

УДК 541.64:539.199.543.422.27

## ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА МЕТОДОМ СПИНОВОГО ЗОНДА<sup>1</sup>

© 2000 г. П. П. Камаев, И. И. Алиев, А. Л. Иорданский, А. М. Вассерман

Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук  
117977 Москва, ул. Косыгина, 4

Поступила в редакцию 08.04.99 г.  
Принята в печать 18.10.99 г.

Методом спинового зонда в области 20–90°C исследована молекулярная подвижность поли-3-оксибутирата. В качестве зондов использовали стабильные нитроксильные радикалы – 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил и 2,2,6,6-тетраметил-4-гидроксипиперидин-1-оксил. Исследовали две группы образцов полимера, отличающиеся способом приготовления – изотропные и текстурированные. В некристаллических областях поли-3-оксибутирата обнаружены участки, существенно отличающиеся по молекулярной подвижности. Предполагается, что “плотные” участки с относительно низкой молекулярной подвижностью полимерных цепей расположены вблизи поверхности кристаллов, тогда как “аморфные” участки с большой подвижностью удалены от поверхности кристаллитов. Молекулярная подвижность в “плотных” участках изотропных и текстурированных образцов практически не отличается, тогда как в “аморфных” участках изотропных образцов она меньше, чем в соответствующих участках текстурированных образцов. Насыщение полимера парами воды приводит к изменению как подвижности полимерных цепей, так и относительного содержания “аморфных” и “плотных” участков.

### ВВЕДЕНИЕ

Поли-3-оксибутират (ПОБ), который является важнейшим представителем микробиологически синтезируемых полимеров – полиоксиалканоатов [1, 2], интенсивно исследуется в связи с расширяющимися областями его применения. В виде пленок, волокон и конструкционных материалов ПОБ находит применение в качестве экологически безопасных упаковок [3, 4], в сельском хозяйстве, при инкрустации элитных сортов семян, в биотехнологии, в хирургии – при создании материалов для имплантации в организм человека [5, 6]. ПОБ способен к биодеградации [7–9], обладает тромборезистентными свойствами [10, 11], совместим с биологическими средами [12, 13]. Материалы на основе этого полимера применяются в качестве хирургических нитей, а также для создания лекарственных систем пролонгиро-

ванного действия [14, 15], в частности при борьбе с онкологическими заболеваниями [16].

Несмотря на большое внимание, уделяемое ПОБ в последнее время, остается открытым вопрос об особенностях его молекулярной динамики и ее взаимосвязи со структурными [17, 18] и транспортными [19, 20] характеристиками. Вместе с тем, поиск такой связи представляет большой интерес для создания новых материалов с регулируемыми диффузионными характеристиками. В настоящей работе мы использовали метод спинового зонда для выяснения особенностей молекулярной динамики мембран ПОБ, отличающихся структурной организацией [21]. Кроме того, мы попытались ответить на вопрос, как изменяется молекулярная подвижность ПОБ при насыщении его парами воды.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследовали пленки ПОБ, отличающиеся структурной организацией – текстурированные и изотропные.

<sup>1</sup> Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 99-03-32078).

Текстурированные образцы ПОБ получали следующим способом. Из исходного порошка полимера (Biomer<sup>®</sup>) кипящим хлороформом экстрагировали растворимую часть (растворимость порядка  $10^{-2}$  г/мл). Из выделенного таким способом полимера готовили 3%-ный раствор в хлороформе. Раствор выливали в чашку Петри, плотно закрывали ее стеклом и оставляли при 20°C до испарения растворителя.

Для получения изотропных образцов ПОБ исходный порошок полимера растворяли в диоксане: готовили 5%-ный раствор и доводили его до кипения. Затем диоксан испаряли и из выделенного полимера готовили 3%-ный раствор в хлороформе при нагревании. Раствор фильтровали через фильтр Шотта (пор 160), выливали в чашку Петри, плотно закрывали стеклом и оставляли при 20°C до испарения растворителя.

