

© 1991 г. Е. А. Дорохова, С. А. Гусев, И. А. Грицкова,  
В. С. Папков

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ ЧАСТИЦ  
ПОЛИМЕРНЫХ СУСПЕНЗИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ  
В ИММУНОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЯХ

Методом ионного травления изучена внутренняя структура полистирольных и полиакролеиновых микросфер, используемых в качестве носителей биологических объектов при иммунологических исследованиях. Показано, что все изученные полимерные микросфера неоднородны и состоят из набора субъединиц. С увеличением продолжительности травления наблюдается возникновение значительных пустот и повышение рыхлости упаковки субъединиц, которое завершается потерей сферической формы частиц. Разрушение полиакролеиновых частиц происходит за более короткое время. Предполагается, что неоднородность структуры обусловлена особенностями протекания полимеризации в водной среде и вызвана захватом воды полимеризующимися частицами.

В последнее время в иммунологии и биологии широкое применение нашли различные полимерные супензии, микросфера которых могут выступать в роли носителей биологических объектов [1–3]. Исследования в этих областях отличаются прецизионностью и требуют как качественной, так и количественной воспроизводимости результатов. Поэтому выбор критериев, по которым можно было бы определять пригодность частиц для этих целей, имеет большое значение. К ним прежде всего можно отнести однородность частиц по размерам, устойчивость к различным воздействиям (рН, ионная сила), природу и концентрацию функциональных групп на поверхности полимерных микросфер, а также длительное сохранение их формы. Стабильность полимерных микросфер определяется многими факторами, в частности природой полимера и их внутренней структурой, которая несет на себе отпечаток механизма формирования частиц [4]. В связи с этим изучение морфологии полимерных микросфер представляет особый интерес. Подобные исследования оказались полезными для изучения механизма формирования частиц, определяющего как кинетические закономерности процесса, так и свойства конечных продуктов: супензий и пленок на их основе [5, 6].

Цель настоящей работы – изучение внутренней структуры полистирольных и полиакролеиновых микросфер, используемых в качестве носителей биологических объектов.

Полистирольные частицы с диаметрами 0,15; 0,5 и 0,9 мкм получали эмульсионной и супензионной полимеризацией стирола, инициированной персульфатом калия, в присутствии ПАВ различной природы: дигитонина (диаметр частиц 0,15 мкм); оксиэтилированного полипропиленгликоля, плюроника F-68 (диаметр частиц 0,15 мкм); моноалкилфталата (диаметр частиц 0,5 и 0,9 мкм); додецилсульфоната натрия, Е-30 (диаметр частиц 0,5 мкм), а также в отсутствие ПАВ (диаметр частиц 0,5 мкм). Полиакролеиновые частицы с диаметрами 0,5 и 1,5 мкм получали анионной полимеризацией акролеина в отсутствие стабилизатора и в присутствии полимерного стабилизатора – сополимера винилацетата, акриловой кислоты и метилвинилэтинилгидропероксида.

Полимерные дисперсии наносили на предметные столики микроскопа, которые предварительно подвергали гидрофилизации для равномерного распределения супензий по поверхности. Столики помещали в вакуумную камеру ионного напылителя ІВ-3 («Eiko Engineering», Япония), где после достижения необходимого вакуума 0,05–0,1 мм рт. ст. частицы под-

