



ÖNSZERVEZŐDŐ AMFIFILIKUS OLIGOMEREK

SELF-ASSEMBLY BEHAVIOR OF AMPHIPHILIC OLIGOMERS

doktori (PhD) értekezés tézisei

Szöllősi László Zsolt

Témavezető:

Dr. Zsuga Miklós

egyetemi tanár

a kémia tudomány doktora

Debreceni Egyetem
Alkalmazott Kémiai Tanszék
Debrecen, 2008.

I. Bevezetés és célkitűzések:

Mindennapi életünkben egyre nagyobb figyelem fordul a különleges tulajdonságokkal rendelkező polimerek felé. Ha egy láncon belül két eltérő tulajdonságú polimer részt kapcsolunk össze (pl. hidrofil és hidrofób, ahol a hidrofil csoport lehet, valamilyen poláris makromolekula vagy poláris polimer lánc), akkor a polimer láncok önszerveződésére van lehetőség. A blokkok összetételétől, természetétől, és az oldószer polaritásától függően, valamint a környezeti paraméterek megfelelő megválasztásával szabályozott szerkezetű, micellák, vezikulák, rétegek és hálózatok állíthatóak elő.

Az önszerveződés fizikai vagy kémia paraméterekkel történő szabályozása alapvető fontosságú, a kívánt szerkezetű anyagok előállításához a nano- vagy mikrométeres mérettartományban. Ezek az anyagok az ipar szinte valamennyi területén egyre nagyobb jelentőséggel bírnak. A gyógyszeripar és gyógyszerkutatás is felismerte, hogy az önszerveződő rendszerekkel megvalósítható a gyógyszerhatóanyagok „szállítása”, és az élő szervezetben belüli irányított „célba” juttatása. Ezt az irányelvet követve ez a technológia az elmúlt 20 évben nagyon gyorsan fejlődött, mivel alapjaiban változtatja meg a hagyományos terápiás módszereket, és nyit meg új lehetőséget a jelenlegi és a jövőbeni gyógyszerhatóanyagok alkalmazásában. Ha egy hatóanyagot egy micellába „csomagolunk”, akkor maga a szállító molekula juttatja a kívánt helyre az élő szervezetben belül, valamint további nagy előnye, hogy javítja a hatóanyag fizikai karakterisztikáját, beleértve a stabilitást és az oldhatóságot is.

Az olyan típusú vegyületeket, amelyek egy hidrofób és hidrofil részt is tartalmaznak összefoglaló néven felületaktív anyagoknak vagy más néven tenzideknek nevezzük. Sokáig csak a szappanok tartoztak ide, de az utóbbi időben egyre változatosabb tenzidmolekulákat állítottak elő, eljutva egészen az összetett amfifilikus blokk kopolimerekig. A tenzidek egyik nagy csoportját alkotják a nemionos felületaktív anyagok, melyeket a legnagyobb mennyiségben a tisztítószer, gyógyszer és olaj iparban használnak.

A különböző oldószerekben kialakuló aggregátumok mérete és szerkezete határozza meg ezeknek az anyagoknak a felhasználási lehetőségeit.

Az amfifilikus blokk kopolimerek, egy hidrofíl és egy hidrofób blokkból állnak és változatos polimer aggregátumokat hozhatnak létre vízben vagy szerves oldószerekben. Ugyanezt a jelenséget várhatjuk, ha az egyik blokkot nagyméretű szubsztituensre cseréljük. A ciklodextrinek (CD) és származékai olcsó alternatívát jelentenek mindkét típusú blokk helyettesítésére. Ha a ciklodextrin gyűrű minden hidroxil csoportját egy kivételével metoxi csoportokra cseréljük, egy hidrofób gyűrűt kapunk. A szabad hidroxil csoport lehetőséget biztosít, hogy a CD gyűrűt más molekulákkal összekapcsoljuk. A hidrofíl polimer lánc és a módosított hidrofób ciklodextrin gyűrű kombinációjának legnagyobb előnye, hogy molekuláris szinten felüli szerkezeteket hoznak létre és ugyanakkor jó komplex képzők is egyben. A micella/vezikula magja felhasználható más molekulák szállítására vagy oldatba vitelére (dópolható), függetlenül a ciklodextrin gyűrű üregétől, ezért megteremti a lehetőségét új típusú multifunkcionális gyógyszerek előállítására is.

