

А. Б. Смут, М. І. Нагорняк, І. А. Дронь, С. І. Винницька, Н. Г. Носова
 Національний університет "Львівська політехніка",
 кафедра органічної хімії

ОДЕРЖАННЯ ПОЛІ-N-ГІДРОКСИМЕТИЛАКРИЛАМІДУ, МОДИФІКОВАНОГО ГЛУТАМІНОВОЮ КИСЛОТОЮ, ТА ГІДРОГЕЛІВ НА ЙОГО ОСНОВІ

© Смут А. Б., Нагорняк М. І., Дронь І. А., Винницька С. І., Носова Н. Г., 2016

Методом полімераналогічних перетворень при взаємодії частини реакційноздатних метилольних груп полі(N-гідроксиметил) акриламідів та аміногрупи глутамінової кислоти створено структуруючий агент з вільними карбоксильними групами в бокових ланках. Створено нові гідрогелеві матриці з використанням як структуруючого агента полі-N-(гідроксиметил)акриламідів, модифікованого глутаміновою кислотою. Ці гідрогелі набувають ознак рН-чутливості, реагують на зміну природи середовища та можуть бути використані як основи для трансдермальних систем доставки ліків.

Ключові слова: глутамінова кислота, гідрогель, трансдермальні системи доставки ліків.

A. B. Smut, M. I. Nagorniak, I. A. Dron, S. I. Vynnytska, N. G. Nosova

HYDROGEL COMPOSITIONS BASED ON POLY-N-HYDROXY-METHYL ACRYLAMIDE MODIFIED BY GLUTAMIC ACID

© Smut A. B., Nagorniak M. I., Dron I. A., Vynnytska S. I., Nosova N. G., 2016

Structuring agent with the free carboxyl groups in the side links was created by the method of polymer-analogical transformations with the interaction of some reactive capable methyl groups of poly-(N-hydroxymethyl) acrylamide and the amino group of the glutamic acid. A new hydrogel matrixes were created using poly-N-(hydroxymethyl) acrylamide modified by the glutamic acid as structuring agent. These hydrogels acquire the pH-sensitive property and respond to the change of the environment, and can be used as a basis for transdermal drug delivery systems.

Key words: glutamic acid, hydrogel, transdermal drug delivery system.

Постановка проблеми. Полімерні гідрогелі викликають все частіше використовують як матеріали для фармацевтики та медицини [1, 2]. На їх основі розробляють засоби різної фізичної форми і призначення: біосорбенти, матриці для вирощування клітин, носії для іммобілізації ферментів, системи з контрольованим виділенням лікарських сполук, лікувальні пов'язки для опікових та трофічних ран, а також в генній інженерії для конструювання тканин. Актуальність та унікальність їх застосування полягає в тому, що вони мають біосумісні властивості, не спричиняють подразнення та реакції з боку тканин організму, які з ними контактують. Незважаючи на великий асортимент гідрогелів, постійно з'являються нові завдання та відповідно потрібні нові універсальніші методи їх одержання з керованим спектром властивостей.

Цікавим завданням сьогодні є створення вискоєфективних терапевтичних систем – трансдермальних систем доставки ліків, за допомогою яких можна контрольовано дозувати лікарські препарати у заданому часовому інтервалі при локальному зовнішньому застосуванні [3].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Для проведення трансдермальної терапії використовують пластирі або гідрогелеві пов'язки, насичені лікарською речовиною, які прикріплюються в певні місця на тілі людини. Трансдермальний засіб завдяки поступовому вивільненню діючої речовини у шкіру і потім в кров дає змогу проводити якісніше лікування і звільнитися від багатьох недоліків, які притаманні традиційній фармакотерапії. З'являється

можливість уникнути руйнування діючої речовини у середовищі шлунково-кишкового тракту та відповідно підвищувати ефективність лікувальної дії порівняно з традиційним вживанням лікарських засобів [4].

У низці публікацій показано можливість успішного використання гідрогелів як матриць для трансдермальних систем доставки ліків [5, 6]. Звичайно, гідрогелі мають відповідати цілому ряду вимог: вони мають бути біосумісними та нетоксичними, мати задовільні експлуатаційні характеристики і т.д. Важливою вимогою до гідрогелів як матриць була і залишається пролонгована лікувальна дія за умов локального застосування [7].

