

УДК 541.64:543.544

## ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-МАССОВОЙ И КОМПОЗИЦИОННОЙ НЕОДНОРОДНОСТИ СТАТИСТИЧЕСКИХ СОПОЛИМЕРОВ N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА И 2-МЕТИЛ-5-ВИНИЛПИРИДИНА МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

© 1994 г. Е. К. Федоров, С. А. Кедик  
A/O Химико-фармацевтическая фирма "Ковидон"  
123182 Москва, ул. Живописная, 46  
Поступила в редакцию 11.01.94 г.

Изучена молекулярно-массовая и композиционная неоднородность образцов статистических сополимеров N-ванилпирролидона и 2-метил-5-ванилпиридина, полученных радикальной сополимеризацией в условиях поддержания постоянства отношения концентраций мономеров. Молекулярно-массовое распределение указанных сополимеров исследовалось с помощью эксклюзионной хроматографии с использованием малоуглового лазерного детектора рассеянного света и дифференциального вискозиметрического детектора. Путем сравнения поли-2-метил-5-ванилпиридином и полиэтиленгликолем показана применимость к таким сополимерам универсальной калибровки на колонках типа TSK-PW в элюенте состава метанол (80%)-вода (20%)- $\text{LiNO}_3$  (0.02 моль/л). Распределение по составу изучали перекрестным хроматографическим фракционированием, анализируя фракции, полученные эксклюзионной хроматографией, методом обращенно-фазовой высокоеффективной жидкостной хроматографии в градиенте вода-изопропанол. Показано, что экспериментально определенное распределение по составу сополимеров с низким содержанием звеньев 2-метил-5-ванилпиридина шире теоретически рассчитанного. Обсуждены возможные причины наблюдаемых различий.

Изучение ММР и композиционной неоднородности физиологически активных сополимеров необходимо как для установления взаимосвязи между физико-химическими свойствами и биологической активностью, так и для разработки способов получения образцов с заданными и воспроизводимыми параметрами [1, 2]. Применение эксклюзионной хроматографии (ГПХ) в сочетании с малоугловым лазерным детектором рассеянного света (МЛДРС) [3] и дифференциальным вискозиметрическим детектором (ДВД) [4] открывает широкие возможности для исследования ММР ранее не изученных полимеров, в том числе водорастворимых [5 - 9]. Распределение по составу – составляющая композиционной неоднородности сополимеров, которая также может быть проанализирована методами жидкостной хроматографии. Для этой цели наиболее перспективен способ перекрестного хроматографического фракционирования [10, 11], когда полученные с помощью эксклюзионной хроматографии фракции подвергают анализу в режиме градиентной высокоеффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и на основе предварительной калибровки переводят полученное распределение в координаты состав-ММ. Интегрированием полученного распределения по всем ММ можно получить распределение по составу и сравнить

его с теоретически рассчитанным, что позволяет делать выводы о соответствии либо несоответствии механизма реакции сополимеризации классической схеме Майо-Льюиса [2, 10, 12].

Цель настоящей работы – изучение ММР и распределения по составу образцов сополимеров N-ванилпирролидона (ВПД) и 2-метил-5-ванилпиридина (МВП).

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез образцов сополимеров проводили на установке с автоматическим контролем и поддержанием отношения концентраций мономеров [13]. Препартивное фракционирование по ММ осуществляли методом элюирования на колонке со стеклянными шариками (0.1 - 0.2 мм) с предварительно нанесенным на них сополимером в градиенте бутилацетат-хлороформ (5 см<sup>3</sup>/мин, 6 ч) [14].

В работе использовали образцы ПЭГ фирм "Polymer Laboratories" (Великобритания) и "Schuchardt" (ФРГ) (образец 40000).

Выбор элюента и колонки основан на опубликованных результатах исследований ГПХ поливанилпирролидона [15], однако для обеспечения возможности работы с сополимерами ВПД и

МВП любого состава содержание метанола было повышенено до 80% по объему. Использованное хроматографическое оборудование, колонки, реактивы, элюенты и условия работы описаны ранее [11].