Kutatásaink során célul tűztük ki új típusú amfifilikus kopolimerek szintézisét, valamint e polimerek és már meglévő felületaktív anyagok oldatbeli viselkedésének tanulmányozását. Céljaink között szerepelt, hogy összefüggést keresessünk azonos szénláncú, de különböző hosszúságú etilén-oxid láncokat tartalmazó nemionos tenzidek HLB értéke (hydrophile-lipophile balance) és kritikus micella képződési koncentrációja között, vizes oldatokban, a hőmérséklet és a koncentráció függvényében, valamint az önszerveződő tulajdonságainak a vizsgálata, és alapvető termodinamikai paramétereinek a meghatározása. Célunk volt olyan blokk kopolimerek előállítása, karakterizálása és önszerveződő tulajdonságainak a vizsgálata, ahol mind az alappolimer, mind az oldatfázisban képződő aggregátumok egymástól függetlenül dópolhatóak kis molekulájú vegyületekkel ezért választásunk módosított ciklodextrin származék (permetil-6-amino-6-deoxy- β -ciklodextrin, PMe- β -CD) és polietilén-glikol (PEG) összekapcsolásával létrejövő konjugátumra esett. Továbbá terveink között szerepelt poliizobutilén-blokk-poli-vinil-alkohol kopolimerek előállítása, karakterizálása és önszerveződő tulajdonságainak vizsgálata melyekben az apoláris PIB rész hossza azonos, de a poláris PVA blokkok hossza változik. Arra a kérdésre is választ kerestünk, hogy a szintetizált blokk kopolimerek szóba jöhetnek-e, mint esetleges gyógyszeripari segédanyagok.

II. Vizsgálati és szintézismódszerek

II.1. Felhasznált anyagok és szintézismódszerek:

A vizsgálatainkhoz használt Neodol 91-2.5E, 5E, 6E és 8E nemionos alkohol-etoxilát tenzideket készen kaptuk a Shell Chemicals LTD-től, a szintézisekhez használt permetil-6-amino-6-deoxy- β -ciklodextrint készen kaptuk a CycloLab Cyclodextrin Research & Development Laboratory, Ltd.-től. A poliizobutilén és poli-terc-butil-vinil-éter szintéziseket Dry-box technika alkalmazásával hajtottuk végre. A szintetizált termékeket oszlopkromatográfiás és dialízises módszerekkel tisztítottuk. A PIB-b-PVA blokk kopolimereket poli-izobutilén-blokk-terc-butil-vinil éter hidrogén-bromidos hidrolízisével állítottuk elő, 0°C-on, nitrogén atmoszférában és vízmentes CH₂Cl₂ oldószerben.

II.2. Alkalmazott műszeres módszerek és szoftverek

A MALDI MS méréseket Bruker gyártmányú BIFLEX IIITM típusú, repülési idő (TOF) tömeganalizátorral felszerelt, valamint reflektronnal ellátott tömegspektrométeren végeztük. A spektrumot ismert molekula tömegű poli-etilén-glikol ($M_n=1450$ g/mol, $M_w/M_n=1,02$) külső standard-re kalibráltuk.

A szintetizált polimerek számátlag molekulatömegét (M_n) és molekula tömeg eloszlását (MWD) méretkiszorításos kromatográfiával határoztuk meg, THF-ban, 35 °C-on, Waters készüléken, mely Waters 600 HPLC pumpát és Waters 490 UV és Waters 410 törésmutató detektorokat tartalmazott.

A képződött aggregátumok méretét valamint a kritikus micellaképződési koncentrációját Brookhaven fényszórás fotométerrel határoztuk meg, mely BI-9000 típusú digitális korrelátorból és szabályozható hőmérsékletű goniométerből állt. A fényforrás vertikálisan polarizált, $\lambda=533$ nm hullámhosszú szilárdtest lézersugár volt.

Az vizsgált oligomerek molekulatömegét ¹H-NMR spektroszkópiával vizsgáltuk. Az ¹H-NMR spektrumokat BRUKER AM 360 (360 MHz) készüléken rögzítettük. Oldószerként deuterált kloroformot valamint deutérium-oxidot használtunk. A kémiai eltolódás referencia csúcsa a tetrametil-szilán jele volt ($\delta=0$ ppm). A sztérikus

összefüggéseket NOESY próbákkal határoztuk meg, valamint 2D DOSY méréseket végeztünk a molekula tömeg és az oldatbeli viselkedés meghatározására.

