

УДК 678.6:577.164.1:547.458.2

Л.В.Кулик, І.І.Гладир, Р.А.Рожнова, Н.А.Галатенко

**НОВИЙ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИЙ ПОЛІУРЕТАН
З ФОЛАТ-ЛАКТОЗОЮ У СВОЇЙ СТРУКТУРІ: СИНТЕЗ І ВЛАСТИВОСТІ**

На основі діізоціанатного форполімеру і фолат-лактози синтезовано новий біологічно активний гідрофільний поліуретан, в якому фолієва кислота іммобілізована через азометиновий зв'язок. Структуру отриманої фолат-лактози підтверджено з допомогою ^1H ЯМР-спектроскопії. Методом ІЧ-спектроскопії досліджено можливість введення фолат-лактози до структури поліуретанового носія на прикладі її модельної реакції з фенілізоціанатом. Одержаний поліуретан характеризується покращеними фізико-механічними і фізичними властивостями порівняно з поліуретаном, модифікованим *D*-лактозою.

ВСТУП. У медичній практиці широко використовують біологічно активні полімерні матеріали на основі поліуретанів (ПУ) завдяки їхнім експлуатаційним характеристикам, біосумісності та здатності до зміни властивостей залежно від складу, умов синтезу та модифікації [1–3].

Основними підходами при створенні біологічно активних полімерних матеріалів є надання біологічної активності за рахунок введення лікарської речовини як наповнювача, шляхом зв'язування препарату з полімерною матрицею ковалентними зв'язками або іммобілізації лікарської форми через біодеградабельний спейсер.

Біологічно активні фолатовмісні поліуретаносечовини (ПУС) запропоновані як плівкові матеріали для лікування ран та опіків [4], в яких фолієва кислота введена до структури полімерного матеріалу через амідний зв'язок за рахунок взаємодії аміногрупи фолієвої кислоти (ФК) з NCO-групами полімерної матриці. У складі ПУС також присутня частина ФК, що іммобілізована фізично і забезпечує біологічну активність розробленого матеріалу.

Відомі ПУС, які містять у своєму складі фолат-кон'югований фероцен і проявляють біологічну активність в умовах тканинної культури і при імплантації дослідним тваринам [5].

Актуальною є розробка нових шляхів іммобілізації фолієвої кислоти на поліуретановому носії, одним із яких є модифікація фолієвої кислоти дисахаридом через біодеградабельний іміновий зв'язок. Це дозволить підвищити гідрофільність полімерної матриці за рахунок введення