Можливість використання гідрогелів як трансдермальних систем доставки ліків тісно пов'язана з їхньою здатністю змінювати ступінь набрякання і, як наслідок, дифузійні характеристики при невеликій зміні водневого показника (**pH**) середовища. Величина **pH** середовища – відомий фактор, який впливає на набрякання кополімерних (наприклад, акриламід – акрилова кислота) гідрогелів [8]. Зі збільшенням вмісту в гідрогелях ланок акрилової кислоти їх ступінь набрякання у міру росту величини **pH** зростає, що пояснюється руйнуванням системи водневих зв'язків, які утримують систему у компактному стані, та взаємним відштовхуванням іонізованих карбоксильних груп. Треба зауважити, що гомополіакриламідний гель практично не змінює величини рівноважного набрякання зі зміною величини **pH**.

Такі властивості гідрогелів часто є визначальними для можливості їх застосування в медико-біологічних цілях.

Тому створення нових гідрогелевих матриць, які можуть бути використані для створення трансдермальних систем доставки ліків, а також протиопікових та кровозупинних пов'язок, є актуальним завданням.

Мета роботи. Одержати нові гідрогелеві матриці з керованим спектром властивостей, придатних для використання їх як основи для трансдермальних систем доставки ліків.

Експериментальна частина. Поліакриламід (ПАА) з молекулярною масою в діапазоні $(130-1300) \cdot 10^3$ г/моль одержували за методикою, наведеною в [9].

Полі-N-(гідроксиметил)акриламід (СТ) з молекулярною масою в інтервалі $(180-1800) \cdot 10^3$ г/моль одержували взаємодією формальдегіду з поліакриламідом у водному середовищі при **pH**=10 та 333 К згідно з методикою, наведеною в [9]. Отриманий активний кополімер зберігали і використовували у вигляді 5–9 % розчинів у воді. Структуру полі-N-(гідроксиметил)акриламід у підтверджували методами ІЧ – та ПМР-спектроскопії.

Синтез полі-N-(гідроксиметил)акриламід у модифікованого глутаміновою кислотою (СТ-Глу) проводять в реакторі з механічною мішалкою, зворотним холодильником. До реактору вносять наважку глутамінової кислоти масою 0,51 г, диспергують в 15,49 г розчину полі-N-(гідроксиметил)акриламід і при перемішуванні додають 1,16 мл 20 % розчину NaOH. При цьому відбувається розчинення глутамінової кислоти. Температура проведення реакції 328 К. Перемішують реакційну масу протягом 30 хвилин, підтримуючи **pH** реакційної маси в межах 9–10. Після цього реакційна суміш охолоджується, нейтралізується 5н сірчаною кислотою до встановлення **pH**=3,5 та двократно переосаджується в метанол. Синтезований СТ-Глу використовували у вигляді 5–8 % розчинів у воді.

Синтезували гідрогелі на основі поліакриламід та СТ-Глу при їх співвідношенні 1–(0,7–1,4), та при загальній концентрації полімерів у розчині 3,5–7 % за температури 313–343 К. Структурування проводили за **pH** середовища, суттєво відмінного від нейтрального. Кисле середовище (**pH**=1 та **pH**=3) створювали 10 % розчином нітратної кислоти, а лужне (**pH**=9 та **pH**=11) – розчином гідроксиду натрію. Час структурування для усіх зразків становив 24 години.

Результати і обговорення. В попередніх роботах [9–11] ми повідомляли про одержання та використання гідрогелів при взаємодії поліакриламід та полі(N-гідроксиметилакриламід), які, взаємодіючи між собою, утворюють міжмолекулярні ковалентні зв'язки (рис. 1). Ці гелі завдяки своїм задовільним механічним та біосумісним властивостям добре зарекомендували себе як основи протиопікових та кровозупинних пов'язок.

