

ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ № 4 2015
СЕРЫЯ ХІМІЧНЫХ НАВУК

УДК 541.64

С. О. СОЛОМЕВИЧ, П. М. БЫЧКОВСКИЙ, Т. Л. ЮРКШТОВИЧ, Н. В. ГОЛУБ,
В. А. АЛИНОВСКАЯ, Р. И. КОСТЕРОВА

**СИНТЕЗ рН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ МОДИФИЦИРОВАННОГО
ДЕКСТРАНА С ФОСФОРНОКИСЛЫМИ И КАРБАМАТНЫМИ ГРУППАМИ**

*Научно-исследовательский институт физико-химических проблем
Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь, e-mail: sergejsolomevich@yandex.ru*

В системе декстран–ортофосфорная кислота–мочевина синтезированы гелеобразующие смешанные эфиры декстрана с фосфорнокислыми и карбаматными группами. Изучено влияние продолжительности реакции на выход гель-фракции гидрогелей, их функциональный состав и степень равновесного набухания. Набухание гидрогелей изучено в широком диапазоне рН. Полученные гидрогели могут быть использованы в качестве систем для доставки лекарственных веществ.

Ключевые слова: гидрогель, декстран, набухание, рН-чувствительные гидрогели.

S. O. SOLOMEVICH, P. M. BYCHKOVSKY, T. L. YURKSHTOVICH, N. V. GOLUB, V. A. ALINOVSKAYA, R. I. KOSTEROVA

**SYNTHESIS OF pH-SENSITIVE HYDROGELS OF MODIFIED DEXTRAN WITH PHOSPHATE
AND CARBAMATE GROUPS**

*Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus,
e-mail: sergejsolomevich@yandex.ru*

The synthesis of gelling dextran esters with phosphate and carbamate groups in the dextran – phosphoric acid – urea system has been described. The effect of reaction time on hydrogels' gel fraction yield, their functional composition and the degree of equilibrium swelling has been studied. Swelling of hydrogels in the wide range of pH has been studied. The obtained hydrogels may be used as drugs delivery systems.

Keywords: hydrogel, dextran, swelling, pH-sensitive hydrogels.

Введение. В последние годы достигнуты значительные успехи в области создания новых гидрогелевых носителей, пригодных для адресной доставки биологически активных молекул [1]. Такие гидрогели характеризуются пористой структурой и высокой степенью набухания в воде, имеют хорошую проницаемость для низко- и высокомолекулярных соединений [2]. Особый интерес представляют так называемые умные («smart») гидрогели, способные заранее запрограммированным образом реагировать в ответ на небольшие изменения внешних условий, к которым относятся тепло [3], химические среды [4], магнитные поля [5], электричество [6], а также рН [7,8].

рН-чувствительные свойства гидрогелей обусловлены наличием средне- и слабо- кислотных или основных групп, степень диссоциации которых зависит от рН окружающей среды. При этом основными изменяемыми параметрами таких гидрогелей являются сорбционная емкость по отношению к неорганическим и органическим ионам и степень набухания. Известно, что с повышением рН набухание гидрогелей, содержащих слабокислые группы, возрастает и, наоборот, уменьшается для гидрогелей, содержащих слабоосновные группы [9]. Различия физиологического рН в нормальном и патологическом состояниях делает возможным использование рН-чувствительных полимерных гидрогелей для контролируемой направленной доставки лекарственных веществ [10].

Для создания пролонгированных форм лекарственных средств большой интерес представляет полисахарид микробного происхождения – декстран, макромолекулы которого, построенные из остатков D-глюкозы, соединенных преимущественно α-1,6-D- и в меньшей степени α-1,2

и α -1,3 гликозидными связями [11], не содержат структурных единиц, которые могли бы оказать нежелательное воздействие на организм. По химической природе декстран является полиатомным спиртом и достаточно легко вступает в реакции этерификации минеральными и органическими кислотами с образованием производных, многие из которых уже нашли применение в фармацевтике и медицине. Большие перспективы имеют гелеобразующие функционально активные фосфорнокислые эфиры декстрана, отвечающие критериям биосовместимости и биорезорбируемости [12]. Наиболее технологически приемлемым методом получения гелеобразующих фосфатов декстрана является этерификация его ортофосфорной кислотой в расплаве мочевины [13]. Ранее нами было показано [14,15], что в данной системе образуются смешанные эфиры декстрана, содержащие фосфорнокислые и карбаматные группы (ФКД), а также определено влияние состава этерифицирующей смеси на выход гелеобразующей фракции, структуру и физико-химические свойства получаемых ФКД.

