

ОСНОВНІ ПУБЛІКАЦІЇ

УДК 543.544.5.068.7; 678,745,8

М.Н. ГЕРЦЮК¹, Ю.М. САМЧЕНКО², А.В. ТОВМАЧЕНКО¹, Н.А. ПАСМУРЦЕВА²,
С.А. КОМАРСКИЙ³, Г.В. ЛИСИЧЕНКО¹, З.Р. УЛЬБЕРГ²

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОПОЛИМЕРНЫХ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ АКРИЛОВЫХ МОНОМЕРОВ

Разработана ВЭЖХ-методика определения акриламида, акрилонитрила, N-изопропилакриламида в сополимерных гидрогелях, синтезированных на основе указанных мономеров. Эта методика была использована для оптимизации процессов очистки новых биосовместимых гидрогелей медицинского назначения от остаточных микроколичеств непрореагировавших мономеров. Показано, что метод УФ-спектроскопии может использоваться для оценки количества мономерных продуктов в полимерных материалах.

Розроблено ВЕРХ-методика визначення акриламиду, акрилонітрилу, N-ізопропілакриламідом в кополімерних гідрогелю, синтезованих на основі зазначених мономерів. Ця методика була використана для оптимізації процесів очищення нових біосумісних гідрогелів медичного призначення від залишкових мікрокількостей непрореагировавших мономерів. Показано, що метод УФ-спектроскопії може використовуватися для оцінки кількості мономерних продуктів в полімерних матеріалах.

HPLC method for determination of acrylamide, acrylonitrile, N-isopropylacrylamide in copolymer hydrogels, which synthesized on the basis of these monomers, are developed. This technique was used for the optimization of cleaning processes of new medical biocompatible hydrogels from residual trace amounts of unreacted monomers. It was shown that the method of UV spectroscopy can be used for evaluating of the monomeric products quantity in polymeric materials.

Сополимерные гидрогели, представляющие собой пространственно-сшитые гидрофильные полимеры, вследствие присущей им повышенной биосовместимости и широкого комплекса улучшенных эксплуатационных параметров, в настоящее время находят широкое применение в медицине и наукоемких технологиях. В частности, на их основе получают разнообразие сенсоров и датчики [1, 2], разделительные мембраны [3, 4], эндопротезы для пластической и реконструктивной хирургии [5], трансдермальные терапевтические системы с адресным пролонгированным высвобождением инкорпорированных лекарственных препаратов [6], системы электростимулированного высвобождения лекарств [7-9] и т.д.

Гидрогели на основе термочувствительных мономеров, прежде всего, на основе N-изопропилакриламида (НИПА) претерпевают фазовый переход между набухшим и сколлапсированным состоянием в физиологически приемлемой области температур около 32 °С [10]. Сополимеризация НИПА с мономерами различной природы позволяет сдвигать температуру фазового перехода в ту или иную сторону на несколько десятков градусов, что даёт возможность получать гидрогелевые матрицы с наперед заданными свойствами. Так, было показано, что при сополимеризации НИПА с гидрофобными акрилонитрилом и

метакрилатом температура фазового перехода снижается до 23-25 °С, тогда как фазовый переход гидрогелевого сополимера НИПА с гидрофильным акриламидом может варьироваться от 33 до 55°С в зависимости от соотношения мономеров [11]. Наблюдающиеся фазовые переходы сопровождаются резким изменением диффузионных параметров гидрогелей, что создает предпосылки для их применения в медицине, в частности, при гипертермии [12].

Главным условием успешного применения гидрогелей в медицинской практике является отсутствие остаточных количеств токсичных мономеров в их составе. В связи с этим, актуальной задачей является разработка методик, позволяющих надёжно определять остаточные микроколичества мономеров в биосовместимых гидрогелях.

Нами была разработана ВЭЖХ-методика совместного определения акриламида, акрилонитрила, N-изопропилакриламида в сополимерных гидрогелях, синтезированных на основе указанных мономеров. Эта методика использована для оптимизации процессов очистки новых биосовместимых гидрогелей медицинского назначения от остаточных микроколичеств непрореагировавших мономеров.

