УДК 541.64+541.18

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ПОВЕРХНОСТНОГО СЛОЯ КАТИОННЫХ ЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ МЕТИЛМЕТАКРИЛАТА НА АДСОРБЦИЮ БИОМОЛЕКУЛ

© 2020 г. Н. Н. Шевченко^{1, *}, Г. А. Панкова¹, С. Г. Лаишевкина¹

¹Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук, Большой просп., 31, Санкт-Петербург, 199004 Россия *e-mail: natali.shevchenko29@gmail.com Поступила в редакцию 16.04.2020 г. После доработки 13.05.2020 г. Принята к публикации 22.05.2020 г.

Методом безэмульгаторной сополимеризации метилметакрилата и гидрохлорида 2-аминоэтилметакрилата в присутствии сшивающих агентов (N,N'-метилен-бис-акриламид, триэтиленгликоля диметакрилат и диэтиленгликоля диметакрилат) синтезированы сшитые катионные частицы диаметром от 200 до 600 нм. Показано, что только в присутствии 20 об. % этанола формируются полимерные частицы с максимальной концентрацией поверхностных функциональных групп (1.42 мкмоль/м²) и стабильной структурой поверхностного слоя. Синтезированные частицы эффективно сорбируют биологически активные вещества, и их дисперсии остаются агрегативно устойчивыми в буферных растворах при pH 7.0.

DOI: 10.31857/S0023291220060154

введение

Полимерные частицы с заданной структурой поверхностного слоя могут быть успешно применены при создании различных биосенсоров [1–3]. Диаметр, природа и концентрация функциональных групп частиц определяют область их применения в диагностике. Одним из существенных недостатков частиц на основе полимеров (или сополимеров) стирола и метилметакрилата является сильное гидрофобное взаимодействие между полимерными цепями и биомолекулами [4], что часто приводит к снижению биологической активности последних. Поэтому поиск путей синтеза полимерных микросфер с контролируемой степенью гидрофобности и стабильной поверхностной структурой остается актуальной задачей.

Использование в диагностике анионных полимерных частиц изучено довольно подробно [5–7]. В последнее десятилетие, однако, в литературе стали появляться работы, в которых показано, что катионные частицы являются более перспективными в диагностических тестах ряда инфекционных заболеваний [2]. Использование в иммуноанализе полимерных катионных частиц обусловлено агрегативной устойчивостью их дисперсий в физиологических средах при pH от 5 до 7 [8]. В то же время, остается много вопросов, связанных с влиянием состава реакционной системы на свойства поверхностного слоя катионных

полимерных частиц. Метод безэмульгаторной эмульсионной полимеризации (БЭП) является наиболее перспективным для получения катионных полимерных частиц [9], поскольку позволяет синтезировать частицы. поверхностный слой которых не содержит поверхностно-активных соединений. В методе БЭП при синтезе катионных полимерных частиц выбор инициаторов ограничен. На данный момент наиболее хорошо изученными являются только 2 инициатора: 2,2'-азобис[2-(2имидазолин-2-ил)пропан] дигидрохлорид [10, 11] и 2,2'-азо-бис(2-метилпропаноамидин) дигидрохлорид [12, 13]. При этом синтез полимерных частиц в присутствии второго из них возможен лишь в узком диапазоне pH (от 4 до 5), так как при значении рН, равном 3, происходит гидролиз концевых остатков инициатора с образованием карбоксильной группы [13]. Поэтому возможности формирования катионных полимерных частиц с заданной структурой поверхностного слоя определяются выбором функционального сомономера, природой и концентрацией сшивающего агента (СА), а также составом дисперсионной среды.

Использование СА обеспечивает постоянство структуры и формы частиц при изменении рН и состава среды или температуры [8, 14]. Как отмечают авторы, концентрация и природа СА в основном определяет степень шероховатости поверхностного слоя полимерных частиц. При этом нет данных о влиянии концентрации и природы СА на гидрофильно-гидрофобные свойства поверхностного слоя частиц.

