

ВЛИЯНИЕ ДОБАВКИ КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА(III) С ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНОМ НА СТРУКТУРУ ВОЛОКОН ПОЛИ(3-ГИДРОКСИБУТИРАТА), ПОЛУЧЕННЫХ ЭЛЕКТРОФОРМОВАНИЕМ

© А. А. Ольхов^{1,2,3}, А. В. Лобанов^{1,2}, С. Г. Карпова³, А. В. Бычкова³,
А. А. Аргюх³, А. Н. Голощапов³, А. Л. Иорданский¹

¹ Институт химической физики им. Н. Н. Семенова РАН, Москва

² Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова, Москва

³ Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, Москва
E-mail: aolkhov72@yandex.ru

Поступила в Редакцию 1 октября 2018 г.

После доработки 26 ноября 2018 г.

Принята к публикации 20 декабря 2018 г.

Методом электроформования получены ультратонкие волокна на основе биополимера поли(3-гидроксибутирата), содержащие 1–5 мас% комплекса железа(III) с тетрафенилпорфирином. Межмолекулярное взаимодействие компонентов волокон изучено методом УФ-спектроскопии. С помощью метода магнитного резонанса определено наличие парамагнитных реакционных центров в смесях. Структура кристаллических и аморфных областей волокон изучена методами дифференциальной сканирующей калориметрии, рентгеноструктурного анализа, методом ЭПР спиновых зондов, сканирующей электронной микроскопии. Показано, что при добавлении комплекса в волокна поли(3-гидроксибутирата) наблюдается увеличение размера кристаллитов и значительный рост степени кристаллическости, замедляется молекулярная подвижность в аморфных областях полимера. Температурный отжиг при 140°C приводит к резкому росту кристаллическости и снижению молекулярной подвижности в аморфных областях поли(3-гидроксибутирата). Озонолиз изучаемых волокон при небольшом времени воздействия (до 5 ч) обуславливает резкое замедление молекулярной подвижности, при более длительном озонировании волокон наблюдается рост подвижности. Полученные волокнистые материалы обладают бактерицидными свойствами и могут найти приложение при создании терапевтических систем антибактериального и противоопухолевого действия.

Ключевые слова: комплекс железа(III) с тетрафенилпорфирином, ультратонкие волокна, поли(3-гидроксибутират), электроформование, озонлиз, кристаллическая структура, аморфная фаза, бактерицидные свойства.

DOI: 10.1134/S0044461819040066

В схемах лечения многих инфекционных и онкологических заболеваний часто применяются трансдермальные системы на основе твердых полимерных матриц или гелей, содержащих функциональные вещества с антисептическими (бактерицидными) свойствами [1, 2]. Для создания таких терапевтических

систем используется наиболее распространенный представитель нового класса природных полиэфиров — поли(3-гидроксибутират) (ПГБ).

Одним из перспективных видов матриц с антисептическими свойствами являются нано- и микроволоконистые нетканые материалы, получаемые методом

электроформования. Метод основан на ориентации полимерного раствора в виде тонкой вязкой струи в поле действия механических и электростатических сил с последующим формированием волокна диаметром в диапазоне от десятков до тысяч нанометров [3].

Получение полимерных модификаций биологически активных соединений является в настоящее время активно развивающейся областью химической технологии и направлено на синтез полимерных материалов со значимыми биомедицинскими свойствами. Фундаментальный и прикладной интерес к порфиринасодержащим полимерам связан с широкими возможностями синтеза молекулярных структур, обладающих специфическими свойствами, легко контролируемые и изменяемые в соответствии с областью их использования [4]. Установлено также лечебное действие различных порфиринов и их металлокомплексов при лучевом поражении организма. При этом показано, что эффективность радиозащитного и пострадиационного воздействия порфиринов существенно зависит от наличия в молекуле того или иного металла и полимерного окружения [5].

Комплексы железа с порфиринами являются гомогенными катализаторами автоокисления ряда биогенных веществ. В этом процессе происходит промежуточное образование активных форм кислорода — супероксидного анион-радикала, пероксидного и гидроксильного радикалов, пероксида водорода, цитостатическая активность которых хорошо известна. Эти радикальные и ион-радикальные частицы вызывают окислительные деструктивные реакции в клетках, обуславливая бактерицидный эффект [6]. Порфирины принадлежат к числу соединений с большим количеством тесно взаимодействующих реакционных центров (РЦ). Эта взаимосвязь РЦ во многом и обуславливает специфику свойств молекул. У простейших лигандов H_2P имеется по крайней мере четыре реакционных центра. Это пиррольные ($-NH$) и пирролениновые ($-N=$) атомы азота, участвующие в процессах кислотного-основного взаимодействия [7], комплексообразования [8] и нуклеофильного замещения [9, 10], а также $S\beta S\beta$ - π -связи пиррольных колец, подверженные раскрытию или замещению водорода у $S\beta$ углеродного атома [9, 11, 12], и собственно макроциклическая π -система, вступающая в реакции электрофильного и нуклеофильного замещения H -атома в *мезо*-положении [11, 12], в процессы π - π -комплексообразования, окисления–восстановления [13] и т. д. При переходе к металлопорфиринам (МР) в результате выравнивания электронной плотности на атомах азота в молекуле исчезает РЦ, связанный с реакциями диссоциации NH -связи, однако возника-

ют другие — атом металла (реакции диссоциации и металлообмена [14]) и связи металл–экстралиганд для МР со сложной координационной сферой комплекса. Некоторые РЦ в молекулах H_2P и МР вступают в реакции синхронно или почти синхронно, как, например, третичные атомы азота и NH -связи в реакциях комплексообразования [13], атомы металла металлопорфиринов и π -макроциклический хромофор в процессах образования молекулярных комплексов или формирования супрамолекулярных систем [15].

Наиболее перспективными носителями для функциональных низкомолекулярных веществ (частиц) являются полимерные волокна наноразмерного диапазона.

Настоящая работа рассматривает влияние железо(III)хлортетрафенилпорфирина ($FeClTPP$) на геометрию, кристаллическую структуру и молекулярную динамику в межкристаллитном пространстве (аморфной фазе) ультратонких волокон поли(3-гидроксипропирата). Исследуемый структурно-динамический комплекс свойств волокнистых материалов является основой для конструирования полимерных терапевтических систем, обеспечивающих антибактериальные свойства.

Экспериментальная часть

Для получения волокон ПГБ использовали природный биоразлагаемый полимер полигидроксипропирата серии 16F, полученный методом микробиологического синтеза компанией BIOMER® (Германия). Средневязкостная молекулярная масса ПГБ составляла $2.06 \cdot 10^5$, степень кристалличности ~59%.

В качестве модифицирующего вещества для создания волокнистых матриц с антисептическими свойствами использовали комплекс железа(III) с тетрафенилпорфирином ($FeClTPP$). Для получения волокон готовили формовочные растворы ПГБ и ПГБ с $FeClTPP$ в хлороформе. Концентрация ПГБ в растворе составляла 7 мас%. Содержание $FeClTPP$ в формовочном растворе составляло 1, 3 и 5 мас% относительно массы ПГБ. Формовочные растворы ПГБ с $FeClTPP$ готовили при температуре 60°C, используя автоматическую магнитную мешалку. Волокна получали методом электроформования (ЭФ) с помощью однокапиллярной лабораторной установки с диаметром капилляра 0.1 мм, напряжением электрического тока 12 кВ, расстоянием между электродами 18 см, электропроводимостью раствора $10 \text{ мкСм} \cdot \text{см}^{-1}$ [16].