Цель данной работы – изучение влияния времени реакции этерификации декстрана ортофосфорной кислотой в расплаве мочевины на выход гель-фракции и физико-химические свойства, а также получение гидрогелей ФКД с рН-контролируемой степенью набухания.

Материалы и методы. В качестве исходных материалов использовали декстран с молекулярной массой 60000 Да (Pharmacosmos A/S, Дания), ортофосфорную кислоту (х. ч., $\rho_4^{20} = 1,694 \text{ г}\cdot\text{см}^{-3}$, $c = 85,4 \%$) и мочевины (ч. д. а.).

Синтез образцов ФКД проводили этерификацией полисахарида ортофосфорной кислотой в расплаве мочевины с мольным соотношением $\text{H}_3\text{PO}_4:(\text{NH}_2)_2\text{CO} = 0,6:4,0$ в расчете на 1 моль глюкопиранозного звена (ГПЗ) макромолекулы декстрана, при температуре $125 \text{ }^\circ\text{C}$ и остаточном давлении $0,10 \pm 0,05 \text{ атм}$. Время реагирования варьировали от 2,8 до 8,0 ч, после чего реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, отмывали водой, обрабатывали раствором гидроксида натрия для перевода в Na-форму и сушили при $50 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ до воздушно-сухого состояния [14].

Выход гель-фракции (G , %) рассчитывали по формуле:

$$G = \frac{W}{W_{\text{теор}}} \times 100,$$

где W – масса высушенного до постоянной массы ФКД после удаления золь-фракции фильтрацией, г; $W_{\text{теор}}$ – масса полимера при условии 100%-ного протекания гелеобразования, г.

Полученные образцы ФКД анализировали на содержание фосфора (C_p , %) и азота (C_N , %) в соответствии с методиками [16, 17]. Полную обменную емкость (ПОЕ) и обменную емкость по первой ступени диссоциации (OE_1) определяли методом потенциометрического титрования [14]. ИК-спектры образцов снимали на Vertex-70 спектрофотометре (Bruker, Германия), препарирование образцов осуществляли методом прямого прессования с бромидом калия.

Степень набухания ФКД в воде и водных растворах гидроксида натрия и хлористоводородной кислоты в диапазоне рН от 1,2 до 12,0 определяли гравиметрически: 0,200 г образца выдерживали в течение 30 мин в 50 мл раствора с соответствующим значением рН, набухший гидрогель (после удаления избытка раствора фильтрацией) переносили в предварительно взвешенный бюкс, взвешивали и сушили до постоянной массы. Степень набухания (ES , г/г) рассчитывали по формуле:

$$ES = \frac{W_2 - W_1}{W_1},$$

где W_1 – масса абсолютно сухого образца, г; W_2 – масса набухшего образца, г.

Результаты и их обсуждение. Подтверждением образования в условиях эксперимента смешанных эфиров декстрана с фосфорнокислыми и карбаматными группами являются результаты ИК-спектроскопии (рис. 1). Полоса поглощения в области $1050 \div 1160 \text{ см}^{-1}$ (валентные колебания $\text{C}-\text{O}-\text{P}$) и плечо при 1240 см^{-1} (валентные колебания фосфорильной группы $\text{P}=\text{O}$) указывают на образование фосфорнокислых групп, а интенсивная полоса поглощения при 1715 см^{-1} обусловлена асимметричными валентными колебаниями связей $\text{C}=\text{O}$ карбаматных групп [13].

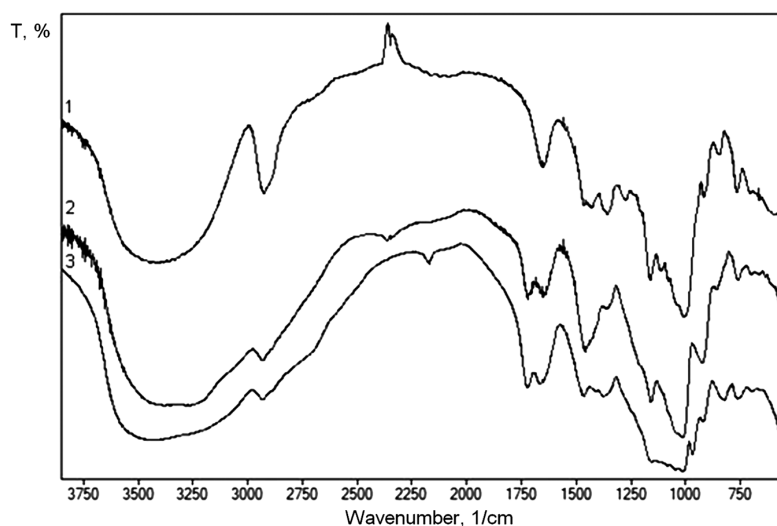


Рис. 1. ИК-спектры: 1 – декстран, 2 – водорастворимый ФКД ($C_p = 6,9\%$, $C_N = 1,7\%$), 3 – гелеобразующий ФКД ($C_p = 7,4\%$, $C_N = 1,8\%$)