Варьирование состава дисперсионной среды также позволяет получать частицы с заданными поверхностными характеристиками. Следует отметить, что большинство авторов уделяют внимание влиянию состава дисперсионной среды на диаметр образующихся частиц и концентрацию поверхностных групп и не исследуют такие характеристики поверхностного слоя частиц как подвижность полимерных цепей, степень гидрофильности/гидрофобности, агрегативная устойчивость дисперсий в зависимости от электролитного состава и т.д. Так. Эрнати с соавт. показали [15], что в процессе БЭП введение до 1.5 мас. % ацетона в водную дисперсионную среду приводит к существенному уменьшению размера получаемых частиц, с 330 до 31 нм. Ким с соавт. [16] исследовали влияние метанола на размер и молекулярную массу частиц. Они установили, что при малых концентрациях метанола в реакционной системе (0-30 об. %) кинетика реакции и размер частиц (200-300 нм) соответствовали условиям БЭП. Однако при высоком содержании спирта, 40-60 об. %, реализовывался механизм дисперсионной полимеризации. Другим фактором, позволяющим регулировать размер и свойства формирующихся частиц, является введение электролитов в реакционную систему. В предыдущей нашей работе [17] показано, что добавление буферных солей (КH₂PO₄ и NaH₂PO₄) в реакционную смесь позволяет варьировать размер частиц, концентрацию поверхностных функциональных групп и структуру поверхностного слоя. Кроме того, Кэн [18] обнаружил, что кроме ионной силы на скорость полимеризации может оказывать влияние и радиус Стокса катиона. Так, с увеличением радиуса Стокса катиона при замене NaCl на LiCl наблюдается возрастание диаметра частиц с 280 до 585 нм.

В настоящей работе изучен синтез монодисперсных положительно заряженных частиц методом БЭП метилметакрилата с 2-аминоэтилметакрилата гидрохлоридом в присутствии СА различной природы. Частицы детально охарактеризованы методами динамического рассеяния света (диаметр, распределение по размерам, ζ-потенциал) и просвечивающей электронной микроскопии; концентрация поверхностных функциональных групп определена методом кондуктометрического титрования, степень гидрофобности оценена путем измерений угла смачивания. Кроме того, исследовано влияние состава реакционной смеси на кинетику сополимеризации, а также структуры поверхностного слоя полученных частиц на адсорбцию бычьего сывороточного альбумина.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

Синтез полимерных частиц проводили с использованием в качестве мономеров метилметакрилата (MMA) (98%, Aldrich), очищенного вакуумной перегонкой по стандартной методике, и 2-аминоэтилметакрилата гидрохлорида (АМГХ) (Sigma-Aldrich), который использовали без предварительной очистки. Сшивающими агентами служили диэтиленгликоля диметакрилат (ДЭГДМА) (98%, Aldrich), N,N'-метилен-бис-акриламид (MБА) (Sigma Aldrich) и триэтиленгликоля диметакрилат (ТЭГДМА) (95%, Amersco, США). Инициатором полимеризации являлся 2,2'-азо-бис[2-(2-имилозалин-2-ил)пропан] дигидрохлорид (АИП) (Waco Pure Chemical Industries). Гидрохинон, N,N-диметилформамид и толуол (все от ООО ВЕКТОН) были марки "х.ч." Дихлорметан (ООО ВЕКТОН, Россия), этанол (96%, ООО БХЗ, Россия) изопропанол (ООО ВЕКТОН, Россия) дополнительно не очищали.

Для приготовления растворов и проведения гетерофазной полимеризации использовали бидистиллированную воду, которую непосредственно перед синтезом кипятили 15 мин в токе аргона для удаления кислорода и охлаждали до комнатной температуры также в токе аргона.

Для приготовления буферных растворов использовали соли $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, $KH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ и NaCl, а также Na_2CO_3 и NaHCO₃ марки "ч. д. а." без дополнительной очистки. Растворы NaOH (Sigma-Aldrich) получали растворением кристаллов щелочи в бидистиллированной воде после их предварительной отмывки от бикарбоната натрия и использовали не более трех дней. Их точную концентрацию определяли кондуктометрическим титрованием стандартным раствором HCl. Растворы HCl готовили из фиксаналов.