ЭПР-спектры (X -диапазона) регистрировали на автоматизированном ЭПР-спектрометре ЭПР-В

(ИХФ РАН). Значение микроволновой мощности в резонаторе, чтобы избежать эффектов насыщения, не превышало 7 мВт. При записи спектров амплитуда модуляции всегда была существенно меньше ширины резонансной линии и не превышала 0.5 Гс. В качестве зонда использовали стабильный нитроксильный радикал 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил (ТЕМПО). Радикал вводили в волокна из газовой фазы при температуре 40°C. Концентрация радикала в полимере не превышала 10^{-3} моль·л⁻¹. Экспериментальные спектры спинового зонда в области медленных движений ($\tau > 10^{-10}$ с) анализировали в рамках модели изотропного броуновского вращения с помощью программы, описанной в работе [17]. При моделировании спектров были использованы следующие главные значения *g*-тензора и тензора сверхтонкого взаимодействия (СТВ) радикала: $g_{xx} = 2.0096$, $g_{yy} = 2.0066$, $g_{zz} = 2.0025$, $A_{xx} = 7.0$ Гс, $A_{yy} = 5.0$ Гс, $A_{zz} = 35.0$ Гс. Величина A_{zz} была определена экспериментально из ЭПР-спектров нитроксильного радикала в полимере при -216°C, она незначительно отличается от значения, приведенного в работе [18]. Значения времени корреляции вращения зонда τ в области быстрых вращений ($5 \cdot 10^{-11} < \tau < 10^{-9}$ с) определяли из спектров ЭПР по формуле

$$\tau = \Delta H_+ [(I_+/I_-)^{0.5} - 1] \cdot 6.65 \cdot 10^{-10},$$

где ΔH_+ — ширина компоненты спектра, расположенной в слабом поле; I_+/I_- — отношение интенсивностей компонент в слабом и сильном поле соответственно.

Ошибка определения τ составляла ± 5 . Спектры магнитного резонанса волокон без введения зонда регистрировали по методике, описанной в работе [19] при разных настройках мощности: 0.1, 1, 10 мВт. В образцы помещали стеклянную ампулу с эталоном — Mn^{2+} (1 мг).

Исследование образцов методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) было проведено на приборе DSC 204 F1 фирмы Netzsch в среде аргона со скоростью нагрева 10 град·мин⁻¹. Среднестатистическая ошибка измерения тепловых эффектов составляла $\pm 3\%$. Энтальпия плавления была рассчитана по программе Netzsch Proteus [19]. Разделение пиков осуществлялось с помощью программного обеспечения Netzsch Peak Separation 2006.01. Вычисления проводили комбинированным методом Гаусса–Ньютона, в котором метод Marquardt скомбинирован с оптимизацией длины шага итерации [20].

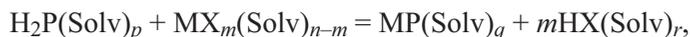
Рентгеноструктурный анализ образцов проводили с использованием съемок на просвет. Двумерные

картины рассеяния высокого разрешения были получены при помощи системы мало- и широкоугольного рассеяния рентгеновского излучения S3-Micropix, изготовленной фирмой Hecus ($Cu_{K\alpha}$ -излучение, $\lambda = 1.542 \text{ \AA}$). Использовались детектор Pilatus 100K, а также линейный детектор PSD 50M в токе Ar/Me 8 бар, высокое напряжение на источнике Xenos Genix трубке и ток составляли 50 кВ и 1 мА соответственно. Для формирования рентгеновского пучка использовалась рентгеновская оптика Fox 3D, диаметры формирующих щелей в коллиматоре Кратки: 0.1 и 0.2 мм соответственно. Интервал измерения углов дифракции 0.003–1.9 A^{-1} . Для устранения рассеяния рентгеновских лучей на воздухе блок рентгеновских зеркал и камера находились в вакуумной системе (давление $\approx (2-3) \cdot 10^{-2}$ мм рт. ст.). Время накопления варьировали в интервале 600–5000 с.

Геометрию волокнистых материалов исследовали с помощью сканирующего электронного микроскопа Hitachi TM-3000 (Япония) при ускоряющем напряжении 20 кВ. На поверхность образца нетканого волокнистого материала напыляли слой золота толщиной 100–200 A .

Электронные спектры поглощения (УФ-спектры) растворов ПГБ–FeClТФП получены на спектрофотометре Hitachi UV-2001 с использованием кварцевых кювет с длиной оптического пути 1 см. Биологические исследования материалов проводили по следующей методике. В качестве тест-культур были использованы *S.aureus* p 209 (Золотистый стафилококк), *S. typhimurium* (Сальмонелла тифимуриум), *E. coli* 1257 (Эшерихия коли). Контролем служили образцы необработанного волокнистого материала. Культуры тест-микроорганизмов пересеивали на скошенный мясо-пептонный агар и инкубировали в течение 17–18 ч при 37°C. Затем готовили в физиологическом растворе суспензию каждого микроорганизма и устанавливали концентрацию микробных клеток по стандарту мутности 10⁴ м.к./мл. В стерильные чашки Петри помещали образцы волокнистого материала (контрольные и опытные) размером 10 × 10 см. По поверхности ткани распределяли 1 мл суспензии тест-культуры и выдерживали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем в чашку наливали 9 мл стерильного физиологического раствора и выдерживали в течение 10–15 мин для элюирования тест-культуры с волокнистого материала. По истечении экспозиции материал из чашек в количестве 100 мкл (0.1 мл) высевали на поверхность мясо-пептонного агара, разлитого предварительно в чашки Петри. Посевы инкубировали в течение 14–48 ч при 37°C. Параллельно производили посев используемых

в опыте суспензий тест-культур для контроля концентрации жизнеспособных микроорганизмов. Затем проводили подсчет выросших на поверхности агара колоний жизнеспособных микроорганизмов.



где H_2P — порфирин, MX_m — соль металла, MP — металлопорфирин, n — максимальное координационное число катиона металла в данном растворителе, m — число монодентатных однозарядных ацидолигандов.

Хлориды большинства двух- и трехзарядных катионов металлов хорошо образуют с порфинами комплексы в различных органических растворителях. На вставке рис. 1 приведена структурная формула FeClTPP . Данное соединение обладает высокой каталитической активностью перехода молекулярного кислорода в активные формы, обуславливающие его повышенные бактерицидные свойства.

Электронные спектры поглощения (рис. 1) содержат интенсивную характеристическую полосу Soret

Обсуждение результатов

В основе получения комплексов металлов с тетрафенилпорфирином лежат реакция комплексообразования:

с максимумом при 415–420 нм и малоинтенсивные Q-полосы в области длин волн 550–650 нм. Полоса Soret, характерная для макроциклических структур, обусловлена переходом $\pi \rightarrow \pi^*$ типа, связанного с переносом заряда с участием порфиринового лиганда и атома металла.