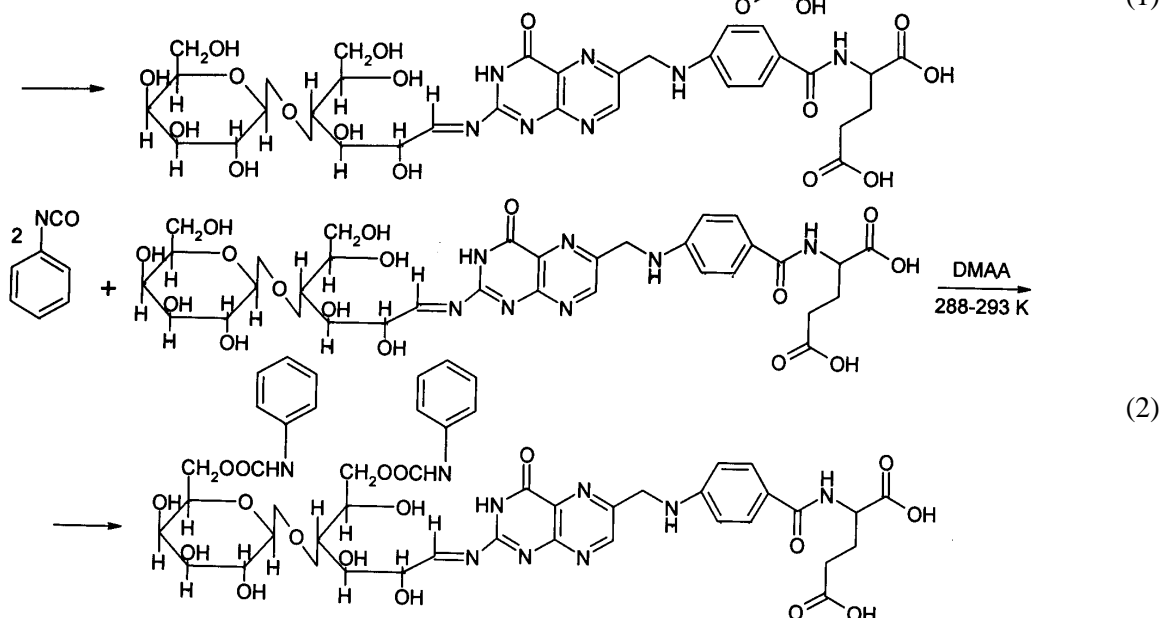
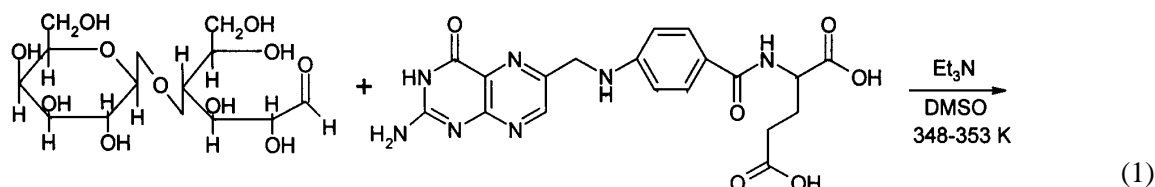
до полімерного носія гідрофільного компоненту природного походження та надасть можливість подовжити період пролонгованого вивільнення лікарської речовини у місце тканинного ушкодження та зберегти її необхідну концентрацію за рахунок гідролізу азометинового зв'язку [6].

Таким чином, метою роботи є синтез нового поліуретану, який містить у своїй структурі фолат-лактозу (ФЛ), і дослідження фізико-механічних і фізико-хімічних властивостей отриманого полімеру.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА. Вихідні речовини для синтезу — фолієву кислоту (ФК) (Acros, 96.6 %, $T_{\text{розкл}} = 523 \text{ K}$) і *D*-лактозу (ч.д.а., $T_{\text{пл}} = 476 \text{ K}$), безпосередньо перед синтезом сушили за температури 398 K протягом 3 год. Для блокування кислотних груп ФК використовували триетиламін (Merck, 99.9 %).

Синтез полімерів здійснювали на основі поліоксипропіленгліколю (ПОПГ) (Rokorol, $M = 1000$) і 2,4-;2,6-толуїлендіізоціанату (ТДІ 80/20, Merck). У роботі застосовували розчинники: диметилсульфоксид (ДМСО) (фарм., 99.8 %), *N,N'*-диметилацетамід (ДМАА) (Merck, 99.8 %), діетилетер (фарм.), хлороформ (фарм.), ацетон (х.ч.).

Фолат-лактозу отримували (реакція (1)) на основі ФК (0.0068 моль), яку розчиняли у 30 мл ДМСО за температури $353 \pm 5 \text{ K}$. До розчину прибавляли триетиламін за мольного співвідношення ФК : $\text{Et}_3\text{N} = 1:2$. Еквімолярну кількість *D*-лактози додавали до розчину ФК і перемішували реакційну суміш за температури $353 \pm 5 \text{ K}$ протягом 4 год. Цільовий продукт виділяли висаджу-

