

А. В. Стасюк, С. П. Причак, Н. В. Фігурка, С. М. Варваренко, В. Я. Самарик  
 Національний університет “Львівська політехніка”,  
 кафедра органічної хімії  
 anna.v.stasiuk@lpnu.ua

## СИНТЕЗ ФОСФОРОВМІСНИХ ПСЕВДОПОЛІАМІНОКИСЛОТ ПОЛІЕСТЕРНОГО ТИПУ

<https://doi.org/10.23939/ctas2021.01.224>

Розглянуто метод одержання фосфоровмісного поліестерету за реакцією Стегліха. Наведено результати досліджень із отримання поліестеретерів із використанням етилфосфатної групи в структурі диполіетиленглікольетилфосфату. Отриманий полімер охарактеризували ІЧ- та  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопією. Здійснено оцінку складу поліестерету та аналіз його кінцевих груп.

**Ключові слова:** псевдополіамінокислоти; поліфосфатестери; спектроскопія; поліестерети; ривняння Карозерса.

### Вступ

Сьогодні є низка публікацій, в яких розглянуто синтез та дослідження різних типів псевдополіамінокислот [1, 2, 3], які використовують як полімери медичного призначення. Зокрема, на їх основі нині створюють сучасні дисперсні системи доставки лікарських засобів. Їхня основна особливість полягає у відсутності пептидних зв'язків, що не викликає імунної реакції організму на чужорідний білок [4]. У роботах [3, 5] описано методи одержання псевдополіамінокислот – поліестеретерів, за реакцією Стегліха, під час взаємодії N-похідних дикарбонових  $\alpha$ -аміно-

кислот з діолами поліоксіетиленового та поліоксипропіленового ряду. Ці методи зручно використовувати для одержання поліфосфатестерів, структуру яких наведено на рис.1. Наявність естерних зв'язків забезпечує їх біодеградабельність [6]. Але у структурі поліестерів такого типу не міститься достатньо реакційноздатних груп для ковалентного або йонного зв'язування органічних молекул. Введення в основний ланцюг псевдополіамінокислот атома Фосфору дає можливість задавати функціональність полімерної молекули. Це розширить сферу їх використання як медичних та біомедичних матеріалів.

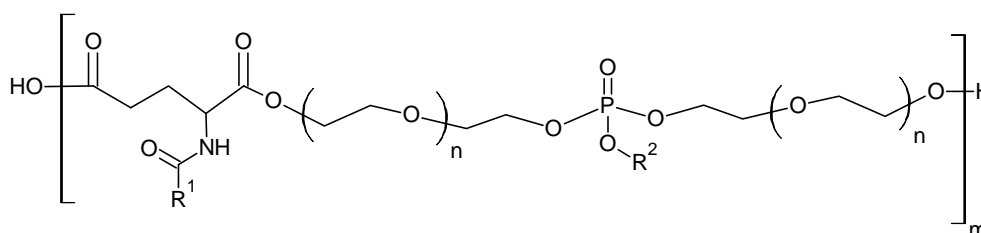


Рис. 1. Загальна формула поліфосфатестерів ( $R^1 = C_{17}H_{35}$ ,  $R^2 = H, C_2H_5$ )

Псевдополіамінокислоти поліестерного типу проявляють поверхневу активність та здатні до утворення псевдоміцел завдяки наявності у структурі гідروفільних та ліпофільних фрагментів [7]. Такі міцелярні носії із солюбілізованими, інкапсульованими або зв'язаними лікарськими

препаратами можна безпечно вводити у людський чи тваринний організм [8].

### Мета дослідження

Мета роботи – синтезувати фосфоровмісні псевдополіамінокислоти, придатні до викорис-

тання як полімери медичного призначення, що містять у своїй структурі фосфатні групи, які після гідролізу здатні до йонного зв'язування біологічно активних речовин.

