УДК 547.458.82

**МАЛЕИНАТЫ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ:
СИНТЕЗ И «ТИОЛ-ЕН» РЕАКЦИИ****© А. Х. Баязитова¹, Л. Ю. Рахимова², А. Р. Гаскарова³,
Р. Х. Галиева², М. И. Маллябаева², И. Ю. Понеделькина^{3*}**¹Башкирский государственный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.²Уфимский государственный нефтяной технический университет
Россия, Республика Башкортостан, 450062 г. Уфа, ул. Космонавтов, 1.³Институт нефтехимии и катализа УФИЦ РАН
Россия, Республика Башкортостан, 450075 г. Уфа, пр. Октября, 141.

*Email: ponedelkina@rambler.ru

Карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) является самым крупнотоннажным в мире полимером и широко используется в различных областях промышленности в качестве модификатора вязкости, загустителя, стабилизатора эмульсий и водоудерживающего агента. Адгезивные свойства КМЦ нашли применение в производстве универсальных клеев (Бустилат) и в адгезивных композициях для зубных протезов (Protefix и др.). Благодаря таким качествам, как биосовместимость, биodeградируемость и низкая иммуногенность, КМЦ используется для разработки биоматериалов и гидрогелей для биомедицины, сельского хозяйства и различной потребительской продукции. С целью получения малеинов, производных КМЦ с ненасыщенной функциональностью, в данной работе были протестированы различные условия для их синтеза без применения растворителей, такие как обычное и микроволновое нагревание, с добавлением воды и/или поташа. Наиболее эффективным являлось кратковременное нагревание увлажненной смеси КМЦ/К₂СО₃/избыток МА до 100–120 °С с последующим ее выдерживанием 20–30 мин при 60–80 °С. Малеинат КМЦ (КМЦ-М) был получен со степенью замещения (СЗ) 0.86 и выходом 68%. Высокая реакционная способность КМЦ-М (СЗ 0.86) в «тиол-ен» реакциях продемонстрирована на примерах взаимодействия с L-цистеином и 2,2'-(этилендиокси)диэтанттиолом в водной среде при pH = 7.

Ключевые слова: карбоксиметилцеллюлоза, малеинат, «тиол-ен» реакции (Михаэля), «зеленая» химия.

Введение

Карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) является самым крупнотоннажным в мире полимером и широко используется в различных областях промышленности в качестве модификатора вязкости, загустителя, стабилизатора эмульсий и водоудерживающего агента. Адгезивные свойства КМЦ нашли применение в производстве универсальных клеев (Бустилат) и клеев для зубных протезов (Protefix и др.). Благодаря таким качествам, как биосовместимость, биodeградируемость и низкая иммуногенность, КМЦ используется для разработки биоматериалов и гидрогелей для биомедицины, сельского хозяйства и различной потребительской продукции.

В промышленности КМЦ получают этерификацией мерсеризованной целлюлозы хлоруксусной кислотой. Степень замещения (СЗ) первичных и вторичных гидроксигрупп в образцах коммерческой КМЦ составляет от 0.4 до 1.5 (обычно 0.6–0.8), при этом в большей степени этерифицированы первичные ОН-группы.

Дополнительную химическую модификацию КМЦ осуществляют как по гидроксильным, так и по карбоксильным группам. Окислением свободных ОН-групп перйодатом калия получают производные, содержащие альдегидные (альдегидгидратные) группы (КМЦ-А) [1]. Свойство альде-

гидов реагировать с аминами с образованием оснований Шиффа используют для кросс-сшивки КМЦ-А с карбоксиметилхитозаном [2] и N-сукцинилхитозаном [3], а также для получения амфифильного графт-сополимера с полиэтиленгликолем (ПЭГ) и додециламином [4]. Введение в КМЦ ацетатных групп позволяет повысить растворимость полимера в органических растворителях [5–6]. Далее ацетат по карбоксиметильным группам конъюгируют с ПЭГ и противоопухолевым лекарственным средством «Доцетаксель» (GellaxTM [5]) или другими цитотоксическими агентами [6].

