



# *Высокомолекулярные* **СОЕДИНЕНИЯ**

Серия А

Физика полимеров

Журнал теоретической и экспериментальной  
химии и физики высокомолекулярных соединений



НАУКА

— 1727 —



# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 66, номер 1, серия А, 2024

---

---

## РАСТВОРЫ

Гидродинамические и конформационные характеристики макромолекул поли-*N*-винилсукцинимида

*А. А. Гостева, О. В. Окатова, А. С. Губарев, А. И. Гостев, Е. В. Сивцов, Г. М. Павлов*

3

---

## ПОЛИМЕРНЫЕ ГЕЛИ

Механические свойства гидрогелей поливинилового спирта: роль химических сшивок и физических узлов

*А. С. Семкина, И. В. Бакеева, Н. М. Кузнецов, А. Е. Крупнин, Т. Е. Григорьев, С. Н. Чвалун*

7

Биосовместимые молекулярно-импринтированные криогелевые матрицы для распознавания белка в биологических образцах

*М. С. Леонович, В. А. Коржиков-Влах, Е. Г. Коржикова-Влах, И. А. Гурьянов, О. Н. Бревнов, Т. Б. Тенникова*

23

---

## МЕДИЦИНСКИЕ ПОЛИМЕРЫ

Влияние хиральности фенилаланина в составе сополимера с L-лизином на самоорганизацию и свойства полученных наночастиц

*Е. Г. Коржикова-Влах, А. Ю. Джужа, В. Д. Матвиенко, Г. А. Платонова, Т. Б. Тенникова*

39

---

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОЛИМЕРЫ

Сополиарамид как барьерный материал

*А. Ю. Алентьев, Р. Ю. Никифоров, В. П. Шантарович, Н. А. Белов, Т. К. Мусина, И. В. Строева, С. И. Бандурян, Н. Г. Шишкина*

52

---

## КОМПОЗИТЫ

Сравнительное исследование механических и реологических свойств композиций ПЭНП с различными нанокремнеземными наполнителями

*М. М. Гасымов, Т. И. Мединцева, С. З. Роговина, О. П. Кузнецова, А. В. Шапагин, А. А. Берлин*

60

Распределение наполнителя в полимерных композитах. Роль размера частиц и концентрации

*Е. А. Павлючкова, А. Я. Малкин, Ю. В. Корнев, И. Д. Симонов-Емельянов*

69

Поведение спинового зонда ТЕМПО в композитах на основе полипропилена с разным содержанием одностенных углеродных нанотрубок

*Т. С. Янкова, Н. А. Чумакова, П. М. Недорезова, О. М. Палазник, А. И. Кокорин*

77

---

---

УДК 541.64:539.199

## ГИДРОДИНАМИЧЕСКИЕ И КОНФОРМАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МАКРОМОЛЕКУЛ ПОЛИ-*N*-ВИНИЛСУКЦИНИМИДА

© 2024 г. А. А. Гостева<sup>а</sup>, О. В. Окатова<sup>а</sup>, А. С. Губарев<sup>б</sup>, А. И. Гостев<sup>с</sup>,  
Е. В. Сивцов<sup>с</sup>, Г. М. Павлов<sup>а, \*</sup>

<sup>а</sup>Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”  
Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук  
199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31, Россия

<sup>б</sup>Санкт-Петербургский государственный университет. Физический факультет  
199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, Россия

<sup>с</sup>Санкт-Петербургский государственный технологический институт (Технический университет)  
198013 Санкт-Петербург, Московский пр., 26, Россия

\*e-mail: georges.pavlov@mail.ru

Поступила в редакцию 26.03.2024 г.

После доработки 16.04.2024 г.

Принята к публикации 24.04.2024 г.

Методами молекулярной гидродинамики изучены поли *N*-винилсукцинимиды, синтезированные методом классической радикальной полимеризации, в разбавленных растворах в диметилформамиде в 40-кратном интервале ММ. Получены молекулярные характеристики, скейлинговые соотношения, оценена равновесная жесткость молекул поли-*N*-винилсукцинимиды.

DOI: 10.31857/S2308112024010015 EDN: NLTBQW

### ВВЕДЕНИЕ

Одними из представителей широкого ряда *N*-виниловых полимеров являются *N*-винилсукцинимиды и их производные. Исследователи продолжают изучать потенциал их применения, создавая на их основе новые модифицированные полимеры и сополимеры, обнаруживающие возможности для более широкого использования [1]. Производные *N*-винилсукцинимиды и *N*-винилпирролидона применяются во многих областях медицины [2, 3]. Поли-*N*-винилсукцинимид (ПВСИ) и поли-*N*-винилпирролидон (ПВП) схожи по своей структуре, их повторяющиеся звенья отличаются только одной симметричной дополнительной карбонильной группой в боковом цикле. Водорастворимый поли-*N*-винилпирролидон изучен достаточно полно, в то время как информация об организации цепей поли-*N*-винилсукцинимиды в растворах крайне скудна. Поли-*N*-винилсукцинимиды (ПВСИ) впервые были синтезированы классической радикальной полимеризацией в растворе [4–6], а впоследствии и методом RAFT-полимеризации [7]. В результате RAFT-полимеризации были синтезированы ПВСИ с ММ в интервале  $5 < M \times 10^{-3} < 68$  г/моль. Метод классической радикальной

полимеризации позволяет получать полимеры значительно большей ММ. В настоящем сообщении мы приводим результаты гидродинамических исследований растворов поли-*N*-винилсукцинимиды в ДМФА, синтезированного методом классической радикальной полимеризации в более чем 40-кратном интервале молекулярных масс  $80 < M \times 10^{-3} < 3350$ .

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

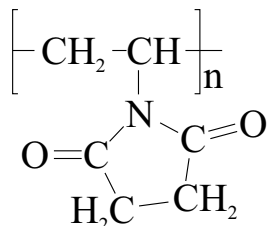
#### Объекты и методы исследований

Поли-*N*-винилсукцинимиды получали методом классической радикальной полимеризации в растворе ДМСО при 60°C, используя следующие концентрации мономера и инициатора:  $[N\text{-винилсукцинимид}] = 0.7$ ,  $[\text{ДАК}] = 1.65 \times 10^{-2}$  моль/л.

*N*-винилсукцинимид (ВСИ) синтезировали по методике [4, 5] и трижды перекристаллизовывали из раствора в изопропиловом спирте ( $T_{\text{пл.}} = 48.5^\circ\text{C}$ ,  $n_D^{50} = 1.5020$ ). ДАК дважды перекристаллизовывали из этанола при  $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$  и сушили в вакууме при 20°C до постоянной массы. Выход ПВСИ составил 79%. Один из полученных

образцов ПВСИ (табл. 1, образец 4) расфракционировали. Фракции получили из раствора концентрации 1 мас. % в хлороформе путем дробного осаждения этоксиэтаном. Этоксиэтан приливали до помутнения раствора, отстаивали в течение 1 ч, затем осадок отфильтровывали и сушили в вакууме при комнатной температуре. Таким образом последовательно получили четыре фракции.

Структурная формула ПВСИ приведена ниже.



Полимеры изучали комплексом методов молекулярной гидродинамики (вязкое течение разбавленных растворов, скоростная седиментация и поступательная диффузия). Методы и обработка первичных экспериментальных данных неоднократно излагалась в наших статьях и обзорах [8–10].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования провели в ДМФА при температуре 25°C, плотность ДМФА  $\rho_0 = 0.9447 \text{ г см}^{-3}$  и вязкость  $\eta_0 = 0.787 \text{ сП}$ . Фактор плавучести

ПВСИ в ДМФА  $(1 - \nu\rho_0) = 0.32 \pm 0.01$  ( $\nu$  — удельный парциальный объем) находили из измерений плотности растворов нескольких фракций. Значения  $[\eta]$ , определенные по Хаггинсу и Крэмеру, практически совпали, а средние значения параметров Хаггинса и Крэмера по всему массиву вискозиметрических данных составили  $k' = 0.30 \pm 0.03$  и  $k'' = -(0.17 \pm 0.02)$  соответственно.

В табл. 1 приведены гидродинамические характеристики индивидуальных макромолекул, их молекулярные массы и значения гидродинамических инвариантов.

### *Скейлинговые соотношения Куна–Марка–Хаувинка–Сакурады и равновесная жесткость цепей поли-N-винилсукцинимида*

Значения гидродинамических инвариантов  $A_0$  и  $\beta_s$  флуктуируют в ряду фракций, а их средние значения:  $A_0 = (3.15 \pm 0.05) \times 10^{-10}$  и  $\beta_s = (1.10 \pm 0.06) \times 10^7$  характерны для линейных полимерных систем. Дальнейшая интерпретация гидродинамических данных заключается в построении скейлинговых соотношений, связывающих гидродинамические характеристики с молекулярной массой, т.е. зависимостей Куна–Марка–Хаувинка–Сакурады (рис. 1):

$$[\eta] = 12.6 \times 10^{-2} M^{0.51 \pm 0.03}, r = 0.986, \quad (1)$$

$$D_0 = 1.07 \times 10^{-4} M^{-(0.50 \pm 0.02)}, r = -0.992, \quad (2)$$

**Таблица 1.** Характеристические вязкости  $[\eta]$ , коэффициенты поступательной диффузии  $D_0$ , коэффициенты скоростной седиментации  $s_0$ , концентрационные коэффициенты  $k_s$ , молекулярные массы  $M_{SD}$  и гидродинамические инварианты  $A_0$  и  $\beta_s$  поли-N-винилсукцинимида в ДМФА при 25°C

Образец	$[\eta]$ , см <sup>3</sup> /г	$D_0 \times 10^7$ , см <sup>2</sup> /с	$s_0 \times 10^{13}$ , с	$k_s$ , см <sup>3</sup> /г	$M_{SD} \times 10^{-3}$ , г/моль	$A_0 \times 10^{10}$ , г см <sup>2</sup> /с <sup>2</sup> К моль <sup>1/3</sup>	$\beta_s \times 10^{-7}$ моль <sup>-1/3</sup>
1	254	0.60	26	454	3355	3.27	1.32
2*	182	0.95	17	318	1386	3.45	1.38
3*	143	1.0	13	192	1007	3.01	1.11
4	125	1.15	9.7	96	653	2.87	0.87
5	119	1.35	9.9	98	566	3.16	0.99
6	108	1.40	10.5	180	581	3.20	1.26
7*	84	1.90	6	69	245	3.00	0.93
8	80	2.0	7.4	98	287	3.27	1.16
9	64	2.25	6.8	118	234	3.19	1.30
10	59	2.2	5.6	53	197	2.87	0.92
11	56	2.50	5.3	21	164	3.01	0.72
12*	46	3.90	4.1	42	81.4	3.48	1.13
13	39	3.50	4.7	62	104	3.22	1.25
Среднее						3.15±0.05	1.10±0.06

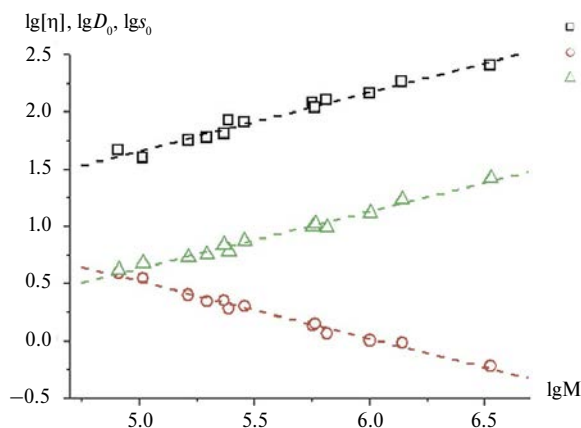
\*Фракции, полученные из образца ПВСИ 4. Не отмеченные звездочкой — нефракционированные образцы.

$$s_0 = 1.26 \times 10^{-15} M^{0.50 \pm 0.02}, r = 0.992 \quad (3)$$

Значения скейлинговых индексов  $b_\eta$ ,  $b_D$  и  $b_s$  свидетельствуют о том, что ДМФА при 25°C практически проявляет себя как термодинамически идеальный растворитель для ПВСИ, поскольку  $b_\eta \approx b_D \approx b_s = 0.50$ . В связи с этим дальнейшая интерпретация, заключающаяся в оценке равновесной жесткости полимерных цепей, должна базироваться на теориях Хирста–Штокмайера [11] и/или Ямакавы–Фудзии [12], описывающих поведение линейных цепей в отсутствие внутримолекулярных объемных эффектов. Результат обеих теорий может быть представлен в следующем виде:

$$[s]N_A P = \left( M^2 \Phi / [\eta] \right)^{1/3} = \left( M_L / A \right)^{1/2} M^{1/2} + (P M_L / 3\pi) \left[ \ln(A / d) - \varphi(0) \right] \quad (4)$$

Здесь  $[s]$  – характеристический коэффициент седиментации,  $N_A$  – число Авогадро,  $P$  и  $\Phi$  – параметры Флори для поступательного и вращательного трения,  $A$  – длина статистического сегмента Куна,  $d$  – гидродинамический диаметр цепи,  $M_L$  – линейная плотность цепи (масса единицы длины),  $\varphi(0)$  – свободный член, описывающий молекулярное протекание. Массу единицы длины  $M_L$  оценивали на основе структурной формулы повторяющегося звена и рассчитывали по формуле  $M_L = M_0 / \lambda = 49.6 \times 10^8$  г/см моль,  $M_0$  – масса повторяющегося звена цепи,  $M_0 = 125$  г/моль.



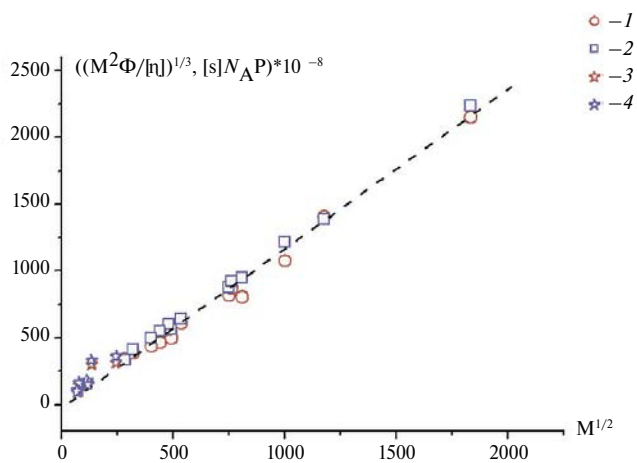
**Рис. 1.** Логарифмические зависимости характеристической вязкости (1), коэффициентов диффузии (2) и седиментации (3) поли-*N*-винилсукцинимидов от молекулярной массы. Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

Эти теории различаются лишь в оценке диаметра цепи вследствие различия коэффициента  $\varphi(0)$ , а именно,  $\varphi_{HS}(0) = 1.431$  для цепей жемчужного ожерелья [11], и  $\varphi_{YF}(0) = 1.056$  для модели персистентного цилиндра [12].

Современный тренд при оценке и сопоставлении равновесной жесткости линейных цепей склоняется к тому, что размеры цепей и оценки равновесной жесткости линейных цепей, получаемые разными методами, а именно методом поступательного трения ( $D_0$  и/или  $s_0$ ) и методом вращательного трения ( $[\eta]$ ), при условии  $c \rightarrow 0$ , должны совпадать. Это означает, что параметры  $\Phi$  и  $P$  могут быть в известных пределах индивидуализированы для конкретных полимерных систем таким образом, чтобы используемые теоретические значения параметров  $P$  и  $\Phi$  приводили к теоретическому значению  $A_0^{\text{theor}} \equiv k_B P^{-1} \Phi^{1/3}$ , практически совпадающему со средним экспериментальным значением  $A_0^{\text{exp}}$ .

В нашем случае экспериментальное значение  $A_0^{\text{exp}} = (3.15 \pm 0.05) \times 10^{-10}$  практически совпадает с теоретическим значением  $A_0^{\text{theor}} = 3.13 \times 10^{-10}$ , получаемым из теоретических значений параметров  $\Phi^{\text{theor}} = 2.51 \times 10^{23}$  и  $P^{\text{theor}} = 5.99$  [13–15]. Эти значения  $\Phi^{\text{theor}}$  и  $P^{\text{theor}}$  мы использовали при построении зависимости и при количественных оценках длины статистического сегмента  $A$  и гидродинамического диаметра  $d$  (рис. 2).

Несмотря на более, чем 40-кратный интервал молекулярных масс, отсекаемый отрезок, по которому оценивается гидродинамический диаметр  $d$ , определен с погрешностью более 80%, тогда как погрешность наклона, по которому



**Рис. 2.** Зависимости  $[s]N_A P$  (1, 3) и  $(M^2 \Phi / [\eta])^{1/3}$  (2, 4) от  $M^{1/2}$ , используемые для оценки статистического сегмента Куна и гидродинамического диаметра из данных поступательного и вращательного трения для поли-*N*-винилсукцинимидов, полученных методом классической радикальной полимеризации (1, 2) и RAFT-полимеризацией (3, 4) [7].

определяется длина статистического сегмента  $A$ , составляет меньше 2%. В результате были получены следующие оценки:  $A = (35 \pm 1) \times 10^{-8}$  см,  $d = (20 \pm 11) \times 10^{-8}$  см. В качестве оптимального значения диаметра цепи ПВСИ можно рассматривать его минимальную оценку  $d = 9 \times 10^{-8}$  см, которая коррелирует с величиной  $8.6 \times 10^{-8}$  см, получаемой из оценки диаметра цепи с использованием парциального удельного объема:  $d = (4M_L v / \pi N_A)^{1/2}$  [16]. Отметим, что полученные оценки удовлетворительно коррелируют с результатами для образцов ПВСИ, синтезированных методом RAFT-полимеризации (рис. 2, точки 3, 4).

Сравним полученные оценки  $A$  и  $d$  с аналогичными оценками химического “родственника” ПВСИ — поли(1-винил-2-пирролидона) (ПВП). Длина сегмента Куна цепей ПВП была определена ранее в водном растворе [17] и составила  $A_{\text{ПВП}} = (22 \pm 3) \times 10^{-8}$  см, при этом  $d_{\text{ПВП}} = (4 \pm 1) \times 10^{-8}$  см. Это в полтора раза меньше, чем для цепей ПВСИ. Таким образом, появление второй карбонильной группы в боковом радикале цепи поли  $N$ -винилсукцинимида приводит к дополнительному торможению вращения в основной цепи ПВСИ и увеличению равновесной жесткости по сравнению с цепями поли(1-винил-2-пирролидона) больше, чем в 1.5 раза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В достаточно широком интервале ММ изучены гидродинамические характеристики цепей малоизученного поли  $N$ -винилсукцинимида в ДМФА при 25°C. Совокупность коэффициентов скоростной седиментации и коэффициентов поступательной диффузии привела к определению ММ образцов и фракций. Сопоставление характеристических вязкостей, коэффициентов седиментации и поступательного трения с ММ позволило получить серию скейлинговых соотношений типа Куна–Марка–Хаувинка–Сакурады, которые удовлетворительно коррелируют между собой и свидетельствуют о том, что в системе ПВСИ–ДМФА при 25°C практически не проявляются внутрицепные объемные эффекты. С использованием соответствующих теорий была проведена оценка длины статистического сегмента цепей ПВСИ, которая более чем в 1.5 раза больше таковой для поли(1-винил-2-пирролидона), имеющего всего одну карбонильную группу в боковом цикле макромолекулы.

Авторы выражают благодарность И.И. Гавриловой (ИВС РАН) за фракционирование образца ПВСИ.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Национального исследовательского центра “Курчатовский институт” (тема 124013000727-3).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Levit M., Vdovchenko A., Dzhuzha A., Zashikhina N., Katernyuk E., Gostev A., Sivtsov E., Lavrentieva A., Tennikova T., Korzhikova-Vlakh E. // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. 11457.
2. Панарин Е.Ф., Лавров Н.А., Соловский М.В., Шальнова Л.И. Полимеры — носители биологически активных веществ. СПб: ЦОП Профессия, 2014.
3. Шальнова Л.И., Лавров Н.А. // *Пласт. массы.* 2023. № 5–6. С. 44.
4. Nikolaev A.F., Ushakov S.N. // *Bull. Acad. of Sciences of the USSR. Division of Chemical Science.* 1957. V. 6. № 10. P. 1257.
5. Даниэль Н.В. Николаев А.Ф. // *Высокомолек. соед.* 1966. Т. 8. № 3. С. 465.
6. Schlumbom P.Ch. Diplom-Chemiker Deutscher Staatsangehöriger Beitrag zur Polymerisation des  $N$ -Vinylsuccinimids. Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich, Zürich: Juris-Verlag, 1960.
7. Pavlov G.M., Okatova O.V., Gosteva A.A., Gubarev A.S., Gostev A.I., Sivtsov E.V. // *Colloid Polym. Sci.* 2019. V. 297. P. 1213.
8. Pavlov G.M., Perevyazko I., Okatova O.V., Schubert U.S. // *Methods.* 2011. V. 54. P. 124.
9. Perevyazko I., Gubarev A.S., Pavlov G.M. // *Molecular Characterization of Polymers. A Fundamental Guide/* Ed. by M.I. Malik, J.Mays, M.R. Shah. Elsevier, 2021. Ch. 6. P. 223.
10. Pavlov G.M. // *Analytical Ultracentrifugation: Instrumentation, Software, and Applications /* Ed. by S. Uchiyama, F. Arisaka, W.F. Stafford, T. Laue. Tokyo: Springer, 2016.
11. Hearst J., Stockmayer W. // *J. Chem. Phys.* 1962. V. 37. № 7. P.1425.
12. Yamakawa H., Fujii M. // *Macromolecules.* 1973. V. 6. № 3. P. 407.
13. Zimm B.H. // *Macromolecules.* 1980. V. 13. № 3. P. 592.
14. de la Torre J.G., Jimenez A., Freire J. // *Macromolecules.* 1982. V. 15. № 1. P. 148.
15. de la Torre J.G., Martínez L.M., Tirado M., Freire J. // *Macromolecules.* 1984. V. 17. № 12. P. 2715.
16. Fujita H. *Polymer Solutions.* Amsterdam: Elsevier, 1990.
17. Pavlov G.M., Panarin E.F., Korneeva E.V., Kurochkin E.V., Baikov V.E., Uschakova V.N. // *Makromolek. Chem.* 1990. V. 191. P. 2889.

УДК 541.64:539.(2+3)

## МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГИДРОГЕЛЕЙ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА: РОЛЬ ХИМИЧЕСКИХ СШИВОК И ФИЗИЧЕСКИХ УЗЛОВ

©2024 г. А. С. Семкина<sup>a,b,\*</sup>, И. В. Бакеева<sup>c</sup>, Н. М. Кузнецов<sup>a</sup>,  
А. Е. Крупнин<sup>a</sup>, Т. Е. Григорьев<sup>a,c</sup>, С. Н. Чвалун<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup>Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”  
123182 Москва, пл. Академика Курчатова, 1, Россия

<sup>b</sup>Институт синтетических полимерных материалов  
им. Н.С. Ениколопова Российской академии наук  
117393 Москва, ул. Профсоюзная, 70, Россия

<sup>c</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
“МИРЭА — Российский технологический университет”, Институт тонких химических технологий  
им. М.В. Ломоносова  
119571 Москва, пр. Вернадского, 86, Россия

\*e-mail: [anya.semkina.97@bk.ru](mailto:anya.semkina.97@bk.ru)

Поступила в редакцию 02.02.2024 г.

После доработки 29.05.2024 г.

Принята к публикации 13.06.2024 г.

Исследована реокинетика гелеобразования систем на основе водного раствора поливинилового спирта с химическими сшивками и физическими узлами, в том числе гибридных. Для получения гидрогелей в качестве сшивающих компонентов использовали глутаровый альдегид и/или тетраметоксисилан. Установлено, что на начальном этапе гелеобразования (до достижения критической конверсии гелеобразования) эффективность процесса определяется не химической природой сшивки сетки, а концентрацией сшивающего агента. Выполнен сравнительный анализ механических свойств химических, физических и гибридных гидрогелей при разной температуре. Проведение испытаний в квазистатических условиях на одноосное сжатие и растяжение позволило выявить вклад узлов и сшивок сетки в поведение гибридных гидрогелей и их отличительные особенности.

DOI: 10.31857/S2308112024010025 EDN: NLOVFH

### ВВЕДЕНИЕ

Среди невероятного многообразия полимерных материалов особое место занимают гели. Ввиду регулируемых механических характеристик, возможности получения стимул-чувствительных, а также биоразлагаемых и биосовместимых составов, гели находят применение в самых разных областях: для доставки лекарственных средств [1, 2], при создании тканеинженерных конструкций [3], в электронных устройствах [4], элементах робототехнических узлов [5] и т.д. Отличительной особенностью гелей является возможность направленного регулирования их физико-механических свойств за счет изменения химического состава (как природы полимера, так и сшивающего агента) или молекулярно-массовых характеристик используемого полимера.

Полимерные гели представляют собой гетерогенную систему, состоящую из пространственной

макромолекулярной сетки полимера и молекул абсорбированной жидкости [6, 7]. В зависимости от типа иммобилизованного растворителя полимерные гели относят к органо- или гидрогелям. Последние находят применение в важных для жизни человека областях: пищевой промышленности [8], биоаналитической химии, биотехнологии (в частности для адресной доставки лекарственных средств), мягкой робототехнике и регенеративной медицине [9–15]. В связи с этим создание материалов на основе гидрогелей с регулируемыми механическими свойствами является перспективной областью исследований современной полимерной науки.

Природа связей между полимерными цепями в сетке геля определяет его тип: физический или химический. Химические гели формируются за счет образования ковалентных связей между макромолекулами, физические — из-за

нековалентного взаимодействия между цепями (водородные, ионные связи или силы Ван-дер-Ваальса) [16]. Введение дополнительных компонентов в полимерный гель позволяет классифицировать их как наполненные (или композитные). Гибридные гели сочетают в своей структуре узлы как химической, так и физической природы (помимо присутствующих топологических зацеплений макромолекул) [17]. Подобная комбинация открывает возможности для регулирования структурных параметров сеток и получения материалов с нужными механическими характеристиками [18, 19].

Поливиниловый спирт (ПВС) широко используют для получения гелей различного типа (химических, физических и гибридных) за счет наличия у него гидроксильных групп [20, 21]. Гидрогели на основе ПВС привлекают большое внимание благодаря своей низкой токсичности, высокому водопоглощению, хорошим механическим свойствам и биосовместимости [21]. Они находят применение в сельском хозяйстве и суперабсорбентах [22], в биомедицине [23] (носители для доставки лекарств, каркасы тканевой инженерии, искусственные ткани и органы для имплантации, биосенсоры, перевязочные материалы для ран) и при создании мягких роботизированных механизмов [24].

На сегодняшний день достаточно хорошо изучены химические гидрогели ПВС, для синтеза которых используют бифункциональный сшивающий агент, например глутаровый альдегид (ГА) [25–28]. Разнообразие продуктов золь-гель-реакции алкоксиланов позволяет получать гидрогели на основе ПВС с физическими и химическими узлами сетки [29–32]. Гидроксильные группы ПВС реагируют с силанольными группами гидролизованного алкоксисилана с образованием как водородных, так и ковалентных связей Si–O–C, причем наличие последних частично ограничивает возникновение физических (водородных) связей [29]. Одновременное использование двух сшивающих компонентов, ГА и тетраэтоксисилана, приводит к формированию гибридных гидрогелей на основе ПВС [33–36]. В этом случае происходит образование химических связей между молекулами ПВС, ГА и олигоорганосилоновыми цепочками ( $Si_{\text{комп}}$ ) – продуктами гидролитической поликонденсации алкоксисилана, а также отдельных крупных частиц  $SiO_2$  [35, 36]. Известно [36], что молекулы ГА предпочитают реагировать с  $Si_{\text{комп}}$  и только во вторую очередь вступают в реакции сшивания цепей ПВС. Таким образом, особенность данной системы определяется не только реакционной способностью ГА и гидролизованного алкоксисилана по отношению к макромолекулам ПВС, но и к реакциям между собой, что при формировании геля приво-

дит к появлению разных по химической природе связей и узлов сетки.

Ранее в гибридных гелях состава ПВС/ГА/ $Si_{\text{комп}}$  было подтверждено образование химических связей между цепями ПВС и продуктами гидролитической поликонденсации алкоксисилана, а также молекулами ГА, показано влияние сшивок на кристалличность геля [34–36]. Однако в этих работах не было изучено влияние структуры и природы межцепных связей на механические характеристики с целью направленного регулирования свойств, что обуславливает актуальность исследований, представленных в данной работе.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### *Материалы и методы*

Для получения гидрогелей использовали поливиниловый спирт (“Sigma-Aldrich”, США) со степенью деацетилирования 99% и  $M_w = 130$  кг/моль, тетраметоксисилан (ТМОС) (“Acros Organics”, США); чистота 99%, глутаровый альдегид (“Sigma-Aldrich”, США) 50 мас. % раствор в воде, хлороводородная кислота (HCl, х. ч., 37 мас. %, “Компонент Реактив”, Россия). Все реактивы применяли без дополнительной очистки. В качестве иммобилизованного растворителя использовали деионизованную воду, подготовленную на установке “Millipore MilliQ” (“Merck KGaA”, Германия).

### *Синтез гидрогелей на основе поливинилового спирта*

Для получения гидрогелей готовили водные растворы ПВС с концентрацией 6.0 мас. % ( $[PVC]_{\text{исх}}$ ). Необходимую навеску сухого полимера заливали расчетным количеством воды и оставляли набухать на 1 сутки, после чего раствор выдерживали на водяной бане (при температуре  $88 \pm 2^\circ\text{C}$  и постоянном перемешивании) до полного растворения полимера.

Реакционные системы для синтеза гидрогелей получали путем смешения соответствующего водного раствора ПВС и сшивающего компонента в заданных соотношениях (табл. 1).

Для получения гидрогелей с физическими узлами (**система Ф**) к водному раствору ПВС прикапывали 1 М раствор HCl ( $\text{pH} \leq 4$ ) и добавляли ТМОС, реакционную систему перемешивали на магнитной мешалке “MR Hei-Tec” (“Heidolph”, Германия) в течение 15 мин при комнатной температуре (с частотой вращения 400 об/мин). Для синтеза гидрогелей, формируемых химическими узлами (**система Х**), к водному раствору ПВС прикапывали 37 мас. % раствор HCl (5 мкл HCl на 5 г раствора ПВС;  $\text{pH} \leq 3$ ), по-



Таблица 1. Соотношения компонентов в исходных реакционных системах

Реакционная система	Гель	Соотношение		
		ГА : ТМОС, моль	ГА : ТМОС*, моль	[ГА] : [ТМОС]**, мас. %
Ф: (водный раствор ПВС+HCl) + ТМОС	Ф.1	—	0 : 0.05	0 : 1.05
	Ф.2	—	0 : 0.1	0 : 2.10
	Ф.3	—	0 : 0.2	0 : 4.20
	Ф.4	—	0 : 0.4	0 : 8.40
Х: (водный раствор ПВС+HCl) + ГА	Х.1	—	0.005 : 0	0.07 : 0
	Х.2	—	0.010 : 0	0.14 : 0
	Х.3	—	0.050 : 0	0.70 : 0
Г: (водный раствор ПВС+HCl) + ГА + ТМОС	Г1.1	1 : 1	0.005 : 0.005	0.07 : 0.10
	Г1.2	1 : 4	0.005 : 0.02	0.07 : 0.42
	Г1.3	1 : 10	0.005 : 0.05	0.07 : 1.05
	Г1.4	1 : 20	0.005 : 0.1	0.07 : 2.10
	Г2.1	1 : 0.5	0.01 : 0.005	0.14 : 0.10
	Г2.2	1 : 1	0.01 : 0.01	0.14 : 0.21
	Г2.3	1 : 5	0.01 : 0.05	0.14 : 1.05
	Г3.1	1 : 0.1	0.05 : 0.005	0.70 : 0.10
	Г3.3	1 : 1	0.05 : 0.05	0.70 : 1.05

\*В расчете на осново-моль ПВС.

\*\*В расчете на ПВС.

сле чего сразу вводили 5 мас. % раствор ГА, реакционную смесь перемешивали на магнитной мешалке в течение 10 мин при комнатной температуре (с частотой вращения 400 об/мин). Для синтеза гибридных гидрогелей (система Г) к водному раствору ПВС прикапывали 37 мас. % раствор HCl (5 мкл HCl на 5 г раствора ПВС; pH ≤ 3) и сразу вводили 5 мас. % раствор ГА, перемешивали 5 мин на магнитной мешалке, затем приливали ТМОС и реакционную смесь перемешивали на магнитной мешалке в течение 10 мин при комнатной температуре (с частотой вращения 400 об/мин). Количество ТМОС изменяли от 20-кратного избытка и до долей, меньших более чем на порядок, относительно одного моля ГА.

Полученные реакционные системы разливали в емкости разной формы и объема в зависимости от требований к геометрии и размерам образца гидрогеля для проведения конкретного исследования. Емкости плотно закрывали и выдерживали на горизонтальной поверхности при комнатной температуре в течение трех суток.

#### Сублимационная сушка образцов

Перед сублимационной сушкой на установке "Alpha 2-4 LDplus" ("Martin Christ", Германия) образцы полученных гидрогелей замораживали

в морозильной камере холодильника ХЛ-340-1 ("POZIS", Россия) (−24°C) в течение 5 ч. Замороженные гели помещали в камеру установки и сушили 72 ч под вакуумом 0.250 мбар при температуре конденсатора −72°C. Перед извлечением из камеры установки образцы гелей выдерживали 2 ч с глубиной вакуума 0.010 мбар, температуру не изменяли. Массу лиофильно высушенных образцов использовали для расчета степени плотности сшивки в гидрогелях.

#### Реологические исследования

Реологические измерения проводили на реометре "Physica MCR-501" ("Anton Paar", Германия) (со встроенной системой Пельтье). Время гелеобразования (время достижения системой критической конверсии гелеобразования) определяли, используя геометрию измерительной системы плоскость–плоскость и конус–плоскость, расстояние между конусом и плитой составляло 5 мкм,  $T = 25^\circ\text{C}$ . Амплитуда деформации составляла 1%, угловая частота 10 рад/с.

Частотные зависимости модулей накоплений и потерь получали на геометрии измерительной системы плоскость–плоскость с диаметром 25 мм,  $T = 25^\circ\text{C}$  при малом значении амплитуды деформации 0.1%. Угловую частоту варьировали

от 100 до 0.1 рад/с. Для данного исследования образцы гидрогелей получали в виде пластин с толщиной не более 1 мм. Во всех случаях амплитуда деформации находилась в линейном диапазоне вязкоупругих свойств.

Во избежание высыхания образцов во время эксперимента по краю измерительной геометрии наносили слой силиконового масла низкой вязкости (3.68 сП).

Реологические измерения образцов на основе реакционных систем проводили, варьируя мольные соотношения компонентов в широком диапазоне, для оценки вклада каждого из них.

Молекулярную массу цепи между узлами сетки/сшивками оценивали по формуле [37]:

$$G = RT \frac{C_{2r}}{M_c} \left(1 - \frac{2M_c}{M_n}\right) Q^{-\frac{1}{3}} \quad (1)$$

Здесь  $G$  — модуль сдвига,  $C_{2r}$  — концентрация полимера в растворе (г/см<sup>3</sup>),  $M_c$  — молекулярная масса цепи между узлами сетки/сшивками,  $M_n$  — средняя молекулярная масса полимера,  $Q$  — степень равновесного набухания, рассчитанная:

$$Q = \frac{v_{2,r}}{v_{2,s}}, \quad (2)$$

где  $v_{2,s}$  и  $v_{2,r}$  — объемная доля полимера после набухания и в релаксированном состоянии.

Плотность сшивки находили как:

$$n = \frac{\rho}{M_c} \quad (3)$$

( $\rho$  — плотность полимера).

#### Набухание гелей

Для исследования процесса набухания насыщенных гидрогелей образцы помещали в водную среду при температуре  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Объем воды брали в десятикратном избытке по отношению к объему гидрогеля. Степень набухания рассчитывали по формуле:

$$\alpha = \frac{m_2 - m_1}{m_1}, \quad (4)$$

где  $m_2$  — масса набухшего образца,  $m_1$  — масса исходного образца.

В соответствии с теорией Флори [38–40] среднюю молекулярную массу отрезка цепи между сшивками вычисляли следующим образом:

$$\frac{1}{M_c} = \frac{2}{M_n} + V_e \quad (5)$$

Здесь  $M_n$  — средняя молекулярная масса полимера,  $V_e$  — эффективное число цепей на единицу объема, которое определяется:

$$V_e = \frac{\left(\frac{\bar{v}}{V_1}\right) \left[ \ln(1 - v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi v_{2,s}^2 \right]}{v_{2,r} \left[ \left(\frac{v_{2,s}}{v_{2,r}}\right)^{\frac{1}{3}} - \frac{1}{2} \left(\frac{v_{2,s}}{v_{2,r}}\right) \right]}, \quad (6)$$

где  $\bar{v}$  — удельный объем полимера,  $V_1$  — молярный объем растворителя,  $v_{2,s}$  и  $v_{2,r}$  — объемная доля полимера после набухания и в релаксированном состоянии,  $\chi$  — параметр взаимодействия полимера с растворителем ( $\chi = 0.49$  [41]). Расчеты  $v_{2,s}$  и  $v_{2,r}$  проводили согласно известному подходу, описанному в работе [40].

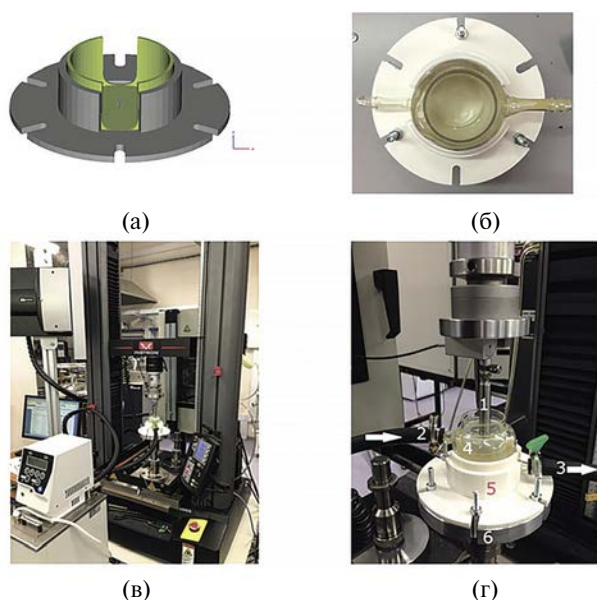
Плотность сшивки рассчитывали по формуле:

$$n = \frac{1}{\bar{v}M_c} \quad (7)$$

#### Изучение физико-механических свойств гидрогелей

Поведение гидрогелей при одноосном сжатии при температуре  $25^\circ\text{C}$  изучали с помощью настольной универсальной испытательной машины “Instron 34SC-1” (“IllinoisToolWorksInc.”, США), оснащенной датчиком нагрузки  $\pm 50$  Н и биованной Biopuls. Измерения при  $80^\circ\text{C}$  проводили с использованием универсальной двухколонной испытательной машины “Instron 5965” (“IllinoisToolWorksInc.”, США), дополнительно оснащенной кюветой и термостатом. Смена испытательной системы связана с ограничениями по температуре нагрева биованны. Для крепления кюветы спроектировали и изготовили оснастку в форме жесткого фланца и гибкого стакана. Трехмерные модели фланца и стакана построены в системе автоматизированного проектирования SolidWorks (“DassaultSystèmes SE”, Франция) таким образом, чтобы обеспечить жесткую фиксацию кюветы на неподвижной плите испытательной машины. 3D-модель оснастки показана на рис. 1а.

3D-принтер “Zortrax M200” (“Zortrax”, Польша) и коммерческие материалы на основе акрилонитрилбутадиенстирола (“Bestfilament”, Россия) и термопластичного полиуретана (REC, Россия) использовали для изготовления фланца



**Рис. 1.** Система для проведения механических испытаний на сжатие при температуре 80°C: а — 3D-модель оснастки; б — изготовленная оснастка и кювета; в — общий вид испытательного стенда; г — испытательный стенд: 1 — верхняя подвижная плита, 2 — входной патрубков (вход в термостатирующую рубашку измерительной кюветы), 3 — выходной патрубков (выход из термостатирующей рубашки измерительной кюветы), 4 — измерительная кювета с термостатирующей рубашкой), 5 — оснастка в сборе (фланец и стакан), 6 — нижняя неподвижная плита. Цветные рисунки доступны в электронной версии.

и стакана соответственно. В конструкции фланца предусмотрены пазы для крепления к неподвижной плите испытательной машины и борта для фиксации кюветы в гибком стакане, исключая перемещения системы как жесткого целого, возникающие в процессе испытаний, и протекания жидкости (рис. 1б). Общий вид испытательного стенда показан на рис. 1в, подробная схема с кюветой и термостатом представлена на рис. 1г.

Для экспериментов на одноосное сжатие образцы гидрогелей вырубали штампом цилиндрической формы с высотой  $15 \pm 3$  и диаметром  $8 \pm 2$  мм непосредственно перед испытаниями.

Для более полного понимания механического поведения полученных материалов дополнительно проводили серию испытаний на одноосное растяжение при комнатной температуре на универсальной двухколонной испытательной машине “Instron 5965”. Образцы вырубали непосредственно перед экспериментами из пластин толщиной  $1.5 \pm 0.2$  мм штампом в форме лопатки с шириной рабочей зоны  $10.5 \pm 0.3$  мм.

Для оценки влияния разных типов узлов и сшивок на механическое поведение гидрогелей испытания на одноосное сжатие осуществляли в двух режимах: квазистатическом (скорость деформации

0.1%/мин) и динамическом (скорость деформации 50%/мин) в диапазоне деформаций до 15 и 80% соответственно. Испытания на одноосное растяжение проводили в квазистатическом режиме (скорость деформации 1%/мин) в диапазоне деформаций до 45%. Модуль Юнга  $E$  рассчитывали на линейном участке зависимости напряжения от деформации.

Перед проведением испытаний все образцы гидрогелей выдерживали в десятикратном избытке воды не менее 1.5 ч (до достижения образцами состояния равновесного набухания), что позволяет удалить золь-фракцию из образцов.

Гидрогели при деформации подвержены потере воды, повышение температуры приводит к более заметному выделению воды и к кажущемуся увеличению значения модуля Юнга. Другими словами, такие изменения являются результатом снижения количества иммобилизованной воды и следующих за этим преобразований в структуре геля. Чтобы избежать потери воды и высыхания гидрогелей во время проведения экспериментов, все испытания равновесно набухших образцов на сжатие проводили в водной среде с предварительным термостатированием в течение 10 мин при соответствующей температуре.

Для описания механического поведения гидрогелей использовали двухпараметрическую модель Муни–Ривлина [42–44]:

$$\frac{\sigma}{\lambda - \frac{1}{\lambda^2}} = 2 \left[ C_{10} + \frac{1}{\lambda} C_{01} \right], \quad (8)$$

где  $\sigma$  — напряжение,  $\lambda$  — кратность удлинения/сжатия,  $C_{10}$  и  $C_{01}$  — подлежащие определению экспериментальные константы.

$$G = 2C_{10} \quad (9)$$

Для всех исследуемых образцов были построены зависимости

$$\sigma / \left( \lambda - \frac{1}{\lambda^2} \right)$$

от  $1/\lambda$ , где в упругой области находили  $C_{10}$ . Для расчета молекулярной массы цепи между узлами сетки/сшивками и плотности сшивок использовали формулы (1) и (3).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### *Синтез гидрогелей на основе растворов поливинилового спирта*

Для синтеза гидрогелей с воспроизводимыми свойствами определяли рабочие concentra-

ции гелеобразующих компонентов в исходном растворе. Для ПВС с  $M_w = 130$  кг/моль, значение критической концентрации перекрывания клубков полимера в растворе ( $C_{кр. ПВС}^*$ ) составляет 1 мас. %. В работе использовали концентрацию ПВС ( $[ПВС]_{исх} = 6.0$  мас. %) выше, чем  $C_{кр. ПВС}^*$ . В таком растворе происходит взаимное проникновение клубков полимера, возникают топологические зацепления между макромолекулами, затрудняющие перемещение цепей полимера по объему раствора.

Для определения минимально необходимых концентраций сшивающих компонентов ГА и ТМОС проводили качественные эксперименты. Эффективность гелеобразования определяли по состоянию системы через 1 сутки (вязкотекучая жидкость/монолитный гель), фиксировали наличие или отсутствие синерезиса в процессе формирования геля, проверяли, обладает ли гель упругими свойствами при кратковременном надавливании (деформации сжатия).

Синтез осуществляли в кислой среде, учитывая особенности химических реакций ГА и ТМОС с ПВС. Сшивание цепей ПВС с помощью ГА проводят при низких значениях рН раствора для активации ОН-групп цепей полимера к реакции конденсации с карбонильными группами ГА [25, 27, 28]. При гидролитической поликонденсации алкоксисилана в присутствии кислотного катализатора преимущественно образуются линейные или слаборазветвленные олигоалкоксисилоксаны ( $n$ -меры кремниевой кислоты), а гелеобразование происходит путем агломерации кластеров, которые конденсируются вплоть до образования частиц аморфного кремнезема [31, 45].

Качественные эксперименты позволили установить, что практически все полученные химические гидрогели состава ПВС/ГА прозрачные (табл. 1, система X), и только у гидрогеля X.3, образующегося из системы с соотношением компонентов 0.05 : 1.0 моль ГА/осново-моль ПВС, появляется опалесценция. Синерезис характерен для образцов гидрогелей, полученных при соотношении выше 0.005 : 1.0 моль ГА/осново-моль ПВС (X.1), причем, чем больше ГА, тем сильнее он проявляется. Такие свойства, как упругость и прочность появляются у гелей из реакционных систем начиная с соотношения компонентов, равного 0.005 : 1.0 моль ГА/осново-моль ПВС, что соответствует 1 молекуле ГА на 200 звеньев ПВС. Таким образом, было определено минимальное соотношение сшивающего агента ГА к полимеру для дальнейших исследований.

Прозрачный физический гель ПВС/ $Si_{комп}$  (табл. 1, система Ф) формируется при соотношении 0.05 : 1.0 моль ТМОС/осново-моль ПВС (Ф.1), что соответствует 1 молекуле ТМОС на 20

звеньев ПВС и на порядок больше по сравнению с содержанием ГА в химических гелях. Однако при такой концентрации ТМОС образующийся гель не сохраняет первоначальную форму при извлечении и деформации. У гелей с соотношением исходных компонентов 0.4 : 1.0 моль ТМОС/осново-моль ПВС (Ф.4) появляется опалесценция. Для образцов гидрогелей, полученных в диапазоне концентраций исходных компонентов от 0.1 до 0.4 моль ТМОС/осново-моль ПВС, синерезис не наблюдали, они не обладали способностью к полному восстановлению после надавливания на них. Важно отметить, что гели, образующиеся на основе системы ПВС + ТМОС без добавления кислотного катализатора (HCl) при соотношении от 0.1 : 1.0 до 0.4 : 1.0 моль ТМОС/осново-моль ПВС, представляли собой непрозрачные, белые, пастообразные, не способные держать форму гелевые образцы. Эксперименты подтвердили результативность и необходимость добавления кислотного катализатора для гидролиза ТМОС при формировании гидрогелей. Таким образом, соотношение сшивающего агента, ТМОС, к полимеру, равное 0.05 : 1.0 моль ТМОС/осново-моль ПВС, закреплять как минимальное для дальнейшей работы.

На основании результатов качественных экспериментов были выбраны соотношения компонентов для синтеза гибридных гидрогелей на основе трех компонентов (ПВС + ГА + ТМОС). В качестве минимальных количеств были выбраны 0.005 : 0.005 : 1.0 моль ГА/моль ТМОС/осново-моль ПВС, а максимальных — 0.05 : 0.05 : 1.0 моль ГА/моль ТМОС/осново-моль ПВС. Для этих соотношений компонентов были получены прозрачные прочные и упругие гели. Гидрогели состава ПВС/ГА/ $Si_{комп}$  можно отнести к типу гибридных, поскольку в процессе их формирования должны возникать как химические сшивки, так и физические узлы между компонентами.

Отметим, что при формировании как химических, так и гибридных гидрогелей при соотношениях ГА : ПВС в реакционной системе 0.01 : 1.0 моль ГА/осново-моль ПВС и выше наблюдали синерезис. Вероятно, образцы химических и гибридных гидрогелей к моменту завершения гелеобразования находятся в напряженном состоянии из-за значительного сближения и перекрывания элементов сетки геля.