Чтобы удалить остатки растворителя из полученных пленок, их выдерживали в вакууме при 80°C в течение 2–3 ч. Полноту удаления растворителя контролировали по ИК-спектрам образцов. Наблюдали уменьшение интенсивности полос поглощения в области 873–876, 2855 см<sup>-1</sup> для диоксана и при 756, 3012–3040, 2976–2992 см<sup>-1</sup> для хлороформа [22, 23].

Степень кристалличности полимера в пленках, определенная методом РСА, в обоих случаях составляла ~70% [17, 18]. Средневесовые молекулярные массы полимера, определенные методом вискозиметрии, составляли  $(110 \pm 26) \times 10^3$  для текстурированных и  $(193 \pm 32) \times 10^3$  для изотропных образцов ПОБ [20].

Спиновые зоны – радикалы 2,2,6,6-тетраметил-пиперидин-1-оксил (**ТЕМПО**) и 4-гидрокси-2,2,6,6-тетраметил-пиперидин-1-оксил (**ТЕМПОЛ**) вводили в раствор полимера перед его поливом на чашку Петри. Концентрация радикала в твердом полимере составляла  $\sim 10^{17}$  спин/см<sup>3</sup>.

Из пленок ПОБ, не содержащих остатков растворителя, вырезали пластинки длиной 2 см и шириной 2 мм. Толщина пластинок колебалась от  $60 \pm 5$  до  $40 \pm 4$  мкм. Для регистрации спектров ЭПР стопку пластинок помещали в стеклянные ампулы диаметром 4 мм.

Изучали также увлажненные образцы ПОБ. Для этого пленки полимера выдерживали в насыщенных парах воды при 20°C в течение 15–17 ч. Предварительные сорбционные эксперименты показали, что этого времени достаточно для достижения равновесного насыщения полимера парами воды [19]. Затем образцы помещали в стеклянные ампулы, ампулы запаивали и регистрировали спектры ЭПР. Концентрация воды в изотропных и текстурированных пленках при данных условиях, согласно сорбционным данным [19, 20], составляла  $\sim 5 \times 10^{-3}$  г/см<sup>3</sup> (в расчете на их аморфную часть).

Спектры ЭПР регистрировали на ЭПР-спектрометре X-диапазона фирмы “Radiopan” SE/X-2544 (Польша) при условиях, далеких от насыщения, в интервале 20–90°C. Регистрацию проводили как при нагревании, так и при охлаждении образцов. Скорость нагревания и охлаждения образцов составляла 2 град/мин.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Высококристаллический ПОБ при осаждении из растворов формирует ламеллярные кристаллиты, в которых цепи макромолекул находятся в складчатой конформации [2, 24]. Орторомбическая элементарная ячейка ПОБ имеет параметры  $a = 0.58$ ,  $b = 1.3$ ,  $c = 0.60$  нм [2, 17, 18] и включает в себя две макромолекулы в форме спиралей, находящихся в антипараллельных ориентациях относительно друг друга [25].

В текстурированных образцах кристаллиты ПОБ ориентированы осью *c* кристаллографической ячейки вдоль нормали к плоскости пленки. Кристаллиты в таких образцах образуют упорядоченные области, в которых они широкими гранями “наложены” друг на друга и ориентированы осью *c* вдоль нормали к плоскости пленки. В изотропных образцах ПОБ кристаллиты не ориентированы, т.е. расположены хаотически [17, 18].

Стабильные радикалы ТЕМПО и ТЕМПОЛ, используемые в работе в качестве зондов, имеют линейные размеры, превышающие 0.5 нм [26–28], и не могут проникнуть между складками макромолекул ПОБ в кристаллитах. Радикалы, по-видимому, локализуются в прослойках между кристаллами, толщина которых составляет 1.8 нм [17, 18]. Действительно, в кристаллических полимерах

