

**МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ.  
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ДАННЫХ, МЕТОДОЛОГИЯ, ПРИМЕНЕНИЕ**

УДК 541.64: 543.51

© И. М. Зорин, И. А. Макаров, Н. Б. Поляков,  
Е. П. Подольская, А. Ю. Билибин

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРОДУКТОВ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ  
N-АКРИЛОИЛ-11-АМИНОУНДЕКАНОВОЙ КИСЛОТЫ  
МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

Поли(N-акрилоил-11-аминоундекановая кислота) получена путем радикальной полимеризации как в мицеллярном, так и в молекулярно-дисперсном растворах. По данным матричной лазерной десорбционной масс-спектрометрии сделаны выводы о структуре продуктов полимеризации в диметилформамиде, обсуждаются механизмы их формирования.

**ВВЕДЕНИЕ**

Полимеризующиеся поверхностно-активные вещества (ПАВ) в настоящее время вызывают большой интерес с точки зрения большого потенциала их практического применения [1, 2] — от компонентов псевдостационарной фазы в мицеллярной хроматографии [3, 4] и носителей лекарственных препаратов [5, 6] до "строительных блоков" в молекулярном дизайне наночастиц и наноструктурированных полимерных материалов [7–10]. Поли(акрилоиламиноундекановая кислота) и ее натриевая соль являются одним из возможных кандидатов на роль молекулярных сердечников при конструировании наночастиц с функциональными группами на поверхности.

Полимеризации акрилоиламиноундеканоата (ААУ) натрия в мицеллярной фазе посвящено довольно большое число работ [11–15], однако большинство из них ограничивалось синтезом высокомолекулярных продуктов (до 1.5 млн) и их дальнейшим использованием, например, в мицеллярной хроматографии [14] или в качестве флокулянтов [15].

Нами было проведено исследование полимери-

зации ААУ как в мицеллярной фазе [16], так и в молекулярно дисперсных растворах и синтезирован ряд полимеров в широком диапазоне молекулярных масс. Результаты этой работы, как и данные гидродинамических исследований, будут опубликованы отдельно.

Настоящая работа посвящена исследованию продуктов полимеризации ААУ методом MALDI TOF масс-спектрометрии.

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**

Мономер ААУ (рис. 1) был синтезирован по ранее опубликованной методике [16]. Его критическая концентрация мицеллообразования в воде составляет 0.12 г/л.

Полимеризация в молекулярно-дисперсном растворе (образец 1) проводилась в ДМФА в течение двух часов при 75 °С при концентрации мономера 27 масс% в присутствии 0.4 масс% динитрила азо-бис-изомасляной кислоты (ДАК). Полимер выделяли осаждением в 0.5 N соляную кислоту, промывали водой и высушивали в эксикаторе при атмосферном давлении над серной кислотой.

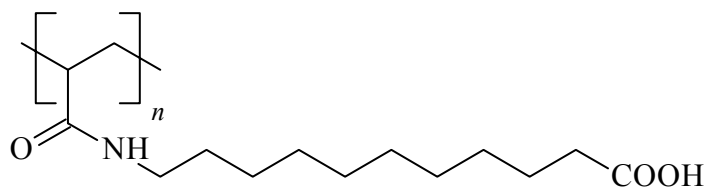


Рис. 1. Мономерное звено  $M_n$

Полимеризация в мицеллярном растворе [16] (образец 2) проводилась в воде при 60 °С в течение получаса при концентрации мономера (в форме Na-соли) 0.3 масс% в присутствии 0.1% персульфата аммония. Полимер выделяли аналогичным образом.

Конверсия мономера во всех случаях составляла не менее 98 % (по данным ПМР-спектроскопии). Приведенные вязкости полимеров, измеренные в ДМФА при концентрации 0.5 г/дл, для образцов 1 и 2 составляют 0.2 дл/г.

