокруг колодцев с исследуемыми сополимерами.

Получение ремантадина-основания и тримекаина-основания проводили из соответствующих хлоргидратов. Хлоргидрат суспендировали в дистиллированной воде и при перемешивании добавляли 1 М NaOH. При этом выделяли активный фармацевтический ингредиент-основание, система расслаивалась на нижний водно-щелочной слой и верхний органический. Целевой продукт экстрагировали диэтиловым эфиром, сушили от следов воды сухим КОН и выделяли отгонкой эфира при вакууме водоструйного насоса. Ремантадин перегоняли в вакууме при 100°C/2 мм. рт. ст. Тримекаин в виде плотного порошка сушили при 20°C/5 мм. рт. ст.

Состав сополимеров ВСИ с ВА определяли на основании данных о содержании в образцах азота. Элементный анализ осуществляли на автоматическом анализаторе марки Vario EL CHNOS Elementar Analyzer ("Elementar Analysensysteme GmbH", ФРГ). Определяли содержание углерода, водорода, азота и серы. Проводили не менее трех определений для каждого образца. О погрешности определений судили по воспроизводимости результатов, которая составила $\pm 0.1\%$.

Молекулярно-массовые характеристики сополимеров ВСИ и ВА, полученных полимеризацией в массе мономерной смеси, содержащей 25 мол. % ВСИ, при разной концентрации БТК и сополи-

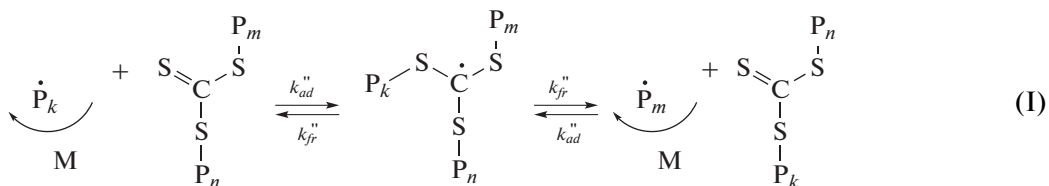
меров ВСИ–ВА, полученных классической сополимеризацией в ДМСО при разном составе мономерной смеси изучали методом ГПХ на хроматографе "Shimadzu" с рефрактометрическим детектированием с применением узкодисперсных полиметилметакрилатных стандартов (диапазон масс $(1-400) \times 10^3$). Условия проведения: мобильная фаза – ДМФА с добавлением 0.1% LiBr, 40°C, скорость потока 0.7 мл/мин, предколонка Agilent PLgel 5 μ m Guard 50 \times 7.5 мм и 2 колонки Agilent PLgel 5 μ m MIXED-D, 300 \times 7.5 мм, 2–400 $\times 10^3$.

ММР сополимеров ВСИ–ВА, полученных в присутствии БТК при разном составе мономерной смеси, исследовали с помощью высокоэффективной эксклюзионной жидкостной хроматографии на хроматографическом комплексе "Knauer" семейства "Smartline" с рефрактометрическим и спектрофотометрическим детекторами на основе диодной матрицы, с применением узкодисперсных полистирольных стандартов (диапазон масс $(1.8-3100) \times 10^3$). Условия проведения: мобильная фаза – 0.5 М раствор LiBr в ДМФА, 30°C, скорость потока 0.3 мл/мин, колонка PL gel MiniMix-B.

ИК-спектры получали на фурье-ИК-спектрометре "Tensor 37" фирмы "Bruker" с помощью приставки НПВО MIRacle фирмы "Pike" с кристаллом ZnSe с алмазным напылением. Спектры регистрировали в диапазоне 4000–600 см^{-1} с разрешением 2 см^{-1} и усреднением по 32 сканированиям.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При полимеризации винильных мономеров в присутствии ОПЦ-агентов, в частности симметричных тритиокарбонатов, контроль над ММ-характеристиками достигается за счет реализации равновесия



В результате происходит постоянный обмен полимерными радикалами P_n , P_m , P_k в макромолекулах, количество которых задается концентрацией агента ОПЦ. Равновесие определяется соотношением констант скоростей реакций присоединения k_{ad}'' макрорадикалов по связи C=S и их отщепления k_{fr}'' от радикального интермедиата. Когда макрорадикалы находятся в свободном со-

стоянии, они, присоединяясь к молекулам мономеров, участвуют в росте цепи. Чем меньше число новых звеньев успевает присоединиться к радикалу роста до перехода в "спящее" состояние макромолекулы, тем эффективнее контроль. Если не происходит нежелательных побочных реакций, то в результате образуется полимер с узким ММР.

Пара ВСИ и ВА относится к случаю мономеров, сильно различающихся по реакционной способности. В классической радикальной полимеризации это приводит к получению полимеров с ярко выраженной конверсионной композиционной неоднородностью. Ее можно избежать, осуществляя полимеризацию в режиме постепенной загрузки более активного мономера в ходе реакции. Контролируемая радикальная полимеризация предлагает более простой в практическом плане способ избежать такого существенного недостатка. В данном случае состав макромолекул непрерывно меняется вдоль цепи в течение всего времени проведения реакции макромолекул, тогда как между собой они отличаются в наименьшей степени.

Относительная реакционная способность ВСИ и ВА зависит от природы среды, поэтому константы сополимеризации являются константами только для определенных условий проведения процесса (растворитель, концентрация мономеров, инициатор, температура). Так, при сополимеризации в массе с использованием перекиси бензоила в качестве инициатора $r_{\text{ВСИ}} = 5.10$, $r_{\text{ВА}} = 0.17$ (65°C) [23], $r_{\text{ВСИ}} = 6.05$, $r_{\text{ВА}} = 0.18$ (60°C) [24], в этаноле с тем же инициатором $r_{\text{ВСИ}} = 5.62$, $r_{\text{ВА}} = 0.17$ (70°C), в ДМСО с инициатором ДАК $r_{\text{ВСИ}} = 2.78$, $r_{\text{ВА}} = 0.04$ (70°C, ВСИ : ДМСО = 1 : 3), $r_{\text{ВСИ}} = 0.02$, $r_{\text{ВА}} = 0.82$ (70°C, ВСИ : ДМСО = 1 : 14) [25], в воде с иницирующей системой $\text{NH}_4\text{S}_2\text{O}_8\text{--Na}_2\text{SO}_3$ $r_{\text{ВСИ}} = 1.16$, $r_{\text{ВА}} = 0.02$ (25°C) [26] и с иницирующей системой триацетилацетонат марганца—уксусная кислота $r_{\text{ВСИ}} = 1.13$, $r_{\text{ВА}} = 0.30$ (25°C) [27]. За исключением случая полимеризации в разбавленном растворе в ДМСО, ВСИ всегда проявляет большую активность.