Таким образом, качественные эксперименты позволили определить соотношения гелеобразующих компонентов, минимально необходимые для получения однородных прозрачных прочных и упругих гидрогелей.

#### *Изучение гелеобразования реологическими методами*

Важным параметром гелевых систем является время, необходимое для протекания реакции

сшивания макромолекул и достижения критической конверсии гелеобразования. Известно, что точка пересечения модуля накоплений  $G'$  и модуля потерь  $G''$  соответствует точке гелеобразования только в ряде случаев, когда степенной показатель времени релаксации пропорционален  $1/2$  [46]. В связи с этим точка пересечения модуля  $G'$  и модуля  $G''$  от времени указывает на переход в упруговязкое состояние при частоте измерения, и соответствующие реокинетические зависимости позволяют качественно оценить влияние состава гидрогелей, а также роль узлов сетки и сшивок на время достижения точки перехода. Типичные зависимости для исследуемых типов гидрогелей с физическими узлами, химическими сшивками и гибридным типом сшивания приведены на рис. 2.

На начальном этапе измерений для всех гидрогелей наблюдается характерный рост значений обоих модулей во времени с последующим выходом на пологий участок. Через относительно небольшой промежуток времени от начала эксперимента происходит пересечение модулей. После этого модуль накоплений продолжает монотонно возрастать и превышает модуль потерь, что свидетельствует об образовании геля, наборе прочности и формировании “равновесной” структуры.

На реокинетических зависимостях модулей  $G'$  и  $G''$  для физических гелей можно выделить ряд

особенностей. В начале измерений на графиках присутствует индукционный период, в течение которого значения модулей изменяются слабо (рис. 2б). Аналогичный вид кривых наблюдается для всех образцов на основе реакционной системы  $\Phi$ . Этот период можно соотнести с превращением ТМОС в олигоалкоксисилоксанола. По окончании индукционного периода модуль накоплений начинает резко расти, происходит формирование пространственной сетки геля за счет появления функциональных групп кремнийсодержащих олигомеров способных связывать цепи ПВС между собой.

На зависимостях для образцов, сформированных из систем  $X$  и  $\Gamma$  (рис. 2а, 2в), индукционный период отсутствует, что свидетельствует о начале процесса гелеобразования между ПВС и ГА на стадии перемешивания исходных компонентов. Сравнивая полученные кинетические зависимости для образцов  $\Phi.2$ ,  $X.2$  и  $\Gamma.2.2$  можно отметить разную скорость образования межцепных связей при формировании гидрогелей из системы  $\Phi$  по сравнению с системами  $X$  и  $\Gamma$ . Наблюдается близкий характер зависимостей изменения модулей  $G'$  и  $G''$  от времени для последних двух типов гидрогелей. Таким образом, на начальном этапе формирования гибридных гидрогелей за прочность и реологическое поведение отвечают именно химические сшивки. Характерные времена достижения точки пересечения модулей и значе-

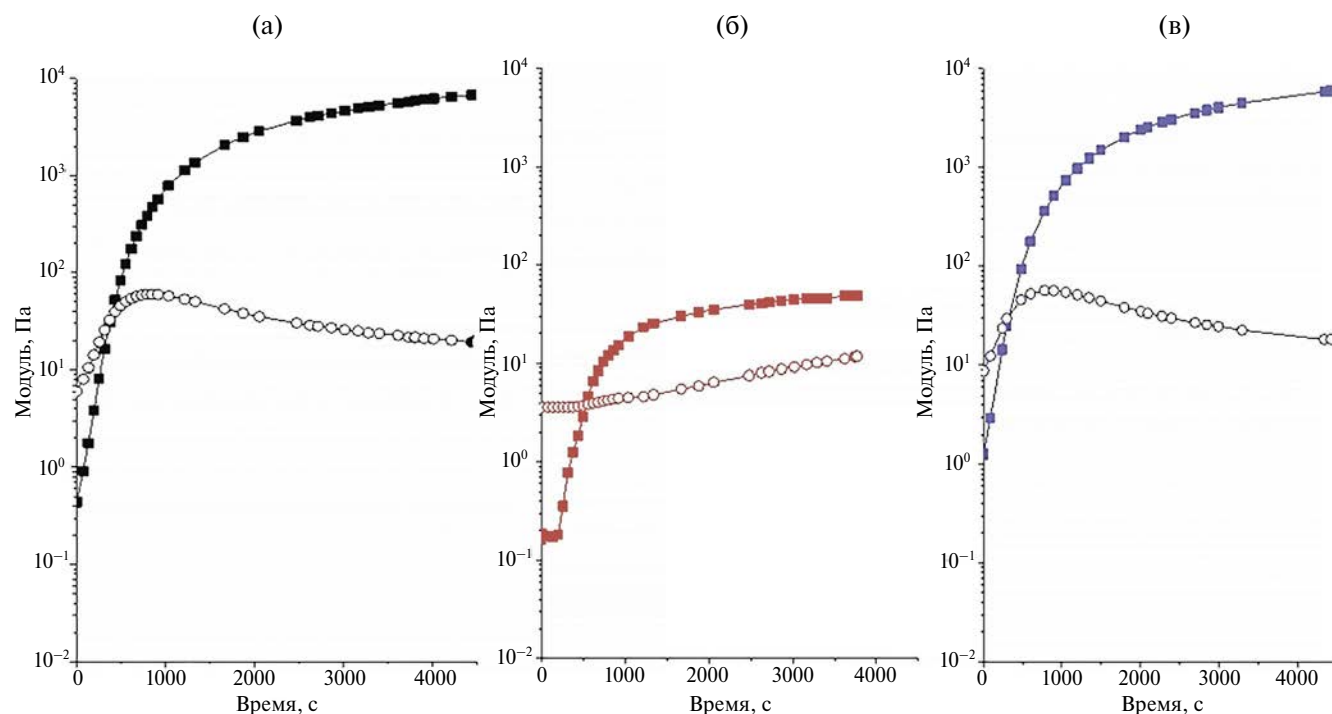


Рис. 2. Реокинетические зависимости изменения модулей  $G'$  (темные точки) и  $G''$  (светлые точки) для химического геля ( $X.2$ ) (а), физического геля ( $\Phi.2$ ) (б) и гибридного геля ( $\Gamma.2.2$ ) (в).

ния модуля упругости в этой точке для гидрогелей различного состава суммированы в табл. 2 и 3.

Из данных табл. 2 видно, что, несмотря на невысокие концентрации ГА и ТМОС, точка пересечения модулей достигается достаточно быстро, образуются слабо сшитые гели. Увеличение концентрации каждого отдельного сшивающего компонента приводит к уменьшению времени достижения точки пересечения. Переход реакционных систем к гелеобразному состоянию происходит при сопоставимых временах, но существенно отличающихся концентрациях сшивающих компонентов ГА и ТМОС (табл. 2). Следовательно, этим системам требуется близкое время для образования достаточного числа межмакромолекулярных связей, приводящих к связыванию цепей ПВС в объеме раствора и переходу системы из жидкого состояния в упругое вследствие образования пространственной сетки геля. Однако ввиду разной природы связей, объединяющих цепи ПВС в сетку геля, для гидрогелей с физическими узлами модуль накоплений  $G'$  в точке пересечения на порядок меньше по сравнению с аналогичной характеристикой химических гидрогелей. Таким образом, через ~20 мин от начала химической реакции сшивания между ПВС и ГА формируется больше эффективных сшивков. Для образца ги-

дрогеля Х.3 время достижения точки пересечения модулей определить не получилось — гель формировался на этапе смешения компонентов.

По полученным данным не удалось установить принципиального влияния соотношения ГА : ТМОС на время перехода в упруговязкое состояние гибридных систем (табл. 3). Можно заключить, что продолжительность химических превращений, необходимых для перехода этих реакционных систем в гелеобразное состояние, не зависит от суммарной концентрации используемых сшивающих компонентов. Объединение двух разных способов сшивки цепей ПВС (молекулами бифункционального ГА и продуктами гидролитической поликонденсации ТМОС) не влияет на кинетику начальной стадии формирования геля, однако их вклад, как будет показано далее, находит свое отражение в механических свойствах полностью сформированного гидрогелевого материала.

Отдельного обсуждения заслуживают результаты, полученные для гидрогелей Г1.1, Г2.2 и Г3.3, т.е. для образцов с одинаковым соотношением ГА : ТМОС в реакционных системах, которое соответствовало эквимольному (1 : 1). Важно, что каждая следующая реакционная система от-

**Таблица 2.** Время достижения точки пересечения модулей  $\alpha$  для реакционных систем X и Ф; модуль накоплений  $G'$  образцов в точке пересечения при 25°C

Гидрогель	Сшивающий компонент, мас. % от ПВС		Время достижения* $\alpha$ , с	$G'$ , Па
	ГА	ТМОС		
Ф.1	–	1.05	2670	$3.7 \pm 0.1$
Ф.2	–	2.10	1431	$3.8 \pm 0.1$
Х.1	0.07	–	1353	$32 \pm 2$
Х.2	0.14	–	1167	$34 \pm 1$

**Таблица 3.** Время достижения точки пересечения модулей  $\alpha$  для реакционной системы Г; модуль накоплений  $G'$  образцов в точке пересечения при 25°C

Гидрогель	Соотношение [ГА] : [ТМОС], мас. % от ПВС	Время достижения* $\alpha$ , с	$G'$ , Па
Г1.1	0.07 : 0.10	1857	$31 \pm 1$
Г1.2	0.07 : 0.42	1215	$35 \pm 1$
Г1.3	0.07 : 1.05	1113	$34 \pm 2$
Г1.4	0.07 : 2.10	1326	$33 \pm 1$
Г2.1	0.14 : 0.10	1215	$32 \pm 1$
Г2.2	0.14 : 0.21	1713	$27 \pm 2$
Г3.1	0.70 : 0.10	1353	$15 \pm 1$
Г3.3	0.70 : 1.05	1185	$15 \pm 1$

\*Суммарная величина, включающая время, затраченное на смешение компонентов и регистрацию на приборе процесса гелеобразования.



личается от предыдущей увеличением концентрации как ГА, так и ТМОС относительно ПВС в 2 и 10 раз соответственно (табл. 3). Наблюдаемое уменьшение времени достижения точки пересечения модулей не пропорционально росту концентраций сшивающих компонентов. По сравнению с гидрогелями Г1.1 и Г2.2 у гидрогеля Г3.3 значение модуля накоплений в точке пересечения в два раза ниже, что указывает на значительное отличие его вязкоупругих свойств. Возникшее связано в том числе с увеличением доли ТМОС в реакционной системе, что ожидаемо способствует расширению числа нецелевых химических реакций (например, реакций ГА с метиловым спиртом, побочным продуктом превращений ТМОС), в которых частично расходуется молекулы ГА.

Для всех систем на протяжении времени эксперимента наблюдали рост модуля накоплений, при этом величина модуля в точке перехода к упруговязкому поведению оказывается меньше на несколько порядков, чем значение модуля через 1 ч. Важно, что основной характеристикой геля является величина предельного  $G'$  в равновесном состоянии, которая характеризует сетку геля — плотность узлов/сшивок сетки и расстояние между ними. Поэтому дополнительно изучали частотные зависимости модулей накоплений и потерь для полностью сформированных гелей через 3 сут после смешения исходных компонентов.

#### Реология гидрогелей. Частотные тесты

Частотные зависимости модуля накоплений представлены на рис. 3а.

Для всех образцов значения модулей накоплений и потерь мало зависят от угловой частоты. Однако для образцов физических гидрогелей (Ф.1 и Ф.2), как следует из рис.3б, наблюдается некоторое увеличение значений модуля потерь в зависимости от угловой частоты. Отметим низкие значения модуля потерь для этих гелей, с чем связано и отсутствие достоверных значений при угловых частотах  $< 0.8$  рад/с. Для образца Ф.1 также наблюдается точка пересечения модулей при угловой частоте  $\sim 22$  рад/с, при этом в остальных случаях модуль накоплений оказывается выше модуля потерь во всем исследованном диапазоне угловых частот. Эти зависимости являются прямым экспериментальным доказательством завершения перехода в изучаемых системах от вязкотекучей жидкости к упруговязкому гелю и соответствуют представлениям, описанным в работе [7].

В табл. 4 приведены значения предельного модуля накоплений и рассчитанная плотность узлов/сшивок сетки. Отметим, что предельный модуль накоплений у всех гидрогелей выше на порядок, чем  $G'$ , определенный в кинетических экспериментах через 1 ч (рис. 2). Сравнение величины предельного модуля накоплений гидрогеля Г3.3 с аналогичными характеристиками гидрогелей Ф.1 и Х.3, для получения которых использовали те же количества ТМОС и ГА, подтверждает гибридную природу геля. Модуль накоплений гидрогеля Г3.3 почти в 2 раза больше, чем у химического гидрогеля Х.3, и превышает почти на 3 порядка модуль физического гидрогеля Ф.1 (табл. 4). Поскольку модуль накоплений не зависит от частоты в исследуемом диапазоне, для расчетов значений плотности сшивок по формулам (1) и (3) использовали среднее значение. При расчетах по формуле (1)

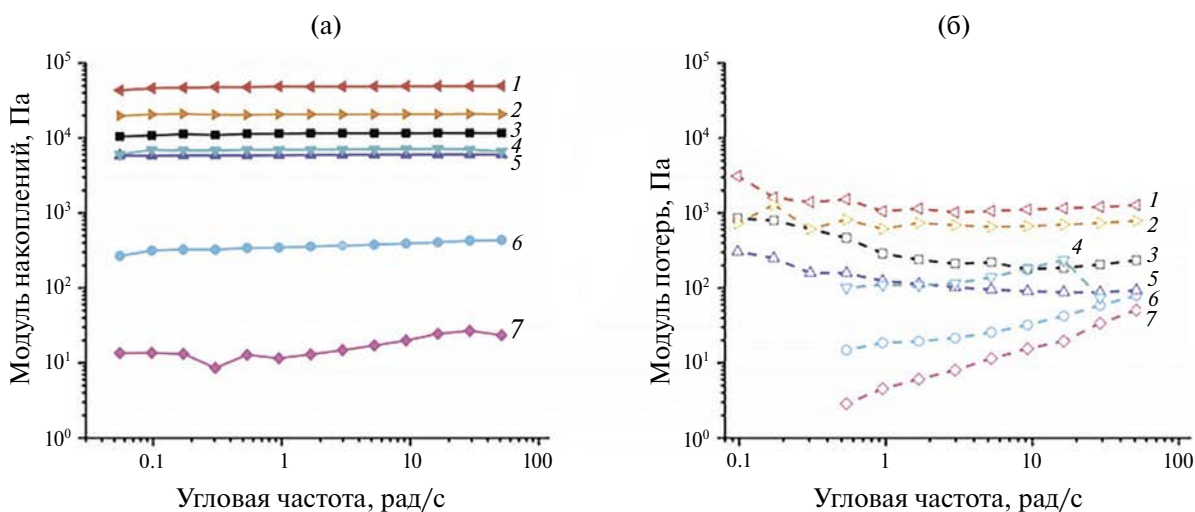


Рис. 3. Частотная зависимость модулей накоплений  $G'$  (а) и потерь  $G''$  (б) гидрогелей Г3.3(1), Х.3 (2), Г2.2(3), Г.2.3 (4), Х.2 (5), Ф.2 (6) и Ф.1 (7).

также учитывали, что исследуемые образцы находятся в ненабухшем состоянии.

Рассчитанные значения плотности сшивки подтверждают очевидный факт: чем выше модуль накоплений, тем выше плотность сшивки. Самая низкая плотность сшивки у гидрогелей Ф.1 и Ф.2, что свидетельствует о формировании редких узлов сетки и невысоких механических характеристиках. Для гидрогеля Г3.3. значение плотности сшивки самое высокое (табл. 4).

Отметим, что плотность сшивки и молекулярная масса участка цепи между узлами сетки/сшивкам (табл. 4) приведена для качественной оценки, которая показывает тенденцию изменения величин, так как деформация, при которой проводили измерения, слишком мала для точного анализа эффективности сшивания.

Таким образом, использование для получения гидрогеля одновременно ГА и ТМОС приводит к существенному повышению механических характеристик за счет синергизма вкладов сшивающих компонентов. Очевидно, в геле существуют не только химические сшивки, но также присутствуют области с другой степенью и природой сшивок, что, как будет показано ниже, находит

подтверждение при механических испытаниях гидрогелей в квазистатических условиях.

#### *Определение равновесной степени набухания гидрогелей*

Определение равновесной степени набухания гидрогелей позволило оценить эластичность гелевых сеток, а также рассчитать среднюю молекулярную массу участка цепи между узлами сшивки и плотность сшивки для набухших образцов (табл. 5).

Плотность сшивки и равновесная степень набухания геля — обратно пропорциональные величины. Чем больше сшивок, тем сложнее участкам цепей сместиться в пространстве, отодвинувшись друг от друга, и образовать свободное пространство для поступающей внутрь сетки геля жидкости, следовательно, низкие эластические свойства гелевой матрицы будут ограничивать объем поглощаемой воды.

Сравнение равновесных степеней набухания гидрогелей Ф.2 с данными для гидрогелей Х.1, Х.2 и Х.3 показало, что гели с химической природой сшивок являются менее эластичными и набирают существенно меньшее количество воды, чем гели с физической природой сшивок. Гибридные гели (Г1.1, Г2.2 и Г3.3) по своей способности к до-

**Таблица 4.** Предельный модуль накоплений и плотность сшивки гидрогелей по данным реологических исследований

Гидрогель	Предельный модуль накоплений $G'$ , кПа	Плотность сшивки, моль/м <sup>3</sup>	$M_c \times 10^{-3}$ , г/моль
Ф.1	$0.02 \pm 0.01$	$19 \pm 2$	$64 \pm 7$
Ф.2	$0.4 \pm 0.1$	$23 \pm 4$	$55 \pm 5$
Х.2	$6 \pm 1$	$66 \pm 8$	$18 \pm 2$
Х.3	$21 \pm 1$	$200 \pm 10$	$6 \pm 1$
Г2.2	$11 \pm 1$	$120 \pm 8$	$10 \pm 2$
Г2.3	$7 \pm 1$	$74 \pm 5$	$16 \pm 2$
Г3.3	$47 \pm 1$	$400 \pm 20$	$3 \pm 1$

**Таблица 5.** Значения равновесной степени набухания гидрогелей, молекулярная масса участка цепи между узлами сшивками и плотность сшивки

Гидрогель	Равновесная степень набухания, г/г	Плотность сшивки, моль/м <sup>3</sup>	$M_c \times 10^{-3}$ , г/моль
Ф.2	$3.77 \pm 0.12$	$30 \pm 2$	$37 \pm 4$
Х.1	$1.38 \pm 0.06$	$40 \pm 2$	$30 \pm 4$
Х.2	$0.08 \pm 0.01$	$390 \pm 12$	$3 \pm 1$
Х.3	$0.03 \pm 0.01$	$1120 \pm 23$	$1.0 \pm 0.5$
Г1.1	$0.19 \pm 0.01$	$14 \pm 8$	$8 \pm 2$
Г2.2	$0.11 \pm 0.02$	$50 \pm 15$	$1.0 \pm 0.8$
Г3.3	$0.02 \pm 0.01$	$2680 \pm 25$	$0.4 \pm 0.1$



полнительному набуханию в бóльшей степени похожи на химические, чем на физические гели. Объем поглощаемой воды для образцов гибридных гидрогелей сопоставим с количеством воды, абсорбированной гидрогелями с химическими узлами при том же количестве ГА, введенного в раствор ПВС. Несмотря на это, они имеют разное строение сетчатой структуры — часть межцепного пространства в гибридных гидрогелях занимает цепи  $-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$ , участвующие в дополнительном сшивании молекул ПВС и возникновении лабильных физических связей.

При сравнении величин плотности сшивки, полученных из данных частотной зависимости модуля накоплений и набухания, видна ощутимая разница, что связано с разным типом деформации. Во время набухания внутри геля растут напряжения, вызванные количеством поглощенной воды и следующими за этим конформационными перегруппировками участков цепей между сшивками/узлами сетки. В отличие от деформации растяжения, которую претерпевает гель при набухании (для случаев отсутствия ограничений на изменение объема), при проведении частотных тестов гели подвергаются деформации сдвига, при которой первоначальный объем не меняется, приложенное напряжение направлено по касательной к поверхности геля, а величина деформации составляет всего 0.1%. Следовательно, при набухании гидрогели испытывают существенно большую деформацию, чем при частотных измерениях, что отражается на рассчитанных величинах плотности сшивки.

#### Изучение механических свойств гидрогелей

Механические испытания выполняли для всех гидрогелей за исключением образцов на основе

реакционной системы  $\Phi$ , которые не способны сохранять свою форму. В связи с этим исследовать их на универсальной двухколонной испытательной системе не представлялось возможным.

Все образцы демонстрировали типичную зависимость напряжения от деформации (рис. 4).

Следует отметить, что происходило разрушение отдельных образцов гидрогелей во время динамических испытаний при невысоких степенях деформации. Так, образец химического гидрогеля (Х.3) разрушается при 28%, а гибридные гидрогели (Г2.2 и Г3.3) при 39 и 20% деформации соответственно, что характеризует их как гели с невысокой упругостью.

Ожидали, что при нагревании водородные связи в структуре сетки геля разрушатся, следовательно, пропадет их вклад в поведение гидрогелей при деформации. Эксперименты на сжатие при 80°C показали, что качественного изменения в поведении гидрогелей при деформации не происходит, а зависимости изменения напряжения от деформации имеют вид, аналогичный полученным кривым при 25°C (рис. 4). Дальнейшее нагревание невозможно из-за деструкции гелей и кипения воды. Условия проведения эксперимента (продолжительность и температура) не позволили разрушить физические узлы полностью. Кроме того, доля физических связей от общего числа сшивок невысока, а их вклад в упругие свойства гибридных гидрогелей существенно уступает химическим связям.

Модули Юнга и плотности сшивки, рассчитанные на основе полученных результатов для гидрогелей, представлены в табл. 6 и 7.

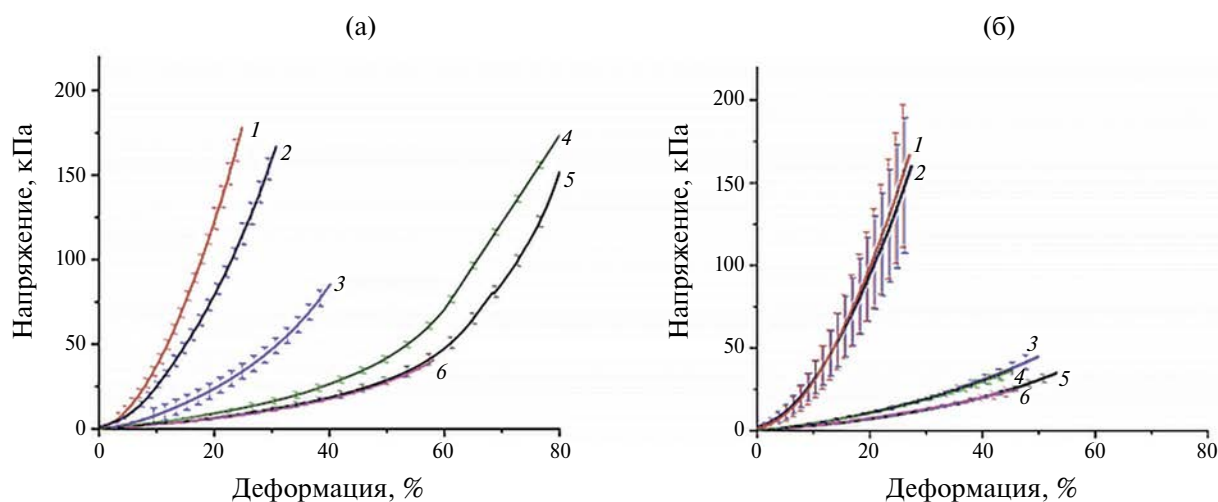


Рис. 4. Зависимости напряжения от деформации при одноосном сжатии для гидрогелей Г3.3 (1), Х.3 (2), Г2.2 (3), Х.2 (4), Г1.1 (5) и Х.1 (6) при 25 (а) и 80°C (б). Скорость деформации 50%/мин.

Отметим близкие значения модуля Юнга для химических и гибридных гидрогелей, полученных из систем с одинаковым количеством ГА. Известно [47, 48], что с повышением температуры модуль Юнга химических гидрогелей должен увеличиваться. Такая тенденция прослеживается не только в изменении модуля Юнга химических, но и гибридных гидрогелей, однако для последних она более выражена. Таким образом, при высоких скоростях деформации на всем выбранном диапазоне температур, к сожалению, не удается выявить вклад физических узлов сетки.

Результаты квазистатических испытаний на сжатие и растяжение представлены на рис. 5.

В этих условиях полимерная сетка в целом и ее отдельные части успевают релаксировать и перейти

ти в новое равновесное состояние при приложении напряжения. Имобилизованная вода в данном случае выполняет функцию своеобразного пластификатора, а малая скорость деформации обеспечивает время, необходимое для перегруппировки в пространстве участков сетки геля.

Образцы Х.3 и Г3.3 претерпевают разрыв при деформации 40 и 18% соответственно. При растяжении гидрогелей характерна классическая зависимость модуля Юнга от концентрации сшивающего компонента, т.е. чем больше концентрация, тем выше модуль упругости и ниже деформационная устойчивость. Для гидрогелей с химической природой сшивков наблюдается стандартная зависимость: чем больше доля ГА в реакционной системе, тем выше плотность сшивки. Схожая зависимость выявлена для гибридных гидрогелей.

**Таблица 6.** Модуль Юнга гидрогелей при деформации в квазистатических и динамических условиях при различной температуре

Гидрогель	Модуль Юнга (кПа) при одноосном				
	сжатии		растяжении		
	квазистатические условия		динамические условия		квазистатические условия
	25°C		25°C	80°C	25°C
Х.1	27 ± 3		37 ± 3	40 ± 4	15 ± 1
Х.2	39 ± 5		47 ± 4	64 ± 1	17 ± 2
Х.3	180 ± 11		420 ± 31	440 ± 38	115 ± 2
Г1.1	26 ± 2		38 ± 4	41 ± 2	15 ± 1
Г2.2	44 ± 1		54 ± 5	64 ± 5	29 ± 1
Г2.3	45 ± 1		55 ± 5	65 ± 3	31 ± 2
Г3.3	340 ± 47		410 ± 38	520 ± 57	230 ± 23

**Таблица 7.** Плотность сшивки и молекулярная масса между узлами и сшивками сетки

Гидрогель	Одноосное сжатие						Одноосное растяжение	
	квазистатические условия		динамические условия				квазистатические условия	
	25°C		25°C		80°C		25°C	
	средняя плотность сшивки, моль/м <sup>3</sup>	$M_c \times 10^{-3}$ , г/моль	средняя плотность сшивки, моль/м <sup>3</sup>	$M_c \times 10^{-3}$ , г/моль	средняя плотность сшивки, моль/м <sup>3</sup>	$M_c \times 10^{-3}$ , г/моль	средняя плотность сшивки, моль/м <sup>3</sup>	$M_c \times 10^{-3}$ , г/моль
Х.1	115 ± 8	10 ± 2	150 ± 5	8 ± 1	140 ± 10	9 ± 1	70 ± 5	17 ± 2
Х.2	125 ± 5	9.5 ± 1.0	155 ± 8	8 ± 1	160 ± 10	7 ± 1	65 ± 2	18 ± 1
Х.3	500 ± 10	2.4 ± 0.5	1200 ± 40	1.0 ± 0.1	1025 ± 25	1.2 ± 0.1	330 ± 10	3.6 ± 0.5
Г1.1	90 ± 5	13 ± 1	130 ± 12	9 ± 1	115 ± 10	10 ± 1	60 ± 5	20 ± 2
Г2.2	160 ± 5	8 ± 1	200 ± 10	6.0 ± 0.8	190 ± 15	6 ± 1	110 ± 6	11 ± 1
Г3.3	915 ± 15	1.3 ± 0.1	1100 ± 20	1.1 ± 0.1	1200 ± 55	1.0 ± 0.1	630 ± 20	1.9 ± 0.5

Введение ТМОС в реакционную систему заметно проявляется в свойствах образца гибридного гидрогеля ГЗ.3: значение модуля Юнга этого геля в 1.8 раза выше, чем у эквиконцентрированного по количеству ГА химического геля Х.3. В этом случае можно говорить о суммарном вкладе химических сшивок и физических узлов, связывающих полимерные цепи в упругую пространственную сетку. Полученные данные находятся в хорошей корреляции с результатами частотных тестов реологических экспериментов.

Значения плотности сшивок и  $M_c$ , рассчитанные с использованием разных экспериментальных данных и методик, сопоставимы друг с другом (табл. 8). Расхождения в данных для образцов могут быть связаны с неоднородностью химических сшивок и со сложной структурой гибридных гелей. Таким образом, механические испытания при сдвиге (реологические тесты), сжатии и растяже-

нии в квазистатических условиях показывают, что физические узлы работают слабо, и лишь при определенных концентрациях компонентов заметен синергизм сшивок и узлов сетки гибридных гелей.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе ПВС получены три типа гидрогелей, отличающихся природой физических узлов и химических сшивок сетки, путем смешения раствора полимера с разными количествами ГА или ТМОС, или в результате добавления обоих компонентов. Для синтеза гидрогелей использовали малые концентрации сшивающих агентов, но тем не менее позволяющие обеспечить формирование прозрачных, сохраняющих свою форму, упругих гидрогелей с воспроизводимыми характеристиками. Исследование процесса гелеобразования реакционных систем ПВС–ГА, ПВС–ТМОС и гибридных

Таблица 8. Значение  $M_c$  химических и гибридных гидрогелей, рассчитанные по уравнениям (1) и (5)

Гидрогель	$M_c \times 10^{-3}$ , г/моль		
	реология	набухание	набухание + одноосное растяжение
Х.1	–	$30 \pm 4$	$17 \pm 2$
Х.2	$18 \pm 2$	$3 \pm 1$	$18 \pm 1$
Х.3	$6 \pm 1$	$1.0 \pm 0.5$	$3.6 \pm 0.5$
Г1.1	–	$8 \pm 2$	$20 \pm 2$
Г2.2	$10 \pm 2$	$2.0 \pm 0.8$	$11 \pm 1$
ГЗ.3	$3 \pm 1$	$0.4 \pm 0.1$	$1.9 \pm 0.5$

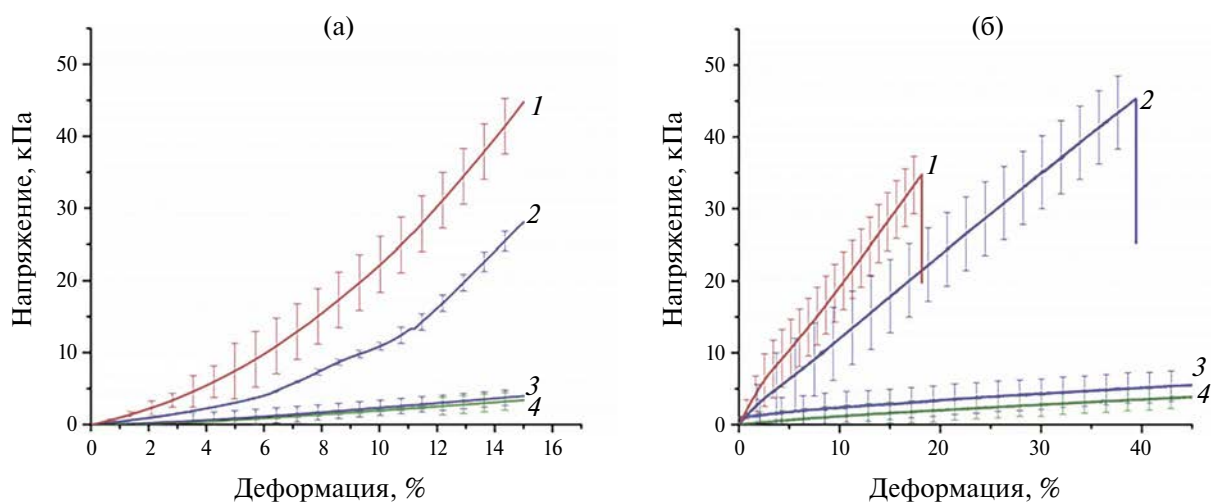


Рис. 5. Зависимости напряжения от деформации при одноосном сжатии в квазистатических условиях (скорость деформации 0.1%/мин) (а) и одноосном растяжении (скорость деформации 1%/мин) (б) для гидрогелей ГЗ.3 (1), Х.3 (2), Г1.1 (3) и Х.1 (4) при 25°C.

ных ПВС–ГА–ТМОС показало, что на время достижения каждой системой перехода к упруговязкому поведению в большей мере оказывает влияние количество добавляемого сшивающего компонента, чем его химическая природа. Продолжительность химических превращений, необходимых для перехода гибридных реакционных систем в гелеобразное состояние, не зависит от суммарной концентрации сшивающих компонентов. Заметная

разница между модулями накоплений к моменту достижения точки гелеобразования для реакционных систем ПВС–ГА и ПВС–ТМОС подтверждает разную природу связей, образующих сетки гелей, соответственно химических и физических (рис. 6).

Реокинетические исследования процессов гелеобразования гибридных реакционных систем не позволяют классифицировать получаемые ге-

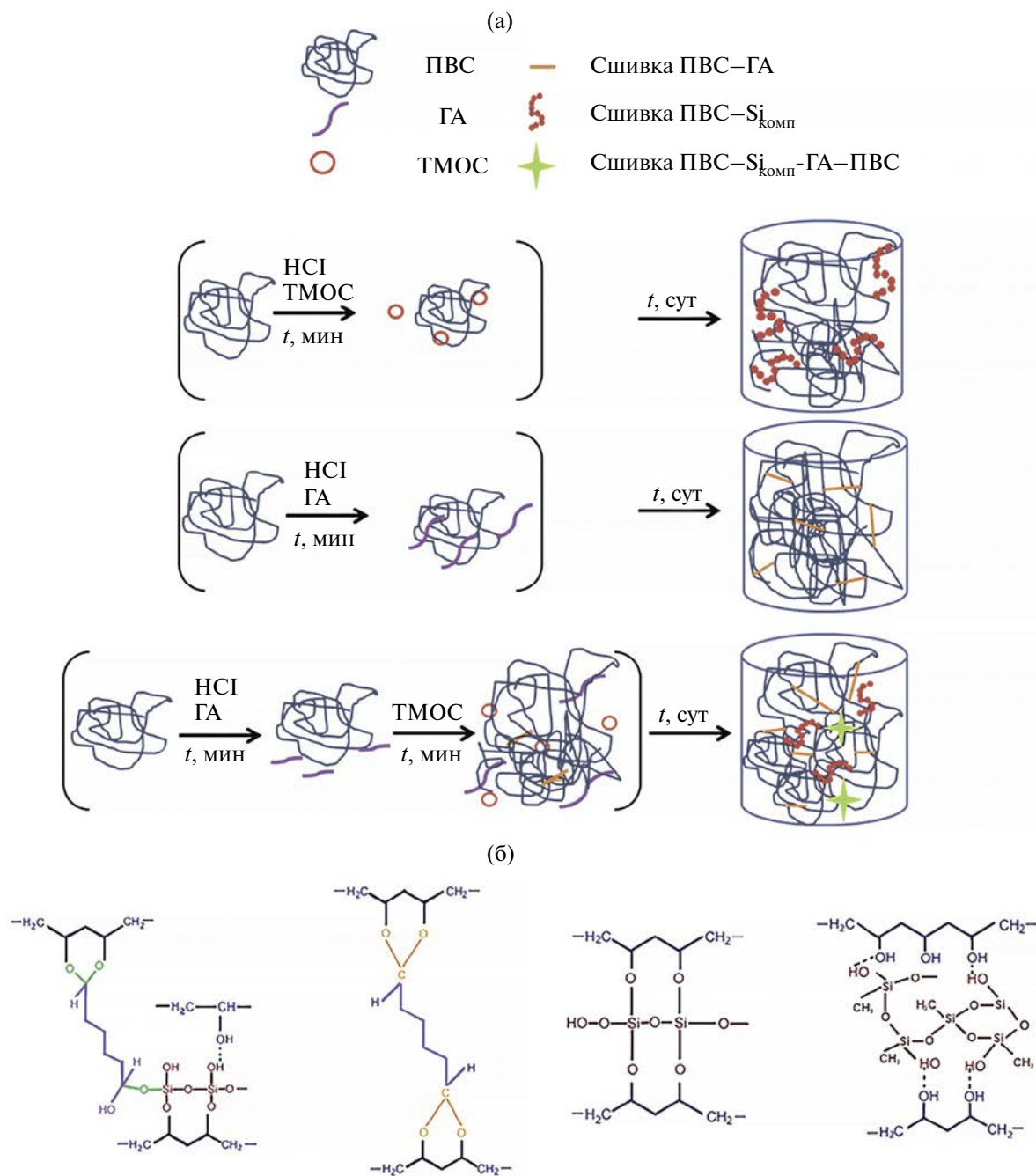


Рис. 6. Модель структурной организации различных гидрогелевых систем (а) и схема возможных узлов и сшивок в гидрогелях (б).

левые материалы и установить природу пространственного каркаса.

Осцилляционные тесты показали, что одновременное использование ГА и ТМОС в исходной системе вызывает повышение механических характеристик образующихся гидрогелей за счет синергизма вкладов сшивающих компонентов, что свидетельствует о присутствии в гидрогелях разных по природе сшивок и узлов.

Исследование механического поведения образцов в динамических условиях не выявило различий между поведением гибридных и химических гидрогелей, что может быть связано с процессами релаксации и недостаточным временем для перехода элементов структуры геля в новое равновесное состояние при деформации.

Совместный вклад двух сшивающих компонентов (ГА и ТМОС) проявляется при исследовании поведения гибридного гидрогеля в квазистатических условиях, отражающих поведение невозмущенного гидрогеля и отклик непосредственно структуры геля на деформацию. Установлено, что чем больше в гибридной реакционной системе ТМОС, тем более заметен эффект образовавшихся связей на упругие свойства гидрогелей. Показано, что плотность узлов и сшивок, и физико-механические свойства гибридных гидрогелей ПВС/ГА/Si<sub>комн.</sub> можно варьировать за счет изменения соотношения ГА : ТМОС. Для получения гибридных гидрогелей, выделяющихся своей повышенной упругостью, целесообразно использовать молярное соотношение ГА : ТМОС, равное 1 : 1, при условии, что концентрации ГА и ТМОС будут не более 0.7 и 1.05 мас. % в расчете на полимер. Снижение концентрации ГА и ТМОС (одновременное или одного из сшивающих компонентов) приводит к возникновению менее плотной сшивки и, следовательно, к гелю с более низкими физико-механическими характеристиками.

Помимо выявления роли химических сшивок и физических узлов сетки зацеплений в свойствах гидрогелевых систем, исследование показывает возможность оценки плотности сшивок по экспериментальным данным, полученным разными экспериментальными методами. Для исследуемых систем определение плотности сшивок по реологическим данным, набуханию и из механических испытаний по величине модуля сдвига не дает точного совпадения количественной оценки ввиду малых деформаций в реологических экспериментах, а в случае механических испытаний ввиду сложной структуры гелей. Тем не менее качественные зависимости прослеживаются в значениях плотности сшивок и  $M_c$  определенных как из набухания, так и из реологических и механических экспериментов, и показывают общую тенденцию изменения величин в зависи-

мости от используемых сшивающих компонентов и их концентрации в системе.

Таким образом, в исследовании выявлена роль различной природы физических узлов и химических сшивок сетки в гидрогеле для получения материалов с улучшенными характеристиками и предложен подход к управлению свойствами гибридных материалов за счет изменения природы и соотношения типов узлов и сшивок в структуре геля.

Авторы благодарят ресурсные центры аддитивных и виртуальных технологий и “Полимер” отдела ресурсных центров Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий Национального исследовательского центра “Курчатовский институт” за помощь в изготовлении оснастки и проведении механических испытаний.

Авторы признательны А.А. Несмелову и С.В. Крашенинникову за помощь в проведении механических испытаний и анализ полученных данных.

Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации, в рамках проектной части государственного задания (тема № FFSM-2024-0003).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cao D., Zhang X., Akabar M.D., Luo Y., Wu H., Ke X., Ci T. // *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.* 2019. V. 47. № 1. P. 181.
2. Zhang L., Shen W., Luan J., Yang D., Wei G., Yu L., Lu W., Ding J. // *Acta Biomater.* 2015. V. 23. P. 271.
3. Zhao J., Xiong J., Ning Y., Zhao J., Wang Z., Long L., He H., Gou J., Yin T., Tang X., Zhang Y. // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2023. V. 185. P. 44.
4. Peng H., Sun X., Weng W., Fang X. // *Polym. Mater. Energy Electron. Appl.* 2017. P. 325.
5. Reghunadhan A., Krishna A., Jose A.J. // *Polym. Science and Innovative Applications: Materials, Techniques, and Future Developments.* Amsterdam: Elsevier, 2020. P.393.
6. Rogovina L.Z., Vasil'ev V.G., Braudo E.E. // *Polymer Science C.* 2008. V. 50. № 1. P. 85.
7. Malkin A.Y., Derkach S.R., Kulichikhin V.G. // *Gels.* 2023. V.9. № 9 (715). P.1.
8. Nath P.C., Debnath S., Sridhar K., Inbaraj B.S., Nayak P.K., Sharma M. // *Gels.* 2023. V. 9. № 1. P. 1.
9. Erol O., Pantula A., Liu W., Gracias D.H. // *Adv. Mater. Technol.* 2019. V. 4. № 4. P. 1.
10. Kasai R.D., Radhika D., Archana S., Shanavaz H., Koutavarapu R., Lee D.Y., Shim J. // *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* 2023. V. 72. № 13. P. 1059.
11. Kaith B.S., Singh A., Sharma A.K., Sud D. // *J. Polym. Environ.* 2021. V. 29. № 12. P. 3827.

12. *Sánchez-Cid P., Jiménez-Rosado M., Romero A., Pérez-Puyana V.* // *Polymers (Basel)*. 2022. V. 14. P. 1.
13. *Chamkouri H.* // *Am. J. Biomed. Sci. Res.* 2021. V. 11. № 6. P. 485.
14. *Kuznetsova V.S., Vasilyev A.V., Grigoriev T.E., Zagoskin Y.D., Chvalun S.N., Buharova T.B., Goldshtein D.V., Kulakov A.A.* // *Stomatologiya*. 2017. V. 96. № 6. P. 68.
15. *Chopra H., Singh I., Kumar S., Bhattacharya T., Rahman M.H., Akter R., Kabir M.T.* // *Curr. Drug Deliv.* 2022. V. 19. № 6. P. 658.
16. *Caló E., Khutoryanskiy V.V.* // *Eur. Polym. J.* 2015. V. 65. P. 252.
17. *Shibaev A.V., Philippova O.E.* // *Polymer Science C*. 2022. V. 64. № 1. P. 26.
18. *Dobrynin A., Tian Y., Jacobs M., Nikitina E., Maw M., Vashahi F., Sheiko S., Ivanov D.* // *Nat. Mater.* 2023. V. 22. № 11. P. 1394.
19. *Hu X., Zhang D., Sheiko S.S.* // *Adv. Mater.* 2018. V. 30. № 26. P. 1.
20. *Maitra J., Shukla V.K.* // *Am. J. Polym. Sci.* 2014. V. 4. № 2. P. 25.
21. *Wang M., Bai J., Shao K., Tang W., Zhao X., Lin D., Huang S., Chen C., Ding Z., Ye J.* // *Int. J. Polym. Sci.* 2021. V. 2021. ID2225426. P. 1.
22. *Ma L., Chai C., Wu W., Qi P., Liu X., Hao J.* // *Carbohydr. Polym.* 2023. V. 305. P. 1.
23. *Dorkhani E., Faryabi A., Noorafkan Y., Heirani A., Behboudi B., Fazeli M.S., Kazemeini A., Keramati M.R., Keshvari A., Ahmadi Tafti S.M.* // *J. Appl. Biomater. Funct. Mater.* 2023. V. 21. P. 1.
24. *Shen Z., Chen F., Zhu X., Yong K.T., Gu G.* // *J. Mater. Chem. B*. 2020. V. 8. № 39. P. 8972.
25. *Mehrotra T., Zaman M.N., Prasad B.B., Shukla A., Aggarwal S., Singh R.* // *Environ. Sci. Pollut. Res. Environment. Sci. Pollution Res.* 2020. V. 27. № 9. P. 9167.
26. *Bolto B., Tran T., Hoang M., Xie Z.* // *Prog. Polym. Sci.* 2009. V. 34. № 9. P. 969.
27. *Hansen E.W., Holm K.H., Jahr D.M., Olafsen K., Stori* // *Polymer*. 1997. V. 38. № 19. P. 4863.
28. *Morandim-Giannetti A. de A., Rubio S.R., Nogueira R.F., Ortega F dos S., Magalhães O. -J., Schor P., Bersanetti P.A.* // *J. Biomed. Mater. Res. B* 2018. V. 106. № 4. P. 1558.
29. *Pirzada T., Shah S.S.* // *Chem. Eng. Technol.* 2014. V. 37. № 4. P. 620.
30. *Чалых А.Е., Герасимов В.К., Кулагина Г.С.* // *Химия и хим. технология*. 2009. Т. 49. № 11. С. 79.
31. *Iler R.K.* // *The Chemistry of Silica*. New York: Wiley, 1979
32. *Liu Y., Chen H., Zhang L., Yao X.* // *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 2002. V. 25. № 2. P. 95.
33. *Arif Z., Sethy N.K., Mishra P.K., Upadhayay S.N., Verma B.* // *J. Porous Mater.* 2018. V. 25. № 4. P. 1203.
34. *Reis E.F., Campos F.S., Lage A.P., Leite R.C., Heneine L.G., Vasconcelos W.L., Lobato Z.I.P., Mansur H.S.* // *Mater. Res.* 2006. V. 9. № 2. P. 185.
35. *Andrade G.I., Barbosa-Stancioli E.F., Mansur A.A.P., Vasconcelos W.L., Mansur H.S.* // *J. Mater. Sci.* 2008. V. 43. № 2. P. 450.
36. *Dodda J.M., Bělský P., Chmelař J., Remiš T., Smolná K., Tomáš M., Kullová L., Kadlec J.* // *J. Mater. Sci.* 2015. V. 50. № 19. P. 6477.
37. *Peppas N.A., Merrill E.W.* // *J Appl Polym Sci*. 1977. V. 21. P. 1763.
38. *Flory P.J., Rehner J.* // *J. Chem. Phys.* 1943. V. 11. № 11. P. 512.
39. *Bristow G.M., Watson W.F.* // *Welwyn Garden City: The British Rubber Producers' Research Association*. 1958. P. 1731.
40. *Jimenez-Vergara A.C., Lewis J., Hahn M.S., Munoz-Pinto D.J.* // *J. Biomed. Mater. Res. B*. 2018. V. 106. № 3. P. 1339.
41. *Mark J.E.* // *Polymer Data Handbook*. New York: Oxford Univ. Press, 1999.
42. *Ghosh J., Hait S., Ghorai S., Mondal D., Heinrich G., Wießner S., Das A., De D.* // *Research Square*. 2021.
43. *El-Sabbagh S.H., Yehia A.A.* // *Egypt. J. Solids*. 2007. V. 30. № 2. P. 157.
44. *Kumar N., Rao V.V.* // *MIT Int. J. Mech. Eng.* 2016. V. 6. № 1. P. 43.
45. *Innocenzi P.* // *The Sol-to-Gel Transition*. Sassari: Springer, 2019.
46. *Winter H.* // *Polym. Eng. Sci.* 1987. V. 27. № 22. P. 1698.
47. *Папков С.П.* // *Студнеобразное состояние полимеров*. М.: Химия. 1974.
48. *Flory P.J.* // *Principles of Polymer Chemistry*. New York: Cornell Univ. Press, 1953.



УДК 541.64:539.2:547.9

## БИОСОВМЕСТИМЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ИМПРИНТИРОВАННЫЕ КРИОГЕЛЕВЫЕ МАТРИЦЫ ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ БЕЛКА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦАХ

©2024 г. М. С. Леонович<sup>a,b</sup>, В. А. Коржиков-Влах<sup>a,\*</sup>, Е. Г. Коржикова-Влах<sup>b</sup>, И. А. Гурьянов<sup>a</sup>, О. Н. Бревнов<sup>a</sup>, Т. Б. Тенникова<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, 198504 Санкт-Петербург, Петергоф, Университетский пр., 26, Россия

<sup>b</sup>Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук 199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31, Россия

\*e-mail: v.korzhihov-vlakh@spbu.ru

Поступила в редакцию 21.03.2024 г.