Экспериментальная часть

Сополимерные гидрогели на основе акриловых мономеров различной природы (гидрофильных, гидрофобных, ионогенных, термочувствительных), были получены путем радикальной сополимеризации соответствующих мономеров: акриламида, акрилонитрила, акриловой кислоты, N-изо-пропил-акриламида и др. в водной среде, с использованием окислительно-восстановительной иницирующей системы: персульфат калия – метабисульфит натрия при комнатной температуре. Подробнее синтез сополимерных гидрогелей описывался нами ранее [13, 14].

Для снятия электронных спектров поглощения использовался спектрофотометр SPECORD M40 (Германия), предназначенный для регистрации спектров поглощения в УФ и видимой областях.

Для определения количества десорбируемого вещества строилась калибровочная кривая зависимости оптической плотности от концентрации вещества. Концентрации растворов, используемых для построения калибровочных кривых, изменялись в диапазоне 10^{-6} – 10^{-4} моль/л.

Исходный раствор готовили весовым методом. Последовательным разбавлением в мерных колбах готовили калибровочные растворы. Измерения оптической плотности исследуемых веществ проводили в кварцевых кюветах. Для приготовления растворов использовали растворители, прозрачные в видимой и УФ областях спектра. Измерения проводили в кюветах размером 1 x 1 см и объемом около 4 мл. В качестве раствора сравнения использовали дистиллированную воду и водно-метанольные растворы различных концентраций.

Полученные спектры характеризовали длиной волны, при которой наблюдается максимум поглощения, и молярным коэффициентом поглощения (экстинцией) в этом растворе. Коэффициент экстинции калибровочных растворов вычисляли по формуле:

$$E=D/Cl, \quad (1)$$

где

E-коэффициент экстинции, л/моль*см,

D-оптическая плотность раствора.

C-концентрация вещества, моль/л,

l-толщина слоя раствора, см (в нашем случае l = 1 см).

Коэффициент экстинции для каждого поглощающего вещества при данной длине волны в одном растворителе имеет постоянное значение.

Концентрацию поглощающего вещества вычисляли как $C=D/E$.

Результаты и их обсуждение

Из анализа спектров поглощения индивидуальных мономеров можно заключить, что их максимумы расположены в одном диапазоне, примерно, при 201 нм (в случае НИПА проявляется еще один максимум в диапазоне около 225 нм). Вследствие этого метод УФ-спектроскопии позволяет проанализировать только суммарное вымывание мономеров из гидрогеля, без их индивидуальной дифференциации.

Нами проводился анализ содержания мономеров в промывных водах, а также остаточных количеств мономеров в гидрогеле при их экстрагировании 90 % метанольным раствором. Отмывка синтезированных гидрогелей от остаточных количеств непрореагировавших мономеров осуществлялась следующим образом. Навеска гидрогеля заливалась дистиллированной водой в соотношении гидрогель-растворитель: 1:15. Через определенные промежутки времени гидрогелевый образец извлекали и взвешивали. После этого промывные воды анализировались на содержание отдельных мономеров с использованием метода ВЭЖХ, а суммарное содержание мономеров определялось с использованием УФ-спектроскопии. Отдельно проводился анализ остаточных количеств мономеров в гидрогелевом образце. Для этого навеску гидрогеля в течение 1 ч перемешивали на магнитной мешалке с растворителем (90 % метанол) при соотношении: 1:30. Как было показано нами ранее, указанный режим пробоподготовки обеспечивал достаточно полное отделение мономеров от гидрогелевой матрицы [15]. Затем жидкую фазу отделяли посредством фильтрования и анализировали методами УФ-спектроскопии и ВЭЖХ.

Содержание отдельных мономеров (акриламида, акрилонитрила и НИПА) в промывных водах (по данным ВЭЖХ) и суммарное содержание в них мономеров (по данным УФ-спектроскопии) приведено на рис. 1.