В качестве биологически активного соединения для связывания с полимерными частицами был выбран бычий сывороточный альбумин (**БСА**, Sigma-Aldrich) с молекулярной массой M = 69000 (эффективный радиус глобулы 3.6 нм).

Синтез сшитых катионных полимерных частиц

Синтез полимерных частиц проводили в продутом аргоном стеклянном реакторе, снабженном механической мешалкой (скорость перемешивания около 400 об./мин), обратным холодильником, термометром и приспособлением для подачи инертного газа. В качестве дисперсионной среды использовалась бидистиллированная и деионизованная вода.

Условия синтеза приведены в табл. 1. Полимерные частицы П(ММА-АМГХ) синтезированы в отсутствие СА (опыт 1), частицы П(ММА-

№ опыта	CA	<i>D</i> , нм		Гель-фракция,	~).	[NH ₂],	Угол
		ДРС (PDI)	ПЭМ	мас. %	<i>S</i> , м²/г	мкмоль/м ²	смачивания θ**, град
1	_	330 (0.12)	240	—	23.0	1.22	70
2	МБА	245 (0.04)	200	75	24.8	0.81	58
3	ТЭГДМА	215 (0.02)	200	80	23.7	1.05	78
4	ДЭГДМА	200 (0.01)	190	62	24.8	1.16	72

Таблица 1. Влияние природы сшивающего агента на характеристики катионных полимерных частиц*

* Смесь ММА : АМГХ : СА состава 96.6 : 3.1 : 0.3 (мас. %), 300 мкл 0.1 н. HCl.

** После обработки пленок CH₂Cl₂.

Значение рН_{исх} во всех опытах было равным 3.3–3.4. Содержание коагулюма в опыте 1 составило 0.15 мас. %, в опытах 2– 4 коагулюма не было.

АМГХ-МБА) — в присутствии МБА, частицы П(ММА-АМГХ-ДЭГДМА) — в присутствии ДЭГДМА, а частицы П(ММА-АМГХ-ТЭГДМА) — в присутствии ТЭГДМА. Температуру в процессе синтеза поддерживали при помощи водяной бани. Смесь мономеров растворяли в 10 мл воды и переносили в трехгорлую колбу, содержащую 80 мл воды. Затем реакционную систему при постоянном перемешивании дегазировали в течение 20 мин под током аргона и нагревали до 70°С. Далее в реакционную систему добавляли инициатор, растворенный в 10 мл воды. Реакцию сополимеризации проводили в течение 25 мин при температуре 70–75°С и перемешивании.

Полученные частицы очищали от непрореагировавших мономеров перегонкой с водяным паром при 100°С. Водорастворимые примеси из латексов с диаметром частиц 150–550 нм удаляли при помощи трехкратного центрифугирования (10000 об./мин, 30 мин) и редиспергирования в деионизированной воде. В случае латексов с диаметром частиц 90–150 нм удаление водорастворимых примесей проводили при помощи диализного мешка с размером пор 3500 Да. Сухой остаток (**С.О.**) определяли методом гравиметрического анализа. Для этого 1 мл латекса высушивали до постоянной массы.

Определение диаметра и ζ-потенциала частиц

Диаметр полимерных частиц измеряли в просвечивающем электронном микроскопе JEM 100 S (JEOL, Япония). Образцы дисперсий наносили на формваровые подложки, обработанные 1%-ным раствором додецилсульфата натрия.

Методом динамического рассеяния света (ДРС) на приборе Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания) был определен гидродинамический диаметр частиц и их индекс полидисперсности (PDI), а также ζ -потенциал частиц. Каждый образец концентрацией 10^{-4} мас. % был измерен трехкратно. Измерения проводили в бидистиллированной воде, а также в присутствии фонового электролита NaCl (10^{-3} M) в диапазоне pH от 2 до 10.