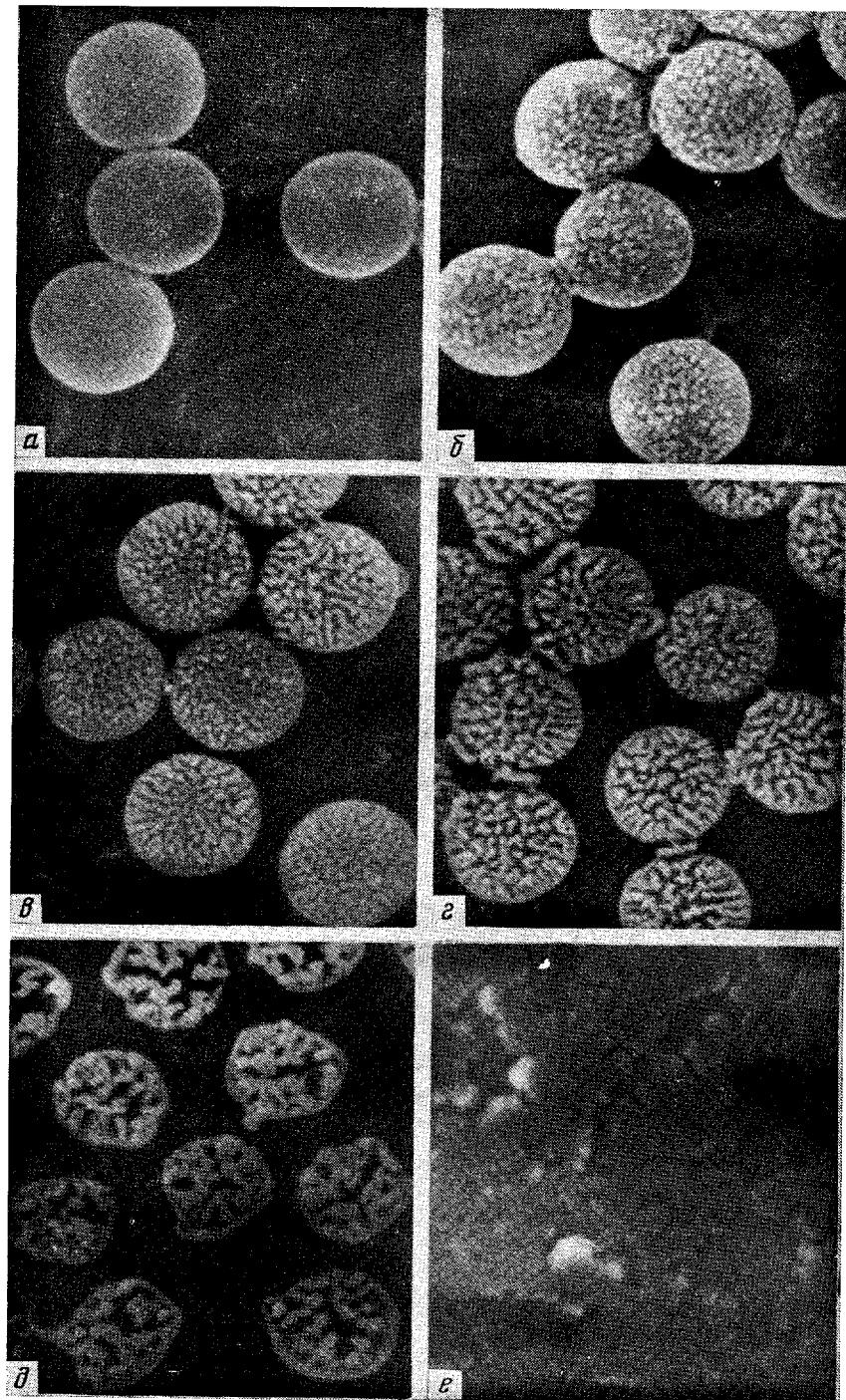


Рис. 1. Электронные микрофотографии полистирольных частиц до травления (а), после 5 (б), 10 (в), 15 (г) и 30 мин ионного травления (д), а также после механического разрушения (е).  $\times 21\,600$  (а-д) и  $\times 30\,200$  (е)