В настоящей работе помимо указанного в работе [11] оборудования применяли МЛДРС CMX-100 ("Chromatix", США). Для интерпретации полученных с его помощью данных измеряли инкременты показателя преломления ПВПД, ПМВП и ПЭГ в использованном элюенте состава 80% (по объему) метанола, 20% воды и 0.02 моль/л  $\text{LiNO}_3$ , а также показатель преломления самого элюента. Измерения проводили на дифференциальном лазерном рефрактометре KMX-16 ("Chromatix", США), откалиброванном по  $\text{NaCl}$ , при 25°C в состоянии диализного равновесия [16]. Поскольку для инкрементов показателя преломления статистических сополимеров существует аддитивность [16, 17], для сополимеров ВПД и МВП его принимали равным  $0.194 + 0.43 X \text{ см}^3/\text{г}$ , где  $X$  – молярная доля звеньев МВП в сополимере. Для ПЭГ он был найден равным  $0.145 \text{ см}^3/\text{г}$ , что согласуется с литературными данными [18], а показатель преломления элюента составляет 1.3381. Вторые вириальные коэффициенты измеряли с помощью того же МЛДРС, отключенного от хроматографа. Так как вклад второго вириального коэффициента в ошибку определения ММ в ГПХ с МЛДРС невелик [19], для сополимеров их рассчитывали аналогично инкрементам показателя преломления, хотя пропорциональности в этом случае быть не должно.

Для проведения исследований к высокоеффективному жидкостному хроматографу подключали последовательно МЛДРС, дифференциальный рефрактометрический детектор и ДВД. Измерения с трех детекторов собирали в микро-ЭВМ, где обрабатывали по специальной программе.

Условия градиентной ВЭЖХ отличались от использованных для сополимеров с 4-винилпиридином [11] тем, что детектирование вели при 270 нм и использовали линейный градиент от 20 до 70% изопропанола в воде при постоянной (0.1 моль/л) концентрации  $\text{LiNO}_3$  в течение 36 мин. Определение наклона калибровочной кривой проводили по восьми нефракционированным образцам сополимера с содержанием звеньев МВП от 17 до 100 мол. %.

Для обработки результатов ГПХ с тремя детекторами был написан специальный пакет программ для микро-ЭВМ, совместимых с IBM-PC-AT, в инструментальной среде ASYST (ASYST software, США). Кроме того, для математической обработки результатов применяли инструментальную среду PC-MATLAB ("Mathworks Inc.", США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для проверки выполнимости универсальной калибровки [20] для статистических сополимеров ВПД и МВП помимо фракций сополимера с составом  $34.5 \pm 1$  мол. % звеньев МВП и разной ММ были взяты также фракции ПМВП и ПЭГ. Чтобы избежать ошибок, связанных с низкой чувствительностью МЛДРС в области низких ММ [18], влиянием точности определения междетекторного объема [21] и трудностью учета приборного уширения [22], калибровку хроматографической колонки проводили по определенным с помощью МЛДРС значениям  $\bar{M}_w$  для каждой фракции в предположении линейной зависимости (учитывая небольшое число фракций) логарифма ММ от объема элюирования или, что справедливо при постоянной скорости подачи элюента, от времени элюирования  $t$ . Учитывая отсутствие фракций с достаточно узким ММР, калибровку проводили минимизацией суммы квадратов разностей логарифмов измеренных  $\bar{M}_w$  и вычисленных по формуле

$$\bar{M}_w = \int_{t_a}^{t_b} C(t) \exp(A_1 t + A_2) dt, \quad (1)$$

где  $A_1$  и  $A_2$  – параметры калибровки по ММ,  $t_a$  и  $t_b$  – временные пределы элюирования фракций,

Средние молекулярные массы и характеристические вязкости образцов, использованных для калибровок