После доработки 13.05.2024 г.

Принята к публикации 23.05.2024 г.

В условиях различного соотношения и содержания мономеров в полимеризационной смеси получена серия молекулярно-импринтированных и неимпринтированных криогелей на основе сополимера 2-гидроксиэтилметакрилата с *N,N'*-метилден-*бис*-акриамидом. Полученные материалы были охарактеризованы с точки зрения морфологии поверхности, способности к набуханию, среднего размера пор и пористости, а также механических характеристик на сжатие. Кроме того, была проведена сравнительная оценка адсорбционных свойств молекулярно-импринтированных и неимпринтированных криогелей в отношении целевого белка ( $\alpha$ -химотрипсина) в динамическом режиме, а также биосовместимости криогелей *in vitro* с использованием двух клеточных линий.

DOI: 10.31857/S2308112024010034 EDN: NLNEKQ

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время аффинные методы широко применяются в различных областях биотехнологии и медицины, включая очистку биомолекул, клеток, вирусов, а также диагностику тех или иных заболеваний, доставку лекарств и т.д. [1–6]. В связи с этим распознавание, выделение и очистка свободных белков, а также содержащих белки биологических объектов, таких как клетки и вирусы, являются важными и актуальными направлениями исследований.

Молекулярный импринтинг представляет собой метод, позволяющий искусственно создавать сайты молекулярного распознавания в полимерных матрицах для селективного связывания различных молекул [7–9], включая белки [10, 11]. Метод молекулярного импринтинга заключается в создании предполимеризационного комплекса между молекулой-шаблоном и функциональным мономером, с последующим сшиванием системы и формированием импринт-сайта в сшитой полимерной сетке [12]. После образования полимерной матрицы молекулы-шаблоны удаляются, и готовый сорбент содержит участки селективного молекулярного распознавания, представля-

ющие собой молекулярные отпечатки, по форме и функциональности комплементарные молекуле-шаблону [12–14]. Молекулярно-импринтированные полимерные системы (МИП) весьма привлекательны ввиду относительной простоты их получения, высокой стабильности и при этом селективности и специфичности, зачастую сопоставимыми с параметрами природных аффинных пар [15]. Кроме того, данные материалы выдерживают более жесткие условия применения, чем аффинные системы, несущие иммобилизованные природные лиганды [16].

Макропористые МИП-сорбенты широко используются в качестве неподвижных фаз в различных областях: высокоэффективной жидкостной хроматографии [17], твердофазной экстракции [18], органическом катализе [16], а также в качестве сенсоров [19]. Также хроматография на МИП-колонках оказалась конкурентоспособной альтернативой аффинной хроматографии при разделении диастереомеров, энантиомеров, соединений с несколькими хиральными центрами и их различных аналогов [20]. МИП-сорбенты зарекомендовали себя как материалы с высокой механической, химической

устойчивостью; результаты, получаемые при использовании материалов подобного типа, характеризуются хорошей воспроизводимостью [12].

Белки являются важными маркерами некоторых заболеваний, а импринтинг белков представляет один из возможных инструментов для создания биомиметических рецепторов с антителоподобными специфическими сайтами узнавания. По сравнению с импринтингом низкомолекулярных соединений ввиду множества причин, таких как большой размер молекул, их структурная и химическая сложность, ограниченная растворимость в органических растворителях и низкая стабильность, импринтинг биомакромолекул все еще остается нетривиальной задачей [21, 22].

Для создания МИП-системы с отпечатками белков необходимо подобрать подходящую полимерную матрицу, которая обеспечивала бы взаимодействие белковых молекул с сайтами распознавания с минимальным вкладом диффузионных ограничений. Высокая проницаемость, а также отсутствие диффузионных затруднений при сорбции и десорбции веществ в достаточно широком диапазоне значений молекулярных масс может быть достигнута при использовании макро- и сверхмакропористых материалов с высокой внутрипоровой связностью. С этой точки зрения к одним из перспективных типов сверхмакропористых материалов для импринтинга белков относятся криогели.

Криогели представляют собой сшитые пористые полимерные матрицы, полученные при неглубоком замораживании раствора мономеров или полимера, обеспечивающим с одной стороны кристаллизацию воды, а с другой — протекающие низкотемпературные реакций, приводящих к образованию полимерной сетки [12, 22–24]. Вследствие способности поглощать и удерживать значительные объемы жидкости криогели стали предметом пристального изучения в целом ряде областей [25–27]. Основным преимуществом использования криогелей является сверхмакропористый характер их структуры, а также хорошая проницаемость внутрипорового пространства, что приводит к улучшенным гидродинамическим свойствам [28, 29]. Наличие пор размером в десятки, а иногда и сотни, микрометров, а также общая высокая пористость криогелей обуславливают преобладание конвективного механизма массопереноса при пропускании через них потока растворенных веществ. Эти особенности позволяют применять их не только в хроматографическом разделении белков [10, 18, 30–32], но и для разделения больших частиц, вирусов [26] и даже клеток [25]. Кроме того, криогели нашли широкое применение в доставке лекарственных препаратов [33], микробиологии [34] и биотехнологии [35],

а также в качестве скаффолдов для тканевой инженерии [36–38].

В настоящей работе изучена возможность получения биосовместимых матриц криогеля на основе сополимера 2-гидроксиэтилметакрилата с *N,N'*-метилден-бис-акриамидом, содержащих молекулярные отпечатки модельного белка —  $\alpha$ -химотрипсина. Полученные материалы были охарактеризованы с точки зрения морфологии поверхности, способности к набуханию, среднего размера пор и пористости, механических характеристик на сжатие, биосовместимости *in vitro* и адсорбционных свойств в отношении импринтированного целевого белка ( $\alpha$ -химотрипсина).

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Материалы

Мономеры: 2-гидроксиэтилметакрилат (ГЭМА), *N,N'*-метилден-бис-акриамид (МБАА); инициаторы: аммония пероксодисульфат (АПС), *N,N,N',N'*-тетраметилэтилендиамин (ТМЭДА) были приобретены в компании “Sigma-Aldrich” (Германия).  $\alpha$ -химотрипсин из бычьей поджелудочной железы ( $M = 27 \times 10^3$ ) поставлен компанией “Sigma-Aldrich” (Германия).

Соли для приготовления буферных растворов являлись продуктами компаний “Fluka” (Швейцария), “Sigma-Aldrich” (Германия), “Вектон” (Россия) и ROTH (Германия). Гидроокись натрия, соляная кислота и параформальдегид — продукты компаний “Вектон” (Россия), “Сигма Тэк” (Россия) и “Merck” (Германия) соответственно. Реактив Фолина—Чокальтеу был приобретен в компании “Sigma-Aldrich” (Германия). Буферные растворы готовили путем растворения соответствующих компонентов в дистиллированной воде.

Базальные среды:  $\alpha$ -MEM (alpha modified Eagle’s minimal essential medium) и ДМЕМ (Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium) являлись продуктами компаний “ThermoFisher” (Германия) и “Sigma-Aldrich” (Германия). Сыворотка человека группы крови АВ, эмбриональная бычья сыворотка, гентамицин, пенициллин/стрептомицин были приобретены в компаниях “СС-pro” (Германия) и “Merck” (Германия).

Для работы с клетками готовили питательные клеточные среды следующего состава:  $\alpha$ -MEM с добавлением 2.2 г/л гидрокарбоната натрия, 10% сыворотки человека группы крови АВ и 0.5% гентамицина; ДМЕМ с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки и 1% пенициллина/стрептомицина.



Флуоресцентные красители: CellTiter-Blue (СТВ), кальцеин-ацетоксиметил (Calcein-AM; Cal-AM), пропиций йодид (PI) и 4',6-диамидино-2-фенилиндола (DAPI) были продуктами компаний "Promega" (США), "Sigma-Aldrich" (Германия) и "Merck" (Германия). Изучение цитотоксичности и биосовместимости проводили в 24- и 96-луночных планшетах (TPP, "Trasadingen", Швейцария).

Перед дозированием в хроматографическую систему растворы белка фильтровали через шприцевые фильтры МСЕ "MicroLab Scientific Co" (диаметр пор 45 мкм, Китай). Коммерчески доступные реагенты и растворители, если не указано отдельно, использовали без дополнительной очистки.

### Методы

**Синтез криогелей с молекулярными отпечатками  $\alpha$ -химотрипсина.** Для получения молекулярно-импринтированных полимеров навеску  $\alpha$ -химотрипсина (3 мас. % от массы сомономеров) растворяли в 1 мл дистиллированной воды, добавляли необходимое количество ГЭМА, перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 30 мин для образования предполимеризационного комплекса. К полученному комплексу добавляли раствор расчетного количества МБАА в 2.5 мл дистиллированной воды. Полученную смесь сомономеров перемешивали и охлаждали на ледяной бане в течение 10 мин. В исследовательских целях варьировали мольные соотношения ГЭМА : МБАА в диапазоне от 6 : 1 до 2 : 1. Навески АПС и ТМЭДА (2% от массы мономеров, мольное соотношение 1 : 1) растворяли по отдельности в 0.25 мл дистиллированной воды и также охлаждали на ледяной бане в течение 3 мин. К охлажденному раствору мономеров последовательно при перемешивании добавляли растворы АПС и ТМЭДА. Полученную реакционную смесь объемом 4 мл быстро переносили в стальную хроматографическую колонку длиной 50.0 мм, внутренним диаметром 4.6 мм и помещали в морозильную камеру на 24 ч при температуре  $-13^{\circ}\text{C}$ .

Полученные криогели размораживали при комнатной температуре (около  $22^{\circ}\text{C}$ ). Для удаления непрореагировавших низкомолекулярных соединений гель в колонке промывали дистиллированной водой объемом 200 мл с использованием перистальтического насоса REN 520 Watson Marlow 520S (Великобритания). Промытый гель повторно замораживали и лиофильно высушивали в течение 1 сут с использованием лиофильной машины "Zirbus Technology GmbH" (Германия). Полученные полимерные матрицы хранили в сухом состоянии. Перед применением высушенные образцы подвергали повторному набуханию в дистиллированной воде.

Для удаления шаблона ( $\alpha$ -химотрипсина) из МИП криогелей использовали промывание 0.1 М ацетатным буферным раствором (рН 4.0) с помощью перистальтического насоса при комнатной температуре в течение 48 ч (скорость потока 1.0 мл/мин). Процедуру продолжали до полного удаления белка. Полноту удаления  $\alpha$ -химотрипсина контролировали, измеряя величину оптической плотности раствора при 280 нм с помощью УФ-спектрофотометра "Shimadzu UV-1800" (Япония). Общее количество  $\alpha$ -химотрипсина, экстрагированного из полимерной матрицы при промывке, определяли по методу Лоури-Фолина с использованием предварительно построенной калибровочной зависимости.

Неимпринтированные криогели (НИП) получали с использованием описанной выше методики, но в отсутствие  $\alpha$ -химотрипсина.

**Изучение морфологии полученных криогелей.** Морфологию высушенных образцов изучали с использованием оптического микроскопа "Leica DM4500 P" (Германия), сканирующего электронного микроскопа "Hitachi S-3400N" (Япония) и рентгеновского нанотомографа "Brucker SkyScan2011" (США). Средний диаметр пор криогелей по микрофотографиям СЭМ определяли с использованием свободно распространяемой программы для анализа изображений ImageJ (США); данные, полученные с помощью компьютерной томографии, обрабатывали в программах DataViewer (США) и CTvox (США).

**Механические испытания.** Изучение механических свойств проводили с использованием системы "Shimadzu EZTest EZ-L" (Япония) в режиме одноосного сжатия. Для обеспечения плотного контакта поверхности с образцом начальное напряжение составило 0.1 Н; скорость движения 2 мм/мин, для всех образцов криогелей была проведена серия параллельных измерений ( $n = 5$ ).

**Изучение способности криогелей к набуханию.** Степень набухания полимерной сетки матриц S устанавливали следующим образом. Определяли массу извлеченного из формы промытого и высушенного в лиофильной сушке до постоянной массы образца материала длиной 50 мм и диаметром 4.6 мм. Далее помещали его в чашку Петри и заливали 6 мл дистиллированной воды. Выдерживали образец погруженным в воду в течение 24 ч при комнатной температуре. По истечении данного времени образец извлекали, излишки воды с поверхности убирали с помощью фильтровальной бумаги, жидкость из пор удаляли под давлением подаваемого потока воздуха, и снова взвешивали. Для продувания набухших образцов они были помещены в стальные хроматографические колонки, давление воздуха в которых создавалось с использованием компрессора. Воздух подавался

до тех пор, пока с противоположной стороны не переставала капать жидкость. Процедура была стандартизована и для всех образцов было установлено фиксированное время продувки, после которого масса геля не менялась.

Степень набухания рассчитывали по формуле

$$S = \frac{m - m_0}{m_0} \times 100\%, \quad (1)$$

где  $m_0$  – масса сухого образца,  $m$  – масса набухшего образца.

**Исследование адсорбционных свойств криогелей.** Для подтверждения способности распознавания импринтированными матрицами молекул-шаблонов были проведены эксперименты по адсорбции  $\alpha$ -химотрипсина на МИП и НИП криогелевых матрицах в динамическом режиме с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Градиентную элюцию осуществляли с использованием системы “Shimadzu” (Япония), состоящей из двух насосов LC-20AD, УФ-детектора на диодной матрице SPD-M20A, системного контроллера CBM-20A, термостата CTO-20A и блока дегазатора DGU-20A<sub>5R</sub>. 0.01 М фосфатный буферный раствор, pH 6.0 (элюент А) и 0.1 М ацетатный буферный раствор, pH 4.0 (элюент Б) были компонентами подвижной фазы. Элюирование проводили в следующем режиме: 0–5 мин – элюент А, 5–19 мин – 0–35% элюент Б (линейный градиент). Анализ проводили при 22°C, контроль адсорбции белка осуществляли спектрофотометрически при 280 нм. Объем дозирования составлял 20 мкл (объем петли дозатора), концентрация раствора аналита 0.5 мг/мл. Коэффициент удерживания находили по формуле

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (2)$$

Здесь  $t_R$  и  $t_0$  – времена элюирования удерживаемого и неудерживаемого компонента соответственно.

Коэффициент импринтирования ( $IF$ ) рассчитывали по формуле

$$IF = \frac{Q_{\text{МИП}}}{Q_{\text{НИП}}}, \quad (3)$$

где  $Q_{\text{МИП}}/Q_{\text{НИП}}$  – количества адсорбированного вещества на МИП/НИП-сорбентах.

Изучено влияние скорости потока на адсорбционную способность матриц. Скорость потока

раствора составляла 1.0 и 2.0 мл/мин. Концентрацию белка определяли по предварительно построенному калибровочному графику.

**Биологические свойства криогелей.** Анализ цитотоксичности проводили с помощью СТВ-теста. В экспериментах использовали два типа клеток: мезенхимальные стволовые клетки человека (MSCs) и эмбриональные мышечные фибробласты (NIH 3T3).

*Изучение влияния экстрактов из криогелей на жизнеспособность клеток.* Для исследования были выбраны образцы, полученные путем крио-сополимеризации ГЭМА–МБАА при содержании сомономеров 8 мас. %, а также при мольных соотношениях ГЭМА : МБАА, равных 4 : 1 и 6 : 1. Извлеченные из формы образцы набухшего материала нарезали острым скальпелем на равные диски толщиной  $4.0 \pm 0.6$  мм и массой  $5.0 \pm 0.4$  мг. Полученные образцы помещали в 24-луночный планшет (по 6 дисков в лунку) и стерилизовали УФ-облучением (диапазон длины волн 200–295 нм) в течение 30 мин с каждой стороны. Затем в каждую лунку с образцом добавляли по 500 мкл  $\alpha$ -MEM или DMEM (питательные среды для клеток MSCs и NIH 3T3, соответственно) и помещали в CO<sub>2</sub>-инкубатор (37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 80% влажности) “Thermo Fisher” (США) на 72 ч. К высеянному в двух 96-луночных планшетах клеткам MSCs и NIH 3T3 добавляли по 150 мкл промывной жидкости из криогелей и инкубировали еще 24 ч.

*Изучение временной зависимости пролиферации клеток на поверхности криогелей.* Для изучения временной зависимости выживаемости и поведения клеток на поверхности криогелей, материалы синтезировали непосредственно в лунках 24-луночного планшета. Для исследования были выбраны криогели, полученные с использованием 8%-ной смеси мономеров ГЭМА–МБАА и мольным соотношением мономеров 4 : 1 и 6 : 1. Для удаления непрореагировавших низкомолекулярных соединений готовые криогели промывали в течение 24 ч дистиллированной водой при перемешивании на орбитальном шейкере, после чего проводили стерилизацию УФ-излучением (диапазон длины волн 200–295 нм) по 30 мин с каждой стороны. В экспериментах использовали указанные выше два типа клеток: MSCs и NIH 3T3. На поверхность криогелей в каждую лунку высевали по  $4 \times 10^4$  клеток в 500 мкл питательной среды. Клетки инкубировали в течение 24, 72 и 168 ч.

Спустя заданное время инкубирования, в лунки планшетов вносили по 10% раствора СТВ от общего объема жидкости в лунке и инкубировали при 37°C в течение 1.5 ч. Флуоресценцию СТВ, восстановленного жизнеспособными клетками, измеряли при длине волны возбуждения 544 нм

и длине волны испускания 590 нм с помощью планшетного флуориметра “FluoroskanAscent”, “ThermoFisher Scientific (США). Значения представлены как сигнал флуоресценции чистого восстановленного реагента СТВ после вычитания холостой пробы (100 мкл рабочего раствора СТВ (1 : 10 об./об. в базальной α-МЕМ в случае MSCs или ДМЕМ в случае NIH 3T3 после 1.5 ч инкубирования в отсутствие клеток и криогеля) и нормировки в процентах по отношению к контролю (лункам, содержащим клетки, инкубированные без криогелей). Для всех образцов анализ повторяли три раза.

Для наглядной визуализации роста клеток на материалах проводили окрашивание живых/мертвых клеток флуоресцентными красителями. Окрашивание осуществлялось через 24, 72 и 168 ч культивирования клеток на материалах. Образцы инкубировали в 3 мкмоль Cal-AM и 2.5 мкмоль PI в базальной α-МЕМ (в случае MSCs) или базальной ДМЕМ (в случае NIH 3T3) в течение 15 мин при 37 °С и анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа (“Olympus, BX-51”, “Olympus Corporation”, Япония), оснащенного камерой (“Olympus SC30, IX-TVAD”, “Olympus Corporation”, Япония) и программным обеспечением CellSens (CellSens Standard 1.7.1, “Olympus Corporation”, Япония). Окрашивание DAPI осуществляли для образцов, полученных при культивировании клеток на поверхности в течение 24, 72 и 168 ч. Матрицы дважды промывали теплым 0.01 М фосфатно-солевым буферным раствором (рН 7.4) в течение 30 мин. Культуральную среду удаляли и к образцу добавляли 200 мкл 4%-ного параформальдегида в фосфатно-солевом буферном растворе для фиксирования клеток, оставляли на 20 мин при комнатной температуре. После фиксации образцы еще раз промывали 0.01 М фосфатно-солевым буферным раствором (рН 7.4) и окрашивали клеточные ядра в течение 15 мин рабочим раствором DAPI (1 : 1000 (об./об.) в фосфатно-солевом буферном растворе) при комнатной температуре (около 22 °С) в темноте. Образцы анализировали с использованием флуоресцентного микроскопа (“Olympus, BX-51”, “Olympus Corporation”, Япония).

**Статистическая обработка данных.** Оценку погрешности результатов всех экспериментов проводили путем вычисления среднего квадратического отклонения ( $S_0$ ) по формуле

$$S_0 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (a_i - \bar{a})^2}{n(n-1)}}, \quad (4)$$

где  $a_i$  –  $i$ -й элемент выборки,  $\bar{a}$  – среднее арифметическое выборки,  $n$  – объем выборки ( $n = 5$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### *Получение и характеристика криогелей*

Сверхмакропористые криогели получали сополимеризацией в замороженном состоянии функционального и сшивающего мономеров, а именно ГЭМА и МБАА, в присутствии АПС/ТМЭДА в качестве пары инициатор/активатор радикальной реакции. Растворителем служила вода, которая при замерзании в фазу льда также выступала в качестве порообразователя. Использование воды удобно с точки зрения ее биосовместимости и, как следствие, биологической безопасности получаемых матриц. Кроме того, вода хорошо растворяет белок-шаблон, что является необходимым условием для молекулярного импринтинга. Макропористые колонки с отпечатками α-химотрипсина были синтезированы с применением подхода нековалентного импринтинга. С целью формирования устойчивого предполимеризационного комплекса, мономеров были взяты в избытке по отношению к шаблону.

Полученные образцы криогелей представляли собой белые, непрозрачные, губчатые и эластичные матрицы, из которых можно легко удалить воду, находящуюся в порах, путем сжатия. Сжатый материал при погружении в воду быстро набухал и через несколько секунд восстанавливал свой первоначальный размер и форму. Набухание высушенных матриц определяется диффузией молекул растворителя в сшитую сетку сополимера, а также сольватацией полимерных цепей между узлами химической сшивки. Данная характеристика для изучаемых образцов находится в диапазоне от 1140 до 2250 % (табл. 1).

Можно заметить, что образцы материала на основе ГЭМА–МБАА-5% демонстрирует лучшую способность к набуханию по сравнению с образцами ГЭМА–МБАА-8%, что обусловлено меньшей плотностью сшивки в случае матриц на основе 5%-ной смеси мономеров. Однако для образцов ГЭМА–МБАА, полученных при использовании концентрации мономеров 5 мас. %, можно проследить следующую зависимость: степень набухания возрастает с увеличением количества сшивающего агента в реакционной смеси. Наблюдаемый эффект может быть связан с уменьшением среднего размера пор и вместе с тем с увеличением общей пористости образцов (табл. 1). В свою очередь это приводит к улучшению способности криогеля удерживать воду, что и объясняет повышение степени набухания.

Морфология является важнейшей характеристикой исследуемых материалов. Изображения, полученные методом оптической микроскопии, приведенные на рис. 1, демонстрируют однород-

ность поровой структуры и высокую пористость высушенных полимерных матриц.

Детальное изучение поровой структуры высушенных образцов было проведено с применением метода сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (рис. 2).

Приведенные данные позволили получить представление о том, как влияет концентрация мономеров и количество сшивающего агента на морфологические характеристики матриц. Как видно на микрофотографиях, матрицы ГЭМА–МБАА с содержанием сомономеров 5 мас. % (рис. 2а–2г), обладают менее гомогенной, рыхлой и слоистой структурой, которая характеризуется порами большего размера, по сравнению с более плотно сшитыми материалами ГЭМА–МБАА с содержанием сомономеров 8 мас. % (рис. 2д–2е). Данные о среднем размере пор, полученные путем

обработки микрофотографий (табл. 1), отражают изменение размера пор в зависимости от общего содержания мономеров и их мольного соотношения в смеси.

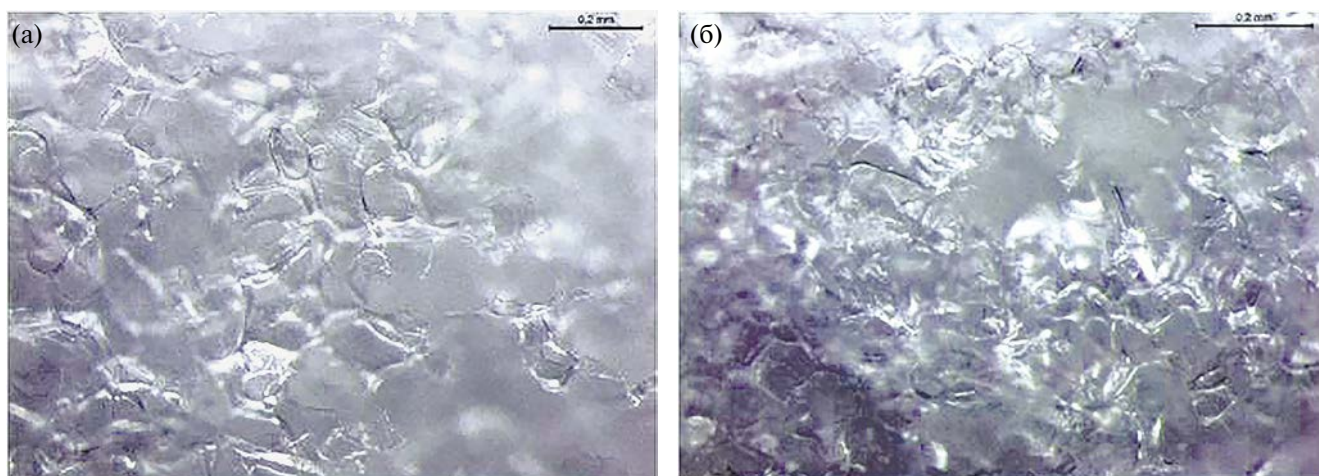
Также морфология и пористость сухих матриц была исследована с использованием метода компьютерной рентгеновской нанотомографии. 3D-модели материалов демонстрируют наличие в них большого количества открытых пор, а также развитой системы проточных каналов (рис. 3), что позволяет предположить высокую проницаемость исследуемых материалов. Кроме того, на основании данных компьютерной рентгеновской нанотомографии была рассчитана общая пористость образцов (табл. 1). Среднее значение пористости изучаемых матриц крайне высоко и лежит в пределах 85–92%. Полученные данные свидетельствуют о том, что материалы обладают

**Таблица 1.** Влияние концентрации реакционной смеси и соотношения мономеров на характеристики полученных полимерных матриц в сухом состоянии. Погрешность величин получена при статистической обработке пяти параллельных измерений ( $n = 5$ ).

Образец	Концентрация мономеров, мас. %	Мольное соотношение [ГЭМА] : [МБАА]	Степень набухания, %	Пористость*, %	Средний размер пор**, мкм
1	5	6	1780 ± 15	85	160 ± 75
2		4	1850 ± 13	86	80 ± 35
3		3	2050 ± 15	88	30 ± 15
4		2	2250 ± 15	91	26 ± 11
5	8	6	1140 ± 15	90	62 ± 21
6		4	1300 ± 25	92	48 ± 17

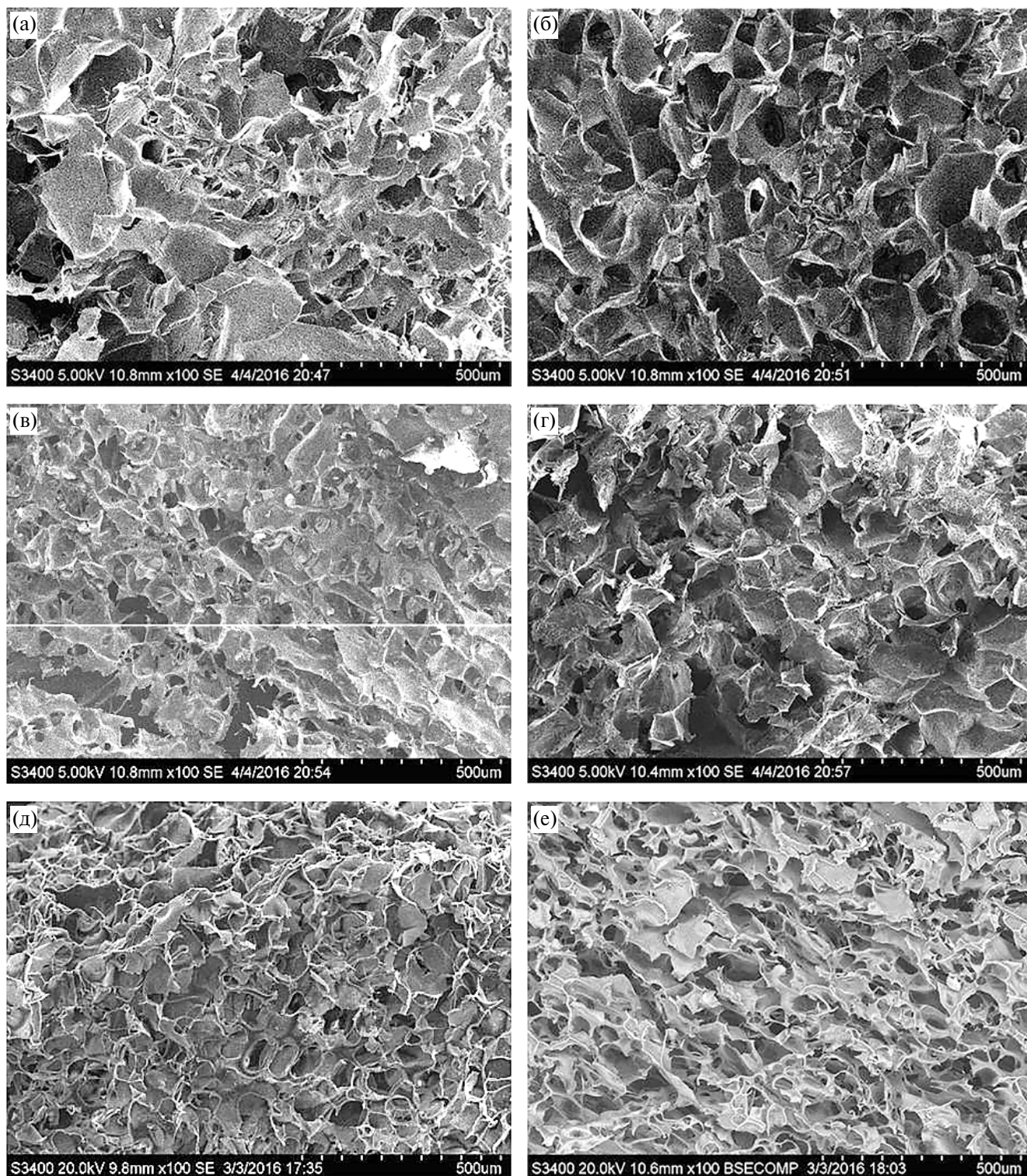
\* По данным компьютерной томографии.

\*\* По данным СЭМ.



**Рис. 1.** Оптические микрофотографии высушенных полимерных матриц, полученных путем криосополимеризации ГЭМА и МБАА (мольное соотношение 6 : 1) при суммарной концентрации сомономеров 5 (а) и 8 мас. % (б). Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.



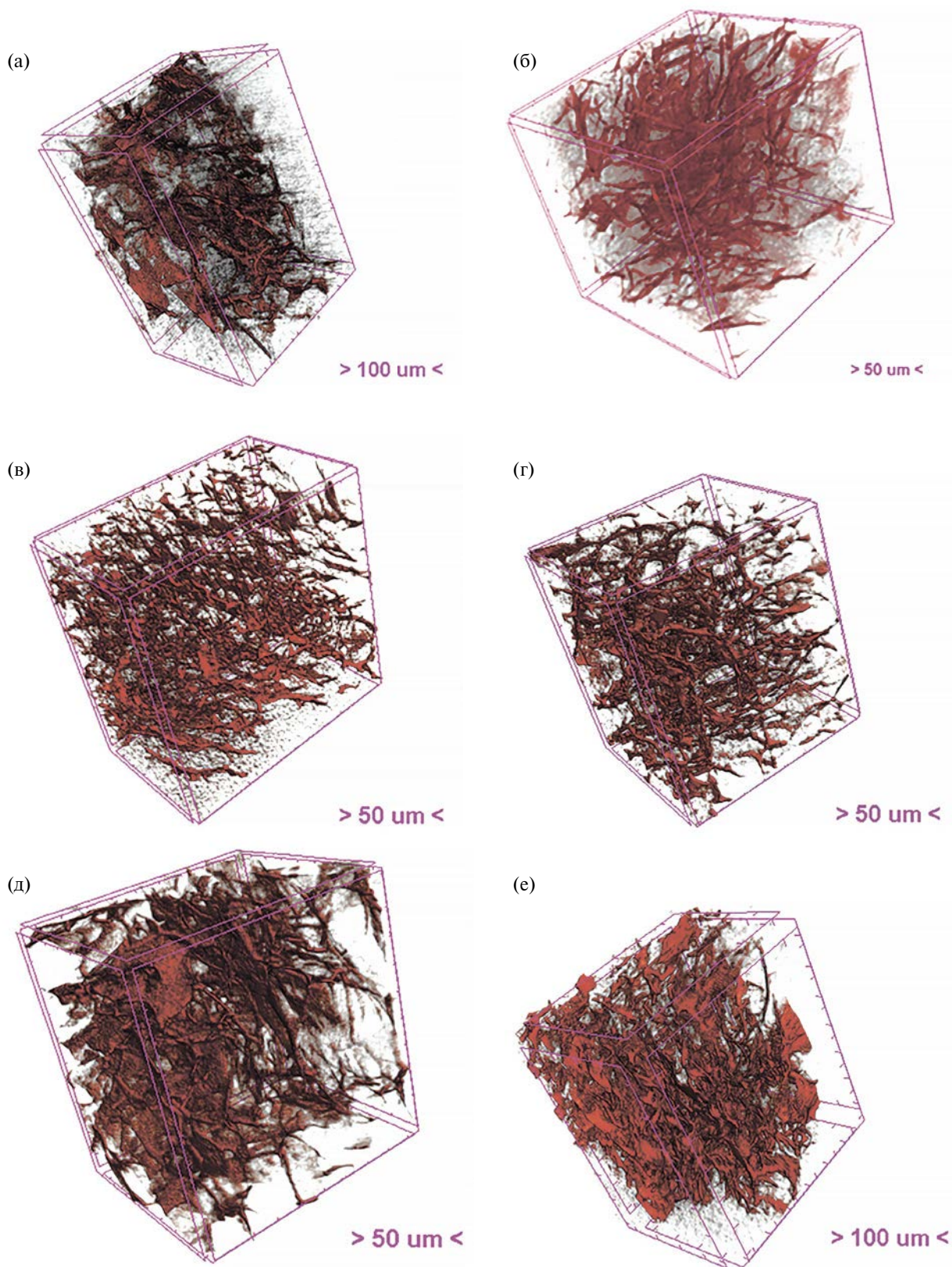


**Рис. 2.** Микрофотографии СЭМ, полученные для высушенных полимерных матриц, полученных при концентрации сомономеров 5 (а, г) и 8 мас. % (д, е), а также мольном соотношении ГЭМА : МБАА = 6 : 1 (а, д), 4 : 1 (б, е), 3 : 1 (в) и 2 : 1 (г).

выраженной сверхмакропористой структурой и развитой системой проточных каналов.

Наличие пор больших размеров, а также развитой системы проточных каналов служит пред-

посылкой свободной диффузии и эффективного массопереноса биомакромолекул в системе, что является необходимым свойством стационарных фаз для твердофазного разделения/выделения белков.



**Рис. 3.** Результаты исследования материалов методом компьютерной томографии. 3D-модели высушенных полимерных матриц на основе ГЭМА–МБАА, полученных при концентрации сомономеров (а, г) и 8 мас. % (д, е), а также мольном соотношении ГЭМА : МБАА = 6 : 1 (а, д), 4 : 1 (б, е), 3 : 1 (в) и 2 : 1 (г).



Полученные материалы имеют пористые и тонкие полимерные стенки, большие непрерывные взаимосвязанные поры, обеспечивающие прохождение подвижной фазы. Размеры пор матриц намного больше, чем размер макромолекул белка, что обеспечивает высокую проницаемость неподвижной фазы по отношению как к подвижной фазе, так и к биомacroмолекулам. Именно высокая проницаемость объясняет механизм конвективного массопереноса, характерный для сорбентов монолитного типа, и позволяет применять их не только в хроматографическом разделении белков [39], но также для разделения наночастиц и даже клеток [40, 41].

В процессе использования криогелей как части проточной системы они подвергаются воздействию давления, из-за чего возможно существенное сжатие образца и даже его разрушение. Необходимым условием использования криогелей в динамическом режиме является механическая устойчивость матриц, а также способность к сохранению целостности структуры при значительных давлениях. Как высушенные, так и набухшие образцы матриц, полученные при различных мольных соотношениях ГЕМА : МБАА, были протестированы с применением метода одноосного сжатия (рис. 4).

Данный метод позволяет получать результаты с достаточной надежностью (95–98%) даже для хрупких полимеров. Испытание состояло в сжатии цилиндрического образца с постоянной скоростью и автоматической регистрации напряжения.

Необходимо отметить, что измерения образцов, полученных при содержании сомономеров

5 мас. %, показали их неудовлетворительные механические свойства. Поэтому здесь мы приводим данные для более механически стабильных образцов, полученных при концентрации сомономеров 8 мас. %. Для данных материалов вариация соотношений функционального мономера и сшивающего агента влияла на механическую прочность как сухих, так и набухших материалов предсказуемым образом (рис. 4). Увеличение количества сшивающего мономера МБАА приводило к образованию более прочных матриц. На представленных зависимостях видно, что сухие образцы обладают значительной упругостью и проявляют устойчивость к разрушению даже при деформации 40%. Однако в исследуемых высушенных матрицах за счет их хрупкости происходит образование трещин и скалывание частей образца, что является показателем разрушения полимера.

В набухом состоянии материалы обладают значительно более низким по величине модулем упругости, что может быть объяснено увеличением свободы сольватированных макромолекул и, как следствие, их более выраженной подвижности. Тем не менее испытания на одноосное сжатие образцов криогелей в набухом состоянии подтвердили их устойчивость к разрушению даже при деформации более 60%. Это свидетельствует об их высокой эластичности, обусловленной, по всей видимости, ковалентными сшивками и огромными порами внутри полимерного материала.

На основании проведенных механических испытаний было принято решение в дальнейших экспериментах использовать только 8%-ные гели. При этом по причине наблюдаемой

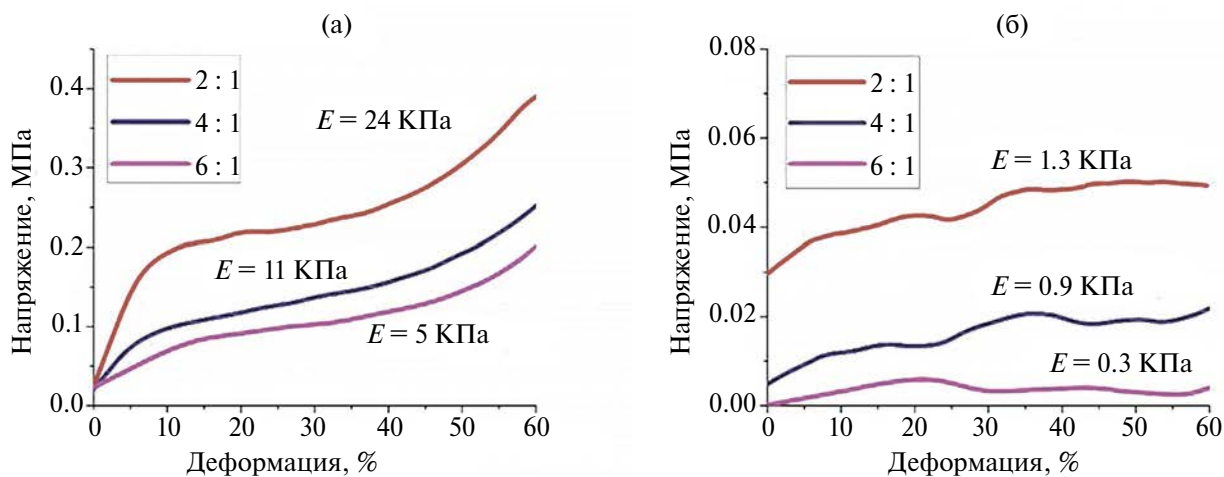


Рис. 4. Деформационные кривые и значения модулей Юнга, полученные для высушенных полимерных матриц (а) и набухших гелей (б), полученных на основе ГЭМА–МБАА (8 мас. %) при мольном соотношении сомономеров 2 : 1 (1), 4 : 1 (2) и 6 : 1 (3). а —  $E = 24$  (1), 11 (2) и 5 кПа (3); б —  $E = 1.3$  (1), 0.9 (2) и 0.3 кПа (3).

экспериментально наилучшей проницаемости гелей для работы были выбраны образцы, полученные при мольном соотношении ГЭМА : МБАА = 6 : 1 и 4 : 1.

### Биологические свойства криогелей

Огромный размер пор и высокая проницаемость делают криогели перспективными материалами не только для разделения биомакромолекул, но также для экстракции клеток. Для определения возможности использования полученных полимерных материалов для работы с живыми клетками была оценена их цитотоксичность. Вначале было проведено исследование влияние возмож-

ного присутствия токсичных компонентов в экстрактах из криогелей на жизнеспособность клеток. Для этого использовали две чувствительные к токсинам клеточные линии, а именно мезенхимальные стволовые клетки (MSCs) и фибробласты (NIH 3T3). Данные, полученные с использованием СТВ-теста, показали отсутствие снижения выживаемости клеток в присутствии экстракта из полимерных матриц ГЭМА–МБАА (рис. 5).

На втором этапе биологических исследований нами было проведено изучение временной зависимости выживаемости клеток на поверхности матриц (рис. 6).

Как MSCs, так и NIH 3T3 являются адгезивными культурами, для выращивания которых требуется поверхность. Такие клетки погибают не только в случае присутствия токсичного компонента, но и ввиду отсутствия возможности прикрепиться к поверхности. В основе метода СТВ лежит образование резаруфина, флуоресцентного продукта восстановления резазурина, пропорционально количеству жизнеспособных клеток. На представленных зависимостях (рис. 6) видно, что клетки пролиферируют на поверхности матриц на основе ГЭМА–МБАА. Очевидно, что клетки NIH3T3 делятся гораздо активнее, чем MSCs. Это связано с тем, что период удвоения популяции у фибробластов составляет 16 ч, в то время как у мезенхимальных стволовых клеток это время составляет 24–26 ч. Кроме того, для MSCs характерно явление контактного ингибирования роста.

Также проводили визуальный контроль пролиферации клеток, окрашенных специально-

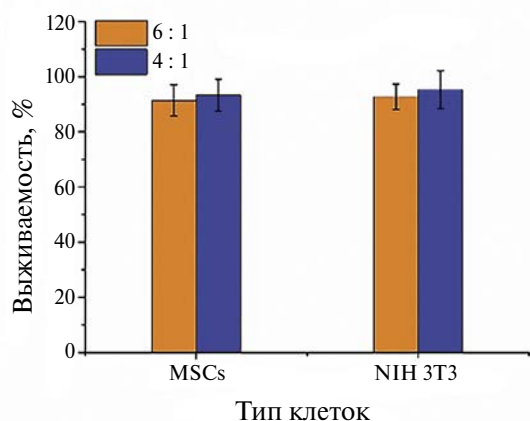


Рис. 5. Выживаемость клеток MSCs и NIH 3T3 в присутствии экстрактов из гелей, полученных путем криосополимеризации ГЭМА и МБАА (8 мас. %) при мольном соотношении сомономеров 6 : 1 (1) и 4 : 1 (2) (табл. 1, образцы 5 и 6).

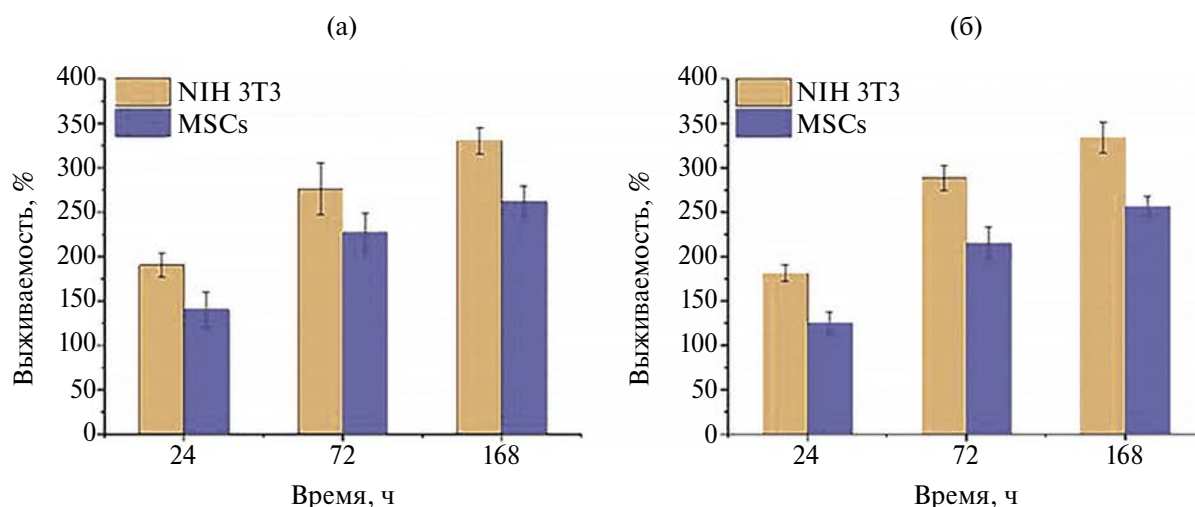


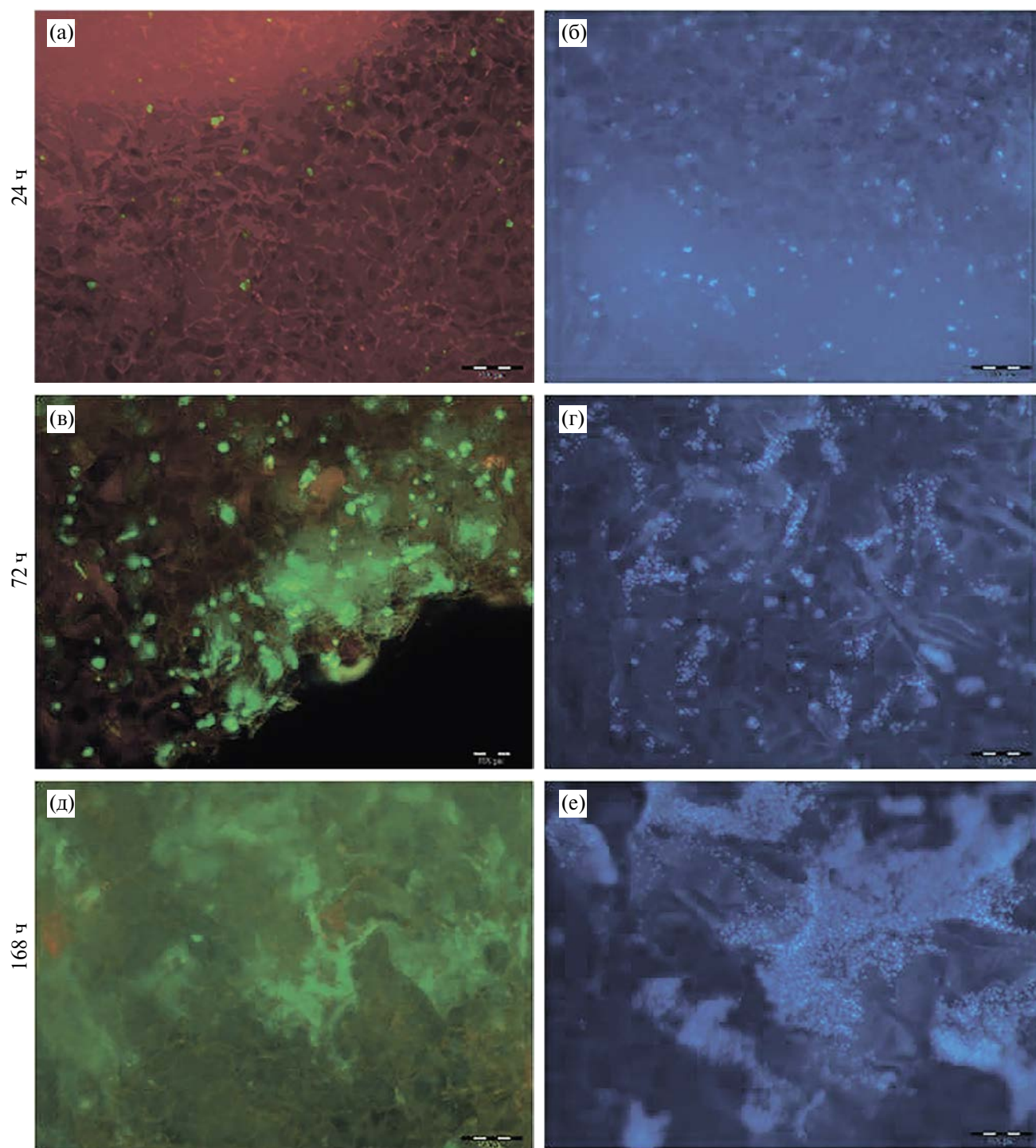
Рис. 6. Выживаемость мышинных фибробластов NIH 3T3 (1) и мезенхимальных стволовых клеток MSCs (2) на поверхности гелей, полученных путем криосополимеризации ГЭМА и МБАА (8 мас. %) при мольном соотношении сомономеров 4 : 1 (а) и 6 : 1 (б).