Молекулярный механизм заключается в том, что центральный атом металла, вытесняя из порфиринового лиганда два протона, оказывается практически в симметричном электростатическом поле четырех атомов азота, с которыми он образует четыре эквивалентные координационные связи донорно-акцепторного типа. Если взаимодействие металла с анионом порфирина ограничивается преимущественно электростати-

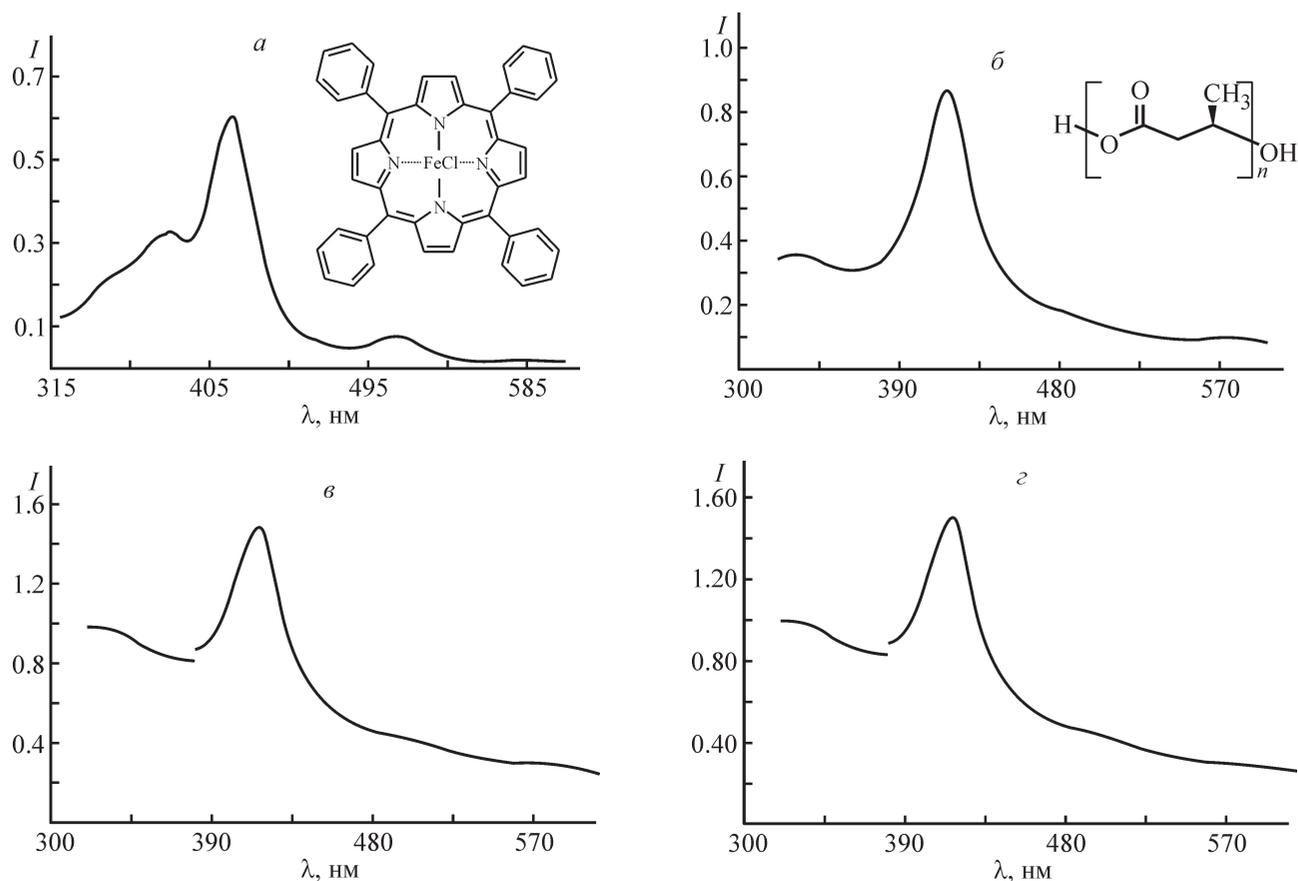


Рис. 1. Электронные спектры (зависимость интенсивности от длины волны) FeClTPP в хлороформе (а) и смесей ПГБ– FeClTPP в хлороформе с содержанием порфирина 1 (б), 3 (в) и 5% (з).

На вставках: а — структурная формула FeClTPP , б — структурная формула ПГБ.

ческим взаимодействием, то образуются лабильные комплексы ионного типа. Если же электростатическое взаимодействие сопровождается заполнением вакантных орбиталей центрального атома металла электронами донорных N-атомов лиганда, то образуются стабильные комплексы порфиринов преимущественно ковалентного типа. Тот или иной тип взаимодействия определяется как пространственной структурой порфириновых лигандов (тетраденатностью и относительной жесткостью планарного макрогетероцикла), так и внешними факторами окружения (тип растворителя, наличие в растворе полярных низкомолекулярных или высокомолекулярных веществ и др.).

Из анализа рис. 1 следует, что положение полосы Соре в растворах FeClTPP и ПГБ–FeClTPP не изменяется, что свидетельствует об отсутствии химического связывания комплексов с функциональными группами ПГБ, а также водородных связей между компонентами формовочного раствора. При этом наблюдается некоторый рост интенсивности и уширения пиков растворов ПГБ–FeClTPP относительно раствора FeClTPP, что может свидетельствовать об адсорбционном взаимодействии компонентов по механизму Ван-дер-Ваальса. При этом может происходить иммобилизация на полярных функциональных группах ПГБ молекул порфириновых комплексов. Иммобилизация FeClTPP на ПГБ предотвращает нежелательную ассоциацию комплексов, что может повышать устойчивость системы к агрессивным средам. Связанные полимером молекулы комплексов порфиринов придают модифицированному полимеру значимые свойства: каталитическую, биологическую активность, фотофизические и фармакологические свойства и др.

Иммобилизованные макромолекулами ПГБ в растворах хлороформа супрамолекулярные комплексы FeClTPP, по всей видимости, должны оставаться в стабильном состоянии и при формировании твердого ультратонкого волокна.

Каждая молекула супрамолекулярного комплекса FeClTPP имеет свой реакционный центр. Эти реакционные центры в супрамолекулярных комплексах FeClTPP вследствие наличия координационно связанных ионов железа, обладающих ярко выраженными парамагнитными свойствами, можно достаточно уверенно регистрировать методом электронного магнитного резонанса (ЭМР). По числу парамагнитных центров можно судить о сравнительном количестве супрамолекулярных комплексов и степени их локальной агломерации в образцах.

С ростом содержания комплексов FeClTPP в волокнах ПГБ интенсивность и площадь спектров ЭПР

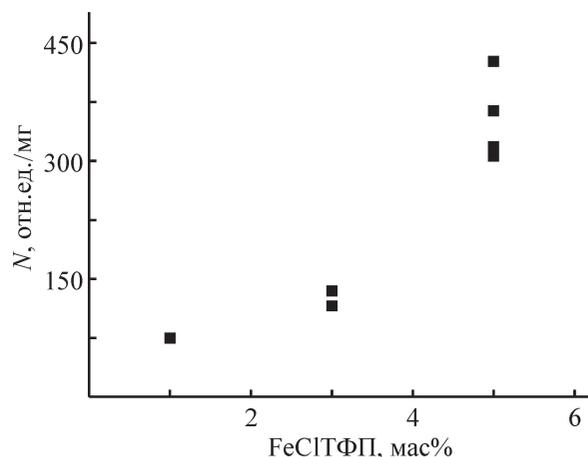


Рис. 2. Зависимость количества парамагнитных центров в волокнах ПГБ–FeClTPP, приведенных к 1 мг, от концентрации FeClTPP.