Определение конверсии мономеров

Конверсия мономеров была определена гравиметрическим методом. При проведении реакций сополимеризации отбирали по 10 проб через определенные промежутки времени. Отобранные образцы дисперсий переносили в предварительно взвешенные и охлажденные до 5–7°С бюксы с раствором гидрохинона в ДМФА (0.1 мас. %) и высушивали до постоянной массы.

Определение молекулярной массы водорастворимых олигомеров

После синтеза полимерных частиц надосадочную жидкость отделяли путем трехкратного центрифугирования/редиспергирования. Далее надосадочную жидкость высушивали в роторном испарителе Laborota 4011 (Heidolph, Германия) до постоянной массы. Молекулярную массу водорастворимых олигомеров, полученных после выпаривания, определяли методом статического рассеяния света, используя Zetasizer Nano ZS. Стандартом служил толуол. Для проведения анализа готовили 4 раствора олигомеров в ДМФА концентрацией от 0.25 до 1.0 г/л. Перед измерениями все растворы были обеспылены с помощью шприцевого фильтра с диаметром пор 0.22 мкм (Microlab Scientific, США).

Определение гель-фракции

Для определения гель-фракции полимерных частиц был использован метод непрерывной экстракции Сокслета [19]. Экстракцию проводили в среде дихлорметана при 60°С. Окончание экстрагирования определяли путем сравнения значений коэффициента преломления чистого растворителя и экстракта (рефрактометр ИРФ-22, Россия).

Определение удельной поверхности частиц

Удельную поверхность синтезированных частиц измеряли с помощью анализатора поверхности NOVA 1200е (Quantachrome, США). Предварительно из дисперсий частиц удаляли воду на роторном испарителе Laborota 4011 при температуре 40°С и пониженном давлении. Перед началом измерений проводили дегазацию образца в токе азота при пониженном давлении.

Определение концентрации функциональных групп методом кондуктометрического титрования

Определение концентрации поверхностных функциональных групп было проведено методом обратного кондуктометрического титрования. Титрование проводили для очищенной от водорастворимых примесей полимерных дисперсии на кондуктометре SevenMulti (Mettler Toledo, Швейцария). Для определения слабоосновных амино-, имидазолиновых и алифатических аминогрупп, добавляли избыток HCl известной концентрации и затем оттитровывали 0.01 M раствором NaOH.

Смачиваемость пленок на основе полимерных частиц

Определение угла смачивания водой пленок, сформированных из синтезированных частиц, проводили на приборе DSA 30 (KRUSS, Германия). Пленки из дисперсий частиц получали с помощью пистолета для распыления MiniJet 4 HVLP (SATA, США) при давлении 2.5 атм на поверхности обеспыленных предметных стекол (BioVitrum, Россия). Углы смачивания измеряли как до, так и после нанесения на полимерные пленки хлористого метилена.

Связывание белка с поверхностью частиц

Способность частиц адсорбировать биологически активные вещества была исследована на примере БСА. Адсорбцию белка проводили в фосфатном и фосфатно-солевом буферных растворах. К 200 мкл водной дисперсии полимерных частиц с С.О. 5 мас. % добавляли раствор БСА концентрацией от 1 нг/мл до 1 мг/мл. Далее дисперсию перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Полученные коньюгаты оставляли в холодильнике на 20 ч при температуре 5°С. Затем дисперсии центрифугировали (10000 об./мин, 30 мин) и отбирали по 0.5 мл надосадочной жидкости. Содержание БСА определяли по методу Лоури [20].