ми красителями, на поверхности исследуемых материалов с использованием флуоресцентной микроскопии (рис. 7).

Данным методом удалось наглядно продемонстрировать активное деление клеток на по-

верхности матриц на основе ГЭМА–МБАА. При этом клетки NIH 3T3 делятся быстрее по сравнению с MSCs (рис. 8), что согласуется с данными СТВ-теста (рис. 6).

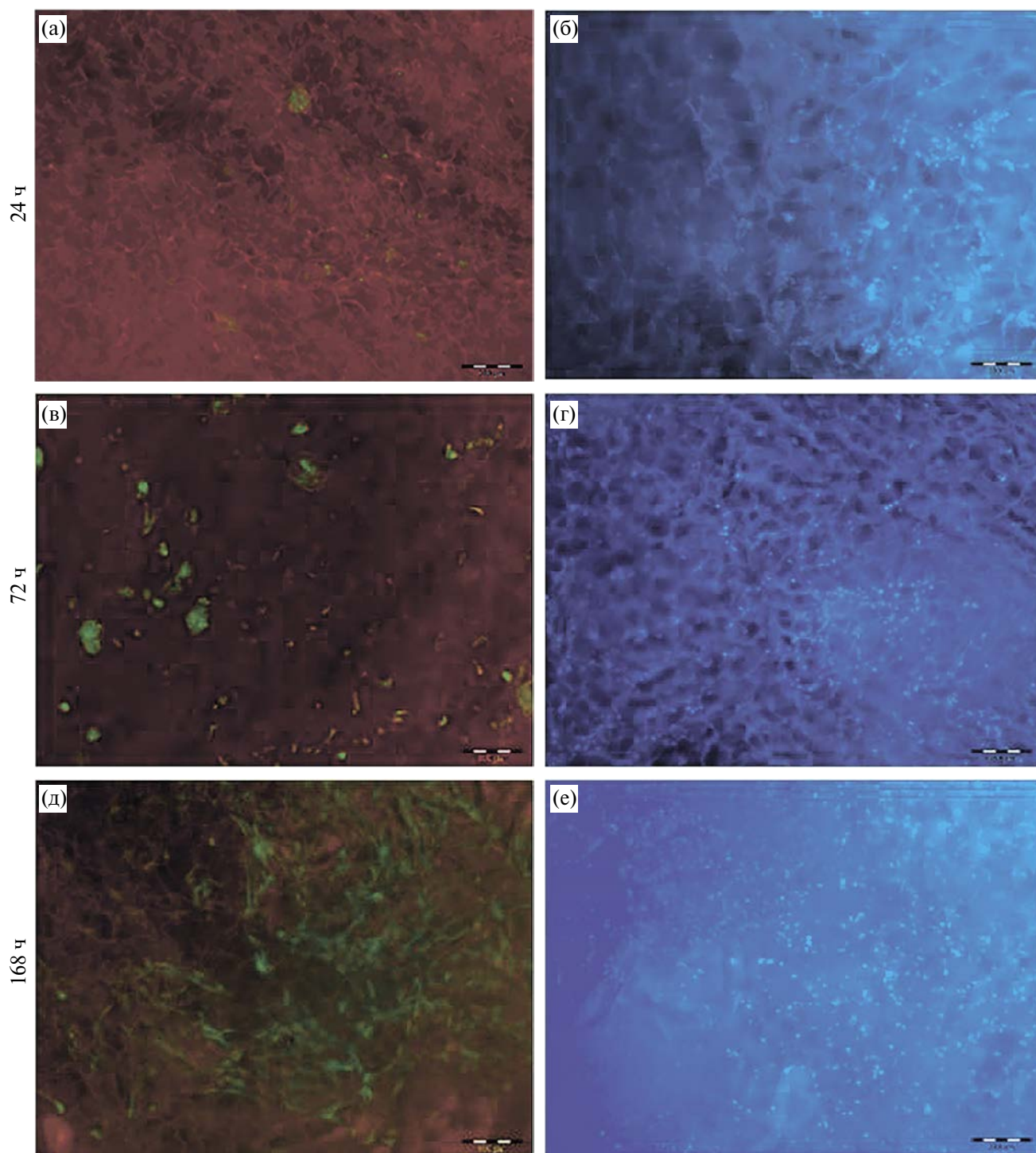


**Рис. 7.** Фотографии флуоресцентно окрашенных клеток NIH-3T3 высеванных на матрицы, полученные путем криосополимеризации ГЭМА и МБАА (8 мас. %) при мольном соотношении сомономеров 4 : 1 (увеличение 4). Интенсивность зеленого и синего окрашивания пропорциональна количеству клеток на поверхности материалов.

Таким образом, результаты проведенных биологических исследований демонстрируют отсутствие токсического воздействия материалов на клетки, что свидетельствует о возможности их использования в биотехнологии, в том числе для разделения клеток.

*Твердофазная экстракция  $\alpha$ -химотрипсина с использованием криогелей ГЭМА–МБАА*

Известно, что состав подвижной фазы существенно влияет на эффективность адсорбции целевого компонента, что связано с механизмом



**Рис. 8.** Фотографии флуоресцентно окрашенных клеток MSCs на поверхности материалов на основе ГЭМА–МБАА–8% (4 : 1) (увеличение  $\times 4$ ). Интенсивность зеленого и синего окрашивания пропорциональна количеству клеток на поверхности материалов.



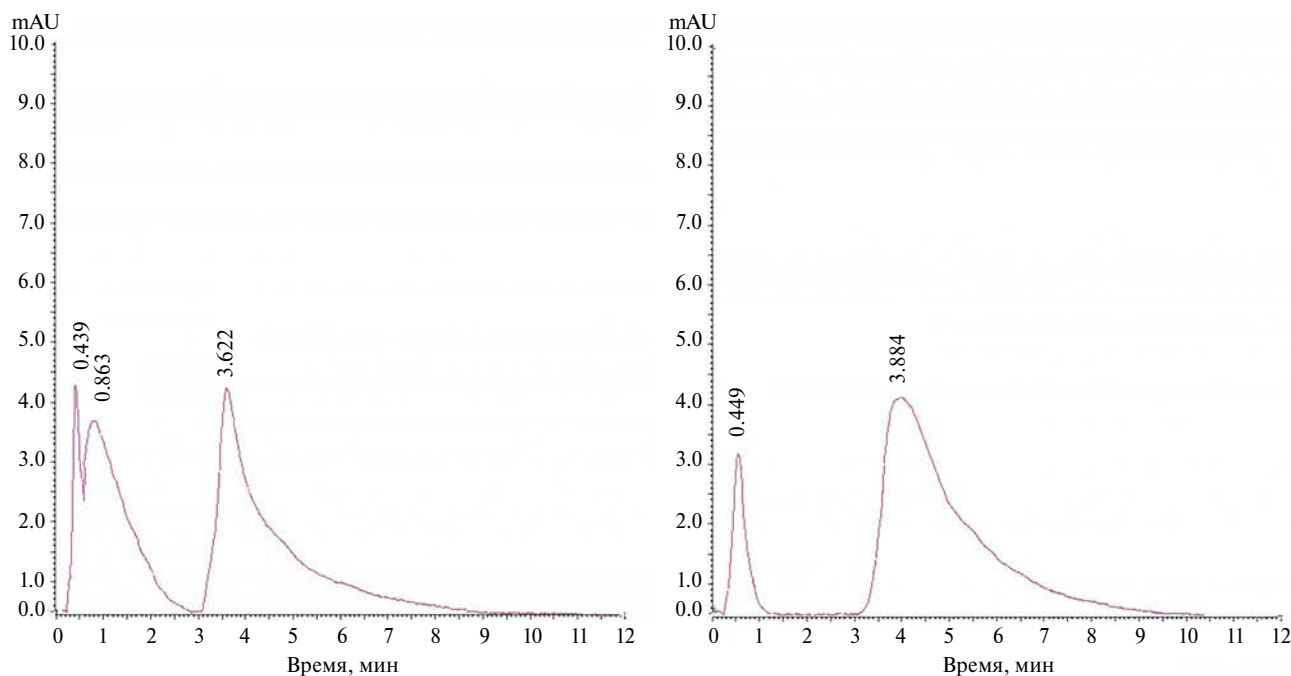
специфического взаимодействия между молекулой шаблона и сайтом распознавания [42]. В качестве элюента были использованы различные смешанные растворители и буферные растворы. Также в процессе тестирования МИП-колонок проводилось варьирование параметров градиента — скорости потока подвижной фазы, объема, времени и наклона градиента. В ходе большого числа экспериментов эффективное элюирование целевого лиганда из матриц наблюдалось при использовании системы 0.01 М фосфатный буферный раствор, рН 6.0 (элюент А) и 0.1 М ацетатный буферный раствор, рН 4.0 (элюент Б) в качестве компонентов подвижной фазы. Десорбция белка при рН 4.0 позволяет предположить, что на данный процесс оказывают влияние несколько процессов. Происходит протонирование карбоксилат-анионов в боковых остатках аспарагиновой и глутаминовой кислот (их  $pK_a \sim 4$ ) в составе белка, по-видимому, приводящее к снижению эффективности водородных связей между указанными группами в белке и группами ОН/NH в составе полимерных матриц. Также известно, что уменьшение рН вызывает изменение конформации молекулы  $\alpha$ -химотрипсина [43, 44]. Это в свою очередь может влиять на его взаимодействие с полимерной стационарной фазой.

Скорость подвижной фазы является одним из важных параметров любого динамического процесса. Известно, что в случае макропористых монолитных сорбентов эффективность хроматографического процесса не зависит от скорости подвижной фазы в достаточно широком диапазоне [12]. При увеличении скорости процесса с 1 до 2 мл/мин наблюдалось сужение пиков без ухудшения разделения для МИП-сорбентов (рис. 9, 10).

Условия: подвижная фаза А — 0.01 М фосфатный буферный раствор (рН 6.0); вытеснитель (элюент Б) — 0.1 М ацетатный буферный раствор (рН 4.0); программа градиента: 0–5 мин — 100% фаза А, 5–19 мин — 0–35% фаза В;  $\lambda$ : 280 нм, объем дозирования: 20  $\mu$ л; концентрация белка: 0.5 мг/мл.

Доля неударживаемого компонента для НИП-сорбента была в обоих случаях выше, чем для МИП-сорбента, что подтверждает более сильные взаимодействия белка с матрицей МИП-криогеля.

Эффективность синтезированных МИП-систем оценивается рядом параметров. Одними из наиболее важных характеристик являются коэффициент удержания и коэффициент



**Рис. 9.** Кривые элюирования  $\alpha$ -химотрипсина, полученные методом ВЭЖХ с использованием колонок, заполненных гелями полученными путем криосополимеризации ГЭМА и МБАА (8 мас. %) при мольном соотношении сомономеров 4 : 1 (табл. 1, образец 6): без  $\alpha$ -химотрипсина (НИП-колонка) (а) и в присутствии  $\alpha$ -химотрипсина (МИП-колонка) (б). Условия: скорость элюирования 2 мл/мин; подвижная фаза (элюент А) — 0.01 М фосфатный буферный раствор (рН 6.0); вытеснитель (элюент Б) — 0.1 М ацетатный буферный раствор (рН 4.0); программа градиента: 0–5 мин — 100% фаза А, 5–19 мин — 0–35% фаза В;  $\lambda = 280$  нм; объем дозирования 20 мкл; концентрация белка 0.5 мг/мл.

импринтирования (или импринт-фактор —  $IF$ , от англ. imprinting factor). Данные параметры были рассчитаны для НИП- и МИП-колонок для разных скоростей потока подвижной фазы (табл. 2).

**Таблица 2.** Зависимость факторов удерживания и коэффициентов импринтинга от скорости потока подвижной фазы

Скорость потока, мл/мин	$k'$		$IF$
	НИП	МИП	
1.0	8.1	8.5	1.7
2.0	7.0	7.6	2.0

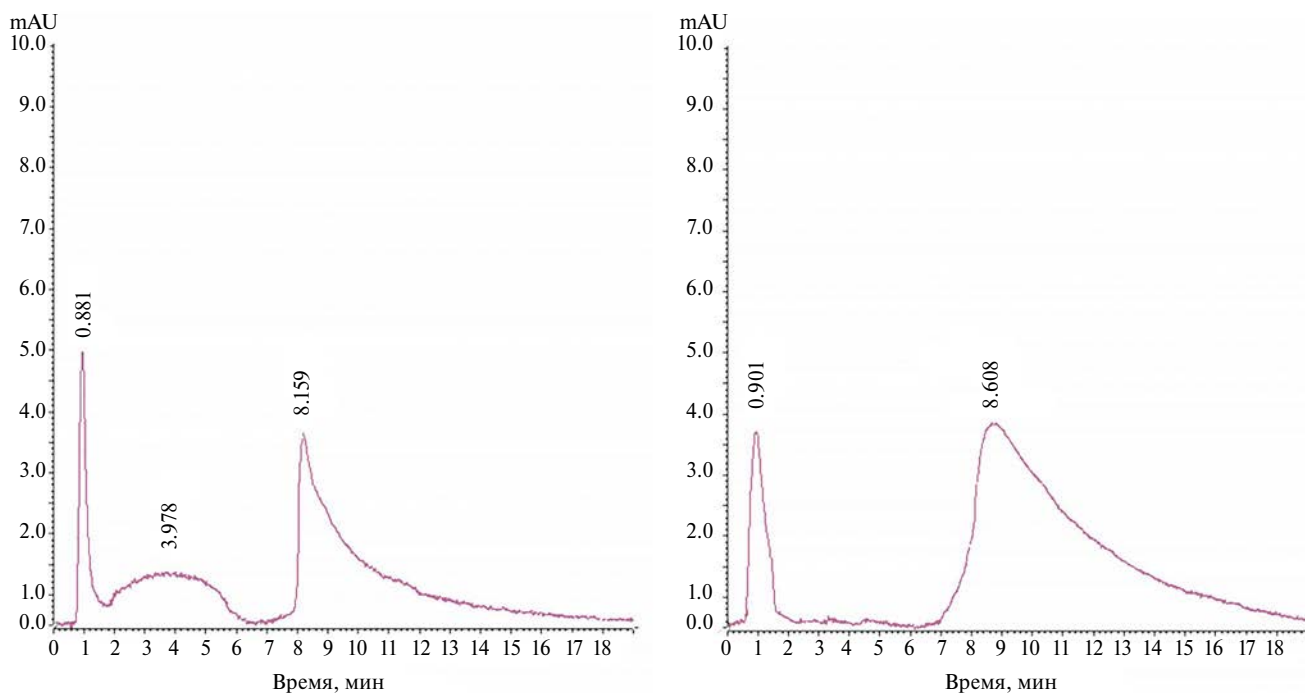
На основании полученных данных можно заключить, что действительно имеет место импринтинг  $\alpha$ -химотрипсина в криогелевые полимерные матрицы на основе сополимера ГЭМА–МБАА.

Интересно, что при увеличении скорости подвижной фазы от 1 до 2 мл/мин наблюдается возрастание эффективности селективной адсорбции (табл. 2). Данное явление может быть объяснено тем, что с повышением скорости потока подвижной фазы эффективность конвективного массопереноса между фазами возрастает, что приводит к более эффективному взаимодействию белка с его молекулярными отпечатками.

С целью изучения стабильности и возможности повторного использования МИП-криогеля, цикл адсорбция–десорбция белка повторяли 15 раз на одной и той же колонке. После каждого цикла криогель промывали 0.1 М ацетатным буферным раствором (рН 4.0) в течение 30 мин, затем дистиллированной водой в течение 30 мин и уравнивали 0.01 М фосфатным буферным раствором (рН 6.0) для следующего цикла адсорбции–десорбции. Исследования показали, что после первого цикла криогель сохраняет свою адсорбционную способность в течение последующих 14 циклов на постоянном уровне.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Селективное распознавание и связывание белков синтетическими полимерными материалами представляет большой научный и практический интерес. Основные преимущества МИП-криогелей заключаются в простоте их получения, стабильности, а также возможности создания молекулярных отпечатков различных молекул. В данной работе был проведен синтез серии МИП и НИП образцов криогелевых матриц. Синтезированные материалы имели губчатую и эластичную структуру. Изучение морфологических особенностей криогелей было проведено с помощью оптической микроскопии, СЭМ, компьютерной рентгеновской нанотомографии. Обнаружено,



**Рис. 10.** Кривые элюирования альфа-ХТР, полученные методом ВЭЖХ, с использованием криогелей ГЭМА-МБАА-8% (4:1) при скорости элюирования 1 мл/мин: НИП колонка (а); МИП колонка (б). Остальные условия см. в подписи к рис. 9.

что полученные образцы являются сверхмакропористыми (диаметр пор 20–200 мкм) и обладают развитой системой проточных каналов. Установлено, что наилучшими свойствами для применения в качестве сорбентов обладают матрицы, полученные при содержании ГЭМА и МБАА в мономерной смеси 8 мас. %, при мольном соотношении сомономеров 6 : 1 и 4 : 1.

Биосовместимость криогелей на основе ГЭМА–МБАА подтверждена в экспериментах *in vitro* для двух типов клеток. Показано, что открытая сверхмакропористая архитектура матриц делает материалы легко смачиваемыми. Это позволяет суспензии клеток свободно проникать в структуру криогеля, что приводит к более однородному распределению клеток.

Подтверждена успешность молекулярного импринтинга  $\alpha$ -химотрипсина в структуру полимерной матрицы. Значения коэффициента удерживания и коэффициента импринтирования зависели от скорости потока подвижной фазы.

Работа выполнена в рамках Мегагранта Министерства науки и высшего образования (№ 075-15-2021-637).

Работа выполнена с использованием оборудования ресурсных центров “Рентгенодифракционные методы исследования” и “Геомодель” Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Rodriguez E.L., Poddar S., Iftekhar S., Suh K., Woolfork A.G., Ovbude S., Pekarek A., Walters M., Lott S., and Hage D.S. // J. Chromatogr. 2020. V. 1157. P. 122332.
- Akgonullu S., Yavuz H., Denizli A. // Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol. 2017. V. 45. P. 800.
- Volokitina M., Krutyakova M., Siroto V., Larionov M., Tennikova T., Korzhikova-Vlakh E. // J. Pharm. Biomed. Anal. 2019. V. 165. P. 242.
- Antipchik M., Polyakov D., Sinitsyna E., Dzhuzha A., Shavlovsky M., Korzhikova-Vlakh E., Tennikova T. // Sensors (Switzerland). 2020. V. 20. P. 2719.
- Dogan A.B., Dabkowski K.E., von Recum H.A. // Pharmaceutics. 2022. V. 14. P. 1088.
- Polyakov D., Sinitsyna E., Grudinina N., Antipchik M., Sakhabeev R., Korzhikov-Vlakh V., Shavlovsky M., Korzhikova-Vlakh E., Tennikova T. // Pharmaceutics. 2021. V. 13. P. 672.
- Erturk G., Mattiasson B. // Sensors (Switzerland). 2017. V. 17. P. 1.
- Bagheri A.R., Ghaedi M. // Int. J. Biol. Macromol. 2019. V. 139. P. 40.
- Stepanova M.A., Kinziabulatova L.R., Nikitina A.A., Korzhikova-Vlakh E.G., Tennikova T.B. // Electrophoresis. 2017. V. 38. P. 2965.
- Ansari S., Masoum S. // TrAC – Trends Anal. Chem. 2019. V. 114. P. 29.
- Kidakova A., Reut J., Rappich J., Opik A., Syritski V. // React. Funct. Polym. 2018. V. 125. P. 47.
- Vlakh E.G., Korzhikov V.A., Hubina A.V., Tennikova T.B. // Russ. Chem. Rev. 2015. V. 84. P. 952.
- Refaat D., Aggour M.G., Farghali A.A., Mahajan R., Wiklander J.G., Nicholls I.A., Piletsky S.A. // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. P. 6304.
- Vasapollo G., Sole R.D., Mergola L., Lazzoi M.R., Scardino A., Scorrano S., Mele G. // Int. J. Mol. Sci. 2011. V. 12. P. 5908.
- Hoshino Y., Shea K.J. // J. Mater. Chem. 2011. V. 21. P. 3517.
- Stepanova M., Solomakha O., Ten D., Tennikova T., Korzhikova-Vlakh E. // Catalysts. 2020. V. 10. P. 1395.
- Balamurugan K., Gokulakrishnan K., Prakasam T. // Arab. J. Chem. 2016. V. 9. P. S528.
- Tan J., iang Z.T.J., Li R., Yan X.P. // TrAC – Trends Anal. Chem. 2012. V. 39. P. 207.
- Ayankojo G., Reut J., Ciocan V., Opik A., Syritski V. // Talanta. 2020. V. 209. P. 120502.
- Pu J., Wang H., Huang C., Bo C., Gong B., Ou J. // J. Chromatogr. A. 2022. V. 1668. P. 462914.
- He Y., Lin Z. // J. Mater. Chem. B. 2022. V. 10. P. 6571.
- Okay O., Lozinsky V.I. Polymeric Cryogels. Advances in Polymer Science. / Ed. by Okay O. Springer. 2014. P. 103–157.
- Mikhailovsky S.V., Savina I.N., Dainiak M., Ivanov A.E., Galaev I.Y. Biomaterials/cryogels. Comprehensive Biotechnology. Elsevier Inc. 2019.
- Erturk G., Mattiasson B. // J. Chromatogr. A. 2014. V. 1357. P. 24.
- Eggermont L.J., Rogers Z.J., Colombani T., Memic A., Bencherif S.A. // Trends Biotechnol. 2020. V. 38.
- Henderson T.M.A., Ladewig K., Haylock D.N., McLean K.M., O'Connor A.J. // J. Mater. Chem. B. 2013. V. 1. P. 2682.
- Zvukova N.D., Klimova T.P., Ivanov R.V., Ryabev A.N., Tsiskarashvili A.V., Lozinsky V.I. // Gels. 2019. V. 5. P. 25.
- Yavuz H., Denizli A.A. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Elsevier. 2015.
- Farias T., Hajizadeh S., Ye L. // Sep. Purif. Technol. 2020. V. 235. P. 116203.
- Capriotti A., Piovesana S., Chiozzi R.Z., Montone C.M., Bossi A.M., Lagana A. // J. Proteomics. 2020. V. 219. P. 103736.
- Liu X., Lin W., Xiao P., Yang M., Sun L.P., Zhang Y., Xue W., Guan B.O. // Chem. Eng. J. 2020. V. 387. P. 124074.
- Wang P., Tang X., Hu L., Yin Y., Chen S., Xu J., Wang H. // Process Biochem. 2020. V. 88. P. 31.
- Piletsky S., Canfarotta F., Poma A., Bossi A.M., Piletsky S. // Trends Biotechnol. 2020. V. 38. P. 368.

34. *Plieva F.M., Galaev I.Y., Noppe W., Mattiasson B.* // Trends Microbiol. 2008. V. 16. P. 543.
35. *Lozinsky V.I.* // Russ. Chem. Bull. 2008. V. 57. P. 1015.
36. *Bolgen N., Demir D., Yalcın M.S., Ozdemir S.* // Int. J. Biol. Macromol. 2020. V. 161. P. 1581.
37. *Murphy C.M., Haugh M.G., O'Brien F.J.* // Biomaterials. 2010. V. 31. P. 461.
38. *Bolgen N., Yang Y., Korkusuz P., Guzel E., El Haj A.J., Pişkin E.J.* // Tissue Eng. Regen. Med. 2011. V. 5. P. 770.
39. *Babanejad N., Mfoafo K., Zhang E., Omid Y., Razeghifard R., Omidian H.* // J. Chromatogr. A. 2022. V. **1683**. P. 463546.
40. *Hajizadeh S., Kettisen K., Bulow L., Ye L.* // Front. Bioeng. Biotechnol. 2021. V. 9. P. 671229.
41. *Bakhshpour M., Idil N., Percin I., Denizli A.* // Appl. Sci. 2019. V. 9. P. 553.
42. *Sellergren B.* // J. Chromatogr A. 2001. V. 906. P. 227.
43. *McConn J., Fasman G.D., Hess G.P.* // J. Mol. Biol. 1969. V. 39. P. 551.
44. *Осташевский И.Я., Безрукова А.Г.* // Молекулярная биология. 1976. Т. **10**. № 521.

УДК 541.64:539.2:547.466.48

## ВЛИЯНИЕ ХИРАЛЬНОСТИ ФЕНИЛАЛАНИНА В СОСТАВЕ СОПОЛИМЕРА С L-ЛИЗИНОМ НА САМООРГАНИЗАЦИЮ И СВОЙСТВА ПОЛУЧЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ

© 2024 г. Е. Г. Коржикова-Влах<sup>а,\*</sup>, А. Ю. Джужа<sup>а,б</sup>, В. Д. Матвиенко<sup>а</sup>,  
Г. А. Платонова<sup>а</sup>, Т. Б. Тенникова<sup>б</sup>

<sup>а</sup>Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук  
199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31, Россия

<sup>б</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии  
198504 Санкт-Петербург, Петергоф, Университетский пр., 26, Россия

\*e-mail: vlakh@hq.macro.ru

Поступила в редакцию 18.01.2024 г.

После доработки 31.01.2024 г.

Принята к публикации 07.02.2024 г.

Амфифильные сополимеры аминокислот, способные к самосборке в водных средах в наночастицы, представляют собой интерес в качестве потенциальных систем доставки лекарств. В рамках данной работы получена и охарактеризована серия амфифильных сополимеров лизина и фенилаланина с различной хиральностью, а также содержанием мономерных звеньев. Проведено изучение влияния состава сополимеров на характеристики, а также физико-химические и биологические свойства наночастиц, формируемых за счет самосборки. В частности, определены гидродинамические характеристики наночастиц, оценены их средние диаметры в сухом состоянии, определены критические концентрации агрегации, изучено влияние рН среды и времени инкубирования на стабильность дисперсий наночастиц, а также получены данные о цитотоксичности наносистем в зависимости от хиральности гидрофобной аминокислоты.

DOI: 10.31857/S2308112024010047 EDN: NLLFTL

### ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день биосовместимые амфифильные сополимеры, способные к самоорганизации в водных средах, имеют широкие перспективы применения в качестве систем доставки лекарств [1, 2]. Использование подобных систем повышает биодоступность лекарств, сохраняет их от преждевременной инактивации, способствует снижению системной токсической нагрузки от приема цитостатических лекарств, а также при определенном составе сополимера может обеспечивать внутриклеточный транспорт лекарств [3–5].

Среди большого многообразия биосовместимых сополимеров синтетические полипептиды имеют ряд особенностей, определяющих перспективность их биомедицинского применения [5–7]. Прежде всего полипептиды представляют собой биосовместимые макромолекулы, способные к биодеградации до простых и легко выводимых из организма метаболитов — аминокислот. Многообразие аминокислот позволяет варьировать свойства сополимеров в широких пределах,

а именно получать сополимеры с заданным гидрофильно-гидрофобным балансом, реакционной функциональностью, скоростью деградации, и т.д. Кроме того, в отличие от многих других синтетических (со)полимеров полипептиды способны формировать упорядоченные стабильные структуры. В зависимости от заместителей боковой цепи аминокислот возможно формирование таких вторичных структур, как, например,  $\alpha$ -спирали или  $\beta$ -складки [8], или же неупорядоченных конформаций.

В настоящее время одним из наиболее удобных методов синтеза гомо- и сополимеров аминокислот (полипептидов с незаданной аминокислотной последовательностью) является полимеризация с раскрытием цикла *N*-карбоксиянгидридов (КА)  $\alpha$ -аминокислот [6, 9]. В качестве инициаторов для полимеризации КА обычно используют различные нуклеофилы (амины) или основания (алкоксид-анионы) [10, 11]. Полимеризация с раскрытием цикла КА, иницируемая первичными аминами, протекает по так называемому механизму нормального типа (normal amine mechanism),

который в случае отсутствия побочных реакций характеризуется линейным ростом молекулярной массы полимера с конверсией мономера. Стерически незамещенные первичные амины, такие как *n*-бутиламин или *n*-гексиламин, взятые в качестве инициатора, приводят к получению полипептидов с молекулярной массой, близкой к заданной, и узкому распределению по молекулярным массам. В свою очередь третичные амины, алкоксиды и другие инициаторы, являющиеся в большей степени основаниями, чем нуклеофилами, применяются для синтеза полимеров с очень высокой молекулярной массой, которые не могут быть получены при использовании первичных аминов.

В качестве систем доставки лекарств значительный интерес представляют амфифильные сополимеры, различие свойств фрагментов которых приводит к микрофазной гетерогенности, что в свою очередь в определенных условиях индуцирует самосборку сополимера в надмолекулярные структуры (наночастицы) [12–14]. В зависимости от структуры и состава сополимера возможно формирование наночастиц различной морфологии, а именно мицелл, полимерсом или наногелей [15, 16]. Первые два типа структур формируются из амфифильных блок-сополимеров, тогда как последний — из амфифильных сополимеров других типов [5].

На сегодняшний день в зависимости от состава и структуры амфифильного сополимера для получения наночастиц могут быть использованы те или иные методы, индуцирующие самосборку [5, 17]. Среди них можно выделить прямое растворение, градиентную инверсию фаз (диализ), наноосаждение или регидратацию пленок. Кроме того, одновременно с процессом самоорганизации амфифильных сополимеров возможно проведение инкапсулирования лекарственных веществ за счет их захвата формирующимися частицами.

Ранее, было показано, что амфифильные полипептиды могут быть успешно использованы для инкапсулирования низкомолекулярных веществ [18–21], пептидов [22] и нуклеиновых кислот [23, 24]. При этом лекарства, инкапсулированные в наночастицы на основе полипептидов, сохраняли биологическую активность. Амфифильные сополимеры на основе лизина показали способность как к инкапсулированию низкомолекулярных лекарств, так и к внутриклеточной доставке различных нуклеиновых кислот [23, 24]. Кроме того, известно, что самоорганизация пептидов зависит не только от их аминокислотного состава, но и от хиральности аминокислот, входящих в пептиды [25]. Частичная замена *L*-аминокислот на их *D*-энантиомеры в структуре (поли)пептида может оказывать влияние на морфологию и физические свойства надмолекулярных структур, формируемых за счет самосборки, а также

на их биологическую активность и стабильность в биологических средах [26, 27].

В данной работе был проведен синтез сополимеров *L*-лизина (**Lys**) с *L/D,L/D*-фенилаланином (**LPhe/D,LPhe/DPhe**) в условиях вариации содержания фенилаланина в пределах 10–50 мол. %. Увеличение доли гидрофобной аминокислоты в составе сополимера, а также вариация ее оптического изомера могут оказывать влияние на вторичную структуру сополимера, и, как следствие, на гидродинамический диаметр и свойства наночастиц. Все синтезированные сополимеры были охарактеризованы (относительная молекулярная масса, дисперсность, состав), на их основе получены наночастицы, изучены их характеристики и физико-химические свойства, а также биологические свойства *in vitro*.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Материалы

Для синтеза полимеров использовали следующие реактивы: трифосген (98%),  $\epsilon$ -карбоксибензил-*L*-лизин (**Lys(Z)**,  $\geq 99.0\%$ ),  $\alpha$ -пинен (99.0%), *n*-гексиламин (99.0%), трифторметансульфоновую кислоту (**ТФМСК**,  $\geq 98.0\%$ ) и трифторуксусную кислоту (**ТФУК**,  $\geq 98.0\%$ ) — все получены от “Sigma-Aldrich” (Германия); *L*-фенилаланин и *D*-фенилаланин ( $\geq 97.0\%$ ) — продукты компании “Bide Pharmatech Ltd.” (Китай).

Растворители — диоксан, тетрагидрофуран, петролейный эфир, этилацетат, диэтиловый эфир, диметилформамид и ацетонитрил, а также соли, использованные для притравливания буферных растворов, были приобретены в компании Общество с ограниченной ответственностью “Вектон” (Россия). Буферные растворы готовили растворением солей в деионизованной воде и дополнительно фильтровали через мембранные фильтры Millipore (“Merck”, Германия) с размером пор 0.22 мкм. Папаин из *Carica papaya* (ЕС 3.4.22.2) был получен от компании “Sigma-Aldrich” (Германия).

Мембранные пробирки для ультрафильтрации Amicon (MWCO 3000 и 10000) были продуктами компании “Merck” (Германия), а диализные мешки Spectra/Pore® (MWCO 1000) — компании “Fisher Scientific” (США).

Для исследования цитотоксичности брали клетки почек эмбриона человека (HEK 293) и эпителиальные клетки легких человека (BEAS-2B). В экспериментах использовали 96-луночные планшеты и базальную среду ДМЕМ (“Ди-аэм”, Россия), эмбриональную бычью сыворотку (“Biochrom”, Германия), растворы пеницилли-



на (10000 ЕД/мл) и стрептомицина (10 мг/мл) (“Biochrom”, Германия).

### Методы

**Синтез мономеров и сополимеров.** Мономеры — *N*-карбоксииангидриды соответствующих  $\alpha$ -аминокислот синтезировали как описано ранее с использованием диоксана для синтеза *N*-карбоксииангидрида Llys(Z) и ТГФ для синтеза *N*-карбоксииангидрида L/DPhе [28]. Очистку проводили перекристаллизацией из системы этилацетата–*n*-гексан. Выход *N*-карбоксииангидрида Llys(Z) составил 85%, *N*-карбоксииангидрида LPhе — 58%, а *N*-карбоксииангидрида DPhе — 64%. Структуру и чистоту мономеров подтверждали методом спектроскопии ЯМР<sup>1</sup>H (“Bruker 400 MHz Avance”) при 25°C в CDCl<sub>3</sub>: *N*-карбоксииангидрид Lys(Z): 1.34–1.65 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.73–2.03 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.16–3.27 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub>), 4.28 (t, *J* = 4.8 Гц, 1H, CH), 4.97 (s, 1H, NH), 5.12 (s, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>O), 6.97 (s, 1H, NH), 7.28–7.44 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); *N*-карбоксииангидрид Phе/DPhе: 2.94–3.35 (m, 2H), 4.55 (m, 1H), 6.12 (s, 1H), 7.19–7.41 (m, 5H).

Для синтеза сополимеров методом полимеризации с раскрытием цикла в качестве инициатора использовали *n*-гексилламин. Мольное соотношение КА лизина и фенилаланина составляло 90 : 10, 80 : 20 и 50 : 50. Соотношение мономеров : инициатор было равно 100. Для синтеза сополимеров готовили 4%-ный раствор мономеров в диоксане. Полимеризацию проводили при температуре 30°C в течение 24 ч. Полученный продукт осаждали трех–пятикратным избытком диэтилового эфира. Осадок отделяли центрифугированием при 7000 об./мин в течение 10 мин. После декантации раствора осадок промывали избытком диэтилового эфира. Полученные сополимеры сушили на воздухе при температуре 22°C. Выход сополимеров варьировался в диапазоне 62–86%. ЯМР<sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 25°C),  $\delta$  (м.д.): HexA: 0.84 (CH<sub>3</sub>); Lys(Z): 4.10–4.34 (CH), 2.97 (NH–CH<sub>2</sub>), 5.0 (O–CH<sub>2</sub>–C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.08–7.42 (O–CH<sub>2</sub>–C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); Phе: 7.17 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) и 4.55 (CH–CH<sub>2</sub>–C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

Деблокирование боковых защитных групп сополимеров проводили с использованием смеси 5%-ного раствора ТФМСК в ТФУК при температуре 22°C в течение 4 ч. После удаления защитных групп продукты осаждали избытком диэтилового эфира. Осадок отделяли центрифугированием и сушили на воздухе при температуре 25°C. Успешность удаления Z-защиты контролировали по исчезновению в спектрах ЯМР<sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>) сигнала при 5.0 м.д. (OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

**Определение молекулярной массы и состава сополимера.** Относительную молекулярную массу сополимеров оценивали методом эксклюзион-

ной жидкостной хроматографии (ЭЖХ), которую проводили с использованием хроматографической системы “Shimadzu LC-10 Prominence” с рефрактометрическим детектированием RID 10-A (Япония). Прибор был оснащен колонкой, содержащей тандем из двух колонок Agilent PLgel MIXED-D (7.5 × 300 мм, 5 мкм, США). Анализ выполняли при температуре 60°C с использованием в качестве элюента 0.1 М LiBr в ДМФА. Скорость подвижной фазы составляла 0.3 мл/мин. Относительную молекулярную массу (*M*<sub>w</sub> и *M*<sub>n</sub>) и дисперсность (*D*) рассчитывали с помощью программы GPC LC Solutions software Shimadzu (Япония) и калибровочной зависимости, построенной по стандартам полиметилметакрилата.

Для определения состава сополимера навески сополимера массой 2 мг подвергали полному кислотному гидролизу с использованием 6 М HCl, содержащей 0.0001% фенола. Последний вводится в раствор для гидролиза в качестве поглотителя кислорода для минимизации побочных реакций окисления аминокислот [29]. Запаянный в ампулу раствор полимера (0.5 мг/мл) инкубировали в течение двух суток при температуре 110°C. Растворы кислоты отгоняли на роторном испарителе, остаток растворяли в воде, которую снова отгоняли. Процедуру повторяли несколько раз до достижения раствором нейтрального значения pH. Аминокислотный анализ проводили с использованием хроматографической системы ВЭЖХ-MS-8030 Shimadzu с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектированием (Япония). Прибор был оснащен колонкой Luna C18 column, размером 2 мм × 150 мм и упакованной частицами диаметром 5 мкм. Элюентом служила 6 мМ Н<sub>3</sub>Р<sub>4</sub>. Скорость подвижной фазы составляла 1.0 мл/мин. Количественное определение концентраций аминокислот проводили с использованием предварительно построенной калибровочной зависимости в диапазоне концентраций аминокислот 0.005–0.5 мкг/мл.

**Определение относительной активности мономеров.** Сополимеризацию осуществляли при мольном избытке мономеров к инициатору, равном 100. В качестве инициатора полимеризации использовали *n*-гексилламин. Реакцию проводили в диоксане течение 3 ч при температуре 30°C. Время полимеризации выбирали таким образом, чтобы конверсия мономеров не превышала 20%. Мольное соотношение мономеров в исходной смеси [KA<sub>1</sub>] : [KA<sub>2</sub>] варьировали от 10 : 90 до 90 : 10. Состав сополимеров рассчитывали по спектрам ЯМР<sup>1</sup>H. Реперными сигналами служили интегральные интенсивности ароматических протонов защитных карбоксибензильной групп и фенилаланина (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, 7.06–7.66 м.д.), протонов защитной карбоксибензильной группы лизина (OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, 5.00 м.д.), метильных протонов инициатора (CH<sub>3</sub>, 0.83 м.д.).

Относительную активность мономеров определяли методом Файнемана–Росса, используя уравнение

$$\frac{F}{f}(f-1) = r_1 \frac{F^2}{f} - r_2, \quad (1)$$

где  $r_1$  и  $r_2$  — относительная активность мономеров  $M_1$  и  $M_2$  соответственно,  $F$  — отношение мольных долей мономеров в исходной смеси,  $f$  — отношение мольных долей звеньев соответствующих мономеров в сополимере. Угловой коэффициент линейной зависимости соответствует  $r_1$ , отрезок, отсекаемый прямой на оси ординат —  $r_2$ .

**Получение наночастиц.** Наночастицы получали методом градиентной инверсии фаз. Для этого сополимеры, выделенные осаждением и высушенные, растворяли в ДМФА и проводили диализ против воды через мембрану с отсекаемой массой 1000 в течение 48 ч.

В процессе градиентной инверсии органической фазы на водную происходила самосборка амфифильных макромолекул в наночастицы. После этого водная дисперсия наночастиц была заморожена и лиофильно высушена. Сухие наночастицы хранили при температуре 4°C. В дальнейшем в зависимости от задачи навеску нужной массы (1–2 мг) редиспергировали в воде или буферной среде с выбранным pH под кратковременным действием ультразвука (30 с) с использованием УЗ-зонда UP 50H Hielscher Ultrasonics (Германия).

**Анализ наночастиц.** Средний гидродинамический диаметр и индекс полидисперсности наночастиц измеряли методом динамического рассеяния света (ДРС), а  $\zeta$ -потенциал — методом электрофоретического рассеяния света с использованием прибора “Malvern Zetasizer Nano-ZS” (Великобритания). Концентрация наночастиц в дисперсионной среде составляла 0.2 мг/мл. В зависимости от задач эксперимента гидродинамический диаметр измеряли в воде или 0.01 М натрий фосфатном буферном растворе, pH 7.4.  $\zeta$ -потенциал измеряли для дисперсий с концентрацией 0.1 мг/мл, приготовленных в дистиллированной воде, содержащей фоновый электролит (0.001 моль/л NaCl). pH в диапазоне от 3 до 12 задавался доведением до нужного значения с помощью 0.1 М HCl/NaOH. Все измерения проводили не менее трех раз. Гидродинамический диаметр наночастиц, обсуждаемый в работе, измеряли для дисперсий, полученных в результате редиспергирования навески сухого образца в воде/буферном растворе.

Морфологию частиц исследовали методом просвечивающей электронной микроскопии

(ПЭМ) с использованием микроскопа “Jeol JEM-2100” (Япония) при ускоряющем напряжении 160 кВ. Образцы наносили на поверхность медных сеток с углеродным напылением и покрытием formvar и контрастировали 2%-ным раствором уранил ацетата.

**Исследование стабильности наночастиц *in vitro*.** Стабильность изучали при температуре 37°C с использованием 0.01 М фосфатного буферного раствора, pH 7.4, и того же фосфатного буферного раствора, содержащего фермент папаин. В случае использования фосфатного буферного раствора с добавлением папаина к 0.5 мл суспензии частиц (2 мг/мл) в фосфатный буферный раствор добавляли 0.5 мл раствора, содержащего фермент с концентрацией 0.1 мг/мл. Мониторинг стабильности наночастиц проводили методом динамического рассеяния света, определяя изменение гидродинамического диаметра частиц в течение 30 дней. Средний диаметр частиц в сухом состоянии рассчитывали по микрофотографиям ПЭМ с помощью программного обеспечения ImageJ (v.1.53n, открытый доступ), разработанного Национальным институтом психического здоровья (США).

**Определение критической концентрации агрегации.** Критическую концентрацию агрегации определяли кондуктометрическим методом с использованием кондуктометра “SevenCompact S230” (“Mettler Toledo”, США). Измерения проводили в воде в диапазоне концентраций полимера от 0.1 до 30 мкг/мл при 25°C. Критическую концентрацию агрегации определяли в точке пересечения двух линейных участков зависимости электропроводности от концентрации полимера. Из экспериментальных данных критическую концентрацию агрегации определяли в единицах массовой концентрации (мкг/мл). Для пересчета значений критической концентрации агрегации в единицы молярной концентрации (мкМ) использовали значения среднемассовой молекулярной массы деблокированного сополимера.

**Исследование цитотоксичности наночастиц.** Выживаемость клеток оценивалась с использованием СТВ-теста (CellTiter-Blue), основанного на способности живых клеток метаболически преобразовывать резазурин во флуоресцентный продукт резорурфин. Для эксперимента использовали 96-луночные планшеты. В каждую лунку высевали 8000 клеток в 100 мкл культуральной среды и культивировали в течение 24 ч. Затем культуральную среду удаляли и добавляли 200 мкл культуральной среды, содержащей частицы различных концентраций в диапазоне 0.04–1 мкг/мл. Клетки инкубировали в течение 72 ч, после чего среду удаляли и вносили в каждую лунку по 100 мкл 10%-ного раствора реагента СТВ в базальной среде (1 : 10). Клетки инкубировали

в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 2 ч при 37°C и измеряли флуоресценцию раствора с помощью флуоресцентного ридера "Fluoroscan Ascent" ("Thermo Fisher Scientific Inc.", США). Для коррекции фона из значений интенсивности флуоресценции растворов лунок, содержащих клетки, вычитали значения интенсивности флуоресценции растворов лунок, не содержащих клетки. Данные нормировали в процентах по отношению к контролю (интенсивности флуоресценции растворов лунок, содержащих клетки, инкубированных без тестируемых веществ). Значения концентрации, при которой выживает половина клеток (IC<sub>50</sub>), рассчитывали путем построения дозозависимых кривых с использованием программы OriginPro 8.6.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Синтез сополимеров на основе L-лизина и L/D,L/D-фенилаланина

В данной работе с целью изучения влияния оптического изомера гидрофобной аминокислоты на характеристики и свойства наночастиц, формируемых из амфифильного сополимера, был проведен синтез сополимеров Lys с LPhe, D,LPhe или DPhe, где содержание гидрофобной аминокислоты варьировали в пределах 10–50 мол. %. Сополимеры были получены методом полимеризации с раскрытием цикла *N*-карбоксиандгидридов LLys(Z) и LPhe/D,LPhe/DPhe с использованием *n*-гексилamina в качестве инициатора:

Полученные в результате полимеризации продукты имели гидрофобную природу и растворялись в органических растворителях, что позволи-

ло проанализировать их методом эксклюзионной жидкостной хроматографии в ДМФА, содержащем 0.1 М LiBr. Среднемассовая молекулярная масса сополимеров закономерно возрастала с увеличением доли *N*-карбоксиандгидрида Lys(Z) в полимеризационной смеси (молекулярная масса *N*-карбоксиандгидрида Lys(Z) больше молекулярной массы *N*-карбоксиандгидрида Phe) (рис. 1).