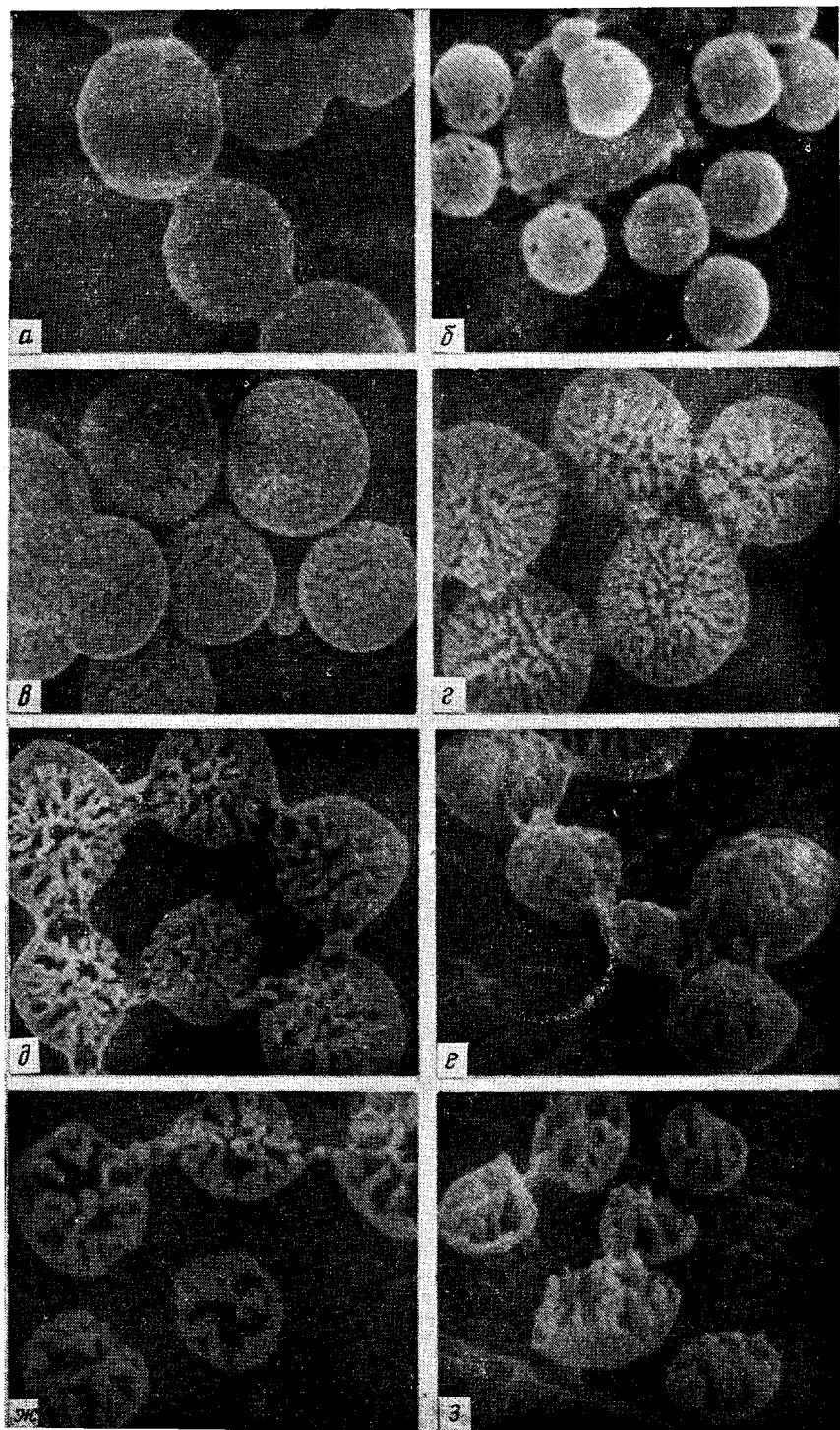


Рис. 2. Электронные микротографии полиакролиновых частиц до травления (а), после 5 (в), 10 (г), 15 (д, е) и 30 мин ионного травления (ж, з), а также после двух месяцев хранения (б).  $\times 17\ 300$  (а, в-з) и  $19\ 100$  (б)

вергали травлению ионизированным воздухом (условия травления: напряжение на электродах 500 В, сила ионного тока 2 мкА). При воздействии ионизированного воздуха на полимер в первую очередь должны разрушаться наименее упорядоченные, более рыхлые его области, выявляя при этом более плотные участки. После ионного травления образцы покрывали золотом и поверхность полимерных частиц изучали с помощью электронного микроскопа S-570 («Hitachi», Япония).

