

УДК 541.183, 541.4, 678.02, 678.7

*С.М. Варваренко ^а, М.В. Ференс ^а, В.Я. Самарик ^а, Н.Г. Носова ^а, Н.В. Фігурка ^а,
Д.Д. Остапів ^б, С.А. Воронов ^а*

ОДЕРЖАННЯ КОПОЛІЕСТЕРІВ ФЛУОРЕСЦЕЇНУ І 2-(ДОДЕКАНАМІНО)ПЕНТАНДІОНОВОЇ КИСЛОТИ ЗА РЕАКЦІЄЮ СТЕГЛІХА

^а Національний університет „Львівська політехніка”

^б Інститут біології тварин НААН, м. Львів

В роботі вперше синтезовано кополіестери, що містять флуоресцеїн, як повторювану ланку, при його низькотемпературній кополіконденсації з 2-(додеканаміно)пентандіоновою кислотою. Визначені фактори, які роблять можливим використання флуоресцеїну, як гідроксилвмісного мономеру, у реакції активованої поліконденсації при синтезі кополіестерів у розчині. В результаті здійснених досліджень, на основі вивчення структури та характеристик одержаних продуктів, виявлено особливості перебігу реакції естерифікації Стегліха при одержанні кополіестерів 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти з флуоресцеїном. Встановлено, що невисокі виходи кополіестерів при протіканні реакції поліконденсації в таких розчинниках, як метиленхлорид чи бензен пов'язані із перебігом процесів перегрупування активованої дициклогексилкарбодіімідом карбоксильної групи 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти з утворенням нереакційноздатних кінцевих фрагментів в олігомерних молекулах, які не здатні до подальшої поліконденсації. Виконання синтезу в суміші розчинників (бензен і диметилформамід) дозволило звести до мінімуму перебіг реакції перегрупування та одержати кополіестери з високим виходом та функціональною однорідністю. Одержані кополіестери 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти та флуоресцеїну можна вважати модельними речовинами, які підтверджують можливість використання флуоресцеїну, як комономеру, у активованій кополіконденсації за реакцією Стегліха для отримання нових полімерів, які містять хромофорні групи в основному макроланцюга.

Ключові слова: флуоресцеїн, 2-(додеканаміно)пентандіонова кислота, дициклогексилкарбодіімід, кополіестер, кополіконденсація, реакція Стегліха.

Вступ

Найбільш перспективними при створенні засобів доставки лікарських препаратів є запропоновані на початку 80-х років минулого століття полімерні міцели [1], які отримали назву «наноконтейнери». В останні роки продовжується пошук нових наномедичних форм, які крім спрямованої доставки лікарських препаратів до патологічних ділянок і терапевтичних цілей, наділяються також й іншими функціями [2]. Велика увага приділяється системам, у яких поєднується терапія і можливість отримання діагностичної інформації. Для відстежування наявності носія в заданій зоні в систему вводять спеціальні зонди або мітки. У випадку зондів використовують магніточутливі наночастинки та квантові точки, які співзавантажуються разом з

ліками. Альтернативним підходом є використання флуоресцентних міток, який передбачає ковалентне приєднання хромофорної групи до полімеру-носія. Створення та використання амфифільних полімерів, в яких флуорофор (мітка) вбудований в структуру макромолекули, гарантує можливість їх виявлення в тканинах організму, візуалізувати наноносії на клітинному рівні і таким чином встановити ефективність їх транспортної функції [3].

В попередніх роботах [4,5] нами було повідомлено про синтез кополіестерів N-похідних глутамінової кислоти та діолів поліоксиетилевої і поліоксипропіленової природи здійснений за реакцією Стегліха (рис. 1). За використання, як комономерів, багатоатомних спиртів (гліцерину, сахаридів), за цією схемою синтезу-

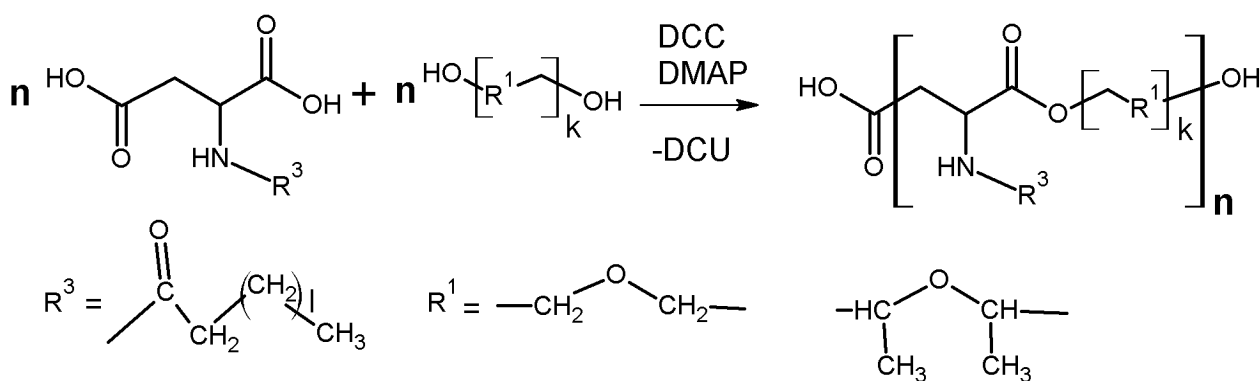


Рис. 1. Схема утворення кополіестеру за реакцією Стегліха [5]

вали також кополіестери розгалуженої та просторово-структурованої будови [6].

До переваг кополіестерів на основі природних амінокислот та їх похідних, які в літературі зустрічаються під назвою «псевдополіамінокислоти», варто віднести відсутність пептидних зв'язків у їх структурі, і в результаті, на відміну від білкових молекул та синтетичних поліамінокислот, відсутність імунних реакцій організму на їх введення. Окрім загальної біотолерантності, такі кополіестери здатні до біодеградації з утворенням нешкідливих для організму продуктів (амінокислота, поліоксietenгліколь), які можуть легко з нього виводитись.

Також нами здійснені дослідження зі створення полімерних систем доставки ліків на основі макромолекул амфифільних кополіестерів (псевдополіамінокислот), які містять ковалентно зв'язаний флуоресцеїн. Комплекс властивостей (поверхнева активність, здатність утворювати стабільні дисперсії, солюбілізаційна здатність) одержаних кополіестерів дозволяє використовувати їх, як засоби доставки, які забезпечують, одночасно, транспортування ліків і візуалізацію носія. Встановлено, що макромолекули кополіестеру проникають в живу клітину та її органели і не пригнічують метаболізм у клітинах, що свідчить про їх загальну біотолерантність [7]. Проте систематичного дослідження закономірностей синтезу флуоресцеїновмісних кополіестерів проведено не було.