Для достижения достаточного контроля над молекулярно-массовыми характеристиками приходится учитывать по крайней мере два фактора. С повышением концентрации агента ОПЦ улучшается контроль, но увеличивается вероятность замедления полимеризации (вплоть до полного ингибирования), понижения предельно достижимого выхода полимера и ограничения по величине достижимой ММ. Наоборот, при уменьшении концентрации агента ОПЦ теоретически достижимая степень полимеризации, равная отношению суммарной концентрации мономеров к концентрации агента ОПЦ $[\text{ВСИ} + \text{ВА}]/[\text{БТК}]$, увеличивается, но в ущерб качеству контроля. Гомополимеризация ВА в присутствии БТК сопряжена с рядом трудностей [28], связанных с низким качеством контроля ММ характеристик и ингибированием полимеризации при попытке увеличить концентрацию агента ОПЦ. По отношению к ВСИ дибензилтретиокарбонат, напротив, проявляет себя достаточно эффективным агентом ОПЦ ($C_{\text{tr}} = 19$) [19]. В связи с этим в присутствии ВСИ

следует ожидать удовлетворительного качества контроля, как это наблюдалось при сополимеризации ВА с более активным бутилакрилатом ($r_{\text{ВА}} = 0.01$ и $r_{\text{бутилакрилат}} = 5.38$), когда закономерности процесса были близки к гомополимеризации ВА [29].

Сополимеризация ВСИ с ВА в присутствии БТК при “неблагоприятном” составе исходной мономерной смеси, содержащей 75 мол. % ВА, приводит к получению полимеров, характеризующихся более узким ММР по сравнению с традиционной радикальной полимеризацией и молекулярной массой, зависящей от концентрации БТК (рис. 1). С повышением концентрации БТК хроматограммы сдвигаются в область меньших ММ, причем только при $[\text{БТК}] = 8.8 \times 10^{-3}$ моль/л молекулярно-массовое распределение становится узким и унимодальным.

Основным признаком ОПЦ-полимеризации является увеличение ММ с конверсией мономеров. При ОПЦ-сополимеризации ВСИ с ВА в массе хроматограммы образцов, полученных при различной продолжительности полимеризации (табл. 1), сдвигаются в область больших значений ММ с увеличением конверсии мономеров (рис. 2), что также подтверждается значениями ММ, полученными из спектров ЯМР ^1H полимеров при сравнении интегральных интенсивностей сигналов, относящихся к фенильным протонам концевых бензильных групп и остальным протонам мономерных звеньев. Хроматограммы в основном унимодальны.

Кинетика сополимеризации ВСИ и ВА изучена методом спектроскопии ЯМР ^1H . Понятно, что изучить сополимеризацию в массе мономеров таким способом не представлялось возможным, и мониторинг проводился в растворах концентрацией порядка 10% в ДМСО- d_6 (это достаточно точно соответствует соотношению ВСИ : ДМСО = 1 : 14, для которого определены константы сополимеризации [25]). Следовательно, при интерпретации полученных данных надо учитывать зависимость относительных активностей мономеров от среды. Поскольку интерес представляет поведение системы в условиях эффективного контроля, концентрация БТК была достаточно высокой: 2×10^{-2} моль/л и во всех экспериментах превышала концентрацию ДАК примерно в 25 раз.

С увеличением доли ВА в мономерной смеси брутто скорость сополимеризации и выходы полимера резко снижаются, так что при содержании ВА 50 мол. % достижение сколько-нибудь интересного с практической точки зрения выхода невозможно (рис. 3). Скорость расходования ВСИ и ВА меняется с ходом полимеризации. При содержании ВСИ 62.5 мол. % и более первоначально быстрое вхождение ВСИ в полимерные цепи приводит к снижению его концентрации так, что,

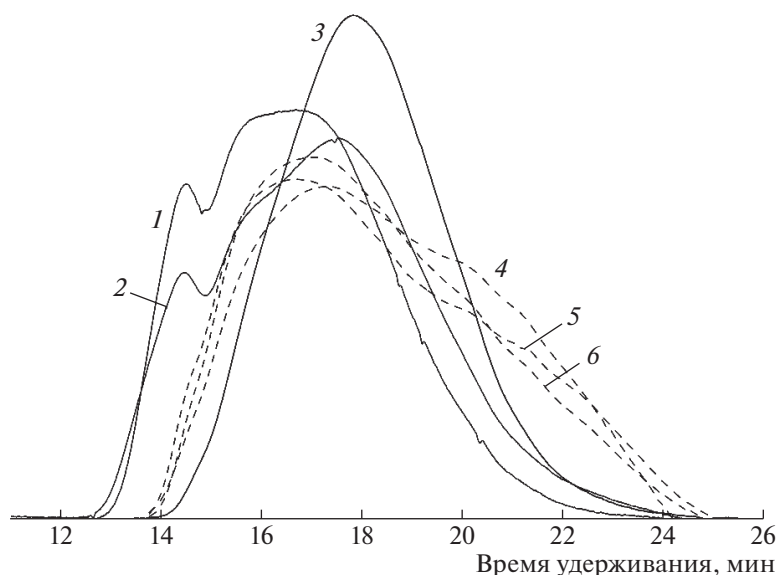


Рис. 1. Хроматограммы сополимеров ВСИ с ВА, полученных на предельных конверсиях при 70°C, в присутствии БТК при полимеризации в массе мономерной смеси ВСИ : ВА = 25 : 75, [БТК] × 10³ = 1.8 (1), 4.5 (2), 8.8 моль/л (3); [ДАК] = 8.6 × 10⁻⁴ моль/л, а также в условиях классической радикальной полимеризации в ДМСО для смесей ВСИ : ВА = 25 : 75 (4), 50 : 50 (5) и 75 : 25 мол. % (6).