A dópoláshoz használt Indometacin molekula aromás csoportokat tartalmaz, amelyek UV-VIS spektroszkópiával vizsgálható, és ez felhasználható kalibráló egyenes segítségével polimer oldatokban az Indometacin koncentrációjának meghatározására. A méréseinket HP 8453 UV-VIS diódasoros spektrofotométerrel végeztük 321 nm hullámhosszon vizes közegben, 1 cm-es kvarcküvettában, szobahőmérsékleten.

III. Új tudományos eredmények

III.1 Neodol minták karakterizálása

A tanulmányozott alkohol-etoxilát diszperz rendszerekben meghatároztuk a tenzidek kritikus micella képződési koncentrációit (cmc), a képződött micellák méretét és méreteloszlást, mint az ilyen típusú rendszerek alapvető paramétereit. Megállapítottuk, hogy a cmc érték nő a HLB értékkel és lineáris összefüggést találtunk az $\ln(\text{cmc})$ és az etilén-oxid (EO) csoportok átlagos száma között. Az $\ln(\text{cmc})$ -t az EO csoportok számának a függvényében ábrázolva egy egyenest kaptunk, melynek meredekségéből meghatároztuk, hogy a ΔG_{EO}° 0,9 kJ/mol 25 °C-on és 0,3 kJ/mol 35 °C-on. Ez alapján magyarázatot adtunk a kritikus micella képződési koncentráció HLB érték függésére.

A mintákat MALDI-TOF MS és ^1H -NMR módszerekkel is karakterizáltuk, és mindkét módszerrel meghatároztuk a minták számátlag molekula tömegét és a HLB értékét. Jelentős különbségeket találtunk a két módszerrel mért M_n és HLB értékek között. A különbség oka, hogy feltételeztük, valamennyi oligomer lánc egyforma hatékonysággal ionizálódik, de ez csak nagy EO számú oligomerek esetén igaz. Bár MALDI-TOF MS pontatlan eredményeket adott mindkét értékre kis etilén-oxid láncot tartalmazó alkohol-etoxilát minták esetén, bizonyítottuk, hogy a MALDI-TOF MS módszer alkalmas az ilyen típusú rendszerek vizsgálatára, mert nemcsak a végcsoportok, hanem többkomponensű keverékek összetételei is meghatározhatók.

III.2. Egy új β -ciklodextrin konjugátum szintézise és önszerveződése

Új amfifilikus makromolekulát szintetizáltunk (PMe- β -CD-PEG), melyet részletesen karakterizáltunk. Módosított hidrofób PMe- β -CD gyűrűhöz kapcsoltunk hidrofil PEG láncot. Fényszórás méréseink alapján bizonyítottuk, hogy a szintetizált molekula önszerveződésre képes vizes közegben. Mivel a molekula makrociklus gyűrűt tartalmaz, ezért megvolt a lehetősége belső komplexek képződésének. 2D NOESY technikával vizsgáltuk a kialakuló aggregátumok szerkezetét, és a kapott spektrumok alapján igazoltuk, hogy belső komplexek nem alakultak ki. 2D DOSY méréseink alapján flexibilis pálcika alakú micellák képződését feltételeztük.

Mivel a képződött molekula szabad ciklodextrin gyűrűvel rendelkezik, valamint maga a molekula blokkszelektív oldószerben micellákat képez, ezért a képződött molekula kiindulási anyaga lehet gyógyszerhatóanyagoknak, mivel dópolható mind a ciklodextrin gyűrű mind a vizes közegben képződött micella magja is, valamint jó kiindulási anyaga lehet valamilyen graft amfifilikus kopolimernek, mely felhasználható speciális rotaxán szerkezeteket kialakító polimerek előállításához.