Для розробки стратегії синтезу полімерів цього класу (амфифільних кополіестерів – псевдополіамінокислот), які містили би хромофорні групи здатні до флуоресценції і, разом з тим, зберігали баланс властивостей притаманний наноносіям, були проведені модельні дослідження. Метою даного повідомлення є ознайомлення з особливостями перебігу реакції активованої поліконденсації (за Стегліхом) флуоресцеїну,

як гідроксилвмісного комономеру, та 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти, як карбоксилвмісного комономеру.

Експериментальна частина

Реагенти та розчинники

Флуоресцеїн (F) $\geq 99,0\%$ (Aldrich), 2-(додеканаміно)пентандіонову кислоту (GLuL) (Aldrich), N,N'-дициклогексилкарбодіїмід (DCC), $\geq 99,0\%$ (Aldrich), 4-диметиламінопіридин (DMAP), 99% (Alfa Aesar) використовували без додаткового очищення. N,N-диметилформамід (ДМФА) очищали від води та інших домішок витриманням над КОН і перегонкою у вакуумі над СаО. Бензен, використовували марки «ХЧ» та додатково очищали його за методикою [8]. Етанол (спирт етиловий) абсолютований (Fluka) використовували без додаткового очищення. Розчинники, крім вищезазначених, використовували марок «ХЧ» та «ОСЧ 9-5». Додатково розчинники очищали за методиками [10].

Методика одержання кополіестерів флуоресцеїну за реакцією Стегліха

В двогорлий реактор, об'ємом 50 мл, оснащений мішалкою та зворотним холодильником з хлоркальцієвою трубкою, завантажували $3,00 \cdot 10^{-3}$ моль 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти та $3,15 \cdot 10^{-3}$ моль флуоресцеїну і 35 мл розчинника. Після цього, реакційну масу охолоджували до 280 К і, при перемішуванні, послідовно вводили туди, попередньо приготовані, розчини 4-диметиламінопіридину ($4,5 \cdot 10^{-4}$ моль) та дициклогексилкарбодіїмиду ($6,3 \cdot 10^{-3}$ моль) у відповідному розчиннику. Температуру реакційної суміші піднімали до 288 К і витримували при перемішуванні протягом трьох годин, а потім ще три години при 308 К. Утворений осад дициклогексилсечовини (DCU) з реакційної суміші відділяли фільтруванням через паперовий фільтр. Фільтрат упарювали у вакуумі за залишкового

тиску 2,0–3,0 кПа.

Для очищення 1–3 г продукту розчиняли в метиленхлориді (20 мл) і промивали одержаний розчин спочатку 15 мл 15%-ного розчину NaCl у 0,1 N HCl, а після цього промивали тричі по 15 мл 15%-ним розчином NaCl у воді і тричі по 20 мл дистильованою водою. Промитий розчин упарювали у вакуумі за залишкового тиску 2,0–3,0 кПа. Одержаний вологий продукт сушили у вакуумі за залишкового тиску 0,13–0,4 кПа до сталої маси.

Вміст флуоресцеїну в полімерах визначали після їх гідролізу, під дією гідроксиду калію, у метанолі, спектрофотометрично, при довжині хвилі $\lambda=480$ нм, з використанням кювет, товщиною 5,0 мм (спектрофотометр «ЮНИКО 1201»). Для виконання аналізу готували розчин полімеру в метанолі з концентрацією 0,07–0,08%, додавали 10%-ний розчин КОН і нагрівали у герметичному бюксі при $T=333$ К протягом 1 год. Після вимірювання оптичної густини розчину за рівнянням калібрувальної кривої розраховували концентрацію флуоресцеїну в гідролізаті і враховуючи наважку полімеру та розбавлення встановлювали його вміст в полімері.

Методи досліджень

^1H ЯМР спектри зразків мономерних фрагментів та кополієстерів флуоресцеїну одержували у дейтерохлороформі на приладі Bruker Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectrometer при частоті 400 МГц в автоматичному режимі сканування. Аналіз ПМР-спектрів виконували за таблицями характерних хімічних зсувів, наведених у [9], а також за допомогою програмного забезпечення ACDLabs та MestRec.

Середню молекулярну масу, молекулярно-масовий розподіл і коефіцієнт полідисперсності кополімерів одержували з використанням хроматографа Waters Corporation з рефрактометричним детектором Waters 2998, насосом Waters 1515 Isocratic HPLC Pump. Як елюент використовували

тетрагідрофуран з витратою 0,1 мл/хв. Для калібрування колонок були використані стандарти (полістирол) з вузьким молекулярно-масовим розподілом.

Оцінювання чистоти отриманих кополієстерів виконували тонкошаровою хроматографією: елюент – метанол:оцтова кислота у співвідношенні 5:0,26. Флуоресцеїн – $R_f=0,87$; 2-(додеканаміно)пентандіонова кислота – $R_f=0,75$.

Результати та обговорення

В літературі відсутні повідомлення про одержання флуоресцеїновмісних полімерів методом поліконденсації. Тому, окремо, варто зупинитися на обґрунтуванні можливості використання флуоресцеїну, як одного з мономерів у реакції поліконденсації при синтезі кополієстерів. В неводних розчинах (в умовах синтезу кополієстерів) флуоресцеїн переважно існує у формі внутрішнього лактону і його молекула містить дві гідроксильні групи (рис. 2).

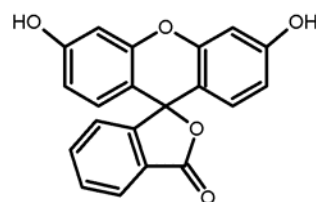


Рис. 2. Структурна формула флуоресцеїну (у неводному середовищі)

Однак, реакційна здатність гідроксильних груп фенольного типу у класичних реакціях етерифікації, зазвичай, є невисокою, тому повідомлень про одержання кополієстерів флуоресцеїну поліконденсацією в розчині або розплаві нема. Разом з тим, дієстри флуоресцеїну і карбонових кислот відомі, і одержують їх з використанням таких реакційоздатних ацилюючих агентів, як ангідриди або хлорангідриди [10].