Расчет адсорбции (Γ) БСА на поверхности частиц (мг/м²) проводили по формуле

$$\Gamma = \frac{(C_{\text{MCX}} - C_{\text{KOH}})V}{S_0 \text{C.O.}},\tag{1}$$

где $C_{\text{исх}}$ – исходная концентрация белка (мг/мл), $C_{\text{кон}}$ – концентрация белка в супернатанте после хемосорбции (мг/мл), V – объем раствора (мл), С.О. – масса сухого остатка латекса (г), S_0 – удельная поверхность частиц (м²/г).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе детально исследована зависимость поверхностной структуры сшитых катионных полимерных частиц от природы СА и состава дисперсионной среды, в которой происходит БЭП. В качестве основных сомономеров использовали ММА и АМГХ. Сополимеризацию вели в присутствии ряда бифункциональных сомономеров (сшивающих агентов) различной природы. Бифункциональные сомономеры использовали для обеспечения постоянства поверхностной структуры частиц при изменении состава среды (рН или ионной силы). В качестве сшивающих агентов, как уже было сказано выше, МБА, ДЭГДМА и ТЭГДМА. Соотношение мономеров в реакционной системе составляло: MMA : АМГХ : CA = 96.6 : 3.1 : 0.3 мас. %. Также в реакционную систему вводили 300 мкл 0.1 н. HCl для обеспечения значения pH ниже 3.8, чтобы исключить побочные реакции по Михаэлю и ацильную перегруппировку АМГХ. В табл. 1 представлены характеристики полученных частиц: диаметр, удельная поверхность, концентрация функциональных групп, данные гель-золь анализа и угол смачивания соответствующей пленки.

Во всех случаях образуются монодисперсные частицы диаметром 200–250 нм (табл. 1) сферической формы (рис. 1).

Как следует из рис. 2, природа СА существенно влияет на кинетику сополимеризации, а, следовательно, и на структуру поверхностного слоя образующихся частиц (табл. 1). Гидрофильность сшивающих агентов уменьшается в ряду МБА > > ТЭГДМА > ДЭГДМА, при этом МБА полностью растворим в воде, тогда как растворимость ТЭГДМА и ДЭГДМА равна 360 и 58 мг/100 мл соответственно. В случае использования МБА выраженный гель-эффект (конверсия мономеров более 40%) обнаруживается уже на 5-ой минуте синтеза. В то же время при использовании ТЭГДМА и ДЭГДМА гель-эффект наступает на 13-ой и 9-ой минуте соответственно.

Кроме того, природа СА существенно влияет на концентрацию и молекулярную массу образующихся водорастворимых олигомеров. Использование МБА приводило к формированию олигомеров с M = 6800 (опыт 2, табл. 1) при их содержании в реакционной системе 6.1 мас. %. В то же



Рис. 1. Электронные микрофотографии частиц сополимеров ММА и АМГХ, синтезированных методом БЭП в разных опытах, условия которых приведены в табл. 1 и 2.

время в случае ДЭГДМА (опыт 4, табл. 1) М олигомеров составляет примерно 30000 ± 5000 при общем их содержании в реакционной системе 1 мас. %. Наличие олигомеров с высокой молекулярной массой обеспечивает эффективную стерическую стабилизацию дисперсий и, как следствие, отсутствие коагулюма (табл. 1).

Только при использовании МБА формируются катионные сшитые полимерные частицы с минимальной гидрофобностью. Угол смачивания пленки из частиц опыта 2 равен 58°, а пленки из

частиц опыта 4 (получены с использованием наиболее гидрофобного сшивающего агента ДЭГДМА) – 72°. Таким образом, частицы, синтезированные в опыте 4, по гидрофобности поверхностного слоя сопоставимы с частицами, полученными в опыте 1, при синтезе которых не использовали СА.

Проведено комплексное исследование электроповерхностных свойств синтезированных частиц. Установлено, что в кислой или нейтральной среде (рН 2-6.8) устойчивость частиц к агрегации

КОЛЛОИДНЫЙ ЖУРНАЛ том 82 Nº 6 2020



Рис. 2. Конверсия мономеров в процессе БЭП сомономеров ММА и АМГХ в отсутствие сшивающего агента (*1*) и в присутствии МБА (*2*), ДЭГДМА (*3*) и ТЭГДМА (*4*).

