

РЕНТГЕНОВСКАЯ РЕФЛЕКТОМЕТРИЯ ТОНКИХ ПЛЕНОК,
ФОРМИРУЕМЫХ В ПРОЦЕССЕ ФАЗОВОГО РАЗДЕЛЕНИЯ
ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРОВ АЛИФАТИЧЕСКИХ ПОЛИЭФИРОВ
В ВОДНОЙ СРЕДЕ

© 2023 г. В. Е. Асадчиков^{1,*}, Ю. О. Волков¹, Б. С. Рошин¹, А. Д. Нуждин¹, Е. Р. Чернавская²,
А. М. Тихонов³, А. В. Миронов¹, А. О. Мариянац¹, В. К. Попов¹

¹Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, Россия

²Национальный исследовательский ядерный университет “МИФИ”, Москва, Россия

³Институт физических проблем им. П.Л. Капицы РАН, Москва, Россия

*E-mail: asad@crys.ras.ru

Поступила в редакцию 29.08.2022 г.

После доработки 29.08.2022 г.

Принята к публикации 31.08.2022 г.

На примере полиэфирных пленок, сформированных на поверхности деионизованной воды из растворов полилактогликолида (ПЛГ) в хлороформе и тетрагликоле (ТГ), показаны возможности метода рентгеновской рефлектометрии в исследованиях структуры планарных жидкофазных мембран. Установлено, что использование растворов с концентрациями ПЛГ от 1 до 4 мас. %, а также выше 6 мас. % приводит к пропорциональному увеличению плотности таких пленок при сохранении их структуры и толщины в пределах до 25 Å. Обнаружено, что в области концентрации ПЛГ 5 мас. % система ПЛГ/ТГ переходит в нестабильное состояние, характеризующееся интенсивным проникновением алифатических цепей ПЛГ в объем водной подложки на глубину до 100 Å.

DOI: 10.31857/S0023476123010022, EDN: DMWVLY

ВВЕДЕНИЕ

Биосовместимые полимеры, обладающие способностью к контролируемой биодеградации или биорезорбции при контакте с тканями живого организма, широко используются при разработке и создании разнообразных изделий медико-биологического назначения, а также для решения различных задач тканевой инженерии и регенеративной медицины [1]. Одними из таких задач являются формирование, исследование и использование персонализированных тканеинженерных конструкций (ТИК) на основе биорезорбируемых матриксов определенной архитектоники, выполняющих роль трехмерного каркаса для заселения, дифференцировки и пролиферации донорских или аутологичных клеток определенных типов [2]. Принципиальным требованием, предъявляемым к матриксам, является наличие в их структуре системы сообщающихся пор определенных размеров (как правило, от 100 до 700 мкм), обеспечивающей доставку питательных веществ и кислорода к живым клеткам, а также удаление токсичных продуктов их метаболизма [3].

Известно множество различных методов и технологий, применяемых для изготовления биоре-

зорбируемых полимерных матриксов (главным образом на основе полимеров гомологического ряда алифатических полиэфиров – полилактидов, полигликолов и их сополимеров [4, 5]) для ТИК требуемой формы и структуры [6]. К их числу, в первую очередь, следует отнести выщелачивание [7], разделение фаз при криообработке [8, 9], сверхкритическое флюидное вспенивание [10], электроспиннинг [9, 11]. Одним из весьма распространенных методов формирования полимерных мембран [12] и пленок является разделение фаз на границе контакта полимерного раствора и среды-осадителя [13, 14]. В зависимости от физико-химических свойств конкретной системы и условий формирования в ней полимерной фазы может быть получен целый спектр различных макроструктур конечного материала – от изотропного монолита до микроструктур градиентной пористости или их сочетание. В таких гетерогенных системах нарушается изотропность объемных фаз, что приводит, например, к эффекту направленной двумерной кристаллизации [15, 16] или формированию пальцеобразных пор [17].