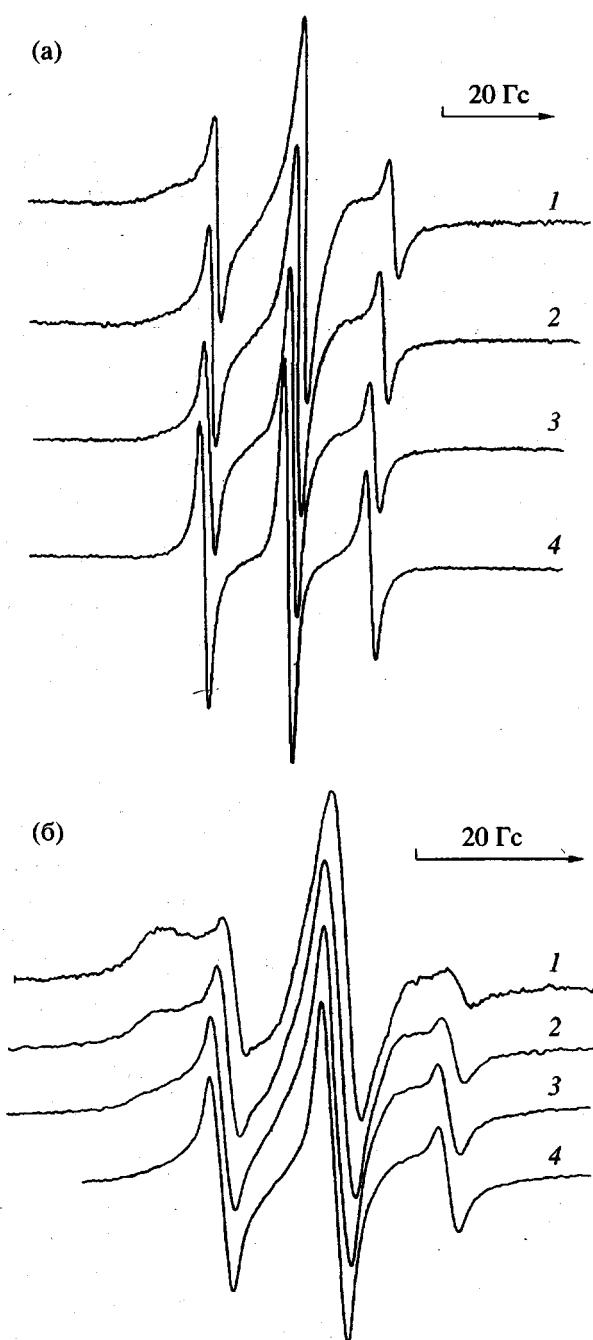


Рис. 1. Спектры ЭПР радикалов ТЕМПО (а) и ТЕМПОЛ (б) в текстурированных сухих пленках ПОБ при 20 (1), 40 (2), 60 (3) и 80°C (4).

зонды обычно локализуются в неупорядоченных областях полимерной матрицы, и вращательная подвижность зондов характеризует динамику именно этих областей [26, 27].

Спектры ЭПР зондов ТЕМПО и ТЕМПОЛ в матрицах ПОБ (рис. 1) представляют собой хоро-

шо разрешенные триплеты с признаками суперпозиции спектров от радикалов с разными значениями времени корреляции вращения  $\tau$ . Суперпозиция выражается в появлении дополнительных экстремумов на основном триплете. Угловая зависимость спектров отсутствует.

