

УДК 541.64:539.2

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МЕМБРАНЫ НА ОСНОВЕ МОНОСЛОЕВ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ МОНОМЕРОВ¹ (Обзор)

© 1997 г. С. Ю. Зайцев*, В. В. Егоров**, В. П. Зубов**

* Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
117871 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

** Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии
117871 Москва, ул. Скрябина, 23

*** Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова
119831 Москва, пр. Вернадского, 86

Поступила в редакцию 09.07.96 г.

Принята в печать 14.08.96 г.

Синтезирован ряд поверхностно-активных и липидоподобных мономеров с полимеризующимися группами (акриловыми, метакриловыми, диеновыми, диновыми) в гидрофильной или гидрофобной частях молекулы. Детально исследована их полимеризация в монослоях. Найдены общие закономерности и особенности кинетики полимеризации поверхностно-активных мономеров в монослоях на границе раздела жидкость–газ. На основе синтезированных мономеров получены функциональные полимерные мембранны с иммобилизованными белками (глюкозооксидазой, бактериородопсином, фотосинтетическими реакционными центрами), перспективные для применения в биосенсорных устройствах, молекулярной электронике и медицинской диагностике.

ВВЕДЕНИЕ

Ультратонкие ориентированные мембранны (прежде всего моно- и мультислои различных ПАВ, поверхностно-активных мономеров (ПАМ), а также их полимеров) – уникальные системы для изучения химических реакций, протекающих на границе раздела фаз. К одной из наиболее интересных реакций относится радикальная полимеризация ПАМ в ориентированных системах [1–4]. Исследование этого процесса вносит существенный вклад в решение таких проблем химии полимеров как управление процессом полимеризации и получение полимеров с заданными структурой и свойствами. Кроме того, указанные системы являются удобными моделями для структурно-функционального исследования биологических мембранных и их компонентов [4–6]. Такие модели особенно нужны при изучении процессов самоорганизации биологически активных молекул, молекулярного узнавания и транспорта, протекающих в биомембранных [5–8]. В практическом плане полимерные монослои, а также функциональные ультратонкие ориентированные мембранны на их основе, перспективны для применения в биосенсорных устройствах, молекулярной электронике, голографии и медицинской диагностике [8–15].

В отличие от традиционных ПАВ, монослои ПАМ и соответствующих полимеров, особенно

кинетические аспекты полимеризации ПАМ в монослое, изучены мало и фрагментарно. Некоторые аспекты этой проблемы нашли свое отражение в обзорах Ringsdorf [1], Fendler [2], Арсланова [3] и других [4–6].

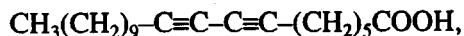
Цель настоящей работы заключалась в том, чтобы выявив общие закономерности полимеризации в монослоях ряда специально синтезированных ПАМ с заданной структурой, предложить основные принципы создания функциональных ультратонких ориентированных мембранных на основе синтетических и природных полимеров с комплексом требуемых свойств.

СИНТЕЗ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ И ЛИПИДОПОДОБНЫХ МОНОМЕРОВ

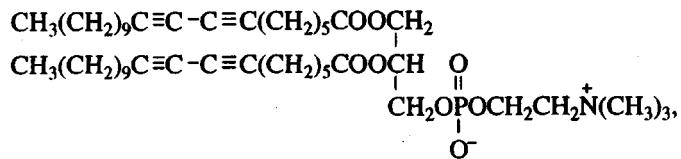
В работе проведен направленный синтез широкого круга поверхностно-активных и липидоподобных мономеров, которые можно классифицировать по следующим основным признакам: природе головной группы (катионная, анионная, неионная); положению полимеризующейся группы в гидрофильной или гидрофобной частях молекулы; количеству полимеризующихся групп в одной молекуле ПАМ (одна или две); количеству гидрофобных цепей в одной молекуле ПАМ (одна или две). В настоящем обзоре представлены некоторые наиболее важные, с нашей точки зрения, представители каждого из типов ПАМ:

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 95-03-08496).

тетракоза-11,13-дииновая кислота (ТДК)



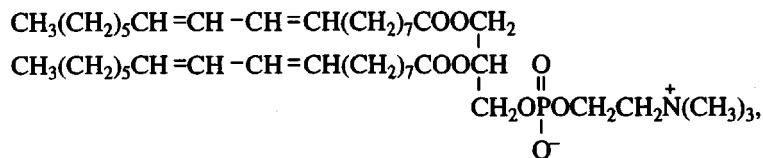
1,2-ди-O-тетракоза-11,13-дииноглицеро-3-фосфорилхолин (ТДФХ)



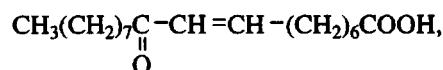
октадека-7,9-диеновая кислота (БДК)



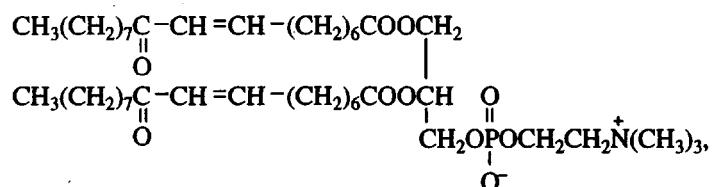
1,2-ди-O-октадека-7,9-диеноилглицеро-3-фосфорилхолин (ДОДЛ)



12-кето-10-октадеценовая кислота (ОДК)

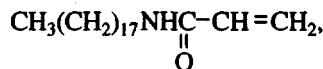


1,2-ди(12-кето-10-октадеценоил)глицеро-3-фосфорилхолин (ОДФХ)

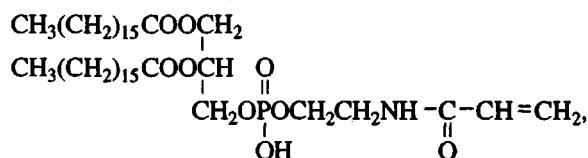


винилстеарат $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COO}-\text{CH}=\text{CH}_2$,

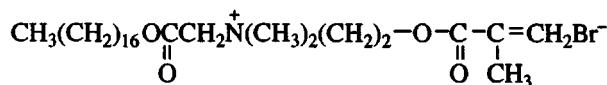
N-акрилоилоктадециламид (АКОДА)



N-акрилоилфосфатидилэтаноламид (АКФЭ)



N,N-диметил,N-цетилацетилметакрилоилэтиламмоний бромид (МА-16Br)



Наиболее широко представлены анионактивные соединения, содержащие полимеризующиеся группы в гидрофильной головке (акриловые, метакриловые); на конце алифатической цепи (акриловые, метакриловые) или в середине алифатической цепи (дииновые, диеновые, кетоеноноевые). Одним из наиболее простых и удобных методов введения полимеризующихся групп в гидрофильную область молекул синтетических или природ-

ных ПАВ является ацилирование соответствующей функциональной группы ангидридами акриловой или метакриловой кислот. Например, ацилирование октадециламина (ОДА), фосфатидилэтаноламина или дипальмитоилфосфатидилэтаноламина (ДПФЭ) по первичной аминогруппе акрилоилхлоридом в различных органических растворителях дает возможность получить АКОДА, АКФЭ или N-акрилоилдипальмитоилфосфатидилэтаноламид

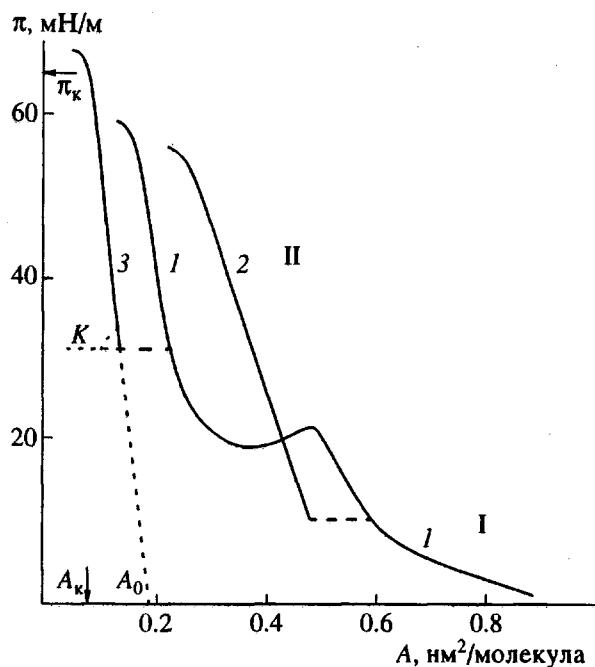


Рис. 1. Изотермы поверхности давление–площадь на молекулу для монослоев ТДК (I) и ее полимеров, полученных при давлении 10 (II) и 30 мН/м (III). Пояснения в тексте.