начиная с определенного момента, скорость расходования ВА становится выше (рис. 4).

До определенной конверсии происходит обогащение цепей полимера звеньями ВСИ, но после изменения соотношения концентраций мономеров в сторону увеличения доли ВА содержание ВСИ в сополимере незначительно снижается (рис. 5). Скорость расходования БТК можно считать мерой его эффективности как передатчика цепи. В изученном диапазоне составов мономер-

ной смеси БТК расходуется тем быстрее, чем выше содержание ВСИ, но независимо от состава смеси за 6 ч синтеза происходит почти полное исчерпание БТК (рис. 6).

На основании данных об изменении состава сополимера с ходом реакции при разном составе мономерной смеси возможна оценка констант сополимеризации. Методами Езриелева–Брохиной–Роскина [30] и Келена–Тьюдоша [31, 32] были рассчитаны константы сополимеризации ви-

Таблица 1. Характеристики сополимеров N-винилсукцинимид с винилацетатом, полученных в присутствии БТК полимеризацией в массе мономерных смесей различного состава ([БТК] = 5 × 10⁻³ моль/л, [ДАК] = 1 × 10⁻³ моль/л, 70°C)

Состав исходной мономерной смеси ВСИ : ВА, мол. %	Продолжительность полимеризации, ч	Выход сополимера, %	Содержание звеньев ВСИ в сополимере, мол. %	Теоретическая степень полимеризации	Степень полимеризации (по данным спектроскопии ЯМР ¹ H)
25 : 75	1.0	3.4	80	75	120
	2.5	17.5	83	380	450
	4.0	24.4	90	530	500
50 : 50	1.0	4.3	82	270	500
	2.5	29.5	85	560	640
	4.0	50.6	91	960	1060
75 : 25	1.0	34.1	89	580	700
	2.5	58.2	89	990	1270
	4.0	75.1	94	1170	1560

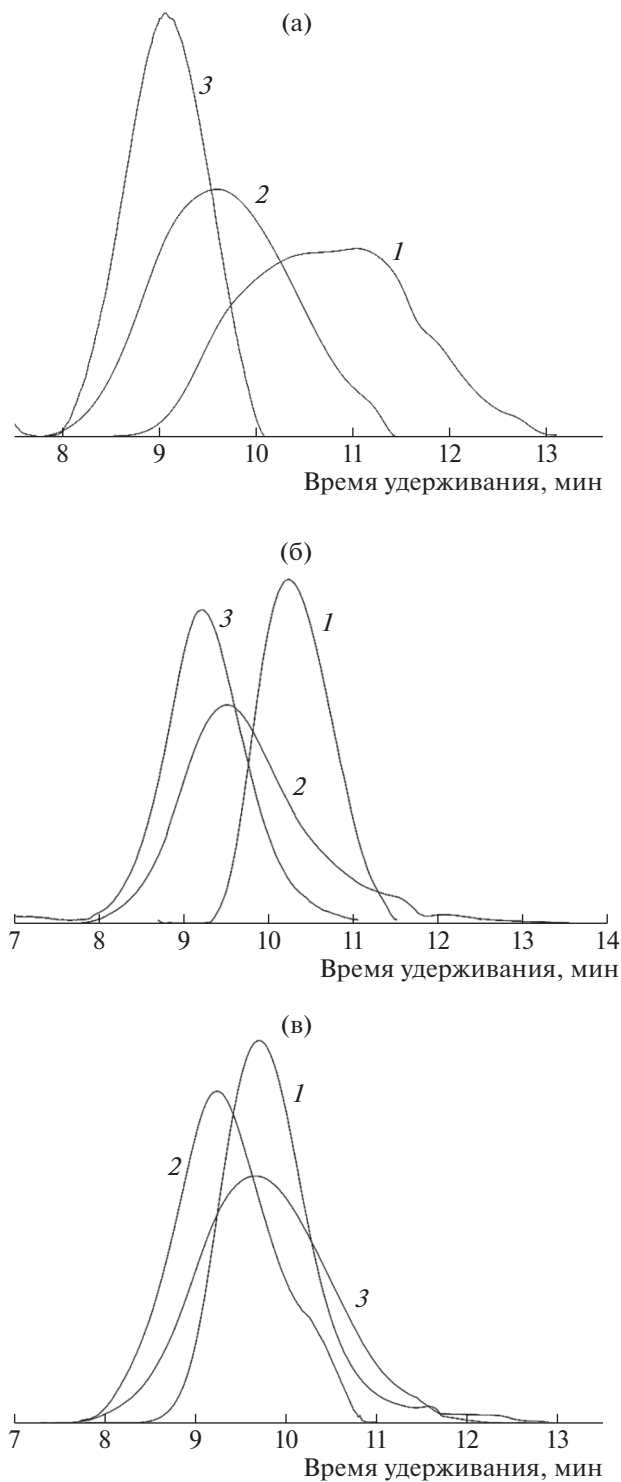


Рис. 2. Хроматограммы сополимеров ВСИ с ВА, полученных в присутствии БТК полимеризацией в массе мономерной смеси ВСИ : ВА = 25 : 75 (а), 50 : 50 (б), 75 : 25 мол. % (в), 70°С. Продолжительность полимеризации 1 (1), 2.5 (2) и 4 ч (3).