Анализ полученных электронно-микроскопических снимков показал, что в качественном отношении травление всех частиц происходит одинаково. На рис. 1, 2 приведены электронные микрофотографии полимерных частиц до и после травления в течение различного времени. Видно, что все исследованные полимерные микросфераe неоднородны и состоят внутри из набора субъединиц, которые проявляются после разрушения внешней оболочки частиц в течение первых минут ионного травления. Упомянутые выше субъединицы имеют продолговатую форму, что особенно отчетливо видно на микрофотографиях полиакролеиновых микросфер, снятых при наклоне столика под углом 45° (рис. 2, e, z). С увеличением продолжительности травления наблюдается возникновение значительных пустот и повышение рыхлости упаковки субъединиц, которое завершается потерей сферической формы частиц. Следует, однако, отметить, что полиакролеиновые частицы имеют более рыхлую структуру и поэтому разрушаются за более короткое время ионизирующего излучения (ср. рис. 1, e, г и 2, г, д).

Для подтверждения достоверности представленных выше электронно-микроскопических картин травления были проведены следующие дополнительные эксперименты. Во-первых, были изменены условия ионного травления. Полимерные частицы подвергали ионной бомбардировке при удвоенном напряжении на электродах. Увеличение напряжения до 1000 В не изменило качественной картины травления, хотя скорость разрушения частиц возросла и через 10 мин травления наблюдали полное разрушение частиц. Во-вторых, анализировали структуру частиц, разрушенных механически. Это достигалось путем нанесения суспензии частиц на столик микроскопа и последующим их высушиванием и раздавливанием. Картина, наблюдалась в электронном микроскопе, дана на рис. 1, e. Вид раздавленных частиц также указывает на то, что они неоднородны по структуре. О неоднородности частиц свидетельствуют также электронные микрофотографии полиакролеиновых частиц, самоизвестно разрушающихся при хранении в течение двух месяцев (рис. 2, б). Интересно отметить, что в этом случае внутренняя структура частиц подобна обнаруживаемой при ионном травлении.

Таким образом, анализ полученных картин травления показал, что все исследованные микросфераe характеризуются неоднородной структурой, независимо от способа их образования (эмulsionного, суспензионного и метода осадительной полимеризации). Можно предположить, что неоднородность структуры обусловлена особенностями протекания полимеризации в водной среде и вызвана захватом воды полимеризующимися частицами. Естественно ожидать, что способ проведения полимеризации, определяющий размер частиц (суспензионный или эмульсионный), должен влиять на количество воды, которое захватывается полимеризующимися частицами, и соответственно на их внутреннюю структуру. Это подтверждается сравнением картин травления частиц со средним диаметром 0,15 и 0,9 мкм. Частицы меньшего диаметра, полученные эмульсионной полимеризацией, состоят из субъединиц, имеющих форму, близкую к сферической, а синтезированные суспензионной полимеризацией — из субъединиц вытянутой формы. Так же, по-видимому, можно объяснить более рыхлую упаковку субъединиц в полиакролеиновых частицах, образование которых происходит в воде по механизму гомогенной нуклеации, чем в полистирольных.