возрастает, что свидетельствует о парамагнитных свойствах комплексов как в формовочном растворе, так и в волокне. По площадям спектральных кривых образцов были рассчитаны относительные количества парамагнитных центров (рис. 2).

Количество парамагнитных центров в образцах находится практически в линейной зависимости от концентрации порфирина. Разброс показателя может быть связан с агломерацией части комплексов в матрице ПГБ, а также с межмолекулярным взаимодействием полимера с комплексами. На данные ЭМР может влиять остаточный статический электрический заряд, образующийся на поверхности ПГБ-волокон при электростатическом формовании. Поскольку ПГБ и FeClTPP хорошо растворимы в хлороформе, можно ожидать равномерного распределения комплексов в объеме волокна. При взаимном влиянии компонентов возможно изменение морфологии волокон в зависимости от концентрации FeClTPP. Методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) были получены изображения участков волокнистых материалов, представленных на рис. 3.

Как показано на рис. 3, добавление в раствор ПГБ комплекса FeClTPP приводит к существенному изменению морфологии волокна. У исходного волокна ПГБ (рис. 3, а) наблюдается чередование цилиндрических и веретенообразных участков. Наличие утолщений в структуре волокна может объясняться низкими значениями электропроводимости и поверхностного натяжения полимерного формовочного раствора [21]. Средний диаметр цилиндрических участков волокна составляет 1–6 мкм, а веретеноподобные элементы имеют максимальный диаметр ~10 мкм и протяженность 20–30 мкм.

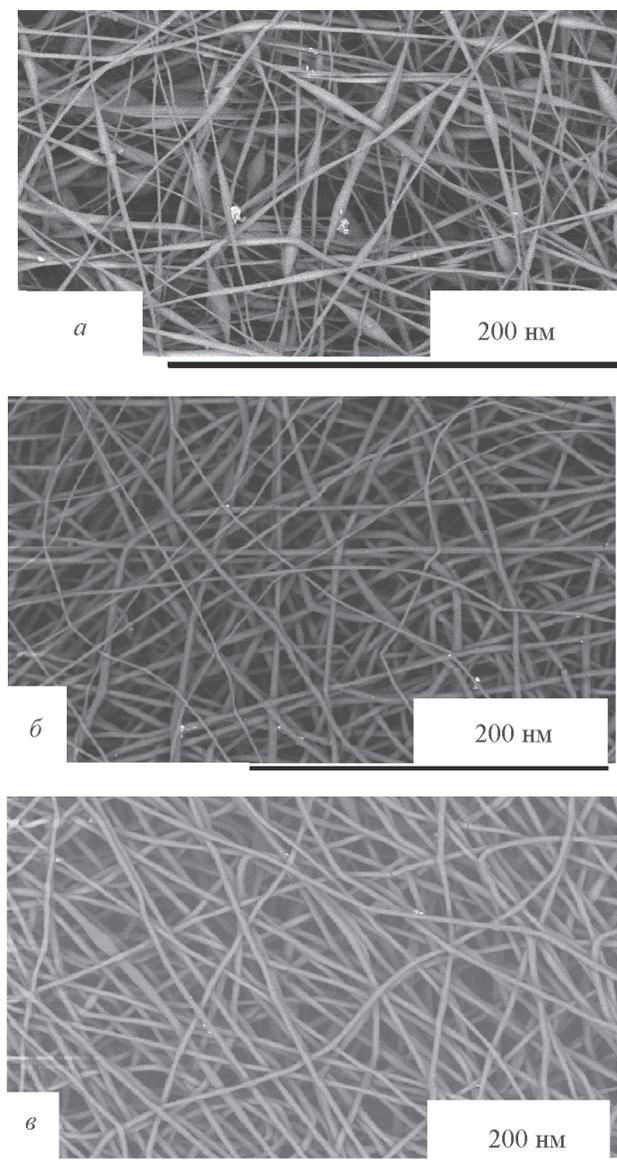


Рис. 3. Изображения морфологии волокнистых материалов ПГБ–FeClTP.

a — ПГБ, *б* — ПГБ + 1% FeClTP, *в* — ПГБ + 5% FeClTP.

При добавлении в раствор 1–5% FeClTP веретеноподобные элементы в структуре волокна пропадают полностью (рис. 3, *б*, *в*). При добавлении 1% комплекса в волокнистом материале появляются волокна со средним диаметром 1.5, 3, 5 мкм. При увеличении концентрации FeClTP формируются волокна со средним диаметром 3 мкм, а волокна с диаметрами 1.5 и 6 мкм практически полностью исчезают. Исчезновение веретеноподобных структур можно объяснить увеличением электропроводности формовочных растворов при введении полярных комплексов FeClTP. При увеличении электропроводи-

мости вытягивание капли раствора в поле действия электростатической силы происходит более интенсивно, что влечет за собой выравнивание волокон по толщине.

Наряду с изменением геометрии ультратонких волокон ПГБ при введении FeClTP следует ожидать и изменения структурно-динамических параметров кристаллической и аморфной фаз. При добавлении в раствор слабополярного ПГБ полярных молекул FeClTP может происходить взаимодействие между ними за счет сил молекулярного притяжения [22–24]. При этом в процессе формирования волокна изменятся скорости процессов кристаллизации, ориентации и релаксации полимерных макроцепей [25].

Следует отметить, что концентрация порфирина в аморфных областях полимера будет значительно выше, чем исходно заданные значения 1, 3 и 5%, так как этот расчет проводили на всю массу образца, а комплексы FeClTP находятся только в аморфной фазе.

На рис. 4 представлены данные по изменению степени кристалличности в образцах с ростом концентрации FeClTP. Видно, что доля кристаллической фазы ПГБ резко возрастает с ростом концентрации FeClTP. Из полученных данных можно заключить, что порфирин в композитах выступает в роли структурного пластификатора, обеспечивающего рост свободного межмолекулярного объема в ПГБ. Это оказы-

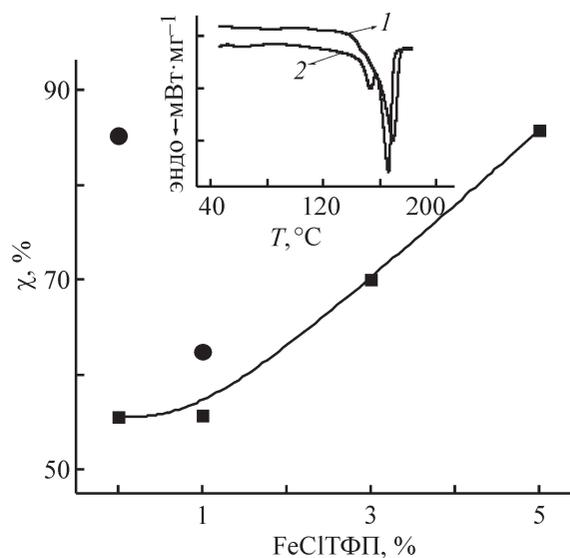


Рис. 4. Зависимость степени кристалличности (ДСК) от концентрации порфирина в волокнах ПГБ.

Точки на рисунке — после отжига при 140°C. На вставке: термограммы плавления ПГБ с 3% порфирина: 1 — исходный образец, 2 — после отжига при 140°C.

вает влияние на кристаллизацию макромолекул ПГБ в процессе электроформования волокна.