В таблице приведены результаты элементного анализа, выход гель-фракции и некоторые физико-химические характеристики образцов ФКД, полученных в одинаковых условиях, но при различном времени реагирования декстрана с компонентами фосфорилирующей смеси. Видно, что с ростом продолжительности реагирования в образцах ФКД очень незначительно увеличивается содержание фосфора и азота, а основное накопление функциональных групп происходит до начала гелеобразования.

Зависимость выхода гель-фракции и физико-химических свойств гидрогелей ФКД от времени проведения реакции этерификации

Образец	Время реакции, ч	G, %	C_p		C_N , %	OE ₁ ммоль/г	ПОЕ, ммоль/г	OE ₁ /C _p	ES, г/г
			%	ммоль/г					
ФКД ₁	2,8	0	6,9	2,2	1,7	–	–	–	P
ФКД ₂	3,0	17,9	7,1	2,3	1,7	–	–	–	196
ФКД ₃	3,2	70,3	7,4	2,4	1,8	–	–	–	152
ФКД ₄	3,5	78,4	7,6	2,5	1,8	2,3	5,1	0,92	111
ФКД ₅	3,8	86,1	7,7	2,5	1,9	2,2	5,0	0,88	96
ФКД ₆	4,0	90,1	7,7	2,5	1,9	–	–	–	82
ФКД ₇	4,5	93,5	7,8	2,5	1,9	–	–	–	62
ФКД ₈	5,0	95,9	7,9	2,5	1,9	2,1	4,9	0,84	43
ФКД ₉	8,0	91,2	8,0	2,6	2,3	2,1	4,6	0,77	20

Примечание. pH водных растворов всех полученных образцов составлял $7,5 \pm 0,5$.

При проведении реакции в течение 2,8 ч образующийся ФКД еще полностью растворим в воде, однако дальнейшее увеличение времени реагирования приводит к значительному росту выхода гель-фракции и уменьшению ее равновесного набухания в воде. Это свидетельствует о том, что увеличение продолжительности реагирования при температуре 125 °C сопровождается изменением структуры ФКД и образованием сшивок между макромолекулами (рис. 2).

Сопоставление ИК-спектров водорастворимых и гелеобразующих образцов ФКД с близким содержанием фосфора и азота указывает на ряд их отличий. Для гелеобразующего ФКД характерно наличие полос поглощения при 830 и 960 см^{-1} , которые относятся к асимметрическим и симметрическим колебаниям групп (P–O–P) [18], а также имеет место значительное уширение характеристической полосы в области 1050–1160 см^{-1} , обусловленное наложением полос различных фосфорсодержащих групп. Отмеченные изменения согласуются с данными потенциометрического титрования и ^{31}P -ЯМР-спектроскопии [14,15] и могут свидетельствовать об образовании