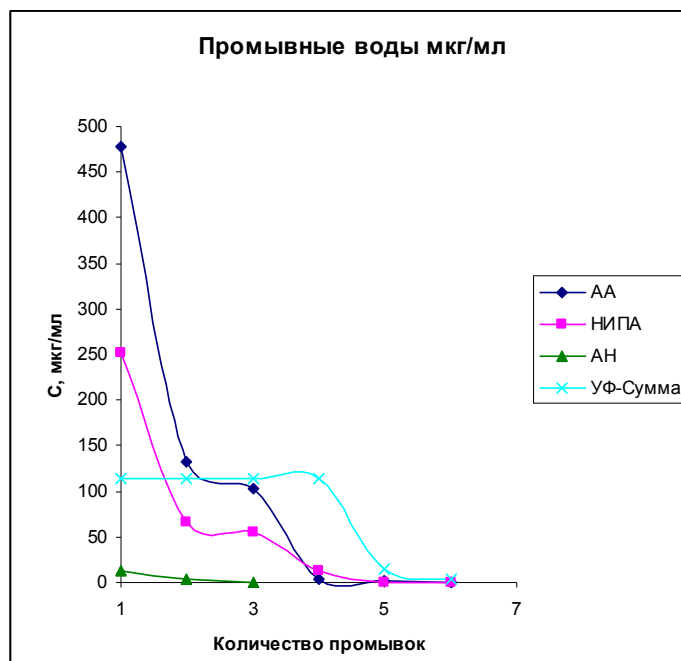


Рис. 1. Влияние количества промывок на содержание мономеров в промывных водах

Отметим, однако, что суммарное содержание мономеров может быть измерено лишь в том диапазоне концентраций, при котором оптическая плотность раствора (D) не превышает максимальных значений.

Исходя из анализа метанольных вытяжек определено остаточное содержание мономеров в гидрогелевых образцах, как групповое, так и индивидуальное (Рис. 2).

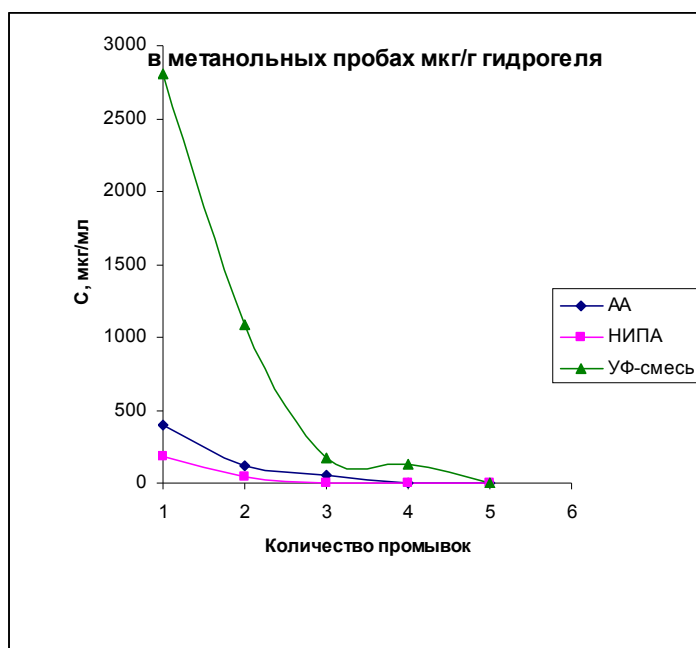


Рис. 2. Остаточное содержание мономеров в сополимерных гидрогелях на основе АА, АН и НИПА

Проведенные исследования позволяют прийти к выводу, что сочетание УФ-спектроскопии и ВЭЖХ позволяют охарактеризовать остаточное содержание мономеров в гидрогеле и оптимизировать процесс его отмывки от токсичных примесей. Метод УФ-спектроскопии обладает несколько большей чувствительностью и может использоваться для экспресс-анализа чистоты гидрогелевых образцов. Метод ВЭЖХ позволяет оценивать индивидуальные вклады отдельных мономеров в общую загрязненность гидрогелей.