### Матеріали та методи досліджень

#### Вихідні речовини

Диполіетиленглікольетилфосфат (LP) отримували згідно із методикою, наведеною у [9]. N-стеароїлглутамінову кислоту (GluSt) отримували та очищали за методикою [10]. N,N'-дициклогексилкарбодіімід (DCC), 4-диметиламінопіридин (DMAP) виробництва фірми "Aldrich" застосовували без додаткового очищення. Диметилформамід (DMFA) використовували марки "ХС", додатково очищали за методикою [11].

#### Методи аналізу

ІЧ-спектри зразків поліфосфатестерів отримано на приладі Thermo Scientific Nicolet 8700. Аналіз ІЧ-спектрів виконано за таблицями характерних частот поглинання [12].

<sup>1</sup>H ЯМР спектри зразків поліфосфатестерів отримували у дейтерохлороформі за частоти 300 МГц в автоматичному режимі сканування. Аналізували ПМР-спектри за допомогою програми ACD/Labs.

#### Методики синтезу

У тригорлий реактор, оснащений магнітною мішалкою, двома крапельними лійками, завантажували N-стеароїлглутамінову кислоту (GluSt) та диполіетиленглікольетилфосфат (LP). Мольне співвідношення між реагентами 10:9 відповідно. Як розчинник використовували диметилформамід. Реакційну суміш охолоджували до 278 К і краплями додавали N,N'-дициклогексилкарбодіімід (DCC) в диметилформаміді. Витримували реакційну масу за 278 К 30 хв, після чого прикапували 4-диметиламінопіридин (DMAP) у диметилформаміді. Мольні співвідношення DCC та DMAP відносно N-стеароїлглутамінової кислоти 2,2/0,125 відповідно. Після прикапування розчину DMAP температуру підвищували до 283 К і витримували 2 год, інтенсивно перемішуючи. Після цього реакційну суміш залишали на 12 год. Для очищення продукту від N,N'-дициклогексилсечовини (DCU) реакційну суміш фільтрували, фільтрат упарювали. Після цього продукт розчи-

няли в 5 мл ацетону, додавали 0,1 мл води й активно перемішували впродовж 30 хв, після чого повторно фільтрували й упарювали фільтрат. Вихід поліфосфатестеру – 96–98 %. Структуру отриманих поліфосфатестерів підтверджували ІЧ- та <sup>1</sup>H ЯМР спектроскопією.

### Результати досліджень та їх обговорення

У роботах [3, 10, 13] показано, що синтез поліестеретерів на основі N-похідних глутамінової кислоти та діолів поліоксіетиленового та поліоксипропіленового ряду зручно здійснювати за реакцією Стегліха. Разом з тим, у цих самих роботах показано, що ступінь полімеризації значною мірою залежить від природи замісника в N-положенні глутамінової кислоти, і залежність доволі сильна. Частина замісників (трет-бутилоксикарбонільної, трифлуорацетильної групи) приводить до формування поліестеретерів із низьким ступенем поліестерифікації, який ніяк не прогнозується за рівнянням Карозерса. З іншого боку, такі замісники, як стеароїл та лауроїл, дають змогу отримувати поліестеретери зі ступенем поліестерифікації, який задовільно збігається із прогнозованим за цим рівнянням. Основною причиною відхилення реального ступеня поліестерифікації від прогнозованого за співвідношенням реагентів є виведення карбоксильної групи з реакції поліконденсації через перебіг побічної реакції – перегрупування її активованої форми [10] в пасивну (рис. 2), із втратою спроможності продовження ланцюга. Структура діолу також впливає на ступінь поліконденсації, але меншою мірою.

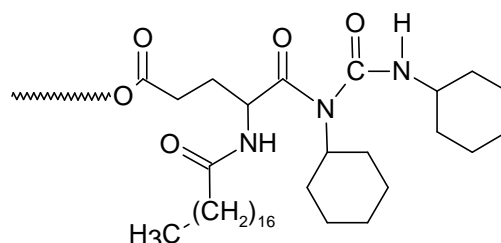


Рис. 2. Пасивна форма карбоксильної групи в складі поліестеретеру

Наведемо результати досліджень із отримання поліестеретерів з використанням етилфосфатної групи в структурі диполіетиленглікольетилфосфату.

