

УДК 541.64:532.73

## СВОЙСТВА “БЕЛКОВОПОДОБНЫХ” СОПОЛИМЕРОВ N-ВИНИЛКАПРОЛАКТАМА И N-ВИНИЛИМИДАЗОЛА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ<sup>1</sup>

© 2006 г. В. И. Лозинский\*, И. А. Сименел\*, М. Г. Семенова\*\*, Л. Е. Белякова\*\*,  
М. М. Ильин\*\*, В. Я. Гринберг\*\*, А. С. Дубовик\*\*, А. Р. Хохлов\*\*\*

\*Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук  
119991 Москва, ул. Вавилова, 28

\*\*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук  
119991 Москва, ул. Косыгина, 4

\*\*\*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. Физический факультет  
119992 Москва, Ленинские горы

Поступила в редакцию 18.05.2005 г.  
Принята в печать 18.10.2005 г.

Радикальной сополимеризацией N-винилкапролактама с N-венилимидацолом (исходное мольное соотношение сомономеров 85:15), инициируемой окислительно-восстановительной системой персульфат–третичный амин, в среде 10%-ного водного ДМСО при 25 и 65°C (при температуре ниже и выше области фазового расслоения реагирующей системы соответственно) получены макромолекулярные продукты, далее разделенные на термоосаждаемую и термонаеосаждаемую фракции. Исследования этих фракций методами капиллярной вискозиметрии, статического и динамического лазерного светорассеяния, а также высокочувствительной ДСК показали, что в водных растворах макромолекулы обоих типов сополимеров сильно ассоциированы; при нагревании растворов термонаеосаждаемых фракций происходит дополнительная агрегация, сопровождающаяся уменьшением размеров частиц без потери ими растворимости по крайней мере вплоть до 70°C. При этом термонаеосаждаемая фракция сополимера, синтезированного при 65°C, по совокупности физико-химических свойств, проявляемых в водных растворах, может быть отнесена к белковоподобным макромолекулам.

### ВВЕДЕНИЕ

Концепция белковоподобных сополимеров была сформулирована в теоретических работах, основанных на так называемом биомиметическом подходе к расчету последовательности расположения мономерных звеньев в цепи и оценки конформации водорастворимых макромолекул, построенных из сомономеров с неодинаковой гидрофильностью/гидрофобностью [1–5]. Характерной особенностью таких сополимеров является их гетерогенная блочность (в отношении длины блоков и их расположения вдоль по цепи),

способствующая специальному “белковоподобному” сворачиванию цепей с образованием пространственной структуры с плотным ядром, состоящим преимущественно из более гидрофобных звеньев H (*hydrophobic*), окруженным гидрофильной оболочкой, обогащенной хорошо гидратируемыми полярными звеньями P (*polar*). Такая первичная структура цепей и конформация, которую они принимают в водных растворах, придают данным гетероблочным НР-сополимерам специфические свойства, отличные от свойств как регулярных чередующихся, так и статистических блок-сополимеров. В частности, если блоки, содержащие более гидрофобные Н-звенья, способны к термоиндуцируемому переходу клубок–глобула, то при значениях температуры выше НКТС соответствующего Н-гомополимера белковоподобный сополимер не выпадает в осадок, т.е. макроскопического разделения фаз не наблюдается.

<sup>1</sup> Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Отделения химии и наук о материалах РАН “Создание и изучение макромолекул и макромолекулярных структур новых поколений”, гранта Федерального агентства по науке и инновациям РФ по программе “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники на 2002–2006 гг.” и фонда INTAS (грант 01-0607).

E-mail: loz@ineos.ac.ru (Лозинский Владимир Иосифович).

Химический синтез белковоподобных НР-сополимеров может быть осуществлен разными путями, например модификацией боковых цепей полимерных предшественников или сополимеризацией (сополиконденсацией) подходящих низкомолекулярных сомономеров.

Первый вариант был реализован в работах [6–8], где гидрофильные олигоэтиленоксидные фрагменты прививали по оксирановым группам к сополимеру N-изопропилакриламида (ИПАА) и глицидилметакрилата. В случае проведения реакции при повышенной температуре, когда макромолекулы модифицируемого полимера принимали конформацию глобул, прививка происходила в основном по их поверхности, гидрофилизая периферийные области. Полученные в таких условиях белковоподобные граfft-сополимеры в водных растворах претерпевали термоиндуцируемый конформационный переход при более высоких температурах, чем равномерно модифицированные аналоги. Белковоподобные сополимеры образовывали более плотные агрегаты меньшего размера.

Синтез белковоподобных макромолекул из мономерных предшественников также описан. Этим путем были получены сополимеры ИПАА и N-венилимидазола (ВИА) [9], а также ИПАА и N-венил-пирролидона [10], обладавшие некоторыми характеристиками, предсказанными теорией для белковоподобных макромолекул. Однако наиболее ярко такие свойства подобных сополимеров проявились, лишь когда высокомолекулярные продукты сополимеризации N-венилкапролактама (ВКЛ) и ВИА, синтезированные в водной среде при температуре выше точки фазового расслоения системы, удалось разделить на термоосаждаемую и термонаесаждаемую фракции, и именно последняя фракция обладала предсказанными теорией признаками белковоподобных сополимеров [11, 12]. В частности, термонаесаждаемая фракция сополимера ВКЛ–ВИА, полученного при исходном мольном соотношении сомономеров 85 : 15, не теряла растворимости в воде по крайней мере до 70°C (НКТС водных растворов гомополимера ВКЛ находится, в зависимости от ММ цепей, в области 30–40°C [13–15]), но высокочувствительная ДСК регистрировала тепловой эффект конформационного перехода клубок–глобула, обусловленного формированием плотного глобулярного ядра, стабилизируемо-