(АКДПФЭ) соответственно [16–18]. Этот достаточно простой метод позволяет синтезировать указанные вещества с высоким выходом (вплоть до 93%).

Синтез широкого круга катионактивных аммонийных ПАМ, также содержащих полимеризующиеся группы в гидрофильной части молекул, детально описан в работах [19–21].

Липидоподобные неионные ПАМ с полимеризующимися группами в середине алифатической цепи (дииновые, диеновые, кетоеноноевые) синтезированы путем замещения алифатических цепей природных липидов на цепи, содержащие указанные группы [1, 22, 23]. Первый этап синтеза – гидролиз природных липидов щелочью с получением глицерофосфата, который в дальнейшем переводили в кадмиевый комплекс [24]. На втором этапе предварительно синтезированные жирные кислоты с полимеризующимися группами переводили в ангидриды. Заключительным этапом синтеза являлась реакция полученных ангидридов с кадмиевым комплексом глицерофосфата.

Например, путем окисления и последующей изомеризации рецинолевой кислоты получали ОДК, содержащую сопряженные связи $C=C$ и $C=O$ в середине алифатической цепи [23]. Ключевой момент синтетической схемы – ацилирование кадмиевого комплекса глицерофосфоглицина действием ОДК в присутствии N,N' -дициклогексилкарбодиимида с образованием соответствующего поли-

меризующегося кетоенонового липида (ОДФХ). Эта схема является универсальной для синтеза липидов с полимеризующимися группами в середине гидрофобной части молекул и применима для получения соответствующих дииновых и диеновых производных лецитина [1, 22, 23]. Выбор лецитина, который является цвиттер-ионом в широком диапазоне pH, не случаен, так как он – наиболее важный структурный элемент биологических мембран, легко выделяется и относительно устойчив [24].

Соединения, содержащие полимеризующиеся группы на конце алифатической цепи, синтезированы ацилированием спиртовых групп оксикислот с различной длиной алифатической цепи ангидридами акриловой или метакриловой кислот [25]. По указанной схеме путем ацилирования метакрилоилхлоридом спиртовых групп 12-гидроксидодекановой и 16-гидроксигексадекановой кислот получали их метакрилоильные производные [26]. 12-(Метакрилоилокси)додекановую (12-МАДДК) и 16-(метакрилоилокси)гексадекановую кислоты (16-МАГДК) переводили в присутствии триэтиламина в соответствующие ангидриды, которые использовали в дальнейшем для ацилирования глицерофосфоглицина. Образующиеся моно- и дизамещенные производные лецитина с полимеризующимися группами на концах алифатических цепей очищали колоночной хроматографией [26]. Структура синтезированных ПАМ подтверждена методами УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии.

Такой широкий набор соединений позволил провести детальное сравнительное исследование поверхностно-активных свойств и особенностей полимеризации ПАМ, а также определить наиболее приемлемые структуры для последующей иммобилизации биологически активных соединений.

СВОЙСТВА МОНОСЛОЕВ ПАМ И ИХ ПОЛИМЕРОВ

Все синтезированные ПАМ способны образовывать монослои на границе раздела вода–воздух. Основным методом изучения поведения молекул ПАВ в монослое является снятие изотерм типа площадь A , приходящаяся на молекулу ПАВ–поверхностное давление π . По этим изотермам экстраполяцией линейного участка кривых на ось абсцисс определяют площадь A_0 , приходящуюся на молекул вещества в монослое, а также коэффициент K , представляющий собой тангенс угла наклона экстраполированной прямой (рис. 1). Величина K характеризует линейную деформацию молекулы в монослое при соответствующем поверхностном давлении и является мерой жесткости (упругости) слоя. Путем построения перпендикуляра из точек перегиба на кривых к оси абсцисс и ординат получают величины давления π_k

и площади A_k , при которых происходит коллапс монослоя (рис. 1).

Изотермы $\pi-A$ для ПАМ, содержащих полимеризующиеся группы в гидрофобной части молекул (прежде всего диновых и диеновых кислот), имеют как правило три ярко выраженные области (рис. 1, кривая 1): при больших площадях и низких давлениях (жидкоконденсированное состояние I); при малых площадях и больших давлениях (жидкоконденсированное состояние II) и область перехода между ними в виде плато [27–29]. Состояние монослоя ТДК, при котором площадь на молекулу более чем в 2 раза превышает площади сечения алифатической цепи, характеризуется постепенным "подъемом" из горизонтального в вертикальное положение относительно поверхности раздела фаз (при небольшом увеличении поверхностного давления) концевого участка алифатической цепи с перегибом в области диновой связи. Стабильность этой "напряженной" структуры (состояние I) невелика, поскольку уже при давлении порядка 20 мН/м происходит коллапс такой конформации (рис. 1). В области перехода, при практически постоянном давлении, площадь на молекулу уменьшается более чем в 2 раза, что свидетельствует о постепенной переориентации всех молекул до стабильной конформации, в которой алифатическая цепь полностью вытянута и

строго перпендикулярна поверхности раздела фаз (состояние II).

Структура образующегося полимера существенно зависит от того, в каком состоянии (I или II) монослоя протекает полимеризация, но в любом случае образуется линейный полимер с системой сопряженных связей, что легко контролируется спектрофотометрически [27–29]. При полимеризации в состоянии I ($\pi = 10$ мН/м) образующийся полимерный монослой (рис. 1, кривая 2) обнаруживает давление коллапса, которое существенно выше, чем для монослоя мономера в состоянии I, но несколько ниже, чем в состоянии II (рис. 1, кривая 1). В случае полимеризации этого же мономера в состоянии II ($\pi = 30$ мН/м) образующийся полимерный монослой (рис. 1, кривая 3) также находится в жидкоконденсированном состоянии с давлением коллапса большем, чем характерно для монослоя мономера (рис. 1, кривая 1). Таким образом, путем полимеризации удается стабилизировать определенные конформации молекул ТДК (состояния I и II монослоя). Аналогичные результаты были получены при полимеризации ПАМ, содержащих сопряженные связи $C=C$ и $C=O$ в середине алкильной цепи [30] или метакриловые группы на конце гидрофобной части молекул [26].

Конкретные значения основных параметров монослоев ряда наиболее важных ПАМ и полимеров приведены в табл. 1 и 2 соответственно.

Таблица 1. Значения основных параметров монослоев некоторых ПАМ

ПАМ	A_0 , $\text{nm}^2/\text{молекул}$	π_k , мН/м	A_k , $\text{nm}^2/\text{молекул}$	$K \times 10^{-16}$, мН молекул/ m^3
Винилстеарат	0.235	26.5	0.190	5.82
АКОДА	0.250	60.7	0.165	7.14
ТДК	0.675	20.5	0.470	1.11
ТДФХ	1.005	24.5	0.305	0.35
БДК	0.320	35.7	0.185	2.50
ДОДЛ	0.685	55.6	0.300	1.44
ОДК	0.315	35.5	0.180	2.63
ОДФХ	0.925	52.5	0.515	1.28
АКДПФЭ	0.515	49.5	0.360	3.19
ДПФЭ	0.415	62.2	0.360	11.31
МА-16Br	1.040	41.0	0.150	0.42

Таблица 2. Значения основных параметров монослоев некоторых поверхностно-активных полимеров

Полимеры на основе	A_0 , $\text{nm}^2/\text{молекул}$	π_k , мН/м	A_k , $\text{nm}^2/\text{молекул}$	$K \times 10^{-16}$, мН молекул/ m^3
Винилстеарат	0.250	62.3	0.205	13.83
АКОДА	0.310	68.1	0.190	5.68
ТДК	0.520	64.3	0.220	2.14
ТДФХ	0.585	30.0	0.205	0.79
ОДФХ	0.700	53.0	0.480	2.40
ДОДЛ	0.530	62.0	0.167	1.71
АКДПФЭ	0.492	72.4	0.357	5.36
МА-16Br	0.510	58.0	0.250	2.38