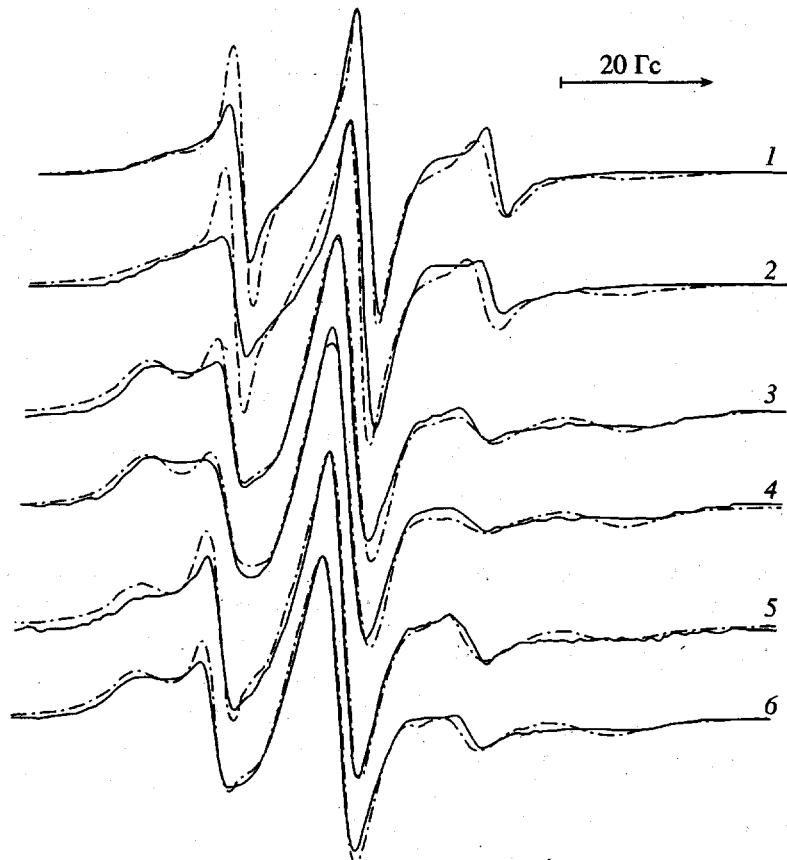
Как видно из рис. 1, наиболее заметно признаки суперпозиции спектров от быстро и медленно вращающихся радикалов проявляются для радикала ТЕМПОЛ. При увеличении температуры возрастает интенсивность сегментального движения ПОБ, уменьшаются времена корреляции вращения спиновых зондов и суперпозиция спектров проявляется не так четко, как при более низких температурах.

При нагревании сухих образцов ПОБ до 90°C и последующем их охлаждении спектры при одинаковых температурах совпадают. По-видимому, заметные необратимые структурные перестройки в полимере при нагревании до 90°C не происходят.

Мы попытались проанализировать экспериментальные спектры ЭПР с использованием модели изотропного вращения радикалов. Предполагалось, что наблюдаемый спектр является суперпозицией спектров ЭПР радикалов с временами корреляции  $\tau_1$  и  $\tau_2$ , мольные доли которых равны  $\omega_1$  и  $\omega_2$  соответственно. При моделировании спектров для радикалов ТЕМПО и ТЕМПОЛ были использованы следующие значения электронно-спиновых параметров:  $A_{zz} = 34.3$  Гс,  $A_{yy} = 6.2$  Гс,  $A_{xx} = 6.8$  Гс и  $g_{zz} = 2.00241$ ,  $g_{yy} = 2.00601$ ,  $g_{xx} = 2.00901$  [28, с. 608]. Расчет теоретических спектров проводился с использованием программы Фрида [28, с. 64], модифицированной Тимофеевым [29].

Экспериментальные и теоретические спектры спиновых зондов в сухих и влажных изотропных и текстурированных образцах сопоставлены на рис. 2. Видно, что и для зонда ТЕМПО, и для зонда ТЕМПОЛ теоретические спектры передают основные особенности экспериментальных спектров. Это означает, что наблюдаемые спектры действительно являются суперпозицией спектров ЭПР радикалов с различными временами корреляции.

Существование различных времен корреляции вращения спиновых зондов в матрице ПОБ можно объяснить тем, что в некристаллических областях полимера имеются микроучастки, отличающиеся как плотностью, так и сегментальной подвижностью. Одной из причин такого различия микроучастков может быть их большее или меньшее удаление от поверхности кристаллитов.



**Рис. 2.** Рассчитанные (штриховые кривые) и измеренные при 20°C (сплошные) спектры ЭПР радикалов ТЕМПО (1, 2) и ТЕМПОЛ (3–6) в текстурированных (1, 3, 5) и изотропных (2, 4, 6) образцах. 1–4 – спектры сухих образцов, 5, 6 – увлажненных. При расчете спектров 1 и 2 использовали следующие параметры:  $\tau_1 = 1 \times 10^{-9}$  с,  $\omega_1 = 0.4$  (1) и 0.25 (2);  $\tau_2 = 8 \times 10^{-9}$  (1) и  $6 \times 10^{-9}$  с (2),  $\omega_2 = 0.6$  (1) и 0.75 (2). Параметры, использованные при расчете спектров 3–6, приведены в таблице.