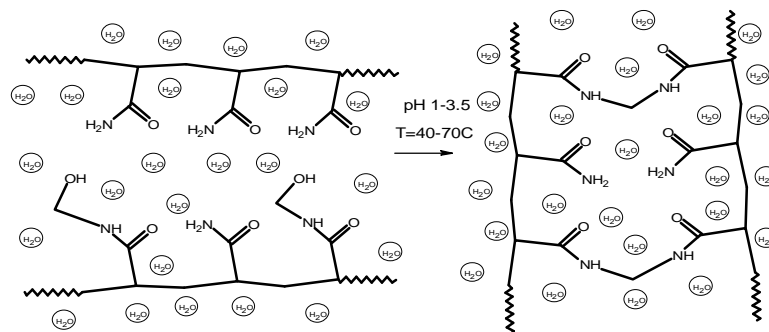


Рис. 1. Схема утворення гідрогелю взаємодією акриламідів та полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідів у водному середовищі

На рис. 2 наведено ПМР спектр отриманого полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідів, який є метилільним похідним поліакриламідів. Можна зробити висновок, що в умовах проведення цієї реакції у полімераналогічне перетворення вступили ~90 % амідних груп поліакриламідів з утворенням метилільних похідних. Такий висновок можна зробити за результатами розрахунку співвідношення суми інтегралів сигналів протонів із зсувом 1,6–2,3 ррм (що належать до CH_2 основного ланцюга полімеру) до інтегралу протонів із зсувом 4,6 ррм (що належать до $-\text{CH}_2-$ метилільних груп). Наявність у структурі полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідів реакційноздатних метилільних груп дає змогу змінювати його хімічну структуру та властивості через модифікацію методом полімераналогічних перетворень. У лужному середовищі при $\text{pH}=10$ метилільні групи можуть взаємодіяти з амінами та амідами з утворенням стійких ковалентних зв'язків.

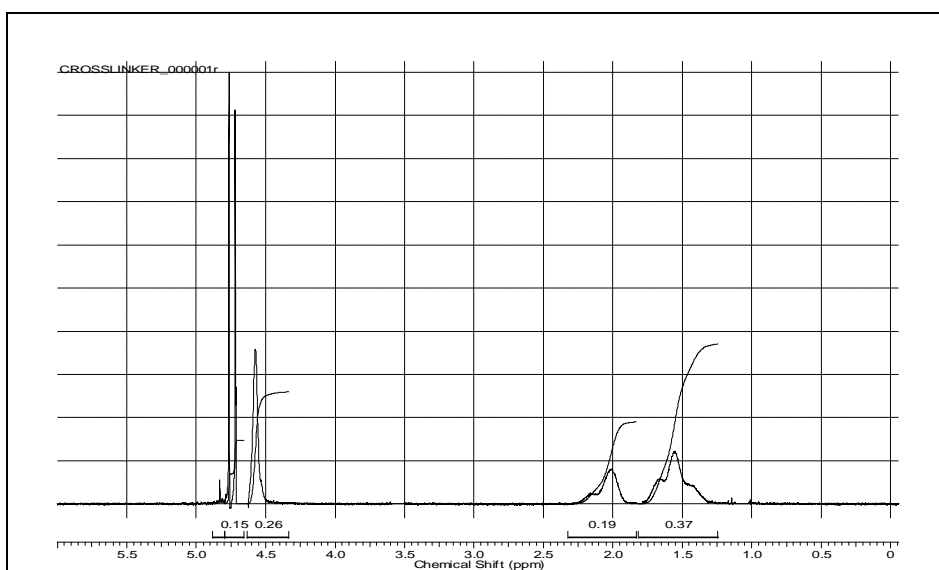


Рис. 2. ПМР-спектр полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідів (розчинник D_2O , 300 МГц)

Є багато прикладів модифікації карболанцюгових полімерів фрагментами сполук природного походження – таких, як, наприклад, цукри або амінокислоти. Зазвичай така модифікація покращує їх біосумісність, а також сприяє здатності до біодеградації. Тому доволі перспективним було використання для модифікування полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідів природної глутамінової кислоти (**Glu**) [12].

Обрана для модифікації полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідів природна двоосновна глутамінова амінокислота при $\text{pH}=10$ у водному середовищі знаходиться у формі її солі, при цьому аміногрупа вивільняється з цвєтеріона і здатна взаємодіяти з активними метилільними групами полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідів за схемою рис. 3.