Образец	$\bar{M}_w \times 10^{-4}$		[ $\eta$ ], дл/г		$\bar{M}_w / \bar{M}_n$
	МЛДРС	после калибровки	ДВД	после калибровки	
Сополимер ВПД И МВП (34.5 мол. % звеньев МВП)					
Ф1	9.05	9.29	0.085	0.086	1.3
Ф2	11.5	11.5	0.100	0.099	1.3
Ф3	14.8	14.0	0.121	0.114	1.3
Ф4	20.6	19.4	0.145	0.142	1.3
Ф21/7	25.5	24.5	0.174	0.166	1.3
Ф21/8	32.5	32.1	0.205	0.199	1.4
Ф21/9	40.8	40.1	0.230	0.229	1.6
Ф7	50.0	50.3	0.271	0.268	1.6
Поли-2-метил-5-винилпиридин					
АМФ-2	26.2	26.2	0.176	0.174	1.4
АМФ-3	44.5	42.9	0.248	0.238	1.6
АМФ-4	64.3	63.7	0.303	0.299	1.9
Полиэтиленгликоль					
7100	6.09	6.00	0.154	0.151	1.06
12600	11.1	11.4	0.241	0.248	1.08
22000	18.5	18.9	0.366	0.367	1.11
40000	31.2	30.4	0.533	0.526	1.10

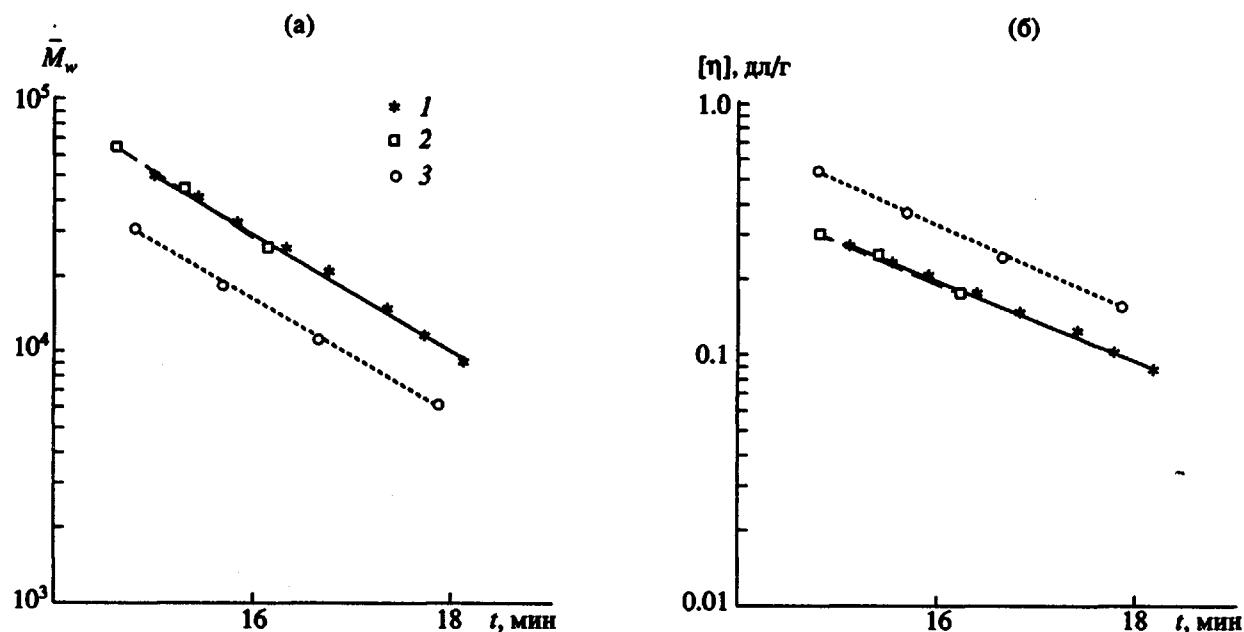


Рис. 1. Калибровка хроматографической колонки по  $\bar{M}_w$  (а) и по  $[\eta]$  (б). 1 – сополимер ВПД и МВП (34.5 мол. % звеньев МВП); 2 – ПМВП; 3 – ПЭГ. Положения экспериментальных точек по оси  $t$  рассчитаны по калибровке.