нилацетата и N-винилсукцинимид, которые составили: $r_{ВА} < 0$, $r_{ВСИ} = 0.77 \pm 0.09$ (метод Эзриелева–Брохиной–Роскина) и $r_{ВА} < 0$, $r_{ВСИ} = 0.79 \pm$

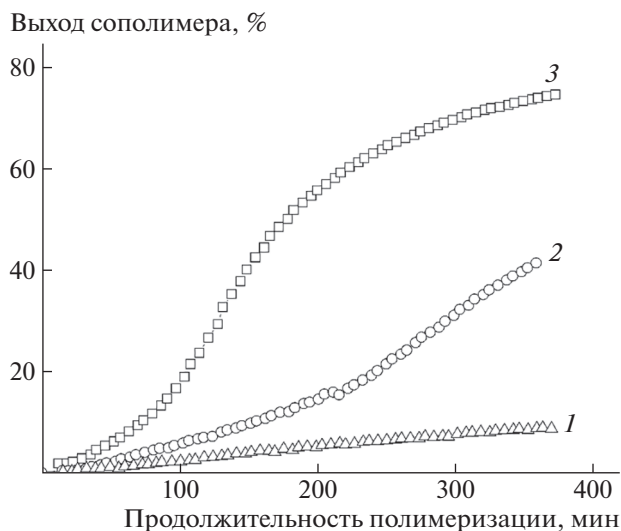


Рис. 3. Зависимость выхода сополимера от продолжительности реакции при сополимеризации ВСИ и ВА в ДМСО-d₆ в присутствии БТК. [ДАК] = 8.0×10^{-4} моль/л, [БТК] = 2×10^{-2} моль/л, 70°С. Состав исходной мономерной смеси ВСИ : ВА 50 : 50 (1), 62.5 : 37.5 (2) и 75 : 25 мол. % (3).

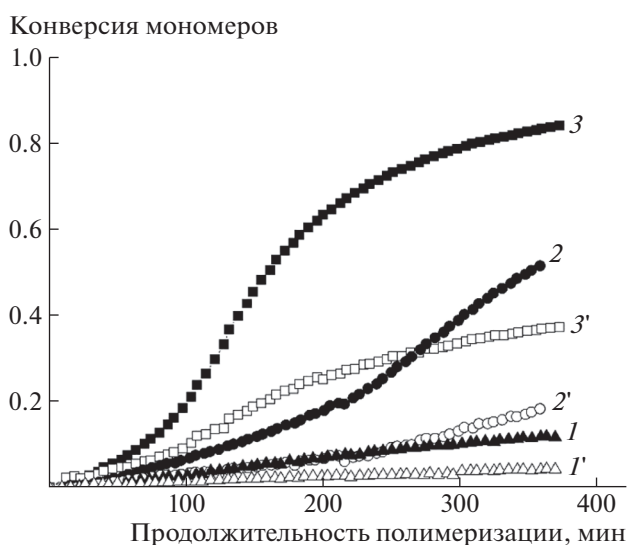


Рис. 4. Зависимость конверсии ВСИ (1–3) и ВА (1'–3') от продолжительности реакции при сополимеризации ВСИ и ВА в ДМСО-d₆ в присутствии БТК. [ДАК] = 8.0×10^{-4} моль/л, [БТК] = 2×10^{-2} моль/л, 70°С. Состав исходной мономерной смеси ВСИ : ВА 50 : 50 (1, 1'), 62.5 : 37.5 (2, 2') и 75 : 25 мол. % (3, 3').

± 0.09 (метод Келена–Тьюдоша) при учете данных, полученных в диапазоне выхода сополимера до 10% и $r_{ВА} < 0$, $r_{ВСИ} = 1.23 \pm 0.17$ (метод Эзриелева–Брохиной–Роскина) и $r_{ВА} < 0$, $r_{ВСИ} = 1.27 \pm 0.24$ (метод Келена–Тьюдоша) при учете данных, полученных в диапазоне выходов сополимера до 35%

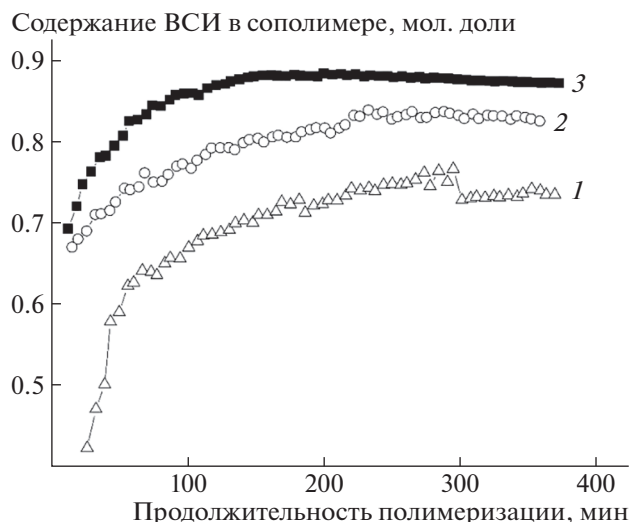


Рис. 5. Зависимость содержания звеньев ВСИ в сополимере от продолжительности реакции при сополимеризации ВСИ и ВА в ДМСО- d_6 в присутствии БТК.

[ДАК] = 8.0×10^{-4} моль/л, [БТК] = 2×10^{-2} моль/л, 70°C . Состав исходной мономерной смеси ВСИ : ВА 50 : 50 (1), 62.5 : 37.5 (2) и 75 : 25 мол. % (3).

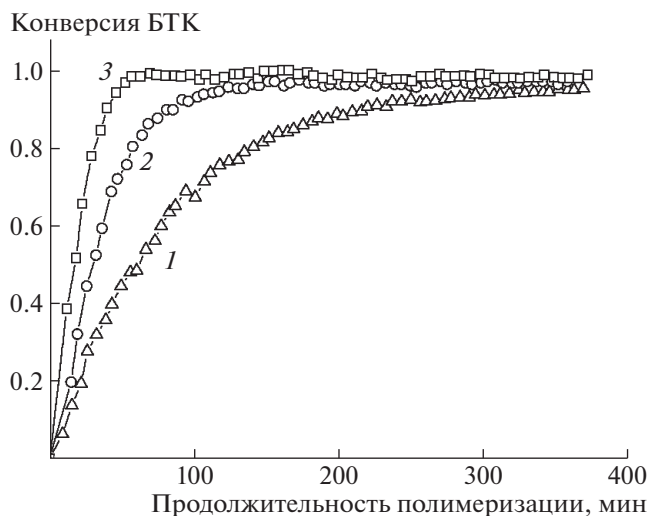


Рис. 6. Зависимость конверсии БТК от продолжительности реакции при сополимеризации ВСИ и ВА в ДМСО- d_6 в присутствии БТК. [ДАК] = 8.0×10^{-4} моль/л, [БТК] = 2×10^{-2} моль/л, 70°C . Состав исходной мономерной смеси ВСИ : ВА 50 : 50 (1), 62.5 : 37.5 (2) и 75 : 25 мол. % (3).