Реакція естерифікації Стегліха передбачає

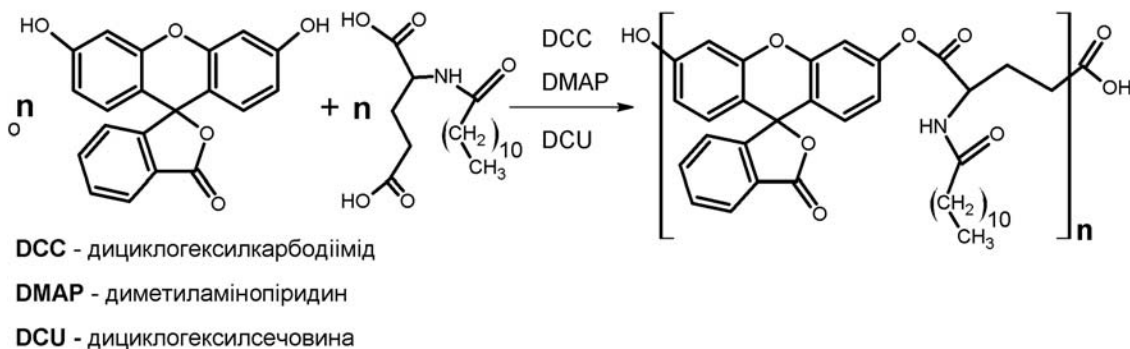


Рис. 3. Схема реакції кополіконденсації флуоресцеїну з 2-(додеканаміно)пентандіоною кислотою за Стегліхом

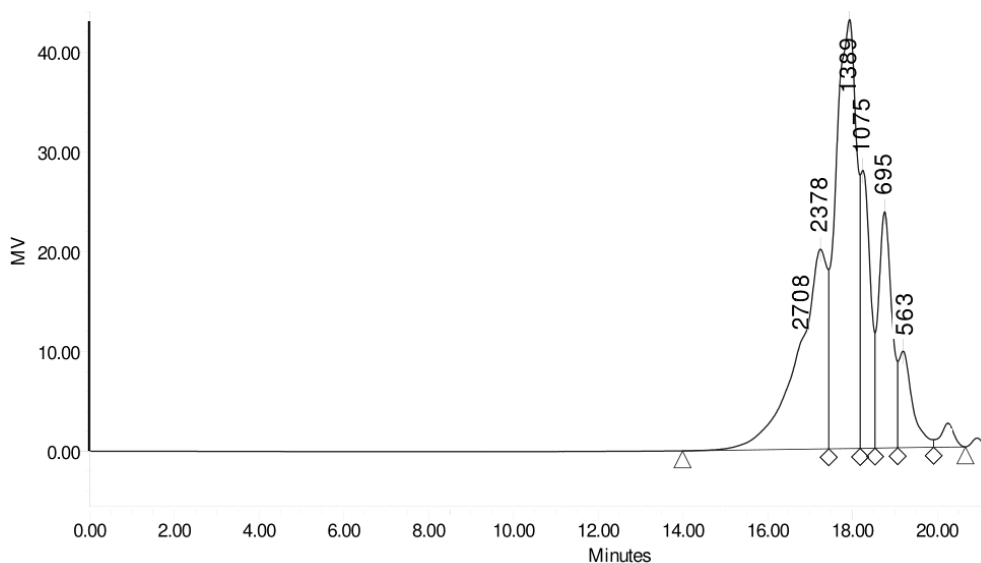


Рис. 4. Молекулярно масовий розподіл кополіестеру флуоресцеїну з 2-(додеканаміно)пентандіоною кислотою МД1 (за результатами гельпроникної хроматографії)

активацію карбоксильної групи кислоти дициклогексилкарбодіімідом та присутність високо-нуклеофільної добавки – диметиламінопіридину, що суттєво підвищує її реакційну здатність. Така активована форма здатна вступати у взаємодію навіть з малоактивними гідроксильними групами фенолів з утворенням естерного зв'язку [11].

Таким чином, є всі підстави для здійснення дослідження реакції поліконденсації за Стегліхом, в якій флуоресцеїн виступав би одним з комономерів. Реакція кополіконденсації за участі 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти і флуоресцеїну надана схемою, зображеною на рис. 3.

Синтез кополіестерів з фрагментами флуоресцеїну в основному ланцюзі макромолекули здійснювали згідно з описаною методикою [7]. В результаті було одержано порошкоподібний продукт (МД1) світло-жовтого кольору. За вказаних умов одержаний кополіестер характеризується середнім ступенем поліконденсації 3, про що свідчать дані гельпроникної хроматографії (рис. 4). Такий середній ступінь поліконденсації олігомеру узгоджується з вмістом флуоресцеїну 33,8% при умові, що кінцевими групами є фрагменти 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти. З молекулярно-масового розподілу одержаного продукту також видно, що окрім естеру з $MM=695$ та діестеру з $MM=1075$ є фракції олігомерних молекул з молекулярними масами 1389, 2378 і 2708, що відповідає ступеню поліконденсації 3–5. Разом з тим, кількісні оцінювання дають підстави стверджувати, що для кополіестерів

такого молекулярно-масового складу вміст флуоресцеїну повинен бути значно вищим і складати не менше 40–45%.

За даними елементного аналізу вміст нітрогену в одержаному продукті, складає 4,1%. Таке значення є суттєво завищеними відносно розрахункових кількостей нітрогену (моноестер, кополіестер – 2,2%), джерелом якого в кополіестері мали би бути виключно ланки 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти (рис. 3). Отже, в структурі кополіестеру є додаткові фрагменти, які, з одного боку, збільшують вміст нітрогену, а з іншого, відповідно, понижують вміст флуоресцеїну. Ці факти, а також доволі невисокий (44%) практичний вихід продукту викликав необхідність додаткових досліджень для удосконалення методики синтезу.

Відомо, що одним з параметрів, яким характеризується перебіг реакції Стегліха є кількість утвореної дициклогексилсечовини (DCU), яка нерозчинна в більшості розчинників і може бути кількісно виділена з реакційної суміші [12].