Полимерные пленки и волокна ПГБ имеют неравновесную структуру, что приводит к незавершенности процесса кристаллизации. Для приведения системы в термодинамическое равновесие используют метод термического отжига при температурах на 20–30° ниже температуры плавления, поэтому мы подвергали образцы отжигу при 140°C в течение 2 ч (рис. 2, а, кривая 2) и быстро их охлаждали. Степень кристалличности ПГБ при этом увеличилась в 1.6 раза, в ПГБ с 1% порфирина в 1.1 раза, в то время как в образцах ПГБ с 3 и 5% FeClTP эта величина заметно уменьшилась.

Объяснением полученных закономерностей, по нашему мнению, может являться сильное межмолекулярное взаимодействие молекул FeClTP с концевыми гидроксильными и карбонильными группами основной цепи ПГБ. При 140°C происходит частичное плавление кристаллитов ПГБ, и частицы FeClTP проникают в эти области. При быстром охлаждении образца вследствие межмолекулярного взаимодействия ПГБ с FeClTP молекулы последнего остаются в этих областях полимера, что препятствует процессу кристаллизации. Степень кристалличности снижается (табл. 1). Чем выше концентрация FeClTP, тем в большей степени протекают процессы аморфизации кристаллических областей. Однако при добавлении 5% FeClTP наблюдается повышение кристалличности (относительно образца ПГБ с 3% FeClTP). По нашему мнению, такие изменения обусловлены более низкой долей деформированных лекарственным препаратом кристаллических областей по сравнению с образцами, содержащими 3% FeClTP (так как доля аморфных областей в волокне с 5% препарата более низкая, чем в волокне с 3%, и вследствие термодинамического равновесия количество FeClTP также характеризуется более низкими значениями).

Методом рентгеновской дифракции в больших и малых углах проведено исследование волокон ПГБ и ПГБ с FeClTP разного состава, исходных и отожженных при 140°C (рис. 5). Результаты, полученные рентгеноструктурным анализом, свидетельствуют о росте размера кристаллитов L_{002} при добавлении в волокна ПГБ порфирина. Важно отметить, что если степень кристалличности, определенная методом рентгеноструктурного анализа, для ПГБ составляет 57% и возрастает с повышением концентрации порфирина до 67%, то по данным ДСК эта величина возрастает от 56 до 86%. Представленные данные свидетельствуют о наличии в волокнах паракристаллических структур. Увеличение степени кристаллич-

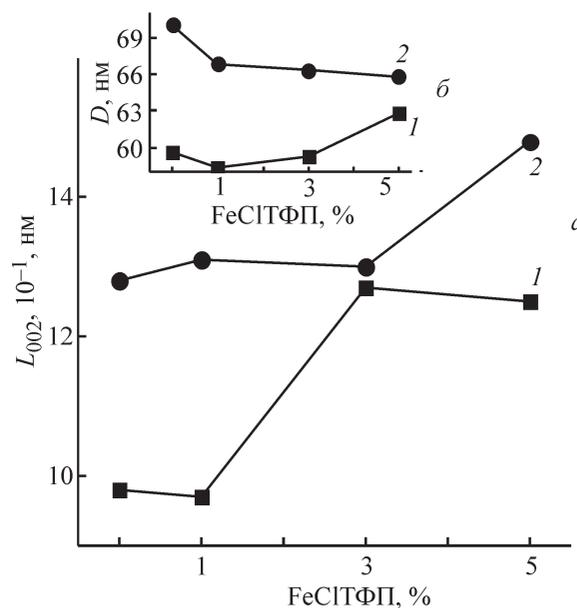


Рис. 5. Зависимость продольного размера кристаллитов ПГБ (а) в волокнах от концентрации FeClTP.

На вставке: б — зависимость большого периода в волокнах ПГБ от концентрации FeClTP: 1 — исходный образец, 2 — после отжига при 140°C.

ности и размера кристаллитов после температурного отжига при 140°C свидетельствует о неравновесном состоянии надмолекулярной структуры волокон. При температурном воздействии происходит достройка кристаллитов [26].

Кристаллиты и аморфные области в ориентированном полимере в общем случае не отвечают минимуму свободной энергии. Стремление аморфно-кристаллической системы к минимуму свободной энергии облегчается при отжиге полимера ниже температуры плавления, когда макромолекулы получают достаточную подвижность. При этом аморфные области стремятся релаксировать к состоянию переохлажденного расплава, а кристаллические области стремятся к минимуму свободной энергии посредством изменения размеров и в первую очередь продольных размеров кристаллитов. Абсолютному минимуму свободной энергии соответствует бесконечно большой продольный размер кристаллита. По этой причине кристаллиты стремятся увеличить продольный размер и тем самым понизить свою свободную энергию. Поэтому следует ожидать увеличения периода складывания всякий раз, когда макромолекулы получают достаточную подвижность, в частности, при температурном воздействии, и, как правило, кристаллический полимер рекристаллизуется. Экспериментальное изучение роста размеров складчатых кристаллитов при

Таблица 1
Термофизические параметры* волокнистых материалов ПГБ–FeClTP

FeClTP, %	Нагрев		Охлаждение	
	$\chi_{пл}, \%$	$T_{пл}, ^\circ\text{C} (\pm 1^\circ)$	$\chi_{пл}, \%$	$T_{пл}, ^\circ\text{C} (\pm 1^\circ)$
0	65	175	68	94
1	66	170	45	68
3	68	169	59	89
5	85	169	58	76

* χ — степень кристалличности, $T_{пл}$ — температура плавления.

постоянной температуре отжига [27] показало, что продольный размер кристаллитов L_{002} зависит от времени отжига по закону $L_{002} = A + B\lg t$, где B — скорость роста размеров кристаллитов. В данной работе образцы отжигали при 140°C в течение 2 ч. Результаты исследований показали, что отжиг приводит к значительному росту кристаллитов и степени кристалличности. При отжиге происходит самопроизвольное распрямление и доориентация части цепей.

Структура аморфных областей в значительной степени определяется долей кристаллических образований. Вследствие этого при добавлении малых концентраций FeClTP растет степень кристалличности ПГБ, изменяются размеры кристаллитов, что приводит к изменению структурного и динамического состояния аморфных областей.

Молекулярную динамику этих областей наиболее удобно исследовать методом ЭПР с использованием стабильных радикалов. ЭПР-спектры радикала ТЕМПО в матрице ПГБ имеют сложный вид и представляют собой суперпозицию двух спектров, соответствующих двум популяциям радикалов с раз-

личающимися временами корреляции τ_1 и τ_2 , где τ_2 характеризует молекулярную подвижность в менее плотных, а τ_1 — в более плотных аморфных областях (рис. 6).

Оценка соотношения концентраций различных по плотности областей была проведена путем математической обработки спектров с помощью программы NLSL (в программном пакете Bruker WinEPR для спектра ЭПР) аналогично процедуре, описанной ранее в работе [19]. Соответствующие расчеты показали, что доля плотных областей в аморфной фазе ПГБ существенно превосходит долю менее плотных, и с ростом концентрации FeClTP в образце доля плотных областей увеличивается (табл. 2). Возрастает и время корреляции радикала, а следовательно, молекулярная подвижность в плотных областях полимера замедляется, в то время как в рыхлых областях аморфной фазы подвижность радикала практически не изменяется.

