

УДК 677.494:677.46

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И СВОЙСТВА УЛЬТРАТОНКИХ ВОЛОКНИСТЫХ МАТЕРИАЛОВ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ПОЛИГИДРОКСИБУТИРАТА

А.А. Ольхов^{1,2}, Ю.Н. Зернова², В.С. Маркин², Р.Ю. Косенко², А.Л. Иорданский²

*ФГБОУ ВО «Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова», Москва, Россия
Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия
Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля Российской академии наук, Москва, Россия*

Для создания медицинских изделий (полимерных матриц, имплантатов и др.), характеризующихся высокой скоростью биодegradации в живом организме (биорезорбцией), необходимо создавать материалы с малой плотностью и высокой удельной поверхностью. Наиболее оптимальным решением являются нетканые волокнистые материалы, состоящие из наноразмерных и микронных волокон, получаемых методом электроформования [1]. Этот метод представляет сложный многопараметрический процесс, который определяется значительным числом характеристик, влияющих как на геометрию и структуру единичных филаментов, так и на эксплуатационное поведение нетканого фибриллярного материала [2]. Основными характеристиками электроформования являются: электропроводность и вязкость, на которую влияют концентрация и молекулярная масса полимера [3]. На процесс электроформования и морфологию нетканого материала влияют также факторы внешней среды, а также технологические параметры процесса: производительность, расстояние между электродами, форма электродов, диаметр капилляра, скорость течения струи полимерного раствора и некоторые другие [4].

Использование дополнительных функциональных компонентов в полимерном растворе также может оказать влияние на структурную организацию волокон. При этом очень важно исследовать влияние особенностей структурной иерархии на эксплуатационные характеристики материалов, которая в дальнейшем будет оказывать определяющую роль в кинетике процессов диффузионного транспорта и деструкции (окислительной, фотоокислительной, биодеструкции и др.). В связи с этим возникает необходимость в установлении взаимосвязи между факторами внешнего воздействия и изменении параметров структуры полимерного материала. Установление такой взаимосвязи позволяет целенаправленно изменять свойства полимерной системы в зависимости от области применения данного изделия.

Одним из прогрессивных полимеров, применяющихся в медицине, является поли-(3-гидроксibuтират) (ПГБ). Этот бактериальный биополимер обладает высокой кристалличностью [5]. Поэтому, изменяя степень кристалличности полимера на стадии формирования пленок или волокон из раствора, можно регулировать в широких пределах их транспортные свойства. Как правило, для большинства биополимеров повышенная температура отрицательно сказывается на их структуре, поэтому формование изделий на их основе, проводится из растворов. Это особенно важно для изделий медицинского назначения, например, матриц для контролируемого высвобождения лекарственных препаратов, поскольку число лекарственных веществ, способных выдерживать относительно высокие температуры, не велико.

В настоящей работе исследована структурная организация нетканых волокнистых материалов ПГБ в зависимости от технологических параметров процесса электроформования, а также полярных низкомолекулярных веществ, придающих материалам функциональные свойства.

Материалы и методы

ПГБ фирмы «Biomer» (Германия) с $M_n = 3,0 \times 10^5$, $4,6 \times 10^5$, $8,5 \times 10^5$. Растворители химически чистые – диоксан, хлороформ, муравьиная кислота и дихлорэтан. Тетрабутиламоний йодид (ТБАИ) $\{[CH_3(CH_2)_3]_4N\}$ применяли в процессе электроформования в качестве добавки для увеличения электропроводности формовочного раствора. Электроформование (ЭФВ) нетканых волокнистых материалов на основе ПГБ осуществляли на опытной лабораторной установке при напряжении электрического поля 15 кВ, расстоянии между электродами 18 см, диаметре капилляра 0,1 мм. В качестве добавок были использованы дипиридабол-(2,2',2'',2'''-[(4,8-ди-1-пиперидинилпиримидо[5,4-d]пиримидин-2,6-диил)динитрило]тетракис[этанол])(«хч») с молекулярной массой 504,53 г./моль