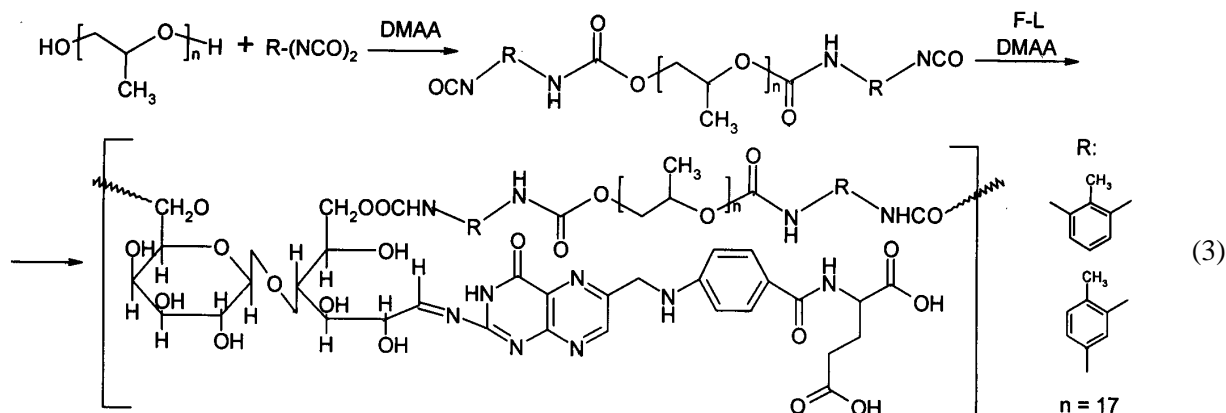


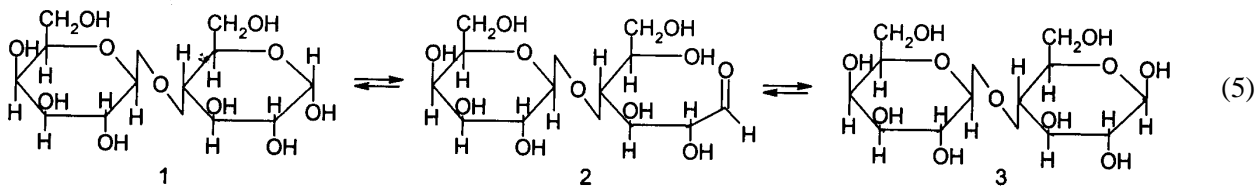
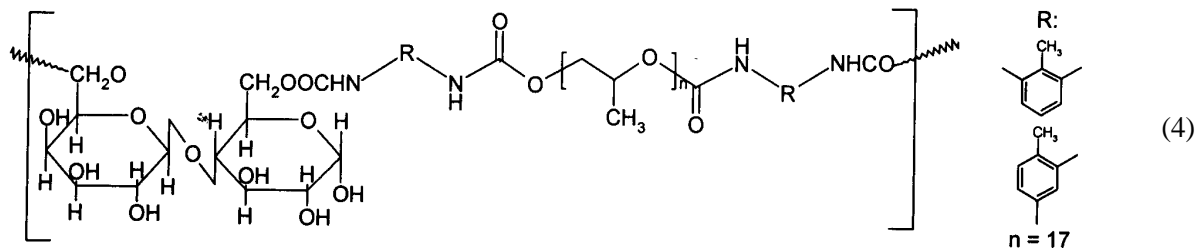
ванням у хлороформ (200 мл), внаслідок чого розчин набував яскравого жовтого кольору. Робочий розчин відфільтровували, осад промивали ацетоном і сушили у сушильній шафі за температури 323 К до сталої ваги. Продуктом реакції (1) є кристали жовтого кольору з температурою розкладання 478–483 К, розчинні у ДМСО і ДМАА.

Модельну реакцію між ФЛ і ФІЦ (реакція (2)) проводили за участю триетиламіну за мольного співвідношення компонентів ФЛ : ФІЦ : Et₃N = 1:2:2 у середовищі ДМАА (20 мл). Хід реакції контролювати методом ІЧ-спектроскопії за змі-

стом NCO-груп до їх повної конверсії (~5 хв). Продукт реакції отримували висаджуванням у діетиленгліцерин, з подальшим фільтруванням і виділенням у воду. Відфільтрували і залишили сушитися за кімнатної температури. Цільовий продукт — порошок коричневого кольору з $T_{\text{розкл}} = 459\text{--}461\text{ К}$, розчинний в амідних розчинниках.