При использовании биомедицинских материалов одновременно с механическим и температурным воздействием на их структуру и сегментальную подвижность оказывает влияние озон. Здесь следует указать два источника его появления в атмосфере. Во-первых, озон образуется при работе мощных электрических приборов, обеспечивающих жизнедеятельность пациентов как в процессе хирургических операций, так и при терапии или мониторинге в стационаре. Во-вторых, озон в некоторых частных случаях продолжает использоваться при стерилизации медицинских изделий. Несмотря на повседневный контакт данного агрессивного соединения с полимерами, его влияние на их морфологические и динамические характеристики остается малоисследованной областью полимерного материаловедения. Ко всему прочему воздействие озона можно использовать как структурно чувствительный метод для оценки стойкости полимерной системы к окислению.

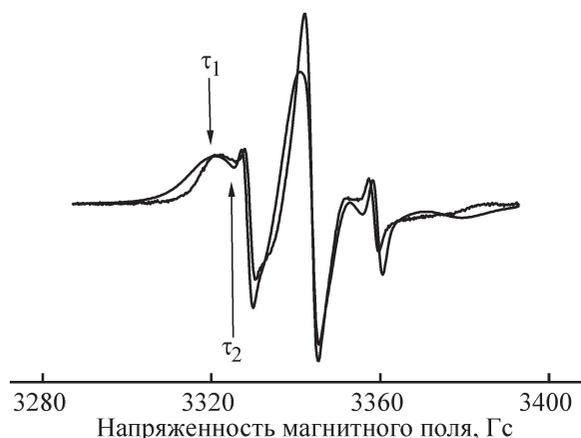


Рис. 6. Спектры ЭПР нитроксильного радикала ТЕМПО образца ПГБ с 3% FeClTP.

Таблица 2

Структурные характеристики аморфной фазы волокон ПГБ в зависимости от концентрации FeClTPP

FeClTPP, %	Время корреляции τ , $10^{-10} \pm 5\%$, с		Доля плотных и рыхлых областей в аморфной фазе α , %	
	плотная	рыхлая	плотная	рыхлая
0	70	4.0	44	66
1	73	4.3	68	32
3	104	4.3	60	40
5	110	4.3	81	19

В работе изучали влияния озонного воздействия на смесевые композиции при двух температурах — 22 и 40°C (рис. 7). Озонолиз сложным образом влияет на структуру полимера. С одной стороны, как показали результаты ранних работ [27, 28], рост жесткости аморфных областей при небольших степенях окисления происходит как вследствие самопроизвольной доориентации цепей, а с другой — в результате усиления межмолекулярного взаимодействия из-за накопления полярных кислородсодержащих групп. Самопроизвольная доориентация части цепей при озонолизе ПГБ происходит по причине разрывов перенапряженных участков цепей в местах узлов и зацеплений макромолекул и их распрямления. С

наиболее высокой скоростью окисляются петли макромолекул на границе кристаллит–аморфная фаза, так как на этих участках концентрируются наиболее высокие напряжения и, следовательно, наиболее высокая скорость окисления. Разрыв этих петель сопровождается распрямлением сегментов, что замедляет молекулярную подвижность в этих областях. Образование кислородсодержащих групп в боковых цепях макромолекул приводит к усилению межмолекулярного взаимодействия, как результат, молекулярная подвижность цепей также замедляется. Поэтому, как видно из рис. 7, а, б, на начальном этапе окисления замедляется подвижность зонда, а следовательно, и молекулярная подвижность цепей.

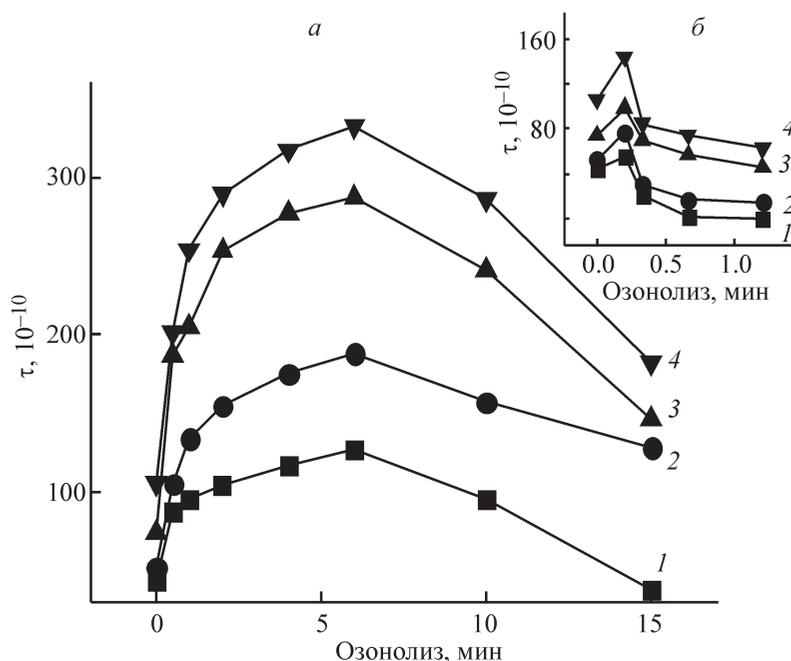


Рис. 7. Зависимость времени корреляции от времени озонолиза волокон ПГБ–FeClTPP при 22 (а) и 40°C (б). Концентрация FeClTPP (%): 1 — 0, 2 — 1, 3 — 3, 4 — 5.

Таблица 3

Влияние содержания комплекса железо(III)порфирина на жизнеспособность культур микроорганизмов на волокнистом материале ПГБ с FeCITФП

Тест-культура	Количество жизнеспособных микроорганизмов, КОЕ/мл		
	исходная тест-культура	опытный образец	контрольный образец
<i>S. aureus</i> p 209	$2 \cdot 10^4$	$1.8 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$
<i>E. coli</i> 1257	$1.6 \cdot 10^4$	менее $1 \cdot 10^2$	$9 \cdot 10^3$
<i>S. typhimurium</i>	$2.2 \cdot 10^4$	$1.0 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^3$

Чем выше степень кристалличности, тем более высокая дисперсность кристаллитов и тем больше петель участвуют в процессе окисления, что и наблюдается экспериментально. Одновременно происходит также деструкция цепей в рыхлых аморфных областях, что приводит к росту молекулярной подвижности и как следствие к уменьшению времени корреляции. Поэтому при более длительном времени окисления (свыше 6 ч) преобладают именно такие процессы. Аналогичные результаты были получены при озонлизе полиэтилена, полипропилена и ПГБ с полиуретаном [27, 28].

Зависимость изменения подвижности от времени озонного окисления при 40°C имеет отличный от предыдущего случая характер (рис. 7, б). Рост времени корреляции наблюдается только до 0.2 ч. Дальнейшее воздействие озона приводит к снижению молекулярной подвижности. Объяснением может служить более высокая скорость озонного окисления и деструкции волокна. В общем случае энергетическое состояние кристаллических и аморфных областей не характеризуется минимумом свободной энергии. Аморфные области стремятся релаксировать к состоянию переохлажденного расплава, а кристаллиты стремятся к минимуму свободной энергии посредством изменения размеров, и в первую очередь продольных размеров. Абсолютному минимуму свободной энергии соответствует бесконечно большой продольный размер кристаллитов, и следует ожидать увеличения периода складывания всякий раз, когда молекулы получают достаточную подвижность, в частности, при температуре отжига. Поэтому возникающие дополнительные напряжения на выпрямленных участках молекул при повышенных температурах, в частности при 40°C, обуславливают более высокую скорость окисления. В результате процессы деструкции преобладают над процессами сшивок уже на более ранних стадиях окисления.