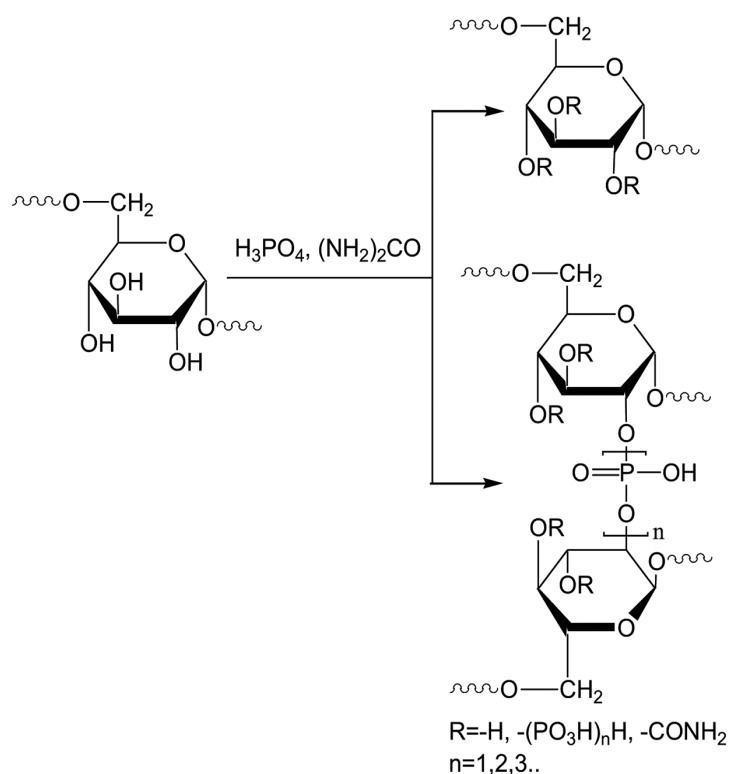


Рис. 2. Схема этерификации декстрана смесью ортофосфорная кислота – мочевины

в процессе этерификации не только моно-, но и ди-, и полифосфатов, доля которых с увеличением времени реагирования декстрана с фосфорилирующей смесью возрастает, что приводит к резкому уменьшению степени набухания в воде.

Исследование рН-чувствительности гидрогелей ФКД проводили на образцах 3, 6 и 7 (таблица), характеризующихся примерно одинаковыми содержаниями фосфора и азота, но сильно различающихся по степени набухания (152, 82, 62 г/г соответственно). Зависимость равновесной степени набухания гидрогелей ФКД от рН среды представлена на рис. 3.

Как следует из рис. 3, вид зависимостей степени набухания от рН для исследованных образцов ФКД примерно одинаков. В интервале рН 1,2–4,0 степень набухания растет вследствие увеличения доли депротонированной формы ФКД и энергии отталкивания одноименно заряженных фосфат-ионов друг от друга. На зависимостях степени набухания от рН имеется по два плато в интервалах рН 4,0 ÷ 5,5 и 8,0 ÷ 9,5, которые соответствуют первому и второму скачкам на кривых потенциометрического титрования гидрогелей ФКД, т. е. в областях, где фосфорнокислые группы полностью диссоциированы по первой и второй ступеням [14].

В растворах с рН > 5,5 наблюдается рост степени набухания ФКД, достижение максимальной величины при рН 7,5 ÷ 8,5 и далее ее некоторое уменьшение, что может быть связано с эффектом конденсации противоположно заряженных ионов, сопровождающимся подавлением полиэлектролитного набухания.

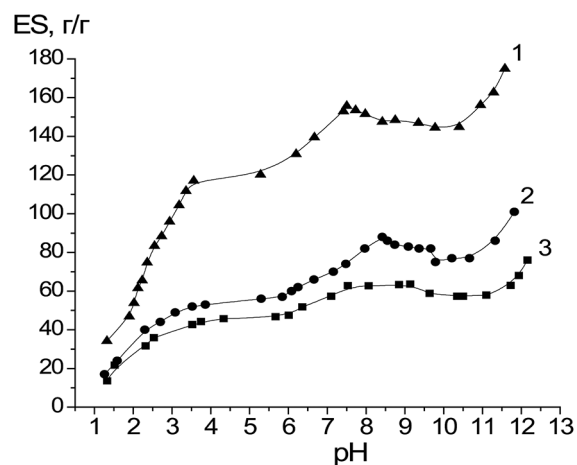


Рис. 3. Зависимость степени набухания гидрогелей ФКД от рН: 1 – ФКД₃ ($C_P = 7,4$; $C_N = 1,8$; $ES = 152$ г/г), 2 – ФКД₆ ($C_P = 7,7$; $C_N = 1,9$; $ES = 82$ г/г), 3 – ФКД₇ ($C_P = 7,8$; $C_N = 1,9$; $ES = 62$ г/г)

Дальнейший рост рН (11,0 ÷ 12,0) приводит к резкому увеличению равновесного набухания гидрогелей ФКД, что может быть объяснено разрушением их структуры вследствие разрыва сшивок и перехода двухзамещенных фосфорнокислых эфиров в монозамещенные эфиры. Таким образом, набухание гелеобразующих ФКД в кислых и щелочных водных растворах различается весьма существенно (в ~4,5 раза) и определяется преимущественно влиянием рН на диссоциацию фосфорнокислых групп, т. е. ФКД может быть отнесен к рН-чувствительным гидрогелям.

Заключение. Исследовано влияние времени реакции этерификации декстрана ортофосфорной кислотой в расплаве мочевины на выход гель-фракции и физико-химические свойства получаемых продуктов. Синтезированы смешанные эфиры декстрана, содержащие фосфорнокислые и карбаматные группы, образование которых подтверждено методом ИК-спектроскопии. Установлено, что высокие выходы гель-фракции ФКД ($\geq 90\%$) достигаются при времени реагирования декстрана с фосфорилирующими смесями более 4 ч. Изучено набухание образцов ФКД в водных растворах с рН от 1,2 до 12,0. Показано, что гидрогели ФКД являются рН-чувствительными благодаря наличию фосфорнокислых групп. В средах с низким значением рН гидрогели имеют набухание в ~4,5 раза меньше, чем в нейтральной среде. Гидрогели ФКД могут найти применение в качестве полимеров-носителей лекарственных веществ.