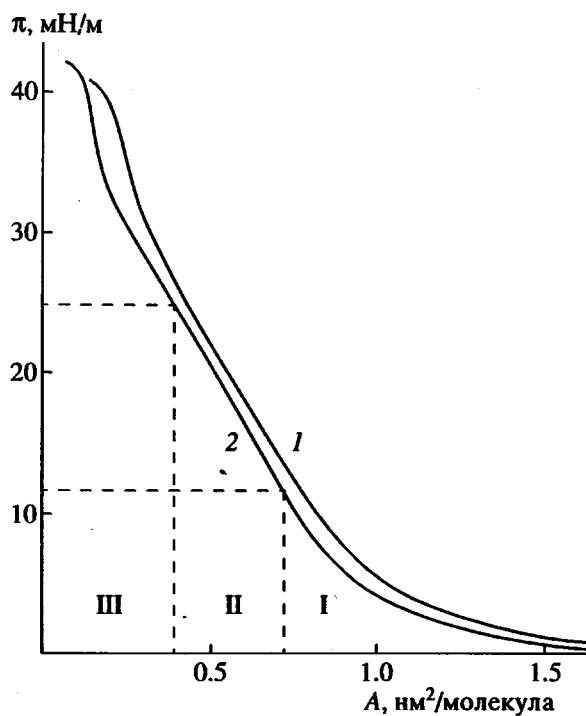


Рис. 2. Изотермы поверхностное давление–площадь на молекулу для монослоев MA-16Br (1) и MA-16Cl (2). Область I – жидкорастянутое; области II и III – жидкоконденсированные состояния монослоя с низкой и высокой плотностью упаковки молекул мономера.

Синтетические ПАМ с полимеризующимися группами (акриловыми или метакриловыми) в гидрофильной части молекул занимают несколько большие площади (A_0 и A_k), чем исходные ПАВ или их насыщенные аналоги (табл. 1), что свидетельствует о наличии кроме жидкоконденсированного также и жидкорастянутого состояния монослоев таких ПАМ. Из π - A -изотерм для аммонийных ПАМ – N,N-диметил, N-цетилацетилметакрилоил- этиламмоний хлорид (MA-16Cl) и MA-16Br [19–21], содержащих полимеризующиеся группы в гидрофильной части молекул, следует наличие трех ярко выраженных областей (рис. 2): жидкорастянутого состояния (при больших площадях и давлениях до 5–10 мН/м); жидкоконденсированного состояния I в областях давлений 10–30 мН/м и жидкоконденсированного состояния II вплоть до давления коллапса порядка 42 мН/м. Анализ на молекулярных моделях Стьюарта позволил отнести состояние I (площадь на молекулу ~1.1 нм²) к упаковке головных гидрофильных групп ПАМ, а состояние II (площадь на молекулу ~0.7 нм²) – к плотной упаковке гидрофобных алифатических цепей ПАМ [21]. После полимеризации таких ПАМ в монослое наблюдается уменьшение площади, приходящейся на мономерное звено полимера, по сравнению с площадью на молекулу соответствующего

мономера и существенное увеличение давления коллапса монослоя. Это означает, что монослои ПАМ после полимеризации становятся более жесткими и прочными (табл. 2). Аналогичные результаты были получены при полимеризации монослоев аналогов фосфолипидов, содержащих акриловые или метакриловые группы в гидрофильной части ПАМ [17, 18].

На характер π - A -изотерм, кроме природы мономера, оказывает влияние температура, pH, концентрация и состав ионов в водной субфазе, а также скорость сжатия монослоя, что было детально проанализировано в работах [19–21, 26–30].

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ПАМ И УСЛОВИЙ РЕАКЦИИ НА КИНЕТИКУ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ПАМ В МОНОСЛОЯХ

Кинетику полимеризации ПАМ в монослое можно исследовать по изменению таких параметров как площадь монослоя, поверхностное давление, потенциал, вязкость, оптическая плотность и других, но не гравиметрически из-за исключительно малых количеств вещества на границе раздела фаз. Наиболее удобным является контроль изменения площади монослоя при постоянном поверхностном давлении [27–32], что является двумерным аналогом дилатометрического метода [33]. Полимеризацию можно инициировать фотохимически, термически (в присутствии радикальных инициаторов в монослое или в водной субфазе) или окислительно-восстановительной парой из водной субфазы. Наиболее эффективен и удобен для кинетического исследования вариант инициирования полимеризации ПАМ непосредственно УФ-облучением монослоя с $\lambda = 250$ –260 нм без инициатора [1, 4]. Ранее было найдено, что полимеризация ПАМ ингибируется кислородом воздуха [19, 28] и сильным ингибитором радикальных процессов – стабильным радикалом тетраметилпиридин-N-оксидом (ТЕМПО) [19, 31, 32]. Это указывает на радикальный механизм процесса.

Поскольку уменьшение площади монослоя прямо пропорционально конверсии мономера [19, 26–30], приведенную скорость полимеризации ПАМ в монослое $v_{\text{пр}}$ определяли как скорость изменения площади монослоя, нормированную по его максимальной контракции к концу полимеризации ПАМ [19, 26, 29–32].

Для ряда ПАМ показано [19], что в пределах погрешности эксперимента порядок реакции полимеризации по мономеру близок к единице, а по инициатору – 0.5. Поэтому для описания реакции радикальной полимеризации ПАМ в монослое использовали известное уравнение скорости полимеризации в объеме для случая бимолекулярного обрыва [33]. Скорость полимеризации ПАМ в монослое, деленная на концентрацию мономера, при

постоянном поверхностном давлении 10 мН/м оказалась значительно больше, чем обычно наблюдается при полимеризации этих или аналогичных ПАМ в объеме (в растворе или в массе). Для выяснения причин этого явления были оценены значения констант для MA-16Br (табл. 3) в рамках схемы расчета констант элементарных реакций полимеризации ПАМ в монослоях, предложенной в работе [32]. Сравнение полученных значений с объемными (в растворе и мицеллах ПАМ) показывает, что переход от истинных к мицеллярным растворам и далее – к монослоям ПАМ сопровождается некоторым ростом k_p (175, 210 и 200–300 л/моль с соответственно). Причина же высоких скоростей полимеризации ПАМ в монослоях – по-видимому, значительное увеличение скорости инициирования при переходе от объемных (неориентированных) к организованным системам.

Как показано в работах [19, 34], структура ассоциатов мономеров оказывает существенное влияние на протекание полимеризации в них. В монослое изменение структуры легко регулируется путем изменения величины поверхностного давления. Использование этого подхода позволило детально исследовать зависимость кинетики полимеризации ПАМ различного строения от величины поверхностного давления в монослое.

Установлено, что для одно- и двуцепных диновых мономеров (ТДК и ТДФХ), содержащих полимеризующиеся группы в середине гидрофобной части молекул, приведенная скорость полимеризации близка к нулю при низких величинах поверхностного давления (<0.5 мН/м) (рис. 3а). Это обусловлено стерическими затруднениями для реакции роста цепи [1, 27]. По мере увеличения поверхностного давления (до величины порядка 10 мН/м) скорость полимеризации резко возрастает, что

объясняется все более удобным для реакции роста цепи взаимным расположением полимеризующихся групп молекул ПАМ. Максимумы на кривых v_{pp} наблюдаются при 12 и 8 мН/м для ТДК и ТДФХ соответственно. При этом абсолютные значения скорости полимеризации для ТДФХ почти в 400 раз ниже, чем для ТДК. При дальнейшем увеличении поверхностного давления до 20 мН/м скорость полимеризации для этих соединений резко уменьшается, что связано с переходом от состояния I к состоянию II в монослоях указанных ПАМ. Если поверхностное давление больше 20 мН/м, то скорость полимеризации монослоев ТДК остается постоянной и достаточно высокой, тогда как для липидоподобного ТДФХ – близка к нулю (рис. 3а). Это можно объяснить стерическими затруднениями при взаимодействии полимеризующихся групп в жидкоконденсированном состоянии монослоя с плотной упаковкой алифатических цепей. В этом случае особенно важна взаимная ориентация молекул ПАМ, связанная с геометрией молекул. Так, объемная полярная группа ТДФХ способствует вертикальному смещению молекулы относительно друг друга в плоскости раздела фаз, что препятствует реакции роста цепи. Для ТДК такое смещение должно быть незначительным, поскольку диаметр полярной группы в молекуле жирной кислоты близок к диаметру углеводородной цепи. Указанные эффекты доказывают влияние строения молекул ПАМ и структуры монослоя на реакцию полимеризации диновых мономеров, имеющую топохимический характер [27, 28].