Дисперсность полученных полимеров лежала в пределах 1.10–1.37 и возрастала с увеличением содержания КА производного лизина в полиме-

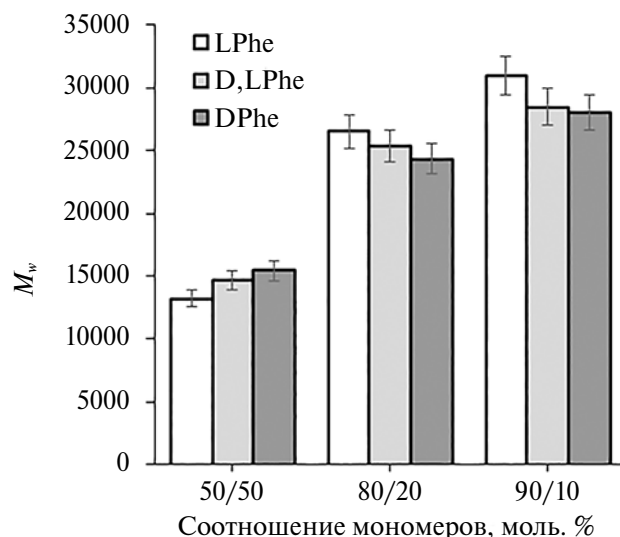
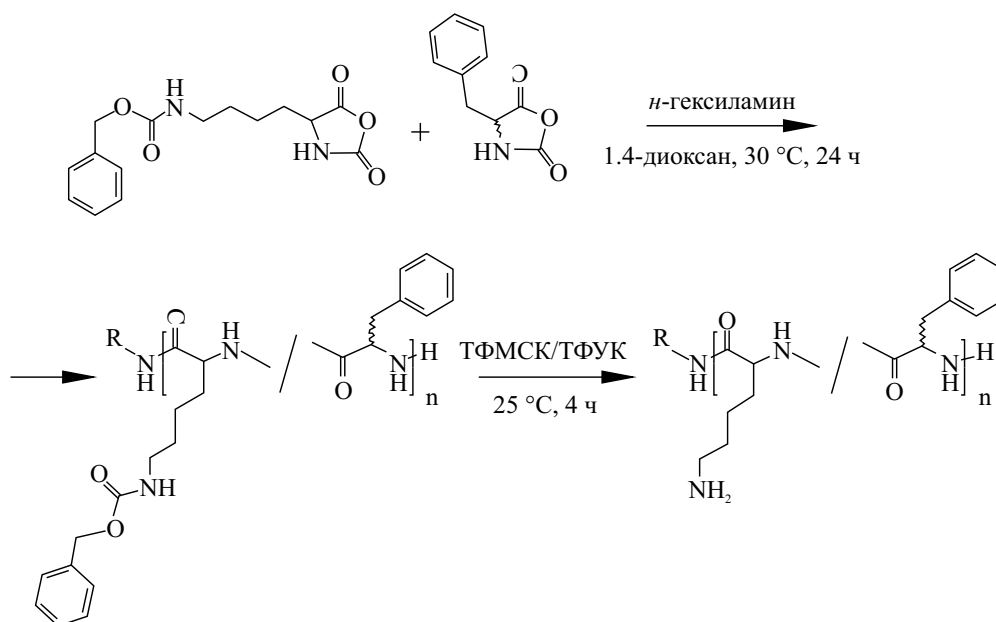
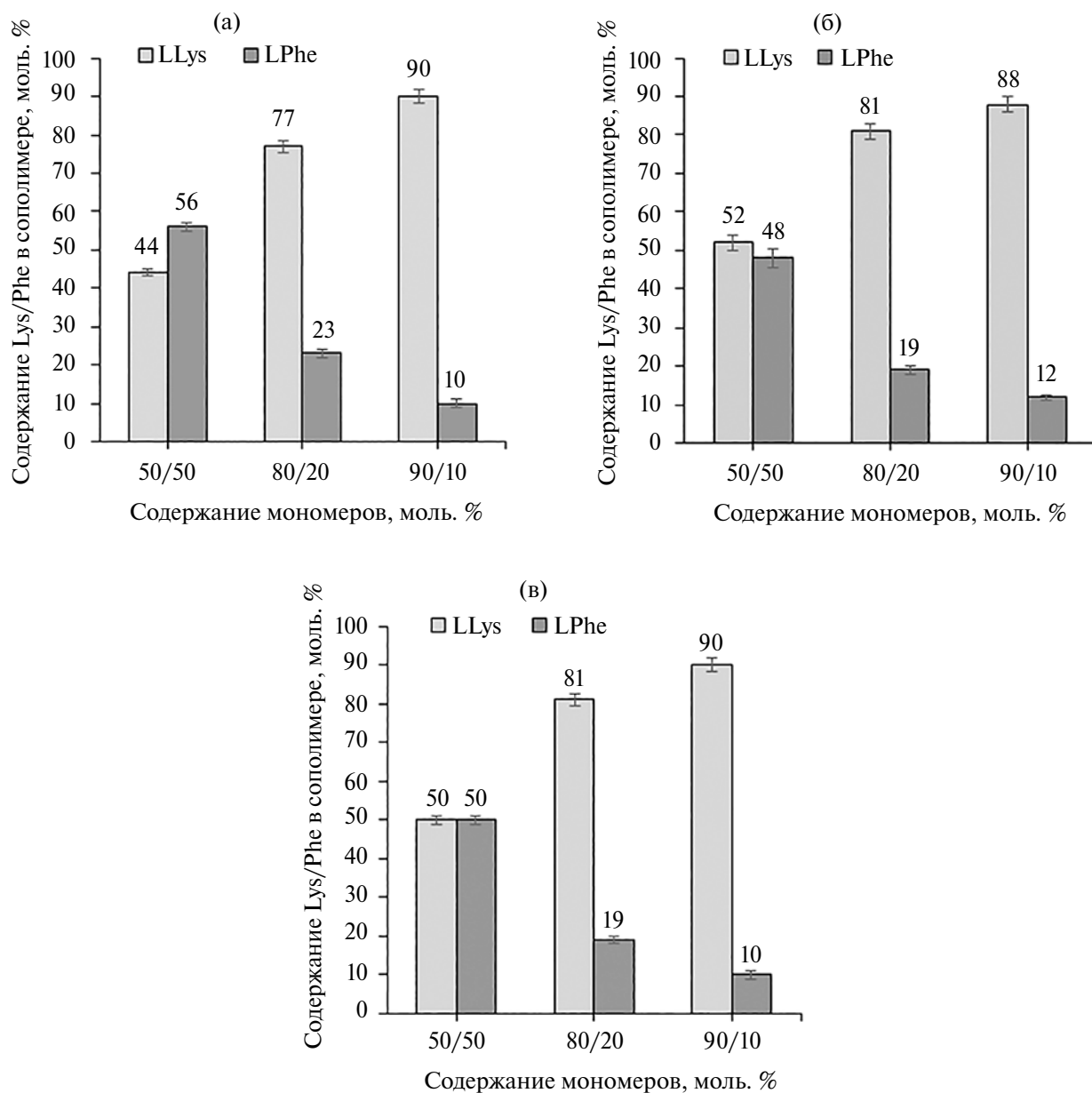


Рис. 1. Зависимость молекулярной массы сополимеров карбоксибензил-L-лизина с L/D,L/D-фенилаланином от состава смеси мономеров (ЭЖХ). Мольные соотношения 50 : 50, 80 : 20 и 90 : 10 соответствуют соотношению Lys(Z) КА : Phe КА в реакционной смеси.





**Рис. 2.** Состав полученных сополимеров (ВЭЖХ-МС свободных аминокислот, полученных после полного кислотного гидролиза образцов сополимеров) P(LLys-co-LPhe) (а), P(LLys-co-DLPhe) (б) и P(LLys-co-DPhe) (в).

ризационной смеси. После удаления карбоксибензильной защитной группы лизина (см. приведенную выше схему) сополимеры становились амфифильными и приобретали способность к самоорганизации в водных средах.

Состав сополимеров определяли методом количественного ВЭЖХ-МС анализа свободных аминокислот, полученных после полного кислотного гидролиза образцов сополимеров. Полученные результаты представлены на рис. 2.

Состав всех сополимеров, содержащих D,LPhe или DPhe, был близок к теоретически заданному. В то же время состав сополимеров, содержащих LPhe, был немного обогащен этой аминокислотой при начальных соотношениях мономеров 50 : 50 и 80 : 20.

Для установления особенности распределения мономерных звеньев в цепи сополимера была исследована относительная активность *N*-карбоксиянгидридов Lys(Z) и LPhe/DPhe в реакции

сополимеризации. В качестве примера на рис. 3 приведена зависимость состава сополимера P(LLys(Z)-co-LPhe) от состава исходной смеси *N*-карбоксиингидридов.

Установлено, что при сополимеризации КА оптически чистых изомеров LLys ( $M_1$ ) и LPhe ( $M_2$ ), константы сополимеризации составили  $r_1 = 0.80$ ,  $r_2 = 0.93$ . В случае сополимеризации смеси КА оптических изомеров LLys ( $M_1$ ) и DPhe ( $M_2$ ), константы сополимеризации равны  $r_1 = 1.17$ ,  $r_2 = 1.22$ . В обоих случаях константы сополимеризации мономеров были близки между собой, что свидетельствует о близкой относительной активности мономеров. Таким образом, синтезированные сополимеры имеют статистическое распределение звеньев в полимерной цепи.

#### Получение наночастиц и изучение их характеристик

Наночастицы получали методом градиентной инверсии фаз (диализ) с органического растворителя на дистиллированную воду. В таких условиях замена растворителя способствует прогрессирующей самоорганизации амфифильного полимера вследствие ухудшения растворимости гидрофобной составляющей в воде и усиления гидрофобных взаимодействий. По мере инверсии фаз макромолекулы амфифильного сополимера стремятся принять конформацию, минимизирующую термодинамически невыгодный контакт гидрофобных фрагментов с плохим растворителем (вода), вследствие чего возникает

микрофазная гетерогенность. При достижении определенных условий происходит самосборка макромолекул в надмолекулярные структуры (наночастицы), в результате чего гидрофобные фрагменты (звенья Phe) формируют агрегированную микрофазу, локализованную преимущественно внутри наночастицы. При этом хорошо сольбилизирующиеся гидрофильные фрагменты (звенья Lys) преимущественно экспонируются в раствор. В отличие от амфифильных блок-сополимеров полное разделение на гидрофобное ядро и оболочку, как в мицеллах, в случае обсуждаемых сополимеров невозможно. Учитывая относительно равномерное распределение звеньев в сополимере, часть гидрофильных звеньев неизбежно будет попадать внутрь частиц, при этом часть гидрофобных звеньев, вероятно, будет иметь приповерхностное расположение.

Для хранения в сухом виде и приготовления наночастиц в различных средах с заданной концентрацией дисперсию лиофильно высушивали. Перед исследованием физико-химических характеристик, стабильности и цитотоксичности наночастиц проводили редиспергирование соответствующей навески в нужной среде (воде/буферном растворе/водной среде с заданным pH) под кратковременным воздействием ультразвука (15–30 с).

Как видно из данных, представленных на рис. 4, гидродинамический диаметр частиц зависел от содержания гидрофобной аминокислоты и ее оптического изомера.

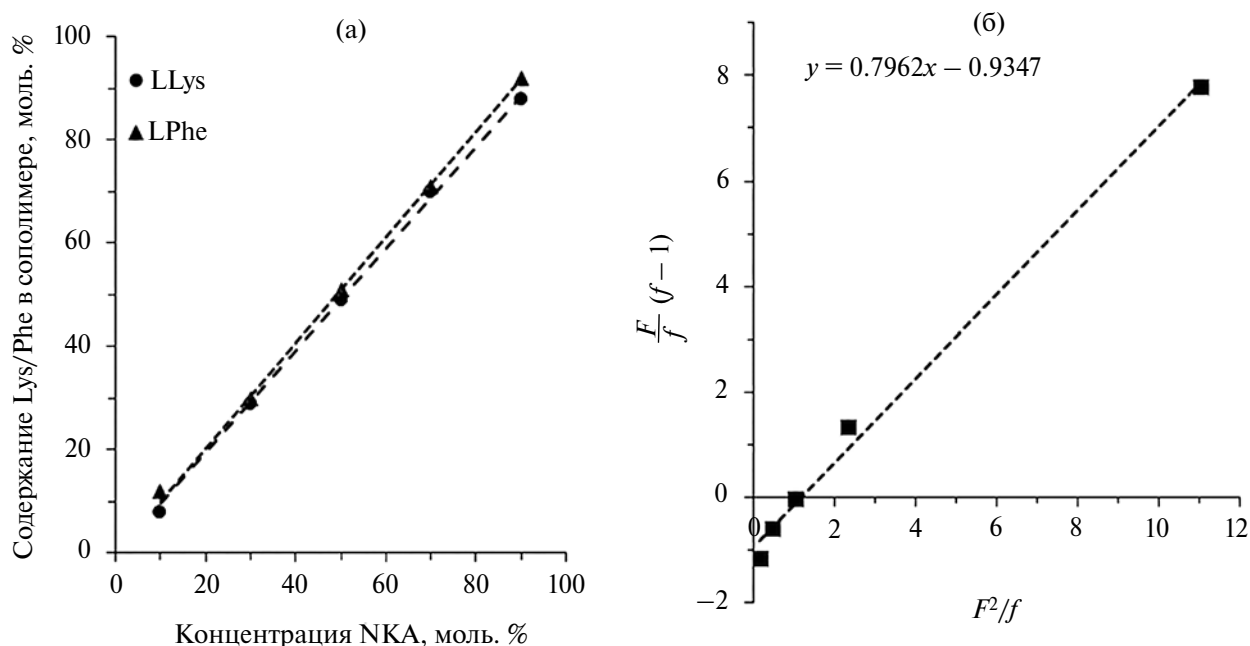


Рис. 3. Зависимость состава сополимера P(LLys-co-LPhe) от содержания мономеров в полимеризационной смеси (а) и определение констант сополимеризации по методу Файнемана–Росса (б).

Во всех случаях при повышении содержания гидрофобной аминокислоты наблюдалось формирование наиболее компактных наночастиц. Данный результат обусловлен уменьшением растворимости сополимера, усилением гидрофобных взаимодействий в водных средах при увеличении доли гидрофобного фрагмента, и, как следствие, формированием более плотной упаковки. В свою очередь повышение содержания лизина в сополимере способствует образованию более рыхлой структуры прежде всего за счет электростатического отталкивания одноименно заряженных полимерных фрагментов, что ожидаемо приводит к росту гидродинамического диаметра.

Кроме того, при прочих равных характеристиках (состав, молекулярная масса) гидродинамический диаметр наночастиц уменьшался в зависимости от хиральности фенилаланина в следующем ряду  $L\text{Phe} > D,L\text{Phe} > D\text{Phe}$ . Известно, что  $L\text{Phe}$  относится к аминокислотам, ответственным за формирование  $\beta$ -складчатых фрагментов вторичной структуры полипептидов [30, 31]. В литературе на примере  $\beta$ -складчатых  $L$ - и  $D$ -стереоизомеров амилоидных пептидов показано, что образование амилоидных фибрилл являлось  $L$ -стереоспецифичным. При этом смешение энантиомерных пептидов изменяло морфологию и физические свойства самособирающихся пептидных систем [32, 33]. Также известно, что введение  $D$ -аминокислот в  $L$ -пептиды может деформировать или разрушить их первоначальную вторичную структуру [34]. Недавно, S. Kralj и соавторы исследовали влияние изменения хиральности аминокислот на самоорганизацию дифени-

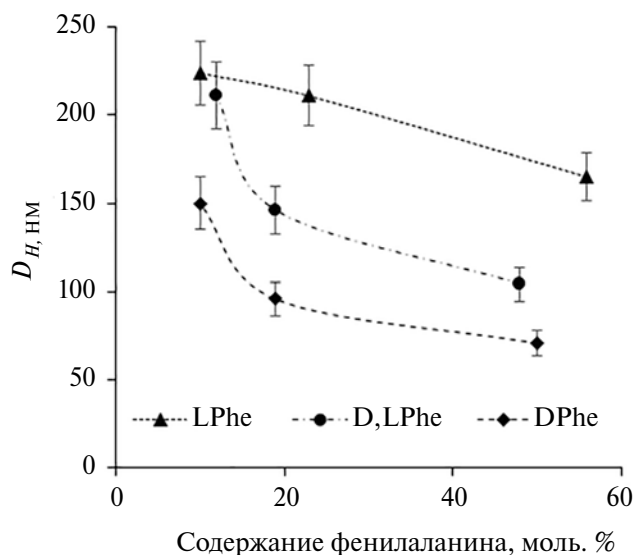


Рис. 4. Зависимость гидродинамического диаметра наночастиц от состава сополимера (0.01 М фосфатный буферный раствор, 25°C).

лаланина. Установлено, что замена одного  $L\text{Phe}$  на его  $D$ -энантиомер сохраняла способность дипептида к самосборке в нанотрубки, а гетерохиральность делала нанотрубки более однородными и стабильными [35]. O.S. Tiwari и соавт. показали, что при конъюгации дипептида  $\text{Phe-Phe}$  с нуклеозидом А как гомохиральные, так и гетерохиральные конъюгаты образовывали сферические частицы, однако только в последнем случае формировались полые частицы [36]. Кроме того, измерения контактного угла выявили, что гомохиральный  $D$ -пептид был более гидрофобным, чем гетерохиральные пептиды. Таким образом, на основании литературных данных о влиянии хиральности на морфологию и свойства самособирающихся пептидных систем можно предположить, что наблюдаемые в настоящей работе различия в гидродинамических диаметрах полипептидных наночастиц, вероятно, обусловлены изменением упорядоченной структуры полипептидов, содержащих оптически чистый  $L\text{Phe}$ , на неупорядоченные клубки в случае  $L,D\text{Phe}$ -содержащих полипептидов, а также более высокой гидрофобностью  $D$ -содержащих полипептидов.

Значения индекса полидисперсности наночастиц на основе сополимеров лизина с фенилаланином лежали в диапазоне 0.20–0.34 в случае сополимеров с  $L\text{Phe}$  и 0.19–0.33 в случае сополимеров с  $D,L\text{Phe}$ . В обоих случаях значения индекса полидисперсности уменьшались с увеличением содержания гидрофобной аминокислоты. Для всех полученных наночастиц на основе сополимеров  $L\text{Lys}$  с  $D\text{Phe}$  индекс полидисперсности имел меньшие значения и составлял 0.20–0.22. Согласно существующим представлениям, значения индекса полидисперсности до 0.1 свидетельствуют о наличии монодисперсных наночастиц, индекс полидисперсности в диапазоне 0.1–0.3 указывают на относительную однородность популяции наночастиц (умеренной полидисперсности), тогда как наночастицы с индексом полидисперсности более 0.4 рассматриваются как неоднородная популяция (широкая полидисперсность) [37–39]. Для применения в качестве систем доставки лекарств допустимым считается значение индекса полидисперсности до 0.3 [38]. В данной работе за исключением образцов, содержащих минимальное количество  $L\text{Phe}$  (10 мол. %) и  $D,L\text{Phe}$  (12 мол. %), все полученные наночастицы имели значения индекса полидисперсности менее 0.3.

Как ожидалось, все наночастицы характеризовались положительными значениями  $\zeta$ -потенциала поверхности, что определяется локализацией на поверхности ионизуемых звеньев лизина. При этом значения дзета-потенциала напрямую зависели от содержания лизина в сополимере и возрастали от 30 до 39 мВ (дистиллированная вода, содержащая 0.001 М  $\text{NaCl}$ ) с увеличением доли лизина в сополимере от 50 до 90 мол. %.

Для сравнения самоорганизации сополимеров лизина с фенилаланином различной хиральности были определены значения критических концентраций агрегации для сополимеров с промежуточным составом: LLys : LPhe = 77 : 23 мол. %; LLys : D,LPhе и LLys : DPhе = 81 : 19 мол. %. Значения критических концентраций агрегации (вода, 25°C) для данных сополимеров составили  $9.4 \pm 0.2$ ,  $6.7 \pm 0.3$  и  $7.2 \pm 0.3$  мкг/мл соответственно. Значения критических концентраций агрегации, рассчитанные в единицах молярной концентрации для тех же сополимеров в той же последовательности, составили 0.6, 0.5 и 0.5 мкМ соответственно. Найденные значения согласуются с литературными данными для самоорганизации других амфифильных полипептидов [5, 40–43].

Изучение гидродинамического диаметра наночастиц в зависимости от pH среды показало незначительное влияние pH среды на характеристики наночастиц (рис. 5).

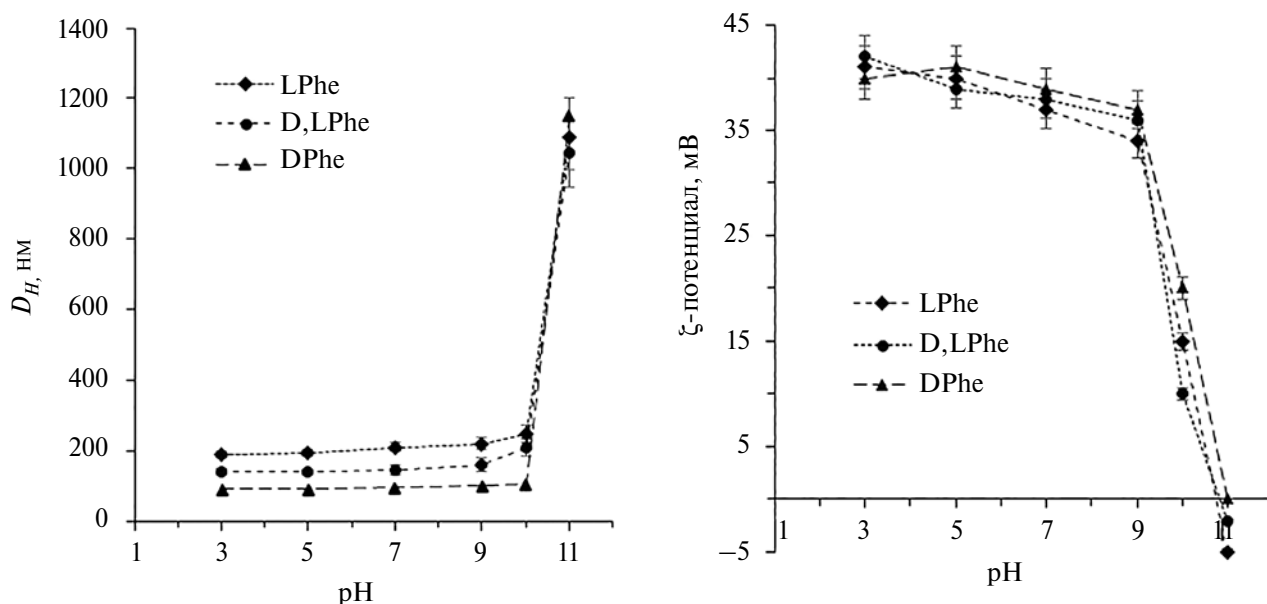
Резкое увеличение  $D_H$  наблюдалось только при значениях pH выше 10, что связано с депротонированием боковых аминогрупп лизина, потерей заряда и коллоидной стабильности наночастиц и, как следствие, их агрегацией. Полученные результаты согласуются с известными свойствами лизина:  $pK_a$   $\epsilon$ -аминогруппы лизина составляет 10.5. В области pH ниже 10 аминогруппа в боковой цепи сополимеров лизина протонирована, что обеспечивает поверхности наночастиц положительный заряд, и, следовательно, коллоидную стабильность дисперсии в широком диапазоне.

Морфологию полученных наночастиц оценивали методом ПЭМ при использовании в качестве контрастного агента уранил ацетата. Согласно микрофотографиям ПЭМ, все синтезированные сополимеры в водных средах формировали сферические частицы (рис. 6).

Средний диаметр частиц в сухом состоянии был вдвое меньше значений гидродинамического диаметра (табл. 1), что объясняется потерей воды при высушивании наночастиц и, как следствие, схлопыванием полимерных цепей. Данная особенность поведения является характерной для так называемых “мягких наночастиц” (soft nanoparticles), к которым относятся полимерные мицеллы, полимерсомы и наногели. В отличие от первых двух типов наночастиц, формирующихся только из амфифильных блок-сополимеров, наногели могут собираться из других типов амфифильных сополимеров. Учитывая примерно двукратное изменение размера полученных наночастиц в водной среде по отношению к сухому состоянию (набухание), формируемые за счет самосборки наночастицы можно отнести к физически стабилизированным (гидрофобными и  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействиями) наногелям.

#### Исследование стабильности наночастиц *in vitro*

Исследование стабильности наночастиц на основе синтезированных сополимеров было проведено в двух модельных средах: 0.01 М фосфатный буферный раствор, pH 7.4, и 0.01 М фосфатный буферный раствор, pH 7.4, с добавлением папаина. Выбранный фермент относится к классу



**Рис. 5.** Зависимость гидродинамического диаметра (а) и дзета-потенциала (б) наночастиц на основе сополимеров L-лизина и L/D,L/D-фенилаланина от pH дисперсионной среды (вода, содержащая 0.001 моль/л NaCl; pH среды задан добавлением 0.1 М раствора HCl/NaOH). Измерения проводили, редиспергируя навеску сухих частиц в среде с заданным pH.

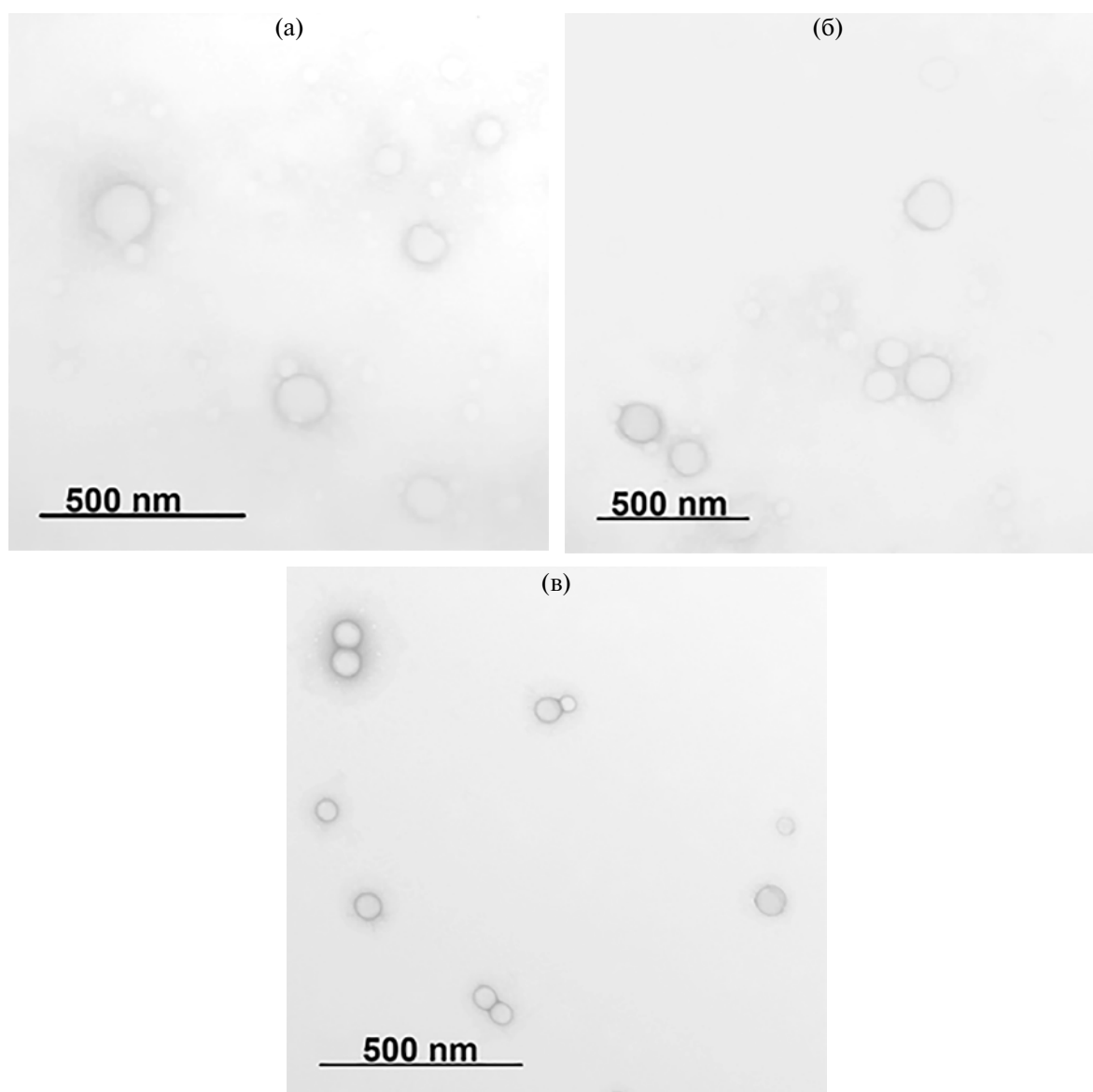


протеаз с широкой субстратной специфичностью и активен в диапазоне рН от 5.0 до 7.5. Стабильность оценивали, инкубируя дисперсию наноча-

стиц при температуре 37°C в течение 30 дней, и измеряя гидродинамический диаметр частиц через определенные промежутки времени (рис. 7).

**Таблица 1.** Сравнительные размеры наночастиц на основе сополимеров лизина с фенилаланином в водной дисперсии (вода) и сухом состоянии

Сополимер	Lys : Phe, мол. %	ДРС		ПЭМ
		$D_n$ , нм	индекс полидисперсности	$\bar{D}$ , нм
P(LLys-co-LPhe)	77/23	211	0.27	100 ± 37
P(LLys-co-D,LPhe)	81/19	146	0.20	73 ± 29
P(LLys-co-DPhe)	81/19	96	0.22	51 ± 15



**Рис. 6.** Микрофотографии наночастиц (ПЭМ) на основе сополимеров лизина с фенилаланином P(LLys-co-LPhe) (77 : 23 мол. %) (а), P(LLys-co-D,LPhe) (81 : 19 мол. %) (б) и P(LLys-co-DPhe) (81 : 19 мол. %) (в).

В буферной среде наночастицы на основе сополимера, содержащего в своем составе только L-аминокислоты, были стабильны в течение двух недель, после чего наблюдалась постепенная агрегация частиц, связанная, по-видимому, с частичной деградацией гидрофильного фрагмента. В то же время наночастицы на основе сополимеров, содержащих в своем составе D,LPhe или DPhe, были стабильны в течение всего периода наблюдения.

Инкубирование наночастиц на основе сополимера, содержащего L-аминокислоты, в среде с ферментом выявило выраженную деградацию полипептида. Нарушения в стабилизирующей оболочке, вызванные отщеплением гидрофильной аминокислоты, приводят к экспонированию в водный раствор гидрофобных фрагментов, что в свою очередь влияет на стабильность наночастиц. В результате протекания данных процессов уже в первые сутки начиналась агрегация наночастиц, которая достигла своего максимума спустя 10 дней. Однако уже через 20 дней наблюдалась практически полная деградация полимерных частиц.

Как и ожидалось, частичная или полная замена LPhe на DPhe способствовала получению более ферментативно-устойчивых наночастиц, что, несомненно, важно с точки зрения создания систем доставки лекарств пролонгированного действия. В частности, наночастицы, содержащие рацемическую смесь гидрофобной аминокислоты в сополимере, были стабильны в течение 20 дней, тогда как сополимеры, содержащие только DPhe, были стабильны в течение всего периода наблюдения (30 дней).

Полученные результаты согласуются с литературными данными. Так, например, замена L-аминокислот на их D-стереоизомеры в пептиде KKVFKVKFKK влияла на вторичную структуру, стабильность и биологическую активность пептида. Замена L-аминокислот на D-стереоизомеры в концевых фрагментах пептида мало влияла на антимикробную активность пептида, тогда как замены в середине аминокислотной последовательности приводили к полной потере активности. При этом стабильность пептида в сыворотке крови значительно повышалась при замене L-аминокислот на D-стереоизомеры [44].

#### Исследование цитотоксичности наночастиц

Одной из основных проблем при использовании неcodируемых D-аминокислот является их потенциальная токсичность. Так, известно, что при стереоселективном деаминации D-аминокислот под действием оксидазы D-аминокислот образуется перекись водорода, вызывающая апоптоз-опосредованную цитотоксичность [45]. В частности, при сравнении пептидов, содержащих D-аминокислоты с таковыми, содержащими только L-стереоизомеры, действительно, D-пептиды демонстрировали более высокую цитотоксичность против неопластических клеток, чем L-пептиды [46]. В связи с этим (поли)пептиды, содержащие D-аминокислоты, на сегодняшний день перспективны в области терапии рака для усиления апоптоза раковых клеток.

В рамках данной работы цитотоксичность полученных наночастиц исследовали на двух линиях нормальных клеток, а именно на эмбриональных

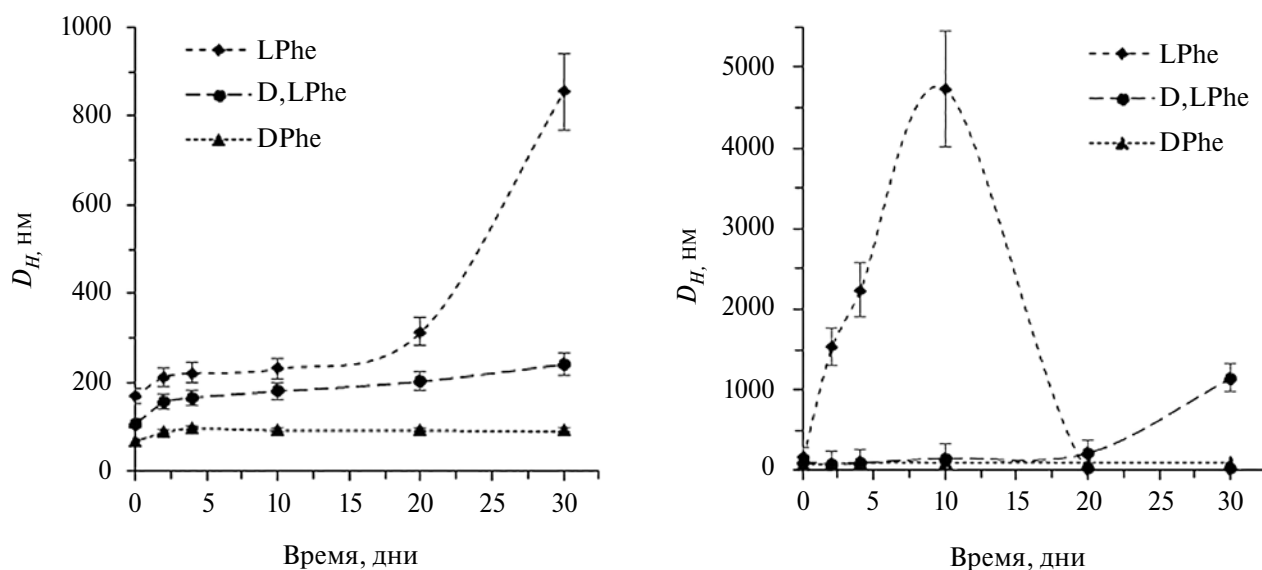


Рис. 7. Зависимость гидродинамического диаметра наночастиц на основе сополимеров L-лизина с фенилаланином различной хиральности (50 : 50 мол. %) от времени инкубирования при температуре 37°C в 0.01 М фосфатном буферном растворе, pH 7.4 (а) и 0.01 М фосфатном буферном растворе, pH 7.4, содержащем папаин (б).

клетках почек человека (НЕК 293) и эпителиальных клетках легких человека (BEAS-2B). Во обоих случаях время инкубирования наночастиц с клетками составляло 72 ч. Для наблюдения наиболее выраженного биологического эффекта для тестирования были выбраны сополимеры, содержащие максимальное количество фенилаланина (~50 мол. %). Рассчитанные значения концентрации полумаксимального ингибирования ( $IC_{50}$ ) для исследованных образцов представлены в табл. 2.

Как можно было ожидать, все протестированные образцы катионных наночастиц демонстрировали заметную цитотоксичность. В целом полученные значения согласуются с литературными данными для положительно заряженных полипептидных наночастиц, обогащенных Lys и/или Arg. Значения  $IC_{50}$ , определенные с использованием нормальных и раковых клеток, в зависимости от размера и состава катионных полипептидных наночастиц лежат в пределах 15–80 мкг/мл [47–50]. Несмотря на некоторую цитотоксичность катионных систем, положительный заряд является ключевым для обеспечения эффективной внутриклеточной доставки генетических конструкций и некоторых лекарств.

Частичная замена LPhe на DPhe не оказала существенного влияния на выживаемость клеток обоих типов. Однако полная замена LPhe на DPhe приводила почти к двукратному снижению значений  $IC_{50}$ . Таким образом, сополимеры, содержащие в своем составе до 50 мол. % D-аминокислоты демонстрировали большую цитотоксичность, чем сополимеры, содержащие рацемическую смесь фенилаланина или только L-стереоизомер в том же количестве.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтезирована серия амфифильных статистических сополимеров на основе L-лизина и L/D,L/D-фенилаланина с различным содержанием гидрофильного и гидрофобного фрагментов. Для всех синтезированных сополимеров их состав был близок с теоретически заданному,

а распределение звеньев вдоль цепи носило статистический характер. Все полученные сополимеры в водных средах формировали сферические наночастицы (критическая концентрация агрегации ~ 6.7–9.4 мкг/мл (0.5–0.6 мкМ)), гидродинамический диаметр которых практически не изменялся в диапазоне pH от 3 до 9. Увеличение содержания гидрофобной аминокислоты, а также частичная или полная замена L-фенилаланина на D-стереоизомер в составе сополимера приводила к формированию наночастиц с меньшим гидродинамическим диаметром. Изучение процесса биодegradации полимерных наночастиц в модельных средах выявило, что degradation наночастиц на основе сополимеров, содержащих в своем составе L-аминокислоты, протекала значительно более интенсивно, чем для систем, содержащих D-аминокислоту. При этом сополимеры, содержащие значительную долю D-фенилаланина, демонстрировали большую цитотоксичность, чем их рацемические или только L-энантиомер-содержащие аналоги.

Таким образом, по совокупности характеристик и свойств сополимеры LLys с D,LPhe являются наиболее перспективными в качестве систем внутриклеточной доставки лекарств и генетических конструкций. С одной стороны, они демонстрируют достаточно компактный размер, а с другой, биологические свойства, схожие с сополимерами, содержащими LPhe, но при этом более высокую стабильность в биологических средах.

Работа выполнена при использовании оборудования ресурсных центров “Методы анализа состава вещества”, “Магнитно-резонансные методы исследования” и “Развитие молекулярных и клеточных технологий” Научного парка СПбГУ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Perin F., Motta A., Maniglio D.* // Mater. Sci. Eng. C 2021. V. 123. P. 111952.
2. *Kuperkar K., Patel D., Atanase L.I., Bahadur P.* // Polymers (Basel). 2022. V. 14. P. 4702.
3. *Afzal O., Altamimi A.S.A., Nadeem M.S., Alzarea S.I., Almalki W.H., Tariq A., Mubeen B., Murtaza B.N.,*

**Таблица 2.** Значения  $IC_{50}$ , полученные при инкубировании наночастиц на основе сополимеров L-лизина с фенилаланином различной хиральности, с нормальными клетками (72 ч)

Сополимер	Lys : Phe, мол. %	Клеточная линия	$IC_{50}$ , мкг/мл
P(LLys-co-LPhe)	44 : 56	НЕК 293	61 ± 4
		BEAS-2B	47 ± 2
P(LLys-co-D,LPhe)	52 : 48	НЕК 293	52 ± 6
		BEAS-2B	45 ± 5
P(LLys-co-DPhe)	50 : 50	НЕК 293	32 ± 3
		BEAS-2B	17 ± 2

- Iftikhar S., Riaz N., Kazmi I.* // *Nanomaterials*. 2022. V. 12. P. 4494.
4. *Yao Y., Zhou Y., Liu L., Xu Y., Chen Q., Wang Y., Wu S., Deng Y., Zhang J., Shao A.* // *Front. Mol. Biosci.* 2020. V. 7. P. 193.
5. *Stepanova M., Nikiforov A., Tennikova T., Korzhikova-Vlakh E.* // *Pharmaceutics*. 2023. V. 15. P. 2641.
6. *Feng H., Fabrizi J., Li J., Mayer C.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. P. 5042.
7. *Sakhabeev R.G., Polyakov D.S., Sinitsyna E.S., Korzhikova-Vlakh E.G., Korzhikov-Vlakh V.A., Shavlovsky M.M.* // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2023. V. 59. P. 504.
8. *Bonduelle C.* // *Polym. Chem.* 2018. V. 9. P. 1517.
9. *Kricheldorf H.R.* // *Angew. Chemie Int. Ed.* 2006. V. 45. P. 5752.
10. *Cheng J., Deming T.J.* // *Pept. Mater. Top. Curr. Chem.* / Ed. T. Deming. Springer, Berlin, Heidelberg. 2012. P. 1–26.
11. *Deng C., Wu J., Cheng R., Meng F., Klok H.A., Zhong Z.* // *Prog. Polym. Sci.* 2014. V. 39. P. 330.
12. *Clerici F., Erba E., Gelmi M.L., Pellegrino S.* // *Tetrahedron Lett.* 2016. V. 57. P. 5540.
13. *Perumal S., Atchudan R., Lee W.* // *Polymers (Basel)*. 2022. V. 14. P. 2510.
14. *Tarasenko I., Zashikhina N., Guryanov I., Volokitina M., Biondi B., Fiorucci S., Formaggio F., Tennikova T., Korzhikova-Vlakh E.* // *RSC Adv.* 2018. V. 8. P. 34603.
15. *Blanazs A., Armes S.P., Ryan A.J.* // *Macromol. Rapid Commun.* 2009. V. 30. P. 267.
16. *Korzhikov-Vlakh V., Tennikova T.* // *Tunable Hydrogels. Adv. Biochem. Eng.* / Eds. A. Lavrentieva, I. Pepelanova, D. Seliktar. Springer, Cham. 2021. P. 99–146.
17. *Wong C.K., Lai R.Y., Thordarson P.* // *Supramol. Nanotechnol. Adv. Des. Self-Assembled Funct. Mater.* / Eds. O. Azzaroni and M. Conda-Sheridan. Wiley. 2023. P. 1027–1054.
18. *Sudareva N.N., Suvorova O.M., Korzhikova-Vlakh E.G., Tarasenko I.I., Kolbe K.A., Smirnova N.V., Saprykina N.N., Suslov D.N.* // *Tech. Phys.* 2022. V. 67. P. 277.
19. *Sudareva N.N., Korzhikova-Vlakh E.G., Tarasova I.I., Suslov D.N., Yukina G.Y., Sukhorukova E.G., Galibin O.V., Vilisov A.D.* // *Cell. Ther. Transplant.* 2023. V. 12. P. 44.
20. *Georgilis E., Abdelghani M., Pille J., Aydinlioglu E., van Hest J.C.M., Lecommandoux S., Garanger E.* // *Int. J. Pharm.* 2020. V. 586. P. 119537.
21. *Zashikhina N., Gandalipov E., Dzhezha A., Korzhikov-Vlakh V., Korzhikova-Vlakh E.* // *J. Microencapsul.* 2023. V. 1.
22. *Zashikhina N.N., Yudin D.V., Tarasenko I.I., Osipova O.M., Korzhikova-Vlakh E.G.* // *Polym. Sci. Ser. A.* 2020. V. 62. P. 43.
23. *Korovkina O., Polyakov D., Korzhikov-Vlakh V., Korzhikova-Vlakh E.* // *Molecules.* 2022. V. 27. P. 8495.
24. *Stefanovic S., McCormick K., Fattah S., Brannigan R., Cryan S.-A., Heise A.* // *Polym. Chem.* 2023. V. 14. P. 3151.
25. *Zheng Y., Mao K., Chen S., Zhu H.* // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2021. V. 9. P. 703004.
26. *Bastings J.J.A.J., van Eijk H.M., Olde Damink S.W., Rensen S.S.* // *Nutrients.* 2019. V. 11. P. 2205.
27. *Abdulbagi M., Wang L., Siddig O., Di B., Li B.* // *Biomolecules.* 2022. V. 11. P. 1716.
28. *Wilder R., Mobashery S.* // *J. Org. Chem.* 1992. V. 57. P. 2755.
29. *Tsugita A., Scheffler J.J.* // *Proc. Japan Acad.* 1982. V. 58. P. 1.
30. *Nowick J.S., Insaf S.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1997. V. 119. P. 10903.
31. *Fujiwara K., Toda H., Ikeguchi M.* // *BMC Struct. Biol.* 2012. V. 12. P. 18.
32. *Wadai H., Yamaguchi K., Takahashi S., Kanno T., Kawai T., Naiki H., Goto Y.* // *Biochemistry.* 2005. V. 44. P. 157.
33. *Gupta D., Sasmal R., Singh A., Joseph J.P., Miglani C., Agasti S.S., Pal A.* // *Nanoscale.* 2020. V. 12. P. 18692.
34. *Luo Z., Wang S., Zhang S.* // *Biomaterials.* 2011. V. 32. P. 2013.
35. *Kralj S., Bellotto O., Parisi E., Garcia A.M., Iglesias D., Semeraro S., Deganutti C., D'Andrea P., Vargiu A.V., Geremia S., De Zorzi R., Marchesan S.* // *ACS Nano.* 2020. V. 14. P. 16951.
36. *Tiwari O.S., Ganesh K.N., Gazit E.* // *Macromol. Chem. Phys.* 2022. V. 223. P. 11.
37. *Zhang S., Wang C.* // *Nano-Structures & Nano-Objects.* 2023. V. 35. P. 100994.
38. *Danaei M., Dehghankhold M., Ataei S., Hasanzadeh Davarani F., Javanmard R., Dokhani A., Khorasani S., Mozafari M.* // *Pharmaceutics.* 2018. V. 10. P. 57.
39. *Cho E.J., Holback H., Liu K.C., Abouelmagd S.A., Park J., Yeo Y.* // *Mol. Pharm.* 2013. V. 10. P. 2093.
40. *Ren T.-B., Xia W.-J., Dong H.-Q., Li Y.-Y.* // *Polymer (Guildf).* 2011. V. 52. P. 3580.
41. *Arimura H., Ohya Y., Ouchi T.* // *Biomacromolecules.* 2005. V. 6. P. 720.
42. *Quadir M. A., Morton S.W., Deng Z.J., Shopsowitz K.E., Murphy R.P., Epps T.H., Hammond P.T.* // *Mol. Pharm.* 2014. V. 11. P. 2420.
43. *Osipova O., Zakharova N., Pyankov I., Egorova A., Kislova A., Lavrentieva A., Kiselev A., Tennikova T., Korzhikova-Vlakh E., Drug Deliv J.* // *J. Sci. Technol.* 2022. V. 69. P. 103135.
44. *Yao C., Liu J., Wu X., Tai Z., Gao Y., Zhu Q., Li J., Zhang L., Hu C., Gu F., Gao J., Gao S., Control J.* // *Release.* 2016. V. 232. P. 203.
45. *Zheng C., Zheng M., Gong P., Deng J., Yi H., Zhang P., Zhang Y., Liu P., Ma Y., Cai L.* // *Biomaterials.* 2013. V. 34. P. 3431.
46. *Qu J., Peng S., Wang R., Yang S., Zhou Q., Lin J.* // *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2019. V. 181. P. 315.

## СОПОЛИАРАМИД КАК БАРЬЕРНЫЙ МАТЕРИАЛ

© 2024 г. А. Ю. Алентьев<sup>а,\*</sup>, Р. Ю. Никифоров<sup>а</sup>,  
В. П. Шантарович<sup>б</sup>, Н. А. Белов<sup>а</sup>, Т. К. Мусина<sup>с</sup>, И. В. Строева<sup>с</sup>,  
С. И. Бандурян<sup>с</sup>, Н. Г. Шишкина<sup>с</sup>

<sup>а</sup>Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук  
119991 Москва, Ленинский пр., 29, Россия

<sup>б</sup>Федеральный исследовательский центр химической физики  
им. Н.Н. Семенова Российской академии наук

119991 Москва, ул. Косыгина, 4, Россия  
<sup>с</sup>ООО "ЛИРСОТ"

141009 Мытищи Московской обл., ул. Колонцова, 5, Россия

\*e-mail: alentiev@ips.ac.ru

Поступила в редакцию 04.03.2024 г.

После доработки 28.03.2024 г.

Принята к публикации 15.04.2024 г.

В работе были получены пленки гетероциклического сополиарамида, используемого на научно-производственном предприятии ООО "ЛИРСОТ" для получения высокопрочных полиарамидных нитей, исследованы газотранспортные характеристики для гелия, водорода, кислорода и диоксида углерода, методом аннигиляции позитронов исследованы параметры элементов свободного объема. Согласно полученным данным, исследованный сополиарамид относится к полимерам с высокими барьерными характеристиками и близок по свойствам к промышленным образцам термотропных жидкокристаллических сополиэфиров Vectra. Низкие значения газопроницаемости сополиарамида обусловлены пониженными значениями коэффициентов диффузии газов. Сравнение энергии активации проницаемости, диффузии и энтальпии сорбции газов показывает, что указанные величины также сопоставимы для этих барьерных полимеров. Данные, полученные методом газопроницаемости, подтверждены методом аннигиляции позитронов: размеры элементов свободного объема, полученные для сополиарамида ( $R_3 = 2.5 \text{ \AA}$ ), также сравнимы с данными для сополиэфира Vectra ( $R_3 = 2.1 \text{ \AA}$ ). Полученные результаты свидетельствуют о том, что исследованный отечественный гетероциклический сополиарамид может применяться для получения барьерных пленок и покрытий в качестве замены жидкокристаллических сополиэфиров Vectra.

DOI: 10.31857/S2308112024010052 EDN: NLJYFQ

### ВВЕДЕНИЕ

Газопроницаемость полимерных материалов является одной из важнейших характеристик, необходимых как для процессов мембранного газоразделения, так и для создания барьерных пленок и покрытий. И если для мембранного газоразделения необходимо сочетание достаточно высокой проницаемости и селективности разделения целевых компонентов газовых смесей [1], то для барьерных материалов определяющим свойством является низкая газопроницаемость [2, 3]. Барьерные материалы и покрытия наиболее широко применяются в качестве упаковочных материалов для пищевых продуктов [2–4], но они также необходимы для оптоэлектронной промышленности или для барьерных покрытий

оболочек высотных гелиевых аэростатов [5]. Поскольку важнейшим показателем для упаковочных материалов и для оптоэлектроники является проницаемость кислорода, принято разделять барьерные материалы именно по уровню коэффициента проницаемости  $P$  кислорода. Так, в работе [4] даны пределы для различных барьерных полимерных материалов. К материалам с очень высокими барьерными характеристиками относят полимеры с  $P(\text{O}_2) < 0.0006$  Баррер (1 Баррер =  $1 \times 10^{-10} \text{ см}^3 \text{ (н.у.) см/см}^2 \text{ с см рт. ст.}$ ), к материалам с высокими барьерными свойствами – полимеры с коэффициентами проницаемости в пределах  $0.0006 < P(\text{O}_2) < 0.006$  Баррер, к материалам со средними барьерными характеристиками относят полимеры с  $P(\text{O}_2)$  в пределах  $0.006 < P(\text{O}_2) < 0.06$  Баррер. Для материалов

с низкими барьерными свойствами предлагается интервал  $0.06 < P(O_2) < 0.6$  Баррер, а все материалы с  $P(O_2) > 0.6$  Баррер уже не относят к барьерным. Эта условная классификация основана на применимости для различных задач барьерных упаковочных полимерных материалов. В работе [6] приведена другая условная классификация для мембранных полимерных материалов, основанная также на коэффициентах проницаемости кислорода, в которой к барьерным материалам относят полимеры с  $P(O_2) < 0.01$  Баррер, к низкопроницаемым — полимеры с  $P(O_2)$  в пределах  $0.01 \text{ Баррер} < P(O_2) < 1 \text{ Баррер}$  и к среднепроницаемым, часто называемым “обычными” полимерами (conventional glassy polymers) — полимеры с  $P(O_2)$  в пределах  $1 < P(O_2) < 20$  Баррер, а при  $P(O_2) > 20$  Баррер это уже высокопроницаемые полимеры. Большинство коммерческих полимерных материалов для газоразделительных мембран, как правило, принадлежат к среднепроницаемым или высокопроницаемым полимерам [1] по классификации из работы [6]. В то же время полиимидные материалы для газоразделительных мембран UBE и Seruran[1] являются низкопроницаемыми по классификации из работы [6], или матери-

лами с низкими барьерными характеристиками по классификации из работы [4]. Преимущество применения таких материалов в газоразделительных процессах связано с их высокой механической прочностью и возможностью получения ультратонких селективных слоев, а также с их высокой термической и химической стабильностью. Поскольку барьерные характеристики полимеров важны не только по кислороду, но и по другим газам [7], сравнение полимеров с различными уровнями проницаемости для гелия, водорода, кислорода и углекислого газа представлено в табл. 1.