Відомо, що перебіг реакції Стегліха можна контролювати за кількістю N,N-дициклогексилсечовини (DCU), яка утворюється з N,N'-дициклогексилкарбодіміду (DCC) та практично не розчиняється в органічних розчинниках. Здійснено серію досліджень із одержання поліестерету (рис. 3) із N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та диполіетиленглікольетилфосфату (LP). Метод одержання останнього описано у нашій роботі [9]. У межах цього дослідження використовували співвідношення між кількістю карбоксильних та гідроксильних груп, яке становить 10:9 відповідно. В надлишку використовували карбоксильні групи для того, щоб вони були кінцевими. DCC використовували в 10 % надлишку щодо карбоксильних груп, щоб забезпечити гарантовану активність всіх карбоксильних груп. Реакцію проводили до виходу DCU не менше ніж 99,5. Щоб непрореагований надлишок DCC не забруднював отриманий полімер, реакційну суміш обробляли невеликою кількістю води. Надлишок DCC, після реакції із водою, виділявся у вигляді DCU, і ви-

дався з реакційної суміші практично повністю. В результаті в очищеному полімері фрагменти DCU залишалися лише у вигляді кінцевої групи в структурі поліестеретерів (рис. 2). Вихід полімеру за розробленою методикою очищення становив 96÷98 %.

Структуру отриманого поліфосфатестеру підтверджено методами ІЧ-, <sup>1</sup>H ЯМР спектроскопії, спектри яких наведено на рис. 4 та рис. 5 відповідно.

Для прикладу, на рис. 4 наведено ІЧ-спектр поліфосфатестеру, одержаний з N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та диполіетиленглікольетилфосфату (LP). Останній отримано на основі поліетиленгліколю (ПЕГ) молекулярною масою 400 Да. Дуже слабо проявлена широка смуга в області 3050–2950 см<sup>-1</sup> свідчить про залишкову кількість карбоксильних груп у складі полімеру як кінцевих. Зміщення смуги поглинання карбонільної групи до 1730 см<sup>-1</sup> та поява сильної смуги поглинання за 1240 см<sup>-1</sup> підтверджують утворення естерних груп.