Обнаруженная зависимость скорости полимеризации от давления (с одним резким максимумом), по-видимому, является универсальной для всех ПАМ, содержащих полимеризующиеся группы различной природы в середине жирных алкильных цепей. Еще одним примером тому может служить зависимость скорости полимеризации

Таблица 3. Кинетические параметры радикальной полимеризации MA-16Br в монослое при различных значениях концентрации ингибитора ТЕМПО и поверхностного давления

π , мН/м	$v_{pp} \times 10^{-4}$, с ⁻¹	[ТЕМПО] $\times 10^{-6}$, моль/л	k_p	$k_0 \times 10^{-8}$
			л/моль с	
2.5	3.1	1.3	170	0.4
2.5	3.1	0.8	150	–
2.5	3.1	2.0	210	–
2.5	3.1	4.0	200	–
5.0	2.55	0.6	280	1.7
10.0	1.8	0.4	320	4.4
15.0	1.0	~0.3	~230	~7.5
20.0	0.8	~0.3	~190	~7.8

Примечание. [ТЕМПО] рассчитано исходя из концентрации MA-16Br в монослое 4 моль/л (293 К, УФ-облучение с $\lambda = 254$ нм, $v_u = 1.4 \times 10^{-4}$ моль/л с).

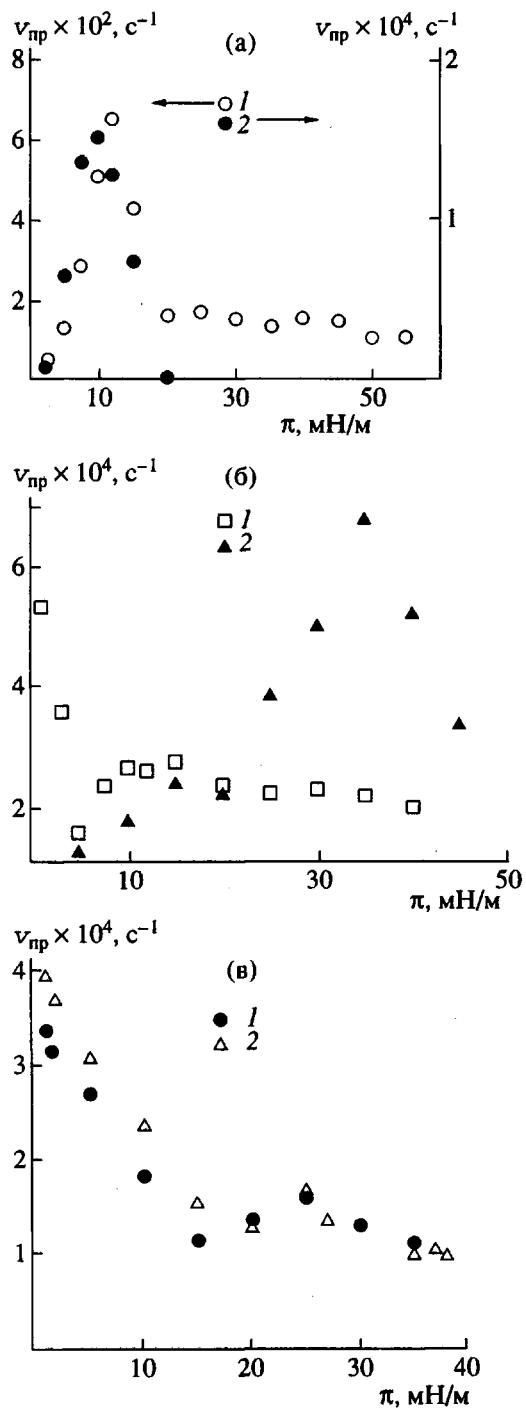


Рис. 3. Зависимость приведенной скорости полимеризации от поверхностного давления для монослоев следующих мономеров: а – ТДК (1) и ТДФХ (2); б – АКФЭ (1) и ОДФХ (2); в – МА-16Br (1) и МА-16Cl (2).

ОДФХ в монослое от величины поверхностного давления [30, 35] (рис. 3б). Однако максимум скорости в этом случае наблюдается при достаточно высоком давлении, равном 35 мН/м, что находит свое объяснение в структуре мономера.

Иной вид имеет зависимость скорости полимеризации от давления для монослоев ПАМ, содержащих полимеризующуюся группу на конце гидрофильной части молекулы [4]. Так, скорость полимеризации АКФЭ (рис. 3б) максимальна при минимальном поверхностном давлении и резко уменьшается при небольшом начальном его возрастании [35]. Минимум на кривой $v_{\text{pr}}-\pi$ наблюдается при давлении 5 мН/м, а затем следует небольшое повышение скорости. Широкий максимум в области давлений 10–15 мН/м постепенно переходит в область незначительного уменьшения скорости при больших величинах давления (вплоть до 40 мН/м) [35].

Аналогичные зависимости получены для ряда аммониевых ПАМ, содержащих полимеризующиеся группы (акриловые или метакриловые) в гидрофильной части молекул. В качестве примера на рис. 3в приведены зависимости скорости полимеризации от давления для монослоев МА-16Br и МА-16Cl, которые состоят также из трех участков. Их сравнение с изотермами $\pi-A$ для указанных мономеров (рис. 2) показывает, что границы участков на зависимости $v_{\text{pr}}-\pi$ удовлетворительно совпадают с границами соответствующих состояний монослоя мономера. Это позволяет связать кинетические особенности полимеризации аммониевых ПАМ со структурой их монослоев, как ранее было показано на примере диновых и диеновых ПАМ. Как видно из рис. 3в, увеличение поверхностного давления приводит к резкому понижению скорости полимеризации в области жидкокристаллического состояния монослоя. При полимеризации жидкоконденсированного монослоя с низкой плотностью упаковки молекул скорость возрастает, а далее уменьшается для жидкоконденсированного монослоя с высокой плотностью упаковки молекул мономера.

Обнаруженные явления хорошо соответствуют закономерностям, наблюдаемым в процессе радикальной полимеризации указанных ПАМ в мицеллярных растворах [34]. Зависимость приведенной скорости полимеризации от концентрации МА-16Br в растворе также состоит из трех участков, границы которых совпадают с критическими концентрациями мицеллообразования и перехода между мицеллярными структурами, образуемыми молекулами мономера в воде. Очевидно, что каждому уровню структурной организации молекул ПАМ в воде соответствует определенное состояние его монослоя на поверхности водной субфазы. Следовательно, должно существовать соответствие в полимеризационном поведении ПАМ в его ассоциатах в объеме и на границе раздела фаз.

При давлениях, несколько меньших давления коллапса, монослой находится в жидкоконденсированном состоянии с плотностью упаковки молекул,

близкой к максимальной, а в объеме это соответствует области сосуществования анизотропных и сферических мицелл ПАМ. Для обеих систем скорость полимеризации уменьшается с повышением концентрации мономера. Основной причиной этого эффекта в объеме является отсутствие полимеризации в анизотропных мицеллах мономера (низкая подвижность молекул мономера, сочетающаяся с взаимным расположением двойных связей, не способствующим протеканию полимеризации), доля которых по мере концентрирования системы возрастает одновременно с убыванием количества полимеризующихся сферических мицелл ПАМ. По-видимому, причина понижения скорости полимеризации в области жидкоконденсированного состояния монослоя МА-16Br аналогична и выражается в "сверхскжатии" молекул ПАМ, вынуждающем их смещаться вертикально относительно друг друга и перпендикулярно поверхности раздела фаз. На это указывает и обнаруженное понижение величины максимальной контракции монослоя после полимеризации по мере его концентрирования в этой области, наличие остаточных связей C=C и близость значений давления коллапса монослоя до и после УФ-облучения.

Сравним поведение ПАМ при полимеризации в жидкоконденсированном состоянии монослоя с низкой плотностью упаковки молекул и в области концентраций ККМ-I – ККМ-II в объеме, соответствующих сферическим мицеллам ПАМ. Увеличение давления, вызывающее уплотнение монослоя, приводит к повышению скорости полимеризации. В объеме рост скорости полимеризации ПАМ при увеличении плотности его сферических мицелл также наблюдается, например, при переходе к мицеллам с большим размером алифатического радикала или меньшим размером противоиона в молекуле [34, 36]. Это явление объясняется понижением величины константы скорости бимолекулярного обрыва цепи в результате увеличения микропрочности мицелл. Аналогично можно объяснить и увеличение скорости полимеризации ПАМ монослоя при повышении поверхностного давления. В пользу этого свидетельствует возрастание вязкости монослоя пропорционально росту поверхностного давления [11].