(метод Келена–Тьюдоша может применяться с достаточной точностью с использованием данных, полученных при конверсиях мономеров до 50% [32]). Отрицательное значение константы сополимеризации лишено физического смысла, однако может быть получено при формальном применении алгоритмов расчета. Такой результат можно интерпретировать как значение константы, близкое к нулю. Интересно, что в данном эксперименте, отличающемся от описанного ранее [25] тем, что в качестве растворителя использовали дейтерированный ДМСО, не наблюдалось инверсии активностей мономеров, и ВСИ проявлял заметно более высокую реакционную способность.

Знание констант сополимеризации предоставляет возможность оценки микроструктуры цепи сополимера. Для вероятностей образования диад M_1-M_1 (f_{11}), M_1-M_2 (f_{12}), M_2-M_1 (f_{21}) и M_2-M_2 (f_{22}) могут использоваться уравнения [33]

$$f_{11} = \frac{r_1 \left(\frac{[M_1]}{[M_2]} \right)^2}{r_1 \left(\frac{[M_1]}{[M_2]} \right)^2 + 2 \frac{[M_1]}{[M_2]} + r_2}, \quad (2)$$

$$f_{12} = f_{21} = \frac{\frac{[M_1]}{[M_2]}}{r_1 \left(\frac{[M_1]}{[M_2]} \right)^2 + 2 \frac{[M_1]}{[M_2]} + r_2}, \quad (3)$$

$$f_{22} = \frac{r_2}{r_1 \left(\frac{[M_1]}{[M_2]} \right)^2 + 2 \frac{[M_1]}{[M_2]} + r_2} \quad (4)$$

На основе этих уравнений были выведены функции распределения вероятностей образования структур, состоящих из n последовательно соединенных звеньев каждого типа F_{1n} для мономера M_1 и F_{2n} для мономера M_2 [34]:

$$F_{1n} = f_{21} \left(\frac{f_{11}}{f_{11} + f_{12}} \right)^{n-1} \frac{f_{12}}{f_{11} + f_{12}} n, \quad (5)$$

$$F_{2n} = f_{12} \left(\frac{f_{22}}{f_{22} + f_{21}} \right)^{n-1} \frac{f_{21}}{f_{22} + f_{21}} n. \quad (6)$$

Зная f_{11} , f_{12} , f_{21} и f_{22} , можно вычислить среднюю длину блоков последовательно соединенных звеньев каждого типа [34]:

$$\bar{L}_1 = \frac{f_{11} + f_{12}}{f_{12}} \quad (7)$$

$$\bar{L}_2 = \frac{f_{22} + f_{21}}{f_{21}}. \quad (8)$$

Данные параметры микроструктуры были определены для сополимеров ВА с ВСИ, исходя из значений констант сополимеризации $r_{\text{ВА}} = 0.01$, $r_{\text{ВСИ}} = 0.79$. Замена отрицательного значения $r_{\text{ВА}}$ на любое число, близкое к нулю, приводит к оди-

Таблица 2. Основные параметры микроструктуры цепи сополимеров винилацетата и N-винилсукцинимид в зависимости от состава мономерной смеси

Вид структуры	Содержание винилацетата (M_1) в мономерной смеси, мол. %								
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
f_{11}	0	0	0.0001	0.0002	0.0004	0.0006	0.001	0.0018	0.0043
$f_{12} = f_{21}$	0.110	0.194	0.260	0.314	0.358	0.396	0.427	0.454	0.477
f_{22}	0.780	0.612	0.480	0.372	0.283	0.208	0.145	0.090	0.0420
\bar{L}_1	1.000	1.000	1.000	1.001	1.001	1.002	1.002	1.004	1.009
\bar{L}_2	8.11	4.16	2.84	2.18	1.79	1.53	1.34	1.20	1.09

наковым результатам для f_{11} , $f_{12}(f_{21})$, f_{22} , F_{1n} , F_{2n} , \bar{L}_1 и \bar{L}_2 (табл. 2).

При интерпретации данных (табл. 2), полученных при высоком содержании ВСИ в мономерной смеси, не следует считать, что, например, при содержании ВСИ 90 мол. % в сополимере блоки преимущественно из 8 звеньев ВСИ чередуются с индивидуальными звеньями ВА. Распределение вероятностей образования последовательностей F_{1n} , F_{2n} широкое (рис. 7), и доля длинных блоков, содержащих десятки звеньев ВСИ, может быть существенной.

Поскольку в присутствии достаточного количества БТК сополимеризация ВСИ с ВА проходит в режиме “живых” цепей, результатом является получение градиентных сополимеров. Зная, как меняется состав мономерной смеси в ходе реакции, можно оценить изменение микроструктуры по длине цепи. Например, при сополимеризации мономерной смеси, содержащей 25 мол. % ВА, за 6 ч синтеза его доля возрастает до 57 мол. % благодаря быстрому расходованию ВСИ, что приводит к сокращению длины блоков ВСИ и увеличению содержания ВА на участках цепи, полученных на поздних стадиях процесса (рис. 8).



Рис. 7. Зависимость доли последовательностей звеньев ВСИ в цепи сополимера ВСИ с ВА от их длины. Содержание ВСИ в смеси 90 (1) и 80 мол. % (2).