По-видимому, одним из наиболее перспективных подходов к разработке и изготовлению био-

резорбируемых матриксов для ТИК заданной и, главное, воспроизведимой архитектоники является использование технологий аддитивного производства (**ТАП**) или 3D-печати [18]. Среди многочисленных процессов, лежащих в основе ТАП, в контексте настоящей работы следует особо выделить предложенный и разработанный ранее метод антисольвентной 3D-печати [17], основанный на формировании полиэфирного матрикса при фазовом разделении полимерного раствора в органическом растворителе в процессе экстракции последнего в окружающую водную среду. При этом микроструктура изготавливаемого матрикса будет определяться кинетикой процессов фазового разделения и массопереноса, а его макроструктура и форма задаваться заранее выбранной трехмерной цифровой моделью.

Одной из систем, использованных и исследованных ранее для антисольвентной печати матриксов для ТИК, является раствор биологически совместимого сополимера молочной и гликоловой кислот – полилактогликолида (**ПЛГ**) [19] в тетрагликоле (**ТГ**) [20], образующий высокопористую твердую структуру при его контакте с водосодержащими средами (антирастворителями). Тетрагликоль – это нетоксичный растворитель для целого ряда различных гидрофобных полимеров, при этом неограниченно смешивающийся с водой. Это позволяет эффективно экстрагировать его из полимерных растворов с контролируемым отверждением растворенных в них материалов. Существенное достоинство системы ПЛГ/ТГ/вода заключается в ее низкой токсичности и отсутствии необходимости применения в исследуемых процессах повышенных температур, что крайне важно при использовании в биомедицинских целях. Согласно [19] при антисольвентном осаждении ПЛГ могут быть получены различные типы структур в масштабе от 1 до 100 мкм в зависимости от условий, в которых происходит фазовое разделение. При этом не рассматривался вопрос формирования первичного полимерного слоя субнанометровой толщины на границе контакта полимерного раствора с осадителем (водой), в значительной мере влияющего на последующие процессы массопереноса, динамику распределения концентрации и, как следствие, на тип и свойства формируемой микроструктуры.

Цель настоящей работы – экспериментальное исследование и моделирование структуры полимерных слоев, формируемых в процессе фазового разделения растворов ПЛГ в хлороформе и ТГ на границе их контакта с дистиллированной водой. Для получения данных о распределении компонентов тройной системы ПЛГ/ТГ/вода на границе раздела фаз использовали метод рентгеновской рефлектометрии [21], основанный на явлении полного внешнего отражения рентгеновских лучей от границ раздела в скользящей геометрии

падения. Ввиду неразрушающего характера данный метод интенсивно применяется для исследования структуры тонкопленочных планарных объектов, в том числе мембранных слоев, в молекулярном масштабе в процессе их синтеза и модификации [22]. При этом примененный в настоящей работе модельнонезависимый алгоритм реконструкции структуры позволяет восстановить распределение плотности в направлении, перпендикулярном поверхности, с нанометровым разрешением, не требуя никакой дополнительной информации о кристаллическом строении исследуемого объекта [23]. По этой причине метод хорошо применим, в том числе, для изучения слоев жидкости на поверхности жидкой подложки.

Отметим, что ввиду низкого контраста жидкофазных сред в рентгеновском диапазоне, а также влияния температуры и вибраций на шероховатость границ раздела жидких сред подобные рефлектометрические эксперименты, как правило, проводятся на синхротронных источниках. Однако, как показано в настоящей работе, сочетание измерений на специализированных лабораторных источниках совместно с применением модельнонезависимых алгоритмов позволяет извлечь структурную информацию сопоставимого качества.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследования структуры пленок алифатических полиэфиров в качестве модельного соединения использовали ПЛГ марки PLGA 7502 (Purasorb Biochem BV) с характеристической вязкостью 0.2 дL/g и соотношением лактата к гликолиду 75 : 25. Первоначально подготовили две серии растворов ПЛГ в хлороформе и/или ТГ с массовой концентрацией ПЛГ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 10 мас. %. Растворы первой серии готовили методом последовательных разбавлений исходного 10%-ного раствора. Во второй серии количество используемого ПЛГ отмеряли для приготовления каждого из растворов индивидуально.