$C(t)$  – нормированный отклик концентрационного (рефрактометрического) детектора

$$1 = \int_{t_0}^t C(t) dt. \quad (2)$$

Результаты калибровки по ММ для фракций сополимера, ПМВП и ПЭГ приведены на рис. 1а. Следует отметить близость калибровочных пря-

мых для ПМВП и сополимера, что позволяет в первом приближении пренебречь возможным влиянием распределения по составу на ГПХ сополимеров ВПД и МВП.

Аналогично, используя данные ДВД, была проведена калибровка по характеристической вязкости  $[\eta]$  в предположении линейной зависимости ее логарифма от  $t$ . В этом случае для любой фракции справедливо выражение [23]

$$[\eta] = \int_{t_0}^t C(t) \exp(B_1 t + B_2) dt. \quad (3)$$

Здесь  $B_1$  и  $B_2$  – параметры калибровки по  $[\eta]$ . Результаты этой калибровки приведены на рис. 1б, а величины  $\bar{M}_w$  и  $[\eta]$  для всех использованных в калибровках образцов – в таблице.

Сложение соответствующих калибровочных зависимостей для логарифмов ММ и  $[\eta]$  дает прямые линии в координатах универсальной калибровки

$$\ln([\eta]M) = C_1 t + C_2. \quad (4)$$

На рис. 2 представлены полученные прямые. Дисперсионный анализ показывает совпадение в пределах ошибки эксперимента прямых в рабочем интервале времен элюирования. Из этого можно заключить, что фракционирование статистических сополимеров ВПД и МВП, ПМВП и ПЭГ в выбранных условиях протекает по гидродинамическому объему макромолекул. Это позволяет, в частности, при исследовании сополиме-

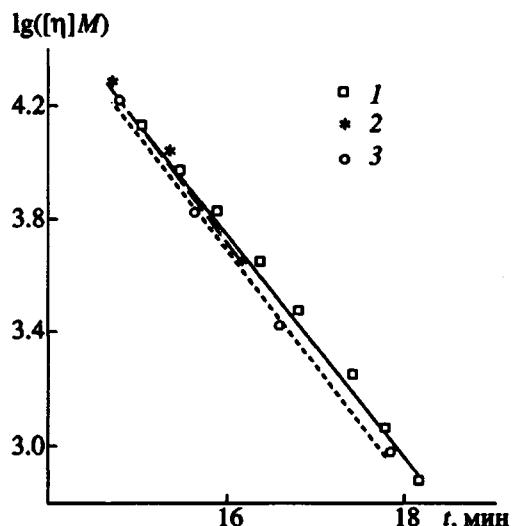


Рис. 2. Универсальная калибровка хроматографической колонки: 1 – сополимер ВПД и МВП (34.5 мол. % звеньев МВП); 2 – ПМВП; 3 – ПЭГ.

ров ВПД и МВП других составов не использовать для калибровки МЛДРС, а работать только с ДВД, используя универсальную калибровку, что уменьшает экспериментальные трудности.

Комбинируя выражения (1) и (3) с уравнением Марка-Хаувинка

$$[\eta] = KM^\alpha, \quad (5)$$

можно получить значения  $K$  и  $\alpha$  для соответствующих полимеров. Однако, учитывая небольшой интервал ММ исследованных фракций, точность полученных значений будет невелика.

Тот факт, что калибровки по ММ (рис. 1) для сополимера ВПД-МВП и ПМВП близки, позволяет при обработке результатов перекрестного хроматографического фракционирования пренебречь влиянием распределения по составу на фракционирование методом ГПХ. Кроме того, ГПХ-анализ образцов сополимеров, синтезированных при поддержании постоянства отношения концентраций мономеров, с двумя детекторами — рефрактометрическим и ультрафиолетовым, чувствительным только к звеньям МВП, показывает, что средний состав фракций отклоняется от среднего состава всего образца не более, чем на 1%. Это позволяет при обработке результатов перекрестного фракционирования пользоваться лишь наклоном калибровки градиентной ВЭЖХ по составу, сдвигая получающиеся кривые распределения по составу каждой ГПХ-фракции таким образом, чтобы ее средний состав был равен среднему составу всего образца. Полученная таким образом контурная карта распределения образца сополимера ВПД и МВП в координатах состав-ММ представлена на рис. 3. Характерная форма сужения распределения по составу в области больших ММ свидетельствует о значительном вкладе "мгновенной" (статистической) составляющей в общую неоднородность по составу [2].