Масс-спектрометрический анализ проводили на времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex-TOF-TOF (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) с источником МАЛДИ, оснащенный УФ-лазером (337 нм) в режиме детектирования положительных ионов с использованием рефлектрона при следующих настройках ионного источника: напряжение на IS1 — 25 кВ, IS2 — 21.75 кВ, напряжение на линзах (lens) — 9.5 кВ, напряжения на рефлектроне (Ref) — 26.43 кВ и 13.80 кВ (Ref 2). В качестве матрицы использовали 2,5-дигидроксibenзойную кислоту и  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричную кислоту (ДНВ и СНСА, ионы  $MH^+$ ). Образцы на мишень наносили из раствора в ДМФА: сначала наносили

0.5 мкл раствора ДНВ или СНСА (9 мг/мл), затем — 0.5 мкл раствора исследуемого полимера (3 мг/мл).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Масс-спектры образца 1 представлены на рис. 2 и 3. Спектры характеризуются наличием большого числа сигналов, соответствующих олигомерам со степенями полимеризации от 4 до 40. Точные значения молекулярных масс единичных молекул олигомеров позволяют сделать выводы о концевых группах этих молекул [17–19], таким образом выявить механизм их формирования (механизмы обрыва и передачи цепи в рассматриваемой полимеризационной системе). На рис. 4–7 в схемах 1–4 приведены возможные варианты формирования концевых групп олигомеров и расчетные значения моноизотопных молекулярных масс олигомеров с  $n = 4$ .

При радикальной полимеризации в растворе основными механизмами формирования (завершения роста) макромолекул являются обрыв цепи (диспропорционирование или рекомбинация), а также передача цепи (на растворитель, на полимер, на мономер, на инициатор).

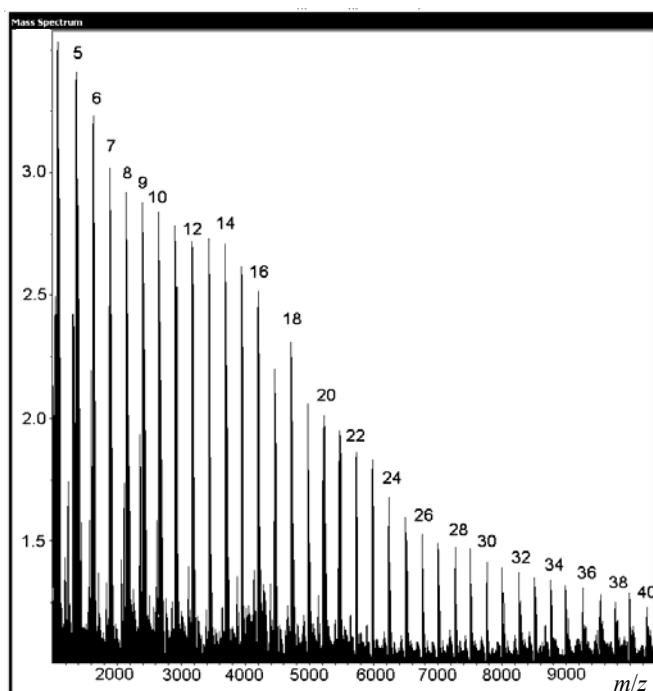


Рис. 2. Рефлексионный масс-спектр образца 1. Цифрами обозначены степени полимеризации олигомеров

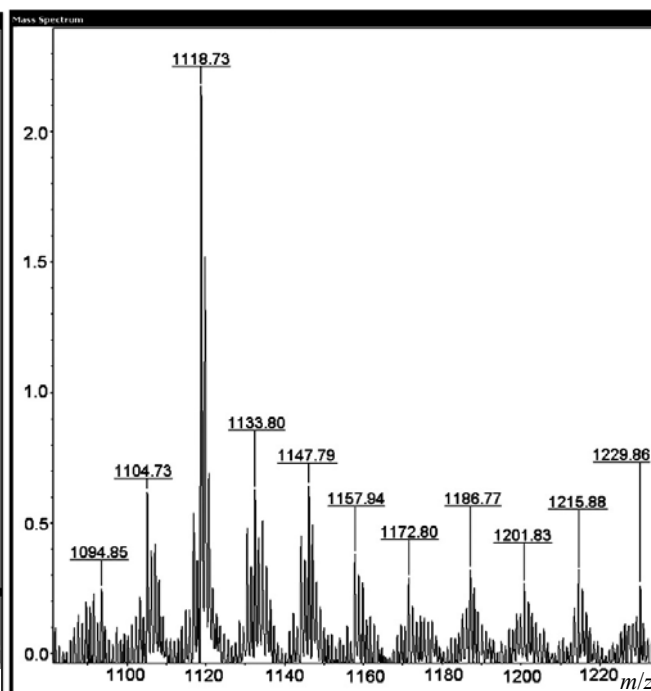


Рис. 3. Сигналы олигомера со степенью полимеризации 4 в рефлексионном масс-спектре образца 1