сохранялась (PDI < 0.03 для всех образцов, рис. 3а) благодаря высоким значениям С-потенциала, превышавшим +30 мВ (рис. 3б). Дальнейшее повышение рН до 10.5 приводило к возрастанию диаметра всех исследуемых частиц (рис. 3а) и снижению их ζ-потенциала. Следует отметить, что, несмотря на то что титруемая концентрация поверхностных функциональных групп частиц из опыта 2 оказалась равной только 0.8 мкмоль/м², инверсия знака их ζ-потенциала происходила при рН, равном 8.8. В то же время для частиц из опыта 4 поверхностная концентрация функциональных групп была на 39% больше и составляла 1.16 мкмоль/м², а инверсия знака ζ-потенциала имела место при рН 8.5. Очевидно, это связано с преобладанием аминогрупп в поверхностном слое частиц опыта 2. Кроме того, частицы, полученные в присутствии МБА (опыт 2), являются более сшитыми – содержание гель-фракции составляет 75 мас. % (табл. 1); их поверхностная структура обеспечивает лучшую стабилизацию при рН 6–7, что является перспективным с точки зрения создания на основе таких частиц диагностических систем.

С целью синтеза полимерных частиц размером более 245 нм была проведена сополимеризация ММА и АМГХ в присутствии МБА в водно-спиртовых средах — смесях этанол/вода и изопропанол/вода разного состава (табл. 2).

Установлено, что с уменьшением полярности дисперсионной среды (ростом количества добавленного спирта) диаметр частиц проходит через максимум (табл. 2, рис. 4). При этом во всех слу-



Рис. 3. Зависимости гидродинамического диаметра (а) и ζ -потенциала (б) от рН для частиц, синтезированных с использованием МБА (1), ДЭГДМА (2) и ТЭГДМА (3) в качестве сшивающего агента.

чаях образуются монодисперсные частицы сферической формы (рис. 1) диаметром 200-600 нм (табл. 2).

Введение в реакционную систему 5 об. % этанола снижает скорость сополимеризации, образование геля наблюдается только спустя 7–10 мин (рис. 5). Кроме того, диаметр формирующихся частиц уменьшается до 200 нм, что может быть связано с образованием на начальном этапе большого количества олигорадикалов, которые играют роль ПАВ и участвуют в стабилизации полимер-олигомерных частиц. Этот вывод подтверждается результатами золь-гель анализа: в образцах 5 и 9 золь-фракция отсутствует. Увеличение содержания этанола в системе до 10 и 20 об. % приводит к возрастанию диаметра частиц до 245 и 585 нм соответственно. В данных условиях на-

	Содержание спирта	<i>D</i> , нм	Vaamumaar	Характеристики частиц								
№ п/п	в смеси с H_2O , об. %	ДРС (PDI)	коагулюм, мас. %	<i>S</i> , м ² /г	[NH ₂], мкмоль/м ²	угол смачивания θ**, град						
Этанол												
5	5	200 (0.04)	0	27.7	1.11	_						
6	10	245 (0.03)	0	19.2	1.18	60.4						
7	20	585 (0.22)	0.1	9.0	1.42	62.6						
8	30	90 (0.14)	0	44.7	0.22	60.0						
Изопропанол												
9	5	200 (0.02)	0	28.6	0.91	_						
10	10	285 (0.09)	0	19.1	1.19	59.7						
11	20	100 (0.21)	8	46.4	0.39	59.6						

Таблица 2. Влияние состава дисперсионной среды на характеристики сшитых катионных полимерных частиц*

* Смесь мономеров ММА : АМГХ : МБА состава 96.6 : 3.1 : 0.3 (мас. %), 300 мкл 0.1 н. HCl.

** После обработки CH₂Cl₂.

Значение рН_{исх} во всех опытах составляло 3.3-3.4.

блюдается замедление скорости сополимеризации (рис. 5), при этом гель-эффект уже не имеет такого ярко выраженного характера. При увеличении содержания изопропанола до 10 об. % диаметр частиц составил 285 нм, скорость реакции значительно снизилась, а гель-эффект отсутствовал даже при 80%-ной конверсии мономеров (рис. 5). Дальнейшее увеличение содержания этанола до 30 об. % и изопропанола до 20 об. % приводит к формированию частиц диаметром 90-100 нм (табл. 2). Это, по-видимому, связано с тем, что на начальном этапе синтеза в реакционной системе образуется такое количество олигомеров, что реализуются условия эмульсионной сополимеризации. Подтверждением этому служит отсутствие нерастворимой сшитой фракции в случае частиц, полученных при 30 об. % этанола и 20 об. % изопропанола.