Растворы готовили по навескам исходных компонентов на аналитических лабораторных весах. Перемешивание осуществляли на магнитной мешалке при 40°C в стеклянном стакане с притертой крышкой для исключения попадания атмосферной влаги.

Экспериментальные образцы были сформированы на поверхности воды во фторопластовой тарелке диаметром 100 мм, установленной в герметизируемом одноступенчатом термостате [24]. Фиксированный объем раствора (10 и 20 мкл) ПЛГ в ТГ наносили на поверхность подложки капельным методом при помощи калиброванного шприца Hamilton с последующим растеканием по поверхности мениска в течение 15 мин. После

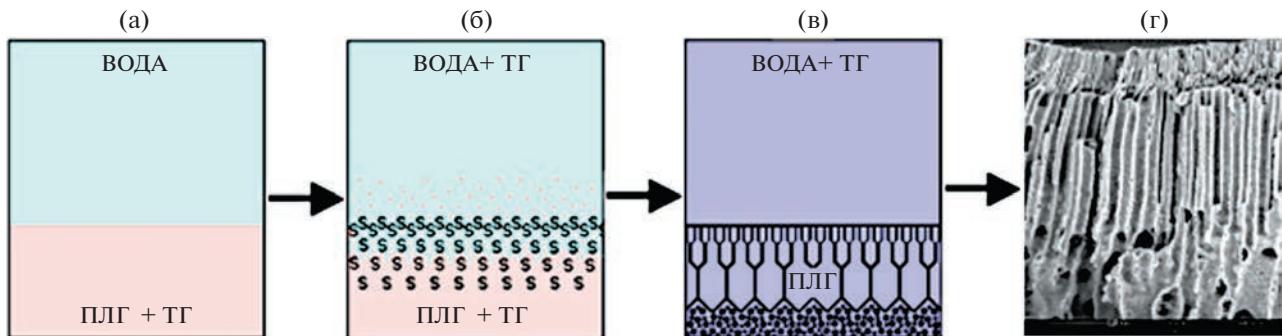


Рис. 1. Эволюция макроструктуры в тройной системе полилактогликолид–тетрагликоль–вода (а–в) и образующаяся структура полимерной фазы (г).

приготовления образцы выдерживали в термостате при фиксированной температуре $T = 295$ К.

Измерения проводили на лабораторном дифрактометре широкого назначения с подвижной системой источник–детектор (ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН). Конструкция дифрактометра подробно описана в [25]. В качестве источника излучения использовали широкофокусную (12×2 мм 2) рентгеновскую трубку с медным анодом. Подготовку зондирующего излучения осуществляли с помощью кристалла-монохроматора однократного отражения Si(111), настроенного на $K_{\alpha 1}$ -линию меди (энергия фотонов $E \approx 8048$ эВ, длина волны $\lambda = 1.5405 \pm 0.0001$ Å), и вакуумированной трехщелевой системы коллимации, что позволило достичь линейной ширины пучка (распределения интенсивности в плоскости зеркального отражения) $d \approx 0.55$ мм и расходимости $\sim 1.5'$ при интегральной интенсивности 3×10^6 имп./с. Для регистрации сигнала использовали сцинтилляционный детектор Radicon SCSD-4 (уровень шума 0.1 имп./с). Таким образом, диапазон измерений по падению интенсивности сигнала I_{\max}/I_{\min} составлял 7–8 порядков, что сопоставимо с измерениями на синхротронных источниках II поколения [26].

В условиях зеркального отражения вектор расстояния рентгеновского излучения имеет единственную компоненту, направленную по нормали к границе раздела: $q_z = |k_{in} - k_{sc}| = (4\pi/\lambda) \sin \alpha$, где α – угол скольжения, k_{in} и k_{sc} – волновые вектора падающего и рассеянного в направлении точки наблюдения лучей. При этом значение критического угла полного внешнего отражения от поверхности $\alpha_c = \lambda \sqrt{r_0 \rho_w / \pi}$ (где $r_0 = 2.814 \times 10^{-5}$ Å – классический радиус электрона) определяется объемной электронной концентрацией в глубине образца ρ_w . Отметим, что для деионизованной воды в нормальных условиях $\rho_w = 0.333$ Å $^{-1}$, что соответствует критическому углу $\alpha_c \approx 0.153^\circ$ в эксперименте.