го гидрофобными взаимодействиями. Кроме того, данные спектроскопии ЯМР показали, что, несмотря на практически одинаковый усредненный мономерный состав термоосаждаемой и термонаесаждаемой фракций, молекулы сольватной воды после термоиндуцированного конформационного перехода этих полимерных цепей обладали неодинаковыми ЯМР-спектральными характеристиками. Вместе с тем оставалось не ясным, как изменяются размеры макромолекул таких сополимеров ВКЛ–ВИА в водной среде при переходе от термодинамически “хорошего” растворителя (температура ниже НКТС) к “плохому” (температура выше НКТС). Изучение этих вопросов явилось целью настоящей работы.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследованные в работе сополимеры синтезированы из ВКЛ (“ISP Norden AB”, Швеция) и ВИА (“Aldrich”, США) согласно методике, подробно описанной в работе [12]. ВКЛ очищали перекристаллизацией из смеси гексан–бензол, ВИА – пегонкой в вакууме под аргоном. Полимеризацию проводили в среде 10%-ного водного ДМСО при суммарной концентрации сомономеров 0.35 моль/л и мольном соотношении ВКЛ : ВИА = 85 : 15. В качестве инициатора использовали окислительно–восстановительную пару персульфат аммония (“Fluka”, Швейцария) – N,N,N',N'-тетраметилэтидиамин (“Aldrich”, США). Синтез осуществляли при 25°C (гомогенная полимеризация в растворе) и 65°C (гетерогенная полимеризация, когда реакционная масса становилась мутной уже через 1–2 мин после прибавления инициатора). По окончании процесса низкомолекулярные и олигомерные компоненты отделяли диализом через целлофан против деионизированной воды, а полимерные продукты высушивали лиофильно (сублимационная сушка 77400 FreeZone; “Labconco Corp.”, США). Полученный сополимер вновь растворяли в воде и подвергали “горячему” центрифугированию при 65°C и 8000 об/мин в течение 30 мин. Супернатант, содержащий термонаесаждаемую фракцию сополимера ВКЛ–ВИА, сливали, охлаждали и высушивали лиофильно (далее эта фракция обозначена *ts* – thermally soluble). Осадок, являвшийся термоосаждаемой фракцией, охлаждали, растворяли в воде и тоже лиофилизовали (далее эта фракция называется *tp* – thermally precipitated). Для обозначения температуры

синтеза, при которой сформировались указанные выше фракции, использованы подстрочные индексы, т.е. образец  $ts_{25}$  – это термонеосаждаемая фракция сополимера, полученного при 25°C, а образец  $tp_{65}$  – термосаждаемая фракция продукта синтеза, проведенного при 65°C.

Характеристическую вязкость водных растворов фракций сополимеров ВКЛ–ВИА определяли с помощью вискозиметра Уббелоде (капилляр диаметром 0.4 мм) при 25 и 50°C (ультратермостат ED 5; "Julabo", Германия).

Средневесовую молекулярную массу  $M_w$ , радиус инерции  $R_G$  и второй вириальный коэффициент  $A_2$  фракций сополимеров  $ts$  и  $tp$  определяли методом статического лазерного светорассеяния. Отношение Рэлея  $R_\theta$  измеряли в диапазоне углов 40°–140° (13 углов) на приборе LS-01 ("VA Instruments", Санкт-Петербург, Россия) для пяти-семи концентраций полимера в растворе, используя вертикально поляризованный свет с длиной волны 633 нм. При этом для каждой фракции сополимеров ВКЛ–ВИА измерения светорассеяния проводили в диапазоне возможно более низких концентраций, задаваемым чувствительностью прибора: 3.2–9.9 мг/мл для фракции  $ts_{65}$ ; 0.79–3.95 мг/мл для фракции  $tp_{65}$ ; 0.2–3.5 мг/мл для фракции  $ts_{25}$  и 0.2–1.0 мг/мл для фракции  $tp_{25}$ . Прибор был откалиброван по обеспыленному бензолу ( $R_{90} = 11.84 \times 10^{-6} \text{ см}^{-1}$ ). Водные растворы сополимеров перед измерением обеспыливали пропусканием через мембранные фильтры (Millipore 0.65 мкм); ДМСО-растворы сополимеров обеспыливали пропусканием через стеклянный фильтр G-5. Измеренные значения отношения Рэлея  $R_\theta$  использовали для построения угловых и концентрационных зависимостей величины  $Hc/\Delta R_\theta$  по методу Зимма [16] или, для повышения точности экстраполяции величины  $(Hc/\Delta R_\theta)^{1/2}$ , по графическому методу Берри [17] ( $c$  – концентрация полимера,  $\Delta R_\theta$  – избыточное светорассеяние раствора полимера по отношению к растворителю при угле  $\theta$ ,  $H$  – оптическая константа системы, равная  $4\pi^2 n^2 v^2 / N_A \lambda^4$ , где  $N_A$  – число Авогадро,  $\lambda$  – длина волны падающего света в вакууме,  $n$  – показатель преломления растворителя,  $v$  – инкремент показателя преломления полимера в растворе). Значения  $M_w$  определяли усреднением экспериментальных значений  $Hc/\Delta R_\theta$  или  $(Hc/\Delta R_\theta)^{1/2}$  к нулевому углу  $\theta \rightarrow 0$  (экстраполяцию проводили по 13 углам) и нулевой концентрации  $c \rightarrow 0$

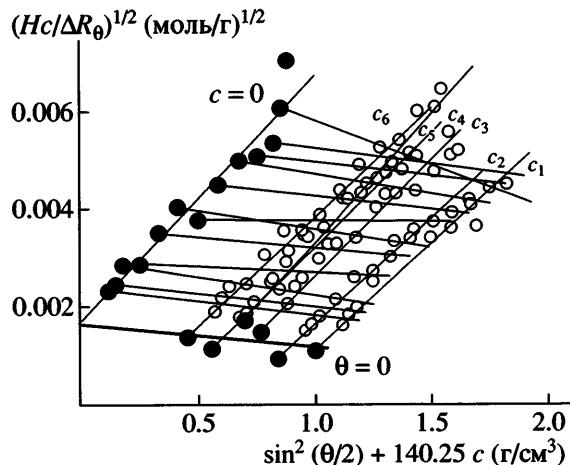


Рис. 1. График Берри для фракции  $ts_{65}$  в воде при 20°C.  $c_1 = 7.13 \times 10^{-3}$ ;  $c_2 = 5.99 \times 10^{-3}$ ;  $c_3 = -5.45 \times 10^{-3}$ ;  $c_4 = 4.96 \times 10^{-3}$ ;  $c_5 = 3.96 \times 10^{-3}$ ;  $c_6 = 3.22 \times 10^{-3}$  г/мл.

(экстраполяцию проводили по пяти-семи концентрациям). Значения  $R_G$  рассчитывали из наклона угловых зависимостей  $Hc/\Delta R_\theta$  или  $(Hc/\Delta R_\theta)^{1/2}$  при  $c \rightarrow 0$ , значения  $A_2$  – из наклона концентрационных зависимостей  $Hc/\Delta R_\theta$  или  $(Hc/\Delta R_\theta)^{1/2}$  при  $\theta \rightarrow 0$ . На рис. 1 в качестве примера приведена типичная диаграмма светорассеяния по методу Берри результатов экспериментов для водного раствора фракции  $ts_{65}$ .