Приобретенные выше факты представляются интересными и полезными как для уточнения кинетики и механизма эмульсионной и сусpenзионной полимеризации, так и для стратегии выбора полимерных микросфер для иммунологических исследований.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hadfield S. C., Lane A., McIlmurray // J. Immunol. Methods. 1987. V. 97. P. 153.
2. Margel S. // Industr. and Engng Chem. Product. Res. and Development. 1982. V. 21. № 3. P. 343.
3. Norde W., Lyklema J. // Colloid Interface Sci. 1978. V. 66. P. 257.
4. Furuta M. // Polymer Letters. 1974. V. 12. P. 459.
5. Елисеева В. И., Жаркова Н. Г., Евко Э. И. // Высокомолек. соед. А. 1967. Т. 9. № 11. С. 2478.
6. Елисеева В. И., Жаркова Н. Г., Лукьянович В. М. // Докл. АН СССР. 1968. Т. 178. № 5. С. 1113.

Научно-исследовательский институт  
физико-химической медицины

Поступила в редакцию  
26.09.90

Московский институт тонкой  
химической технологии  
им. М. В. Ломоносова

Институт элементоорганических соединений  
им. А. Н. Несмеянова АН СССР

УДК 541(49+64) : 532.73

© 1991 г. Б. А. Мамедов, А. И. Кокорин, А. В. Рагимов

#### КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ОЛИГОПИРОКАТЕХИНА С ИОНАМИ VO(II) В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Методом ЭПР показано, что олигопирокатехин (ОПК) в щелочных растворах, как и его мономерный аналог – пирокатехин (ПКХ), образует с  $\text{VO}^{2+}$  два типа комплексов с составом  $\text{VO}(\text{ОПК})$  и  $\text{VO}(\text{ОПК})_2$ . Индивидуальные комплексы  $\text{ML}$  существуют в растворе с мольным соотношением  $[\text{M}]_0 : [\text{L}]_0 : [\text{KOH}]_0 = 1,0 : 1,5 : 3,0$  для ОПК и  $1,0 : 1,15 : 2,30$  для ПКХ. При  $\gamma = [\text{L}]_0 : [\text{M}]_0 \geq 2,5$  в растворах ОПК (или ПКХ) существует только  $\text{ML}_2$ . При  $\gamma \geq 4$  в спектрах обнаружен узкий синглетный сигнал свободного радикала, образующегося при окислении ОПК. Вследствие протекания побочных окислительно-восстановительных реакций в системе парамагнитными остаются  $50 \pm 15\%$   $\text{VO}^{2+}$  в случае ПКХ и не более  $25 \pm 10\%$  в случае ОПК. Определены значения  $g$ -фактора ( $g_0$ ,  $g_{\parallel}$ ,  $g_{\perp}$ ) и константы сверхтонкого взаимодействия ( $a_0$ ,  $A_{\parallel}$  и  $A_{\perp}$ ) для комплексов VO (ПКХ), VO (ПКХ)<sub>2</sub>, VO (ОПК) и VO (ОПК)<sub>2</sub>, которые существенно не меняются при переходе от мономера к олигомеру. Рассчитанные значения констант равновесий  $K_1$  и  $K_2$  составляют для ПКХ  $125 \pm 15,4$  л/моль и  $64 \pm 10,3$  л/моль, а для ОПК –  $107 \pm 12,1$  л/моль и  $52 \pm 8,6$  л/моль.

Координационные соединения с макромолекулярными лигандами находят широкое применение в катализе, аналитической химии и гидрометаллургии [1–3]. В качестве макромолекулярных лигандов представляют интерес олигооксиарилены, содержащие комплексообразующие гидроксильные группы, способные образовывать прочные комплексы с ионами переходных металлов. В работах [4–7] изучены комплексы пирокатехина (ПКХ) и его производных с рядом парамагнитных ионов, их структура и физико-механические свойства. Показано, что моно- и ди-анионы ПКХ выступают в качестве хелатирующих лигандов.

Настоящая работа посвящена исследованию методом ЭПР строения и свойств комплексов олигопирокатехина (ОПК) с ионами VO (II) в водных растворах.