(ДПД) и комплекс хлорида железа с тетрафенилпорфирином (FeCl-TФП). ЭПР спектры (X-диапазона) регистрировались на автоматизированном ЭПР спектрометре ЭПР-В (ИХФ РАН, Москва). 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 50 °С в течение часа. Исследование образцов методом ДСК было проведено на приборе DSC 204 F1 фирмы Netzsch в инертной среде аргона (Ar) со скоростью нагрева 10 °С/мин. Геометрию волокнистых материалов исследовали методом электронной микроскопии с помощью сканирующего электронного микроскопа «Hitachi TM-1000» (Япония) при ускоряющем напряжении 20 кV. На поверхность образца нетканого волокнистого материала напыляли слой золота толщиной 100–200 Å. Кристаллическую структуру образцов изучали рентгенографическим методом, используя дифрактометры HZG-4 (Ni-фильтр) и ДРОН-3М (Россия) (графитовый плоский монохроматор) на CuK_α -излучении (съемка на отражение).

Результаты и обсуждения

Одним из важных технологических аспектов формирования пленочных или волокнистых материалов является выбор растворителя для базового полимера. Растворители отличаются не только по температуре кипения, молекулярной массе, но и по степени полярности. Рассмотрим влияния полярности растворителей на надмолекулярную структуру матриц ПГБ. Для этого мы использовали метод дифференциального калориметрического анализа. Из анализа термограмм следует, что после обработки растворителями исходная структура ПГБ нарушается: появляется аморфная фаза, характеризующаяся явно выраженным переходом стеклования и возникает мелкокристаллическая модификация или области с нарушенной кристаллическостью. Об этом свидетельствует появление низкотемпературного пика плавления на термограммах.

Таблица 1 – Теплофизические характеристики ПГБ пленок из различных растворителей.

Растворитель	ΔG_m , Дж/г	T_m , °С	T_g , °С	ΔC_p , Дж/г К	μ , D	$e^{1/2}$
	параметры полимерного материала				параметры растворителя	
Диоксан	– 0,076	174	63,0	0,39	0,45	10,05
Хлороформ	– 0,140	175	53,9	0,24	1,15	9,3
Муравьиная кислота	– 0,106	176	-	-	1,4	13,5
Дихлорэтан	– 0,173	179	74,0	0,1	2,06	9,0

ΔG_m , Дж/г – энергия Гиббса плавления; T_m , °С – температура плавления; T_g , °С – температура стеклования; ΔC_p , Дж/г К – удельная теплоемкость; $e^{1/2}$ – плотность энергии когезии. μ , D – дипольный момент

В таблице 1 представлены теплофизические показатели пленок на основе ПГБ и параметры растворителей. Из таблицы видно, что с ростом дипольного момента растворителя происходит совершенствование (упорядочение) кристаллической фазы ПГБ. Об этом свидетельствует рост температуры плавления полимера. Одновременно с этим уменьшается теплоемкость ПГБ. Это может быть связано с уменьшением доли аморфной фазы полимера. С увеличением полярности растворителя увеличивается его способность вступать во взаимодействие с полярными группами ПГБ, приводящее к совершенствованию кристаллитов и уплотнению морфной фазы полимера в процессе формирования пленки или волокна. Как видно из табл. 1, характер изменения энергии Гиббса плавления кристаллической фазы ПГБ и величина плотности энергии когезии молекул растворителя хорошо коррелируют в определенной последовательности. Известно, что величина плотности энергии когезии характеризует степень межмолекулярного взаимодействия в веществе. Из табл. 1 следует, что с уменьшением степени межмолекулярного взаимодействия в растворителе увеличивается беспорядок в кристаллической фазе пленок ПГБ, характеризующийся уменьшением энергии Гиббса плавления. Другими словами, чем меньше межмолекулярное взаимодействие в растворителе, тем выше подвижность его молекул и, следовательно, выше скорость их перехода в парообразную фазу (испарение). Вследствие различной скорости фазового перехода молекул рассматриваемых растворителей, формирование пленок или волокон ПГБ протекает по-разному. Это выражается в степени завершенности процесса кристаллизации.

На основании проведенных исследований, можно заключить, что с увеличением полярности растворителя происходит увеличение и совершенствование кристаллической структуры и уменьшается доля аморфной фазы ПГБ. При этом было установлено, что наиболее качественные пленки или волокна формируются из хлороформа.