Этерификацию ОН-групп КМЦ малеиновым ангидридом (МА) [7] (схема 1) или *цис*-5-норборнен-эндо-2,3-дикарбоновым ангидридом (НБА) (схема 2) [8] осуществляют с целью введения в КМЦ ненасыщенной функциональности. Малеинирование проводят в диметилацетате 2–8-кратным избытком МА в присутствии *n*-толуолсульфокислоты, 60 °С, 4–14 ч. Максимальная СЗ КМЦ-М, 0.9, достигается при продолжительности реакции не менее 14 ч [7]. КМЦ-Н получают в 1% водных растворах при pH = 9–10.5 (25 °С, 2 ч), используют 5–20-кратный избыток НБА. В зависимости от соотношения реагентов СЗ КМЦ-Н варьирует от 0.18 до 0.45 [8].

Дальнейшую модификацию продуктов этерификации осуществляют по двойной связи. КМЦ-М

УФ-сшивают до нерастворимого в воде пленочного материала [7], КМЦ-Н подвергают химической сшивке 2,2'-(этилендиокси)диэтантиолом (ЭДТ) (схема 2) [8]. Следует отметить, что свойство активированной двойной связи легко реагировать с различными тиолами (реакция Михаэля [8–9]) положено в основу «тиол-ен» клик-химии, применяется для получения гидрогелей, и может быть востребовано при разработке биоклеев различного назначения.

Схема 1

Схема 2

Преимуществами использования МА для функционализации КМЦ являются его доступность и дешевизна (по сравнению с НБА). Кроме того, КМЦ-М можно получить в условиях без применения растворителей, разработанных ранее для maleinирования ряда природных и полусинтетических полисахаридов (ПС) [10]. Поэтому целью данной работы являлся синтез КМЦ-М в условиях, максимально отвечающих принципам зеленой химии, и исследование реакционной способности КМЦ-М в реакциях с дитиолом ЭДТ и аминокислотой L-цистеином.

Экспериментальная часть

Спектры ^1H и ^{13}C ЯМР регистрировали для растворов в D_2O на спектрометре Bruker AVANCE 400 (рабочая частота для ^1H ЯМР – 400.13 МГц, для ^{13}C ЯМР – 100.62 МГц). В работе использовались бытовая микроволновая (MW) печь “Supra mws-1705” MW (750 Вт, Россия), рН-метр «рН-340» и реактивы: КМЦ натриевая соль (СЗ 0.6, определение СЗ см. ниже), МА и ЭДТ (Acrus).

Определение степени карбоксиметилирования КМЦ выполняли согласно работе [11]. Точную навеску КМЦ (200 мг) суспендировали в 2 мл 80% этанола, добавляли 2 мл HCl и перемешивали 1 ч, после чего КМЦ (в H^+ -форме) отделяли центрифугированием. Осадок дважды промывали 80% этанолом, затем помещали в дистиллированную воду (20 мл), добавляли 25 мл 0.1 М NaOH и нагревали 15 мин. Смесь титровали 0.1 М HCl в присутствии фенолфталеина. Содержание карбоксиметильных

(КМ) групп рассчитывали по уравнению (1), СК – по уравнению (2):

$$\text{КМ} (\%) = [(V_0 - V_n) \times M \times 0.059 \times 100] / m, \quad (1)$$

где V_0 – количество HCl , пошедшее на титрование контрольного раствора без образца, V_n – количество HCl , затраченное на титрование образца, M – молярная концентрация HCl , m – навеска КМЦ;

$$\text{СК} = (162 \times \text{КМ} (\%)) / [5900 - (58 \times \text{КМ} (\%))] = 0.6, \quad (2),$$

где 162 г/моль – молярная масса звена ангидроглюкозы КМЦ, 58 г/моль – молярная масса, на которую увеличивается звено ангидроглюкозы при замещении гидроксигруппы. Молярная масса звена КМЦ с СК 0.6: $(162 \times 0.4) + (242 \times 0.6) = 210$, где 242 г/моль – молярная масса карбоксиметилированного звена (в виде натриевой соли).