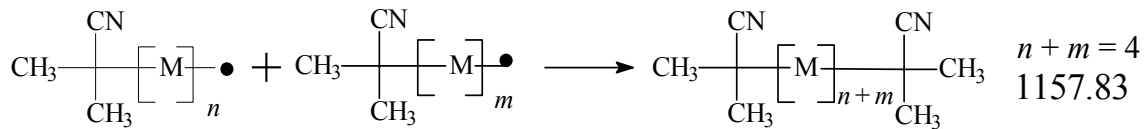


Рис. 4. Схема 1: Рекомбинация

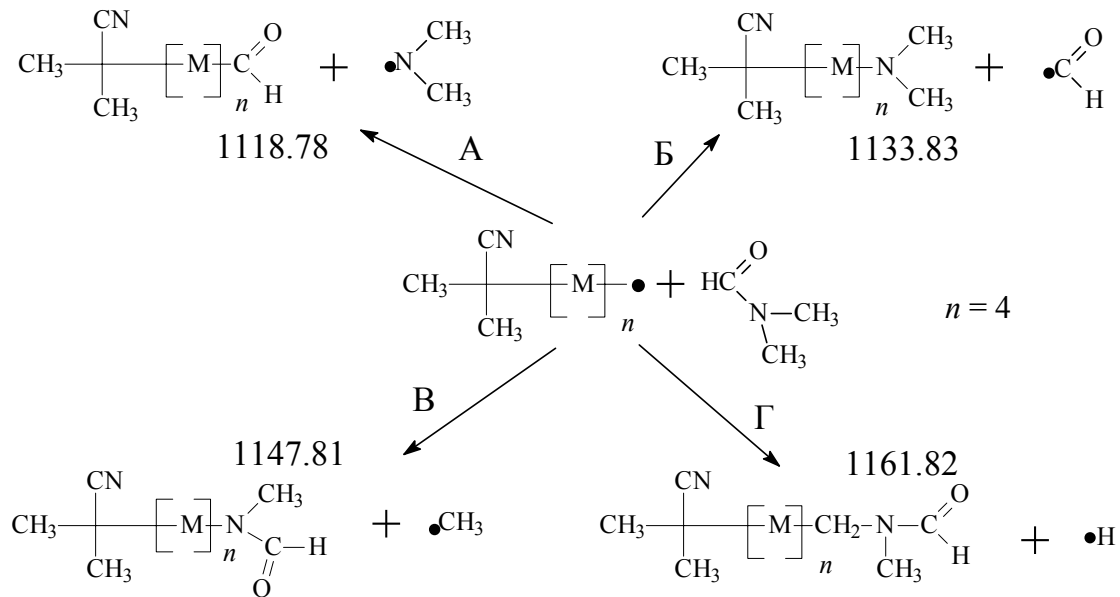


Рис. 5. Схема 2: Передача цепи на растворитель

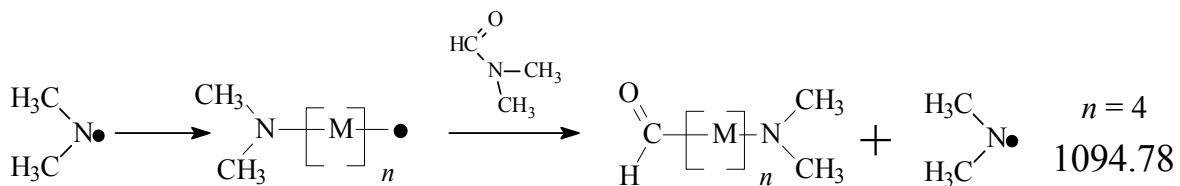


Рис. 6. Схема 3: Вторичное инициирование и передача цепи на растворитель (Д)

При использовании ДАК в качестве инициатора (как в нашем случае) формируются концевые изобутиронитрильные группы с молекулярной массой 68.1. Соответственно массы макромолекул, сформированных в результате реакции рекомбинации (рис. 4, схема 1) должны соответствовать формуле  $2nM + 2 \times 68.1$ , а в результате диспропорционирования (а также при передаче цепи на мономер) —  $nM + 68.1 - 1$  и  $nM + 68.1 + 1$ , где  $n$  — целое число.

Передача цепи на инициатор является маловероятным процессом при малых концентрациях инициатора, особенно в случае ДАК, и рассматриваться не будет. Передача цепи на полимер (рис. 7, схема 4) соответствует случаю формирования разветвленных макромолекул с тремя концевыми группами. Наибольшее значение имеют процессы передачи цепи на растворитель (рис. 5, 6, схемы 2 и 3), в данном случае ДМФА, с формированием концевых групп, соответствующих фрагментам молекулы растворителя.