Инкременты показателей преломления  $v$  фракций сополимеров ВКЛ–ВИА, используемые в расчете величин  $Hc/\Delta R_\theta$ , определяли в воде (при 20 и 50°C) и в ДМСО (при 20°C) с помощью дифференциального рефрактометра "Shimadzu" (Япония) при  $\lambda = 635$  нм. Значения  $v$  для данных сополимеров составляли 0.15–0.20 см<sup>3</sup>/г в воде и 0.25–0.42 см<sup>3</sup>/г в ДМСО. Для фракций  $tp_{25}$  и  $tp_{65}$ , теряющих растворимость в воде при температурах выше 30–40°C, инкременты показателей преломления при 50°C были приняты равными значениям  $v$  фракций  $ts_{25}$  (20°C) и  $ts_{65}$  (20°C) соответственно. При этом мы основывались на близости химического состава их молекул, что, как известно [16], главным образом определяет величины инкрементов показателя преломления.

Экспериментальная ошибка в определении  $v$ ,  $M_w$ ,  $A_2$  и  $R_G$  составляла не более 10%.

Гидродинамический радиус  $R_h$  макромолекул определяли в водных растворах (1–6.5 мг/мл) ме-

**Таблица 1.** Состав фракций *tp* и *ts* сополимеров ВКЛ–ВИА, синтезированных при значениях температуры до и после фазового расслоения реакционной системы

Температура полимеризации, °C	Фракция сополимера	Мольное соотношение звеньев ВКЛ : ВИА в сополимере*
25	<i>tp</i>	62.0 : 38.0
	<i>ts</i>	61.5 : 38.5
65	<i>tp</i>	74.0 : 26.0
	<i>ts</i>	73.0 : 27.0

\* Определено из спектров ЯМР <sup>1</sup>H растворов сополимеров в DMSO-d<sub>6</sub> (точность определения ±0.5 мол. %).

тодом динамического лазерного светорассеяния. Временную корреляционную функцию интенсивности светорассеяния измеряли под углом рассеяния  $\theta = 90^\circ$ , используя вертикально-поляризованный свет с  $\lambda = 633$  нм. Обработку данных динамического светорассеяния проводили по программе DYNALS 1.5 ("VA Instruments", Санкт-Петербург, Россия). Экспериментальная ошибка в определении  $R_h$  составляла не более ±10%.

Калориметрические измерения выполняли на дифференциальном адиабатическом сканирующем микрокалориметре ДАСМ-4 (НПО "БИО-ПРИБОР", Пущино, Россия) в условиях, описанных ранее для сополимеров ВКЛ–ВИА [11].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### *Молекулярные характеристики термонеосаждаемых и термоосаждаемых фракций сополимеров ВКЛ–ВИА*

Как известно, для водных растворов некоторых амфи菲尔ных макромолекул, например гомополимеров ВКЛ или ИПАА, при значениях температуры выше НКТС характерны эффекты фазового расслоения [14, 18, 19]. При этом, с одной стороны, с повышением температуры разрушается часть водородных связей полимер–вода, а с другой – усиливаются внутри- и межмолекулярные гидрофобные взаимодействия, приводящие к компактизации полимерных клубков с образованием глобул (в разбавленных растворах) или надмолекулярных ассоциатов и далее осадков/гелей (в более концентрированных системах) [20]. Поэтому, если вести сополимеризацию смеси отличающихся по гидрофильности/гидрофобности мономеров (при избытке Н-компоненты) в водной

среде при температуре выше точки сегрегации фаз, то из-за различий в скоростях гомо- и сополимеризации возникают блоки из Н- и Р-звеньев, а при достижении некоторой критической длины Н-блоков последние компактизуются, формируя ядро, обогащенное более гидрофобными звеньями. Включение в цепь гидрофильных Р-блоков происходит преимущественно на периферии ядра, что способствует образованию белковоподобных структур [11]. Однако такой "сценарий" не абсолютен, он зависит от вероятности исходного взаимодействия инициирующих радикалов с либо Н-, либо с Р-мономером, соотношения констант  $r_1$  и  $r_2$ , а также других факторов. Как следствие, наряду с гетероблочными белковоподобными макромолекулами параллельно образуются цепи с иными последовательностями мономерных звеньев (регулярно чередующиеся, статистические блок-сополимеры), что в итоге приводит к смеси продуктов такой сополимеризации. В настоящей работе были исследованы фракции *tp* и *ts* сополимера ВКЛ и ВИА, синтезированного в гетерогенной среде при температурном режиме (65°C), обеспечивающем наибольший выход белковоподобной фракции *ts* [12]. Полученные данные были сравнены с фракциями *tp* и *ts* сополимера, синтезированного в растворе при 25°C.

Таблица 1 суммирует информацию о мономерном составе объектов настоящего исследования. Из этих данных следует, что в ходе сополимеризации ВКЛ и ВИА происходило обогащение образующихся цепей более гидрофильным мономером – при его исходной доле 15 мол. % содержание ВИА во фракциях *tp<sub>65</sub>* и *ts<sub>65</sub>* полученных сополимеров увеличивалось до 26–27 и до ~38 мол. % соответственно. Это свидетельствовало о более высокой реакционной способности ВИА по сравнению с ВКЛ в указанных условиях как при образовании данных сополимеров в растворе, так и при осадительной полимеризации.