Вблизи данной поверхности сегментальное движение макромолекул существенно заторможено, а сами сегменты имеют более упорядоченную структурную организацию по сравнению с сегментами, достаточно удаленными от кристаллической поверхности. Возможно, что и плотность в микрообластях такого типа будет несколько выше, чем усредненная плотность межкристаллитного пространства. Для краткости мы будем называть их "плотные" микроучастки. Напротив, для сегментов, достаточно удаленных от кристаллитов, сегментальная подвижность максимальна, а эффективная плотность минимальна и приближается к плотности аморфного полимера. Это позволяет условно обозначить такие микрообласти как "аморфные".

Еще одной причиной различий в поведении спинового зонда в ПОБ может являться существование полярных микроучастков, сформированных при участии сложноэфирных функциональных

групп полимера, и менее полярных микроучастков, где преобладают дисперсионные взаимодействия.

Теоретические спектры для радикала ТЕМПО лучше согласуются с экспериментальными, чем спектры, рассчитанные для радикала ТЕМПО. Не исключено, что неудовлетворительное совпадение экспериментальных и теоретических спектров для радикала ТЕМПО вызвано анизотропией вращения этого радикала. Последняя имеет место во многих полимерных матрицах [27, с. 139], но не принимается во внимание в используемой нами модели. В дальнейшем при обсуждении экспериментальных результатов мы ограничимся результатами, полученными для радикала ТЕМПОЛ.

В таблице представлены времена корреляции вращения радикала ТЕМПОЛ в образцах ПОБ, полученные в результате сопоставления экспериментальных спектров с теоретическими. Здесь же приведены мольные доли спиновых зондов,

Времена корреляции вращения (и мольные доли) радикала ТЕМПОЛ в сухих и увлажненных образцах ПОБ с разной морфологией\*

Образец	$\tau_1 \times 10^9$ , с	$\omega_1$ , %	$\tau_2 \times 10^9$ , с	$\omega_2$ , %	$\tau_1 \times 10^9$ , с	$\omega_1$ , %	$\tau_2 \times 10^9$ , с	$\omega_2$ , %
	при 20°C				при 40°C			
Текстурированный, сухой	1.5	16	9.5	84	1.1	17	7.0	83
Текстурированный, увлажненный	1.5	24	9.5	76	1.1	22	6.0	78
Изотропный, сухой	1.9	16	9.5	84	1.5	18	7.0	82
Изотропный, увлажненный	1.3	16	8.5	84	1.4	30	6.8	70

\* Индексы 1 и 2 при времени корреляции вращения  $\tau$  и мольной доле  $\omega$  указывают на зонды, локализованные в "аморфных" и "плотных" участках полимера соответственно.

вращающихся с разными временами корреляции в микрообластях двух различных типов.

Из приведенных результатов можно сделать следующие выводы.

Во-первых, времена корреляции вращения зонда ТЕМПОЛ, локализованного в "плотных" микрообластях, для изотропного и текстурированного образцов практически не отличаются. В то же время подвижность этого зонда в "аморфных" микрообластях текстурированных матриц несколько превосходит его подвижность в аналогичных областях изотропных матриц. Во-вторых, распределение зонда между "плотными" и "аморфными" областями в текстурированных и изотропных образцах практически одинаково.

При увлажнении образцов ПОБ меняются не только сегментальная подвижность полимерных цепей, а, следовательно, и времена корреляции вра-

щения стабильных радикалов, локализованных в микрообластях обоего типа, но и соотношение мольных концентраций зонда в "плотных" и "аморфных" микрообластях. Полученные результаты позволяют предположить, что при увлажнении образцов ПОБ изменяется относительное содержание "аморфных" и "плотных" участков в полимере.

Температурные зависимости времени корреляции вращения зонда ТЕМПОЛ в образцах ПОБ представлены на рис. 3. Времена корреляции вращения зонда в "плотных" участках изотропных и текстурированных образцов практически совпадают во всем температурном интервале, тогда как значения  $\tau$  в "аморфных" участках текстурированных образцов меньше, чем в аналогичных участках изотропных образцов.