Синтез поліуретану (реакція (3)) на основі діізоціанатного форполімеру (ДФП) і ФЛ проводили у 2 стадії. На першій синтезували ДФП на основі ПОПГ і ТДІ за мольного співвідношення ПОПГ : ТДІ = 1:2 (NCO_{вміл} — 6.23 %, визначали





1 — α -форма, 2 — відкрита форма лактози, 3 — β -форма.

титриметричним методом [7]). На другій стадії здійснювали реакцію поліпрієднання між ДФП і ФЛ за співвідношення 1:1. Розчин ФЛ в ДМАА вносили до реакційної суміші при постійному перемішуванні за температури 333 ± 5 К. Хід реакції контролювали методом ІЧ-спектроскопії за визначенням вмісту вільних NCO-груп — до досягнення повної конверсії (~60 хв). Реакційну суміш виливали на тефлонові підкладки і сушили у сушильній шафі за температури 343 ± 5 К протягом 72 год до постійної маси. Поліуретан отримували у вигляді прозорих плівок коричневого кольору, розчинних у ДМАА і ДМФА.

Синтез ПУ на основі ДФП і D-лактози (ДФП-Л) проводили у дві стадії, як описано для ДФП-ФЛ. Полімерний матеріал отримували у вигляді прозорих плівок жовтого кольору, розчинних в амідних розчинниках, загальної формули (4).

Температуру плавлення визначали за допомогою мікронагрівального столика Кофлера (Reichert, Австрія). Показники міцності при розриві (σ , МПа) та відносного подовження (ϵ , %) синтезованих полімерних плівок встановлювали за допомогою розривної машини FU-1000 при швидкості руху зажиму 70 мм/хв згідно з ГОСТ 25.601 [10]. Характеристичну в'язкість (η , дл/г) визначали віскозиметричним методом [11], використовуючи віскозиметр Оствальда з діаметром капіляра 0.62 мм. Водопоглинання (X , %) зразків досліджували у дистильованій воді протягом 24 год при $T 296 \pm 2$ К згідно з вимогами ГОСТ 4650 [12].

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ. Лактоза є дисахаридом, який складається із залишків молекул глюкози і галактози. Саме за рахунок наявності у структурі лактози залишку глюкози во-

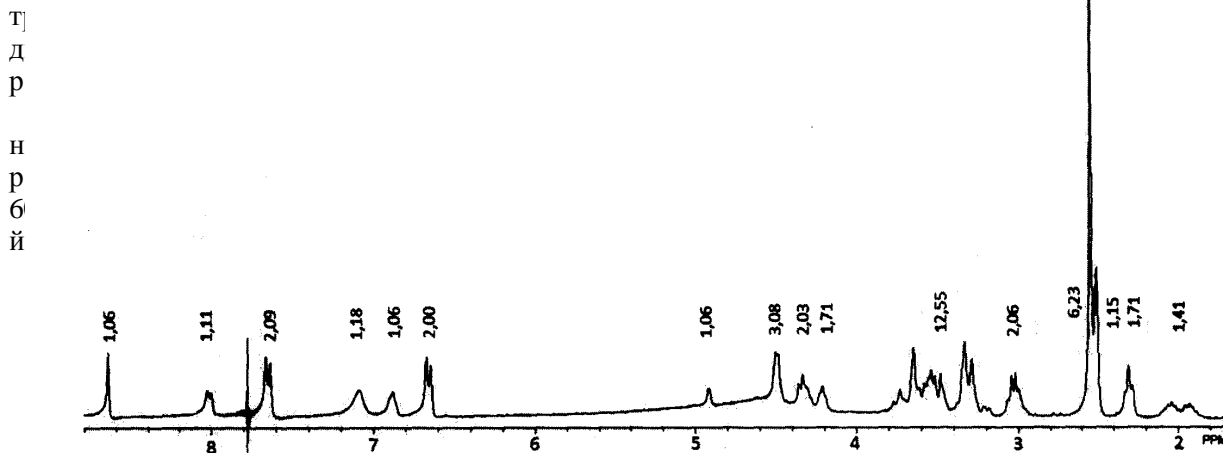


Рис. 1. ^1H ЯМР-спектр фолат-лактози.