Следует отметить, что для полиэтилена, полистирола (ПС), полиэтилентерефталата (ПЭТФ), поливинилхлорида (ПВХ), полиметилметакрилата (ПММА), полиэфиров, полиэфиркетонов, полиимидов, полиамидов (ПА), поликарбоната (ПК), полисульфона (ПСФ) уровень проницаемости по кислороду лежит в пределах от долей до единиц Баррер [7, 9, 10, 12–15, 19]. При этом ПЭТФ, ПВХ, ПММА, относятся по классификации из работы [4] к полимерам с низкими барьерными характеристиками, а ПА Nylon 6 — к полимерам со средними барьерными характеристиками. Частично кристаллический ПЭТФ

**Таблица 1.** Сравнение газопроницаемости мембранных материалов, инженерных пластиков и барьерных материалов

Полимер	P, Баррер				Класс
	He	H <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	
Поливинилтриметилсилан (ПВТМС)* [8]	191	242	43	205	Высокопроницаемый
Полистирол [9]	15	—	2.9	12.4	Среднепроницаемый
Поликарбонат [10]	13	—	1.6	6.8	Среднепроницаемый
Полисульфон* [11]	14	13	1.4	5.6	Среднепроницаемый
Полиэтилен [7]	1.5	1.9	0.67	2.1	Низкопроницаемый
Полиимид BPDA-pp'ODA (Upilex-R,UBE)* [12]	—	4.7	0.27	1.2	Низкопроницаемый и низкобарьерный
Полиэтилентерефталат [13]	4.16	—	0.0967	0.434	Низкобарьерный
Поливинилхлорид [14]	2.96	2.67	0.0935	0.337	Низкобарьерный
Полиметилметакрилат [15]	9.43	4.5	0.0911	0.361	Низкобарьерный
Полиамид Nylon 6 [7]	5.3	—	0,02	0.05	Среднебарьерный
Поливинилиденхлорид Saran [7]	—	—	0.009–0.00006	0.014–0.00009	От среднебарьерного до очень высокобарьерного
Гидрат целлюлозы [16]	—	0.0061	0.0021	0.0046	Высокобарьерный
Полиакрилонитрил [17]	0.71	—	0.00054	0.0028	Очень высокобарьерный
Поливиниловый спирт [4]	—	—	—	0.0012	Очень высокобарьерный
ЖК-полимер Vectra [18]	0.177	0.0472	0.00046	0.00075	Очень высокобарьерный
Сополимер этилена и винилового спирта EVON[7]	0.03–0.097	0.008 – 0.059	0.00007–0.00037	0.00015–0.0013	Очень высокобарьерный

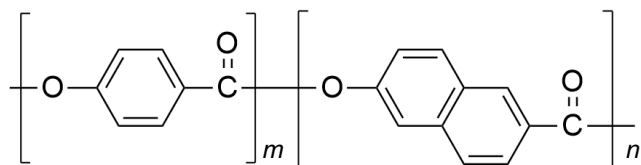
\* Мембранные материалы.

используют в качестве упаковочных материалов для бытовых нужд (пластиковые бутылки) и барьерных покрытий [13]. Однако проницаемость кислорода в таких материалах велика для применения в оптоэлектронике, для которых по техническим требованиям величина  $P(O_2)$  должна быть ниже 0.0001 Баррер.

Снижение уровня проницаемости по кислороду на один–два порядка по сравнению с ПЭТФ может быть достигнуто введением в элементарное звено групп ОН, образующих густую сетку водородных связей [16], как, например, для гидрофильных полимеров гидрата целлюлозы, поливинилового спирта и сополимеров этилена с виниловым спиртом EVON (табл.1). Недостатком гидрофильных полимеров является их набухание в парах воды и, следовательно, резкое ухудшение барьерных характеристик при повышенной влажности окружающей среды [2–4, 7]. В связи с этим в качестве барьерных упаковочных материалов, как правило, применяют EVON или многослойные пленочные композиции EVON и ПЭТФ, в том числе с металлизированным покрытием [2–4].

Среди гидрофобных барьерных полимерных материалов выделяются полиакрилонитрил (ПАН) и поливинилиденхлорид Saran. Существенным недостатком ПАН является плохая перерабатываемость и высокая кристалличность, приводящая к получению непрозрачных пленок. ПАН при локальном перегреве и длительном хранении в окислительной атмосфере циклизуется с образованием ароматических структур, что применяется при получении так называемого “черного” ПАН, полупродукта для получения углеродных волокон [20]. Поэтому, как правило, используют сополимеры ПАН с другими материалами, например, с ПС или ПММА, что резко ухудшает их барьерные характеристики [7]. Один из наиболее интересных гидрофобных полимеров с высокими барьерными характеристиками – поливинилиденхлорид, однако его барьерные свойства также сильно зависят от степени кристалличности пленок (табл. 1).

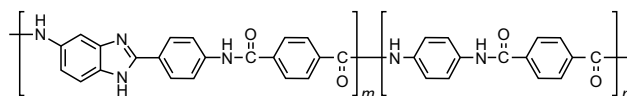
В качестве барьерных полимеров могут использоваться и термотропные жидкокристаллические полимеры типа Vectra [7, 18] (табл. 1), химическая структура которого приведена ниже.



Эти полимеры обладают низкими коэффициентами проницаемости по кислороду 0.0007–0.00009 Баррер [7, 18], что приближается к техническим требованиям для применения

в оптоэлектронике. Тем не менее и у данных полимеров есть свои недостатки. Термотропные ЖК-полимеры типа Vectra не растворяются в растворителях и перерабатываются из расплава с низкой вязкостью при температурах выше 300°C [7, 21]. Пленки полимеров типа Vectra благодаря низкой проницаемости гелия служат элементами оболочек высотных аэростатов. Однако формирование из них тонкопленочных покрытий с высокой адгезией к поверхности является серьезной проблемой несмотря на то, что низкая вязкость расплава позволяет получать из них выдувные пленки и литые изделия сложной формы [21]. Поэтому создание полимерных материалов, обладающих барьерными характеристиками, сравнимыми с полимерами типа Vectra и способными к образованию пленок или к нанесению адгезионно прочного тонкопленочного покрытия с помощью растворной технологии – крайне актуальная задача, особенно в условиях невозможности на сегодняшний день закупки барьерных полимеров за рубежом.

Заменой полимерам Vectra может служить отечественный гетероциклический полимер, сополиарамида структурной формулы,



полученный на научно-производственном предприятии ООО “ЛИРСОТ”:

Сополимер получают по реакции сополиконденсации парафенилендиамина, 5(6)-амино-2-(*n*-аминофенил)-бензимидазола и дихлорангидрида терефталевой кислоты в апротонном растворителе. Сополимер неплавкий, растворяется в ограниченном числе растворителей, а именно в диметилацетамиде с добавками LiCl и концентрированной серной кислоте. Термодинамический сегмент Куна составляет 250 Å, вискозиметрическая молекулярная масса  $(60–70) \times 10^3$  [22].

Следует отметить, что широко применяемые в настоящее время сополиарамидные нити характеризуются высокими показателями прочности (270–300 сН/текс) и модуля упругости (135–170 ГПа), незначительной потерей прочности в мокром состоянии (5–8%), низкой усадкой в воде (0–0.5%), повышением прочности с сохранением эластичности при температуре жидкого азота (на 15–18% от исходной), низкой теплопроводностью, термостабильностью, хорошей огнезащищенностью; они используются в высокопрочных композитных материалах для авиационной, ракетной и космической техники, органокомпозитах, рукавах высокого давления, шлангах, тросах, канатах, приводных ремнях и средствах мягкой броневой защиты [23, 24].



Отечественный сополиарамид является химическим аналогом полиарамидов Nomex и Kevlar [21]. Эти полиарамиды обладают барьерными газотранспортными свойствами ( $P(\text{H}_2) = 4\text{--}40$  Баррер,  $P(\text{CH}_4) = 0.007\text{--}0.53$  Баррер, температура  $90^\circ\text{C}$  [25]). Предварительные исследования сополиариамида показали [26], что пленки из него также являются барьерными, причем уровень газопроницаемости этого полимера сравним с полимерами типа Vectra.

В настоящей работе впервые подробно исследованы газотранспортные параметры сополиариамида и проведено сравнение с полимерами типа Vectra.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для получения полимерных пленок использовали 6%-ный раствор сополиариамида в  $N,N$ -диметилацетамиде с добавкой LiCl. Слой раствора толщиной 250 мкм с динамической вязкостью  $\eta = 776$  Пз, характеристической вязкостью  $[\eta] = 7.1$  дл/г наносили на поверхность стекла, выдерживали 10 мин на воздухе и помещали на 5 мин в обессоленную воду, затем в течение 2 ч промывали проточной обессоленной водой до нейтрального pH и отсутствия в промывных водах ионов  $\text{Cl}^-$ . Затем переносили пленку на палочки для фиксации размеров и предотвращения усадки, сушили на воздухе до постоянной массы.

### Определение газотранспортных параметров

Коэффициенты проницаемости и диффузии водорода, гелия, кислорода и углекислого газа для исследуемых пленок получены интегральным барометрическим методом на установке MKS Barotron, для управления экспериментом использовалось программное обеспечение на основе "LabView". Эксперименты проводили в интервале температур  $22\text{--}50^\circ\text{C}$  и давлении над мембраной от 2 до 5 атм. Давление в подмембранном пространстве поддерживали на уровне  $\sim 10^{-6}$  атм, поэтому в условиях проведения эксперимента обратной диффузией газа, проникающего через пленку, пренебрегали. По кривой натекания газа через пленку в калиброванный объем находили параметры массопереноса газа: коэффициенты проницаемости  $P$  и диффузии  $D$ .

Коэффициент проницаемости  $P$  газа определяли при достижении стационарного режима массопереноса по угловому коэффициенту линейной зависимости потока через пленку:

$$P = \frac{Vl}{St\Delta p} = \frac{\Delta p}{\Delta t} \frac{V_k T_0 / (T_0 + T)}{P_{atm}} \frac{l}{S(p_f - p_p)}, \quad (1)$$

где  $l$  — толщина исследуемой пленки,  $\Delta p/\Delta t$  — угловой коэффициент линейного стационарного участка интегральной кривой,  $S$  — рабочая площадь мембраны,  $V_k$  — калиброванный объем,  $p_f$  — давление над мембраной,  $p_p$  — давление под мембраной,  $T_0$  — температура при нормальных условиях,  $T$  — температура ячейки.

Коэффициент диффузии  $D$  газа определяли по нестационарному участку кривой натекания методом Дейнеса–Баррера с учетом времени запаздывания  $\theta$

$$D = l^2/6\theta, \quad (2)$$

( $l$  — толщина пленки).

Коэффициент растворимости  $S$  газа рассчитывали из экспериментальных значений  $P$  и  $D$  по формуле

$$S = P/D \quad (3)$$

Из полученных данных для разных пар газов  $i$  и  $j$  рассчитывали идеальные селективности разделения

$$\alpha = P_i/P_j \quad (4)$$

и селективности диффузии

$$\alpha^D = D_i/D_j \quad (5)$$

Экспериментальная ошибка измерения  $P$  составляла 5%,  $D$  — 10% и соответственно при расчете ошибка определения  $S$  составляла 15%,  $\alpha$  — 10%,  $\alpha^D$  — 20%.

Из температурных зависимостей коэффициентов проницаемости, диффузии находили энергии активации проницаемости и диффузии, согласно выражениям

$$P = P_0 \exp(-E_P/RT), \quad (6)$$

где  $E_P$  — температурный коэффициент проницаемости (энергия активации проницаемости),  $P_0$  — предэкспоненциальный множитель;

$$D = D_0 \exp(-E_D/RT), \quad (7)$$

( $E_D$  — энергия активации диффузии,  $D_0$  — предэкспоненциальный множитель).

Теплоту (энтальпию) сорбции газов, согласно уравнению (3), рассчитывали по разности энергий активации проницаемости  $E_P$  и диффузии  $E_D$ :

$$\Delta H_S = E_P - E_D \quad (8)$$

## Метод аннигиляции позитронов

Кривые спада времени жизни аннигиляции позитронов измеряли при комнатной температуре с использованием спектрометра EG@GOrtec. В качестве радиоактивного источника позитронов использовали [<sup>44</sup>Ti] на подложке из никелевой фольги. Две стопки образцов пленки, каждая общей толщиной около 1 мм, располагали по обе стороны от источника. Все измерения проводили в инертной атмосфере азота. Разрешение по времени составляло 230 пс (полная ширина на полувысоте (fwhm) кривой мгновенных совпадений). Вклад аннигиляции в исходный материал, фон и инструментальное разрешение учитывались в программе PATFIT для обработки экспериментальных данных времени жизни. Полученные данные определяли как среднее значение из нескольких спектров, снятых для одного образца, имеющих интегральное число отсчетов не менее 10<sup>6</sup> в каждом спектре. Метод аннигиляции позитронов основан на измерении спектров времени жизни позитронов в полимерах — времени жизни  $\tau_i$  (нс) и соответствующих интенсивностей  $I_i$  (%). Более длительные времена жизни  $\tau_3$  и  $\tau_4$  могут быть связаны со средним размером элементов свободного объема в полимерах по формуле Тао–Элдрупа [27, 28]

$$\tau_i = \left\{ \lambda_0^T + 2 \left[ 1 - \frac{R_i}{R_i + \Delta R} + \frac{1}{2\pi} \sin \left( \frac{2\pi R_i}{R_i + \Delta R} \right) \right] \right\}^{-1}, \quad (9)$$

где  $\tau_i = \tau_3$  или  $\tau_4$  (нс) время жизни о-Ps,  $R_i = R_3$  или  $R_4$  радиус элементов свободного объема (Å);  $\lambda_0^T$  обозначает внутреннюю скорость аннигиляции о-Ps ( $0.7 \times 10^9 \text{ с}^{-1}$ );  $\Delta R = 1.66 \text{ Å}$  — эмпирически подобранный параметр.

$$v_f = (4\pi/3)R_j^3, \quad (10)$$

где  $v_f$  — средний объем элементов свободного объема.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

## Газотранспортные параметры

Коэффициенты проницаемости и диффузии гелия и водорода для сополиарамида измеряли при температурах 22, 35, 40 и 50°C, коэффициенты проницаемости и диффузии кислорода и углекислого газа — при 22 и 40°C. Данные, полученные при 40°C, а также рассчитанные значения коэффициентов растворимости газов при 40°C представлены в табл. 2.

Поскольку для водорода и гелия были экспериментально измерены коэффициенты проницаемости и диффузии в интервале температур 22–50°C, по температурным зависимостям коэффициентов проницаемости и диффузии рассчитаны энергии активации проницаемости ( $E_p$ , кДж/моль) по выражению (6) и диффузии ( $E_D$ , кДж/моль) по выражению (7), по их разнице по выражению (8) вычислена энтальпия сорбции ( $\Delta H_s$ , кДж/моль) газов. Данные также представлены в табл. 2.

Для корректного сравнения полученных результатов с литературными данными для ЖК-полимера Vectra, опубликованных в работе [18] при 35°C, данные работы [18] были пересчитаны по опубликованным там же энергиям активации проницаемости, диффузии и растворимости к 40°C. Эти результаты приведены в табл. 3.

Из сравнения данных табл. 2 и 3 можно сделать вывод, что сополиарамида по уровню газопроницаемости относится к группе высокобарьерных полимеров ( $P(\text{O}_2) < 0.006$  Баррер). Коэффициенты проницаемости He для сополиарамида и экспериментального образца полимера Vectra [18] близки, тогда как коэффициенты проницаемости водорода для сополиарамида в 1.5 раза больше, чем для Vectra, кислорода — больше в 9 раз, а углекислого газа — в 44 раза. Однако сравнение данных по проницаемости сополиарамида и промышленных образцов Vectra в аналогичных условиях демонстрирует, что пленка сополиарамида только в 2.5 раза более проницаема для кисло-

**Таблица 2.** Коэффициенты проницаемости  $P$ , диффузии  $D$  и растворимости  $S$  газов He, H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> в сополиарамиде при 40°C, энергии активации проницаемости  $E_p$ , диффузии  $E_D$  и энтальпии сорбции  $\Delta H_s$  для He и H<sub>2</sub>

Газ	$P$ , Баррер	$D \times 10^8$ , см <sup>2</sup> /с	$S \times 10^3$ , см <sup>3</sup> (н.у.)/(см <sup>3</sup> см рт. ст.)	$E_p$	$E_D$	$\Delta H_s$ , кДж/моль
				кДж/моль		
He	0.188	8.9	0.21	32	37	-5
H <sub>2</sub>	0.086	2.9	0.30	33	49	-16
O <sub>2</sub>	0.0054	0.0016	34	—	—	—
CO <sub>2</sub>	0.0439	0.0011	400	—	—	—

рода по сравнению с промышленными образцами Vectra A950 ( $P(O_2) = 0.0021$  Баррер,  $T = 38^\circ C$  [7]), при этом она в 7 раз менее проницаема для водорода, чем Vectra A950 ( $P(H_2) = 0.61$  Баррер,  $T = 40^\circ C$  [7]).

Кроме того, сравнение данных по коэффициентам диффузии показывает, что  $D$  газов (табл. 2) для образца пленки сополиарамида по сравнению с Vectra из работы [18] (табл. 3) в 4.5 раза меньше для водорода, в 64 раза меньше для кислорода и в 12 раз меньше для углекислого газа. Пересчет коэффициента диффузии газов пленки сополиарамида для гелия к  $35^\circ C$  демонстрирует, что  $D(7.1 \times 10^{-8} \text{ см}^2/\text{с})$  в 9 раз меньше  $D(He)$  в Vectra ( $64 \times 10^{-8} \text{ см}^2/\text{с}$  [18]). Как правило, в случае таких отличий коэффициентов диффузии и коэффициент проницаемости газа должен быть для пленки сополиарамида как минимум в несколько раз ниже образца Vectra из работы [18]. Однако коэффициенты проницаемости только для гелия несколько меньше, чем в образце Vectra из работы [18]. По данным табл. 2, для сополиарамида наблюдаются весьма высокие значения коэффициентов растворимости гелия, водорода, кислорода, углекислого газа, сравнимые с данными для высокопроницаемых полимеров [29]. По-видимому, за счет особенностей методики формования пленок сополиарамида в них сохраняются замкнутые полости (микродефекты), обеспечивающие повышенную сорбцию газов в них.

Сравнение энергии активации проницаемости, диффузии и энтальпии сорбции газов (табл. 2 и 3) показывает, что эти величины сопоставимы для обоих барьерных полимеров. Исключение составляет энтальпия сорбции водорода для полимера Vectra [18], однако, судя по ее положительности, возможны были некоторые неточности в определении  $D(H_2)$  в работе [18], приведшие, в итоге к практическому отсутствию зависимости коэффициента растворимости водорода от температуры [18]. В случае сополиарамида зависимость коэффициента растворимости водорода от температуры заведомо приводит к отрицательной энтальпии сорбции.

Сравнение идеальной селективности и селективности диффузии для сополиарамида и ЖК-полимера Vectra [18] представлены в табл. 4.

Как видно, селективность диффузии для сополиарамида существенно выше, чем для образца Vectra из работы [18]. В целом высокая селективность диффузии определяется высокой упорядоченностью упаковки цепей в плотной части полимерной матрицы [30]. Эта упорядоченность в пленке сополиарамида явно выше, чем в образце Vectra из работы [18]. Меньшую идеальную селективность сополиарамида (табл. 4) можно объяснить снижением селективности растворимости газов в изолированных микродефектах пленок, образующихся вследствие особенностей формования пленок из раствора.

**Таблица 3.** Коэффициенты проницаемости  $P$ , диффузии  $D$ , растворимости  $S$  газов He, H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> в полимере Vectra [18] при  $40^\circ C$  и энергии активации проницаемости  $E_P$ , диффузии  $E_D$  и энтальпии сорбции  $\Delta H_S$  для He, H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>

Газ	$P$ , Баррер	$D \times 10^8$ , см <sup>2</sup> /с	$S \times 10^3$ , см <sup>3</sup> (н.у.)/(см <sup>3</sup> см рт. ст.)	$E_P$	$E_D$	$\Delta H_S$ , кДж/моль
				кДж/моль		
He	0.210	—	—	27	—	—
H <sub>2</sub>	0.0585	12.7	0.046	34	31	3
O <sub>2</sub>	0.00059	0.103	0.058	41	61	-20
CO <sub>2</sub>	0.00099	0.014	0.69	44	65	-21

**Таблица 4.** Идеальные селективности проницаемости и диффузии пар газов в сополиарамиде и ЖК-полимере Vectra [18] при  $40^\circ C$

Пара газов	$\alpha^P = P_i/P_j$		$\alpha^D = D_i/D_j$	
	сополиарамид	Vectra[18]	сополиарамид	Vectra[18]
He/H <sub>2</sub>	1.5	3.6	3.1	—
He/O <sub>2</sub>	35	350	5600	—
H <sub>2</sub> /O <sub>2</sub>	16	99	1800	120
H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	2.0	59	2600	900

**Таблица 5.** Размеры элементов свободного объема в некоторых стеклообразных полимерах с разным уровнем проницаемости кислорода

Полимер	$P(O_2)$ , Баррер	$R_3$ , Å	$v_{f3}$ , (Å) <sup>3</sup>	$R_4$ , Å	$v_{f4}$ , (Å) <sup>3</sup>	Литература
Vectra	0.0005	2.1	39	—	—	[31]
Сополиарамид	0.004	2.5	65	—	—	Эксперимент
ПК	1.6	2.94	106	—	—	[32]
ПВТМС	44	3.21	138	4.35	345	[33]

Следовательно, совершенствование методики формования и предподготовки пленок потенциально (по уровню коэффициента диффузии) может привести к созданию более бездефектных структур, обладающих и лучшими барьерными характеристиками.

Тем не менее размеры элементов свободного объема (табл. 5), определенные экспериментально с помощью метода аннигиляции позитронов, показывают, что количество этих микродефектов незначительно и мало сказывается на средних размерах элементов свободного объема.

Так, по данным табл. 5 наименьшими размерами элементов свободного объема обладают полимер Vectra и изученный в данной работе сополиарамид. Далее с увеличением газопроницаемости полимера средние размеры элементов свободного объема существенно возрастают для среднепроницаемого поликарбоната, и уже для высокопроницаемого по классификации из работы [6] ПВТМС наблюдается появление позитрониевой компоненты  $\tau_4$ , которую обычно связывают с высокой газопроницаемостью полимера. Следует отметить, что, как и для полимера Vectra [18], для сополиарамидов есть только  $\tau_3$  позитрониевая компонента ( $\tau_3 = 1.68$  нс,  $I_3 = 4\%$ ,  $R_3 = 2.5$  Å), хотя высокая растворимость газов в сополиарамиде не может быть объяснена лишь средним размером элементов свободного объема. Возможно, концентрация неселективных микродефектов слишком мала, чтобы оценить их размер методом аннигиляции позитронов. Невысокая отрицательная энтальпия сорбции He, H<sub>2</sub> для сополиарамидов (табл. 2) также соответствует в среднем небольшим размерам элементов свободного объема.

Таким образом, судя по коэффициентам диффузии, потенциал сополиарамидных пленок при варьировании методики формования и уменьшения дефектности существенно выше, чем у ЖК-полимеров серии Vectra. Следовательно, для сополиарамидов есть потенциальная возможность получить образцы с более плотной упаковкой полимерных цепей и соответственно с меньшим коэффициентом проницаемости по He, H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>. Это доказывает и сравнение проница-

емости водорода с промышленным образцом Vectra A950: пленка сополиарамидов примерно в 7 раз менее проницаема по водороду по сравнению с промышленным образцом.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе изучена барьерная пленка на основе гетероциклического сополиарамидов. Определены газотранспортные свойства сополиарамидов в интервале температур 20–50°C и вычислены энергии активации проницаемости и диффузии для He и H<sub>2</sub>. Методом аннигиляции позитронов проведена оценка среднего размера элемента свободного объема сополиарамидов. По данным газопроницаемости показано, что сополиарамид относится к барьерным полимерным материалам ( $P(He) = 0.188$  Баррер,  $P(H_2) = 0.086$  Баррер,  $T = 40^\circ C$ ). Отмечены низкие значения коэффициентов диффузии газов и повышенные коэффициенты растворимости газов в сополиарамиде, сопоставимые с высокопроницаемыми полимерами. Выдвинуто предположение о потенциальной возможности получения сополиарамидов с улучшенными барьерными свойствами полимера. Параметры газопроницаемости могут быть использованы для оценки структуры полимеров.

Авторы выражают благодарность доктору химических наук, профессору М.М. Иовлевой за постоянный интерес к этой работе, участие в обсуждении и полезные советы.

Работа выполнена по Госзаданию ИНХС РАН.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alentiev A.Y., Ryzhikh V.E., Syrtsova D.A., Belov N.A. // Russ. Chem. Rev. 2023. V. 92. № 6. P. RCR5083.
2. Feldman D. // J. Polym. Environ. 2001. V. 9. № 2. P. 49.
3. De Lassus P. Barrier Polymers. Wiley, 2002.
4. Wu F., Misra M., Mohanty A.K. // Prog. Polym. Sci. 2021. V. 117. P. 101395.
5. Vol'fson S.I., Garipov R.M., Okhotina N.A., Zakirova L.YU., Yefremova A.A. // Vestnik Kazanskogo Tekhnologicheskogo Universiteta. 2013. V. 6. № 5. P. 128.

6. *Alent'ev A.Yu., Ryzhikh V.E., Belov N.A.* // Polymer Science C. 2020. V. 62. № 2. P. 238.
7. *McKeen L.* Permeability Properties of Plastics and Elastomers. Boston: Elsevier, 2017.
8. *Teplyakov V.V., Durgar'yan S.G.* // Vysokomolek. soyed. A. 1984. V. 26. № 10. P. 2159.
9. *Puleo A.C., Muruganandam N., Paul D.R.* // J. Polym. Sci., Polym. Phys. 1989. V. 27. № 11. P. 2385.
10. *Muruganandam N., Koros W.J., Paul D.R.* // J. Polym. Sci., Polym. Phys. 1987. V. 25. № 9. P. 1999.
11. *McHattie J.S., Koros W.J., Paul D.R.* // Polymer. 1991. V. 32. № 5. P. 840.
12. *Hao J., Tanaka K., Kita H., Okamoto K.-I.* // J. Polym. Sci., Polym. Chem. 1998. V. 36. № 3. P. 485.
13. *Michaels A.S., Vieth W.R., Barrie J.A.* // J. Appl. Phys. 1963. V. 34. № 1. P. 1.
14. *Tikhomirov B.P., Hopfenberg H.B., Stannett V., Williams J.L.* // Macromol. Chem. Phys. 1968. V. 118. № 1. P. 177.
15. *Min K.E., Paul D.R.* // J. Polym. Sci., Polym. Phys. 1988. V. 26. № 5. P. 1021.
16. *Simril V.L., Hershberger A.* // Mod. Plast. 1950. V. 27. № 11. P. 95.
17. *Allen S.M., Fujii M., Stannett V., Hopfenberg H.B., Williams J.L.* // J. Membr. Sci. 1977. V. 2. P. 153.
18. *Chiou J.S., Paul D.R.* // J. Polym. Sci., Polym. Phys. 1987. V. 25. № 8. P. 1699.
19. *McHattie J.S., Koros W.J., Paul D.R.* // Polymer. 1991. V. 32. № 5. P. 840.
20. *Bashir Z.* // Carbon. 1991. V. 29. № 8. P. 1081.
21. *Mikhaylin YU.A.* Termoustoychivyye Polimery i Polimernyye Materialy. SPb: Professiya, 2006.
22. *Iovleva M.M., Banduryan S.I., Musina T.K.* // Sbornik Nauchnykh Trudov. Vypusk 2. ООО "ЛИРСОТ". М.: Sputnik+, 2010. S. 83.
23. *Kompozitsionnyye Materialy dlya Vzryvobezopasnosti Personal'a i Ob"yektov / Pod red. I.N. Torgun M: FGUP "TSNIIKHM", 2017.*
24. *Aramidnyye Vysokoprochnyye Vysokomodul'nyye Niti Armos [Elektronnyy resurs] // ООО "ЛИРСОТ" URL: <http://www.lirsot.ru/products/aramid/> (data obrashcheniya: 22.08.2023).*
25. *Ekiner O.M., Vassilatov G.* // J. Membr. Sci. 1990. V. 53. № 3. P. 259.
26. *Alent'yev A.Yu., Banduryan S.I., Belov N.A., Musina T.K., Nikiforov R.Yu., Stroyeva I.V., Tsvetkov A.A., Shishkina N.G.* Pat. 2790163 C1 RF. 2023.
27. *Tao S.J.* // J. Chem. Phys. 1972. V. 56. № 11. P. 5499.
28. *Eldrup M., Lightbody D., Sherwood J.N.* // Chem. Phys. 1981. V. 63. № 1–2. P. 51.
29. TIPS RAS, Database "Gas Separation Parameters of Glassy Polymers," 1998. No 3585.
30. *Alentiev A.Yu., Belov N.A., Chirkov S.V., Yampolskii Yu.P.* // J. Membr. Sci. 2018. V. 547. P. 99.
31. *Hsieh T.-T., Tiu C., Simon G.P.* // J. Appl. Polym. Sci. 2001. V. 82. № 9. P. 2252.
32. *Jean Y.C., Yuan J.-P., Liu J., Deng Q., Yang H.* // J. Polym. Sci., Polym. Phys. 1995. V. 33. № 17. P. 2365.
33. *Shantarovich V., Kevdina I., Yampolskii Yu., Alentiev A.* // Macromolecules 2000. V. 33. P. 7453.



УДК 541.64:539.3:532.135

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЧЕСКИХ И РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОМПОЗИЦИЙ ПЭНП С РАЗЛИЧНЫМИ НАНОУГЛЕРОДНЫМИ НАПОЛНИТЕЛЯМИ

© 2024 г. М. М. Гасымов<sup>а</sup>, Т. И. Мединцева<sup>а</sup>, С. З. Роговина<sup>а,\*</sup>,  
О. П. Кузнецова<sup>а</sup>, А. В. Шапагин<sup>б</sup>, А. А. Берлин<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук  
119991 Москва, ул. Косыгина, 4, Россия

<sup>б</sup>Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук  
119991 Москва, Ленинский пр., 31., стр. 4, Россия

\*e-mail: s.rogovina@mail.ru

Поступила в редакцию 23.01.2024 г.

После доработки 26.02.2024 г.

Принята к публикации 06.03.2024 г.

В твердой фазе под действием сдвиговых деформаций в роторном диспергаторе получены наполненные композиции полиэтилена низкой плотности с нанокремнеземными наполнителями — нанопластинами графита и восстановленным оксидом графена различного состава. Методом сканирующей электронной микроскопии показано различие структуры полученных наноконструкций. Проведено сравнительное изучение механических свойств, пористости и реологического поведения композиций. Продемонстрировано влияние природы графеновых нанонаполнителей и состава композиций на характеристики образующихся материалов.

DOI: 10.31857/S2308112024010061 EDN: NLJALJ

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы резко возрос интерес к получению наполненных композиционных материалов на основе полимеров разных классов, в частности полиэтилена, содержащих графен и его производные.

Разработка различных полимерных композиций с использованием материалов на основе графена для потенциально широких областей и возможного применения, как и совершенствование существующих методов их получения, является в настоящее время одним из наиболее интенсивно развивающихся направлений современного материаловедения [1–5].

Введение жестких неорганических частиц, к которым относятся графен и его производные, в термопластичные полимеры приводит к увеличению модуля упругости, улучшению термостойкости и электропроводности материалов [6, 7], проявлению ими магнитных свойств [8, 9], снижению горючести [10], а также антибактериальной [11] и противогрибковой [12] активности. Именно с этими обстоятельствами связан постоянно возрастающий интерес к изучению

и проведению сравнительной оценки свойств полимерных композиций, содержащих различные нанокремнеземные добавки.

Помимо традиционных растворных или расплавных способов получения композиций используются и такие методы, как получение коллоидных суспензий углеродных производных или растворение полимера в их суспензии, а также твердофазное смешение под действием сдвиговых деформаций. Основной проблемой при получении наноконструкций является обеспечение хорошей дисперсности графеновых производных в полимерной матрице.

Одни из наиболее широко используемых углеродных наполнителей — нанопластины графита и восстановленный оксид графена [13–15].

Нанопластины графита представляют собой терморасширенный графит, образующийся в результате термического воздействия на интеркалированные соединения графита, имеющие пористую структуру, состоящую из нескольких графеновых слоев [16, 17]. Нанопластины графита, будучи значительно дешевле монослойного графена, могут успешно использоваться в качестве нанонаполнителей.

В то же время восстановленный оксид графена, образующийся при восстановлении оксида графена, сопровождающегося удалением содержащихся в нем различных кислородосодержащих заместителей, по своим свойствам близок к свойствам чистого графена [18].

Ранее нами в работе [19] было проведено сравнительное изучение влияния нанопластин графита и восстановленного оксида графена на механические, электрические и структурные характеристики их композиций с полилактидом, и продемонстрирована зависимость свойств композиций от природы используемых нанонаполнителей.

В то же время получение композиций ПЭНП и ПЭВП, содержащих в качестве наполнителя нанопластины графита и восстановленный оксид графена представлено в литературе относительно небольшим количеством работ.

Так, в работе [20] композиции ПЭНП–нанопластины графита были получены в двухшнековом экструдере при различных скоростях вращения шнеков. Было показано, что увеличение скорости вращения шнеков приводит к улучшению распределения наночастиц нанопластин графита в полимерной матрице, а также значительному возрастанию теплопроводности и термостабильности образующихся композиций.

В работе [21] композиции ПЭНП с терморасширяющимся графитом были получены в смесителе Брабендера. При этом его эксфолиация происходила непосредственно в расплаве ПЭНП в процессе смешения. Установлено, что введение нанонаполнителя приводит к снижению механических характеристик, за исключением модуля Юнга, и значительному увеличению термической стабильности. Аналогичные результаты были описаны в работе [22].

Теплофизические свойства композиций ПЭНП–нанопластины графита, полученных в условиях высокотемпературных сдвиговых деформаций, были изучены в работе [23]. Показано, что добавление нанопластин графита приводит к снижению температур стеклования и холодной кристаллизации, а также уменьшению степени кристалличности ПЭНП и увеличению его термостабильности.

Смешение ПЭВП с углеродными нанонаполнителями рассмотрены в статьях [24–26].

Настоящая работа является продолжением проводимых авторами исследований комплекса свойств и структурных особенностей композиций на основе ПЭНП, содержащих углеродные нанонаполнители [27].

Цель проведенных исследований – получение в твердой фазе методом высокоинтенсивных сдвиговых деформаций композиционных полимерных материалов, содержащих различные углеродные нанонаполнители, изучение механических и реологических свойств, а также пористости и структурных особенностей образующихся композиций. Преимуществами данного метода является как возможность достижения повышенной дисперсности распределения наполнителей в полимерной фазе, улучшающей его основные характеристики, так и отсутствие необходимости утилизации и удаления жидкой фазы растворителей, что способствует улучшению экологии окружающей среды.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования служил полиэтилен низкой плотности Riblene FC30 (“Polimeri Europa”, Италия), с  $M_n = 16.3 \times 10^3$ ,  $M_w = 82.2 \times 10^3$ ,  $M_z = 245 \times 10^3$ , плотностью  $0.919 \text{ г/см}^3$  и показателем текучести расплава  $2.1 \text{ г/10мин}$  ( $190^\circ\text{C}$ ,  $2.16 \text{ кг}$ ).

В качестве наполнителей использовали восстановленный оксид графена и нанопластины графита производства “XG Sciences” (Michigan State University, США).

Синтез восстановленного оксида графена осуществляли в несколько стадий согласно работе [28]: вначале окислением кристаллического графита раствором  $\text{KMnO}_4$  в кислой среде по методу Хаммерса синтезировали оксид графита, из которого в дальнейшем восстановлении был получен восстановленный оксид графена.

Термическое восстановление оксида графита проводили в трубчатой печи в атмосфере аргона при температуре  $900^\circ\text{C}$ , где происходило взрывообразное разложение оксида графита с выделением газообразных  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  и образованием значительно увеличенного в объеме твердого продукта – восстановленного оксида графена [28].

Композиции ПЭНП–восстановленный оксид графена и ПЭНП–нанопластины графита получали смешением компонентов под действием сдвиговых деформаций в одношнековом роторном диспергаторе со скоростью вращения шнека  $45 \text{ об./мин}$  путем однократного пропуска смеси при температурах выше температуры плавления ПЭНП для того, чтобы уменьшить вязкость ПЭНП и облегчить его прохождение через экструдер. При этом необходимо отметить, что измельчение ПЭНП и смешение компонентов под действием сдвиговых деформаций протекает именно в твердом состоянии в охлаждаемой головке роторного диспергатора при температурах

ниже температуры плавления ПЭНП, где и происходит образование композиций. Таким образом, смешение ПЭНП с углеродными наполнителями осуществляется непосредственно в твердой фазе. Время пребывания материала в диспергаторе составляло около 5 мин, загрузку осуществляли через определенные временные интервалы. Концентрация нанонаполнителей в смесях варьировалась от 0.05 до 1.00 мас. %.

Для проведения исследований свойств полученных композиций использовали пленки образцов толщиной 0.3 мм, полученных на лабораторном прессе “Carver” (США) при температуре 190°C и давлении 10 МПа в течение 10 мин с последующим охлаждением водой до комнатной температуры со скоростью 20°C/мин.

Фазовую структуру композиций исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием сканирующего электронного микроскопа “JEOL JSM 6060A” (Япония). Во вторичных электронах при ускоряющем напряжении 15 кэВ получены СЭМ-изображения, характеризующие морфологию поверхности сколов пленок образцов. Предподготовка заключалась в магнетронном напылении золота в среде аргона на поверхность образца с целью получения токопроводящей пленки толщиной менее разрешающей способности электронного сканирующего микроскопа.

Механические испытания полученных композиций проводили на разрывной машине “Instron-3365” (Великобритания) в режиме одноосного растяжения при постоянной скорости перемещения верхней траверсы 50 мм/мин и комнатной температуре. Из диаграмм деформации определяли модуль упругости  $E$  по начальному участку кривой, предельную прочность  $\sigma_p$  и относительное удлинение  $\epsilon_p$ . Результаты усредняли по шести–семи образцам. Погрешность измерения модуля упругости и предела прочности не превышала 10%, а удлинения при разрыве — 20%.

Методом рентгеновской микротомографии, позволяющей изучать внутренний объем объекта без разрушения образца, исследовали композиции ПЭНП с нанонаполнителями [29]. Сканирование образцов выполняли на микротомографе “Bruker SkyScan 1172” (Бельгия) в течение 3 ч. Морфометрический анализ и расчет пористости осуществляли с использованием программы STAN.

Реологическое поведение изучали при 190 °С в режиме постоянной нагрузки на капиллярном микровискозиметре, сконструированном на основе ИИРТ-5 (Россия). Были получены кривые течения, из которых рассчитывали зависимости эффективной сдвиговой вязкости  $\eta$  от напряже-

ния сдвига  $\tau$  для исходного ПЭНП и его композиций в при течении через капилляр с отношением его длины к диаметру, равным 15. Дополнительные эксперименты показали, что в данном случае входовой поправкой можно пренебречь. Результаты экспериментов усредняли по двум–трем измерениям и обрабатывали по общепринятой методике [30]. Погрешность измерений не превышала 10%.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение по размерам частиц нанонаполнителей восстановленного оксида графена и нанопластин графита было исследовано методом лазерной дифракции, описанное нами ранее в работе [19]. Определяемые этим методом эффективные размеры частиц усредняли по трем направлениям пространственных осей, и находятся для нанопластин графита в интервале от 2 до 88 мкм (средний размер ~22 мкм), а частиц восстановленного оксида графена — в интервале 0.3 до 80 мкм (средний размер ~25 мкм).

В данной работе с использованием метода СЭМ было проведено сравнительное изучение морфологии полученных композиций, содержащих 0.25 мас. % нанонаполнителей. На рис. 1 представлены микрофотографии поверхностей сколов композиций ПЭНП–нанопластины графита (рис. 1а) и ПЭНП–восстановленный оксид графена (рис. 1б).

Видно, что образец ПЭНП–нанопластины графита содержит чешуйчатые агломераты нанопластин графита размером 4–5 мкм, неравномерно распределенные в полимерной матрице (рис. 1а). В то же время в композиции ПЭНП–восстановленный оксид графена присутствуют более мелкие и однородно распределенные червеобразные частицы наполнителя с гофрированной поверхностью, диаметр поперечного сечения которых составляет ~0.2 мкм, т.е. размер частиц нанонаполнителей, распределенных в матрице термопласта, значительно меньше размера частиц порошков наполнителей.

Таким образом, при твердофазном смешении ПЭНП с нанонаполнителями в роторном диспергаторе под действием сдвиговых деформаций происходит измельчение нанопластин графита и восстановленного оксида графена.

На рис. 2 представлены зависимости деформационных характеристик исследованных композиций от содержания наполнителя.

Как видно, для обеих систем введение нанонаполнителей приводит к возрастанию модуля  $E$  и снижению предельно-прочностных параметров. Необходимо отметить, что увеличение

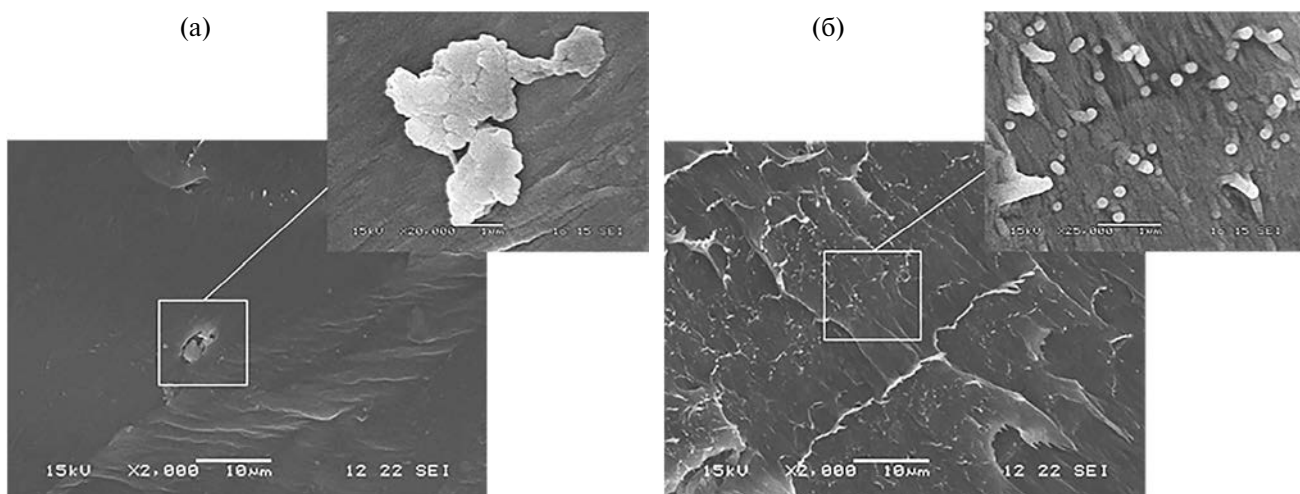


Рис. 1. Микрофотографии сколов пленок композиций ПЭНП–нанопластины графита (а) и ПЭНП–восстановленный оксид графена (б), содержащих 0.25 мас. % наполнителя. Увеличение фрагментов изображений 20000 (а) и 25000 (б).

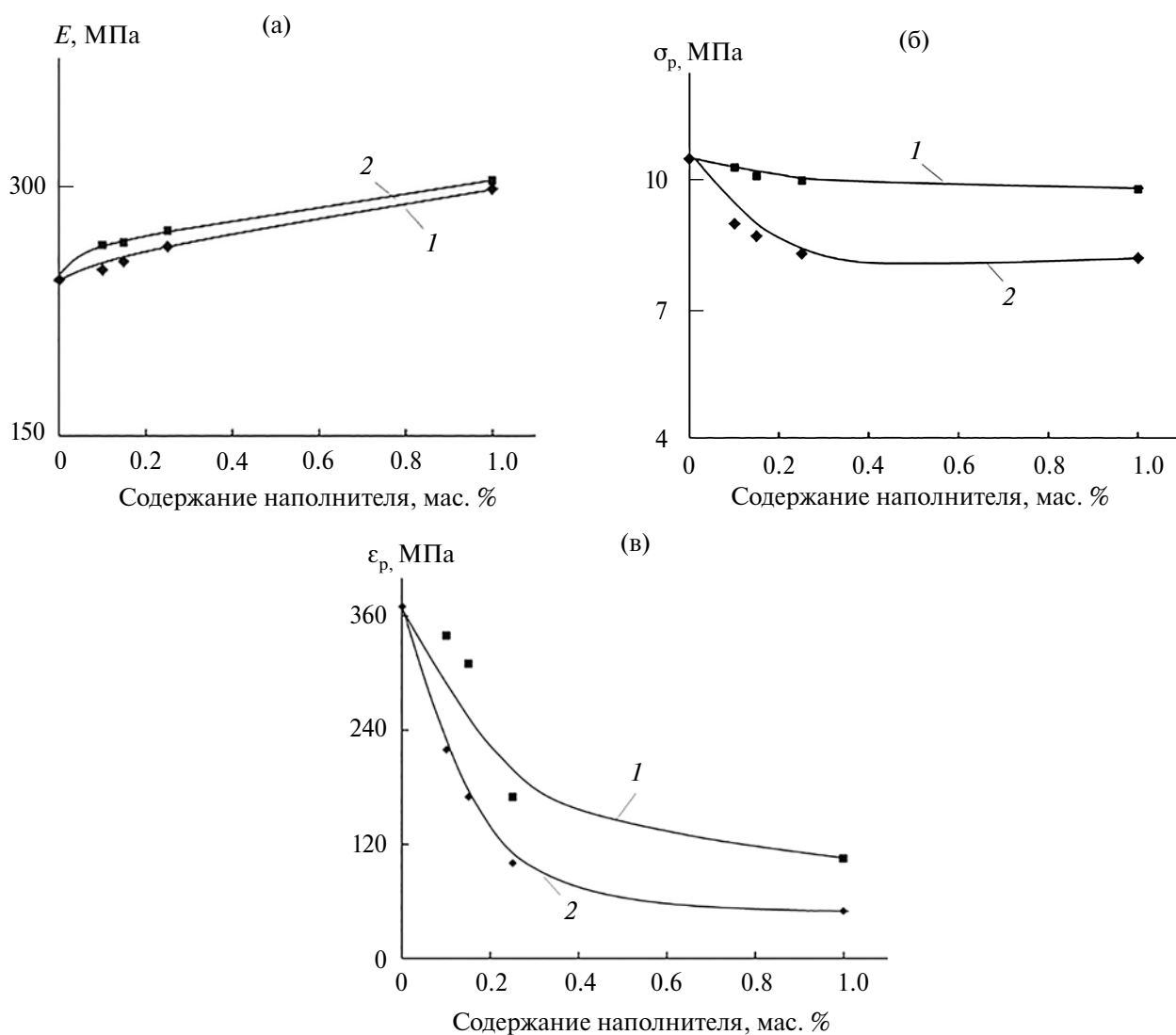


Рис. 2. Зависимости модуля упругости  $E$  (а), предела прочности  $\sigma_p$  (б) и удлинения при разрыве  $\epsilon_p$  (в) от содержания нанопластин графита (1) и восстановленного оксида графена (2) для исследованных композиций.