В заключительной части исследований была сделана проверка эффективности антибактериального

действия изученных нетканых волокнистых материалов ПГБ–FeCITФП при содержании комплекса 1%. В данной работе исследования проводили на клетках золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*), кишечной палочки (*Escherichia coli*) и грибковой культуры *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) как наиболее распространенных микроорганизмов. Стафилококк (*Staphylococcus*) распространен повсюду и часто входит в состав нормальной микрофлоры человека, обычно колонизирует носовые ходы, брюшную полость и подмышечные участки. При повреждениях кожи и слизистых оболочек стафилококки проникают в глубь организма и способны поражать практически любые ткани и органы. *E. coli* — представитель нормальной микрофлоры кишечника человека, однако некоторые ее варианты способны в определенных условиях вызывать многочисленные заболевания. Дрожжеподобные грибы вида *S. typhimurium* — одноклеточные микроорганизмы овальной или круглой формы широко распространены в окружающей среде. Некоторые из них обитают на кожных покровах и слизистых оболочках человека, формируя вместе с бактериями нормальные биоценозы. Однако при определенных неблагоприятных условиях они могут вызвать у человека клинически выраженные заболевания.

Результаты биологических испытаний образцов волокнистых материалов ПГБ с FeCITФП приведены в табл. 3.

Мы полагаем, что антибактериальные свойства полученных комплексов FeCITФП в волокнистой матрице ПГБ связаны в первую очередь с их воздействием на клеточные стенки микроорганизмов путем изменения заряда бактериальной клетки. Как следствие этого комплексы способны подавлять функцию адгезии и колонизации болезнетворных микроорганизмов. По-видимому, комплексы FeCITФП в составе микрофибриллярных матриц ПГБ способны нарушать ионный баланс живой клетки.

Порфириновые молекулы проявляют биологические и каталитические функции только в составе металлокомплексов. Эти функции определяются координационными (донорно-акцепторными, комплексобразующими) свойствами молекулы порфирина и соли металла. Поскольку между тетрапиррольным макрогетероциклом и ионом металла в молекуле металлопорфирина (см. вставку на рис. 1, а) существует сильное взаимодействие, можно говорить о координационных свойствах FeC1TФП [29].

Из данных, приведенных в табл. 3, видно, что в эксперименте на волокнистом материале, импрегнированном FeC1TФП, количество жизнеспособных микробных клеток после экспозиции 30 мин снизилось для золотистого стафилококка в 2.2 раза, *E. coli* не менее чем в 90 раз, для *S. typhimurium* в 6 раз.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования импрегнированных железо(III)порфирином нетканых материалов в санитарно-гигиенических целях и при лечении различных ран и ожогов.

Выводы

В настоящем исследовании на основе структурно-динамического подхода, сочетая методы СЭМ, ЭМР (в том числе ЭПР спиновых зондов), УФ-спектроскопии, ДСК и рентгеноструктурный анализ, мы представили результаты влияния комплексов FeC1TФП на кристаллическую фазу и сегментальную подвижность молекул поли(3-гидроксibuтирата) в аморфных областях ультратонких волокон. Введение малых концентраций порфирина (1–5%) приводит к значительному увеличению размера кристаллитов и степени кристалличности поли(3-гидроксibuтирата). Как отклик на изменение кристаллической фазы было зарегистрировано изменение динамики вращения зонда в аморфных областях. Причиной этого является межмолекулярное взаимодействие компонентов, обусловленное силами Ван-дер-Ваальса либо водородными связями между молекулами комплексов и функциональными группами поли(3-гидроксibuтирата). Отжиг волокон приводит к резкому увеличению кристаллической фазы в волокнах поли(3-гидроксibuтирата), что свидетельствует о неравновесном состоянии надмолекулярной структуры волокон.

Озонное воздействие на начальном этапе (до 6 ч) на волокна изучаемой смеси показало резкий рост времени корреляции, что объясняется ростом доли выпрямленных цепей и усилением межмолекулярного взаимодействия вследствие накопления кислород-

содержащих групп. При более глубоком окислении подвижность радикала возрастает, что объясняется их интенсивной деструкцией.

Взаимное влияние кристаллических и аморфных областей в биоразлагаемых высококристаллических полимерах и их композициях остается достаточно сложной, малоизученной проблемой современного полимерного материаловедения. Исследования состояния полимерной матрицы и роль металлокомплексов порфиринов впервые позволили интерпретировать на молекулярном уровне воздействие ряда агрессивных факторов (таких как температура и озон) на структурно-динамические характеристики волокон смесей поли(3-гидроксibuтирата)–порфирин.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования импрегнированных железо(III)порфирином нетканых материалов в санитарно-гигиенических целях и при лечении различных ран и ожогов.

Благодарности

В работе использовали приборы Центра коллективного пользования Института биохимической физики РАН «Новые материалы и технологии». Авторы выражают благодарность проф. U. J. Naenggi (Biomer®, Krailling, Germany) за предоставленный поли(3-гидроксibuтират). Авторы благодарят сотрудников Института химической физики им. Н. Н. Семенова за проведение спектральных измерений (тема № АААА-А18-118020890097-1) и калориметрических исследований (тема № АААА-А17-117040610309-0).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Информация об авторах

Голощанов Александр Николаевич, к.б.н., помощник директора ИБХФ РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1751-0034>

Артюх Анастасия Александровна, с.н.с. ИБХФ РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2966-1297>

Бычкова Анна Владимировна, к.х.н., науч. сотр., ORCID :<https://orcid.org/0000-0001-6367-0923>; РИНЦ: SPIN-код: 2180-2705, ID: 603454; WoS Researcher ID: K-1231-2015; Scopus ID: 35096067800

Ольхов Анатолий Александрович, к.т.н., в.н.с. РЭУ им. Г. В. Плеханова, с.н.с. ИХФ РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0615-6914>

Иорданский Алексей Леонидович, д.х.н., г.н.с. ИХФ РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0771-0825>

Лобанов Антон Валерьевич, д.х.н., зав. лаб. ИХФ РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4205-7630>

Карпова Светлана Геннадьевна, к.ф.-м.н., с.н.с. ИБХФ РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3514-5843>; Scopus ID: 16218970000