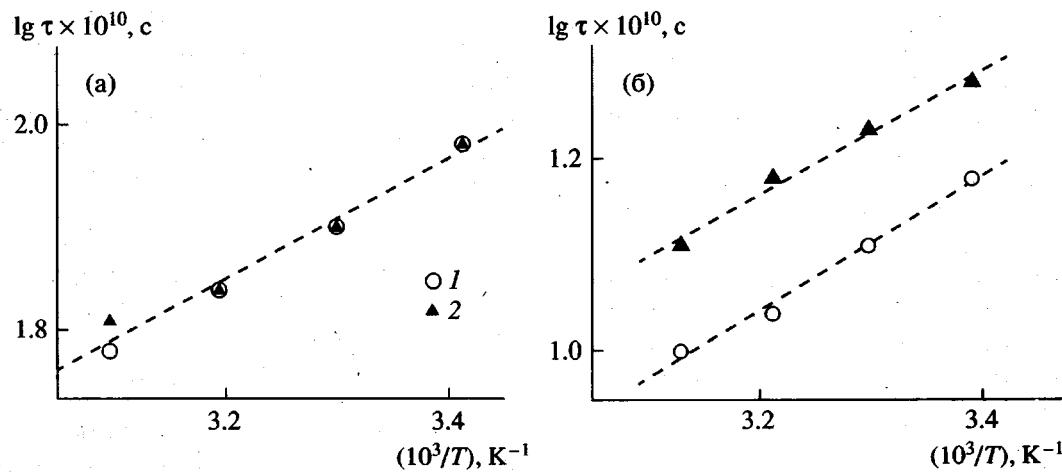


Рис. 3. Температурные зависимости времени корреляции вращения радикала ТЕМПОЛ в текстурированных (1) и изотропных (2) образцах ПОБ. а – плотные участки полимерной матрицы, б – "аморфные".

Энергия активации вращения зонда во всех случаях равна 10 кДж/моль. Соответствующие предэкспоненциальные множители составляют  $10.5 \times 10^{-11}$  с для "плотных" участков текстурированных и изотропных образцов  $1.8 \times 10^{-11}$  с и  $3.2 \times 10^{-11}$  с для "аморфных" участков текстурированных и изотропных образцов соответственно.

Проведенные нами недавно исследования [20] показали, что имеются заметные различия в диффузионной подвижности молекул воды в текстурированных и изотропных образцах. Диффузионная подвижность воды в изотропных образцах в несколько раз меньше, чем в текстурированных при одинаковой степени кристалличности образцов. По-видимому, эти различия могут быть вызваны как минимум двумя причинами. Во-первых, они могут быть обусловлены различием в интенсивности сегментального движения в межкристаллических областях изотропных и текстурированных образцов полимера как сухих, так и влажных. Во-вторых, они могут быть связаны с тем, что морфология (организация кристаллитов) в изотропных и текстурированных образцах существенно отличается.