содержания восстановленного оксида графена в композициях в большей степени влияет на снижение предельной прочности  $\sigma_p$  и удлинения при разрыве  $\epsilon_p$ , чем в случае использования нанопластинок графита.

Очевидно, что на значения механических параметров исследуемых композиций также влияет пористость материала.

Зависимость количества пор в композициях от содержания нанонаполнителей приведена на рис. 3.

Видно, что пористость всех исследованных композиций возрастает с увеличением содержания нанонаполнителей, причем пористость композиций, содержащих восстановленный оксид графена, выше, чем аналогичных композиций, в состав которых входит нанопластина графита.

Необходимо отметить, что, если при низких концентрациях количество пор в композициях ПЭНП–восстановленный оксид графена существенно превышает их количество в композициях ПЭНП–нанопластины графита аналогичного состава, то значения пористости композиций при содержании наполнителя выше 0.25 мас. %, близки между собой. Это может быть связано с агрегацией плоских частиц нанопластин графита при повышении их концентрации и, как следствие, возрастанием свободного объема (увеличением пористости). Таким образом, полученные результаты коррелируют с данными механических испытаний, согласно которым величины прочностных характеристик композиций ПЭНП–нанопластины графита выше для всех образцов по сравнению с композициями ПЭНП–восстановленный оксид графена. Наблюдаемые более высокие значения пористости композиций, содержащих восстановленный оксид графена, являются также причиной существенного падения значений удлинения при разрыве этих композиций.

На рис. 4 приведены зависимости эффективной сдвиговой вязкости  $lg\eta$  расплавов ПЭНП, наполненных композитов ПЭНП–нанопластины графита (рис. 4а) и ПЭНП–восстановленный оксид графена (рис. 4б) от напряжения сдвига  $lg\tau$ .

В изученном сдвиговом диапазоне ПЭНП и его композиции с углеродными наполнителями ведут себя как неньютоновские жидкости, т.е. данные материалы демонстрируют нелинейное реологическое поведение, и их вязкость монотонно убывает с увеличением напряжения сдвига.

Снижение напряжения сдвига в области  $lg\tau \leq 3.5$  МПа приводит к резкому возрастанию вязкости ПЭНП–восстановленный оксид графена (рис. 4б), при этом наблюдается тенденция к появлению предела текучести. Как упоминалось выше, частицы восстановленного оксида графена

имеют меньший размер и более равномерно распределяются в матрице ПЭНП. Вероятно, с увеличением содержания восстановленного оксида графена в композициях формируется трехмерный структурный каркас по сравнению с композициями ПЭНП–нанопластины графита, частицы которого крупнее и неравномерно распределены в термопластичной матрице, особенно при сверхмалых концентрациях. Недеформируемые твердые частицы гидродинамически затрудняют течение полимерной матрицы, что и приводит к появлению предела текучести [31]. Это наглядно демонстрируют композиции ПЭНП–восстановленный оксид графена.

Добавление 0.05 мас. % нанопластин графита практически не влияет на вязкость ПЭНП, однако восстановленный оксид графена в таком же количестве в большей степени повышает его реологические показатели. Вероятно, при таких сверхмалых концентрациях относительно крупные частицы нанопластин графита распределены крайне неоднородно и не влияют на течение расплава ПЭНП в отличие от восстановленного оксида графена, незначительные добавки которого структурируют композит и повышают его вязкость. Реологическое поведение композиций, содержащих от 0.10 до 0.25 мас. % нанопластин графита или восстановленного оксида графена, практически не зависит от содержания наполнителя. Исключением является ПЭНП, содержащий 0.15 мас. % восстановленного оксида графена, вязкость которого близка к вязкости самого термопласта. Дальнейшее увеличение концентрации до 1.0 мас. % приводит к существенному возрастанию эффективной сдвиговой вязкости композиций.

Количество пор, об./%

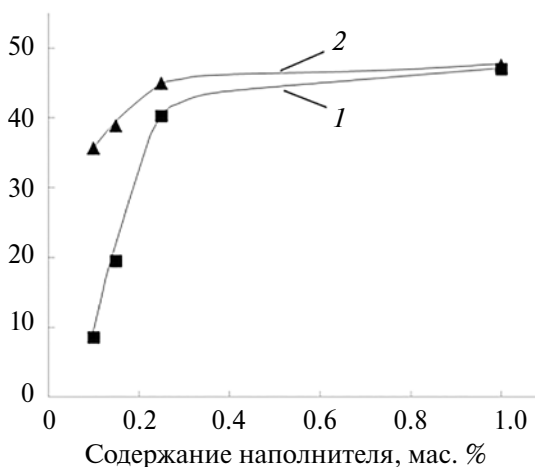


Рис. 3. Зависимость количества пор в исследованных композициях от содержания нанопластин графита (1) и восстановленного оксида графена (2).



В качестве примера на рис. 5 представлены сравнительные зависимости эффективной сдвиговой вязкости расплавов композиций ПЭНП с одинаковым содержанием нанонаполнителей.

Видно, что во всем исследованном диапазоне напряжений сдвига вязкость композиций ПЭНП–нанопластины графита ниже, чем композиций ПЭНП–восстановленный оксид графена (рис. 5а и 5в). Однако для композиций ПЭНП, содержащих 0.15 мас. % наполнителя, наблюда-

ется инверсия. Обнаружено, что в данном случае вязкость композиций ПЭНП–восстановленный оксид графена ниже, чем у композиций ПЭНП–нанопластины графита (рис. 5б). Исключение составляет начальный участок кривой, характеризующийся резким возрастанием вязкости композиций ПЭНП–восстановленный оксид графена с последующей тенденцией к достижению предела текучести. Как было отмечено выше, вязкость данной композиции практически совпадает

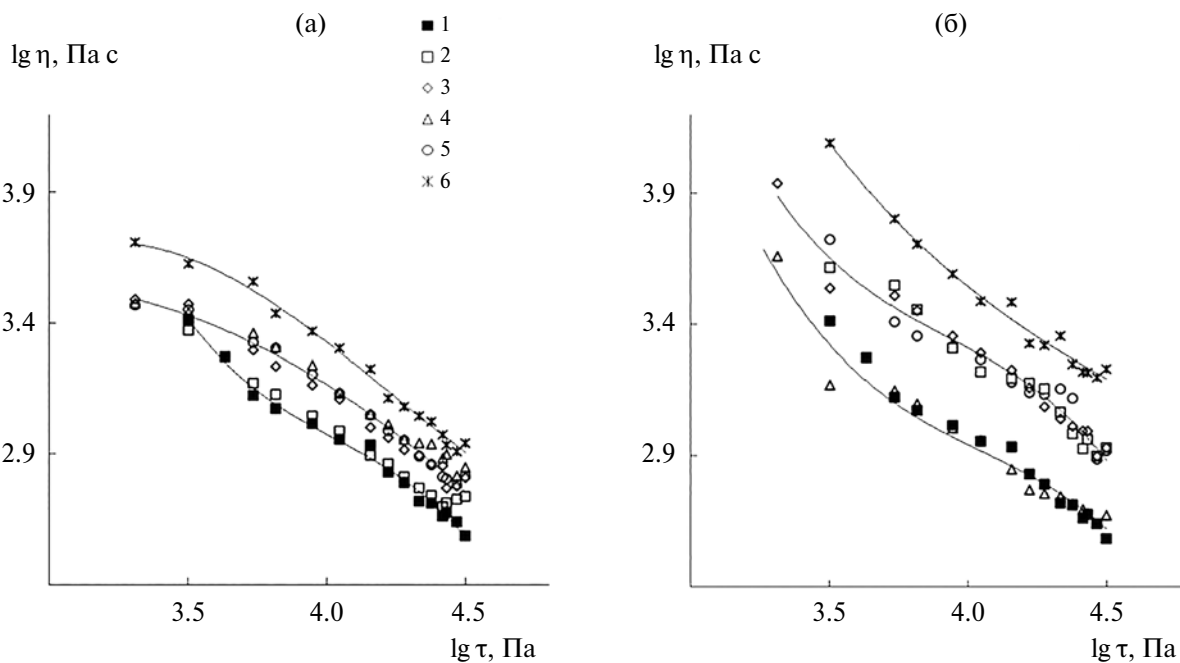


Рис. 4. Логарифмические зависимости вязкости ПЭНП, композиций ПЭНП–нанопластины графита (а) и ПЭНП–восстановленный оксид графена (б) от напряжения сдвига. Содержание наполнителя 0 (1), 0.05 (2), 0.10 (3), 0.15 (4), 0.25 (5) и 1.0 мас. % (6).

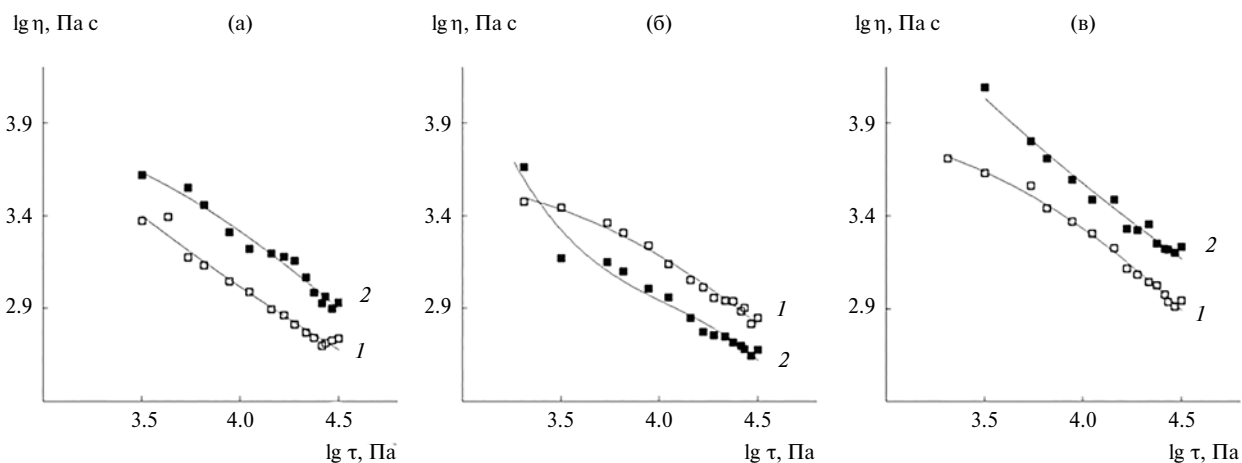


Рис. 5. Сравнительные зависимости вязкости композиций ПЭНП–нанопластины графита (1) и ПЭНП–восстановленный оксид графена (2). Содержание наполнителя 0.05 (а), 0.15 (б) и 1.0 мас. % (в).

с вязкостью исходного ПЭНП, что является исключением из всех исследованных композиций, содержащих восстановленный оксид графена.

Более наглядно зависимости эффективной сдвиговой вязкости расплавов исследованных композиций от содержания углеродных наполнителей демонстрирует рис. 6.

Видно, что вязкость композиций ПЭНП–нанопластины графита монотонно возрастает с увеличением содержания НПГ (рис. 6а), в то время как на соответствующих кривых композиций ПЭНП–восстановленный оксид графена наблюдается минимум вязкости при концентрации наполнителя 0.15 мас. % (рис. 6б).

Эффект снижения вязкости композитов, содержащих малые добавки наполнителя, отмечали ранее в работах, описывающих реологическое поведение полипропилена, наполненного резиновой крошкой [32] и серебряным порошком [33]. Данный эффект, по мнению авторов, обусловлен структурой наполненных композитов ПП и особенностями механизма их течения. В работе [34] при исследовании реологического поведения расплавов ПП с модифицированным монтмориллонитом также было обнаружено снижение вязкости полимерной системы при определенной концентрации наполнителя. Необходимо отметить, что этот эффект усиливался с повышением скорости сдвига, что, по мнению авторов, объясняется снижением гидродинамического сопротивления системы ориентированных плоских анизодиаме-

тричных частиц, к которым относятся слоистые силикаты. Для объяснения такого аномального снижения вязкости наполненных полимерных материалов была исследована зависимость их реологического поведения от морфологии, формирующейся в процессе течения расплавов [35]. Установлено, что однородно распределенные частицы наполнителя в матрице полимера образуют регулярную структуру, обуславливающую особенности реологического поведения расплавов композитов.

На основе полученных результатов и анализа литературных данных можно предположить, что при течении расплава ПЭНП, содержащего 0.15 мас. % восстановленного оксида графена, происходит изменение структуры композиции. Частицы нанонаполнителя, вероятно, образуют протяженные ориентированные в потоке агломераты, что и приводит к снижению эффективной сдвиговой вязкости гетерофазной системы, содержащей 0.15 мас. % восстановленного оксида графена.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Под действием сдвиговых деформаций в роторном диспергаторе экологически чистым твердофазным способом в отсутствие растворителя получены композиции ПЭНП с углеродными нанонаполнителями нанопластинами графита и восстановленного оксида графена в интервале концентраций 0.05–1.0 мас. %.

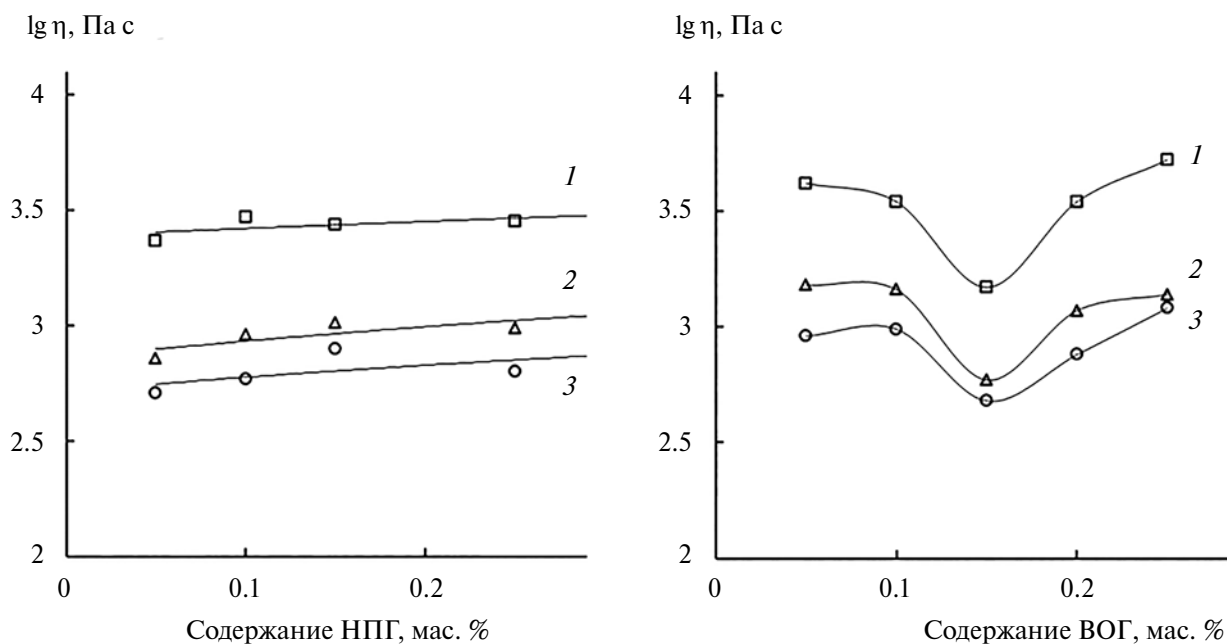


Рис. 6. Зависимость вязкости композитов ПЭНП–нанопластины графита (а) и ПЭНП–восстановленный оксид графена (б) от содержания наполнителя при напряжении сдвига  $lg \tau = 3.50$  (1), 4.22 (2) и 4.33 Па (3).

Методом СЭМ установлено, что в композициях ПЭНП–нанопластины графита присутствуют чешуйчатые агломераты нанопластин графита размером 4–5 мкм, неравномерно распределенные в полимерной матрице, тогда как в композиции ПЭНП–восстановленный оксид графена наблюдаются более мелкие и однородно распределенные частицы наполнителя с размером ~0.2 мкм, обуславливающие различия в пористости, механических характеристиках и реологическом поведении исследуемых систем.

Исследование структуры методом рентгеновской микротомографии показало, что композиции, содержащие в качестве наполнителя восстановленный оксид графена, обладают более высокими значениями пористости, по сравнению с композициями, содержащими нанопластины графита, что связано с различиями в структуре используемых нанонаполнителей.

При исследовании механических свойств композиций было показано, что введение графеновых наполнителей в термопластичный ПЭНП за счет межфазного взаимодействия приводит к увеличению модуля упругости полученных материалов. Установлено, что композиции ПЭНП–нанопластины графита обладают более высокими значениями механических параметров, чем композиции ПЭНП–восстановленный оксид графена вследствие структурных различий нанопластин графита и восстановленного оксида графена.

Исследование реологического поведения композиций ПЭНП, содержащих углеродные наполнители, показало, что их малые добавки оказывают существенное влияние на вязкость материалов, при этом важным фактором является также и природа используемого наполнителя. Установлено, что эффективная сдвиговая вязкость композиций ПЭНП–восстановленный оксид графена в исследованном диапазоне напряжений сдвига выше, чем вязкость композиций, содержащих нанопластины графита. Исключением является образец, содержащий 0.15 мас. % восстановленного оксида графена, вязкость которого несколько ниже. Эффект снижения вязкости, вероятно, определяется изменением структуры данного композита.

Полученные результаты позволяют целенаправленно регулировать свойства полученных твердофазным способом композиций на основе ПЭНП, содержащих графеновые наполнители различной природы.

Композиционные материалы на основе ПЭНП и углеродных наполнителей могут быть использованы в производстве солнечных панелей, аккумуляторов и суперконденсаторов и т.д.

Работа выполнена по Государственному заданию Федерального исследовательского центра химической физики РАН (Регистрационный номер НИОКТР 122040400099-5).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mohammad H., Stepashkin A.A., Tcherdyntsev V.V.* // *Polymer*. 2022. V. 14. P. 399.
2. *Teng C.-C., Ma C.-C. M., Lu C.-H., Yang S.-Y., Lee S.-H.* // *Carbon*. 2011. V. 49. P. 5107.
3. *Hofmann D., Thomann R., Mülhaupt R.* // *Macromol. Mater. Eng.* 2017. V. 303. P. 1700324.
4. *Olowojoba G.B., Kopsidas S., Eslava S., Gutierrez E.S., Kinloch A.J., Mattevi C., Rocha V.G., Taylor A.C.* // *J. Mater. Sci.* 2017. V. 52. № 12. P. 7323.
5. *Basha S.K.S., Kumar K.V., Sundari G.S., Rao M.C.* // *Adv. Mater. Sci. Eng.* 2018. V. 2018. P. 11.
6. *Abidin A.S.Z., Yusoh K., Jamari S.S., Abdullah A.H., Zulhelmi I.* // *Polym. Bull.* 2017. V. 75. № 8. P. 3499.
7. *Xing L., Wang Y., Wang S., Zhang Y., Mao S., Wang G., Liu J., Huang L., Li H., Belfiore L.A., Tang J.* // *Polymers*. 2018. V. 10. № 6. P. 613.
8. *Kashi S., Gupta R.K., Baum T., Kao N., Bhattacharya S.N.* // *Mater. Des.* 2016. V. 109. P. 68.
9. *Bagotia N., Choudhary V., Sharma D.K.* // *J. Mater. Sci.* 2018. V. 53. № 23. P. 16047.
10. *Zhang Q., Wang Y.C., Bailey C.G., Yuen R.K.K., Parkin J., Yang W., Valles C.* // *Compos. B. Eng.* 2018. V. 146. P. 76.
11. *Kang Y., Wang C., Shi X., Zhang G., Chen P., Wang J.* // *Appl. Surf. Sci.* 2018. V. 451. P. 315.
12. *Montes S., Etxeberria A., Mocholi V., Rekondo A., Grande H., Labidi J.* // *Express Polym. Lett.* 2018. V. 12. № 6. P. 543.
13. *Potts J.R., Dreyer D.R., Bielawski C.W., Ruoff R.S.* // *Polymers*. 2011. V. 52. P. 5.
14. *Stankovich S., Dikin D.A., Dommett G.H.B., Kohlhaas K.M., Zimney E.J., Stach E.A., Piner R.D., Nguyen S.T., Ruoff R.S.* // *Nature*. 2006. V. 442. P. 282.
15. *Ramanathan T., Abdala A., Stankovich S., Dikin D., Herrera-Alonso M., Piner R., Adamson D., Schniepp H., Chen X., Ruoff R.* // *Nat. Nanotechnol.* 2008. V. 3. P. 327.
16. *Chen G., Wu D., Weng W., Culling W.* // *Carbon*. 2003. № 41. P. 619.
17. *Arslanov V.V., Kalinina M.A., Ermakova E.V., Raitman O.A., Gorbunova Y.G., Aksyutin O.E., Ishkov A.G., Grachev V.A., Tsivadze Y.A.* // *Chem. Rev.* 2019. V. 88. P. 775.
18. *Stankovich S., Dikin D.A., Piner R.D., Kohlhaas K.A., Kleinhammes A., Jia Y., Wu Y., Nguyen S.B.T., Ruoff R.S.* // *Carbon*. 2007. V. 45. P. 1558.
19. *Роговина С.З., Гасымов М.М., Ломакин С.М., Кузнецова О.П., Шевченко В.Г., Арбузов А.А., Берлин А.А.* // *Хим. физика*. 2023. Т. 42. № 11. С. 70.
20. *Khanam P.N., AlMaadeed M.A., Ouederni M., Harkin-Jones E., Mayoral B., Hamilton A., Sun D.* // *Vacuum*. 2016. V. 130. P. 63.
21. *Wu H., Lu C., Zhang W., Zhang X.* // *Mater. Des.* 2013. V. 52. P. 621.

22. *Che J., Wu K., Lin Y., Wang K., Fu Q.* // *Compos. A* 2017. V. 99. P. 32.
23. *Yusof M.A., Rahman N.H.N., Izirwan I., Desa M.S.Z.M., Ghani N.F.A.* // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 4th International Symposium on Civil and Environmental Engineering. "Development of Graphene Oxide/Polyethylene to enhance mechanical properties through melt mixing technique". Online. 2023. V. 1205. 012033.
24. *Sahu S.K., Sreekanth P.S.R.* // *Adv. Mater. Process. Technol.* 2022. V. 8. P. 2086.
25. *López-González M., Flores A., Marra F., Ellis G., Gómez-Fatou M., Salavagione H.J.* // *Polymers.* 2020. V. 12. P. 2094.
26. *Graziano A., Jaffer S., Sain M.* // *J. Polym. Eng.* 2019. V. 39. P. 85.
27. *Hari B.S., Kumar K.V.M., Krishnamurthy K., Kumar P.S., Gobinath V.K., Sachinbala R., Rajasekar R.* // *Mater. Today.* 2020. V. 39. P. 1.
28. *Арбузов А.А., Мурадян В.Е., Тарасов Б.П., Соколов Е.А., Бабенко С.Д.* // *Журн. физ. химии.* 2016. Т. 90. № 5. С. 663.
29. *Жорина Л.А., Кузнецова О.П., Роговина С.З., Владимиров Л.В., Грачев А.В., Прут Э.В., Берлин А.А.* // *Хим. физика.* 2018. Т. 37. №. 12. С. 74.
30. *Малкин А.Я., Чалых А.Е.* Диффузия и вязкость полимеров. Методы измерения. М.: Химия, 1979.
31. *Vinogradov G.V., Malkin A.Y.* Rheology of Polymers. Moscow: Mir, 1980.
32. *Pрут E., Kuznetsov O.P., Karger-Kocsis J., Solomatin D.* // *J. Reinf. Plast. Compos.* 2012. V. 31. P. 1758.
33. *Ghosh K., Maiti S.N.* // *Polym. Plast. Technol. Eng.* 1997. V.36. P.703.
34. *Kulichikhin V.G., Tsamalashvili L.A., Plotnikova E.P., Barannikov A.A., Kerber M.L., H. Fischer* // *Polymer Science A.* 2003. V. 45. № 6. P. 564.
35. *Kulichikhin V.G., Semakov A.V., Karbushev V.V., Platé N.A., Picken S.J.* // *Polymer Science A.* 2009. V. 51. № 11–12. P. 1303.

УДК 541.182:539.2

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НАПОЛНИТЕЛЯ В ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИТАХ. РОЛЬ РАЗМЕРА ЧАСТИЦ И КОНЦЕНТРАЦИИ

© 2024 г. Е. А. Павлючкова<sup>a,b,\*</sup>, А. Я. Малкин<sup>a</sup>, Ю. В. Корнев<sup>c</sup>,  
И. Д. Симонов-Емельянов<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук  
119991 Москва, Ленинский пр., 29, Россия

<sup>b</sup>МИРЭА — Российский технологический университет  
(Институт тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова)  
119571 Москва, пр. Вернадского, 86, Россия

<sup>c</sup>Институт прикладной механики Российской академии наук  
125040 Ленинградский пр., 7, Россия

\*e-mail: [katyapogarcity@mail.ru](mailto:katyapogarcity@mail.ru)

Поступила в редакцию 06.02.2024 г.

После доработки 08.02.2024 г.

Принята в печать 22.02.2024 г.

Исследовано пространственное распределение частиц наполнителя и их агломерации в зависимости от концентрации и размера. Наполнителем во всех случаях служили частицы кремнезема. Размер частиц изменялся в широких пределах — от наночастиц до стеклошариков, в связи с чем природа частиц наполнителя была одинаковой. В качестве матрицы для сравнения были выбраны аморфный полимер (полисульфон) и кристаллизующийся полимер (полипропилен). Концентрация наполнителя по сечению образцов была определена визуально и методом электронного химического анализа. Показано, что с увеличением размера частиц возрастает тенденция к перераспределению концентрации таким образом, что пристенная область оказывается обедненной наполнителем. Данный эффект более резко выражен для высоких значений концентрации наполнителя и для кристаллизующегося полимера по сравнению с аморфным.

DOI: 10.31857/S2308112024010078 EDN: NKWOPB

### ВВЕДЕНИЕ

Понятие о наполненных полимерах несколько тривиально, поскольку чистых полимеров в технологической практике практически не бывает. Полимеры всегда содержат наполнители либо как инертные компоненты, либо как функциональные. В первом случае основная задача наполнителя состоит в снижении стоимости без потери качества материала. Во втором случае введение наполнителя позволяет решить те или иные функциональные задачи: повысить прочность или гибкость материала, создать непрерывную структуру, повышающую электропроводность или теплоустойчивость изделия, сформировать необходимую окраску или способствовать решению экологических проблем путем ускорения разложения полимера в окружающей среде и т.д.

Влияние наполнителя на свойства полимерной композиции зависит от многих факторов — не только от технологии переработки, но и от та-

ких деталей, как размер частиц наполнителя и его распределения в объеме полимерной матрицы. В настоящее время опубликованы многочисленные общие обзоры, в которых рассматривается влияние наполнителей различного типа на свойства полимерных композитов (например, [1–4]), так же как и обзоры, посвященные основным классам наполнителей, таким как стекло, металлы, кремнезем, технический углерод [5–8]. Поэтому целесообразно сконцентрировать внимание на более узких вопросах — роли размеров частиц наполнителя, что и стало целью данной работы.

Влияние размеров частиц наполнителя определяется межфазными взаимодействиями, которые зависят от полной поверхности диспергированных частиц. Как известно, с уменьшением размера частиц активная площадь поверхности возрастает, способствуя усилению межфазного взаимодействия [9]. Влияние размера частиц на свойства полимерных композитов рассматривалось во многих публикациях [10–12], только

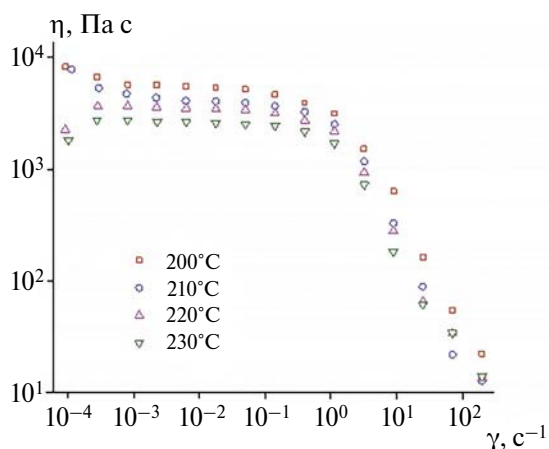
какие-либо простые зависимости в этом отношении не были установлены. Например, для частиц нанометровых размеров модуль упругости линейно зависит от размера частиц наполнителя, в то время как для частиц микронных размеров модуль упругости лишь незначительно зависит от их размера [13].

Между тем, если вопрос о роли размеров диспергированных частиц активно обсуждается в научной литературе, то гораздо меньше внимания уделяется проблеме однородности распределения частиц в объеме или в сечениях образцов, полученных в результате переработки полимеров. Однако известно, что сдвиговое течение может приводить к различным структурным трансформациям в коллоидных и полимерных материалах [14], что в свою очередь определяет свойства изделий [15].

Таким образом, обозначение сформулированных выше проблем привело к постановке задач настоящей работы. Необходимо было изучить распределение частиц наполнителя после сдвигового течения, изменяя не только их размер, но и скорость течения. Чтобы исключить возможность влияния природы частиц, исследования были проведены на частицах трех типов, изготовленных из одного и того же материала — оксида кремния, при этом размер частиц и их концентрация варьировались в приготовляемых композициях. Также рассмотрены полимерные матрицы двух типов — кристаллизующаяся и аморфная.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для синтеза композитов использовали полимерные матрицы двух типов — кристаллизую-

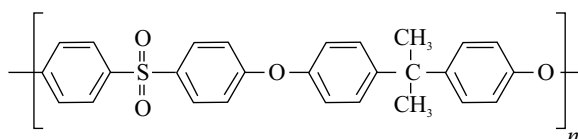


**Рис. 1.** Кривые течения образца ПП, использованного для получения композиций, при  $T = 200$  (1), 210 (2), 220 (3) и 230°C (4). Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

щийся полипропилен и аморфный полисульфон. Это позволяло выяснить, может ли образование структуры самой матрицы (кристаллизация ПП) влиять на распределение наполнителя в композиции. Образец ПП марки “01030 Бален” получали на предприятии “Уфаоргсинтез” (Россия).

Согласно данным ДТА (DSC 2920, TA Instruments, скорость сканирования 5°C/мин) температура плавления ПП составляла 170°C. Кривые течения расплава ПП показаны на рис. 1.

Аморфный полисульфон — коммерческий продукт, выпускаемый Научно-производственным объединением “Пластмассы” (Москва) под маркой “ПСф-150”. Химическую структуру этого полимера контролировали методом ИК-фурье-спектроскопии “Bruker” (Германия). Спектральные данные подтвердили приведенную ниже молекулярную структуру полисульфона:



Молекулярные характеристики использованного образца получали методом жидкостной хроматографии высокого давления на приборе “LabAlliance Series 1500 Constant Flow Pump” (“Scientific Systems”, США) с детектором “Refractive Index Detector 2142” (“LKB”, Швеция):  $M_n = 32 \times 10^3$ ,  $M_w = 56 \times 10^3$ ,  $D = 1.73$ . Температуру стеклования  $T_g$  аморфного полисульфона устанавливали методом ДСК на приборе “DMA/SDTA861e” (“Metler Toledo”, Швейцария) при скорости повышения температуры 3°C/мин; значение  $T_g = 190$ –192°C.

Реологические характеристики образца полисульфона в области температуры выше  $T_g$  определяли на капиллярном вискозиметре “Rosand” (“Malvern”, Великобритания) и ротационном реометре “Rheometer RheoStress-600” (“Thermo Haake”, Германия). Кривые течения аморфного полисульфона показаны на рис. 2.

Дисперсным наполнителем служил оксид кремния (кремнезем), который готовили в трех формах с различным размером элементарных частиц. Все эти три варианта представлены в табл. 1.

Образцы аэросила “А-200”, изготовленные компанией “Evonik Co” (Россия), представляли собой гидрофобный вспененный кремнезем с удельной поверхностью ~200 м²/г, который использовали в качестве загустителя. На рис. 3 продемонстрировано электронно-микроскопическое изображение образца А-200, а на рис. 4 показано распределение по размерам частиц. Видно, что



Таблица 1. Материалы, используемые в качестве наполнителей

Наполнитель	Средний размер индивидуальных частиц, мкм	Объемная (насыпная) плотность $\rho_{\text{bulk}}$ , г/см <sup>3</sup>	Собственная плотность $P_{\text{real}}$ , г/см <sup>3</sup>	Предельная объемная доля при заполнении объема $\phi_m$
Аэросил-200 (А-200)	12 нм	0.12	2.33	0.11
Кварцевая мука (Q-10)	20	0.90	2.65	0.53
Стеклошарики (MSP-50 G-50)	50	1.36	2.45	0.61

распределение имеет максимум при 250 нм, что примерно в 20 раз больше размера индивидуальных частиц. Это является естественным следствием агломерации первичных частиц. При этом само распределение довольно узкое.

Кварцевую муку марки “Q-10” получали на фирме “Batolit Co” (Россия). Муку готовили помолом химически чистого кварца до среднего размера частиц 20 мкм. Индивидуальные частицы имели округлую форму с неровными краями.

Стеклошарики “G-50” правильной сферы с гладкой поверхностью производили на фирме “Batolit Co” (Россия). Микроскопические изображения образцов представлены на рис. 5.

В табл. 1 приведены значения концентрации, отвечающие максимально плотной упаковке частиц различных размеров в объеме матрицы при статическом заполнении. Дело в том, что проблема максимально плотного статистического заполнения объема имеет общее значение (как физическое, так и технологическое) для самых различных приложений. Определение этой предельной концентрации  $\phi_m$  было

предметом многочисленных экспериментальных исследований, равно как и компьютерного моделирования. Так, прямые измерения при свободном заполнении объема относительно крупными частицами дали следующие результаты. Как оказалось,  $\phi_m = 0.488 \pm 0.004$  (частицы крахмала с размером диаметра 14 мкм) и  $0.576 \pm 0.004$  (стеклянные микросферы с размером диаметра 88–125 мкм) [16]. Компьютерное моделирование дало значение  $\phi_m \sim 0.5–0.6$ , причем для бидисперсных смесей эта величина зависит от соотношения между содержанием более крупных и более мелких частиц, так что значение  $\phi_m$  варьируется в пределах от 0.64 до 0.78 [17].

Алгоритм для расчета максимальной концентрации наполнителя при использовании смесей частиц разных размеров, а также классификация различных типов дисперсных частиц была уже предложена в работах [18, 19]. Таким образом, максимально возможные значения концентрации при статистической плотной упаковке определяются размером частиц, как это представлено в табл. 2 [19].

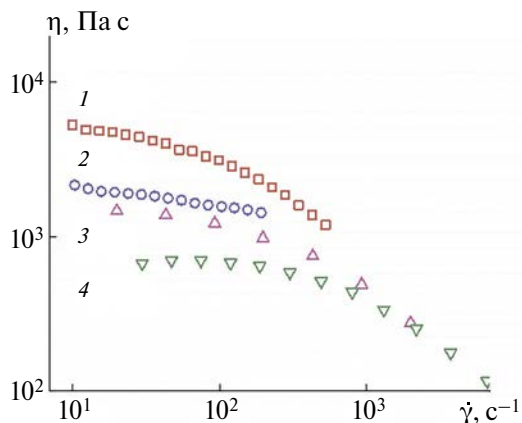


Рис. 2. Кривые течения образца аморфного полисульфона, использованного для получения композиций, при  $T = 280$  (1), 310 (2), 315 (3) и 330°С (4).

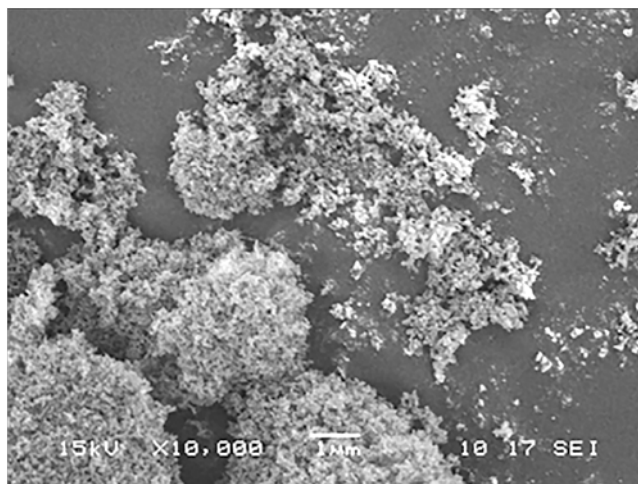


Рис. 3. Электронная микрофотография образца А-200.

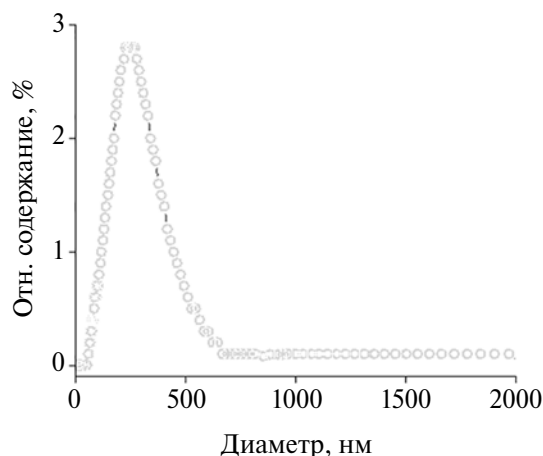


Рис. 4. Дифференциальная кривая распределения по размерам образца А-200.

Эти предельные значения концентрации, зависящие от размера частиц, являются базисом для выбора значений концентрации, используемых в настоящей работе. Равно как и для выбора значений концентрации при составлении композиций при их практическом применении. Характеристические значения  $\phi_m$ , приведенные в табл. 1, соответствуют классификации, рассмотренной в табл. 2.

Лабораторные смеси, применяемые в настоящей работе, готовили на двухроторном смесителе “PolyDrive” производства “ThermoHaake” (Германия), оборудованном электрически нагреваемой камерой объемом 100 см<sup>3</sup>. Смешение стеклонаполнителя с расплавом полимера для получения наполненных композиций продолжали 15 мин при температуре 280 °С для аморфного полисульфона и при 230 °С для ПП. Частота вращения роторов составляла 120 об./мин, что обеспечивало высокую скорость деформации в объеме образцов. При реализованной скорости вращения роторов создавали режим упругой турбулентности, что необходимо для достижения требуемой однородности смешения. Этот режим

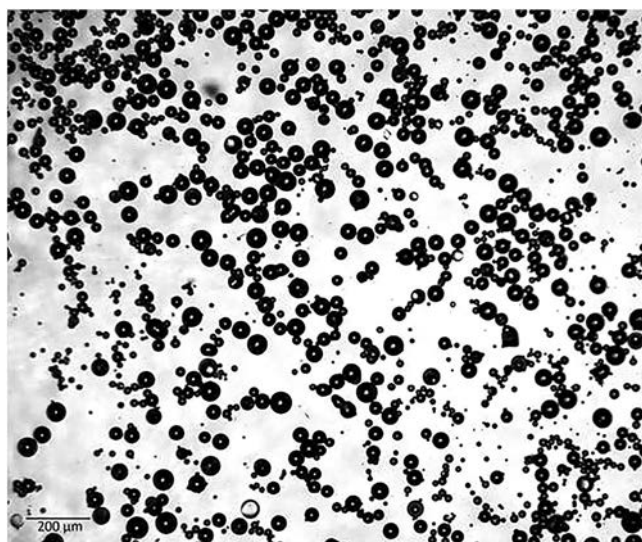


Рис. 5. Микрофотографии образцов стеклошариков G-50.

смешения (длительность и температура) выбрали на основании предварительных испытаний при различных значениях скорости деформации, так что выбранный режим приготовления образцов обеспечивал наиболее равномерное смешение по объему образца.

Образцы готовили с различной концентрацией наполнителя, сопоставляя их с максимальными значениями, приведенными в табл. 1.

Образцы для дальнейших исследований получали в форме стандартных лопаток по ASTM на лабораторной литейной машине “Xplore IM 12” (Нидерланды) при следующих условиях: температура расплава 280 °С для полисульфона и 230 °С для ПП, давление литья и давление при выдержке в форме составляло 8 Бар, время выдержки под давлением 30 с. Эти режимы литья близки к реально создаваемым технологическим условиям при переработке использованных полимеров. Образцы для измерений распределения концентрации представляли собой три сечения лопатки на разных расстояниях от центра (рис. 6).

Таблица 2. Максимально возможные значения концентрации при статистической упаковке частиц разных размеров

Классификация	Размер частиц, мкм	Максимально возможная концентрация $\phi_m$
Наночастицы	1.0–100 нм	0.05–0.20
Ультрадисперсные частицы	0.1–1.0	0.20–0.255
Микрочастицы	1.0–10	0.255–0.45
Макрочастицы	10–40	0.45–0.62
Большие частицы	>50	0.62–0.64

Информацию относительно структуры композитов, т.е. распределение наполнителя по сечению образцов, получали методом сканирующей электронной микроскопии на электронном микроскопе “JSM-300” (“Jeol”, Япония) с использованием твердотельного рентгеновского микроскопа (“Eutex”, Германия). При этом задействовали две методики: во-первых, метод контрастирования поверхности с применением напыления углерода в вакуумной термической камере при остаточном давлении 10–5 мм Нг и толщине контрастирующего слоя ~20 нм; во-вторых, метод аналитического химического определения данных электронной микроскопии на Оже-электронах [20, 21] на атомах кремния, которые присутствуют во всех исследуемых образцах. Также полезную информацию дает прямое визуальное рассмотрение срезов образцов.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### Аэросил как наполнитель

Типичные изображения срезов частиц аэросила для двух значений концентрации показаны на рис. 7, где яркие пятна соответствуют частицам аэросила, а темный фон — матрице.

Структура композитов в матрице полисульфона представлена для двух степеней наполнения:  $\phi = 0.09$  (близкой к  $\phi_m$ ) и 0.006.

Распределение частиц по размерам продемонстрировано на рис. 8.



Рис. 6. Образцы для структурных исследований.

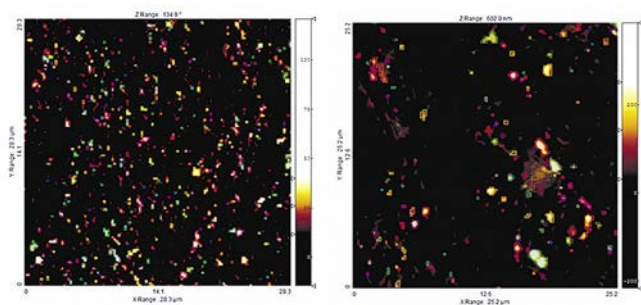


Рис. 7. Типичные изображения распределений наполнителя (аэросил) в матрице полисульфона для дисперсий концентрированной (а) и разбавленной (б). Размеры областей сканирования 28.8 × 28.8 мкм (а) и 25.2 × 25.2 мкм (б).

Видно, что для разбавленных дисперсий характер очень острый пик в нанометровой области, в то время как в концентрированных растворах отчетливо выражена агломерация частиц с образованием областей разных размеров. Такая картина типична как для центральной области потока, так и для промежуточной и краевой области. Это означает, что в разбавленных дисперсиях происходит четко выраженная сепарация частиц, тогда как в концентрированных дисперсиях сохраняется однородность структуры, созданная в исходном материале. Об отличиях между этими структурами свидетельствует разница в распределении частиц — наличие одного или нескольких пиков распределения частиц по размерам.

Однако количественный анализ показал, что по средней концентрации имеет место довольно однородное распределение частиц наполнителя по объему вне зависимости от общей концентрации наполнителя.

Данный результат не зависит от природы матрицы, поскольку он характерен и для кристаллизующегося ПП. Как оказалось, кристаллизация не приводит к изменению наблюдаемой картины распределения наночастиц в объеме материала.

Следующие оценочные результаты подтверждают экспериментально наблюдаемые значения распределения частиц по размерам и расстояния между отдельными агломератами.

Количество частиц  $N$  в объеме  $V$  выражается как

$$\frac{N}{V} = \frac{\phi}{\frac{4}{3}\pi d^3}$$

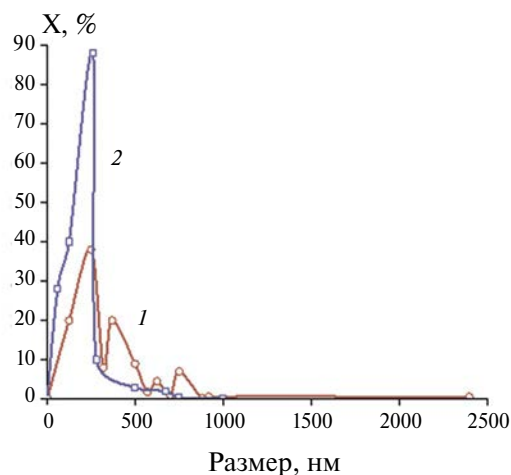


Рис. 8. Распределение частиц аэросила по размерам в матрице полисульфона для двух степеней наполнения:  $\phi = 0.09$  (1), 0.006 (2).



Тогда среднее расстояние между частицами  $\Delta$  в этом объеме

$$\Delta = \left( \frac{V}{N} \right)^{1/3}$$

Получаем следующее выражение:

$$\Delta \sim \frac{d}{\phi^{1/3}}$$

Значения  $\Delta$ , полученные при такой достаточно грубой оценке, тем не менее согласуются с величинами, вычисленными по изображениям распределения частиц в объеме.

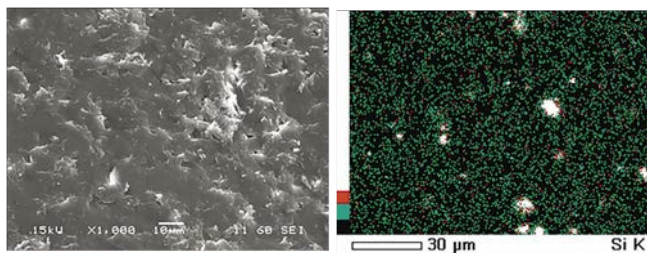
#### *Кварцевая мука как наполнитель*

На рис. 9 показана типичная картина, которая прослеживается с помощью методов сканирующей микроскопии и химического анализа для дисперсий кварцевой муки в полисульфоне.

Визуальное наблюдение микрофотографий, полученных с помощью электронного микроскопа (рис. 9а), не позволяет оценить ситуацию количественно, в то время как метод химического анализа по концентрации кремния (рис. 9б) дает несравненно более выраженную картину. Так, в отличие от наночастиц, в случае более крупных микрочастиц прослеживается достаточно равномерное распределение диспергированных частиц в объеме. По сути, это идентично тому, что можно видеть для более высоких значений концентрации наполнителя (рис. 10).

Очевидное отличие разбавленных дисперсий частиц кварцевой муки от частиц аэросила состоит в том, что предельная концентрация, необходимая для заполнения объема для более крупных частиц выше, препятствует образованию пустот, присутствующих в разбавленных дисперсиях аэросила.

При переходе к более крупным частицам также обнаруживается эффект постепенного изменения



**Рис. 9.** Распределение частиц кварцевой муки в низкоконтрированной дисперсии ( $\phi = 0.027$ ) в матрице полисульфона, наблюдаемое методами электронной микроскопии (а) и химического анализа по атому кремния (б).

средней концентрации по сечению (можно проследить по изменению цвета, характеризующего различные значения концентрации, на скане рис. 10), означающий, что течение по капилляру способствует перераспределению частиц в сторону снижения концентрации по направлению от центра потока к краям образца, т.е. пристенная область состоит из дисперсии с меньшей концентрацией и соответственно с меньшей вязкостью композиции. Все это приводит к некоторому снижению эффективного гидродинамического сопротивления и тем самым к снижению эффективной вязкости дисперсии.