А) Синтез КМЦ-М. Согласно условиям (табл. 1), 210 мг (1 ммоль) КМЦ обрабатывали 1176 мг (5 моль в расчете на каждую из OH -групп звена КМЦ) МА. После завершения реакции смесь дважды промывали Et_2O (15 мл), затем растворяли в 10 мл H_2O , нейтрализовали и добавляли 30 мл EtOH . Образовавшийся осадок отделяли центрифугированием, промывали EtOH , Et_2O и высушивали на воздухе, получив волокна белого цвета, растворимые в воде при рН 7–8.

Б) Реакция КМЦ-М (СЗ 0.86) с L-цистеином. 30 мг (0.107 ммоль) КМЦ-М растворяли в 1 мл D_2O , рН 7, добавляли 31.5 мг (0.2 ммоль) цистеина гидрохлорида. Регистрировали спектры ^1H ЯМР через 5, 15 и 30 мин. Затем образец обрабатывали как в опыте А), получив 32 мг аддукта в виде водорастворимого белого порошка.

В) Реакция КМЦ-М с ЭДТ. Готовили 3 мл 4%-го раствора КМЦ-М в D_2O , рН 7, затем при перемешивании добавляли (73 мг) 220 мкл ЭДТ (конечная концентрация 5 мМ). Мониторинг за ходом реакции выполняли методом ^1H ЯМР.

Результаты и их обсуждение

Этерификация ПС с помощью МА является одним из самых простых и доступных методов синтеза производных с двойной связью (схема 1). Синтез maleinатов ПС обычно выполняют в гомогенной или гетерогенной среде с использованием органических растворителей, воды или их смесей (H_2O /ацетон, H_2O /DMF и т.д.). Для увеличения конверсии применяют органические и неорганические основания, продолжительное нагревание при 100–175 °С. Неоднократная, до трех раз, обработка ПС ангидридом или микроволновое (MW) воздействие также повышают эффективность реакций maleinирования [12–18].

В данной работе для синтеза КМЦ-М нами были использованы недавно разработанные методы maleinирования избытком МА без применения растворителей [10]. Для интенсификации процесса этерификации использовалось как обычное (60–120 °С), так

и MW нагревание, в т.ч. с добавлением K_2CO_3 в качестве основания.

Общую степень замещения (СЗ) гидроксильных групп в образцах КМЦ-М определяли с помощью протонных спектров, в которых, согласно литературным данным [18], сигналы с $\delta = 5.6$ или 6.7 м.д. отвечают двум неэквивалентным протонам в монозамещенных малеинатах, а сигнал при ~6 м.д. – двум эквивалентным протонам в дизамещенных малеинатах. Последние могли образоваться в результате внутри- или межмолекулярных реакций гидроксигрупп КМЦ с карбоксигруппами малеинатного остатка (с отщеплением воды). Из соотношения интенсивности этих характеристических сигналов к приведенной к одному протону интенсивности сигналов в области 3.2–4.4 м.д. находили СЗ гидроксигрупп на моно- (СЗ_м) и дизамещенные (СЗ_д) малеинатные остатки. Суммарная интенсивность сигналов в области 3.2–4.4 м.д. отвечает 7.2 протонам ангидроглюкозного звена и карбоксиметильной группы (рассчитано с учетом КМЦ, равной 0.6). Характеристики образцов КМЦ-М в зависимости от условий приведены в табл. 1.

Как видно из результатов (табл. 1), при обычном нагревании сухой смеси КМЦ/МА суммарная СЗ для КМЦ-Н не превысила 0.4. Повторное нагревание образца в таких же условиях привело к более высокой степени этерификации ОН-групп (СЗ 1.1, табл. 1), однако по сравнению с опытом №1 выход КМЦ-М уменьшился до 60%. Причиной такого снижения может быть деструкция КМЦ под действием температуры и сильноокислотных карбоксигрупп

(pK_a 1.81) малеиновой кислоты (МК), образующейся при раскрытии МА [19].