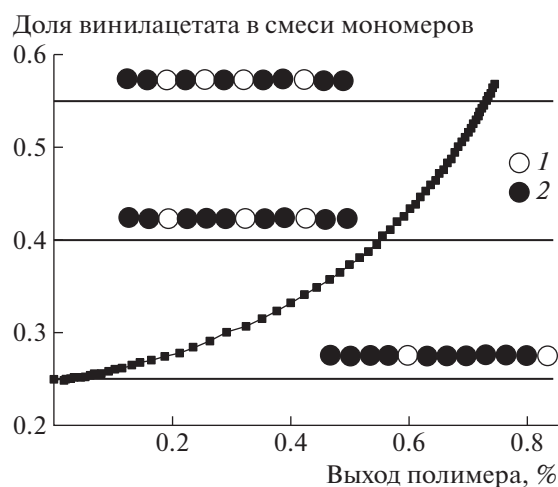
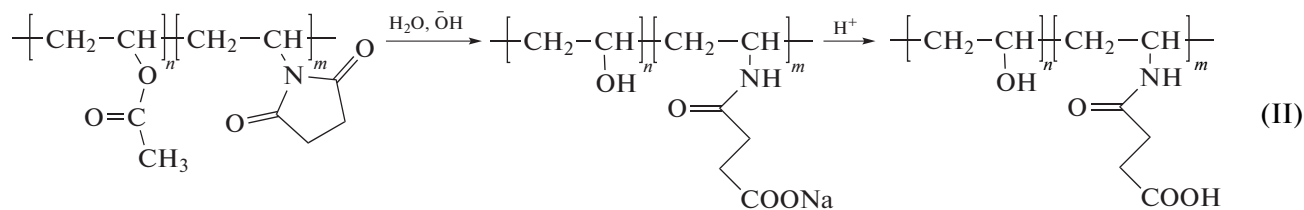


Рис. 8. Изменение соотношения мономеров при полимеризации смеси, содержащей 25 мол. % ВА с выходом полимера. Схематически изображена микроструктура цепи, соответствующая содержанию ВА 25, 40 и 55 мол. % в мономерной смеси. 1 — звенья ВА, 2 — звенья ВСИ.

При комнатной температуре сополимеры ВСИ с ВА легко подвергаются щелочному гидролизу, давая сополимеры N-виниламидоан-

тарной кислоты и винилового спирта после перевода полученных полимеров в кислотную форму:



Протекание гидролиза и дальнейший переход полимера из солевой формы в кислотную подтвержден анализом ИК-спектров сополимеров ВСИ–ВА, N-виниламидоантарная кислота(Na)–виниловый спирт и N-виниламидоантарная кислота–виниловый спирт (рис. 9). В спектре исходного сополимера ВСИ–ВА имеются полосы поглощения, соответствующие симметричным $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1768 \text{ см}^{-1}$ (плечо на интенсивной полосе 1731 см^{-1}) и асимметричным $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1693 \text{ см}^{-1}$ валентным колебаниям связей $\text{C}=\text{O}$ в сукцинимидном цикле, валентным колебаниям связи $\text{C}=\text{O}$ винилацетатного звена $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1731 \text{ см}^{-1}$, валентным колебаниям $\text{C}-\text{N}$ -связи $\nu_{\text{C}-\text{N}} = 1369 \text{ см}^{-1}$, валентным колебаниям связи $\text{C}-\text{O}$ в составе

сложноэфирной группы $\nu_{\text{C}-\text{O}} = 1229 \text{ см}^{-1}$. После гидролиза в спектре сополимера N-виниламидоантарная кислота(Na)–виниловый спирт появляются характеристические полосы валентных колебаний OH -связей $\nu_{\text{OH}} = 3267 \text{ см}^{-1}$ и NH -связи $\nu_{\text{NH}} = 3082 \text{ см}^{-1}$ (широкие сигналы в области $3000-3600 \text{ см}^{-1}$). После раскрытия сукцинимидного цикла в спектре наблюдаются валентные колебания связи $\text{C}=\text{O}$ в составе амидного фрагмента $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1637 \text{ см}^{-1}$ и в составе карбоксильной группы $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1562 \text{ см}^{-1}$. Интенсивная полоса $\delta_{\text{NCH}} = 1403 \text{ см}^{-1}$ относится к деформационным колебаниям амидного фрагмента. При переводе сополимера в кислотную форму положение полосы валентных колебаний связи $\text{C}=\text{O}$ в составе амидного фрагмента практически не меняется $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1629 \text{ см}^{-1}$, а полоса валентных колебаний связи $\text{C}=\text{O}$ карбоксильной группы сдвигается в область больших волновых чисел $\nu_{\text{C}=\text{O}} = 1714 \text{ см}^{-1}$. Полосы валентных колебаний групп OH и связи NH сохраняются в области $3000-3600 \text{ см}^{-1}$, но у полосы $\nu_{\text{OH}} = 3278 \text{ см}^{-1}$ появляется плечо около 3400 см^{-1} , что является следствием наложения полос, относящихся к OH карбоксильной группы и OH звена винилового спирта. Интенсивная полоса деформационных колебаний амидного фрагмента $\delta_{\text{NCH}} = 1405 \text{ см}^{-1}$ также практически не меняет своего положения.