Угловая зависимость коэффициента зеркального отражения от поверхности, в свою очередь, имеет вид $R(q_z) = R_F(q_z) |\Phi(q_z)|^2$, где R_F – коэффициент отражения от идеальной границы раздела воздух–вещество, а $\Phi(q) = \frac{1}{\rho_w} \int_{-\infty}^{+\infty} \left\langle \frac{d\rho(z)}{dz} \right\rangle e^{iqz} dz$ – структурный фактор распределения электронной концентрации ρ вглубь по нормали к поверхности, усредненной по области засветки.

Для анализа экспериментальных кривых зеркального отражения $R(q_z)$ и реконструкции по ним распределения электронной концентрации $\rho(z)$ применяли модельнонезависимый подход, разработанный в [23, 27] и основанный на экстраполяции асимптотической компоненты коэффициента отражения R в область больших углов ($q_z > q_{\max}$). В отличие от классических подходов, основанных на оптимизации параметров теоретической модели искомого объекта, модельнонезависимый подход позволяет рассчитать распределение объемной электронной концентрации $\rho(z)$ непосредственно, без априорных предположений о строении образца. Особенности подхода, проблема единственности решения и расчетный алгоритм подробно излагались и обсуждались в [27].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Образование развитых полимерных структур в процессе фазового разделения растворов ПЛГ в ТГ на границе их контакта с дистиллированной водой имеет четко выраженные этапы. Первым является формирование поверхностного полу-проницаемого слоя из насыщенного раствора полимера – гель-слоя. На рис. 1 представлена схематическая эволюция структуры полимерной пленки (мембрани) у границы раздела фаз. В целом структура хорошо визуализируется методами оптической и сканирующей электронной микроскопии [17], кроме поверхностной пленки субнанометровой толщины, в значительной мере опре-

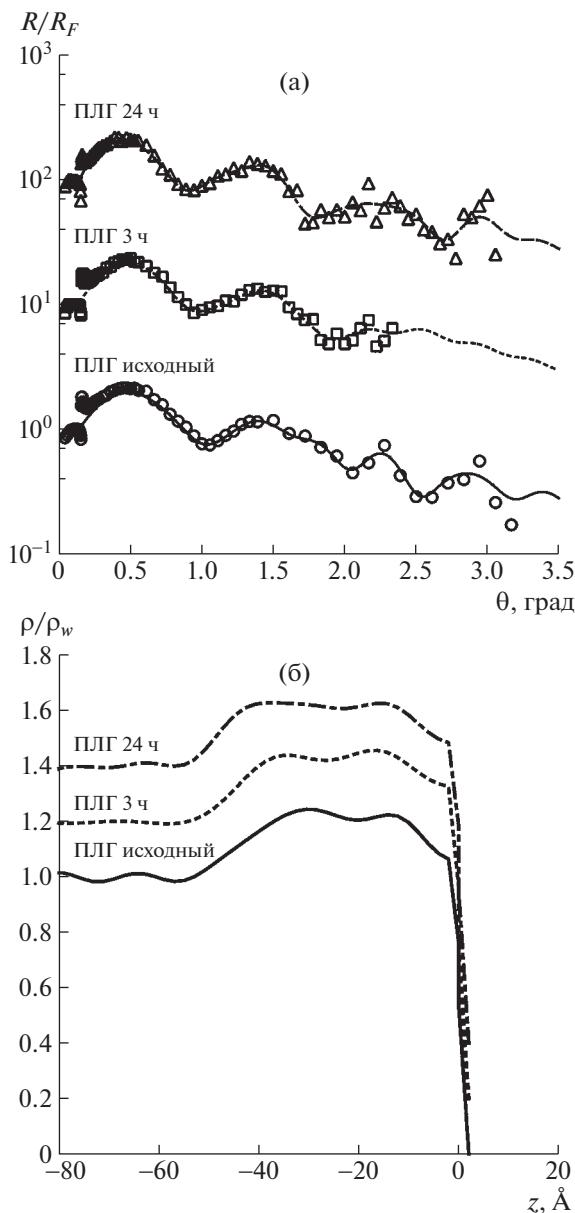


Рис. 2. Модули структурного фактора R/R_F (а) и распределения электронной плотности по глубине ρ , нормированные на табличную плотность воды $\rho_w = 0.333 \text{ \AA}^{-3}$ (б), полученные для растворов полилактогликолида в хлороформе. Точки – экспериментальные данные, сплошные кривые – расчет.