Список литературы

- [1] Бойко А. В., Олтаржевская Н. Д., Швец В. И., Демидова Л. В., Дунаева Е. А., Дубовецкая О. Б., Мельникова В. Ю., Ерастова Е. И., Кожевникова С. А. // Патологическая физиология и эксперим. терапия. 2018. Т. 62. № 3. С. 120–127.
- [2] Корытова Л. И., Сокурено В. П., Масловова Е. А., Мешечкин А. В., Олтаржевская Н. Д., Коровина М. А., Гусев И. В., Кузнецов А. Д., Красникова В. Г., Обухов Е. М. // Рос. биотерапевт. журн. 2015. Т. 14. № 4. С. 99–103.
- [3] Прокочук Н. Р., Шашок Ж. С., Прищепенко Д. В. // Полимер. материалы и технологии. 2015. Т. 1. № 2. С. 36–56.
- [4] Голубчиков О. А., Пуховская С. Г., Кувшинова Е. М. // Успехи химии. 2005. Вып. 3. С. 268–284.
- [5] Никитина Н. И., Потапов Г. П. // Химия раст. сырья. 2002. № 2. С. 79–84.
- [6] Лобанов А. В., Неврова О. В., Илатовский В. А., Синько Г. В., Комиссаров Г. Г. // Макрогетероциклы. 2011. Т. 4. № 2. С. 132–134.
- [7] Курмаз С. В., Перепелицина Е. О. // Изв. АН. Сер. хим. 2006. № 5. С. 807–816.
- [8] Помогайло Д. А., Уфлянд И. Е. Макромолекулярные металлохелаты. М.: Химия, 1991. 304 с.
- [9] Титов В. А., Кривых Е. С., Агеева Т. А., Шикова Т. Г., Соловьева А. Б., Тимофеева В. А., Вершинина И. А., Рыбкин В. В., Choi H. S. // Высокомолекуляр. соединения. 2008. Т. 50А. № 8. С. 1454–1462 [Titov V. A., Ageeva T. A., Shikova T. G., Rybkin V. V., Krivykh E. S., Verzhinina I. A., Solov'eva A. B., Timofeeva V. A., Choi H. S. // Polym. Sci. Ser. A. 2008. V. 50. N 8. P. 841–847].
- [10] Исламова Р. М., Насретдинова Р. Н., Агеева Т. А. Успехи химии порфиринов. СПб: Изд-во НИИ Химии, 2007. Т. 5. 323 с.
- [11] Гришин Д. Ф., Семеньева Л. Л., Колякина Е. В. // ЖПХ. 2001. Т. 74. № 3. С. 483–486.
- [12] Помогайло Д. А. Полимерные иммобилизованные металлокомплексные катализаторы. М.: Наука, 1988. 303 с.
- [13] Мамардашвили Г. М., Симонова О. Р., Чижова Н. В., Мамардашвили Н. Ж. // ЖОХ. 2018. Т. 88. № 6. С. 974–983 [Mamardashvili G. M., Simonova O. R., Chizhova N. V., Mamardashvili N. Z. // Russ. J. Gen. Chem. 2018. V. 88. N 6. P. 1154–1163].
- [14] Мутасова Ю. В., Кузнецов Р. Е., Баланцева Е. В., Агеева Т. А., Койфман О. И. // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2008. Т. 51. Вып. 1. С. 74–77.
- [15] Valkova, L., Borovkov N., Koifman O., Kutepov A., Berzina T., Fontana M., Rella R., Valli L. // Biosensors and Bioelectronics. 2004. V. 20. P. 1177–1184.
- [16] Yeo L. Y., Friend J. R. // J. Experimental Nanosci. 2006. V. 1. N 2. P. 177–209.
- [17] Тимофеев В. П., Мишарин А. Ю., Ткачев Я. В. // Биофизика. 2011. Т. 56. № 3. С. 420–432 [Timofeev V. P., Tkachev Y. V., Misharin A. Y. // Biophysics. 2011. V. 56. N 3. P. 407–417].
- [18] Карпова С. Г., Ольхов А. А., Шилкина Н. Г., Попов А. А., Филатова А. Г., Кучеренко Е. Л., Иорданский А. Л. // Высокомолекуляр. соединения. 2017. Т. 59А. № 1. С. 53–62 [Karpova S. G., Popov A. A., Ol'khov A. A., Shilkina N. G., Filatova A. G., Kucherenko E. L., Iordanskii A. L. // Polym. Sci. Ser. A. 2017. V. 59. N 1. P. 58–66].
- [19] Бычкова А. В., Иорданский А. Л., Коварский А. Л., Сорокина О. Н., Косенко Р. Ю., Маркин В. С., Филатова А. Г., Гумаргалиева К. З., Роговина С. З., Берлин А. А. // Рос. нанотехнологии. 2015. Т. 10. № 3–4. С. 132–139.
- [20] Чегерев М. Г., Пискунов А. В., Старикова А. А. // ЖОХ. 2017. Т. 87. № 11. С. 1841–1848 [Chegerrev M. G., Piskunov A. V., Starikova A. A. // Russ. J. Gen. Chem. 2017. V. 87. N 11. P. 2582–2588].
- [21] Ramakrishna S, Fujihara K., Teo W., Lim T.-C., Ma Z. An Introduction to Electrospinning and Nanofibers. Singapore: World Scientific Publ. Co. Pte. Ltd, 2005. 396 p.
- [22] Карпова С. Г., Ольхов А. А., Иорданский А. Л., Ломакин С. М., Шилкина Н. С., Попов А. А., Гумаргалиева К. З., Берлин А. А. // Высокомолекуляр. соединения. 2016. Т. 58А. № 1. С. 61–72 [Karpova S. G., Ol'khov A. A., Iordanskii A. L., Lomakin S. M., Shilkina N. G., Popov A. A., Gumargalieva K. Z., Berlin A. A. // Polym. Sci. Ser. A. 2016. V. 58. N 1. P. 76–86].
- [23] Ольхов А. А., Маркин В. С., Косенко Р. Ю., Гольдштрах М. А., Иорданский А. Л. // ЖПХ. 2015. Т. 88. № 2. С. 307–312 [Ol'khov A. A., Markin V. S., Kosenko R. Yu., Gol'dshtrakh M. A., Iordanskii A. L. // Russ. J. Appl. Chem. 2015. V. 88. N 2. P. 308–313].
- [24] Wang Z., Sun B., Zhang M. // J. Bioactive Compat. Polym. 2013. V. 28. P. 154–166.
- [25] Ol'khov A. A., Iordanskii A. L., Staroverova O. V., Gumargalieva K. Z., Sklyanchuk E. D., Gur'ev V. V., Abbasov T. A., Ishchenko A. A., Rogovina S. Z., Berlin A. A. // Fibre Chem. 2016. V. 47. N 5. P. 348–361.
- [26] Иорданский А. Л., Ольхов А. А., Карпова С. Г., Кучеренко Е. Л., Косенко Р. Ю., Роговина С. З., Чалых А. Е., Берлин А. А. // Высокомолекуляр. соединения. 2017. Т. 59А. № 3. С. 273–284 [Iordanskii A. L., Ol'khov A. A., Karpova S. G.,

- Kucherenko E. L., Kosenko R. Yu., Rogovina S. Z., Chalykh A. E., Berlin A. A.* // Polym. Sci. Ser. A. 2017. V. 59. N 3. P. 343–353].
- [27] *Карпова С. Г., Попов А. А., Заиков Г. Е.* // Высокомолекуляр. соединения. 1991. Т. 33. № 5. С. 931–949.
- [28] *Карпова С. Г., Иорданский А. Л., Попов А. А., Шилкина Н. Г., Ломакин С. М., Щербин М. А., Чвалун С. Н., Берлин А. А.* // Хим. физика. 2012. Т. 31. № 1. С. 79–87 [*Karpova S. G., Popov A. A., Shilkina N. G., Lomakin S. M., Iordanskii A. L., Berlin A. A., Chvalun S. N., Shcherbin M. A.* // Russ. J. Phys. Chem. B. 2012. V. 6. N 1. P. 72–80].
- [29] *Березин Б. Д.* Координационные соединения порфиринов и фталоцианина. М.: Наука, 1978. 280 с.
-