Оценить степень этого вклада можно путем сравнения распределения по составу, полученному суммированием данного распределения по всем ММ, с теоретическим, рассчитанным в предположении рекомбинационного обрыва цепи ( $\bar{M}_w / \bar{M}_n = 1.7$  для исследуемого образца) [10]. Полученные кривые распределения по составу представлены на рис. 4. Среднее квадратическое отклонение от теоретического распределения по составу составляет 2.9% от среднего состава образца сополимера (38.1 мол. % звеньев МВП), а соответствующая величина для экспериментального распределения по составу — 4.9%. При данном среднем составе сополимера это соответствует колебаниям отношения концентрации МВП к концентрации ВПД в реакционной смеси относительного среднего, принимаемого за 100%, с  $\sigma = 20\%$ . Поскольку точность поддержания отношения концентраций мономеров в ходе синтеза не хуже 10% [13], что соответствует  $\sigma = 5\%$ , ос-

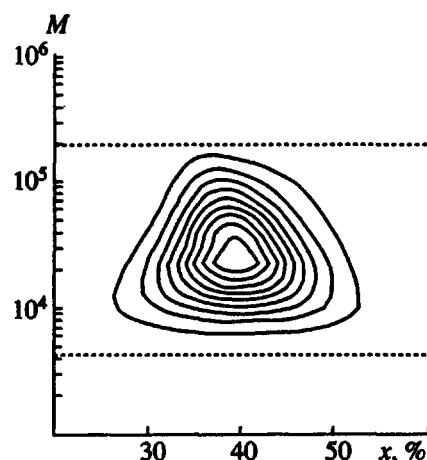


Рис. 3. Контурная карта распределения образца сополимера ВПД и МВП (38.1 мол. % звеньев МВП) по составу  $x$  и молекулярной массе  $M$ .

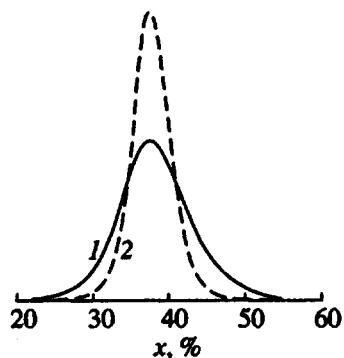


Рис. 4. Измеренное (1) и рассчитанное (2) распределение сополимера ВПД и МВП (38.1 мол. % звеньев МВП) по составу  $x$ .

тавшуюся дисперсию, по-видимому, следует отнести за счет других причин. Одной из них является неучтенное в приведенных рассуждениях приборное уширение хроматографических пиков, другая может быть связана с массопереносом в реакционном сосуде, прежде всего с недостаточно быстрым перемешиванием постоянно добавляемого более реакционноспособного МВП.