У синтезах кополіестерів МД1 в бензені та МД 1.2 в метиленхлориді одержано осаду DCU 130% та 133% відповідно у перерахунку на вихідний DCC (таблиця). В даному випадку можна стверджувати, що значна частка завантаженого у реакційну суміш флуоресцеїну (45–55%) була співзасаджена з реакційної суміші разом з дициклогексилсечовиною. Очевидно, що кількість розчиненого в реакційній суміші флуоресцеїну, як у бензені так і в метиленхлориді, є незна-

Умови синтезу та характеристики поліестерів флуоресцеїну і 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти

Продукт	Умови синтезу				Вихід DCU, %	Вихід продукту, %	Вміст флуоресцеїну, %	Середня ММ кополіестеру	Вміст нітрогену, %	
	Температура 288 К, загальна концентрація мономерів 0.178 моль/л									
	Співвідношення реагентів, моль			Розчинник (співвідношення)						Концентрація F в реакційній суміші, %
	GluL	F	DCC							
GluL-F МД1	1,00	1.05	1.05	бензен	3,51	130	44	33,8	1600	4,10
GluL-F МД1.2				метиленхлорид	3,48	133	49	35,7	1470	4,25
GluL-F МД1.3				диметилформамід	3,5	78	108	53,2	1260	2,24
GluL-F МД2.1				Бензен:ДМФА (90:10)	3,56	98	83,1	56,0	2320	2,37
GluL-F МД2.2				Бензен:ДМФА (80:20)	3,56	95	84	53,1	2250	2,29
GluL-F МД2.3				Бензен:ДМФА (50:50)	3,56	91	82	55,8	1320	2,25

чною і у швидкій реакції, до якої можна віднести реакцію Стегліха, створювалися умови відсутності недостачі одного з реагентів (флуоресцеїну). Це, в свою чергу, привело до суттєвого відхилення у співвідношенні реагуючих груп в реакційній суміші, а цей чинник є, як відомо, основною причиною невисоких виходів кополіестерів при синтезі яких необхідно дотримуватись співвідношень близьких до еквімолярних [13].

Разом з тим, недостача в реакційній суміші мономеру з гідроксильними групами, в реакції Стегліха може приводити до ще одного непродуктивного перетворення [14]. Активована дициклогексилкарбодіімідом карбоксильна група 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти, в умовах відсутності субстрату з яким вона може провзаємодіяти, зазнає перегрупування з утворенням пасивного продукту – N-ацилпохідного дициклогексилсечовини, яка не здатна вступати в подальші реакції конденсації (рис. 5).

Про перебіг побічної реакції перегрупуван-

ня активованої DCC карбоксильної групи в неактивний фрагмент дициклогексилсечовини свідчить аналіз ПМР спектра одержаного продукту (рис. 6). Отриманий спектр дозволяє доволі легко віднести сигнали протонів і за їх інтенсивністю розрахувати вміст компонентів. Інтенсивність групи сигналів 2 від протонів метиленових груп, які є у структурі 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти, і які у ПМР – спектрі проявляються в діапазоні 1,0–2,7 м.ч., у порівнянні з інтенсивністю сигналу від 3 протонів метильної групи у заміснику 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти (хімічний зсув 0,87 м.ч.) в сумі повинна складати 24. Натомість сумарна інтенсивність сигналів в цій області складає 27,53. Це свідчить про наявність додаткових протонів і враховуючи факт входження залишків дициклогексилсечовини в макромолекули то додаткові сигнали в цій області можна віднести до 20 протонів метиленових груп у циклогексильних замісниках фрагментів сечовини, яка

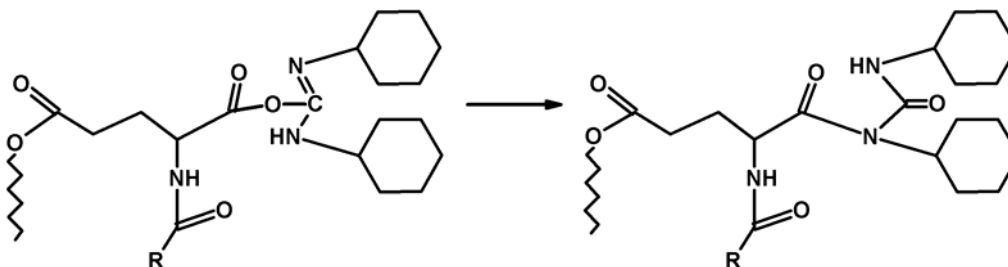


Рис. 5. Схема реакції перегрупування карбоксильної групи 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти активованої через приєднання дициклогексилкарбодііміду