Что касается ММ рассматриваемых сополимеров, то ранее было найдено, что фракции *tp* были большей степени полимеризации, чем соответствующие фракции *ts*, а ГПХ показала достаточно широкое ММ всех исследованных образцов. Наибольшую ММ среди них имела фракция *tp<sub>65</sub>*, наименьшую – *ts<sub>25</sub>* [11, 12]. В настоящей работе молекулярные характеристики фракций синтезированных сополимеров были определены методами светорассеяния в водных растворах и в DMSO

**Таблица 2.** Молекулярные параметры фракций сополимера ВКЛ–ВИА, определенные методами динамического и статического светорассеяния при разной температуре

Фракция сополимера	$T, ^\circ\text{C}$	$(M_w \times 10^3)^*$	$A_2 \times 10^4, \text{см}^3 \text{моль}/\text{г}^2$	$R_G, \text{нм}$	$R_h^{**}, \text{нм}$	$\rho = R_G/R_h$	$d = [(M_w/N_A)v^{-1}] \times 10^3, \text{г}/\text{см}^3$	$1/d, \text{см}^3/\text{г}$
<i>tp</i> <sub>25</sub>	20	172000 (66)	9	316	343	0.9	2.2	455
	50	496000	5	175	—	—	40.7	25
<i>ts</i> <sub>25</sub>	20	12350 (28)	19	312	233	1.3	0.2	5000
	50	18270	14	270	—	—	0.4	2500
<i>tp</i> <sub>65</sub>	20	1890 (254)	-4	197	119	1.7	0.1	10000
	50	14240	-12	144	121	1.2	1.9	526
<i>ts</i> <sub>65</sub>	20	380 (30)	-18	210	228	0.9	0.02	50000
	50	2270	9	220	217	1.0	0.1	10000

Примечание.  $v = (4/3)\pi R_G^3$ .

\* В скобках приведены значения  $M_w$ , измеренные при 20°C в растворе в ДМСО соответствующего сополимера.

\*\* Из-за нестабильности растворов фракций *ts*<sub>25</sub> и *tp*<sub>25</sub> при 50°C в концентрационном диапазоне проведения измерений методом динамического светорассеяния определение  $R_h$  было невозможным.

(для подавления внутри- и межмолекулярных гидрофобных взаимодействий, способных приводить к ассоциации цепей или их сегментов в водных средах). Полученные данные (табл. 2) показывают, что для растворов в ДМСО указанная выше тенденция полностью подтверждалась: самую высокую ММ ( $25.4 \times 10^4$ ) имела фракция *tp*<sub>65</sub>, наименьшую ( $2.8 \times 10^4$ ) – фракция *ts*<sub>25</sub>.

В свою очередь, согласно результатам измерения статического светорассеяния в воде, имела место значительная агрегация исследуемых амифильных сополимеров (табл. 2). Так, например, при 20°C около десяти молекул объединились в агрегат в случае фракций *ts*<sub>65</sub> и *tp*<sub>65</sub>. Еще в большей степени склонными к агрегации в водных средах оказались фракции *ts*<sub>25</sub> и *tp*<sub>25</sub> сополимера. При этом важно отметить, что указанные макромолекулы были сильнее обогащены звеньями более гидрофильного ВИА, чем сополимеры, образование которых протекало при 65°C (табл. 1). Другими словами, с повышением доли ВИА, т.е. с формальным увеличением гидрофильности, агрегация цепей возрастила. Можно поэтому предположить, что ассоциация молекул сополимеров ВКЛ–ВИА в водной среде обусловлена не только гидрофобными взаимодействиями участков, обогащенных звеньями ВКЛ, но, вероятно, и иными силами. В частности, это может быть донорно-акцепторное взаимодействие между обедненным электронной плотностью атомом карбонильного углерода капролактамно-

го цикла и неподеленной парой электронов атома имидазольного азота. Ясно, что подобные взаимодействия должны быть довольно слабыми, но с увеличением содержания ВИА они должны усиливаться. Также известно [21], что предрасположенность к такого рода взаимодействиям увеличивается, если взаимодействующие группы частично окружены неполярными группами, препятствующими более полной гидратации, и особенно, если в результате возникновения связи происходит ассоциация многих неполярных групп, т.е. одновременное образование гидрофобной связи (это и ожидается для изучаемых сополимеров, у которых содержание Н-звеньев ВКЛ практически почти в 2 раза превышает содержание Р-звеньев ВИА (табл. 1)). В пользу такого предположения также свидетельствуют и результаты известных исследований [22] светорассеяния водных растворов гомополимера ВКЛ ( $M \sim 9.6 \times 10^5$ ), не обнаружившие наличия крупных ассоциатов макромолекул при значениях температур ниже НКТС.

Кроме того, положительные величины вторых вириальных коэффициентов (табл. 2) были найдены для более гидрофильных (согласно большему содержанию звеньев ВИА – табл. 1) фракций *tp*<sub>25</sub> и *ts*<sub>25</sub>, тогда как более значительный вклад Н-блоков выражался в отрицательных значениях  $A_2$  для фракций *tp*<sub>65</sub> и *ts*<sub>65</sub>, что указывало на термодинамическое сродство между макромолекулами этих фракций в водной среде и одновре-

**Таблица 3.** Некоторые теплофизические свойства фракций *tp* и *ts* сополимеров ВКЛ–ВИА в воде при значениях температуры ниже и выше фазовых или конформационных переходов соответствующих образцов

Фракция сополимера	Температура помутнения водного раствора (0.1 г/дл) сополимера*, °C	$T_f^{**}$ , °C	$\Delta H^{**}$ , Дж/г
<i>tp</i> <sub>25</sub>	46	50	7.0
<i>ts</i> <sub>25</sub>	>70	—	—
<i>tp</i> <sub>65</sub>	34	48	7.5
<i>ts</i> <sub>65</sub>	>70	38	6.5

\* Определено с помощью термонефелометрии.

\*\* Данные высокочувствительной ДСК ( $T_f$  – температура перехода,  $\Delta H$  – энタルпия перехода, растворитель вода, концентрация полимера 5 мг/мл).

менно на термодинамически плохое для них качество воды как растворителя, что в наибольшей мере проявлялось в случае фракции *ts*<sub>65</sub> сополимера.

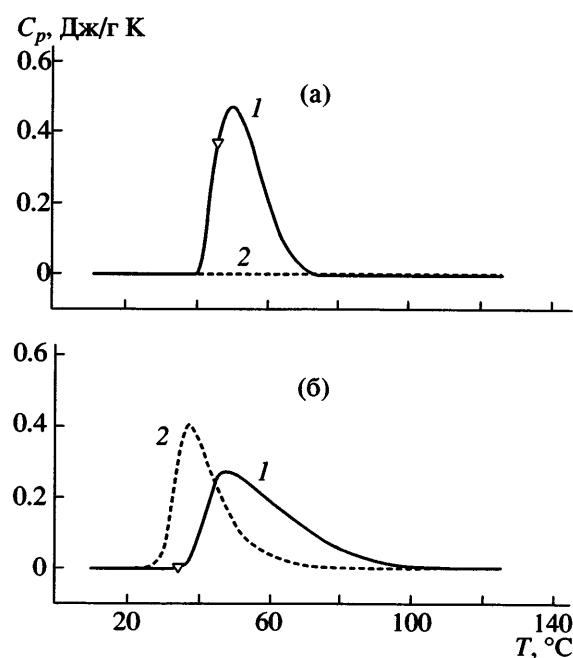
В то же время обнаруженное значительное различие в степени ассоциации между фракциями сополимеров, полученными при значениях температуры ниже и выше фазового расслоения реакционной системы, по-видимому, указывает на