III.3. Poli-izobutilén-blokk-poli-vinil-alkohol (PIB-b-PVA) önszerveződése és dópolása Indometacinnal

Változó hosszúságú hidrofil láncokat tartalmazó amfifilikus PIB-b-PVA kopolimereket szintetizáltunk és karakterizáltunk. Önszerveződő tulajdonságait vizsgáltuk dinamikus és statikus fényszórás fotometriás módszerekkel. Dialízis módszert javasoltunk az oldatkészítéshez, mivel közvetlen oldással pontos koncentrációjú oldat nem állítható elő. A cmc értékek a várakozásainknak megfelelően változtak, azaz a PVA lánc növekedésével nőttek, de a micella méretek és az aggregációs számok magasabbak, mint a normál amfifilikus kopolimerek esetén. Az aggregátumok közel gömb alakúak, a számolt $0,78-0,93 R_g/R_h$ arányaik alapján, de a micella méretek és a nagy aggregációs számok alapján a legvalószínűbb, hogy nem a klasszikus mag-héj típusú micellák alakulnak ki, hanem vezikulák. Bizonyítottuk, hogy a hidrofób micella mag alkalmas vízben rosszul oldódó gyógyszerhatóanyag oldhatóságának javítására. Vizsgálataink során kopolimer oldatok vizes oldatát dópoltuk Indometacinnal. Valamennyi kopolimer oldatban nőtt a vízben gyengén

oldódó Indometacin oldhatósága, de ez nagymértékben függött a hidrofíl és hidrofób részek arányától. A legjobb eredményt azon PIB-b-PVA kopolimer esetén értünk el ahol a PIB:PVA láncossz aránya 1:8 volt, ebben az esetben az Indometacin oldhatósága több mint tízszeresére nőtt a tiszta vízhez viszonyítva. A dópolt kopolimerek cmc értékei gyakorlatilag nem változtak, de a micella méretek nagymértékben csökkentek. A legnagyobb micella méret változást a legkisebb PVA részt tartalmazó PIB-b-PVA kopolimer esetén figyeltünk meg, ebben az esetben a micella méret majdnem a kiindulási méret felére csökkent (180 nm-ről, 102 nm-re), a PVA lánc növekedésével a méret csökkenés egyre kisebb mértékű volt.

IV. Az eredmények potenciális gyakorlati jelentősége

Alkohol etoxilát típusú tenzidek átfogó összehasonlítása az ilyen típusú rendszerek jobb megismerését segítette elő. A kapott eredmények felhasználhatóak pl. gyógyszeripari vagy háztartás-vegyipari termékek tervezésének kezdeti szakaszában. Meggyorsíthatja a megfelelő tenzid kiválasztását és az optimális reakció vagy feldolgozás körülmények beállítást. Az alkohol etoxilát típusú tenzidek összetételének vizsgálatára a MALDI technika egy gyors alternatívát jelenthet az eddigi vizsgálati módszerek mellett.

A PMe- β -CD-PEG multifunkciós gyógyszerek „szállító” anyaga lehet, mert mind a CD gyűrű mind a vizes oldatban képződött aggregátum felhasználható apoláris gyógyszerhatóanyagok fogadására, így akár két különböző hatóanyag egyidőben juttatható a kívánt helyre az élő szervezetben belül.

A PIB-b-PVA kopolimerekből vizes oldatokban képződő aggregátumok apoláris magja felhasználható vízben nem vagy gyengén oldódó gyógyszerhatóanyagok szállítására. A PVA lánc hosszának változtatásával akár a vizes oldatba vihető hatóanyag mennyisége is szabályozható.

V. Tudományos közlemények és konferencia részvételek / Scientific publications and Lectures

V.1. Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények / Publications in the field of the dissertation

1. Miklós Nagy, **László Szöllősi**, Sándor Kéki, and Miklós Zsuga: Self-Assembly Study of Polydisperse Ethylene Oxide-Based Nonionic Surfactants, *Langmuir* **23**, 1014-1017 (2007), IF:3,9
2. Miklós Nagy, **László Szöllősi**, Sándor Kéki, Pál Herczegh, Gyula Batta, László Jicsinszky, Miklós Zsuga: Synthesis and Self-Assembly Behavior Study of α,ω -Dicarboxyl-Poly(ethylene-glycol)-Permethyl-6-Amino-6-Deoxy- β -Cyclodextrin-Monoamide: A New β -Cyclodextrin Conjugate, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, Vol. **45**, 5149–5155 (2007), IF:3,4
3. Miklós Nagy¹, **László Szöllősi**¹, Sándor Kéki¹, Rudolf Faust², Miklós Zsuga¹: Poly(vinyl alcohol)-based amphiphilic copolymer aggregates as drug carrying nanoparticles; beküldve