Отметим, что варьирование природы и концентрации спирта не оказывает существенного влияния на гидрофобные свойства поверхностного слоя образующихся частиц (табл. 2). Угол смачивания пленок, сформированных из всех частиц, лежит в узком диапазоне от 59° до 62°, что свидетельствует о формировании поверхностного слоя частиц с минимальной гидрофобностью.

В то же время варьирование природы и концентрации спирта оказывает существенное влияние на концентрацию поверхностных функциональных групп (рис. 6). Максимальная титруемая концентрация поверхностных функциональных групп наблюдается для частиц опыта 7 (получены

КОЛЛОИДНЫЙ ЖУРНАЛ том 82 № 6 2020

в присутствии 20 об. % этанола) и составляет 1.42 мкмоль/м².

Комплексное исследование электроповерхностных свойств полученных частиц показало, что в кислой и нейтральной среде (pH 2–6.5) агрегативная устойчивость частиц сохранялась: PDI < 0.03 для всех образцов (рис. 7). Дальнейшее повышение pH до 10.5 приводило к возрастанию диаметра всех исследуемых частиц и снижению их ζ -потенциала (рис. 7). Отрицательный заряд



Рис. 4. Зависимость диаметра частиц от содержания этанола (1) или изопропанола (2) в дисперсионной среде.



Рис. 5. Конверсия мономеров в процессе БЭП ММА и АМГХ в присутствии МБА в зависимости от содержания (об. %) этанола (а) или изопропанола (б) в дисперсионной среде.

обеспечивается частичным гидролизом эфирных групп звеньев ММА до карбоксильных групп. Инверсия знака ζ-потенциала происходила при рН 8.0—9.0, что свидетельствует о преобладании аминогрупп над карбоксильными. При этом степень ионизации карбоксильных групп недостаточна для придания дисперсиям частиц агрегативной устойчивости в щелочной области рН.

Исследование способности частиц П(ММА-АМГХ-МБА) выступать в качестве носителей биолигандов белковой природы было проведено для образцов 2 и 7. Выбор этих частиц обусловлен агрегативной устойчивостью их дисперсий в среде фонового электролита при рН 7, стабильной поверхностной структурой, а также (в случае об-



Рис. 6. Концентрация функциональных групп на поверхности частиц, синтезированных при различном содержании спиртов в дисперсионной среде.

разца 7) высокой концентрацией поверхностных функциональных групп, равной 1.42 мкмоль/м².

Для частиц опыта 2 предельное значение адсорбции БСА оказалось равным 1.61 мг/м² (рис. 8). При концентрации белка от 0.125 до 1.0 мг/мл размер частиц варьировался в диапазоне 950-1690 нм, индекс полидисперсности составил 0.22-0.29 и С-потенциал уменьшился до -15.5 мВ, что свидетельствовало о неустойчивости системы и агрегации частиц. Однако при более низкой концентрации БСА, равной 0.035-0.07 мг/мл, дисперсия этих частиц оказалась агрегативно устойчивой, что подтверждали значения диаметра частиц (260-275 нм), PDI (не более 0.08) и С-потенциала, снизившегося до 30.6-40.0 мВ. Увеличение размера частиц на 15-20 нм и уменьшение их электрокинетического потенциала свидетельствовали об экранировании поверхности молекулами БСА.

Максимальная адсорбция БСА имела место только на частицах опыта 7 с максимальной концентрацией функциональных групп, стабильной структурой поверхностного слоя и минимальной гидрофобностью (угол смачивания 60°). Предельная адсорбция БСА на таких частицах составила 7.05 мг/м² (рис. 8). Большая концентрация поверхностных функциональных групп и гидрофильность поверхностного слоя способствовали тому, что при всех концентрациях БСА дисперсия частиц была агрегативно устойчивой, что подтвердили данные ДРС: значения диаметра частиц – 600-610 нм, PDI не более 0.07. Это свиде-

768



Рис. 7. Зависимости гидродинамического диаметра (а) и ζ-потенциала (б) от pH для частиц, синтезированных при различном содержании спиртов в дисперсионной среде.