но у роботі [14]. Спостерігали виділення сірого осаду металічного срібла.

Враховуючи наведене, можна провести модифікацію ФК лактозою шляхом взаємодії альдегідної групи відкритої форми лактози з аміногрупою фолієвої кислоти. Хімічну будову продукту реакції фолієвої кислоти з лактозою досліджували методом ^1H ЯМР-спектроскопії (рис. 1).

^1H ЯМР-спектр фолат-лактози характеризується наявністю сигналів протонів фолієвої кислоти [15]: 1.91–2.05 — метильна група (2H), 2.31 — метильна група (2H), 4.34 — метильна група (1H), 4.49 — $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ (2H), 6.65 — $-\text{Ar}-$ (2H), 7.08 — $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ (1H), 7.65 — $-\text{Ar}-$ (2H), 8.02 — $-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$ (1H), 8.65 — птеройловий залишок (1H); сигналів протонів *D*-лактози (м.ч.) [16, 17]: 2.51 — OH_2 , 3.02 — H_4 , 3.04 — H_4' , 3.22 — H_3' , 3.32 — H_{6a}' , 3.35 — H_{6a} , 3.43–3.51 — OH_3 , OH_5 , OH_2' , OH_3' , OH_4' , 3.58 — H_5 , 3.61–3.69 — OH_6 , OH_6' , 3.73 — H_2' , 3.78 — H_5' , 4.18 — H_{6b}' , 4.24 — H_{6b} , 4.36 — H_3 , 4.51 — H_2 , 4.92 — H_1' . На рисунку також присутній сигнал диметилсульфоксиду (2.54 м.ч.). На спектрі відсутній сигнал первинної аміногрупи фолієвої кислоти при 6.8–7.0 м.ч. (2H) і сигнал протону H_1 *D*-лактози при 6.34 м.ч.. Поява нового сигналу 6.88 м.ч. — $\text{HC}=\text{N}$ (1H) з високим ступенем вирогідності свідчить про утворення азометинового зв'язку між *D*-лактозою і фолієвою кислотою.

З метою дослідження можливості хімічної взаємодії та встановлення умов перебігу реакції між гідроксильними групами ФЛ та NCO -групами діізціанатного форполімеру було проведено модельну реакцію між ФЛ і фенілізоціанатом. ІЧ-спектр продукту реакції фолат-лактози з ФІЦ (рис. 2, крива 2), характеризується відсутністю коливань ν_{NCO} при 2270 cm^{-1} , зменшенням інтенсивності смуги деформаційних коливань δ_{OH} при $1020\text{--}1050\text{ cm}^{-1}$ первинних спиртових груп, появою нових смуг $\delta_{\text{C-O-C}}$ при 1190 і 1230 cm^{-1} , $\delta_{\text{N-C}}$ при 1645 cm^{-1} і плеча смуги $\nu_{\text{C=O}}$ при 1730 cm^{-1} уретанової природи. З'являється нова широка смуга валентних коливань ν_{NH} при $3020\text{--}3120\text{ cm}^{-1}$, яка накладається на смугу ν_{OH} при $3100\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$, і, ймовірно, відповідає утвореній уретановій групі. Такі зміни профілю ІЧ-спектрів підтверджують проходження реакції між фолат-лактозою і фенілізоціанатом.