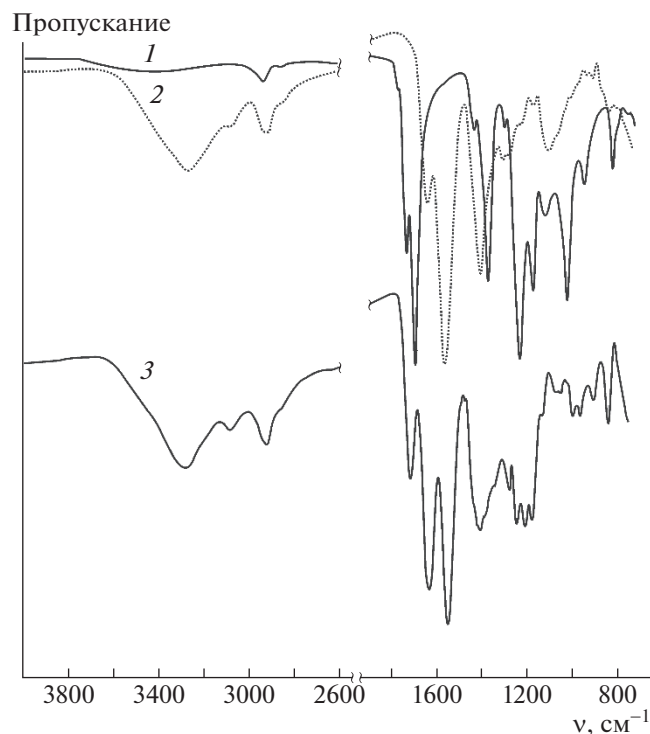


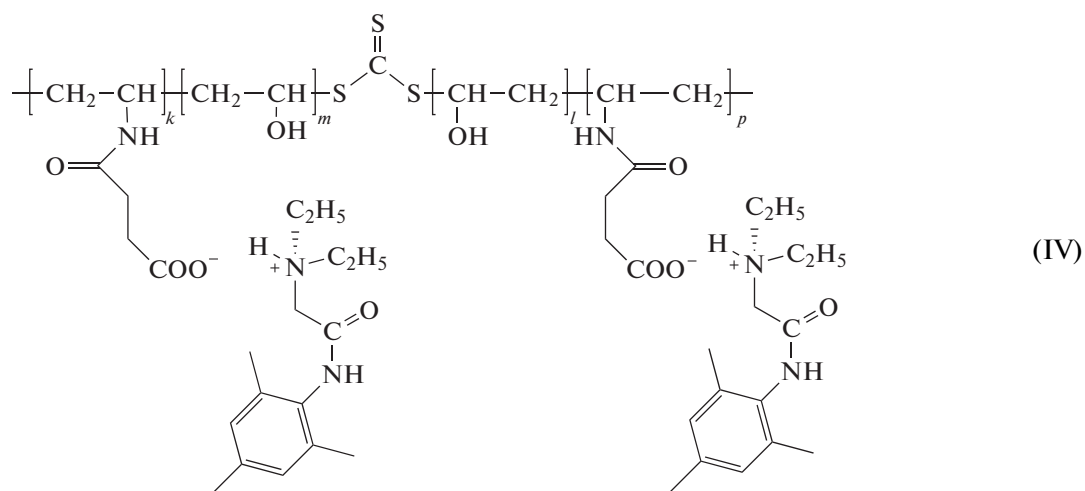
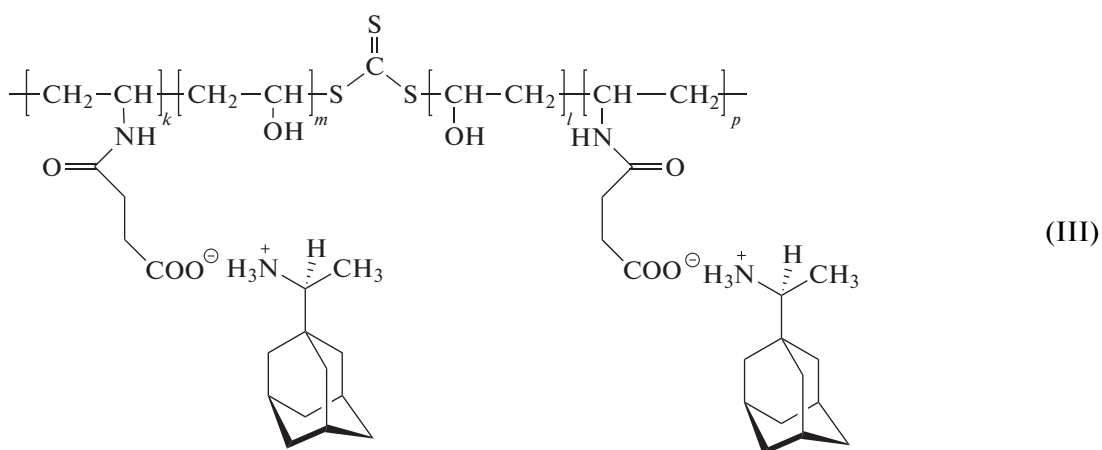
Рис. 9. ИК-спектры сополимеров ВСИ–ВА (1), N-виниламидоантарная кислота (Na)–виниловый спирт (2) и N-виниламидоантарная кислота–виниловый спирт (3).

Для подтверждения соответствия полученных матриц требованиям, предъявляемым к медицинским полимерам, было проведено исследование их биологической активности в средах, содержащих бактериальные культуры *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*. Вокруг коллоидов, заполненных растворами концентрации $0.001-0.1 \text{ мг/мг H}_2\text{O}$ сополимеров N-виниламидоантарной кислоты с виниловым спиртом, содержащих 35–51 мол. % звеньев N-виниламидоантарной кислоты, не наблюдали зон отсутствия роста тест-культур бактерий, что свидетельствует об отсутствии биологической активности сополимера по отношению к исследованным типам бактерий. А так как рассматриваемые образцы оказались биологически пассивными в отноше-

нии *Escherichia-coli* – бактерий нормальной микрофлоры кишечника человека, с большой вероятностью они не окажут отрицательного воздействия и на полезную микрофлору кишечника человека.

Способность полученных водорастворимых полимеров N-виниламидоантарной кислоты и винилового спирта к иммобилизации низкомолекулярных лекарственных веществ-оснований изучена на примере ремантадина и тримекаина, имеющих в своем составе первичную и третичную аминогруппы соответственно. Для иммобилизации использовали образцы, полученные гидролизом сополимеров ВСИ–ВА, синтезированных в массе в присутствии БТК из мономерной смеси ВСИ : ВА = 25 : 75, хроматограммы которых

приведены на рис. 1. Сополимеры содержали 35, 46 и 51 мол. % звеньев N-виниламидоантарной кислоты, что является разумным для количества якорных групп. Оба лекарственных вещества не растворяются в воде, но при совмещении их с водными растворами сополимеров N-виниламидоантарной кислоты и винилового спирта с концентрацией 0.01 осново-моль/л, взятых из расчета 10%-ного мольного избытка звеньев N-виниламидоантарной кислоты по отношению к аминогруппам лекарственного вещества, происходит их растворение и переход в раствор, что связано с образованием ионной связи между лекарственным веществом-основанием и полимерной матрицей:



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение сополимеризации N-винилсукцинимид с винилацетатом в условиях обратимой передачи цепи по механизму присоединения-фрагментации в присутствии дибензилтретиокарбоната позволяет получить композиционно

однородные узкодисперсные сополимеры с контролируемой молекулярной массой, удовлетворяющей требованиям, которые предъявляются к полимерам, применяемым в составе лекарственных средств. N-винилсукцинимид характеризуется большей активностью, чем винилацетат, как при сополимеризации в массе мономеров, так и в

растворе в дейтерированном диметилсульфоксиде.