тельствует о перспективности использования таких частиц в качестве носителей биологически активных веществ.

Таким образом, показано, что только при сополимеризации метилметакрилата с 2-аминоэтилметакрилата гидрохлоридом с использованием в качестве сшивающего агента N,N-метиленбисакриламида и в присутствии 20 об. % этанола формируются полимерные частицы с максимальной концентрацией поверхностных функциональных групп и стабильной структурой поверхностного слоя. Синтезированные частицы П(ММА-АМГХ-МБА) диаметром 585 нм являются эффективными носителями биологически активных веществ, при этом их дисперсии оста-



Рис. 8. Адсорбция БСА на поверхности частиц, синтезированных в опытах 2 (*1*) и 7 (*2*).

ются устойчивыми в фосфатно-солевых буферных растворах при pH 7.0.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания (АААА-А20-120022090039-8).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ortega-Vinuesa J.L., Molina-Bolívar J.A., Hidalgo-Álvarez R. // J. Immunol. Methods. 1996. V. 190. P. 29.
- Komoriya T., Inoue N., Yoshimune K., Ogawa M., Moriyama M., Kohno H. // J. Biosci. Bioeng. 2012. V. 114. P. 560.
- Yuan X., Fabregat D., Yoshimoto K., Nagasaki Y. // Colloids Surf. B. 2012. V. 99. P. 45.
- 4. Piskin E. // Clin. Mater. 1992. V. 11. P. 3.
- Margel S., Nov E., Fisher I. // J. Polym. Sci. A. 1991. V. 29. P. 347.
- 6. Cockburn R.A., McKenna T.F.L., Hutchinson R.A. // Macromol. React. Eng. 2011. V. 5. P. 404.
- Wang P.-H., Wang Q-W. // J. Appl. Polym. Sci. 2003. V. 88. P. 1747.
- Hussein M.A., El-Shishtawy, R.M., Abu-Zied, B.M., Asiri A.M. // J. Therm. Anal. Calorim. 2016. V. 124. P. 709.
- Шевченко Н.Н., Панкова Г.А., Шабсельс Б.М., Лаишевкина С.Г., Байгильдин В.А. // Коллоид. журн. 2020. Т. 82. С. 252.

- Меньшикова А.И., Евсеева Т.Г., Инкин К.С., Скуркис Ю.О., Иванчев С.С. // Журн. прикл. химии. 2006. Т. 79. С. 1680.
- Hawkins W.L., Biggs B.S. // J. Am. Chem. Soc. 1949.
 V. 71. P. 2530.
- 12. Shen J., Xu J., Hu Y. Sun J.-W., Li L.-X., Kan C.-Y. // Chin. J. Polym. Sci. 2016. V. 34. P. 1240.
- 13. Goodwin J.W., Ottewill R.H., Pelton R. // Colloid Polym. Sci. 1979. V. 257. P. 61.
- 14. *Kim D., Lee D.Y., Lee K., Choe S. //* Macromol. Res. 2009. V. 17. P. 250.
- 15. Ernawati L., Balgis R., Ogi T., Okuyama K., Takada T. // Chem. Process Eng. 2017. V. 38. P. 5.

- Kim G., Lim S., Lee B.H., Shim S.E., Choe S. // Polymer. 2010. V. 51. P. 1197.
- Шевченко Н.Н., Панкова Г.А., Евсеева Т.Г., Шабсельс Б.М., Байгильдин В.А., Меньшикова А.И. // Высокомолек. соед. Б. 2014. Т. 56. С. 144.
- Can S., Tanrisever T. // J. Appl. Polym. Sci. 2007. V. 103. P. 2494.
- Shen S., Sudol E.D., El-Aasser M.S. // J. Polym. Sci. A. 1994. V. 32. P. 1087.
- 20. The Protein Protocols Handbook / Ed. by Walker J.M. Totowa: Humana Press, 2002.