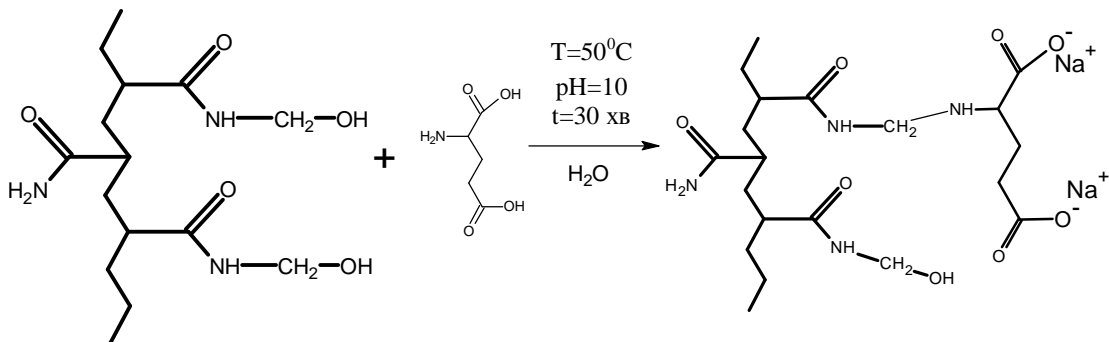


Рис. 3. Схема взаємодії полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідру з глутаміною кислотою

Синтез проводять за методикою, наведеною в експериментальній частині. Структуру полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідру, модифікованого глутаміною кислотою, підтверджували методами ІЧ- та ПМР-спектроскопії.

В ІЧ-спектрі кополімеру **СТ – Glu** спостерігається наявність сигналів з 1715 см^{-1} , яких не було у вихідному **СТ** і які належать до карбонілу карбоксильних груп глутамінової кислоти. ПМР-спектр загалом відповідає продукту модифікації глутаміною кислотою *N*-(гідроксиметил)акриламідру: в області зміщення 2,5–4,0 ppm з'явилася група сигналів, яка відповідає протонам CH , CH_2 груп у складі фрагмента глутамінової кислоти.

За результатами досліджень можна стверджувати, що до структури кополімеру входить залежно від умов синтезу від 30 % мольн до 90 % фрагментів глутамінової кислоти. Такі самі результати дає розрахунок за співвідношенням інтегралів від сигналів протонів $=\text{CH}$ – групи полімерного ланцюга із зміщенням 2,54 ppm до сигналів із зміщенням 3,72 ppm, які віднесені до протону біля третинного атому вуглецю у фрагменті глутамінової кислоти.

Властивості отриманого кополімеру визначаються наявністю фрагментів глутамінової кислоти і суттєво відрізняються від властивостей вихідного полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідру. На відміну від нього отриманий **СТ-Glu** набув здатності часткової розчинності в водно-спиртових та водно-ацетонових середовищах. Наявність в його складі карбоксильних груп передбачає залежність його властивостей від рН середовища. І на це вказує той факт, що висадження кополімеру з реакційної суміші відбувалось тільки при пониженні рН розчину менше 4.0, тобто коли карбоксильні групи фрагмента глутамінової кислоти знаходяться у недисоційованій формі.

Цікавим є і той факт, що збільшення тривалості проведення полімераналогічного перетворення понад 30 хв при температурі синтезу 323K та рН=10 при модифікації Glu відбувається зашивка (структурування) реакційної маси з утворенням гідрогелю (схема утворення наведено на рис. 4). В аналогічних умовах сам полі-*N*-(гідроксиметил)акриламід не структурується і гідрогелю не утворює, що свідчить про доволі значну роль глутамінової кислоти також і в утворенні поперечних зшивок макромолекул.