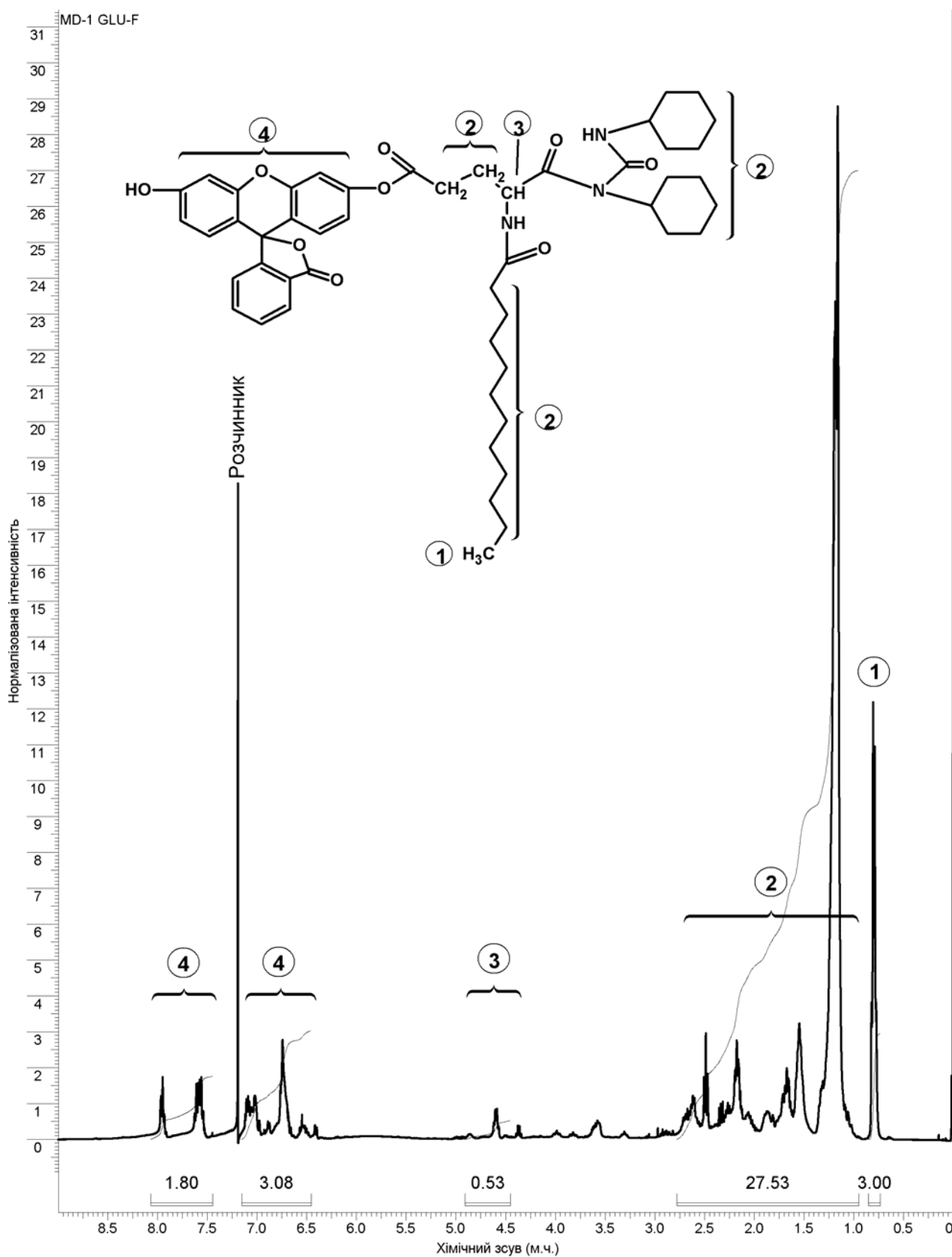


Рис. 6. ПМР спектр продукту кополіконденсації у бензені флуоресцеїну і 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти МД1

вийшла в склад продукту внаслідок реакції перегрупування за схемою наведеною на рис. 5. Цей висновок підтверджується також співставленням завищеного вмісту нітрогену у продукті (згідно з результатами елементного аналізу) із відповідно заниженим вмістом флуоресцеїну у ньому. Деактивація частини карбоксильних груп через перегрупування, яке відбувається за схемою наведеною на рис. 5. приводить до закономірного обриву матеріальних ланцюгів при виконанні в таких умовах поліконденсації за реакцією Стегліха. Прямим наслідком реакції перегрупування є наявність у молекулярно-масовому розподілі яскраво вираженої фракції з молярною масою 563 Да, яка може бути інтерпретована, як мономерна 2-(додеканаміно)пентандіонова кислота (329 Да) з приєднаним фрагментом дициклогексилсечовини (223 Да) (рис. 4). Опираючись на експериментальні дані можна стверджувати, що практично всі олігомерні молекули, які були одержані у цьому синтезі містять кінцевими групами фрагменти перегрупування. Цей висновок добре узгоджується з даними ПМР-спектроскопії, згідно з якими продукт містить 3,6% таких фрагментів.

Удосконалення методики синтезу кополієстерів на основі 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти при використанні флуоресцеїну, як одного з комономерів, в першу чергу вимагало вибору системи розчинників в якій би забезпечувалась його розчинність на всіх стадіях синтезу. Однак, особливості перебігу реакції Стегліха вносять певні обмеження щодо вибору розчинника. Відомо, що сприятливим є використання розчинників із слабкими електронодонорними властивостями, таких як бензен чи метиленхлорид [15]. В свою чергу, розчинність флуоресцеїну може забезпечити невеликий перелік розчинників, серед яких найкраще нам підходить диметилформамід, однак він проявляє високі електронодонорні властивості.

Було виконано низку порівняльних синтезів кополієстерів у різних розчинниках та їх сумішах (МД1, МД1.2, МД1.3, МД2.1, МД2.2, МД2.3, таблиця). Отримані результати дозволяють стверджувати, що проведення синтезу в метиленхлориді не сприяє покращенню виходу продукту кополіконденсації, який за своїми характеристиками практично не відрізняється від продукту отриманого у бензені. Проведення синтезу у диметилформаміді, в якому флуоресцеїн був розчинним в заданому діапазоні концентрацій, також не привело до суттєвого збільшення виходу, проте кількість фрагментів перегрупуван-

ня в одержаному продукті значно знизилась (таблиця).

При виконанні ряду синтезів (МД2.1–МД2.3) в суміші розчинників – бензен диметилформамід при їх різному співвідношенні, було встановлено, що в усіх випадках використання диметилформаміду, як співрозчинника, у кополієстерах практично відсутні фрагменти перегрупування. При цьому розчинність флуоресцеїну і високі виходи кополієстеру спостерігаються уже при 10%-вому вмісті диметилформаміду в реакційній суміші.

При виконанні поліконденсації флуоресцеїну з 2-(додеканаміно)пентандіоновою кислотою з використанням активатора – DCC, у суміші бензин і ДМФА, за незначного мольного надлишку (1,00:1,05) кількості гідроксильних груп у відношенні до карбоксильних, після виділення та очищення, було одержано світло-жовту порошкоподібну речовину МД2.1. При цьому у виділеному осаді дициклогексилсечовини присутності флуоресцеїну виявлено не було. За даними тонкошарової хроматографії було підтверджено, що полімер одержаний та очищений за розробленою методикою, яка наведена в експериментальній частині, не містить непрореагованих флуоресцеїну та 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти. Дані гельпроникної хроматографії свідчать про те, що одержаний, в цьому випадку, продукт є сумішшю фракцій макромолекул зі ступенями поліконденсації від 1 до 8 (рис. 7).

Зі зміною умов кополіконденсації середня молярна маса одержаного кополієстеру збільшилася, що викликано зміною у співвідношенні вмісту фракцій у одержаних олігомерних продуктах. Якщо у продукті МД1 переважаючим є вміст фракцій із ступенем поліконденсації 1–3, то для кополієстеру МД2.1 значно збільшився вклад фракцій зі ступенем поліконденсації 4–6.

Окрім того, в одержаному продукті практично відсутня фракція з молярною масою 563 Да, яку у молекулярно-масовому розподілі продукту МД1 було віднесено до результату перегрупування активованої DCC карбоксильної групи 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти. Суттєво підвищився також і практичний вихід полімеру, який у цьому випадку становив 83,1%.