Авторы выражают благодарность В.П. Тимофееву за предоставление программы для расчета спектров ЭПР.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Doi Y.*: *Microbial Polyesters*. Weinheim: VCH Publ., 1990.
2. *Seebach D., Brunner A., Bachmann B.M., Hoffman T., Kuhnle F.N.M., Lengweiler U.D.*: Biopolymers and Oligomers of (R)-3-hydroxyalkanoic Acids – Contributions of Synthetic Organic Chemists. Berlin: Ernst Schering Research Foundation, 1995.
3. *Müller H.M., Seebach D.* // *Angew. Chem.* 1993. V. 105. S. 483.
4. *Hocking P.J., Marchessault R.H.* // Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers / Ed. by Griffin G.J.L. Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1994. P. 48.
5. *Akhtar S., Pouton C.W.* // *Drug News Perspect.* 1989. V. 2. P. 89.
6. *Akhtar S., Pouton C.W., Notarianni L.J., Gould P.L.* // *J. Pharm. Pharmacol.* 1987. V. 39. P. 43.
7. *Hocking P.J., Marchessault R.H.* // *Macromolecules.* 1996. V. 29. № 7. P. 2472.
8. *Scandola M.* // *Macromolecules.* 1998. V. 31. № 12. P. 3846.
9. *Spyros A., Kimmich R., Briese B.H., Jendrossek D.* // *Macromolecules.* 1997. V. 30. № 26. P. 8218.
10. *Iordanskii A.L., Kamaev P.P.* // Int. Symp. on Bacterial Polyhydroxyalkanoates. Davos, Switzerland, 1996.
11. *Iordanskii A.L., Dmitriev E.V., Kamaev P.P., Zaitkov G.E.* // Int. J. Polym. Mater. 1999 (in press).
12. *Atkins T.W.* // *J. Biomater. Sci., Polym. Edn.* 1997. V. 8. № 11. P. 833.
13. *Barnard G.N., Sanders J.K.M.* // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 264. P. 3286.
14. *Akhtar S., Pouton C.W., Notarianni L.J.* // *Polymer.* 1992. V. 33. P. 117.
15. *Brophy M.R., Deasy P.B.* // *Int. J. Pharm.* 1986. V. 29. P. 223.
16. *Yamamoto Y., Abe H., Doi Y.* // Int. Symp. on Bacterial Polyhydroxyalkanoates. Davos, Switzerland, 1996.
17. *Кривандин А.В., Шаталова О.В., Иорданский А.Л.* // Высокомолек. соед. Б. 1997. Т. 39. № 11. С. 1865.
18. *Кривандин А.В., Шаталова О.В., Иорданский А.Л.* // Высокомолек. соед. Б. 1997. Т. 39. № 3. С. 540.
19. *Иорданский А.Л., Камаев П.П.* // Высокомолек. соед. Б. 1998. Т. 40. № 1. С. 91.
20. *Иорданский А.Л., Камаев П.П.* // Высокомолек. соед. Б. 1999. Т. 41. № 2. С. 374.
21. *Iordanskii A.L., Krivandin A.V., Startzev O.V., Kamaev P.P., Hanggi U.J.* // Frontiers in Biomedical Polymer Applications / Ed. by Ottenbrite R.M. Lancaster: Technomic Publ., 1999. V. 2.
22. *Тарутина Л.И., Позднякова Ф.О.* Спектральный анализ полимеров. Л.: Химия, 1986.
23. *Клаузен Н.А., Семенова Л.П.* Атлас инфракрасных спектров каучуков и некоторых ингредиентов резиновых смесей. М.: Химия, 1965.
24. *Seebach D., Bürger H.M., Müller H.M., Lengweiler U.D., Beck A.K.* // *Helvetica Chimica Acta.* 1994. V. 77. P. 1099.
25. *Lambeek G., Vorenkamp E.J., Schouten A.J.* // *Macromolecules.* 1995. V. 28. № 6. P. 2023.
26. *Бучаченко А.Л., Вассерман А.М.* Стабильные радикалы. Электронное строение, реакционная способность и применение. М.: Химия, 1973.
27. *Вассерман А.М., Коварский А.Л.* Спиновые метки и зонды в физикохимии полимеров. М.: Наука, 1986.
28. Метод спиновых меток. Теория и применение / Под ред. Берлинера Л. М.: Мир, 1979.
29. *Timofeev V.P., Samariznov B.A.* // *Appl. Magn. Res.* 1994. V. 4. P. 523.

## Molecular Dynamics of Poly(3-hydroxybutyrate) Studied by the Spin Probe Technique

P. P. Kamaev, I. I. Aliev, A. L. Iordanskii, and A. M. Vasserman

Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences,  
ul. Kosygina 4, Moscow, 117977 Russia

**Abstract**—The molecular mobility of poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) was studied in the temperature interval from 20 to 90°C by EPR using stable nitroxyl radicals 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (Tempo) and 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (Tempol) as spin probes. Two series of PHB samples, prepared by different methods, possessed isotropic and textured morphologies. The noncrystalline phase of PHB contain regions of two types with markedly different molecular mobilities. It is suggested that “dense” regions, characterized by a comparatively low mobility of polymer chains, are located near the surface of crystalline grains, while the “loose” (amorphous) regions with a higher mobility of chains are more distant from the surface of grains. Molecular mobility in the dense regions was virtually the same for both isotropic and textured PHB samples, whereas the mobility in the loose regions was lower in the isotropic samples than in the textured ones. Saturation of the polymer with water vapor affected both the mobility of polymer chains and the relative content of loose and dense regions in the samples.