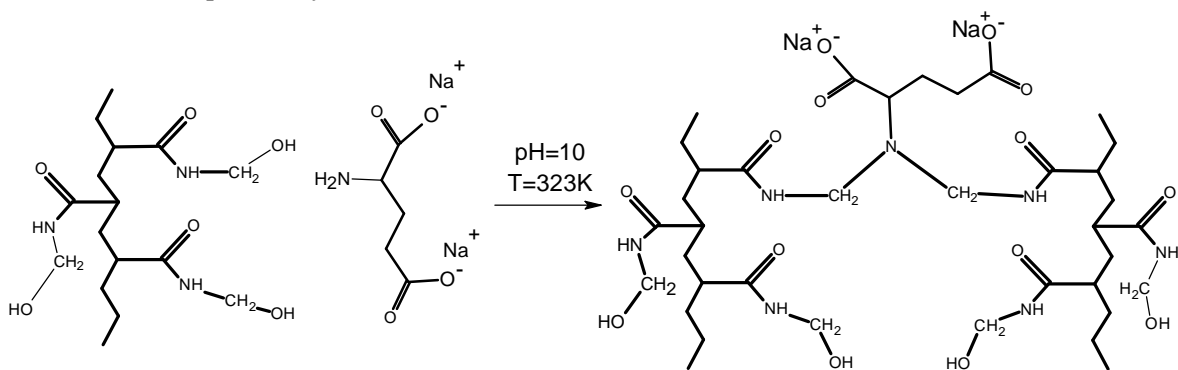


Рис. 4. Утворення гідрогелю на основі полі-*N*-(гідроксиметил)акриламідру в присутності глутамінової кислоти

Дослідження такого гідрогелю показали, що при набряканні у лужному середовищі (розчині гідроксиду натрію рН=10) зразок рівномірно вбирав у себе воду і після двох годин із ступенем набрякання 100 % мав задовільні фізико-механічні властивості. Натомість у кислому середовищі (розчин хлороводневої кислоти рН=1) спостерігалось необмежене набрякання з ознаками розчинення гідрогелю. Отже, гідрогель, одержаний при структуруванні полі-N-(гідроксиметил) акриламід модифікованого Glu, має всі ознаки рН залежної системи.

Разом з тим **CT-Glu**, у якому міститься не більше 30 % мольн ланок амінокислоти, зберігає здатність виступати структуруючим агентом при синтезі гідрогелів на основі поліакриламід.

Синтез гідрогелів на основі поліакриламід та **CT-Glu** проводять за методикою, наведеною в експериментальній частині. Після структурування всі зразки гідрогелю досліджували на набрякання в дистильованій воді (рис. 5).

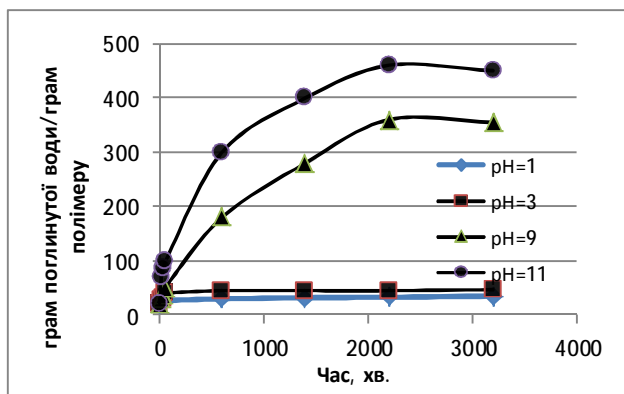


Рис. 5. Криві набрякання гідрогелів при різних рН середовища

Як видно з результатів, наведених на рис. 5, отримані гідрогелі в лужному середовищі набрякають значно сильніше порівняно з гідрогелями в кислому середовищі. Цей факт можна пояснити вмістом карбоксильних груп, введених з фрагментами глутамінової кислоти в структуру гідрогелю, які в лужному середовищі дисоціюють і створюють передумови для їх взаємного відштовхування та збільшення об'єму гелю.

Зміна хімічної природи полімерного каркаса гідрогелю змінює його поведінку і у середовищах, які здатні розчиняти лікарські засоби.

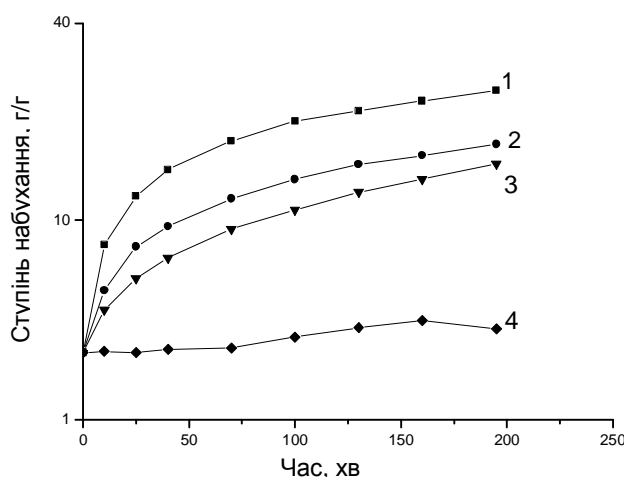


Рис. 6. Залежність ступеня набрякання гідрогелів від часу у водно-етанольних розчинах з різною концентрацією етанолу: 1 – дистильована вода; 2 – 10 % етанолу; 3 – 30 % етанолу; 4 – 40 % етанолу