Структура отриманих олігомерів була підтверджена ПМР спектроскопією (рис. 8). Опираючись на оцінку інтенсивності сигналів від протонів метильної групи фрагменту лаурилового замісника із хімічним зсувом 0,87 м.ч. (сигнал 1) і враховуючи доволі точне співпадін-

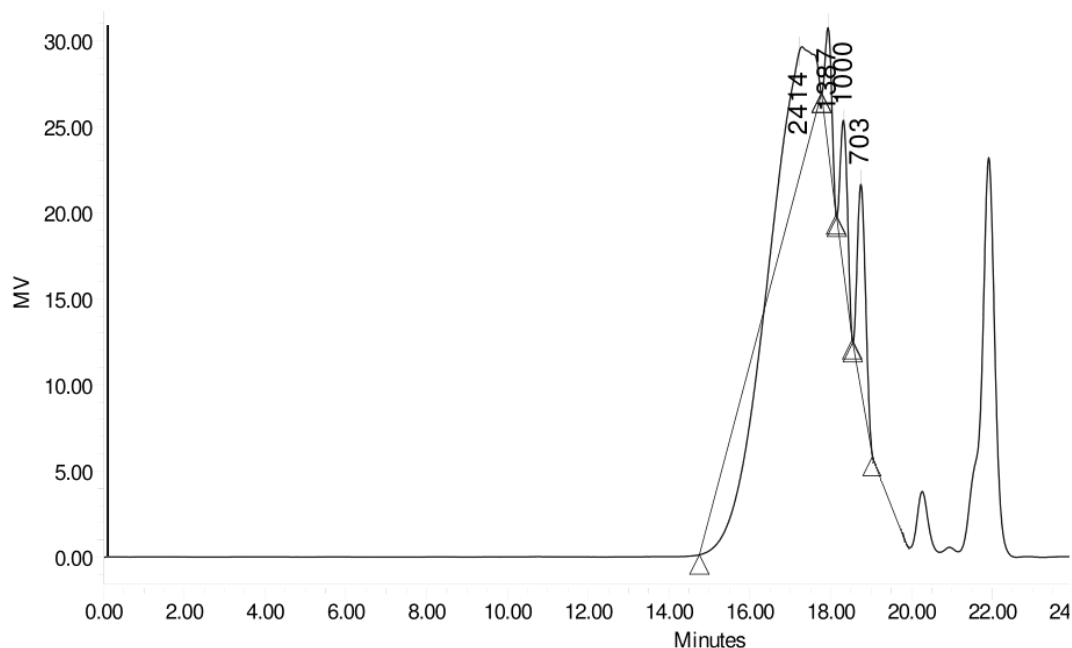


Рис. 7. Молекулярно масовий розподіл кополіестеру флуоресцеїну з 2-(додеканаміно)пентандіоною кислотою МД2.1 отриманого в присутності ДМФА

ня суми інтенсивностей сигналів від 24 протонів метиленових груп (група сигналів позначених цифрою 2) у фрагменті 2-(додеканаміно)пентандіоною кислоти, можна розрахувати співвідношення фрагментів різної природи в одержаному кополіестері. Сигнали від 10 протонів, які належать фрагменту флуоресцеїну, проявляються в області від 6,5 до 8,2 м.ч (на спектрі позначені цифрою 4), а їх сумарна інтенсивність складає $I_4=10,13$. При перерахунку на вміст ланок флуоресцеїну у кополіестері отримано значення 53,0%, що добре узгоджується з очікуваним 51,3%.

Незначне перевищення суми інтенсивностей сигналів 2 ($I_2=24,98$) для продукту МД2.1 над розрахунковим значенням ($I_2=24$) може свідчити про певний вклад реакції перегрупування активованої карбоксильної групи згідно зі схемою рис. 5 (як і в продукті МД1), але в цьому випадку вміст залишків перегрупованої дициклогексилсечовини в кополіестері МД2.1 зменшився у порівнянні з МД1 і складає не більше, ніж 0,3%.

Висновки

Таким чином, нами вперше синтезовано кополіестер, що містить флуоресцеїн, як повторювану ланку, при його кополіконденсації за реакцією Стегліха з 2-(додеканаміно)пентандіоною кислотою.

Встановлено, що здійснення процесу в традиційних для реакції Стегліха розчинниках (метиленхлорид, бензен), супроводжується перегрупуванням значної частини активованої дициклогексилкарбодіімідом карбоксильної групи кислоти, що суттєво зменшує вихід продукту. Зміна розчинної здатності середовища, через використання суміші розчинників, дозволила зменшити вклад реакції перегрупування та отримати кополіестери флуоресцеїну і 2-(додеканаміно)пентандіоною кислоти з практичними виходами понад 80%.

Отримані кополіестери є ліпофільними речовинами і у водних середовищах не розчиняються, тому не можуть розглядатися, як основа для створення дисперсних систем транспорту ліків. Проте, сам факт їх утворення свідчить про здатність флуоресцеїну до поліконденсації за реакцією Стегліха і, відповідно, про можливість використання його, як комономеру, в процесах отримання амфифільних кополіестерів з хромофорними групами в макроланцюгу.

Подяки

Висловлюємо подяку посольству Франції в Україні за надану стипендію для стажування у Франції, а також доктору Памелі Пасетто та її колегам з Інституту Молекул і Матеріалів м. Ле Ман (Франція) за можливість проводити дослідження у даному інституті.