разное распределение Н- и Р-блоков в их молекулах. В случае фракций *tp*<sub>25</sub> и *ts*<sub>25</sub> оно оказывается более благоприятным как для донорно-акцепторного, так и гидрофобного притяжения таких макромолекул в водной среде, чем в случае фракций *tp*<sub>65</sub> и *ts*<sub>65</sub>. Вероятно, у полимерных цепей фракций *tp*<sub>65</sub> и *ts*<sub>65</sub>, особенно в случае последней из них, Н-блоки оказываются менее доступными для участия в самоассоциации этих фракций в водной среде, что предполагает как их расположение преимущественно в интерьере макромолекулы, так и экранирование интерьера гидрофильными Р-блоками, расположенными по поверхности макромолекулы. Такое поведение фракции *ts*<sub>65</sub> в водной среде оказывается наиболее близким к поведению глобулярных олигомерных или мицеллоподобных белков, например казеина [23], имеющего гидрофобное ядро, окруженное по периферии полярными группами.

#### *Свойства водных растворов термонеосаждаемых и термосаждаемых фракций сополимеров ВКЛ–ВИА при значениях температуры до и после конформационных и фазовых переходов*

Принципиальным отличием белковоподобных НР-сополимеров от их химических аналогов, имеющих иную последовательность мономерных звеньев, является растворимость фракций *ts* в воде при значениях температуры выше точки фазового перехода термоосаждающей фракции. В случае фракций *tp*<sub>25</sub> и *ts*<sub>25</sub>, несмотря на практически одинаковый их мономерный состав, точка помутнения водного раствора фракции *tp*<sub>25</sub> находилась около 46°C, а раствор фракции *ts*<sub>25</sub> оставался прозрачным, по крайней мере вплоть до 70°C. Еще более существенные различия (34 и >70°C) были в случае сополимеров, полученных при 65°C, т.е. для фракций *tp*<sub>65</sub> и *ts*<sub>65</sub> (табл. 3). В результате можно заключить, что температурно-зависимое поведение водных растворов таких сополимеров прежде всего определялось характером распределения мономерных звеньев вдоль по цепи.

В этой связи показательны данные высокочувствительной ДСК о термодинамических параметрах фазовых и конформационных переходов в водных растворах фракций *tp*<sub>25</sub> и *ts*<sub>25</sub>, а также фракций *tp*<sub>65</sub> и *ts*<sub>65</sub>. Результаты данных экспериментов приведены на рис. 2 в виде функций избыточной теплоемкости.



**Рис. 2.** Функции избыточной теплоемкости фракций *tp* (1) и *ts* (2) сополимеров ВКЛ–ВИА, синтезированных при 25 (а) и 65°C (б). Точки соответствуют температурам помутнения водных растворов фракций *tp*.

Функции избыточной теплоемкости фракций  $tp$  (кривые 1) имели в целом схожий вид, типичный для растворов полимеров с НКТС. Теплоемкость проходила через максимум в области расслоения системы. Однако точка помутнения системы совпадала с началом пика теплоемкости не во всех случаях. Такое расхождение, вероятно, связано со сложенным характером многих нефелометрических кривых в области фазового перехода, что осложняло фиксацию точки перехода системы через бинодаль. Важно также отметить, что все пики теплоемкости значительно отличались по виду от импульсной функции, которая, согласно теории, должна воспроизводить качественно характер изменения теплоемкости раствора при фазовом расслоении. Эти пики были весьма размытыми. Термодинамические параметры фазового перехода фракций  $tp$  сополимеров, синтезированных при различных значениях температуры, практически совпадали ( $T_c \sim 49^\circ\text{C}$  и  $\Delta_c H \sim 7 \text{ Дж/г}$ ) (табл. 3). Они значительно отличались от параметров фазового перехода гомополимеров ВКЛ ( $T_c \sim 32^\circ\text{C}$  и  $\Delta_c H \sim 60 \text{ Дж/г}$ ) [24].

Из общих соображений величину удельной энталпии перехода можно рассматривать как меру кооперативности гидрофобного взаимодействия ВКЛ-блоков: чем выше кооперативность, тем больше энталпия перехода. С другой стороны, очевидно, что кооперативность взаимодействия блоков определяется их длиной. На этом основании можно качественно судить о длине термочувствительных блоков во фракциях  $tp$  по величине энталпии фазового перехода. Тогда из данных табл. 3 следует, что средняя длина термочувствительных блоков в указанных фракциях невелика.

Калориметрические данные для фракции  $ts_{25}$  (рис. 2а, кривая 2) свидетельствовали о том, что данный сополимер не претерпевал никаких кооперативных конформационных изменений при нагревании. Вполне возможно, что это вызвано недостаточной длиной гидрофобных ВКЛ-блоков. Действительно, при равномерном распределении ВИА-звеньев вдоль цепи средняя длина ВКЛ-блоков была бы порядка всего шести звеньев. Очевидно, что такие короткие последовательности не могут проявлять кооперативных конформационных изменений.

Особый интерес представляет термическое поведение фракции  $ts_{65}$  (рис. 2б, кривая 2). В дан-