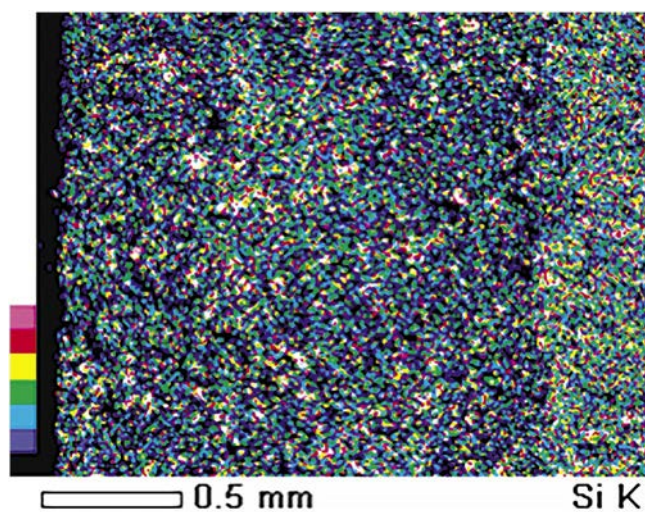
Однако при использовании в качестве матрицы кристаллизующегося ПП, такая неоднородность распределения по сечению отсутствует (рис. 11).

Более того, детальное исследование структуры композитов в различных точках по сечению образца демонстрирует, что вблизи края потока (у стенок) наблюдается склонность к образованию агломератов частиц кварцевой муки, что видно не только по топографическим изображениям, но еще более отчетливо по результатам химического анализа (рис. 12).

#### *Стеклошарики как наполнитель*

Результат поведения дисперсий с наиболее крупными частицами — стеклянными сферами — приводит к выводам, вытекающим из анализа изображений в электронном сканирующем микроскопе.

Для разбавленных дисперсий в матрице полисульфона наблюдается картина случайного распределения наполнителя по объему, в целом одинаковая по сечению образца (рис. 13).

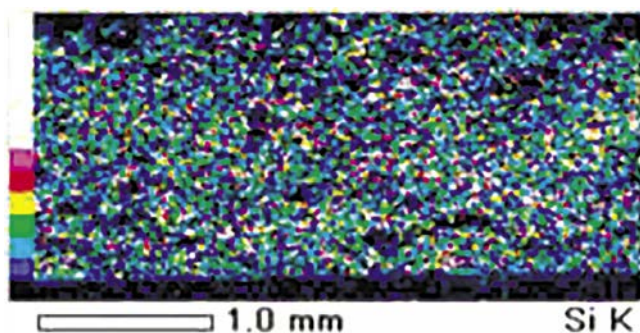


**Рис. 10.** Распределение концентрации частиц кварцевой муки в дисперсиях с высокой концентрацией ( $\phi = 0.42$ ), полученных методом химического анализа.

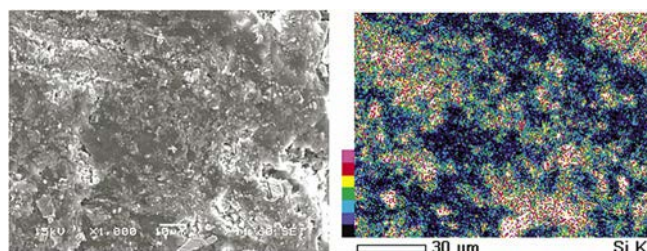
То же самое можно увидеть при замене аморфной матрицы на матрицу кристаллизующегося полимера — ПП (здесь не приводятся). Такие распределения в целом не представляют особого интереса. Хотя в случае концентрированных дисперсий это становится более интересным.

Экспериментальные данные, относящиеся к дисперсиям в аморфном полисульфоне и кристаллизующемся ПП, представлены на рис. 14 и 15 соответственно.

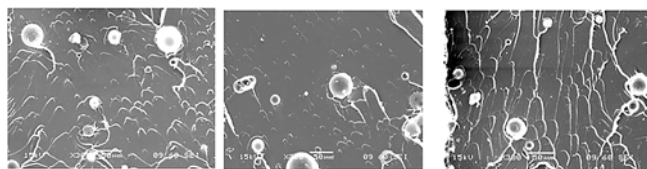
Во всех случаях видно весьма плотное заполнение объема, но какой-либо статистический анализ в обоих случаях не имеет физического смысла,



**Рис. 11.** Распределение концентрации частиц кварцевой муки в дисперсиях высокой концентрации ( $\phi = 0.42$ ) в матрице кристаллизующегося ПП по результатам химического анализа.



**Рис. 12.** Электронно-микроскопическое изображение края сечения образца высококонцентрированной дисперсии кварцевой муки ( $\phi = 0.42$ ) в матрице полисульфона: а — топография, б — химический анализ.

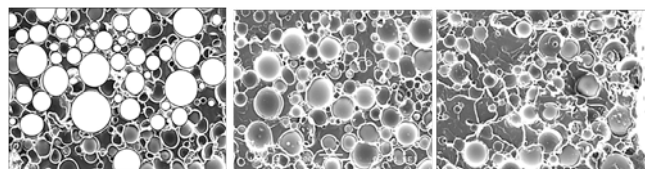


**Рис. 13.** Электронно-микроскопическая картина, иллюстрирующая положение стеклошариков в разбавленной дисперсии ( $\phi = 0.031$ ) в матрице полисульфона: а — центральная часть образца, б — середина между центром и краем образца, в — у края образца.

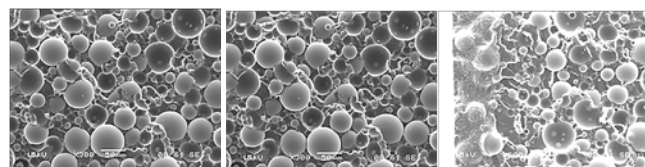
поскольку размер диспергированных частиц сопоставим с размером образца. Однако основным эффектом является то, что пристенная область обеднена присутствием наполнителя, что приводит к снижению эффективной вязкости и слоистому характеру течения. Этот эффект гораздо сильнее выражен для дисперсий на основе кристаллизующегося ПП по сравнению с аморфным полисульфоном. В общем, возможны различные причины образования агломератов или неравномерного распределения частиц наполнителя по объему конечных изделий (в частности полярность макромолекул, их гидрофобность, специфическое взаимодействие с наполнителем и т.д.). Только в данном случае, который в настоящей работе рассматривается как модельный, роль именно кристалличности представляется довольно очевидной.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что в процессе течения при формовании изделий из полимерных композитов, наполненных твердыми частицами оксида кремния, происходит перераспределение концентрации с образованием агломератов. Данный эффект более резко выражен в пристенной области течения, где имеет место обеднение полимера наполнителем, что приводит к кажущемуся снижению эффективной вязкости и аналогу скольжения. Такое явление практически отсутствует для наноразмерных частиц наполнителя, но более выражено



**Рис. 14.** Электронно-микроскопические изображения дисперсий стеклянных шариков с  $\phi = 0.48$  в матрице полисульфона: а — центральная часть потока, б — промежуточная область, в — пристенная часть потока.



**Рис. 15.** Электронно-микроскопические изображения дисперсий стеклянных шариков с  $\phi = 0.48$  в матрице ПП: а — центральная часть потока, б — промежуточная область, в — пристенная часть потока.

для относительно крупных частиц. Кристаллизация матрицы (при замене аморфного полимера на кристаллизующийся полимер) способствует усилению агломерации и неоднородности распределения частиц наполнителя в конечном изделии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-69-10001).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Stapointzi O.A., Charalambides M., Williams J.G.* // Experimental Analysis of Nano and Engineering Materials and Structures / Ed. by E.E. Gdoutos. Dordrecht: Springer, 2007.
2. *Fu Sh.-Y., Feng X.-Q., Lauke B., Mai Y.-W.* // Composites. B. 2008. V. 39. P. 933.
3. Particular-Filled Polymer Compositions / Ed. by R.N. Rethon. Shawbury: Rapra Technol Ltd, 2003, ISBN 1-85957-382-7.
4. *Xavier S.F.* // Thermoplastic Polymer Composites: Processing, Properties, Performance, Applications and Recyclability. Wiley online Library, 2022.
5. *Setyanto D., Jayatun Y.A., Basoeki P.D., De Fretes A.* // Polymers. 2022. V. 14. № 12. P. 2464.
6. *Zaaba N.F., Ismail H., Saeed A.M.* // Polymer-Plastics Technology and Materials. 2021. V. 60. P. 1033.
7. *Li H., Cheng B., Gao W., Feng Ch., Huang Ch., Liu Y., Lu P., Zhao H.* // Nanotechnol. Rev. 2022. V. 11. P. 2928.
8. *Wilke L.A., Robertson Ch.G., Karsten D.A., Hardman N.J.* // Carbon. 2023. P. 520.
9. *Lewis T., Nielsen L.* // J. Appl. Polym. Sci. 1970. V. 14. P. 1449.
10. *Fu Sh.-Y., Feng X.-Q., Lauke B., Mai Y.-W.* // Composites. B. 2008. V. 39. P. 933.
11. *Majidian M., Grimaldi C., Forró L., Magrez A.* // Scientific Reports. 2017. V. 7. Art. № 12553.
12. *Johitz M., Steeb H., Jänicke R., Diebe S.* // GAMM-Mitteilungen. 2008. V. 31. № 2. P. 210.
13. *Nakamura Y., Yamaguchi M., Okubo M., Matsumoto T.* // J. Appl. Polym. Sci. 1992. V. 44. P. 151.
14. *Malkin A.Ya.* // Adv. Colloid Interface Sci. 2021. V. 290. P. 102381.
15. *Kulichikhin V.G., Malkin A.Ya.* // Polymers. 2022. V. 14. P. 1262.
16. *Brown E., Jaeger H.M.* // Phys. Rev. Lett. 2009. V. 103. P. 086001.
17. *Kansal A.R., Torquato S., Stillinger F.H.* // J. Chem. Phys. 2002. V. 117. P. 8212.
18. *Simonov-Yemel'yanov I.D., Pykhtin A.A.* // Inorg. Mater. Appl. Res. 2021. V. 12. P. 151.
19. *Malkin A.Ya., Kulichikhin V.G., Khashirova S.Yu., Simonov-Emelyanov I.D., Mityukov A.V.* // Polymers. 2024. V. 16. P. 442.
20. *Malkin A.Ya., Gumennyi I.V., Aliev A.D., Chalykh A.E., Kulichikhin V.G.* // J. Molec. Liq. 2021. V. 344. P. 117919.
21. *Malkin A.Ya., Gumennyi I.V.* // Phys. Fluids. 2022. V. 34. P. 123105.



УДК 541.64:543.422.27

## ПОВЕДЕНИЕ СПИНОВОГО ЗОНДА ТЕМПО В КОМПОЗИТАХ НА ОСНОВЕ ПОЛИПРОПИЛЕНА С РАЗНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ОДНОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК

© 2024 г. Т. С. Янкова<sup>а, \*</sup>, Н. А. Чумакова<sup>а, б</sup>, П. М. Недорезова<sup>б</sup>, О. М. Палазник<sup>б</sup>, А. И. Кокорин<sup>б, с, д</sup>

<sup>а</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. Химический факультет  
119991 Москва, Ленинские горы, Россия

<sup>б</sup>Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова Российской академии наук  
11999 Москва, ул. Косыгина, 4, Россия

<sup>с</sup>Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова  
115054 Москва, Стремянный пер., 36, Россия

<sup>д</sup>Научно-образовательный центр инфохимии Университета ИТМО  
191002 Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9, Россия

\*e-mail: Yankovats@my.msu.ru

Поступила в редакцию 18.03.2024 г.

После доработки 23.04.2024 г.

Принята в печать 07.05.2024 г.

Изучена подвижность спинового зонда 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксида в нанокompозитах на основе изотактического полипропилена с одностенными углеродными нанотрубками, а также молекулярная подвижность полимера вблизи них. Содержание нанотрубок в композите варьировалось от 1.2 до 38.5 мас. %. Образцы полипропилена без добавки одностенных углеродных нанотрубок и со степенями допирования до 8% продемонстрировали одинаковую вращательную подвижность зондов в исследованном интервале температуры от 105 до 405 К, что свидетельствует о локализации зондов в основной массе полимерных цепей, непосредственно не контактирующих с носителем. Для образца с максимальной степенью допирования 38.5% выявлена агломерация зондов и снижение их подвижности, что, видимо, связано с большим объемным вкладом межфазных областей полимеров вблизи нанотрубок, т.е. подвижность полимера вблизи нанотрубок значительно снижена.

DOI: 10.31857/S2308112024010081 EDN: NKTOQY

### ВВЕДЕНИЕ

Введение в полимерную матрицу различных наполнителей считается одним из наиболее эффективных способов модификации свойств материала. Большое внимание здесь уделяется созданию полимерных нанокompозитов с применением функциональных нанонаполнителей и полиолефинов [1–3], что позволяет повысить термостойкость материала, усилить его электрофизические, механические, барьерные характеристики и т.д. Особый интерес представляют наночастицы с анизотропной структурой, например углеродные нанотрубки. Такие частицы обладают высокой электро- и теплопроводностью, механической прочностью, способны существенно улучшить свойства композиционных материалов на их основе [4–6].

Одним из наиболее эффективных путей создания новых полимерных композиций является их получение полимеризацией *in situ* с применением эффективных катализаторов полимеризации олефинов [7–9]. Метод получения композиций путем закрепления катализатора на поверхности наполнителя способствует невалентным взаимодействиям между растущими молекулами полимера и наполнителем. Это может влиять на структуру межфазного слоя полимера, признаки которого отличаются от свойств полимера в объеме, что должно отражаться и на характеристиках синтезированных композиций [10]. Особенно заметным может быть влияние межфазного слоя для материалов, отличающихся высоким содержанием наполнителя.

В работе [6] предложен способ получения композиций полипропилена с одностенными углеродными нанотрубками (ОУНТ) полимеризацией

*in situ* и изучены свойства синтезируемых материалов. Показано, что при повышении концентрации ОУНТ в композитах наблюдается некоторое снижение эффективности наполнителя как ингибитора термоокисления. Было сделано предположение, что возможными причинами является как увеличение агломерации частиц наполнителя, так и снижение молекулярной подвижности полипропилена (ПП) вблизи поверхности ОУНТ. Вероятно, у поверхности нанотрубок в таких композитах образуется межфазный слой из полимерных цепей, затрудняющий доступ радикалов к наполнителю [11]. Ранее такое предположение было выдвинуто в работе [12] при исследовании термоокисления ПП в композициях с графеновыми нанопластинами.

Для изучения природы слоя полимера на поверхности носителя необходимо исследовать свойства материала на молекулярном уровне. Одним из методов может быть спектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) в варианте методики спинового зонда. Метод спинового зонда для изучения полимеров и материалов на их основе широко используется в наше время [13–22]. Этот высокочувствительный метод позволяет характеризовать локальные свойства диамагнитного материала вблизи спинового зонда, его полярность, микровязкость и др.

В настоящей работе приведены результаты изучения методом спинового зонда нанокompозитов на основе изотактического полипропилена с одностенными углеродными нанотрубками, полученными полимеризацией *in situ*, в широком интервале их концентрации.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовали ОУНТ “Tuball™” фирмы “OCSiAl” (Люксембург) с величиной удельной поверхности 395 м<sup>2</sup>/г, диаметром  $1.4 \pm 0.1$  нм, длиной более 5 мкм и чистотой более 90 мас. %.

Синтез композиционных материалов проводили в массе пропилен по методу, описанному в работах [23, 24]. Применяли металлоценовый катализатор *rac*-Me<sub>2</sub>Si(2-Me-4-PhInd)<sub>2</sub>ZrCl<sub>2</sub>, обладающий высокой изоспецифичностью и активностью в процессах полимеризации пропилена и обеспечивающий получение изотактического ПП с высокой молекулярной массой [25]. Полимеризацию пропилена осуществляли при температуре 60°С и давлении около 2.5 МПа в стальном реакторе объемом 200 см<sup>3</sup>, снабженным высокоскоростной мешалкой (3000 об./мин). Суспензию порошка ОУНТ в толуоле обрабатывали ультразвуком в течение 10 мин, добавляли нужное количество метилалюмоксана и продолжали ультразвуковое воздействие еще 10 мин. Далее

суспензию вводили в реактор, заполненный жидким пропиленом, и подавали катализатор. После окончания полимеризации порошок композиционного материала выгружали из реактора, отмывали от остатков компонентов каталитической системы и сушили до постоянной массы в вакууме при 60°С.

ИК-спектры образцов изотактического ПП и композиций в виде пленок толщиной 100 мкм, полученных горячим прессованием, регистрировали на спектрометре “Tensor 27 FT-IR” фирмы “Bruker”. Стереорегулярность изотактического ПП (макротактичность) определяли по соотношению значений оптической плотности полос поглощения при 973 и 998 см<sup>-1</sup>, характеризующему долю пропиленовых звеньев в изотактических последовательностях длиной более 11–13 мономерных единиц [26].

Теплофизические характеристики (температура и энтальпии плавления и кристаллизации) нанокompозитов устанавливали по методу дифференциальной сканирующей калориметрии. ДСК-термограммы снимали на калориметре ДСК-204 F1 фирмы “Netzsch” (Германия) в диапазоне температуры 30–190°С при скорости нагревания–охлаждения 10°С/мин в атмосфере аргона. Степень кристалличности *K* (%) находили по формуле  $K = (\Delta H / \Delta H_0) \times 100$ . Энтальпию плавления ПП со степенью кристалличности 100% принимали равной  $\Delta H_0 = 165 \pm 18$  Дж/г [27].

Рентгеновскую дифракцию образцов полимеров и композитов исследовали на дифрактометре “Дрон-2” (CuK<sub>α</sub>-излучение). Степень кристалличности определяли как соотношение интегральной интенсивности кристаллической составляющей и общей интенсивности спектра.

Характеристики полученных композитов ПП–ОУНТ представлены в табл. 1.

Из данных табл. 1 видно, что все образцы обладают высокой температурой плавления  $T_{пл}$  полипропиленовой матрицы (158–162°С) и высоким значением макротактичности (88–90%), что указывает на достаточно высокую стереорегулярность ПП в композитах. Степень кристалличности полипропилена по ДСК, и определенная методом РСА, составила 54–58% и 63–64%, соответственно. Увеличение концентрации наполнителя способствует уменьшению  $T_{пл}$  и увеличению температуры кристалличности  $T_{кр}$  полимерной матрицы. Это свидетельствует о том, что наполнитель оказывает нуклеирующее действие на полимер, приводя к уменьшению размера и степени совершенства кристаллитов ПП.

В работе использовали спиновый зонд 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил (ТЕМПО) производства “Sigma Aldrich”. Этот небольшой компактный

радикал имеет форму, близкую к сферической, и, как ожидается, легко проникнет и будет локализован во всех областях полимерной матрицы, в том числе в слоях, прилегающих к нанотрубкам. Зонды вводили в композитный материал диффузией из газовой фазы. Навеску материала выдерживали в закрытом сосуде с избытком ТЕМПО в течение нескольких суток. Некоторые образцы затем оставляли на воздухе для уменьшения количества зонда, которое, как и равномерность распределения зондов в материале, контролировали по спектрам ЭПР. Спектры ЭПР при 295 К периодически регистрировали для каждого образца в течение 1-3-х недель до постоянства формы спектра и ширины линий.

Спектры регистрировали в кварцевых ампулах с внешним диаметром 5 мм на ЭПР-спектрометре X-диапазона “EMXplus-10/12 PX” фирмы “Bruker” (Германия), оснащенный температурным контроллером продувного типа. Мощность поля СВЧ составляла 0.5–1.0 мВт, амплитуда модуляции магнитного поля 0.05–0.10 мТл. Массу образцов для ЭПР-измерений уменьшали с ростом содержания нанотроек в композите (табл. 2) ввиду снижения добротности резонатора из-за большого количества проводящего компонента в таких образцах.

Число спинов  $N$  на образец в этом ряду несколько увеличивали для достижения оптимального соотношения сигнал–шум в спектре ЭПР.

Моделирование спектров ЭПР, зарегистрированных при 105 К, осуществляли с помощью

пакета программ, разработанного проф. А.Х. Воробьевым [28]. Подробное описание программы приведено в работе [29].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 показаны спектры изучаемых образцов, зарегистрированные при 105 К, в отсутствие подвижности молекул зондов.

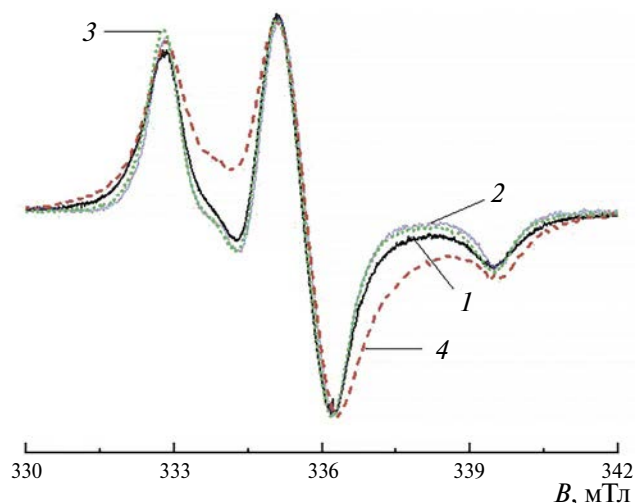


Рис. 1. ЭПР-спектры образцов, содержащих ТЕМПО, зарегистрированные при 105 К и нормированные на центральную амплитуду: 1 – чистый ПП, 2 – ПП–ОУНТ 1.2%, 3 – ПП–ОУНТ 8.0%, 4 – ПП–ОУНТ 38.5%. Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

Таблица 1. Свойства исследованных образцов ПП и композитов с ОУНТ

Содержание ОУНТ, мас. %	Макротаكتичность, % (D <sub>998</sub> /D <sub>973</sub> )	T <sub>пл</sub> , °С	T <sub>кр</sub> , °С	Степень кристалличности, %	
				ДСК	РСА
–	90	160.9	124.0	56	58
1.2	–	162.3	131.4	58	64
2.6	88	162.5	133.1	55	63
8.0	89	160.0	134.2	54	63
38.5	–	158.4	135.1	58	–

Таблица 2. Содержание зонда ТЕМПО в образцах

Образец	Содержание ОУНТ, мас. %	Масса образца, мг	N* × 10 <sup>-15</sup> , спин/образец	N × 10 <sup>-15</sup> , спин/мг
ПП	–	13.0	2.6	0.2
ПП–ОУНТ	1.2	8.3	4.5	0.5
	2.6	7.6	3.8	0.5
	8.0	2.6	5.0	1.9
	38.5	1.0	2.9	2.9

\*Точность измерения не ниже ±10%.

Во всех образцах композитов до внесения ТЕМПО сигнала ЭПР нет. Спектры образцов с добавкой ОУНТ в количестве 1.2, 2.6 и 8.0% практически совпадают в пределах погрешности измерения, спектр 1.2% на рисунке не приводится. Линии спектра индивидуального ПП имеют на 0.10–0.15 мТл большую ширину по сравнению с образцами, содержащими ОУНТ, однако они представляют собой индивидуальный спектр, что подтверждает результат моделирования спектра (рис. 2а).

Наиболее сильно уширен спектр образца композита с 38.5% ОУНТ. Моделирование показало, что такой характер сигнала нельзя объяснить только уширением линий вследствие магнитного диполь-дипольного взаимодействия спинов зондов в образце. Для удовлетворительного согласия расчетного спектра с экспериментальным необходимо учесть вклад синглетного сигнала (рис. 2б).

Магнитнорезонансные параметры расчетных спектров ЭПР-компоненты анизотропного  $g$ -фактора и анизотропной константы сверхтонкого взаимодействия неспаренного электрона с ядром азота ТЕМПО (параметр  $A$ ) приведены в табл. 3.

Присутствие в спектре образца композита с 38.5% ОУНТ синглетного сигнала указывает на наличие в образце областей с высокой локальной концентрацией ТЕМПО. Ширина синглета (peak-to-peak,  $\Delta B_{pp}$ ) анизотропна, и ее среднее

значение составляет 2.1 мТл, что значительно превышает ширину обменно-суженной линии спектра монокристалла ТЕМПО [14, 30]. Таким образом, в образцах присутствуют агломераты ТЕМПО некристаллической природы. Количественная оценка концентрации локализованных спиновых зондов в данном случае не представляется возможной.

Спектры ЭПР всех приготовленных образцов были зарегистрированы в температурном интервале от 105 до 425 К с шагом 10–15 К. На рис. 3 в качестве иллюстрации приведены спектры трех образцов при шести значениях температуры.

Отметим, что спектры ЭПР для образцов ПП с добавкой ОУНТ в количестве 1.2, 2.6 и 8.0% с добавлением спинового зонда совпадают по форме линии в пределах погрешности регистрации во всем исследованном температурном диапазоне, поэтому на рис. 3 показаны только спектры для образца ПП–ОУНТ 8.0%. С помощью анализа формы линии спектров было установлено, что в образце ПП–ОУНТ 38.5% при повышении температуры вклад синглетной линии снижается. Поскольку температура стеклования исходного полипропилена составляет  $T_g = 263$  К, можно заключить, что исчезновение синглета в спектре композита ПП–ОУНТ 38.5% происходит, когда полимерная матрица еще очень малоподвижна, но подвижность молекул ТЕМПО в ней уже мо-

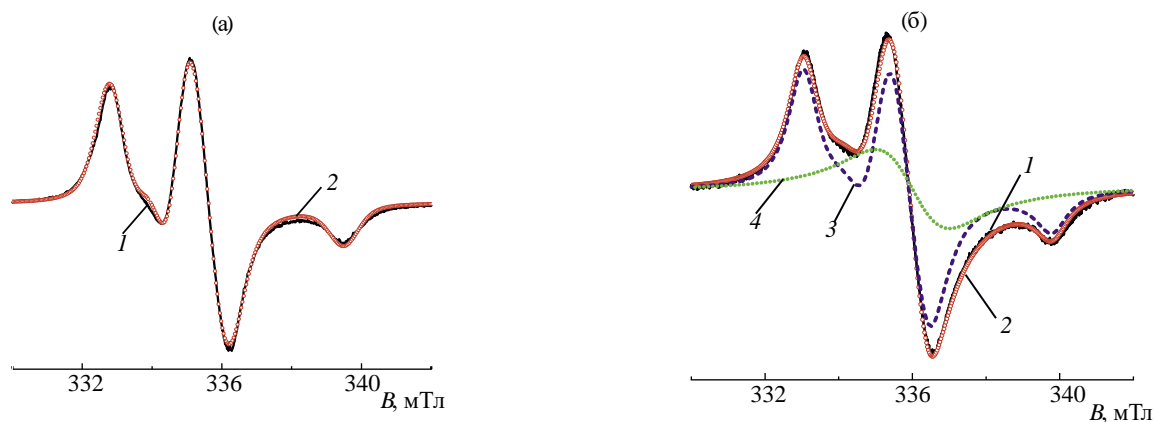
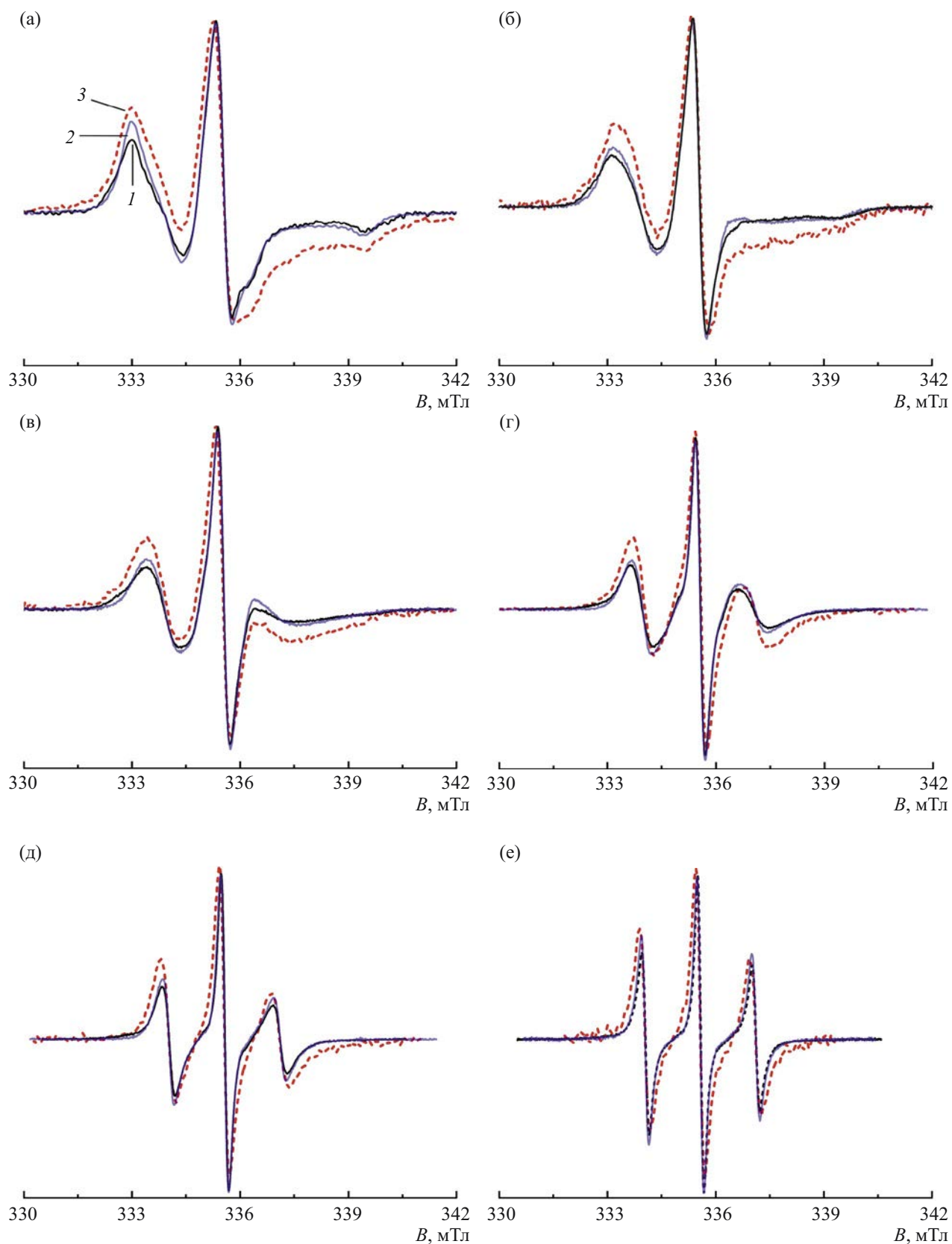


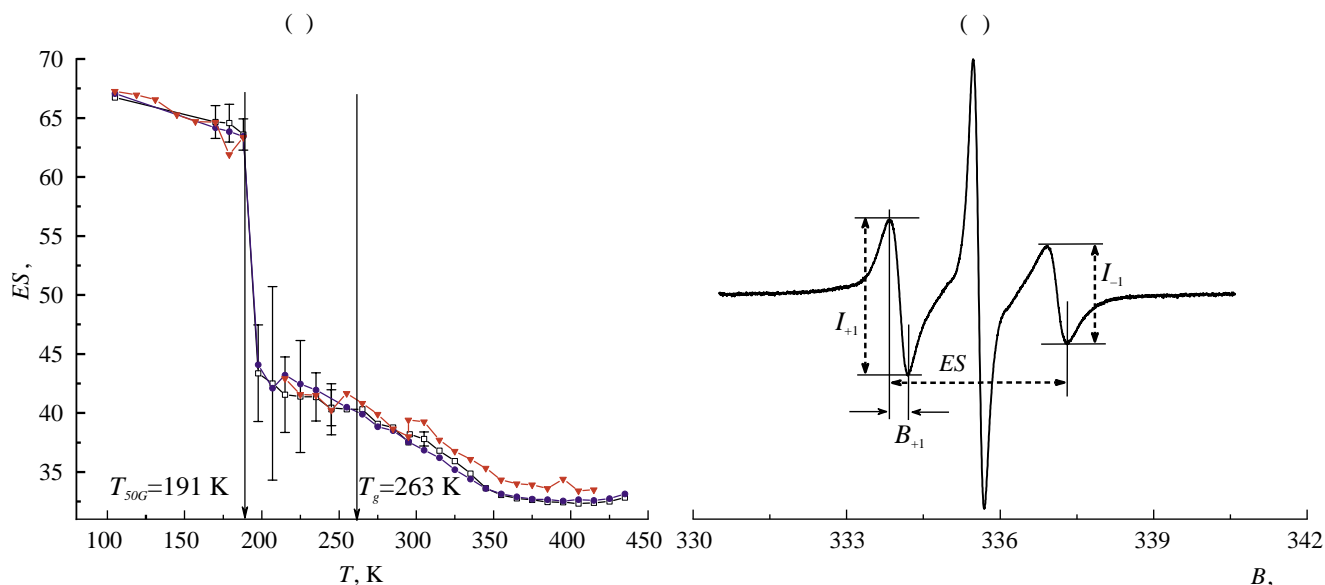
Рис. 2. ЭПР-спектры образцов ПП (а) и ПП–ОУНТ 38.5% с отдельными компонентами модельного спектра (б), содержащих ТЕМПО, зарегистрированные при 105 К: 1 – эксперимент (сплошная линия), 2 – результат моделирования (кружки), 3 – триплет (пунктир), 4 – синглет (точки).

Таблица 3. Параметры, использованные при расчете ЭПР-спектров

Образец	$g_{xx}$	$g_{yy}$	$g_{zz}$	$A_{xx}$ , мТл	$A_{yy}$ , мТл	$A_{zz}$ , мТл	Доля, %
ТЕМПО–ПП	2.0093	2.0058	2.0019	0.75	0.54	3.34	100
ТЕМПО–ПП–ОУНТ 38.5% (триплет)	2.0093	2.0058	2.0019	0.75	0.54	3.34	77
ТЕМПО–ПП–ОУНТ 38.5% (синглет)	2.00386	2.00386	2.00386	–	–	–	23



**Рис. 3.** Спектры ЭПР образцов чистый ПП (1), ПП–ОУНТ 8.0% (2) и ПП–ОУНТ 38.5% (3), содержащих ТЕМПО, при температуре 170 (а), 198 (б), 225 (в), 295 (г), 335 (д) и 385 К (е). Спектры нормированы на амплитуду центральной компоненты.



**Рис. 4.** а – Температурная зависимость величины  $ES$ , определенная из ЭПР-спектров образцов чистый ПП (1), ПП–ОУНТ 8.0% (2) и ПП–ОУНТ 38.5% (3), содержащих ТЕМПО; большие величины погрешностей определения  $ES$  при температуре 190–250 К связаны с пологой формой спектральных линий в данном температурном интервале, при остальных значениях температуры  $ES$  измеряется с точностью  $\pm 0.01$  мТл. б – Параметры спектра ЭПР, используемые для получения характеристик вращательной подвижности.

жет реализоваться, и агрегаты, наблюдаемые при 105 К, начинают разрушаться.

На рис. 4а продемонстрирована температурная зависимость расстояния между крайними компонентами спектров (*extrema separation* –  $ES$  или  $2A_{zz}^*$ ; рис. 4б) для трех образцов.

Данный параметр для замороженного образца (в “жестком пределе”) соответствует величине  $2A_{zz}$ .  $ES$  часто используется для качественной характеристики подвижности нитроксильных спиновых зондов [17, 21–22]. Чем меньше величина  $ES$ , тем более подвижны парамагнитные молекулы, а резкий скачок величины  $ES$  вблизи  $T_{5mTl}$  (температура, при которой  $ES = 5$  мТл) обусловлен чувствительностью формы линии спектра нитроксила к его вращательной подвижности в данном интервале температуры. Величина  $T_{5mTl}$  коррелирует с температурой стеклования полимера, однако эта корреляция нелинейна [17].

Таким образом, можно заключить, что вращательная подвижность радикалов, оцененная по величине  $ES$ , во всех изученных образцах близка. По-видимому, данный результат обусловлен равномерным распределением зондов в композитных образцах, а значит радикалы в основном “чувствуют” подвижность полимерной матрицы вдали от нанотрубок. Тем не менее видно, что в композите ПП–ОУНТ 38.5% в области температуры выше 300 К зонды несколько заторможены. Важно, что величина  $ES$  не является ис-

черпывающей характеристикой формы спектра ЭПР. Рассмотрим спектры при 295 К на рис. 3. Так, величины  $ES$  для всех трех спектров совпадают, в то время как форма линии спектра образца, содержащего 38.5% допанта, существенно отличается от формы двух других образцов. Возможно, увеличение “крыльев” спектральных компонент свидетельствует о наличии значительного распределения радикалов по вращательной подвижности в образце 38.5%. Такое распределение наблюдалось ранее для других полимеров [31], т.е. спектр ЭПР в данном случае является суммой спектров зондов, находящихся в областях полимера, отличающихся плотностью упаковки полимерных цепей.

Другая известная характеристика вращательной подвижности зондов – это время вращательной корреляции, величину которого определяют из спектров ЭПР по формуле [15, 33]

$$\tau_c = 6.65 \times 10^{-10} \Delta B_{+1} \left( \sqrt{\frac{I_{+1}}{I_{-1}}} - 1 \right), \quad (1)$$

где  $\Delta B_{+1}$  – ширина линии (peak-to-peak) низкочастотной компоненты (Гц),  $I_{+1}$  и  $I_{-1}$  – амплитуды низкочастотной и высокочастотной компонент спектра ЭПР соответственно. Эти характеристики спектра показаны на рис. 4б. Формула (1) дает истинное время вращательной корреляции только в диапазоне времен корреляции  $5 \times 10^{-11} < \tau_c <$



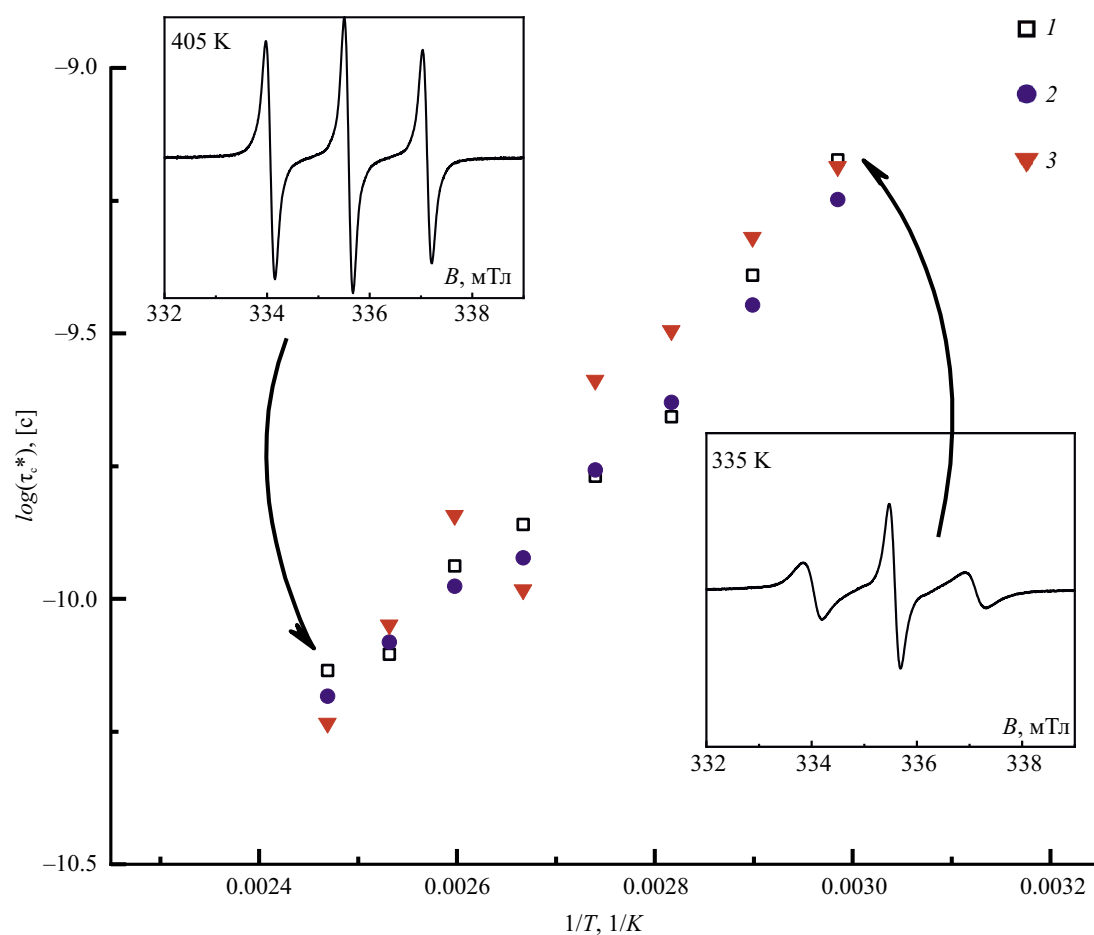
$< 1 \times 10^{-9}$  с, в условиях изотропного вращения спинового зонда. В интервале  $1 \times 10^{-9} < \tau_c < 5 \times 10^{-9}$  с правую часть уравнения (1) используют как эффективное время вращательной корреляции  $\tau_c^*$  [32]. Величина  $\tau_c^*$  не является истинным временем корреляции, однако, она в определенной степени характеризует подвижность зонда.

На рис. 5 показана температурная зависимость эффективного времени вращательной корреляции, рассчитанного по формуле (1), для образцов трех композитов в интервале температуры 335–405 К; также приведены спектры ЭПР, соответствующие крайним точкам этого температурного диапазона.

Судя по форме спектра, в нижней части температурного интервала вращение зондов уже не является изотропным, поэтому рассчитанное значение времени корреляции следует считать эффективной величиной. Видно, что величины  $\tau_c^*$  зондов в образцах с разным содержанием наполнителя совпадают в пределах погрешности определения. Только в данном случае эта харак-

теристика не так чувствительна к вращательной подвижности зондов, как *ES*.

На основании полученных результатов можно сделать следующее предположение. Константа распределения парамагнитных молекул между нанотрубками и полипропиленом значительно больше единицы и имеет сильную температурную зависимость. Значит часть зондов сорбируется на трубки или находится вблизи них, причем количество таких зондов уменьшается при повышении температуры. В образце, содержащем 38.5% ОУНТ, объемный вклад межфазных областей полимеров вблизи нанотроек значительно больше, чем в менее допированных образцах. По этой причине в данном образце наблюдается эффективное торможение радикалов. На самом деле, наблюдаемый эффект связан с изменением распределения зондов между пристеночными областями и основной массой полимера. Таким образом, можно заключить, что области полимера вблизи нанотроек значительно менее подвижны, чем основная масса полимерных цепей.



**Рис. 5.** Эффективные времена вращательной корреляции ТЕМПО в интервале температуры 335–405 К для образцов чистый ПП (1), ПП–ОУНТ 8.0% (2) и ПП–ОУНТ 38.5% (3). На вставках показаны ЭПР-спектры для образца ТЕМПО–ПП при разных значениях температуры; спектры нормированы на двойной интеграл.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование нанокомпозитов на основе изотактического ПП с одностенными углеродными нанотрубками методом спинового зонда позволяет сделать вывод, что подвижность основной массы полимерных цепей, непосредственно не контактирующих с носителем, не отличается от подвижности чистого полипропилена в широком интервале температуры. В то же время подвижность полимера вблизи нанотрубок значительно снижена. Образование малоподвижного полимерного слоя вокруг частиц носителя, по-видимому, является причиной снижения эффективности наполнителя как ингибитора термоокисления при высоком содержании одностенных углеродных нанотрубок.

Авторы выражают благодарность В.Г. Крашенникову за ИК- и ДСК-измерения образцов композитов.

Работа выполнена при поддержке программы развития Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. ЭПР-исследования проведены в рамках Госзадания “Кинетика и механизм фотохимических, криохимических и каталитических процессов, создание новых материалов и технологий на базе молекулярно-организованных систем” (№ ААА-А-А21-121011590090-7).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Soni S.K., Thomas B., Kar V.R.* // Mater. Today Comm. 2020. V. 25. P. 101546.
2. *Bee S.-L., Abdullah M.A.A., Bee S.-T., Sin L.T., Rahmat A.R.* // Prog. Polym. Sci. 2018. V. 85. P. 57.
3. *Kim H., Abdala A.A., Macosko C.W.* // Macromolecules. 2010. V. 43. P. 6515.
4. *Huang C.-L., Lou C.-W., Liu C.-F., Huang C.-H., Song X.-M., Lin J.-H.* // Appl. Sci. 2015. V. 5. P. 1196.
5. *Mittal G., Dhand V., Rhee K.Y., Park S.-J., Lee W. R.* // J. Ind. Eng. Chem 2015. V. 21, P. 11.
6. *Palaznik O.M., Nedorezova P.M., Shevchenko V.G., Krasheninnikov V.G., Monakhova T.V., Arbuзов A.A.* // Polymer Science B. 2021. V. 63. P. 161.
7. *D'yachkovskii F.S., Novokshonova L.A.* // Russ. Chem. Rev. 1984. V. 53. P. 117.
8. *Koval'chuk A.A., Shchegolikhin A.N., Shevchenko V.G., Nedorezova P.M., Klyamkina A.N., Aladyshev A.M.* // Macromolecules. 2008. V. 41. P. 3149.
9. *Polschikov S., Nedorezova P., Palaznik O., Klyamkina A., Shashkin D., Gorenberg A., Krasheninnikov V., Shevchenko V., Arbuзов A.* // Polym. Eng. Sci. 2018. V. 58. P. 1461.
10. *Irzhak V.I.* // Polymer Science C. 2020. V. 62. P. 51.
11. *Palaznik O.M., Nedorezova P.M., Krasheninnikov V.G.* // Polymer Science A. 2023. V. 65. P. 396.
12. *Margolin A.L., Monakhova T.V., Nedorezova P.M., Klyamkina A.N., Polschikov S.V.* // Polym. Degrad. Stab. 2018. V. 156. P. 59.
13. *Вассерман А.М., Барашкова И.И.* // Высокомолек. соед. Б. 1977. V. 19. P. 820.
14. *Бучаченко А.Л., Вассерман А.М.* Стабильные радикалы. М.: Химия, 1973.
15. *Кузнецов А.Н.* Метод спинового зонда. М.: Наука, 1976.
16. *Yushkina T.V., Kovarskiy A.L., Kasparov V.V., Tihonov A.P.* // Polymer Science A. 2005. V. 47. P. 44.
17. *Advanced ESR Methods in Polymer Research* / Ed. by S. Schlick. Hoboken: Wiley, 2006.
18. *Likhtenshtein G.I., Yamauchi J., Nakatsuji S., Smirnov A.I., Tamura R.* Nitroxides. Applications in Chemistry, Biomedicine, and Materials Science. Weinheim: Wiley, 2008.
19. *Likhtenshtein G.I.* Nitroxides. Brief History, Fundamentals, and Recent Developments / Publisher Springer Cham, V. 292. 2020.
20. *Uddin M.A., Yu H., Wang L., Naveed K. ur R. Haq F., Amin B.U., Mehmood S., Nazir A., Xing Y., Shen D.* // J. Polym. Sci. 2020. V. 58. P. 1924.
21. *Švajdlenková H., Bartoš J.* // J. Polym. Sci., Polym. Phys. 2009. V. 47. P. 1058.
22. *Švajdlenková H., Šauša O., Adichtchev S.V., Surovtsev N.V., Novikov V.N., Bartoš J.* // Polymers (Basel). 2021. V. 13. P. 1.
23. *Nedorezova P.M., Shevchenko V.G., Schegolikhin A.N., Tsvetkova V.I., Korolev Yu.M.* // Polymer Science A. 2004. V. 46. P. 426.
24. *Polschikov S.V., Nedorezova P.M., Klyamkina A.N., Kovalchuk A.A., Aladyshev A.M., Shchegolikhin A.N., Shevchenko V.G., Muradyan V.E.* // J. Appl. Polym. Sci. 2013. V. 127. P. 904.
25. *Spaleck W., Kueber F., Winter A., Rohrmann J., Bachmann B., Antberg M., Dolle V., Paulus E.F.* // Organometallics. 1994. V. 13. P. 954.
26. *Kissin Y.V.* Isospecific Polymerization of Olefins with Heterogeneous Ziegler-Natta Catalysts. New York: Springer, 1985.
27. *Годовский Ю.К.* Теплофизические методы исследования полимеров. М.: Химия, 1982.
28. <https://www.chem.msu.ru/rus/lab/chemkin/ODF3/>
29. *Vorobiev A.Kh., Chumakova N.A.* // Nitroxides – Theory, Experiment and Applications / Ed. by A.I. Kokorin. In Tech, 2012. P. 58.
30. *Лебедев Я.С., Муромцев В.И.* ЭПР и релаксация стабилизированных радикалов. М.: Химия, 1972.
31. *Chernova D.A., Vorobiev A.Kh.* // J. Appl. Polym. Sci. 2011. V. 121. P. 102.
32. *Kuznetsov A.N., Wasserman A.M., Volkov A.U., Korst N.N.* // Chem. Phys. Lett. 1971. V. 12. P. 103.