В области жидкокрасичного состояния монослоя МА-16Br, как и в процессе уменьшения концентрации ПАМ ниже ККМ-I в объеме, наблюдается резкое увеличение скорости полимеризации. Причину такого эффекта в растворе следует искать в изменении соотношения величин констант скорости реакций роста и бимолекулярного обрыва цепи при разбавлении системы [32]. Уменьшение концентрации ионогенного мономера в истинном растворе его в воде способствует повышению степени диссоциации ионогенных групп как мономера, так и радикала роста. В результате уменьшаются величины k_p и k_0 , причем последняя

в значительно большей степени (средний заряд растущего радикала выше, чем заряд мономера), что приводит к возрастанию скорости полимеризации. То же, по-видимому, можно отнести и к полимеризации на границе раздела вода–газ в области I монослоя (табл. 3).

На прямую аналогию в поведении ПАМ различной структуры при их полимеризации в монослоях на границе раздела фаз и в их мицеллах в объеме указывают и данные о полимеризации ПАМ, отличающихся размером противоиона в молекуле. На рис. 3в приведены зависимости скорости полимеризации от величины поверхностного давления для МА-16Cl в монослое. Как следует из их сравнения с соответствующими данными для МА-16Br, общий характер зависимостей при изменении размера противоиона в молекуле мономера сохраняется. В то же время величина скорости полимеризации в области жидкоконденсированных слоев для МА-16Cl несколько выше, чем для МА-16Br. Подобный эффект, как отмечено выше, наблюдали ранее и в области мицеллярных структур мономеров и связывали с уменьшением константы скорости бимолекулярного обрыва цепи при переходе к более плотно упакованным мицеллам мономера, имеющего меньший противоион в гидрофильной группе [34]. Можно полагать, что причина эффекта, обнаруженного в монослоях ПАМ, аналогична. На это указывает увеличение плотности упаковки жидкоконденсированных монослоев при переходе от МА-16Br и МА-16Cl [19–21].

Известно, что добавки различных соединений оказывают влияние на коллоидно-химическое поведение, в частности на структурообразование в монослоях ПАВ на границе раздела фаз [5, 6]. В этой связи было изучено влияние на структурообразование и полимеризацию одно- и двуцепных ПАМ в монослое добавок различной природы [37–41]: солей, спиртов и кислот с различной длиной алифатической цепи, цетилtrimетиламмоний бромида, синтетических полимеров, а также водорастворимых и мембранных белков.

Как видно из рис. 4а, увеличение концентрации NaBr в водной субфазе вызывает сначала рост, а затем понижение скорости полимеризации МА-16Br. При этом наблюдается уплотнение слоя, возможно, с появлением в нем новой фазы с большей плотностью и прочностью, что следует из повышения давления коллапса монослоя до 65.5 мН/м и появления перегиба на π -A-изотерме МА-16Br в присутствии соли в водной субфазе [37]. Первоначальное возрастание скорости процесса связано с уменьшением величины скорости обрыва цепи за счет увеличения вязкости монослоя, а дальнейшее понижение – с переходом части молекул мономера в "неполимеризующееся" состояние (скорость реакции роста цепи близка к нулю).

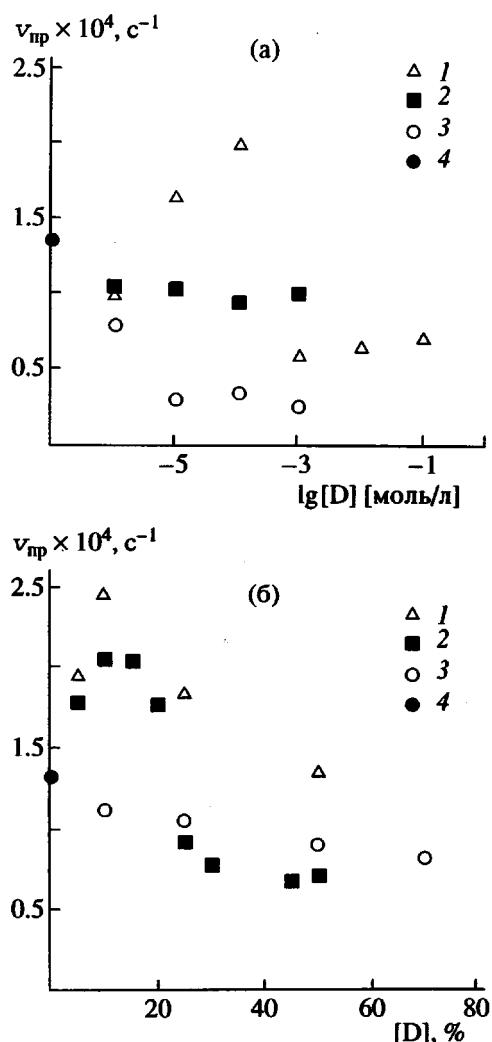


Рис. 4. Зависимость приведенной скорости полимеризации MA-16Br в монослое от логарифма концентрации добавок в воде (а) и от концентрации добавок в монослое (б). а: 1 – NaBr, 2 – ПЭГ, 3 – ПАК, 4 – без добавки; б: 1 – иммуноглобулин, 2 – предельный аналог ПАМ, 3 – цетиловый спирт, 4 – без добавки.

Последнее характеризуется низкой подвижностью молекул ПАМ (диффузионный фактор) и таким их взаимным расположением, которое не способствует протеканию реакции роста цепи (структурно-стерический фактор). В пользу этой трактовки свидетельствует также и неполная полимеризация мономера в монослое при высокой концентрации электролита в водной субфазе (уменьшение величины максимальной контракции монослоя после полимеризации).

Увеличение концентрации водорастворимых полимеров типа ПАК и ПЭГ в водной субфазе вызывает уменьшение скорости полимеризации мономера, более значительное – в случае ПАК (рис. 4а). При этом наблюдается “расширение” мо-

нослоя [37], что свидетельствует либо о встраивании добавки, либо о ее взаимодействии с мономером. Поскольку отрицательно заряженная ПАК способна связывать положительно заряженные ПАМ с образованием поликомплексов, уменьшение скорости полимеризации MA-16Br связано, по-видимому, с выводом из зоны реакции части мономера в виде комплекса [37]. Дополнительным свидетельством этого является непрерывное расширение монослоя при увеличении концентрации ПАК, которое наблюдается даже при высоких давлениях, что указывает на частичное встраивание ПАК в монослой и прочное ее удерживание. Более того, в данном случае уменьшается давление коллапса монослоя при сохранении гомогенности системы. Обнаружено значительное уменьшение максимальной контракции монослоя, что означает сохранение части ПАМ в незаполимеризованном виде. Наименьшая скорость полимеризации наблюдается в условиях, оптимальных для образования комплекса ПАМ-ПАК при pH 8.1 (рис. 4а).

Интересно рассмотреть влияние добавок типа ПАВ, практически не растворимых в воде. При добавлении в монослой цетилtrimетиламмоний бромида (ЦТАБ) или предельного аналога ПАМ скорости полимеризации мономера поникаются по мере увеличения концентрации добавки (рис. 4б). При этом наблюдается расширение монослоя за счет встраивания ПАВ, однако монослой остается гомофазным. Сказанное выше позволяет полагать, что причиной понижения скорости полимеризации в этих случаях, как и в мицеллах в объеме [40], является уменьшение концентрации мономера при увеличении количества неполимеризующегося ПАВ, способного к образованию смешанного монослоя. В пользу этого свидетельствует неизменность величины максимальной контракции монослоя. Важно, что ПАВ остается в составе монослоя и после полимеризации. На это указывает уменьшение давления коллапса смешанного монослоя MA-16Br-ЦТАБ (52.5 мН/м) после полимеризации по сравнению с полимерным монослоем MA-16Br (62.5 мН/м).

При добавлении цетилового спирта к монослою ПАМ (рис. 4б) скорость полимеризации мономера сначала возрастает, а затем поникается. Аналогичные явления отмечены при растворении электролита в субфазе (рис. 4а), однако цетиловый спирт в условиях эксперимента весь находится в монослое и не теряется даже при больших значениях поверхностного давления. Это позволяет предположить, что первоначальное повышение скорости полимеризации есть не что иное как уменьшение константы обрыва цепи в результате увеличения вязкости монослоя за счет встраивания в него гидрофобного спирта. Дальнейшее понижение скорости полимеризации связано с уменьшением концентрации ПАМ в результате

разбавления его монослоя спиртом. Сохранение величины максимальной контракции в этом случае при одновременном понижении давления коллапса полимера свидетельствует о полной полимеризации мономера с сохранением цетилового спирта в монослое.