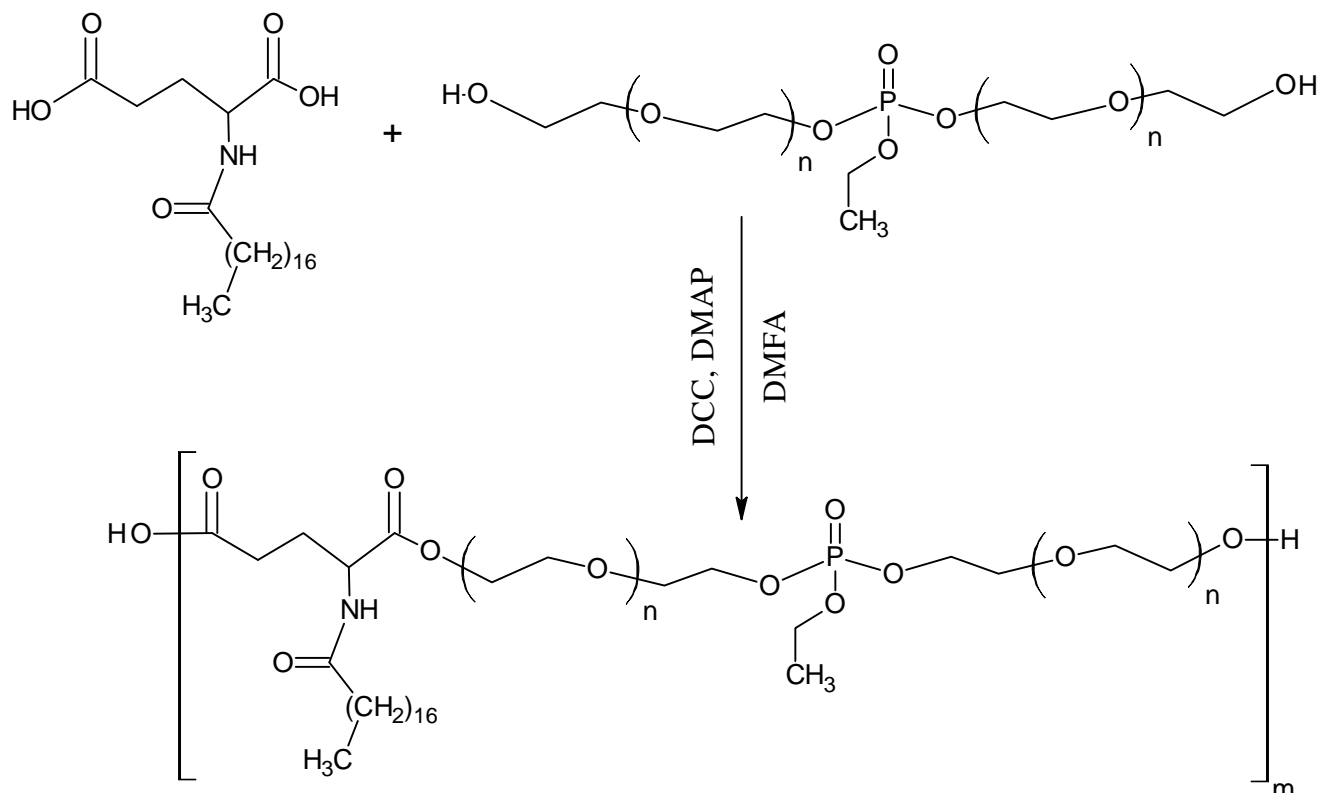


Рис. 3. Схема отримання поліфосфатестерів з N-стеароїлглутамінової кислоти (GluSt) та диполіетиленглікольетилфосфату (LP) за реакцією Стегліха