деляющей скорости массообменных процессов между фазами.

В отличие от растворов в ТГ образование полимерной фазы из растворов ПЛГ в хлороформе происходит при экстракции растворителя в атмосферу (испарении) без вовлечения в этот процесс водной фазы. Таким образом, через границу раздела фаз гидрофобного раствора полимера и воды практически не осуществляется массоперенос.

Результаты измерений пленки раствора ПЛГ в хлороформе (20 мкл) приведены на рис. 2а. Для

контроля стабильности пленки проведены дополнительные измерения спустя 3 и 24 ч после приготовления образца. На кривых отражения присутствуют периодические осцилляции, что указывает на наличие выраженной границы раздела между подложкой и поверхностным слоем. Соответствующие расчетные профили плотности приведены на рис. 2б. Видно, что ПЛГ формирует на поверхности пленку толщиной $\sim 50 \text{ \AA}$, в структуре которой присутствуют два выраженных подслоя одинаковой толщины ($\sim 25 \text{ \AA}$) и плотности ($\sim 1.22\rho_w$). Оценочный параметр характеристической толщины переходного слоя (шероховатости) σ на границах полимер–подложка и полимер–воздух составил 2.5 \AA , что также согласуется с известным параметром шероховатости капиллярных волн на поверхности воды [28]. Таким образом, пленка, предположительно, сформирована двойным складчатым слоем молекул ПЛГ, ориентированных преимущественно вдоль плоскости поверхности, без проникновения фрагментов полимера в объем подложки.

Результаты измерений пленок раствора ПЛГ в ТГ приведены на рис. 3а для разбавленных растворов (20 мкл) и рис. 3б для индивидуальных растворов (10 мкл). В качестве опорных данных предварительно была измерена поверхность слоя чистого ТГ на дейонизованной воде (кружки на рис. 3а). Для обеих серий растворов асимптотика спада кривых от образцов с концентрацией 5 и 10 мас. % существенно отличается от остальных, что указывает на качественное различие в их структуре.

Расчетные профили плотности приведены на рис. 4. Плотность слоя чистого ТГ на воде (нижняя кривая на рис. 4а) близка к плотности водной подложки, что указывает на смешивание компонентов и отсутствие выраженной границы раздела. В свою очередь, раствор ПЛГ в ТГ формирует на поверхности стабильную пленку толщиной 20–25 \AA . При увеличении концентрации ПЛГ в растворе до значений 7 мас. % наблюдается пропорциональное увеличение плотности при сохранении структуры и толщины. Отметим, что параметры пленки согласуются с характерной толщиной, плотностью и шероховатостью одиночного подслоя, наблюдавшегося при нанесении раствора в хлороформе. Сравнительно низкая шероховатость границ раздела также указывает на преимущественную ориентацию молекул ПЛГ в плоскости поверхности.

При значениях концентрации 5 и 10% плотность слоя перераспределяется по толщине на глубину 50–100 \AA при сохранении интегрального количества вещества. Это указывает, что пленка ПЛГ переходит в нестабильное состояние, при этом часть полимерных цепей “проваливается” в объем подложки. Отметим, что данный эффект