Водорастворимые сополимеры N-виниламидоантарной кислоты и винилового спирта, не проявляющие бактерицидной активности на моделях бактериальных культур *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, а также *Escherichia coli* – родственной нормальной микрофлоре кишечника, получают щелочным гидролизом сополимеров N-винилсукцинимидов с винилацетатом с последующим переводом в кислотную форму. На их основе могут быть получены водорастворимые формы маслорастворимых активных фармацевтических ингредиентов, например ремантадина и тримекаина.

Авторы выражают благодарность С.Г. Изотовой СПбГТИ(ТУ), за анализ данных ИК-спектроскопии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Госзадание 0785.00.X6019).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ringsdorf H. // J. Polym. Sci., Polym. Symp. 1975. V. 51. № 1. P. 135.
2. Bader H., Ringsdorf H., Schmidt B. // Angew. Makromol. Chem. 1984. V. 123. № 1. P. 457.
3. Kopeček J. // Polim. Med. 1977. V. 7. № 3. P. 191.
4. Yang J., Kopeček J. // Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials/ Ed. by S. Kobayashi, K. Müllen. Berlin; Heidelberg: Springer, 2014.
5. Ушаков С.Н. Синтетические полимеры лекарственного назначения. Л.: Медгиз, 1962.
6. Duncan R. // J. Controll. Release. 2014. V. 190. P. 371.
7. Шальнова Л.И., Лавров Н.А., Сельков С.А., Платонов В.Г., Зубрицкая Н.Г., Иванова Т.В., Машина Л.С. // Изв. СПбГТИ(ТУ). 2013. Т. 19(43). С. 55.
8. Moad G., Rizzardo E., Thang S.H. // Aust. J. Chem. 2005. V. 58. № 6. P. 379.
9. Moad G., Rizzardo E., Thang S.H. // Aust. J. Chem. 2012. V. 65. № 8. P. 985.
10. Handbook of RAFT Polymerization / Ed. by C. Barner-Kowollik. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008.
11. RAFT Polymerization: Methods, Synthesis, and Applications / Ed. G. Moad, E. Rizzardo. Wiley-VCH GmbH, 2021.
12. Duncan R. // Nat. Rev. Drug Discovery. 2003. V. 2. P. 347.
13. Fraser J.R.E., Laurent T.C., Pertoft H., Baxter E. // Biochem. J. 1981. V. 200. P. 415.
14. Nikolaev A.F., Ushakov S.N., Krasnosel'skaya I.G. // Russ. Chem. Bull. 1959. V. 8. № 9. P. 1564.
15. Даниэль Н.В., Николаев А.Ф. // Высокомолек. соед. 1966. Т. 8. № 3. С. 465.
16. Polymer Handbook / Ed. by J. Brandrup, E.H. Immergut, E.A. Crulue. New York: Wiley, 1999.
17. Nozakura S.-I., Morishima Y., Murahashi S. // J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed. 1972. V. 10. № 10. P. 2781.
18. Chernikova E.V., Sivtsov E.V. // Polymer Science B. 2017. V. 59. № 2. P. 117.
19. Sivtsov E.V., Gostev A.I., Parilova E.V., Dobrodumov A.V., Chernikova E.V. // Polymer Science C. 2015. V. 57. № 1. P. 110.
20. Levit M., Vdovchenko A., Dzhezha A., Zashikhina N., Katernyuk E., Gostev A., Sivtsov E., Lavrentieva A., Tenikova T., Korzhikova-Vlakh E. // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22 (21). № 11457.
21. Pat. 6369158B1 USA. 2002.
22. Куличенко Е.О., Андреева О.А., Лукашук С.П., Мазурин М.В. // Фармация и фармакология. 2015. № 4 (11). С. 4.
23. Николаев А.Ф., Ушаков С.Н., Мишкилеева Л.С. // Высокомолек. соед. 1964. Т. 6. № 2. С. 287.
24. Furukawa J., Tsuruta T., Fukutani H., Yamamoto N., Shiga M. // J. Soc. Chem. Industry, Jpn. 1957. V. 60. № 3. P. 353.
25. Бондаренко С.Г., Николаев А.Ф., Баранова С.А., Пляшечник Н.И., Смирнова Г.А., Обухова С.В., Байденко И.В., Степанов Е.М., Глуценко И.Н., Андреева Е.Д. // Высокомолек. соед. А. 1981. Т. 23. № 12. С. 2639.
26. Лавров Н.А., Николаев А.Ф., Лепшина Е.М., Лаврова Т.В. // Журн. прикл. хим. 1992. Т. 65. № 9. С. 2111.
27. Лавров Н.А. // Журн. прикл. хим. 1994. Т. 67. № 9. С. 1547.
28. Chernikova E.V., Yulusov V.V., Mineeva K.O., Golubev V.B., Garina E.S. // Polymer Science B. 2011. V. 53. N. 7–8. P. 437.
29. Chernikova E.V., Yulusov V.V., Mineeva K.O., Garina E.S., Sivtsov E.V. // Polymer Science B. 2012. V. 54. № 7–8. С. 349.
30. Ezrielev A.I., Brokhina E.L., Roskin E.S. // Polym. Sci. A. 1969. V. 11. № 8. P. 1670.
31. Tüdös F., Kelen T., Földes-Berezhnykh T., Turcsányi B. // React. Kinet. Catal. Letter. 1975. V. 2. № 4. P. 439.
32. Rao S.P., Ponratnam S., Kapur S.L., Iyer P.K. // J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed. 1976. V. 14. № 9. P. 513.
33. Гундин Л.М., Абкин А.Д., Медведев С.С. // Докл. АН СССР. 1947. Т. 56. № 2. С. 177.
34. Wall F.T. // J. Am. Chem. Soc. V. 66. № 12. P. 2050.