Помимо характеристик растворителя важными для формирования структуры волокна являются параметры полимерного раствора. В этой связи ниже будет дано рассмотрение некоторых ключевых физико-химических характеристик полимерных растворов ПГБ, предназначенных для электроформования. Геометрическими показателями моноволокна в первую очередь определяется морфология нетканого волокнистого материала, которые влияют на комплекс эксплуатационных свойств: диффузионные, физико-механические, биомедицинские и др. Геометрия волокна в основном зависит от молекулярной массы полимера, вязкости, электропроводности и скорости истечения раствора (производительность). Как показали наши исследования, диаметр волокна практически не зависит от производительности процесса электроформования при различных концентрациях ПГБ в растворе. При увеличении молекулярной массы ПГБ наблюдается рост диаметра волокна. Это вполне закономерно и объясняется увеличением числа межмолекулярных зацеплений в полимерном растворе, которые препятствуют вытягиванию струи в процессе электроформования. Было установлено, что низкая электропроводность раствора ПГБ препятствует образованию однородных по толщине волокон. С ростом электропроводности средний диаметр снижается до определенного значения, а затем имеется тенденция к некоторому росту. Этот рост определяется увеличением вязкости раствора из-за высокой концентрации электролита.

Поскольку исследуемые волокнистые материалы рекомендованы для использования в медицине в качестве матриц пролонгированной доставки лекарственных веществ, антисептиков, тканевой инженерии, далее мы рассмотрим влияние этих веществ на структуру волокон. Для модельного эксперимента мы выбрали вещества с концевыми гидроксильными группами и комплекс, содержащий хлорид металла. Следует ожидать межмолекулярного взаимодействия этих компонентов с полярными группами ПГБ в процессе формирования волокна. Наличие в химическом соединении (лекарственном веществе, биологически активном веществе, антисептике) полярных функциональных групп или комплексов с металлом должно влиять не только на технологические характеристики формовочного раствора, но и на процессы структурообразования волокна. В качестве иллюстрации мы выбрали два разных вещества – дипидамол (ДПД), содержащий концевые ОН – группы и комплекс железа (III) хлор тетрафенилпорфирина (Fe(III)ClТФП), содержащий хлорид железа (III) в составе комплекса. На рис. 1 приведены структурные формулы этих соединений. На рисунке 2а показано, что с ростом концентрации ДПД геометрия волокон меняется от переходной (цилиндры-капли) до ровной цилиндрической. При этом сами волокна имеют пористую структуру. Средний диаметр волокна составляет 2–5 мкм, а размер пор колеблется в диапазоне 0,05–0,2 мкм.

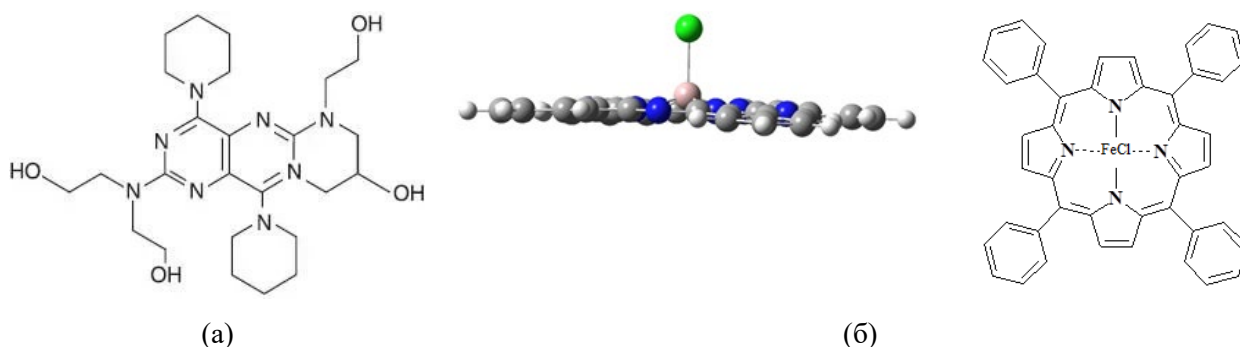


Рисунок 1 – Структурные формулы ДПД (а) и комплекса Fe(III)ClТФП (б).