MW нагревание смеси КМЦ/МА (оп. 4) оказалось эффективнее обычного (оп. 1), достигнутая СЗ составила 0.76, однако выход КМЦ-Н уменьшился до 45% (в оп. 1 – 84%). Дизамещенные малеинаты в образце отсутствовали. В присутствии поташа СЗ КМЦ-М снижалась как при обычном (оп. 3), так и при MW нагревании (оп. 5), выход продуктов был несколько выше по сравнению с аналогичными опытами без K_2CO_3 . Очевидно, что добавление последнего уменьшает негативное воздействие карбоксигрупп МК.

Снижение температуры, добавление воды к КМЦ и увеличение времени реакции не оказали воздействия на СЗ продуктов (оп. 6 и 7). И только повышенная температура в начале реакции (100–120 °С), экспозиция в течение 20–30 мин при 60–80 °С в присутствии K_2CO_3 способствовали получению КМЦ-М с СЗ 0.86 и удовлетворительным выходом ~70% (оп. 8).

Как известно, МК легко вступает в реакцию с L-цистеином в водной среде, при этом 100% выход аддукта достигается при pH 7, комнатной температуре и времени реакции 12 ч [9]. В отличие от МК, образец КМЦ-М с СЗ 0.86 проявил большую реакционную способность (схема 3). В спектре 1H ЯМР аддукта сигналы малеинатных протонов исчезали практически сразу после добавления L-цистеина, а в области с $\delta \sim 3$ и ~4 м.д. наблюдались сигналы, характерные для S-замещенных производных цистеина. Согласно литературе [20], наиболее вероятным является региоизомер, показанный на схеме 3.

Таблица 1

Условия малеинирования КМЦ и характеристики образцов КМЦ-М

Условия	СЗ _м , монозамещенные остатки	СЗ _д , дизамещенные остатки	выход КМЦ-Н, %
100–120°C, 10 мин.	0.30	0.10	84
100–120 °C, повторное нагревание образца №1, 10 мин.	0.80	0.30	60
100–120°C, 20% K_2CO_3 , 10 мин.	0.14	0	88
MW, 100–120°C, 10 мин.	0.76	0	45
MW, 100–120°C, 20% K_2CO_3 , 10 мин.	0.64	0	54
60–80°C, 100% H_2O , 1 ч.	0.08	0	90
60–80°C, 100% H_2O , 20% K_2CO_3 , 1 ч.	0.08	0	87
Смесь КМЦ/100% H_2O /20% K_2CO_3 вносили в расплав МА при 100–120°C (5 мин), затем выдерживали 20–30 мин. при 60–80°C	0.80	0.06	68

Схема 3

В реакции с ЭДТ реакционная способность КМЦ-М также оказалась высокой (ср. с [8]), уже через 10–15 мин в ^1H ЯМР спектре аддукта наблюдалось исчезновение сигналов малеинатных протонов. Через 2–3 ч. после реакции раствор приобретал голубоватый оттенок и становился желеобразным, что свидетельствовало о химической сшивке макромолекул КМЦ-М.

Выводы

1. Разработаны методы этерификации КМЦ (степень карбоксиметилирования 0.6) малеиновым ангидридом без использования растворителей. Наиболее эффективным являлось кратковременное нагревание увлажненной смеси КМЦ/ K_2CO_3 /МА до 100–120 °С с последующим ее выдерживанием 20–30 мин при 60–80 °С, малеинат КМЦ получен с СЗ 0.86 и выходом 68%.

2. В реакциях с *L*-цистеином и 2,2'-(этилендиоксид)диэтантолом продемонстрирована высокая реакционная способность малеината КМЦ (СЗ 0.86).