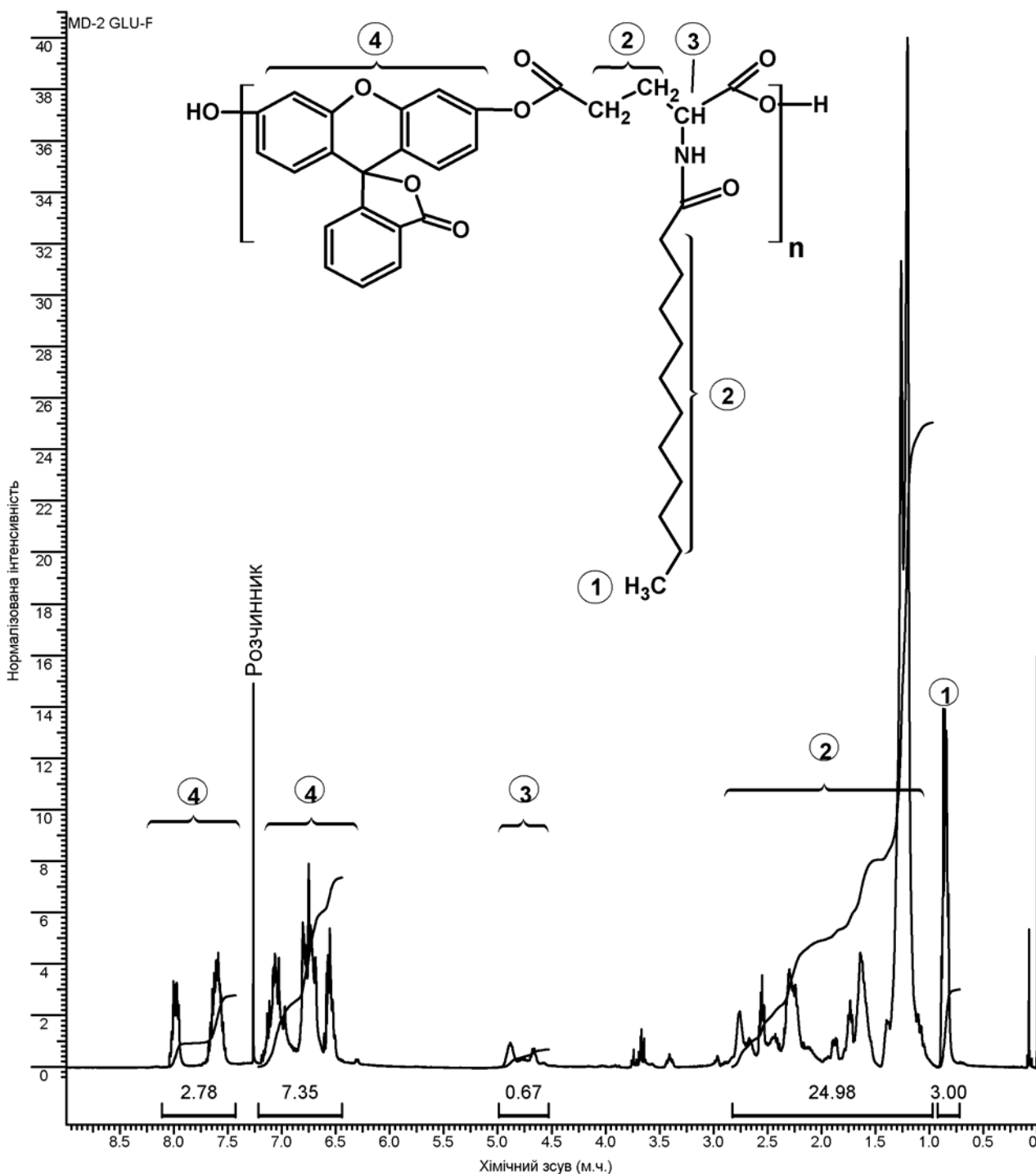


Рис. 8. ПМР спектр кополіестеру флуоресцеїну і 2-(додеканаміно)пентандіонової кислоти МД2.1

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Torchilin V.P.* Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems // *Journal of Controlled Release*. – 2001. – Vol.73. – No. 2-3. – P.137-172.
2. *Torchilin V.P.* Multifunctional nanocarriers // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2006. – Vol.58. – No. 14. – P.1532-

1555.

3. *Shimizu N., Kawazoe Y.* A new method for permeabilization of the plasma membrane of cultured mammalian cells. III. Internalization of fluorescent dextrans into cultured mammalian cells by vortex-stirring in the presence of high molecular weight polyacrylic acid // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. – 1996. – Vol.19. – No. 8. – P.1023-1028.

4. *Synthesis* and colloidal properties of polyesters based on glutamic acids and glycols of different nature / Varvarenko S.M., Tarnavchik I.T., Voronov A.S., Fihurka N.V., Dron I.A., Nosova N.G., Taras R.S., Samaryk V. Ya., Voronov S.A. // *Chemistry & Chemical Technology*. – 2013. – Vol.7. – No. 2. – P.161-168.

5. *Characteristics* of novel polymer based on pseudo-polyamino acids GluLa-DPG-PEG600: binding of albumin, biocompatibility, biodistribution and potential crossing the blood-brain barrier in rats / Chekh B.O., Ferens M.V., Ostapiv D.D., Samaryk V.Y., Varvarenko S.M., Vlizlo V.V. // *The Ukrainian Biochemical Journal*. – 2017. – Vol.89. – No. 4. – P.13-21.

6. *Modification* of polysaccharides by N-derivatives of glutamic acid using Steglich reaction / Nagornyak M.I., Fihurka N.V., Samaryk V.Ya., Varvarenko S.M., Ferens M.V., Oleksa. V.V. // *Chemistry & Chemical Technology*. – 2016. – Vol.10. – No. 4. – P.423-427.

7. *Флуоресцеїновмісні* тераностики на основі псевдополіамінокислот для моніторингу доставки та вивільнення лікарських засобів / Варваренко С.М., Самарик В.Я., Влізло В.В., Остапів Д.Д., Носова Н.Г., Тарнавчик І.Т., Фігурка Н.В., Ференс М.В., Нагорняк М.І., Тарас Р.С., Яремчук І.М., Воронов А.С., Воронов С.А. // *Полімерний журнал*. – 2015. – Т.37, № 2. – С.193-199.

8. *Вайсберг А., Проскауэр Э., Риддис Д., Туис Э.* Органические растворители. – М.: Иностранная литература. – 1976. – 541 с.

9. *Казизица Л.А. Куплетская Н.Б.* Применение УФ-, ИК-, ЯМР- спектроскопии в органической химии. – М.: Высшая школа, 1971. – 264 с.

10. *Synthesis* and study on hydrolytic properties of fluorescein esters / Ge F.-Y., Chen L.-G., Zhou X.-L., Pan H.-Y., Yan F.-Y., Bai G.-Y., Yan X.-L. // *Dyes and Pigments*. – 2007. – Vol.72. – P.322-326.

11. *Shelkov R., Nahmanya M., Melman A.* Selective esterifications of alcohols and phenols through carbodiimide couplings // *Organic and Biomolecular Chemistry*. – 2004. – Vol.2. – P.397-401.

12. *Синтез* та поверхнево-активні властивості нових поліестерів – псевдополіамінокислот на основі природних двоосновних α-амінокислот / Варваренко С.М., Фігурка Н.В., Самарик В.Я., Воронов А.С., Тарнавчик І.Т., Носова Н.Г., Дронь І.А., Тарас Р.С., Воронов С.А. // *Доповіді НАН України*. – 2013. – № 5. – С.131-139.

13. *Нові* амфільні поліестери псевдополіамінокислоти на основі природних двоосновних амінокислот та діолів, одержані через реакцію естерифікації Стегліха / Варваренко С.М., Фігурка Н.В., Самарик В.Я., Воронов А.С., Тарнавчик І.Т., Дронь І.А., Носова Н.Г., Воронов С.А. // *Полімерний журнал*. – 2013. – Т.35. – № 3. – С.282-290.

14. *Belcheva N., Tsvetanov C., Panayotov I., Lazarova S.* Polyesters prepared by polycondensation in the presence of carbodiimides, 2. On the reaction of methyl α-(S)-malate with N,N2 -dicyclohexylcarbodiimide under mild conditions // *Macromolecular Chemistry and Physics*. – 1990. – Vol.191. –

No. 1. – P.213-224.