За результатами модельної реакції було розроблено метод синтезу плівкового матеріалу на

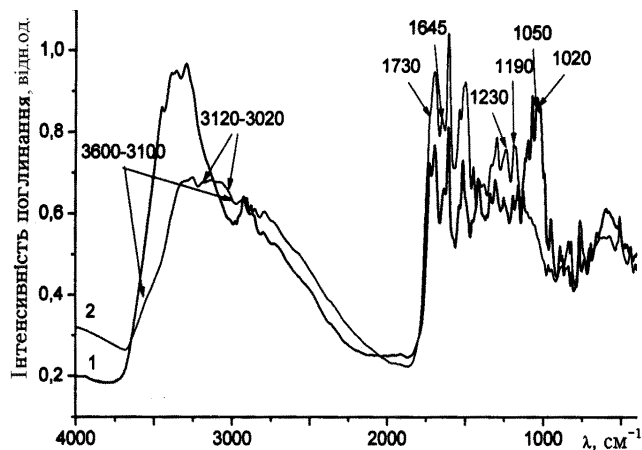


Рис. 2. ІЧ-спектри: 1 — фолат-лактоза; 2 — продукт реакції ФЛ з ФІЦ.

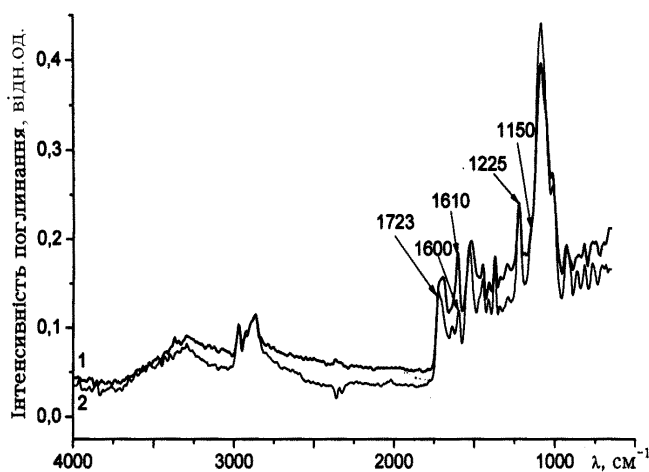


Рис. 3. ІЧ-спектри: 1 — ДФП-ФЛ; 2 — ДФП-Л.

основі діізціанатного форполімеру та фолат-лактози. Паралельно синтезовано плівковий матеріал складу ДФП-Л з метою його використання як контрольного зразку при дослідженні впливу фолат-лактози на зміну властивостей полімерного матеріалу. Отримані полімери досліджували методом ІЧ-спектроскопії (рис. 3).

ІЧ-спектр полімеру на основі ДФП і фолат-лактози (рис. 3, крива 1) характеризується наявністю смуг $\nu_{\text{C=O}}$ при 1723 , $\delta_{\text{C-N}}$ при 1610 , $\delta_{\text{C-O-C}}$ при 1225 і 1150 cm^{-1} уретанової природи. На ІЧ-спектрі лактозовмісного поліуретану (рис. 3, крива 2) смуга деформаційних коливань $\delta_{\text{C-N}}$ зміщена в область вищих частот (1600 cm^{-1}). Такий профіль смуг синтезованих матеріалів підтверджує структуру полімерів і характер протікання реакції, описаної вище.

З метою встановлення закономірностей впливу модифікації *D*-лактози фолієвою кислотою на експлуатаційні характеристики полімерних матеріалів проведені дослідження фізичних і фізико-механічних властивостей синтезованих поліуретанів. Результати наведені у таблиці.

Показники міцності при розриві, відносного подовження, характеристичної в'язкості і водопоглинання синтезованих ПУ

Зразок	$\eta_{\text{характ.}}$, дл/г	σ , МПа	ϵ , %	X , %
ДФП-Л	0.10	1.65 ± 0.07	49.56 ± 5.58	8.69 ± 0.61
ДФП-ФЛ	0.18	10.24 ± 0.24	63.95 ± 4.85	13.12 ± 0.72

Значення міцності при розриві і відносно подовження зразків полімерного матеріалу з фолат-лактозою більші на 83 і 22 %, ніж відповідні фізико-механічні показники полімерного матеріалу з *D*-лактозою. Дані фізико-механічних досліджень корелюють з результатами віскозиметрії і дослідження гідрофільності — показники характеристичної в'язкості і водопоглинання ДФП-ФЛ вищі на 44 і 34 % за показники ПУ складу ДФП-Л.