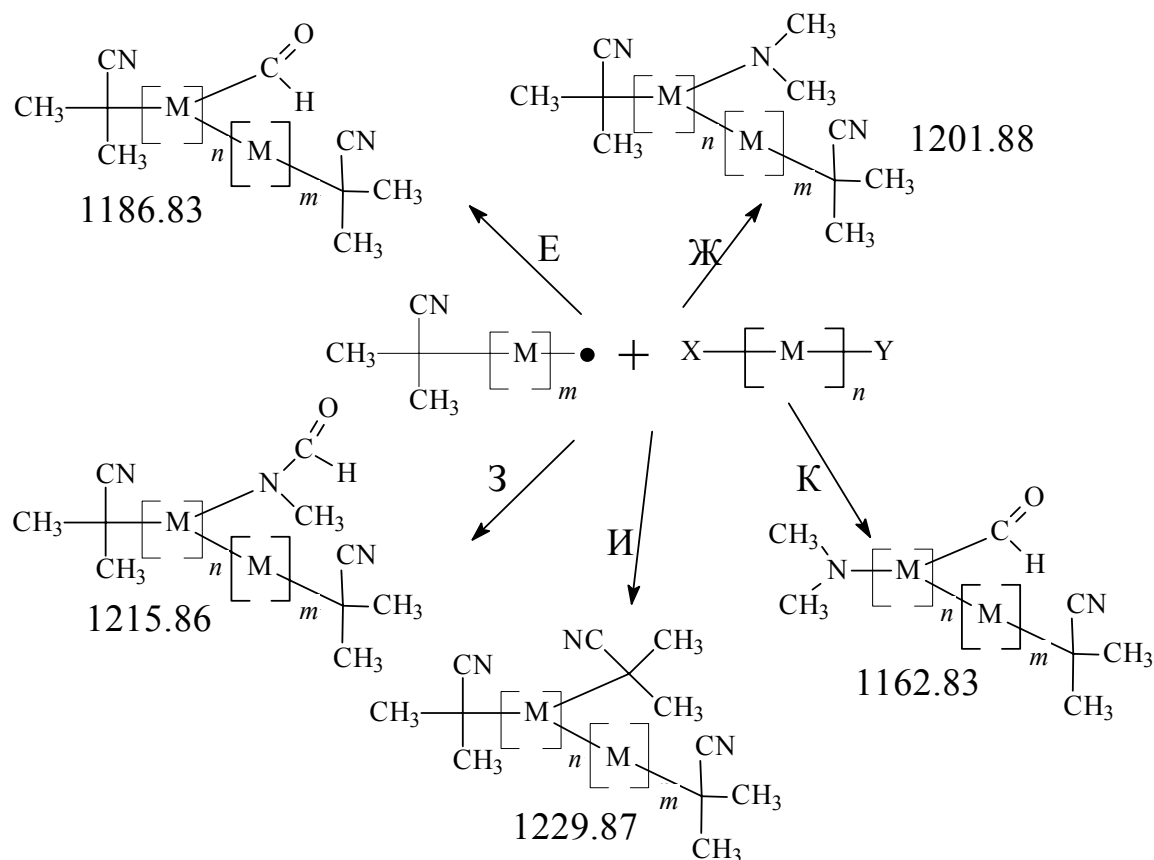


Рис. 7. Схема 4: Передача цепи на полимер

Наиболее вероятным механизмом участия ДМФА в радикальных реакциях [20] является атака радикального центра по карбонильному атому углерода с дальнейшим разрывом амидной связи C–N и формированием альдегидной концевой группы (29) и диметиламин-радикала (44), который в дальнейшем может участвовать в реакции полимеризации. В соответствии с таким механизмом можно предположить формирование макромолекул с массами  $nM + 68.1 + 29$  и  $nM + 68.1 + 44$  и ряда других менее вероятных продуктов перекрестного взаимодействия. Наличие альдегидных концевых групп в составе полимера было подтверждено реакцией с 2,5-динитрофенилгидразином.