Показано, что полная отмывка гидрогелей от всех остаточных мономеров наблюдается после пятикратной экстракции водой при ее соотношении с гидрогелем 15:1. Продолжительность каждой экстракции не превышает 1 сутки.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Suzuki A, Tanaka T.** Phase transition in polymer gels induced by visible light // Nature.- 1990.V. 346.- P. 345-347.
2. **Park T.G., Hoffman A.S.** Sodium chloride-induced phase transition in nonionic poly(N - isopropylacrylamide) gel // Macromolecules.- 1993.-V 26.- P. 5045 - 5048.
3. **Stadny I.A., Viktoriia V. Konovalova V.V., Yuriy M. Samchenko Yu.M., Ganna A. Pobigay G.A., Anatoliy F. Burban A.F., Ulberg Z.R.** Development of Hydrogel Polyelectrolyte Membranes with Fixed Sulpho-Groups via Radical Copolymerization of Acrylic Monomers//Materials Sciences and Applications.- 2011.- V.2, P. 270-275.
4. **Aoki T.** Macromolecular design of permselective membranes//Prog. Polym. Sci. - 1999. – V.24. – P.951–953.
5. **Lee K, Mooney D.** Hydrogels for Tissue Engineering // Chemical Reviews.- 2001.-V. 101.- N. 7.- P. 1869-1879.
6. **Peppas NA, Buresa P, Leobandunga W, Ichikawa H.** Hydrogels in pharmaceutical formulations // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.- 2000.- V.50.- P. 27- 46/
7. **Murdan S.** Electro-responsive drug delivery from hydrogels // J. Control Release.- 2003.- V.92.- P, 1-17.

8. **Sahawata K., Hara M., Yasunaga H., Osada Y.** Electrically controlled drug delivery system using polyelectrolyte gels *Journal of Controlled Release*.-1990.- V.14.- N.3.- P. 253 - 262.
9. **Kim S.J., Yoon S.G., Lee S.M., Lee J.H., Kim S.I.** Characteristics of electrical responsive alginate/poly(diallyldimethylammonium chloride) IPN hydrogel in HCl solutions // *Sensors and Actuators B: Chemical* .- 2003.- V. 96.- P. 1-5.
10. **Zhong X., Wang Y.X., Wang S.C.** Pressure dependence of the volume phase-transition of temperature-sensitive gels // *Chem Eng Sci*.- 1996.- V. 51.- P. 3235- 3239.
11. **Samchenko Yu., Konovalova V., Poltoracka T., Pobigay G., Burban A., Ulberg Z.** Hydrogel membranes with pH- and thermo-responsive parameters // *Proceedings of the XXVth International Symposium on Physico-Chemical Methods of Separation "Ars Separatoria 2010"*.- July 4-7.- Torun.- Poland.- P. 222-225.
12. **Rahimi M., Kilaru S., Hajj S, Ghida EL, Saleh A, Rudkevich D.** Synthesis and characterization of thermo-sensitive nanoparticles for drug delivery applications // *J. Biomed. Nanotechnol*.- 2008.- V.4.- P.1-9.
13. **Samchenko Yu., Ulberg Z., Socolyuk A.** Synthetic hydrogels based on acrylic comonomers// *Journal de Chimie Physique*.- 1996.- N 93. - P.920-931.
14. **Самченко Ю.М., Атаманенко И.Д., Полторацкая Т.П., Ульберг З.Р.** Состояние воды в мелкодисперсных гидрогелях на основе акриламида и акриловой кислоты // *Коллоид.журн.* –2006.- 68, №5. – С.670-673.
15. **Gertsyuk M., Samchenko Yu.** Separation of Nonreacted Acrylamide from Polyacrylamide Gel for Endoprothesing//*Ars Separatoria Acta*. 2007. № 5, P.99-102

¹*Институт геохимии окружающей среды НАН Украины,*

²*Институт биокolloидной химии им.Ф.Д.Овчаренко НАН Украины,*
г Киев, Украина

³*Принстонские лаборатории биомолекулярных исследований, Киев, Украина*

Надійшло до редакції 04.10.2011