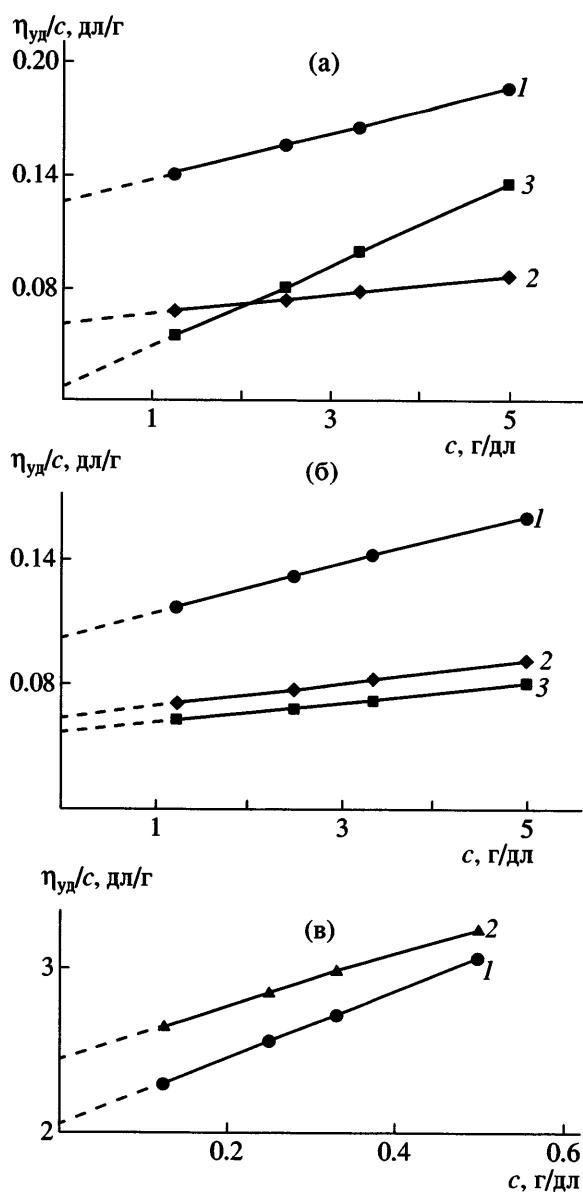
**Таблица 4.** Величины характеристической вязкости водных растворов фракций сополимера ВКЛ-ВИА и образцов ПАА при 25 и 50°C

Образец	Температура измерения вязкости, °C	[ $\eta$ ]*, дL/g	Коэффициент корреляции*
$tp_{25}$	25	$0.126 \pm 0.010$	0.9991
$ts_{25}$	25	$0.061 \pm 0.005$	0.9916
	50	$0.028 \pm 0.003$	0.9929
$tp_{65}$	25	$0.102 \pm 0.009$	0.9995
	50	$0.064 \pm 0.003$	0.9996
ПАА	25	$0.057 \pm 0.002$	0.9997
	50	$2.05 \pm 0.13$	0.9917
		$2.39 \pm 0.14$	0.9986

\* Вычислено по методу наименьших квадратов с помощью программы VYAZKOST.

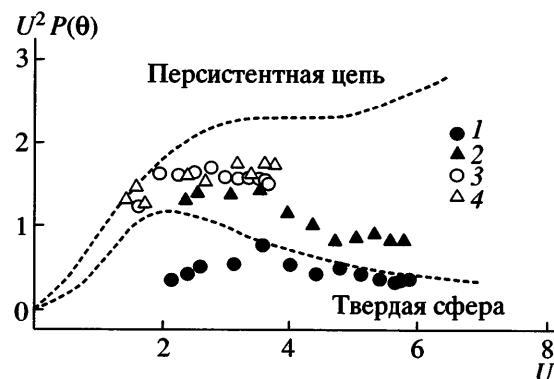
ном случае функция избыточной теплоемкости полимера проходила через максимум при температуре порядка 40°C. Так как при этом не наблюдалось фазового расслоения, есть основания утверждать о кооперативных конформационных превращениях указанного сополимера. Некоторое увеличение массы и размера полимерных частиц в результате таких конформационных превращений (табл. 2) дает основания полагать, что эти превращения носят характер кооперативного мицеллобразования, которое может сопровождаться переходом клубок–глобула. Энталпия конформационного перехода фракции  $ts_{65}$  составляла 7 Дж/г (табл. 3). Данная величина сопоставима с энталпией фазового перехода раствора фракции  $tp_{65}$ . Таким образом, вероятно, фракции  $ts$  и  $tp$  характеризуются сопоставимой средней длиной гидрофобных ВКЛ-блоков. Вместе с тем, они, очевидно, значительно отличаются характером распределения блоков вдоль цепи.

Поскольку данные высокочувствительной ДСК свидетельствовали о кооперативном конформационном переходе, происходящем при нагревании водного раствора фракции  $ts_{65}$ , было важно подтвердить феномен термоиндуцируемой перестройки пространственной структуры этих макромолекул другими методами, чувствительными к изменению размеров, формы и сольватации полимерных частиц, в частности, с помощью визкозиметрии (рис. 3, табл. 4) и светорассеяния (рис. 4, табл. 2).



**Рис. 3.** Концентрационные зависимости величин приведенной вязкости водных растворов фракций сополимеров ВКЛ–ВИА, синтезированных при 25 (а) и 65°C (б), а также ПАА при 25 (1) и 50°C (2) (в). а, б: 1 – вязкость растворов фракций  $tp$  при 25°C, 2 – вязкость растворов фракций  $ts$  при 25°C, 3 – вязкость растворов фракций  $ts$  при 50°C.

Так как фракции  $tp_{25}$  и  $tp_{65}$  растворимы в воде при комнатной температуре, но осаждаются из растворов при нагревании (табл. 3), значения их характеристических вязкостей были определены только при 25°C. В случае фракций  $ts_{25}$  и  $ts_{65}$  величины  $[\eta]$  были измерены и при 25, и при 50°C (рис. 3а, 3б), т.е. при значениях температур до и после конформационного перехода, зафиксиро-



**Рис. 4.** График Кратки для фракций  $tp_{25}$  (1),  $ts_{25}$  (2),  $tp_{65}$  (3) и  $ts_{65}$  (4) сополимера ВКЛ–ВИА в водной среде при 20°C.  $U = qR_G$ , где  $q$  – волновой фактор, равный  $(4\pi/\lambda)\sin(\theta/2)$ ,  $P(\theta)$  – угловой фактор светорассеяния.

ванного высокочувствительной ДСК для фракции  $ts_{65}$  (рис. 2). Кроме того, вискозиметрические данные были получены для образца полиакриламида (ПАА) (рис. 3в), чтобы сопоставить характеристики термочувствительных сополимеров ВКЛ–ВИА с водорастворимым полимером, не изменяющим конформацию цепей в исследуемом диапазоне температур. Следует подчеркнуть, что данные измерений вязкости очень хорошо отвечали линейным зависимостям в координатах приведенная вязкость – концентрация полимера (рис. 3), на что указывали малый разброс экспериментальных точек и близкие к единице коэффициенты корреляции. В связи с этим выявленные различия в величинах  $[\eta]$  для фракций сополимеров можно считать значимыми.