На рис. 6 наведено криві залежності ступеня набрякання від часу в водно-етанольних розчинах різної концентрації. Наведені криві демонструють, що до концентрації приблизно 35–45 % етиловий спирт тільки сповільнює набрякання гідрогелю. Концентрацію, близьку до 45–50 %, можна вважати рівноважною – при цій концентрації практично не змінюється маса зразка гідрогелю. Збільшення ж концентрації етилового спирту вище 55 % приводить до висадження полімеру гелеутворювача з гідрогелю. Отже, встановлено, що лікарські засоби можуть бути введені в гідрогель через набрякання з водно-етанольних розчинів до концентрації етанолу в них, не вищої за 45 %.

Висновки. Розроблено метод одержання полі-N-(гідроксиметил)акриламід модифікованого глутаміновою кислотою, оптимізовано умови та підтверджено його структуру. Синтезований полі-N-гідроксиметилакриламід, модифікований глутаміновою кислотою, дає змогу отримати нові гідрогелеві композиції, перспективні як матриці для сорбції лікарських препаратів.

1. Omidian H. *Advance din super porous hydrogels* / Omidian H., Rocca J.G., Park K. – *Journal of Controlled Release*. – 2005. – № 102. – P. 3–12. 2. Лонатин В.В., Аскадский А.А. *Полиакриламидные гидрогели в медицине*. – М.: Научный Мир, 2004. – 264 с. 3. J. Berger M., Reist J., Mayer O., Felt N. A., Peppas R. Gurny. *Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications* // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2004. – Vol. 57. – P. 19–34. 4. R. Langer N. A. Peppas. *Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology* // *AIChE Journal*. – 2003. – Vol. 49. – Is. 12. – P. 2990–3006. 5. E. Khor, L. M. Lim. *Implantable application of chitin and chitosan* // *Biomaterial*. – 2003. – Vol. 24. – P. 2339–2349. 6. M. Ilavsky, G. Mamytbekov, L. Hanykova, K. Dusek. *Phase transition in swollen gels Swelling and mechanical behavior of interpenetrating networks composed of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) and polyacrylamide in water/acetone mixtures* // *European Polymer Journal*. – 2002. – Vol. 38. – P. 875–883. 7. T. Goda, J. Watanabe, M. Takai, K. Ishihara. *Water structure and improved mechanical properties of phospholipids polymer hydrogels with phosphorylcholine centered intermolecular cross-linker* // *Polymer*. – 2006. – Vol. 47. – Is. 4. – P. 1390–1396. 8. Ryan Toomey, Daniel Freidank, Jurgen Ruhe. *Swelling Behavior of Thin, Surface-Attached Polymer Networks* // *Macromolecules*. – 2004. – Vol. 37. – P. 882–887. 9. *Versatile Approach to Develop Porous Hydrogels with a Regular Pore Distribution and Investigation of the Physicomechanical Properties* / V. Samaryk, A. Voronov, I.Tarnavchyk, [et al.] / *Journal of Applied Polymer Science*. – 2009. – Vol. 114. – P. 2204–2212. 10. I. Т. Тарнавчик, В. Я. Самарик, А. С. Воронов, та ін. /Формування пористих гідрогелів з регульованими фізико-механічними властивостями // *Доповіді НАН України*. – 2008. – № 9. – С. 101–113. 11. Varvarenko S. *Covalent grafting of polyacrylamide-based hydrogels to apolypropylene surface activated with functional polyperoxide* / S. Varvarenko, A. Voronov, V. Samaryk and other // *Reactive and Functional Polymers*. – 2010. – No. 70.– P. 647–655. 12. S. Varvarenko I., Tarnavchyk A. Voronov and other. *Synthesis and colloidal properties of polyesters based on glutamic acids and glycols of different nature* // *Chemistry and Chemical Technology*. – 2013. – Vol. 7, No. 2. – P. 164–168.