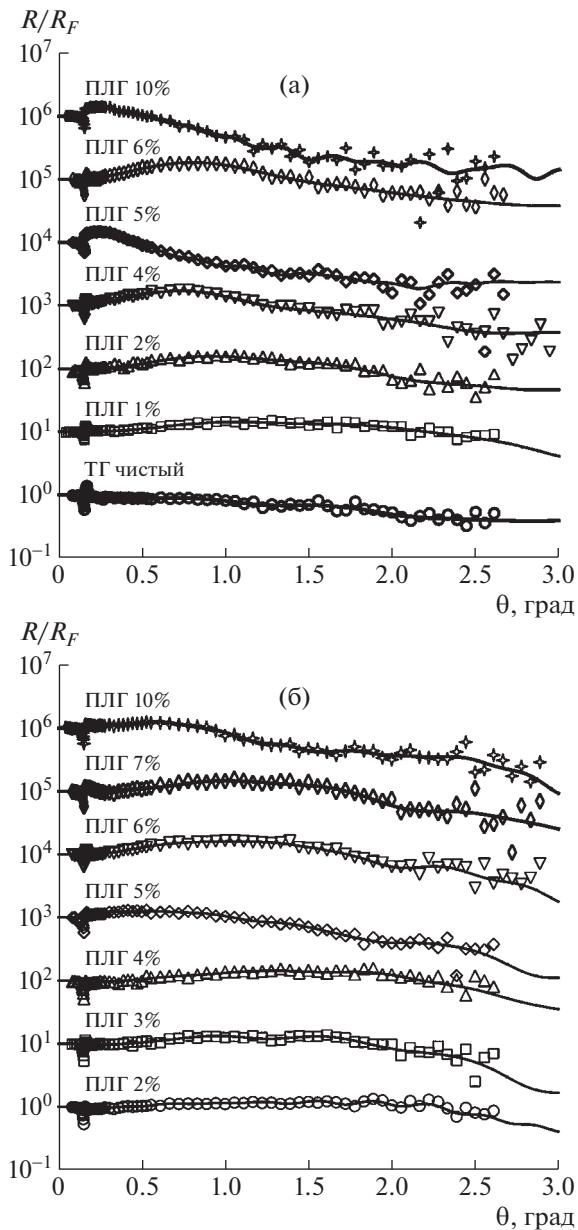


Рис. 3. Модули структурного фактора R/R_F , полученные для растворов полилактогликозида в тетрагликоле, приготовленных методом последовательных разбавлений (а) и на основе массового соотношения (б). Точки – экспериментальные данные, сплошные кри-
вые – расчет.

воспроизводится при указанных концентрациях независимо от метода приготовления и количества нанесенного раствора. Также оценочная интегральная высота шероховатости внешней границы раздела пленки для указанных концентраций возрастает с ~ 2.7 до ~ 4.5 Å, что указывает на присутствие дополнительной компоненты шероховатости, предположительно связанной с нарушением однородности упаковки полимерных цепей в плоскости поверхности.