Список использованной литературы

1. Hoare, T. R. Hydrogels in drug delivery: progress and challenges / T. R. Hoare, D. S. Kohane // *Polymer*. – 2008. – № 49. – P. 1993–2007.
2. Hoffman, A. S. Hydrogels for biomedical applications / A. S. Hoffman // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2002. – № 43. – P. 3–12.
3. Jiang, Z. Q. Injectable hydrogels of poly(ϵ -caprolactone-co-glycolide)–poly(ethylene glycol)–poly(ϵ -caprolactone-co-glycolide) triblock copolymer aqueous solutions / Z. Q. Jiang, Y. J. You, X. M. Deng, J. Y. Hao // *Polymer*. – 2007. – № 48. – P. 4786–4792.
4. Sadeghi, M. Synthesis, swelling behavior, salt- and pH- sensitivity of cross linked carrageenan-graft-poly (acrylamide-co-itaconic acid) superabsorbent hydrogel // M. Sadeghi, N. Ghasemi, M. Kazemi, F. Soleimani // *Middle-East Journal of Science Research*. – 2012. – № 11. – P. 311–317.
5. Chertok, B. Polyethyleneimine-modified iron oxide nanoparticles for brain tumor drug delivery using magnetic targeting and intra-carotid administration / B. Chertok, A. E. David, V. C. Yang // *Biomaterials*. – 2010. – № 31. – P. 6317–6324.
6. Murdan, S. J. Electro-responsive drug delivery from hydrogels / S. J. Murdan // *Control Release*. – 2003. – № 92. – P. 1–17.
7. Naficy, S. A pH-sensitive, strong double-network hydrogel: Poly (ethylene glycol) methyl ether methacrylates–poly (acrylic acid) / S. Naficy et al. // *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. – 2012. – № 50. – P. 423–430.
8. Kim, B. Dynamic swelling behaviour of pH-sensitive anionic hydrogels used for protein delivery / B. Kim, K. L. Flamme, N. A. Peppas // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2003. – № 89. – P. 1606–1613.
9. Bartil, T. Swelling behavior and release properties of pH-sensitive hydrogels based on methacrylic derivatives / T. Bartil, M. Bounekhe, C. Cedric, R. Jerome // *Acta Pharmaceutica*. – 2007. – № 57. – P. 301–314.
10. Peppas, N. A. Hydrogels in pharmaceutical formulations / N. A. Peppas, P. Bures, W. Leobandung, H. Ichikawa // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2000. – № 50. – P. 27–46.
11. Bilder, A. N. Dextran / A. N. Bilder. – Uppsala: Amersham Biosciences AB, 2003. – 64 p.
12. Галаев, Ю. В. Умные полимеры в биотехнологии и медицине / Ю. В. Галаев // *Успехи химии*. – 1995. – Т. 64, № 5. – С. 505–524.
13. Heinze, U. New starch Phosphate Carbamides of High Swelling Ability: Synthesis and Characterization / U. Heinze, D. Klemm, E. Under, F. Piescher // *Starch / Stärke*. – 2003. – № 55. – P. 55–60.
14. Юрkitович, Т. Л. Синтез, структура и физико-химические свойства гелеобразующих фосфатов декстрана / Т. Л. Юрkitович [и др.] // *Журн. прикл. химии*. – 2012. – Т. 85, № 11. – С. 1867–1875.
15. Голуб, Н. В. Получение, структура и свойства гидрогелей фосфатов крахмала / Н. В. Голуб [и др.] // *Вестник БГУ*. – 2008. – Сер. 2, № 3. – С. 29–33.
16. Corbridge, D. E. C. Phosphorus: Chemistry, Biochemistry and Technology / D. E. C. Corbridge. – Boca Raton: CRC Press, 2013. – 1336 p.
17. Губен-Вейль, А. Методы органической химии / А. Губен-Вейль. – М.: Химия, 1967. – 1032 с.
18. Shih, P. Y. ^{31}P MAS-NMR and FTIR analyses on the structure of CuO-containing sodium poly- and meta-phosphate glasses / P. Y. Shih, J. Y. Ding, S. Y. Lee // *Materials Chemistry and Physics*. 2003. – № 80 (2). – P. 391–396.

Поступила в редакцию 07.05.2015