При добавлении к монослою ПАМ иммуноглобулина обнаруживается также сначала увеличение, а затем уменьшение скорости полимеризации мономера (рис. 4б). Одновременно происходит расширение монослоя, что свидетельствует о встраивании белка в слой. В результате этого увеличивается вязкость монослоя, прилегающего к иммуноглобулину, вызывая уменьшение величины скорости реакции обрыва цепи, что приводит к возрастанию скорости полимеризации. При дальнейшем возрастании количества белка достигается его критическая концентрация, при которой подвижность ПАМ столь низка, что он неспособен к участию в реакции роста цепи (диффузионный контроль реакции). Исходя из значения критической концентрации иммуноглобулина показано, что влияние молекулы белка распространяется на почти 4000 молекул ПАМ в монослое. Это хорошо согласуется с данными по липид-белковым взаимодействиям в биомембранах [7]. Уменьшение скорости полимеризации ПАМ было обнаружено и при увеличении концентрации в монослое мембранных белков типа фотосинтетических реакционных центров [42].

Из анализа приведенных выше данных следует, что соединения, способные изменять расположение или подвижность молекул ПАМ в монослоях, оказывают существенное влияние на кинетику радикальной полимеризации мономеров на границе раздела фаз. Это важно иметь в виду на практике, например, при создании матриц для иммобилизации биологически активных соединений путем полимеризации ПАМ в монослоях.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ УЛЬТРАТОНКИЕ ОРИЕНТИРОВАННЫЕ МЕМБРАНЫ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ БЕЛКАМИ

Как для моделирования биомембран, так и для практического использования мембранных систем очень важно создавать полимерные моно- и мультислой ПАМ с функциональными элементами. Этого можно достичь, например, путем иммобилизации в монослои ПАМ ионоселективных краун-эфиров или пептидных ионофоров (способных селективно связывать катионы щелочных металлов), фоточувствительных азо- или стириловых красителей (способных к обратимой *цис-транс*-изомеризации под действием облучения при определенных длинах волн), поверхностно-активных нуклеозидов (способных связывать комплементарные пуриновые или пиримидиновые основания), биорецепторов (для молекулярного узнавания суб-

стратов) типа систем биотин-стрептавидин или антитело-антитело. Наиболее важными как в фундаментальном, так и в прикладном аспектах примерами функционализации монослоев ПАМ являются, по нашему мнению, иммобилизация водорасстворимых ферментов (типа глюкозооксидазы) или мембранных белков (типа бактериородопсина или бактериальных фотосинтетических реакционных центров).

Биосенсоры на основе полимерных монослоев с адсорбированной глюкозооксидазой

Наиболее активные исследования по биосенсорам в настоящее время сконцентрированы в области создания электродов с иммобилизованными ферментами [13, 14, 43]. Для создания таких систем широко обсуждаются достоинства техники Ленгмюра-Блодже [44-48]. Однако получить стабильные монослои ферментов на границе раздела вода-воздух долгое время не удавалось вследствие их высокой растворимости в водной субфазе и быстрой денатурации на границе раздела фаз [7]. Только недавно и практически одновременно несколько групп исследователей [43-48] добились успеха в получении адсорбционных слоев глюкозооксидазы на поверхности монослоев различных ПАВ или липидов и создании на их основе ферментных электродов.

Показано, что глюкозооксидаза значительно сильнее адсорбируется на монослои положительно заряженных смесей липидов типа фосфатидилхолина с ЦТАБ, чем на монослои цитрат-ионных или отрицательно заряженных липидов [44]. В то же время давление коллапса липид-белковых монослоев практически не отличается от такого для исходных монослоев липидов, что свидетельствует об их высокой стабильности. Повышенную адсорбцию ферmenta на смешанные монослои фосфатидилхолин-ЦТАБ можно объяснить электростатическим взаимодействием отрицательно заряженных участков белковых глобул с положительно заряженными аммониевыми и холиновыми группами ПАВ при нейтральных рН. Одновременно проведенная оценка активности и распределения ферmenta в "ленгмюровской ванне" показала, что концентрация и активность белка в слое существенно выше в присутствии предварительно сформированного монослоя липида [44]. Полученные липид-белковые монослои достаточно стабильны при высоких поверхностных давлениях (20-40 мН/м), что позволило перенести их на специальные электроды с образованием мультислойных структур заданной толщины, которые могут служить как биосенсоры на глюкозу [45].

С целью улучшения параметров такого биосенсора использовали MA-16Br - полимеризующийся аналог ЦТАБ. Этот положительно заряженный ПАМ способен образовывать стабильный монослой в отсутствие других липидов, что приводит к

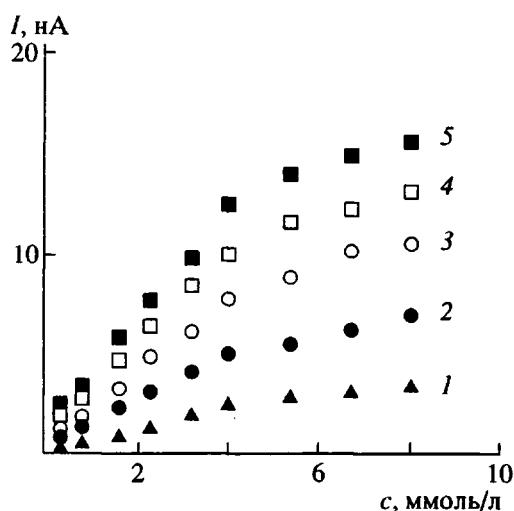


Рис. 5. Зависимость амперометрического отклика I от концентрации глюкозы c в электрохимической ячейке с платиновым электродом, покрытым двумя (1), четырьмя (2), шестью (3), восемью (4) и десятью (5) смешанными монослоями MA-16Br-глюкозооксидаза.

повышению суммарного положительного заряда монослоя ПАМ и увеличивает адсорбцию фермента на такой монослое. Наиболее важным результатом является линейная зависимость амперометрического сигнала биосенсора от концентрации глюкозы в области 0.5–5.0 ммоль/л (рис. 5). При дальнейшем увеличении концентрации глюкозы сигнал возрастает нелинейно, что можно объяснить как субстратным насыщением молекул фермента, так и кинетическим контролем амперометрического сигнала. Обнаружена линейная зависимость величины сигнала от числа нанесенных на электрод липид-белковых монослоев и от величины поверхностного давления, при котором осуществлялся переход липид-белковых монослоев на электрод [49]. Оба эффекта связаны с изменением количества фермента на электроде при указанных условиях. После полимеризации монослоя MA-16Br с адсорбированным ферментом, улучшается воспроизводимость измерений и увеличивается срок службы биосенсора за счет того, что жесткий полимерный монослой липида предотвращает постепенное вымывание фермента с поверхности электрода [49]. Таким образом, тонкопленочной технологией впервые получен биосенсор, способный измерять глюкозу в физиологической области концентраций.

Мембранны на основе бактериородопсина и его смесей с полимеризующимися липидами

Бактериородопсин – это мембранный светочувствительный белок, обеспечивающий трансмембранные разделение заряда (“протонный насос”) при

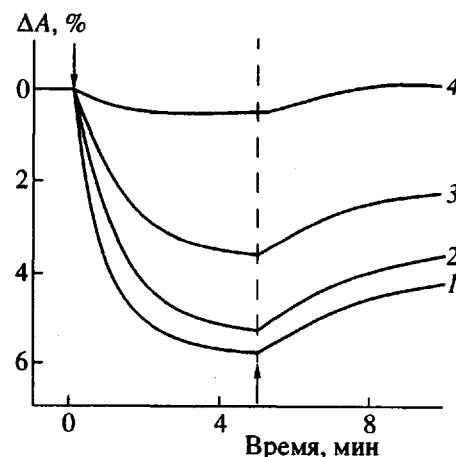


Рис. 6. Обратимые изменения площади от времени фотоактивации (570 нм) для исходных монослоев АКБР с АКФЭ (1) и бактериородопсина (2), а также монослоев бактериородопсина с АКФЭ (3) и АКБР с АКФЭ (4) после их полимеризации при 10 мН/м на 0.5 М растворе KCl. Стрелки вниз и вверх – включение и выключение облучения соответственно.