ЛИТЕРАТУРА

1. Teotia A. Modification of carboxymethyl cellulose through oxidation // Carbohydr. Polym. 2012. Vol. 87. P. 457–460.
2. Jiang X., Yang Z., Peng Y., Han B., Li Z., Li X., Liu W. Preparation, characterization and feasibility study of dialdehyde carboxymethyl cellulose as a novel crosslinking reagent // Carbohydr. Polym. 2016. Vol. 137. P. 632–641.
3. Lu S., Liu M., Ni B. An injectable oxidized carboxymethylcellulose/*N*-succinyl-chitosan hydrogel system for protein delivery // Chem. Eng. J. 2010. Vol. 160. P. 779–787.
4. Bordallo E., Rieumont J., Tiera M. J., Gómez M., Lazzari M. Self-assembly in aqueous solution of amphiphilic graft copolymers from oxidized carboxymethylcellulose // Carbohydr. Polym. 2015. Vol. 124. P. 43–49.
5. Ernsting M. J., Tang W.-L., MacCallum N., Li S.-D. Synthetic modification of carboxymethylcellulose and use thereof to prepare a nanoparticle forming conjugate of docetaxel for enhanced cytotoxicity against cancer cells // Bioconjugate Chem. 2011. Vol. 22. P. 2474–2486.
6. Yang Y., Bteich J., Li S.-D. Current update of a carboxymethylcellulose-PEG conjugate platform for delivery of insoluble cytotoxic agents to tumors // AAPS J. 2017. Vol. 19. P. 386–396.
7. Klemm D., Vogt S. Preparation of new unsaturated polysaccharide derivatives and investigation of crosslinking reactions. // Cellulose and Cellulose Derivatives: Physico-chemical aspects and industrial applications. Woodhead publishing limited. 1995. P. 169–176.
8. McOscar T. Renewable hydrogels from norbornene-functionalized carboxymethyl cellulose and a short dithiol crosslinked via a thiol-ene reaction. B. S. University of Maine, 2015. P. 109.
9. Morgan E. J., Friedmann E. Interaction of maleic acid with thiol compounds // Biochem. J. 1938. Vol. 32. P. 733–742.
10. Гаскарова А. Р. Функционализация полисахаридов гидроксаматными, малеинатными и глиоксальными группами: дисс. ... канд. хим. н. Уфа, 2017. 144 с.
11. Kono H., Oshima K., Hashimoto H., Shimizu Y., Tajima K. NMR characterization of sodium carboxymethyl cellulose: Substituent distribution and mole fraction of monomers in the polymer chains // Carbohydr. Polym. 2016. Vol. 146. P. 1–9.
12. URL: PL 165075 //www.espacenet.com
13. URL: US 2891947 //www.espacenet.com
14. URL: DE 1941887 A1 //www.espacenet.com
15. Vasi A.-M., Popa M. I., Butnaru M., Dodi G., Verestiuc L. Chemical functionalization of hyaluronic acid for drug delivery applications // Mat. Sci. Eng.: C. 2014. Vol. 38. P. 177–185.
16. URL: EP 0319938 A2 //www.espacenet.com.
17. URL: US 2891947 //www.espacenet.com
18. Xing G.-X., Zhang S.-F., Ju B.-Z., Yang J.-Z. Microwave-assisted synthesis of starch maleate by dry method. // Starch. 2006. Vol. 58. №9. P. 464–467.
19. Biswas A., Shogren R. L., Kim S., Willett J. L. Rapid preparation of starch maleate half-esters // Carbohydr. Polym. 2006. Vol. 64. P. 484–487.
20. Baczko K., Chasseray X., Larpent Ch. Synthesis and surfactant properties of symmetric and unsymmetric sulfosuccinic diesters, Aerosol-OT homologues // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. 2001. Vol. 11. P. 2179–2188.

Поступила в редакцию 08.05.2018 г.