РЕЗЮМЕ. На основі діізоціанатного форполімера і фолат-лактози синтезований новий біологічно активний гідрофільний поліуретан, в колором фолієва кислота іммобілізована по азометинній зв'язі. Структура отриманої фолат-лактози підтверджена методом ^1H ЯМР-спектроскопії. Методом ІК-спектроскопії досліджена можливість введення фолат-лактози в структуру поліуретанового носителя на прикладі її моделі реакції з фенілізоціанатом. Синтезований полімерний матеріал характеризується покращеними фізико-механічними і фізичними властивостями, в порівнянні з поліуретаном, модифікованим *D*-лактозою.

SUMMARY. New bioactive hydrophilic polyurethane based on diisocyanate prepolymer and folate-lactose, in which folic acid was immobilized along azomethine bond, was obtained. The structure of folate-lactose was confirmed by ^1H NMR-spectroscopy studies. By

means of model reaction between folate-lactose and phenyl isocyanate the possibility of its chemical immobilization on polymeric carriers was investigated by IR-spectroscopy studies. Polymeric material with folate-lactose has better physical and mechanical properties than polyurethane, which was modified by *D*-lactose.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Pat. USA №4886866, Cl. C 08 G 18/10 U.S. Cl. 528/59 №312331.* -Publ. 12.12.89.
2. *Pat. USA №4935480, Cl. C 08 G 18/38 U.S. Cl. 528/28 №173892.* -Publ. 20.06.89.
3. *Ito Y., Iguchi Y, Imanishi Y. // Biomaterials. -1992. -13, № 3. -P. 131—135.*
4. *Пат. України на корисну модель №55891, МПК-2011.01, С 08 G 71/00, С 07 D 475/00, А 61 L 31/00.* -Опубл. 27.12.2010; Бюл № 24.
5. *Макеєва Л.В., Гладир І.І., Рожнова Р.А. та ін. // Полімер. журн. -2014. -36, № 4. -С. 434—439.*
6. *Рожнова Р.А., Замуліна Л.І., Галатенко Н.А., Гладир І.І. // Доп. НАН України. -2005. -№ 11. -С. 182—186.*
7. *Сигиа С., Ханна Д.Г.* Количественный анализ по функциональным группам. -М.: Химия, 1983.
8. *Беллами Л.* Инфракрасные спектры сложных молекул. -М., 1957.
9. *Органикум.* Практикум по органической химии / Под ред. Г.Беккер и др. -М.: Мир, 1979. -Т. 1.
10. *ГОСТ 25.601-80.* Методы механических испытаний композиционных материалов с полимерной матрицей (композитов). Метод испытания плоских образцов на растяжение при нормальной, повышенной и пониженной температурах -Введ. 1981-07-01. -М. : Изд-во стандартов, 1980.
11. *Братичак М., Бжозовський З., Буковський А. та ін.* Лабораторний практикум з хімії та технології полімерів -Варшава: Вид-во Варшав. політехніки, 2002.
12. *ГОСТ 4650-80.* Пластмассы. Методы определения водопоглощения. -Введ. 1980-12-18. -М.: Изд-во стандартов, 1981.
13. *Синельников Б.М., Храмов А.Г., Евдокимов И.А. и др.* Лактоза и ее производные / Науч. ред. акад. РАСХН А.Г.Храмов. -СПб.: Профессия, 2007.
14. *Сливкин А.И., Садчикова Н.П.* Функциональный анализ органических лекарственных веществ / Под ред. акад. РАМН, проф. А.П.Арзамасцева. -Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 2007.
15. *Rossi C., Donati A., Ulgiate S., Sansoni M.R. // Bull. Magnet. Res. -1992. -1, № 1-4. -P. 181—185.*
16. *Hyunsook Ko, Gyuchang Shim, Yangmee Kim. // Bull. Korean Chem. Soc. -2005. -26, № 12. -P. 2001—2006.*
17. *Jawad R., Elleman C., Vermeer L. et al. // Pharm. Res. -2012. -P. 511—524.*

Інститут хімії високомолекулярних сполук
НАН України, Київ

Надійшла 20.03.2015