IF (összes): 7,3

V.2. Az értekezés témájához kapcsolódó konferencia-részvételek / Lectures and posters in the field of the dissertation

1. **Szöllősi László**, Deák Gyögy, Kéki Sándor, Zsuga Miklós: Etilén-oxid bázisú nemionos tenzidek; VIII. Nemzetközi Vegyészkonferencia 2002. november 15-17. Kolozsvár, Románia

2. Kéki Sándor, Nagy Miklós, **Szőllősi László**, Batta Gyula, Herczegh Pál, Zsuga Miklós: Self-assembly of amphiphilic telechelics with bulk functionality, *1st European Chemistry Congress*, Budapest, Hungary (27-31 August 2006).
3. Miklós Nagy, **László Szőllősi**, Sándor Kéki, György Deák, Pál Herczegh, Gyula Batta, László Jicsinszky, Miklós Zsuga: An amphiphilic polyethylene glycol cyclodextrin conjugate, *MTA Szénhidrátkémiai Munkabizottsági Ülés*, Mátrafüred 2006
4. Nagy Miklós, **Szőllősi László**, Kéki Sándor, Herczegh Pál, Batta Gyula, Zsuga Miklós: α,ω -Poli(etilén-glikol) permetil amino β ciklodextrin konjugátum szintézise és vizsgálata, *XII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Csíkszereda, Románia (2006. október 03-08.)*
5. Nagy Miklós, **Szőllősi László**, Kéki Sándor, Herczegh Pál, Batta Gyula, Zsuga Miklós: α,ω -Poli(etilén-glikol) permetil amino β ciklodextrin: szintézis és karakterizáció, *Zilele Academice Aradene*, Arad, Románia (2007. május 11-13.)
6. **Szőllősi L.**, Nagy M., Kéki S., Faust R., Zsuga M.: *Micelles from polyvinyl alcohol - polyisobutylene (PVA-PIB) block copolymers*, 10th International Symposium on Particle Size Analysis, Environmental Protection and Powder Technology, Debrecen, Hungary (August 27—29 2008)
7. Nagy M., **Szőllősi L.**, Pazurik I., Kéki S., Deák Gy., Herczegh P., Batta Gy., Jicsinszky J., Zsuga M.: Amphiphilic polyethylene glycol cyclodextrin conjugates; 10th International Symposium on Particle Size Analysis, Environmental Protection and Powder Technology, Debrecen, Hungary (August 27—29 2008)

Köszönetnyilvánítás

Acknowledgments

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek Dr. Zsuga Miklósnak, a DE Alkalmazott Kémiai Tanszék tanszékvezető egyetemi tanárának, aki mind szakmai, mind emberi szempontból hasznos tanácsaival segítségemre volt egész munkám során.

Köszönettel tartozom továbbá Dr. Kéki Sándornak és Dr. Nagy Miklósnak, akikhez a tanszéken végzett munkám során bármilyen szakmai problémával, kérdéssel nyugodtan fordulhattam. Köszönetem fejezem ki Dr. Borda Jenőnek, Dr. Deák Györgynek, Dr. Török Jánosnak valamint Nagy Lajos tanársegédnek a sok hasznos tanácsért, melyeknek nagy hasznát vettem a kísérletes munkák végrehajtásában és mindemellett emberileg is mellettem álltak.

Köszönöm Berzovicz Cecília vegyésztechnikusnak a munkám kísérletes részében való segítséget, hogy az esetenként felmerülő problémákat gyorsan és szakszerűen megoldotta.

Hálával tartozom az Alkalmazott Kémiai Tanszék összes többi munkatársának is, valamint mindazoknak, akik valamilyen formában hozzájárultak a dolgozatom elkészítéséhez.

Köszönetemet fejezem ki családomnak a nyugodt légkör biztosításáért, amely nélkül a disszertációm nem jöhetett volna létre.

Munkámhoz az anyagi háttérrel az OTKA K-62213 és K-72524, valamint a RET-006/2004 és GVOP-3.2.1.-2004-04-0152/3.0. számú pályázatai biztosították.