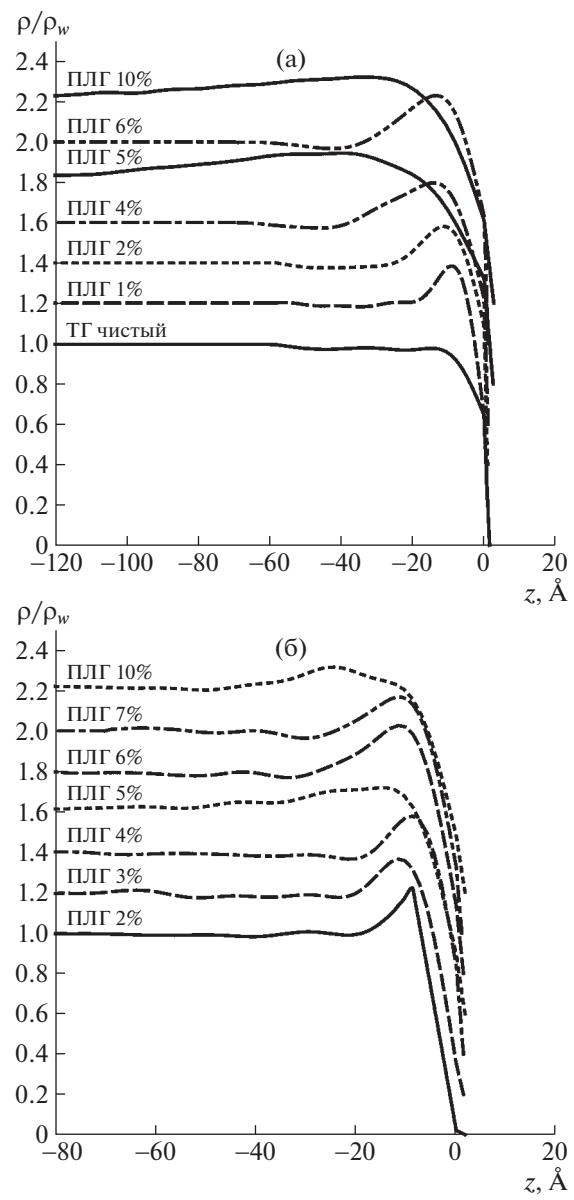


Рис. 4. Распределения электронной плотности по глубине ρ , нормированные на табличную плотность воды $\rho_w = 0.333 \text{ Å}^{-3}$, рассчитанные для растворов полилактогликозида в тетрагликоле, приготовленных методом последовательных разбавлений (а) и на основе массового соотношения (б).

Таким образом, установлено, что во всем исследованном диапазоне концентраций раствор ПЛГ в хлороформе и ТГ формирует на поверхности воды стабильную двухслойную пленку, в которой полимерные цепи упакованы относительно однородно вдоль поверхности подложки. Профили плотности указывают на наличие выраженной границы раздела полимерной фазы и воды, что согласуется с гидрофобной природой ПЛГ. Более тщательное изучение строения и природы под-

слоя-“складки” представляет интерес для отдельного исследования.