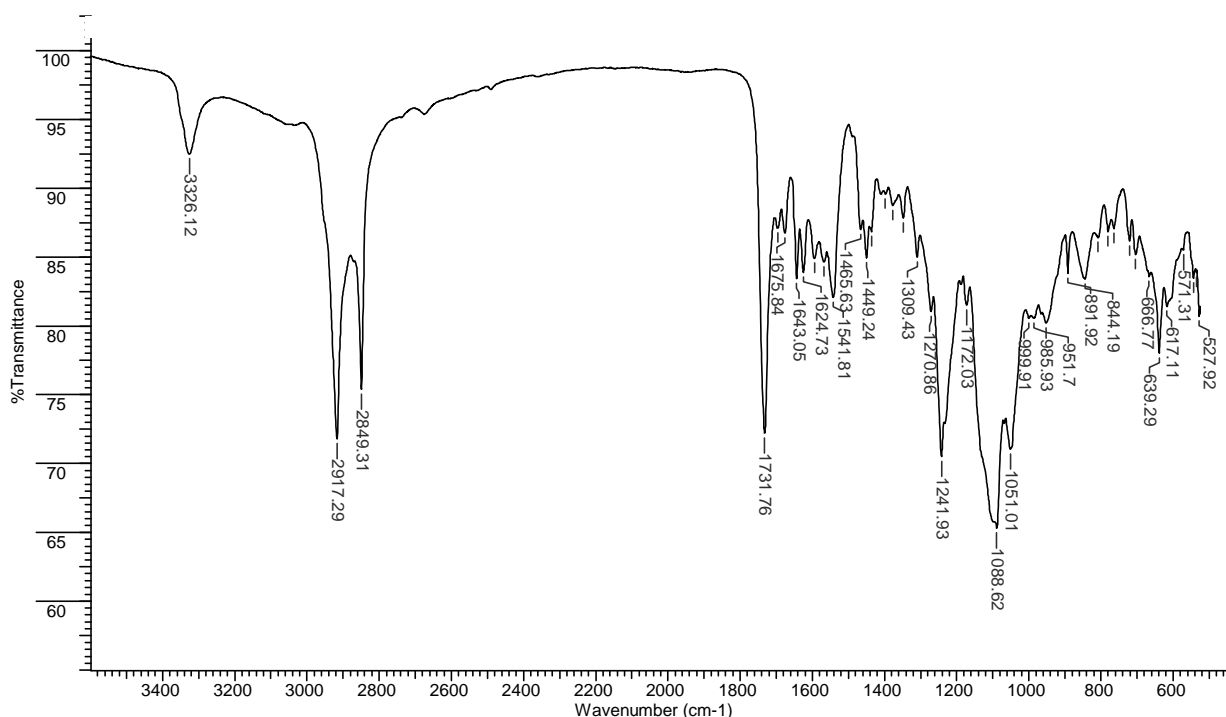


Рис. 4. ІЧ-спектр поліфосфатестеру, отриманого на основі *N*-стеароїлглутамінової кислоти та диполіетиленглікольетилфосфату (на основі ПЕГ-400) за реакцією Стегліха

На рис. 5 наведено ПМР спектр цього самого зразка полімеру. Співвідношення між інтенсивністю сигналів від протонів поліоксиетиленових фрагментів (3,6) і аліфатичних фрагментів похідної глутамінової кислоти (1,15) підтверджують структуру поліестеретеру. Вагомішим для розуміння процесу утворення макромолекул полімеру є аналіз відношення інтенсивності сигналів від протонів циклогексанових кілець зі складу залишків DCU, що увійшли в структуру полімеру (рис. 2). Сигнали цих протонів проявляються в області 1,5–2,6, які через значне зчеплення індивідуально не проявляються, проте, як показано в роботі [10], завищують інтенсивність сигналів від метиленових груп зі складу *N*-стеароїлглутамінової кислоти. Так, за співвідношенням до метилової групи (0,8) сумарна інтенсивність сигналів у області 1,5–2,6 повинна бути 8. Перевищення цього значення на 1,43, яке є систематичним для низки зразків, що досліджувались, не може бути помилкою інтегрування і його можна пояснити збільшенням інтенсивності через наявність сигналів від 20 (рис. 2) протонів циклогексанових кілець. Це дає змогу оцінити частку фрагментів із дезактивованими карбоксильними групами (рис. 2) як кінцевих у складі поліестеретеру. Проведене оцінювання дає підстави стверджувати, що 3,5 %

всіх карбоксильних груп перегрупувались у пасивну форму й обірвали ланцюг поліконденсації.

Для аналізованого зразка вихід DCU у ході реакції становив 99,3 % (у розрахунку на кількість карбоксильних груп). Такий високий вихід дає змогу оцінити ступінь поліконденсації за рівнянням Карозерса, тому що частка залишків DCU як кінцевих груп незначна. Прогнозований ступінь поліконденсації за повної конверсії (ступінь поліконденсації, який визначає співвідношення реагентів) становить 37,95, з урахуванням конверсії ступінь поліконденсації – 33,7. Розбіжність цих значень, насамперед, пояснюється неповною конверсією. Разом із тим, повної конверсії неможливо досягти через обрив ланцюга поліконденсації внаслідок перегрупування активованої форми карбоксильної групи. З урахуванням конверсії та ступеня поліконденсації частку карбоксильних груп, які перегрупувались в пасивну форму, можна оцінити за балансом карбоксильних груп і DCU. Така оцінка показує, що з  $1,53 \cdot 10^{-3}$  г-екв/г карбоксильних груп  $5,35 \cdot 10^{-5}$  г-екв/г (що становить 3,5 %) у пасивній формі. Якщо врахувати, що за ступеня поліконденсації 33,7 та молекулярної маси ланки поліестеретеру, яка повторюється, 1307 Да, то загальна кількість кінцевих груп становить  $4,5 \cdot 10^{-5}$  г-екв/г. Зіставляючи

кількість пасивних груп із загальною кількістю груп та враховуючи, що оцінки здійснено за різними методами, можна зробити висновок, що в

отриманому полімері практично всі кінцеві групи полімеру формуються із карбоксильних груп у пасивній формі.