поглощении кванта света [7]. Поскольку бактериородопсин является гидрофобным белком, неудивительно, что он сам, даже без добавления липида, способен образовывать стабильные монослои на границе раздела фаз. Наиболее простым и удобным, по нашему мнению, является метод получения монослоев бактериородопсина при нанесении его из водной суспензии на различные солевые подложки [50–53]. Нативность бактериородопсина в моно- и мультислоях была подтверждена спектральными и фотоэлектрическими измерениями [52, 53], методами туннельной микроскопии и брюстеровского рассеяния [54].

Наиболее важные результаты были получены при изучении функционирования бактериородопсина и его производного, модифицированного акрилоилхлоридом по аминогруппам лизина (АКБР), под действием излучения в диапазоне 530–600 нм (максимум поглощения бактериородопсина 570 нм) в монослоях ПАМ и полимеров [51]. С началом облучения (стрелка вниз на рис. 6) всей поверхности монослоя бактериородопсина ($\lambda = 570$ нм) площадь монослоя уменьшается и через 4–5 мин достигает постоянных значений (поверхностное давление постоянно и равно 20 мН/м). После прекращения облучения (стрелка вверх на рис. 6) величина площади монослоя начинает медленно возвращаться к исходному значению. Указанные эффекты можно объяснить конформационными изменениями белка, связанными с его функциональной активностью. Обнаружено, что обратимое изменение площади монослоя для смешанных монослоев бактериородопсина или АКБР с липидами,

в том числе с полимеризующимся липидом АКФЭ (рис. 6, кривая 1), несколько больше, чем для индивидуального белка (рис. 6, кривая 2). По-видимому, это связано с большей подвижностью бактериородопсина в липидном окружении. Полимеризация липида при малой интенсивности УФ-облучения ($\lambda = 254$ нм) лишь немногого уменьшает обратимые изменения площади смешанного монослоя бактериородопсин-АКФЭ при фотоактивации белка (рис. 6, кривая 3). Иными словами, иммобилизация бактериородопсина в пленке линейного полимера не существенно ограничивает конформационную подвижность белка. С другой стороны, сополимеризация АКБР ("полифункционального макромономера") с АКФЭ в смешанном монослое при 254 нм уменьшает величину таких обратимых фотоизменений площади монослоя более чем на порядок (рис. 6, кривая 4). Следовательно, химическая иммобилизация модифицированного белка в липидное окружение с образованием сплошного полимерного монослоя значительно ограничивает конформационную подвижность бактериородопсина в возбужденном состоянии фотоцикла. Эти эффекты могут быть важны при создании фоточromных материалов и "биочипов" на основе бактериородопсина.

Мембранны на основе белков реакционных центров и их смесей с липидами

Реакционные центры фотосинтетических бактерий представляют собой хромофор-белковые комплексы, способные к фотоиндуцированному направленному переносу электрона через биомембранны [7]. В настоящее время получены и исследованы монослои реакционных центров из пурпурных (*Rhodopseudomonas viridis*, *Rhodobacter sphaeroides* дикий тип и штамм R-26) и зеленых (*Chloroflexus aurantiacus*) фотосинтетических бактерий [55–58]. Изотермы π - A для всех указанных реакционных центров имеют два участка с различным наклоном кривой, каждый из которых соответствует определенному состоянию монослоя [57]. При низких давлениях и больших площадях на молекулу (жидкорастянутое состояние) поведение монослоев реакционных центров определяется молекулами детергента или липида, которые "обволакивают" гидрофобную поверхность белковых глобул и препятствуют агрегации реакционных центров в водной суспензии. При давлениях выше 32 мН/м вплоть до давлений коллапса монослоев, наблюдается область жидкоконденсированного состояния чисто белкового монослоя [57], в котором далее изучали функционирование реакционных центров.

Использование специальных полимеризующихся липидоподобных мономеров позволило существенно влиять на ориентацию реакционных центров из *Rb. sphaeroides* в смешанных монослоях

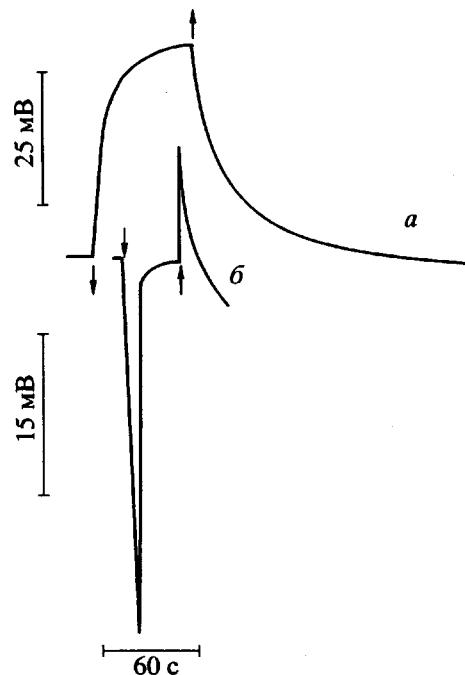


Рис. 7. Фотоэлектрический потенциал ленгмюровских пленок, состоящих из 10 монослоев белков реакционных центров из *Rb. sphaeroides* – АКФЭ (1 : 10, моль/моль) (а) из 25 монослоев белков реакционных центров из *Rb. sphaeroides* – ТДК (1 : 100, моль/моль) (б) при фотоактивации. Стрелки вниз и вверх – включение и выключение облучения соответственно.

вплоть до изменения на прямо противоположную и увеличить стабильность монослоев реакционных центров, что явилось важнейшим результатом исследований [58]. Так, пленки на основе реакционных центров и АКФЭ (мольное соотношение 1 : 10) после полимеризации полностью сохраняли свои спектральные и фотоэлектрические свойства (рис. 7). В ответ на вспышку света наблюдались характерные окислительно-восстановительные превращения в полосе поглощения димера бактериохлорофилла при 855 нм. Знак фотопотенциала и кинетика его генерации как до, так и после полимеризации совпадали с таковыми для пленок индивидуальных реакционных центров из *Rb. sphaeroides* (плюс на SnO_2 -электроде) [58]. В то же время смешанные пленки на основе реакционных центров из *Rb. sphaeroides* и ТДК (мольное соотношение 1 : 100) как до, так и после полимеризации обнаруживали противоположный знак фотопотенциала (минус на SnO_2 -электроде) (рис. 7) [58].

Таким образом, ориентация белковых молекул в монослое может изменяться искусственно и затем фиксироваться путем использования специальных ПАМ, что открывает новые перспективы для фоточувствительных материалов на их основе.