Тройная система ПЛГ/ТГ/вода содержит особую точку вблизи концентрации 5 мас. % ПЛГ, в которой формируемая пленка находится в нестабильном состоянии, переходя от планарной структуры с однослойной упаковкой полимерных цепей к диффузному слою с частичным проникновением полимера в объем водной подложки. Это может объясняться формированием вокруг гидрофобных макромолекул ПЛГ относительно устойчивой сольватной оболочки из термодинамически совместимого с водой растворителя, которая обеспечивает транспорт гидрофобных макромолекул в воду. Пороговая концентрационная зависимость распределения макромолекул в приповерхностном слое может быть связана с критическим соотношением взаимодействий макромолекула–растворитель по сравнению со взаимодействиями макромолекула–макромолекула в исходном растворе, ниже которого транспорт индивидуальной макромолекулы вместе с диффундирующими в воду ТГ становится маловероятен. В то же время установлено, что при формировании твердой структуры дальнейший массообмен между раствором полимера и антирастворителем проходит через сплошной гидрофобный слой толщиной до 25 Å, затрудняющий диффузию антирастворителя в раствор. При этом, согласно полученным данным и результатам, приведенным в [17], эта диффузия не исключается полностью.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках государственных заданий ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН и ИФП РАН. Теоретическая часть работы выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-29-12045).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Martina M., Hutmacher D.W. // Polymer Int. 2007. V. 56. № 2. P. 145.
<https://doi.org/10.1002/pi.2108>
2. Sensini A., Gualandi C., Focarete M.L. et al. // Biofabrication. 2019. V. 11. № 3. P. 035026.
3. Karageorgiou V., Kaplan D. // Biomaterials. 2005. V. 26. № 27. P. 5474.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.02.002>
4. Pryadko A., Surmeneva M., Surnenev R. // Polymers. 2021. V. 13. № 11. P. 1738.
<https://doi.org/10.3390/polym13111738>
5. Chen G.Q., Wu Q. // Biomaterials. 2005. V. 26. № 33. P. 6565.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.04.036>
6. Eltom A., Zhong G., Muhammad A. // Adv. Mater. Sci. Eng. 2019. V. 2019. P. 3429527.
<https://doi.org/10.1155/2019/3429527>
7. Yin H.M., Qian J., Zhang J. et al. // Polymers. 2016. V. 8. № 6. P. 213.
<https://doi.org/10.3390/polym8060213>
8. Adamkiewicz M., Rubinsky B. // Cryobiology. 2015. V. 71. № 3. P. 518.
<https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2015.10.152>
9. Kamali A., Shamloo A. // J. Biomechanics. 2019. V. 98. P. 109466.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2019.109466>
10. Mou Z.L., Zhao L.J., Zhang Q.A. et al. // J. Supercrit. Fluids. 2011. V. 58. P. 398.
<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2011.07.003>
11. Sun H., Zhao Q., Zheng L.W. et al. // Nano LIFE. 2021. V. 11. № 4. P. 2141005.
<https://doi.org/10.1142/S1793984421410051>
12. Li Z., Jiang Z., Zhao L. et al. // Mater. Sci. Eng. C. 2017. V. 81. P. 443.
<https://doi.org/10.1016/j.mssec.2017.08.019>
13. van de Witte P., Esselbrugge H., Dijkstra P.J. et al. // J. Membr. Sci. 1996. V. 113. № 2. P. 223.
[https://doi.org/10.1016/0376-7388\(95\)00068-2](https://doi.org/10.1016/0376-7388(95)00068-2)
14. Sawalha H., Schroen K., Boom R. // J. Appl. Polym. Sci. 2007. V. 104. P. 959.
<https://doi.org/10.1002/app.25808>
15. Mitrinovic D.M., Tikhonov A.M., Li M. et al. // Phys. Rev. Lett. 2000. V. 85. P. 582.
<https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.85.582>
16. Tikhonov A.M., Schlossman M.L. // J. Phys. Chem. B. 2003. V. 107. P. 3344.
<https://doi.org/10.1021/jp0271817>
17. Mironov A.V., Mironova O.A., Syachina M.A., Popov V.K. // Polymer. 2019. V. 182. № 2. P. 121845.
<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2019.121845>
18. Ramos T., Moroni L. // Tissue Eng. Pt C: Methods. V. 26. № 2. P. 91.
<https://doi.org/10.1089/ten.tec.2019.0344>
19. Hoshi K., Fujihara Y., Yamawaki T. et al. // Histochem. Cell. Biol. 2018. V. 149. P. 375.
<https://doi.org/10.1007/s00418-018-1652-2>
20. Aubert-Pouëssel A., Venier-Julienne M.C., Saulnier P. et al. // Pharm. Res. 2005. V. 21. № 12. P. 2384.
<https://doi.org/10.1007/s11095-004-7693-3>
21. Hamley I.W., Pedersen J.S. // J. Appl. Cryst. 1994. V. 27. P. 29.
<https://doi.org/10.1107/S0021889893006260>
22. Tolan M. X-Ray Scattering from Soft-Matter Thin Films / V. 148 of Springer Tracts in Modern Physics. Berlin: Springer-Verlag, 1999. 197 p.
<https://doi.org/10.1007/BFb0112834>
23. Kozhevnikov I.V. // Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A. 2003. V. 508. P. 519.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9002\(03\)01512-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9002(03)01512-2)
24. Тихонов А.М., Асадчиков В.Е., Волков Ю.О. и др. // Приборы и техника эксперимента. 2021. № 1. С. 146.
<https://doi.org/10.31857/S0032816221010158>
25. Асадчиков В.Е., Бабак В.Г., Бузмаков А.В. и др. // Приборы и техника эксперимента. 2005. № 3. С. 99.
<https://doi.org/10.1007/s10786-005-0064-4>
26. Асадчиков В.Е., Волков Ю.О., Рошин Б.С. и др. // Радиоэлектроника. Наносистемы. Информационные технологии. 2020. Т. 12. № 1. С. 145.
<https://doi.org/10.17725/rensit.2020.12.145>
27. Kozhevnikov I.V., Peverini L., Ziegler E. // Phys. Rev. B. 2012. V. 85. P. 125439.
<https://doi.org/10.1103/PhysRevB.85.125439>
28. Braslav A., Pershan P.S., Swislow J. et al. // Phys. Rev. A. 1988. V. 38. № 5. P. 2457.
<https://doi.org/10.1103/PhysRevA.38.2457>