Также необходимо отметить малые величины  $[\eta]$  у сополимеров ВКЛ–ВИА в водной среде даже при температуре ниже области конформационных переходов, особенно для фракций  $ts$ , что, очевидно, свидетельствует о довольно компактной, близкой к сферической, форме полимерных частиц и о том, что они довольно плохо сольватированы растворителем [21]. Указанные заключения согласуются с близкими к единице (практически во всех случаях за исключением фракции  $tp_{65}$ ) значениями конформационно чувствительного параметра  $\rho = R_G/R_h$  [17], характерными для сферических частиц (табл. 2), и существенной ассоциацией сополимеров в воде наряду с отрицательными значениями вторых вириальных коэффициентов (табл. 2).

Вместе с тем простое сопоставление значений  $[\eta]$  для фракций сополимеров (табл. 4) с обратной величиной плотности полимерных частиц  $1/d$ , рассчитанной по данным светорассеяния (табл. 2), показывает хорошее количественное согласие только в случае уменьшения  $[\eta]$  при повышении температуры от 20 до 50°C для образца  $ts_{25}$ . Однако для других фракций был обнаружен ряд несответствий между величинами  $[\eta]$  и  $1/d$ , а именно, практически двукратные различия  $[\eta]$  при одинаковых значениях  $1/d$  для фракций  $tp_{65}$  (при 20°C) и  $ts_{65}$  (при 50°C), а также уменьшение значений  $[\eta]$ , несмотря на возрастание  $1/d$ , при сравнении фракции  $tp_{25}$  (20°C) с  $ts_{25}$  (20°C) или  $tp_{65}$  (20°C) с  $ts_{65}$  (20°C). Таким образом, найденные нессоответствия указывают на необходимость учета вклада в величину  $[\eta]$  не только плотности полимерных частиц  $d$ , но и их формы и уровня сольватации [21].

Действительно, учет вклада полимерных частиц разной формы в величину  $[\eta]$  может объяснить перечисленные выше нессоответствия. Так, более асимметричная форма полимерных частиц фракции  $tp_{65}$  (20°C) по сравнению с фракцией  $ts_{65}$  (20 и 50°C) (об этом свидетельствует практически в 2 раза большая величина структурно чувствительного параметра  $\rho$  (табл. 2)) обусловливает [21] большее значение  $[\eta]$  (табл. 4). С другой стороны, менее плотная форма полимерных частиц фракции  $ts_{25}$  по сравнению с фракцией  $tp_{25}$  (она проявляется в величине параметра  $\rho > 1$  [17] (табл. 2), а также, наиболее наглядно, в положении кривой для этой фракции на графике Кратки [17] (рис. 4)) способствует возрастанию "протекаемости" полимерных частиц по отношению к растворителю и, следовательно, приводит к меньшей величине  $[\eta]$  [21].

В свою очередь вклад разного уровня сольвации полимерных частиц в найденные значения  $[\eta]$  представляется возможным проследить при сравнении величин  $[\eta]$  для полимерных частиц, обладающих близкой формой ( $\rho \approx 1$ ), но кардинально различающимся термодинамическим средством к растворителю ( $A_2 > 0$  и  $A_2 < 0$ ), как, например, при сравнении фракций  $tp_{25}$  (20°C) и  $ts_{65}$  (20°C) или фракции  $ts_{65}$  при двух температурах (табл. 2 и 4). Можно ожидать, что при высоком термодинамическом средстве полимерных частиц к растворителю ( $A_2 > 0$ ) (как в случае фракции  $tp_{25}$  (20°C)) растворитель удерживается внут-

ри полимерной частицы и движется вместе с ней. При этом ее можно аппроксимировать эквивалентной твердой сферой [21]. Это, в частности, подтверждается положением соответствующей кривой на графике Кратки (рис. 4). Напротив, в случае плохого термодинамического качества растворителя ( $A_2 < 0$ ) для полимерной частицы, как это было найдено для фракции  $ts_{65}$  (20°C), т.е. когда растворитель не удерживается полимерной частицей, модель свободно проницаемой полимерной частицы может быть более приемлемой для описания ее гидродинамических свойств [21]. График Кратки (рис. 4) также указывает на промежуточное поведение полимерных частиц фракции  $ts_{65}$  (20°C) в растворе между поведением твердых сфер и персистентных цепей. Кроме того, расчет показал, что плотность полимерных частиц фракции  $ts_{65}$  (20°C) на два порядка ниже плотности полимерных частиц фракции  $tp_{25}$  (20°C) (табл. 2). Таким образом, можно предположить, что именно различием в проницаемости полимерных частиц для растворителя можно объяснить меньшие значения  $[\eta]$ , найденные для фракции  $ts_{65}$  (20°C) по сравнению с фракцией  $tp_{25}$  (20°C), несмотря на заметно большие значения  $1/d$  (табл. 2). По-видимому, вклад возросшей сольватации полимерных частиц фракции  $ts_{65}$  с повышением температуры ( $A_2$  меняет знак от отрицательного к положительному, табл. 2), уменьшает их проницаемость для растворителя. Это может лежать в основе уменьшения значений  $[\eta]$  на 11% по сравнению с ожидаемым (на 80%) при изменении  $1/d$ .

Таким образом, на основании проведенного сопоставления данных светорассеяния и вискозиметрии можно сделать вывод о том, что для наиболее полного объяснения гидродинамического поведения соответствующих фракций  $tp$  и  $ts$  сополимеров необходима характеристика не только плотности их полимерных частиц, но и учет их формы и степени сольватации.

Интересно отметить, что данные как вискозиметрии, так и светорассеяния, однозначно указывали на термоиндуцированное сжатие полимерных частиц изучаемых фракций, что выражалось и в возрастании плотности полимерных частиц, и в уменьшении величины их характеристической вязкости с повышением температуры (табл. 2 и 4).

Полученные результаты, по-видимому, связаны с усилением (при переходе от 20 к 50°C) как внутримолекулярных, так и межмолекулярных гидрофобных взаимодействий между неполярными участками изучаемых сополимеров. Важно подчеркнуть, что в отличие от всех фракций, для которых наблюдалось ухудшение термодинамического средства к растворителю с ростом температуры, в случае фракции  $ts_{65}$  имело место его кардинальное улучшение (табл. 2), что могло свидетельствовать о кооперативном мицеллообразовании, сопровождающимся переходом клубок-глобула. При этом формировалось ядро, обогащенное гидрофобными звенями, и поверхностный слой с повышенным содержанием гидрофильных звеньев.