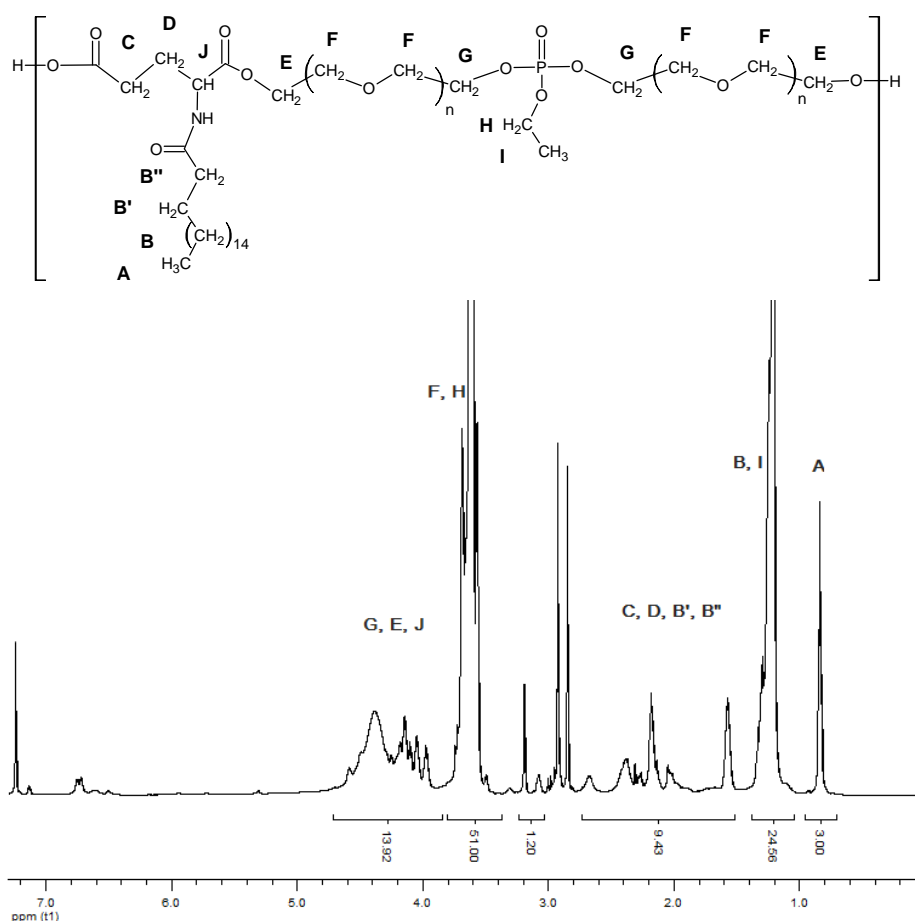


Рис. 5.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр поліфосфатестеру, отриманого на основі *N*-стеароїлглутамінової кислоти та диполіетиленглікольетилфосфату (на основі ПЕГ-400) за реакцією Стегліха

### Висновки

У роботі описано метод одержання фосфорвмісних псевдополіамінокислот поліестерного типу за реакцією Стегліха у результаті взаємодії *N*-стеароїлглутамінової кислоти та диполіетиленглікольетилфосфату. Структуру отриманого поліестеретеру підтверджено методами ІЧ- та  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопії. Наведені результати досліджень демонструють, що описаний метод зручний для отримання поліфосфатестерів.

### References

1. Zavrashvili, N., Puiggali, J., & Katsarava, R. (2020). Artificial Polymers made of  $\alpha$ -amino Acids – Poly(Amino Acid)s, Pseudo-Poly(Amino Acid)s, Poly(Depsipeptide)s, and Pseudo-Proteins. *Current*

*Pharmaceutical Design*, 26(5), 566–593. doi:10.2174/1381612826666200203122110

2. Mallakpour, S., Tirgir, F., & Sabzalian, M. R. (2010). Synthesis, characterization and in vitro antimicrobial and biodegradability study of pseudo-poly(amino acid)s derived from *N,N'*-(pyromellitoyl)-bis-1-tyrosine dimethyl ester as a chiral bioactive diphenolic monomer. *Amino Acids*, 40(2), 611–621. doi:10.1007/s00726-010-0686-0

3. Varvarenko, S. M., Fihurka, N. V., Samaryk, V. Y., Voronov, A. S., Tarnavchyk, I. T., Dron, I. A., ... Voronov S. A. (2013). Novi amfifilni poliesteri pсевдополіамінокислоты на основі природних двоосновних амінокислот і діолів, отримані реакцією етерифікації Стегліха. *Polimernyi zhurnal*, T. 35, No. 3, 282–290.