CARBOXYMETHYL CELLULOSE MALEATE: SYNTHESIS AND “THIOL-ENE” REACTIONS

© A. Kh. Bayazitova¹, L. Yu. Rakhimova², A. R. Gaskarova³,
R. Kh. Galieva², M. I. Mallaybaeva², I. Yu. Ponedel'kina^{3*}

¹Bashkir State University

32 Zaki Validi Street, 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

²Ufa State Petroleum Technological University

1 Kosmonavtov Street, 450006 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

³Institute of Petrochemistry and Catalysis, RAS

141 Oktyabrya Avenue, 450075 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.

*Email: ponedelkina@rambler.ru

Carboxymethyl cellulose (CMC) is the largest polymer in the world and it is widely used in various industries as a viscosity modifier, thickener, emulsion stabilizer, and water retaining agent. Adhesive properties of CMC have found application in the production of universal adhesives (Bustilat) and bonding agent for dentures (Protefix, etc.). Due to biocompatibility, biodegradability, and low immunogenicity, CMC is used for the development of biomaterials and hydrogels for biomedicine, agriculture and numerous consumer products. In order to obtain maleates (CMC derivatives with unsaturated functionality), the authors of the article tested some reaction conditions without application of solvents. For example, conventional and microwave heating with adding water and/or potash were tested. Short-term heating of wetted mixture CMC/K₂CO₃/MA (excess) to 100–120 °C with subsequent holding time of 20–30 minutes at 60–80 °C was the most effective. CMC maleate (CMC-M) was obtained with a substitution degree (DS) of 0.86 and a yield of 68%. High CMC-M (DS 0.86) reactivity in “thiol-ene” reactions was demonstrated by the examples of its interaction with 2,2'-(ethylenedioxy)diethaethiol and L-cysteine in water medium (pH = 7).

Keywords: carboxymethylcellulose, maleate, “thiol-ene” reactions, “green” chemistry.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

- Teotia A. Carbohydr. Polym. 2012. Vol. 87. Pp. 457–460.
- Jiang X., Yang Z., Peng Y., Han B., Li Z., Li X., Liu W. Carbohydr. Polym. 2016. Vol. 137. Pp. 632–641.
- Lu S., Liu M., Ni B. Chem. Eng. J. 2010. Vol. 160. Pp. 779–787.
- Bordallo E., Rieumont J., Tiera M. J., Gómez M., Lazzari M. Carbohydr. Polym. 2015. Vol. 124. Pp. 43–49.
- Ernsting M. J., Tang W.-L., MacCallum N., Li S.-D. Bioconjugate Chem. 2011. Vol. 22. Pp. 2474–2486.
- Yang Y., Bteich J., Li S.-D. AAPS J. 2017. Vol. 19. Pp. 386–396.
- Klemm D., Vogt S. Cellulose and Cellulose Derivatives: Physico-chemical aspects and industrial applications. Woodhead publishing limited. 1995. Pp. 169–176.
- McOscar T. Renewable hydrogels from norbornene-functionalized carboxymethyl cellulose and a short dithiol crosslinked via a thiol-ene reaction. B. S. University of Maine, 2015. Pp. 109.
- Morgan E. J., Friedmann E. Biochem. J. 1938. Vol. 32. Pp. 733–742.
- Gaskarova A. R. Funktsionalizatsiya polisakharidov gidroksamatnymi, maleinatnymi i glioksalatnymi gruppami: diss. ... kand. khim. n. Ufa, 2017.
- Kono H., Oshima K., Hashimoto H., Shimizu Y., Tajima K. Carbohydr. Polym. 2016. Vol. 146. Pp. 1–9.
- URL: Pp. 165075 //www.espacenet.com
- URL: US 2891947 //www.espacenet.com
- URL: DE 1941887 A1 //www.espacenet.com
- Vasi A.-M., Popa M. I., Butnaru M., Dodi G., Verestiuc L. Mat. Sci. Eng.: Pp. 2014. Vol. 38. Pp. 177–185.
- URL: EP 0319938 A2 //www.espacenet.com.
- URL: US 2891947 //www.espacenet.com
- Xing G.-X., Zhang S.-F., Ju B.-Z., Yang J.-Z. Starch. 2006. Vol. 58. No. 9. Pp. 464–467.
- Biswas A., Shogren R. L., Kim S., Willett J. L. Carbohydr. Polym. 2006. Vol. 64. Pp. 484–487.
- Baczko K., Chasseray X., Larpent Ch. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. 2001. Vol. 11. Pp. 2179–2188.

Received 08.05.2018.