Рассмотрим подробнее часть спектра (рис. 8), соответствующую олигомеру со степенью полимеризации 4 ( $MH^+$ , расчет — 1021.73). Сигнал  $nM + 68.05 + 29.00$  (1118.73), соответствующий прямому иницированию и передаче цепи на растворитель (рис. 5, схема 2) с формированием альдегидной концевой группы (вариант А), является основным в масс-спектре для всех олигомеров от 4

до 35. Следующие по интенсивности сигналы соответствуют вариантам Б (1133.80) и В (1147.79); далее — сигналы продукта рекомбинации (1157.94). В этой же области спектра могут находиться сигналы продуктов передачи на растворитель по варианту Г (расчет — 1161.82) и передачи на полимер К (расчет — 1162.83). Также достаточно четко видны сигналы продуктов передачи цепи на полимер (3 концевые группы, варианты Е (1186.77), Ж(1201.83), 3(1215.88), И(1229.86) на рис. 7, схема 4).

Наибольшие трудности вызывает интерпретация сигналов в диапазоне масс до 1115 Да. В этой области могут находиться сигналы продуктов диспропорционирования (расчет — 1088.78 и 1090.78), вторичного иницирования с передачей на растворитель (1094.85, рис. 6, схема 3, вариант Д) и дефрагментации — отщепления от основных олигомеров (1118.78 и 1133.83) фрагментов  $CH_2$  (сигнал 1104.73),  $CO_2$ ,  $(CH_2)_nCO_2$  ( $n = 1-4$ ),  $CHO$ .

Такое распределение сигналов воспроизводится как в линейных, так и в рефлекторных спектрах образца 1 для олигомеров со степенью полимеризации

Расчетные и наблюдаемые значения моноизотопных масс для олигомеров со степенями полимеризации 6 и 8

Варианты	Олигомер 6		Олигомер 8	
	Расчет	Измерено	Расчет	Измерено
$n\text{MH}^+$	1532.09	—	2042.45	—
А	1629.14	1629.38	2139.50	2139.95
Б	1644.19	1644.37	2154.55	2154.89
В	1658.17	1658.41	2168.53	2169.03
Г	1672.18	1672.44	2182.54	2182.97
Е	1697.19	1697.51	2207.55	2208.00
Ж	1712.24	1712.40	2222.60	2222.20
З	1726.22	1726.51	2236.58	2236.97
И	1740.23	1740.54	2250.59	2251.01
А — $\text{CH}_2$	1615.11	1615.33	2125.47	2126.03

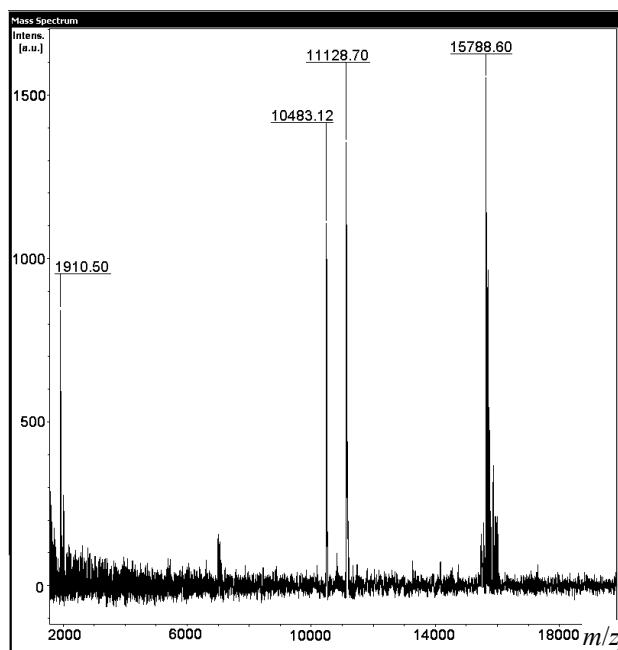


Рис. 8. Линейный масс-спектр образца 2

от 4 до 20; во всех случаях наблюдается хорошее совпадение экспериментальных данных с расчетными значениями (см. таблицу). Сигналы, соответствующие большим молекулярным массам, имеют менее разрешенный характер, однако отчетливо регистрируются.

Таким образом, радикальная полимеризация ААУ в ДМФА приводит к образованию весьма полидисперсного продукта — смеси олигомеров со степенью полимеризации до 35–40, причем основным механизмом завершения роста макромолекул является передача цепи на растворитель с разрывом амидной С–N связи ДМФА.

Иная картина наблюдается в случае полимеризации натриевой соли акрилоиламиноундекановой кислоты в мицеллярном водном растворе. Линейный масс-спектр образца 2 приведен на рис. 8. Хорошо видно, что образец является узкодисперсным. Присутствует незначительное количество сигналов низкомолекулярной фракции (менее 2000), сливающихся с "химическим шумом", а также три сигнала высокомолекулярных фракций — 41, 43 и 61–63 (основной сигнал 15788.60). Такое распределение по молекулярным массам свидетельствует о принципиально ином механизме протекания реакции полимеризации.