Авторы благодарны Е.А. Барышниковой, В.П. Верещетину, Е.П. Гришиной, Н.А. Калабиной, А.А. Клямкину, О.С. Новиковой и Е.П. Плясовой за помощь в работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бадер Х., Дорн К., Хунфер Б., Рингдорф Х.* // Успехи химии. 1987. Т. 56. № 12. С. 2028.
2. *Fendler J.H. Membrane Mimetic Chemistry: Characterizations and Applications of Micelles, Microemulsions, Monolayers, Bilayers, Vesicles, Host-Guest Systems and Polyions.* New York: Wiley, 1982.
3. *Арсланов В.В.* // Успехи химии. 1994. Т. 63. № 1. С. 3.
4. *Егоров В.В., Зайцев С.Ю., Зубов В.П.* // Высокомолек. соед. А. 1991. Т. 33. № 8. С. 1587.
5. *Birdi K.S. Lipid and Biopolymer Monolayers at Liquid Interfaces.* New York; London: Plenum Press, 1989.
6. *Ulman A. An introduction to Ultrathin Organic Films from Langmuir-Blodgett to Self-assembly.* Boston: Acad. Press, 1991.
7. *Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия.* М.: Просвещение, 1987.
8. *Львов Ю.М., Ерохин В.В., Зайцев С.Ю.* // Биологич. мембранны. 1990. Т. 7. № 9. С. 917.
9. *Roberts G.G.* // Sensors and Actuators. 1983. V. 4. P. 131.
10. *Kuhn H.* // Thin Solid Films. 1989. V. 178. P. 1.
11. *Блинов Л.М.* // Успехи физ. наук. 1988. Т. 155. № 3. С. 443.
12. *Блинов Л.М.* // Успехи химии. 1983. Т. 52. № 8. С. 1263.
13. *Гевод В.С., Ксенжик О.С., Решетняк И.Л.* // Биологич. мембранны. 1988. Т. 5. № 12. С. 1237.
14. *Moriizumi T.* // Thin Solid Films. 1988. V. 160. P. 413.
15. *Курочкин И.Н., Попов Б.Н., Чернов С.Ф.* // Биологич. мембранны. 1990. Т. 7. № 10. С. 1068.
16. *Зайцев С.Ю., Звонкова Е.Н., Зубов В.П.* // Биорган. химия. 1986. Т. 12. № 12. С. 1675.
17. *Зайцев С.Ю., Зубов В.П.* // Биологич. мембранны. 1988. Т. 5. № 3. С. 252.
18. *Zaitsev S.Yu., Zubov V.P.* // Makromol. Chem., Macromol. Symp. 1991. V. 46. P. 9.
19. *Клямкин А.А.* Дис. ... канд. хим. наук. М.: МГУ, 1992.
20. *Егоров В.В., Зайцев С.Ю., Клямкин А.А., Зубов В.П.* // Высокомолек. соед. А. 1990. Т. 32. № 5. С. 949.
21. *Егоров В.В., Зайцев С.Ю., Клямкин А.А., Ксенофонтова О.Б., Зубов В.П.* // Коллоид. журн. 1990. Т. 52. № 4. С. 770.
22. *Hupfer B., Ringsdorf H.* // Chem. Phys. Lipids. 1983. V. 33. P. 263.
23. *Молотковский Ю.Г., Дергоусов А.А., Бергельсон Л.Д.* // Биорган. химия. 1988. Т. 14. № 11. С. 1557.
24. *Бергельсон Л.Д., Дятловицкая Э.В., Молотковский Ю.Г., Батраков С.Г., Барсуков Л.И., Проказова Н.В.* Препартивная биохимия липидов. М.: Наука, 1981.
25. *Regen S.L., Singh A., Oehme G., Singh M.* // J. Am. Chem. Soc. 1982. V. 104. № 3. P. 791.
26. *Новикова О.С.* Дипломная работа. М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 1994.
27. *Day D., Ringsdorf H.* // J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed. 1978. V. 16. P. 205.
28. *Hupfer B., Ringsdorf H., Schupp H.* // Makromol. Chem. 1981. V. 182. № 1. P. 247.
29. *Гришина Е.П.* Дипломная работа. М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 1991.
30. *Плясова Е.П.* Дипломная работа. М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 1990.
31. *Егоров В.В., Клямкин А.А.* // Вестн. МГУ. Сер. 2, Химия. 1992. Т. 33. № 2. С. 197.
32. *Егоров В.В., Клямкин А.А., Зубов В.П.* // Вестн. МГУ. Сер. 2, Химия. 1995. Т. 36. № 5. С. 488.
33. *Багдасарьян Х.* Теория радикальной полимеризации. М.: Наука, 1966.
34. *Егоров В.В., Батракова Е.В., Зубов В.П.* // Высокомолек. соед. А. 1988. Т. 30. № 9. С. 1895.
35. *Зайцев С.Ю., Клямкин А.А., Плясова Е.П., Верещетин В.П., Зубов В.П.* // Высокомолек. соед. Б. 1995. Т. 37. № 10. С. 1762.
36. *Егоров В.В., Батракова Е.В., Орлов Ю.Н., Зубов В.П., Кабанов В.А.* // Высокомолек. соед. Б. 1985. Т. 27. № 2. С. 87.
37. *Егоров В.В., Клямкин А.А., Зубов В.П.* // Высокомолек. соед. А. 1992. Т. 34. № 11. С. 61.
38. *Егоров В.В., Ксенофонтова О.Б., Бондарев В.Н., Супрун Н.В., Клямкин А.А., Новаковский В.Б., Зайцев С.Ю.* // Вестн. МГУ. Сер. 2, Химия. 1991. Т. 32. № 5. С. 526.
39. *Себякин Ю.Л., Смирнова Ю.В., Клямкин А.А., Ксенофонтова О.Б., Зайцев С.Ю., Егоров В.В., Евстигнеева Р.П.* // Докл. РАН. 1992. Т. 322. № 5. С. 929.
40. *Егоров В.В., Ксенофонтова О.Б., Клямкин А.А.* // Коллоид. журн. 1991. Т. 53. № 1. С. 14.
41. *Егоров В.В., Ксенофонтова О.Б., Батракова Е.Б.* // Коллоид. журн. 1991. Т. 53. № 2. С. 143.
42. *Калабина Н.А., Зайцев С.Ю., Зубов В.П.* // Биологич. мембранны. 1994. Т. 11. № 3. С. 324.
43. *Scheller F., Schubert F., Neumann B., Pfeiffer D., Hintsche R., Dransfeld I., Wollenberger U., Renneberg R., Warsinke A., Johansson G., Skoog M., Yang X., Bogdanovskaya V., Buckmann A., Zaitsev S.Yu.* // Biosensors and Bioelectronics. 1991. V. 6. № 3. P. 245.
44. *Зайцев С.Ю., Ханке Т., Волленбергер У., Эберт Б., Калабина Н.А., Зубов В.П., Шеллер Ф.* // Биорган. химия. 1991. Т. 17. № 6. С. 767.
45. *Zaitsev S.Yu.* // Colloids and Surfaces. 1993. V. 75. P. 211.
46. *Sriyudthsak M., Yamagishi H., Moriizumi T.* // Thin Solid Films. 1988. V. 160. P. 463.

47. Okahata Y., Tsuruta T., Ijiro K., Ariga K. // Langmuir. 1988. V. 4. P. 1373.
48. Arizawa S., Yamamoto R. // Thin Solid Films. 1992. V. 210/211. P. 443.
49. Zaitsev S.Yu. // Sensors and Actuators. B. 1996. V. 24/25. P. 177.
50. Зайцев С.Ю., Дзехцер С.В., Зубов В.П. // Биоорганская химия. 1988. Т. 14. № 6. С. 850.
51. Zaitsev S.Yu., Dzekhtser S.V., Zubov V.P. // Studia Biophysica. 1989. V. 132. № 1/2. P. 105.
52. Lykashev E.P., Zaitsev S.Yu., Kononenko A.A., Zubov V. P. // Studia Biophysica. 1989. V. 132. № 1/2. P. 111.
53. Лукашев Е.П., Зайцев С.Ю., Кононенко А.А., Зубов В.П. // Докл. АН СССР. 1989. Т. 308. № 1. С. 225.
54. Зайцев С.Ю., Маак Ю., Мебус Д., Зубов В.П. // Биологич. мембранны. 1994. Т. 11. № 4. С. 525.
55. Калабина Н.А., Зайцев С.Ю., Кутузов М.А., Золотарев А.С., Лукашев В.П., Кононенко А.А., Абдулаев Н.Г., Зубов В.П. // Биологич. мембранны. 1990. Т. 7. № 10. С. 1086.
56. Zaitsev S.Yu., Kalabina N.A., Zubov V.P., Lukashew E.P., Kononenko A.A., Uphaus R.A. // Thin Solid Films. 1992. V. 210/211. P. 723.
57. Zaitsev S.Yu., Kalabina N.A., Zubov V.P., Chumanov G., Gaul D., Cotton T.M. // Colloids and Surfaces. 1993. V. 78. P. 211.
58. Kalabina N.A., Zaitsev S.Yu., Zubov V.P., Lukashew E.P., Kononenko A.A. // Makromol. Chem., Macromol. Symp. 1996. V. 106. P. 193.

Functional Polymeric Membranes Based on Monolayer Films of Surface-Active Monomers

S. Yu. Zaitsev*, V. V. Egorov**, and V. P. Zubov***

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117871 Russia

**Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology,
ul. Skryabina 23, Moscow, 117871 Russia

***Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology,
pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119831 Russia

Abstract—A series of surface-active and lipid-like monomers, having polymerizable groups (acrylic, methacrylic, dienoic, and dioic) in hydrophilic and hydrophobic parts of molecules, were synthesized. Polymerization reactions of these monomers in monolayers were studied in detail. The general laws and the kinetic features of polymerization of the surface-active monomers in monolayers at the liquid–gas interface were established. The synthesized monomers were used to obtain functional polymeric membranes with immobilized proteins (glucose oxidase, bacteriorhodopsin, photosynthetic reaction centers) having good prospects for applications in biosensor devices, molecular electronics, and medical diagnostics.