4. Shah, K. N., Qaqish, W. P., & Yun, Y. H. (2014). Pseudo Poly(Amino Acids) Composed of Amino Acids Linked by Nonamide Bonds such as Esters, Imino

Carbonates, and Carbonates. *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*, 207–218. doi:10.1016/b978-0-12-396983-5.00013-2

5. Varvarenko, S. M., Nosova, N. H., Dron, I. A., Voronov, A. S., Fihurka, N. V., Tarnavchuk, I. T., ... Voronov S. A. (2013). Novi amfifilni aminofunktsiini poliesteri ta dispersni systemy na yikh osnovi. *Voprosy khymyy u khymycheskoi tekhnolohyy*, 5, 27–32.

6. Doppalapudi, S., Jain, A., Khan, W., & Domb, A. J. (2014). Biodegradable polymers-an overview. *Polymers for Advanced Technologies*, 25(5), 427–435. doi:10.1002/pat.3305

7. Nahorniak, M. I. (2017). *Synteza ta doslidzhennia vlastyvostei poliesteriv na osnovi N-pokhidnykh hlutaminovoi kysloty ta polisakharydiv*. (Dysertatsiina robota na zdobuttia naukovooho stupenia kandydata khimichnykh nauk). Natsionalnyi universytet "Lvivska politekhnika", Lviv.

8. Batrakova, E. V., & Kabanov, A. V. (2008). Pluronic block copolymers: Evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers. *Journal of Controlled Release*, 130(2), 98–106. doi:10.1016/j.jconrel.2008.04.013

9. Stasiuk, A. V., Dron, I. A., Khomiak, S. V., Hevus, O. I., & Samaryk, V. Ya. (2019). Synteza deiaknykh fosforovmisnykh pokhidnykh polietylenhlikoliv. *Chemistry, Technology and Application of Substances*, 2(2), 18–24. doi:10.23939/ctas2019.02.018

10. Fihurka, N. V. (2013). *Poverkhnevo-aktyvni psevdopoli(aminokysloty) na osnovi dykarbonovykh A-aminokyslot ta yikh koloidno-khimichni vlastyvosti: dysertatsiina robota na zdobuttia naukovooho stupenia kandydata khimichnykh nauk*. Natsionalnyi universytet "Lvivska Politekhnika", Lviv

11. Hordon, A., & Ford, R. (1976). *Sputnik himika*. Moskva: Mir.

12. Tarasevich, B. N. (2012). *IK spektryi osnovnykh klassov organicheskikh soedineniy. Spravochnyye materialy*. Moskva: MGU im. M. V. Lomonosova.

13. Taras, R. S. (2016). *Synteza psevdopoliaminokyslot rozghaluzhenoi budovy ta formuvannia vodnykh nanorozmirnykh dispersii: dysertatsiina robota na zdobuttia naukovooho stupenia kandydata khimichnykh nauk*. Natsionalnyi universytet "Lvivska politekhnika", Lviv.

**A. V. Stasiuk, S. P. Prychak, N. V. Fihurka, S. M. Varvarenko, V. Y. Samaryk**

Lviv Polytechnic National University,  
Department of Organic Chemistry

#### **SYNTHESIS OF PHOSPHORUS-CONTAINING PSEUDOPOLIAMINO ACIDS OF POLYESTER TYPE**

The method of obtaining phosphorus-containing polyester by the Steglich reaction is considered. The results of studies on the production of polyesteresters using ethyl phosphate group in the structure of dipolyethyleneglycolethylphosphate are presented. The obtained polymer was characterized by IR and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. The composition of polyester ether was evaluated and its end groups were analyzed.

**Key words:** pseudopolyamino acids; polyphosphates; spectroscopy; polyesters; Carothers equation.