Отметим, что определение молекулярной массы этого образца другими методами, в частности изотермической диффузии и вискозиметрии, дает сопоставимые результаты — порядка 12 000 Да.

К настоящему моменту выполнить отнесение сигналов к олигомерам с определенными концевыми группами в этом спектре не представляется возможным и требуется проведение ряда дополнительных экспериментов. Результаты этих исследований будут опубликованы отдельно.

Работа выполнена при финансовой поддержке

РФФИ, грант 06-03-32926 и Президента РФ, грант МК-1934.2007.3

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nagai K. // Trends in Polymer Science. 1996. V. 4. P. 122–127.
2. Summers M., Elastoe J. // Adv. Colloid Interf. Sci. 2003. V. 100-102. P. 137–152.
3. Wang J., Warner I.M. // Anal. Chem. 1994. V. 66. P. 3773–3776.
4. Palmer Ch., McCarney J. // J. Chromatogr. A. 2004. V. 1044. P. 159–176.
5. Mohanty A., Dey J. // Langmuir. 2004. V. 20. P. 8452–8459.
6. Tian L., Yam L., Wang J., Tat H., Uhrich K.E. // J. Mater. Chem. 2004. V. 14. P. 2317–2324.
7. Yan F., Texter J. // Soft. Matter. 2006. V. 2. P. 109–118.
8. Gerber M.J., Walker L.M. // Langmuir. 2006. V. 22. P. 941–948.
9. Miller S.A., Ding J.H., Gin D.L. // Curr. Opin. Colloid Interf. Sci. 1999. V. 4. P. 338–347.
10. Hentze H.-P., Kaler E.W. // Curr. Opin. Colloid Interf. Sci. 2003. V. 8. P. 164–178.
11. Kramer M.C., Steger J.R., Hu Y., McCormick C.L. // Macromolecules. 1996. V. 29. P. 1992–1997.
12. Yeoh K.W., Chew C.H., Gan L.M., Koh L.L., Teo H.H. // J. Macromol. Sci. Chem. 1989. V. A26. P. 663–680.
13. Nayak R.R., Roy S., Dey J. // Colloid. Polym. Sci. 2006. V. 285. P. 219–224.
14. Fujimoto C., Fujise Y., Kawaguchi S. // J. Chromatography A. 2000. V. 871. P. 415–425.
15. Gan L.M., Yeoh K.W., Chew C.H., Koh L.L., Tan T.L. // J. Appl. Polymer Sci. 1991. V. 42. P. 225–232.
16. Zorin I.M., Reznichenko T.S., Bilibin A.Yu. // Polymer. Bull. 2006. V. 57. P. 57–60.
17. Arnould M.A., Wesdemiotis C., Geiger M.J., Park M.E., Buehner R.W., Vanderorst D. // Progr. Organic Coatings 2002. V. 45. P. 305–312.
18. Nanda A.K., Ganesh K., Kishore K., Surinarayanan M. // Polymer 2000. V. 41. P. 9063–9072.
19. Singha N.K., Rimmer S., Klumperman B. // Eur. Polym. J. 2004. V. 40. P. 159–163.
20. Мельников М.Я., Смирнов В.А. Фотохимия органических радикалов. М.: Изд-во МГУ, 1994. 336 с.

*Санкт-Петербургский государственный университет, Химический факультет (Зорин И.М., Макаров И.А., Билибин А.Ю.)*

*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва (Поляков Н.Б.)*

*Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург (Подольская Е.П.)*

Материал поступил в редакцию 14.10.2008.

## IDENTIFICATION OF N-AKRILOYL-11-AMINOUNDEKANOIC ACID POLIMERISATION PRODUCTS WITH MASS-SPECTROMETRY METHODS

I. M. Zorin<sup>1</sup>, I. A. Makarov<sup>1</sup>, N. B. Polyakov<sup>2</sup>, E. P. Podolskaya<sup>3</sup>, A. Y. Bilibin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Saint-Petersburg State University, Chemical department

<sup>2</sup>Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow

<sup>3</sup>Institute for Analytical Instrumentation RAS, Saint-Petersburg

Poly(N-acryloyl-11-aminoundecanoic acid) was synthesized via free-radical polymerization in micellar and molecular solution. The structures of polymerization products in dimethylformamide were elucidated from MALDI data; mechanisms of the above products formation are discussed.