В то же время, учитывая практическое отсутствие зависимости среднего состава фракций сополимера от ММ, нет оснований предполагать наличие в данной системе каких-либо отклонений от классической схемы радикальной сополимеризации Майо-Льюиса, и сополимеры ВПД и МВП, полученные в условиях поддержания отношения концентраций мономеров, действительно обладают узким распределением по составу, насколько это вообще возможно для пары мономеров со столь сильно различающимися константами сополимеризации.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Платэ Н.А., Васильев А.Е. Физиологически активные полимеры. М.: Химия, 1986.
2. Мягченков В.А., Френкель С.Я. Композиционная неоднородность сополимеров. Л.: Химия, 1988.
3. Jordan R.C. // J. Liquid Chromatogr. 1980. V. 3. № 3. P. 439.
4. Haney M.A. // J. Appl. Polym. Sci. 1985. V. 30. P. 3037.
5. Tinland B., Mazet J., Rinaudo M. // Makromol. Chem. Rapid Commun. 1988. V. 9. P. 69.
6. Sommermeyer K., Cech F., Pfitzer E. // Chromatographia. 1988. V. 25. № 3. P. 167.
7. Wu C.S., Senak L. // J. Liquid Chromatogr. 1990. V. 13. № 5. P. 851.
8. Lesec J., Volet G. // J. Liquid Chromatogr. 1990. V. 13. № 5. P. 831.
9. Nagy J.D. // J. Liquid Chromatogr. 1990. V. 13. № 4. P. 677.
10. Glockner G., Stejskal J., Kratochvil P. // Makromol. Chem. 1989. V. 190. S. 427.
11. Федоров Е.К. // Журн. физ. химии. 1991. Т. 65. № 10. С. 2739.
12. Семчиков Ю.Д., Князева Т.Е., Смирнова Л.А., Рябов С.А., Славницкая Н.Н., Модева Ш.И., Булгакова С.А., Шерстяных В.И. // Высокомолек. соед. А. 1987. Т. 29. № 12. С. 2625.
13. Федоров Е.К., Лобанов О.Е., Мосалова Л.Ф., Свергун В.И., Кедик С.А., Кириш Ю.Э. // Высокомолек. соед. А. 1994. Т. 36. № 9. С. 1446.
14. Портрет Д. // Фракционирование полимеров / Под ред. Кантова Г. М.: Мир, 1971. С. 86.
15. Senak L., Wu C.S., Malawer E.G. // J. Liquid Chromatogr. 1987. V. 10. № 6. P. 1127.
16. Light Scattering from Polymer Solutions / Ed. by Huglin, New York: Acad. Press, 1972.
17. Malini F.B., Kuo C.Y., Proverb T. // J. Appl. Polym. Sci. 1984. V. 29. P. 925.
18. Hert M., Strazielle C. // Eur. Polym. J. 1973. V. 9. № 6. P. 543.
19. Prochazka O., Kratochvil P. // J. Appl. Polym. Sci. 1986. V. 31. P. 919.
20. Беленький Б.Г., Виленчик Л.З. Хроматография полимеров. М.: Химия, 1978.
21. Mourey T.H., Miller S.M. // J. Liquid Chromatogr. 1990. V. 13. № 4. P. 693.
22. Froment P., Revillon A. // J. Liquid Chromatogr. 1987. V. 10. № 7. P. 1383.
23. Yau W.W., Rementer S.W. // J. Liquid Chromatogr. 1990. V. 13. № 4. P. 627.

## Study of Molecular Mass and Chemical Composition Heterogeneity of Random Copolymers of *N*-Vinylpyrrolidone and 2-Methyl-5-vinylpyridine by Liquid Chromatography Methods

E. K. Fedorov and C. A. Kedik

*Chemical and Pharmaceutecal Company "Kovidon", ul. Zivopisnaya 46, Moscow, 123182 Russia*

**Abstract** — The molecular mass and chemical composition heterogeneity of random copolymers of *N*-vinylpyrrolidone and 2-methyl-5-vinylpyridine obtained by radical copolymerization with control of monomer concentrations ratio was investigated. The molecular mass distribution of those copolymers was studied by exclusion chromatography with low-angle laser light-scattering and differential viscometer detectors. The applicability of the universal calibration is shown on TSK-PW columns with methanol (80%)—water (20%)—LiNO<sub>3</sub> (0.02 M) as eluent by comparison with poly-2-methyl-5-vinylpyridine and polyethyleneglicols. A chromatographic cross-fractionation study of the chemical composition distribution was performed by reversed-phase HPLC analysis of GPC fractions in water—isopropanol gradient. The chemical composition distribution from the experiment is found to be broader than calculated one for copolymers with low content of 2-methyl-5-vinylpyridine. The possible causes of the observed difference are discussed.