15. Moore J.S., Stupp S.I. Room temperature polyesterification // *Macromolecules*. – 1990. – Vol.23. – No. 1. – P.65-70.

Надійшла до редакції 22.11.2017

SYNTHESIS OF COPOLYESTERS OF FLUORESCHEIN AND 2-(DODECANAMINO) PENTANEDIONIC ACID VIA STEGLICH REACTION

S.M. Varvarenko^a, M.V. Ferens^a, V.Ya. Samaryk^a, N.G. Nosova^a, N.V. Fihurka^a, D.D. Ostapiv^b, S.A. Voronov^a

^a Lviv Polytechnic National University, Lviv, Ukraine

^b Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

The copolyesters containing fluorescein as a repeating link have been synthesized via low-temperature copolycondensation with 2-(dodecanamino) pentanedionic acid for the first time. The factors are determined that allows using fluorescein as a hydroxyl-containing monomer in the reaction of activated polycondensation during the synthesis of copolyesters in a solution. The features of the interaction between N-substituted amino acids and fluorescein via Steglich reaction have been established based on the obtained results. It was stated that such solvents as methylene chloride or benzene promote a low yield of copolyesters. This is caused by the rearrangement of the activated carboxylic acid group of 2-(dodecanamino) pentanedionic acid with the formation of non-reactive terminal fragments in oligomeric molecules, which are not capable of further polycondensation. Using a mixture of solvents (benzene and dimethylformamide) allows suppressing the rearrangement reaction and obtaining copolyesters, which are characterized by functional homogeneity, with a high yield. The synthesis of copolyesters of 2-(dodecanamino) pentanedionic acid and fluorescein confirms the possibility to use fluorescein as a comonomer in activated copolycondensation via Steglich reaction. Such synthetic approach allows obtaining new polymers containing chromophore groups in the main macromolecular chain.

Keywords: fluorescein; 2-(dodecanamino) pentanedionic acid; dicyclohexylcarbodiimide; copolyester; copolycondensation; Steglich reaction.

REFERENCES

1. Torchilin V.P. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 2001, vol. 73, pp. 137-172.

2. Torchilin V.P. Multifunctional nanocarriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2006, vol. 58, pp. 1532-1555.

3. Shimizu N, Kawazoe Y. A new method for permeabilization of the plasma membrane of cultured mammalian cells. III. Internalization of fluorescent dextrans into cultured mammalian cells by vortex-stirring in the presence of high molecular weight polyacrylic acid. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 1996, vol. 19, no. 8, pp. 1023-1028.

4. Varvarenko S., Tarnavchik I., Voronov A., Fihurka N., Dron I., Nosova N., Taras R., Samaryk V., Voronov S. Synthesis and colloidal properties of polyesters based on glutamic acids and glycols of different nature. *Chemistry & Chemical Technology*, 2013, vol. 7, no. 2, pp. 161-168.

5. Chekh B.O., Ferens M.V., Ostapiv D.D., Samaryk V.Y., Varvarenko S.M., Vlizlo V.V. Characteristics of novel polymer based on pseudo-polyamino acids GluLa-DPG-PEG600: binding

of albumin, biocompatibility, biodistribution and potential crossing the blood-brain barrier in rats. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 2017, vol. 89, no 4, pp. 13-21.

6. Nagornyak M., Fihurka N., Samaryk V., Varvarenko S., Ferens M., Oleksa V. Modification of polysaccharides by N-derivatives of glutamic acid using Steglich reaction. *Chemistry & Chemical Technology*, 2016, vol. 10, no. 4, pp. 423-427.

7. Varvarenko S.M., Samaryk V.J., Vlizlo V., Ostapiv D.D., Nosova N.G., Tarnavchuk I.T., Fihurka N.V., Ferens M.V., Nagornyak M.I., Taras R.S., Yaremchuk I.N., Voronov A.S., Voronov S.A. Fluorescein-containing theranostics based on the pseudo-poly(amino acid) for monitoring of drug delivery and release. *Polymer Journal*, 2015, vol. 37, no. 2, pp. 193-199. (*in Ukrainian*).

8. Weisberg A., Proskauer E., Riddis D, Tuys E., *Organicheskie rastvoriteli* [Organic solvents]. Inostrannaya Literatura Publishers, Moscow, 1976. 541 p. (*in Russian*).

9. Kazitsina L.A., Kupletskaya N.B., *Primenenie UF-, IR-, YaMR-spektroskopii v organicheskoi khimii* [Application of UV, IR, NMR spectroscopies in organic chemistry]. Vysshaya Shkola Publishers, Moscow, 1971. 264 p. (*in Russian*).

10. Ge F.-Y., Chen L.-G., Zhou X.-L., Pan H.-Y., Yan F.-Y., Bai G.-Y., Yan X.-L. Synthesis and study on hydrolytic properties of fluorescein esters. *Dyes and Pigments*, 2007, vol. 72, pp. 322-326.

11. Shelkov R., Nahmany M., Melman A. Selective esterifications of alcohols and phenols through carbodiimide couplings. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 2004, vol. 2, pp. 397-401.

12. Varvarenko S.M., Fihurka N.V., Samaryk V.Ya., Voronov A.S., Tarnavchuk I.T., Nosova N.G., Dron I.A., Taras R.S., Voronov S.A. Syntez ta poverkhnevo-aktyvni vlastyvoli novykh poliesteriv – psevdopoliaminokyslot na osnovi pryrodnykh dvoosnovnykh a-aminokyslot [Synthesis and surface-active properties of new polyester-pseudo-poly (amino acid)s based on natural two-base a-amino acids]. *Dopovidi Natsional'noi Akademii Nauk Ukrainy*, 2013, no. 5, pp. 131-139. (*in Ukrainian*).

13. Varvarenko S.M., Fihurka N.V., Samaryk V.Ya., Voronov A.S., Tarnavchuk I.T., Dron I.A., Nosova N.G., Voronov S.A. New amphiphilic polyester of pseudopolymino acids based on natural two-base amino acids and diols, obtained through the esterification via Steglich reaction. *Polymer Journal*, 2013, vol. 35, no. 3, pp. 282-290. (*in Ukrainian*).

14. Belcheva N., Tsvetanov C., Panayotov I.M., Lazarova S. Polyesters prepared by polycondensation in the presence of carbodiimides, 2. On the reaction of methyl α -(S)-malate with N,N'-dicyclohexylcarbodiimide under mild conditions. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 1990, vol. 191, no. 1, pp. 213-224.

15. Moore J.S., Stupp S.I. Room temperature polyesterification. *Macromolecules*, 1990, vol. 23, no. 1, pp. 65-70.