В случае ПАА, не теряющего аналогично сополимерам  $ts_{25}$  и  $ts_{65}$  растворимость в воде при 50°C, тенденция в изменении характеристической вязкости была иной – значения  $[\eta]$  возрастали на ~17% при переходе от измерений при 25°C к измерениям при 50°C (табл. 4), т.е. полимерные клубки ПАА при таком повышении температуры немного увеличивали свой объем. С другой стороны, макромолекулярные клубки фракции  $ts_{65}$  термочувствительного сополимера ВКЛ–ВИА в результате детектируемого высокочувствительной ДСК (рис. 2б) конформационного перехода несколько уменьшались в размерах, формировали мицеллоподобные агрегаты и не выпадали из раствора, т.е. проявляли свойства, приписываемые теорией [1, 2] белководоподобным НР-сополимерам.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Khokhlov A.R., Khalatur P.G. // Physica A (Amsterdam). 1998. V. 249. № 1–4. P. 253.
2. Khokhlov A.R., Khalatur P.G. // Phys. Rev. Lett. 1999. V. 82. № 17. P. 3456.
3. Zheligovskaya E.A., Khalatur P.G., Khokhlov A.R. // Phys. Rev. E. 1999. V. 59. № 3. P. 3071.
4. Govorun E.N., Ivanov V.A., Khokhlov A.R., Khalatur P.G., Borovinsky A.L., Grosberg A.Yu. // Phys. Rev. E. 2001. V. 64. № 4. P. 903.
5. Berezkin A.V., Khalatur P.G., Khokhlov A.R. // J. Chem. Phys. 2003. V. 118. № 17. P. 8049.
6. Virtanen J., Baron C., Tenhu H. // Macromolecules. 2000. V. 33. № 2. P. 336.
7. Virtanen J., Tenhu H. // Macromolecules. 2000. V. 33. № 16. P. 5970.
8. Virtanen J., Lemmetyinen H., Tenhu H. // Polymer. 2001. V. 43. № 23. P. 9487.
9. Wahlund P.-O., Galaev I.Yu., Kazakov S.A., Lozinsky V.I., Mattiasson B. // Macromol. Biosci. 2002. V. 2. № 1. P. 33.
10. Siu M., Zhang G.Z., Wu C. // Macromolecules. 2002. V. 35. № 7. P. 2723.
11. Лозинский В.И., Сименел И.А., Курская Е.А., Кулакова В.К., Гринберг В.Я., Дубовик А.С., Галаев И.Ю., Маттиассон Б., Хохлов А.Р. // Докл. РАН. 2000. Т. 375. № 5. С. 637.
12. Lozinsky V.I., Simenel I.A., Kulakova V.K., Kurskaya E.A., Babushkina T.A., Klimova T.P., Burova T.V., Dubovik A.S., Grinberg V.Ya., Galaev I.Yu., Mattiasson B., Khokhlov A.R. // Macromolecules. 2003. V. 36 № 19. P. 7308.
13. Tager A.A., Safronov S.V., Berezyuk E.A., Galaev I.Yu. // Colloid Polym. Sci. 1994. V. 272. № 10. P. 1234.
14. Kirsh Yu.E., Yanul N.A., Kalninsh K.K. // Eur. Polym. J. 1999. V. 35. № 2. P. 305.
15. Lozinsky V.I., Simenel I.A., Kurskaya E.A., Kulakova V.K., Galaev I.Yu., Mattiasson B., Grinberg V.Ya., Grinberg N.V., Khokhlov A.R. // Polymer. 2000. V. 41. № 17. P. 6507.
16. Эскин В.Е. Рассеяние света растворами полимеров и свойства макромолекул. Л.: Наука, 1986.
17. Burchard W. // Physical Techniques for the Study of Food Biopolymers / Ed. by Ross-Murphy S.B. Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1994. P. 151.
18. Schild H.G. // Progr. Polym. Sci. 1992. V. 17. P. 163.
19. Wang X., Qiu X., Wu C. // Macromolecules. 1998. V. 31. № 9. P. 2972.
20. Plate N.A., Lebedeva T.L., Valuev L.I. // Polym. J. 1999. V. 31. № 1. P. 21.
21. Тенфорд Ч. Физическая химия полимеров. М.: Химия, 1965.
22. Сибилева М.А., Сибилев А.И., Клюбин В.В. // Высокомолек. соед. А. 2001. Т. 43. № 7. С. 1202.
23. Holt C. // Adv. Protein Chem. 1992. V. 43. P. 63.
24. Dubovik A.S., Makhaeva E.E., Grinberg V.Ya., Khokhlov A.R. // Macromol. Chem. Phys. 2005. V. 206. № 9. P. 915.

## Behavior of Protein-Like N-Vinylcaprolactam and N-Vinylimidazole Copolymers in Aqueous Solutions

V. I. Lozinsky\*, I. A. Simenel\*, M. G. Semenova\*\*, L. E. Belyakova\*\*, M. M. Il'in\*\*, V. Ya. Grinberg\*\*, A. S. Dubovik\*\*, and A. R. Khokhlov\*\*\*

\**Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Russian Academy of Sciences,  
ul. Vavilova 28, Moscow, 119991 Russia*

\*\**Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,  
ul. Kosygina 4, Moscow, 119991 Russia*

\*\*\**Faculty of Physics, Moscow State University,  
Leninskie gory, Moscow, 119992 Russia*

**Abstract**—The free-radical copolymerization of N-vinylcaprolactam and N-vinylimidazole (at an initial comonomer ratio of 85 : 15, mol/mol) initiated by a persulfate–tertiary amine redox system in 10% aqueous DMSO at 25 and 65°C (at temperatures below and above the temperature of phase separation of the reaction system, respectively) yielded macromolecular products that were subsequently separated into thermally precipitating and nonprecipitating fractions. Investigations into these fractions by capillary viscometry, static and dynamic laser light scattering, and high-sensitivity DSC showed that macromolecules of both types of copolymers are strongly associated in aqueous solutions. Upon heating of solutions of thermally nonprecipitating fractions, additional aggregation takes place and this phenomenon is accompanied by a decrease in the size of particles without loss in their solubility until at least 70°C is reached. As for a set of physicochemical properties exhibited in aqueous solutions, the thermally nonprecipitating fraction of the copolymer synthesized at 65°C may be assigned to protein-like macromolecules.