Надмолекулярная структура волокон ПГБ изменяется с ростом концентрации ДПД. На рис. 2 (а) приведена зависимость энтальпии плавления волокон от концентрации ДПД (метод ДСК). С увеличением содержания ДПД наблюдается рост энтальпии плавления ПГБ, что свидетельствует о росте степени кристалличности. Частицы ДПД являются эффективными зародышами кристаллизации. При этом средний размер кристаллитов практически не изменяется, на что указывает неизменность температуры плавления (168–169° С) от концентрации ДПД.

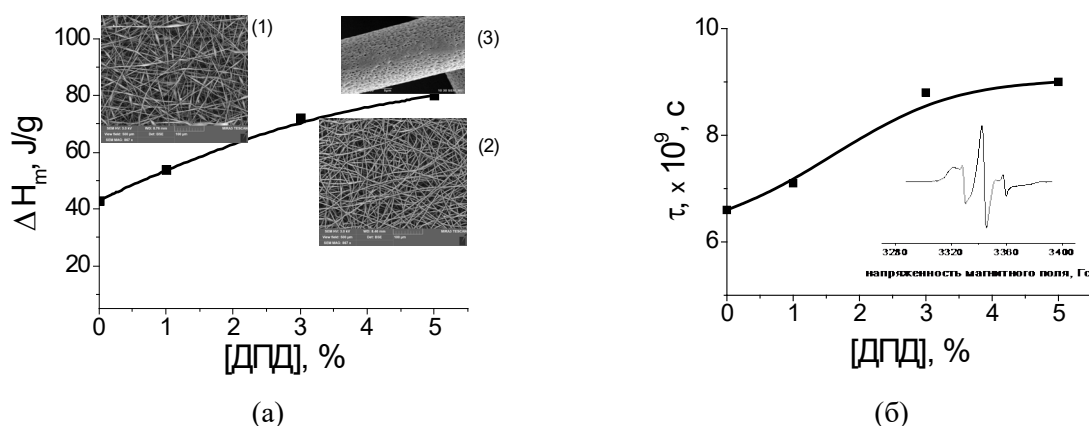


Рисунок 2 – Зависимость энтальпии плавления (а) и времени корреляции волокон ПГБ (б) от концентрации ДПД. На вставке приведен спектр ЭПР радикала ТЕМПО в волокнах ПГБ-ДПД. Микрофотографии волокнистых материалов состава: исходный ПГБ (1), ПГБ + 5 % ДПД (2), моноволокно (3). (СЭМ).

Анализ аморфной фазы волокон методом ЭПР с использованием зонда (ТЕМПО) (вставка на рис. 2 б) показал наличие суперпозицию спектров скоростей вращения зонда, показывающих неравновесность структуры аморфной фазы в волокнах: наличие областей с различной плотностью упаковки сегментов макромолекул. Зависимость среднего времени корреляции от концентрации ДПД представлена на рис. 2б. Видно, что с ростом концентрации ДПД время корреляции растет. Это позволяет нам утверждать об уплотнении аморфной фазы в волокнах.

Для сравнения была исследована структура гетерогенных ультраволокнистых матриц на основе ПГБ и металлокомплексом Fe(III)CITФП, проявляющим антибактериальные свойства. Это соединение является производным хлорофилла и обладают высоким антибактериальным эффектом за счет специфической реакции с кислородом. Как и в случае с ДПД, добавление 1–5 масс.% Fe(III)CITФП улучшает качество формовочного раствора, что приводит к формированию ровных волокон со средним диаметром 2–4 мкм. Учитывая сильную полярность данного комплекса, следует ожидать его активного взаимодействия с кислород – содержащими группами ПГБ при формировании волокон. В табл. 2 приведены результаты исследования волокон методом ДСК.

Таблица 2. Характеристики кристаллической фазы волокон ПГБ с комплексом Fe(III)CITФП (ДСК)

Содержание FeCITФП, %	нагрев		охлаждение	
	$\chi_{пл}$, %	$T_{пл}$ °C ($\pm 1^\circ$)	$\chi_{кр}$, %	$T_{кр}$ °C ($\pm 1^\circ$)
0	55	175	68	94
1	56	170	45	68
3	68	169	59	89
5	85	169	58	76

(χ) – степень кристалличности; температура плавления ($T_{пл}$) и кристаллизации ($T_{кр}$)

Из табл. 2 следует, что с ростом концентрации комплекса растет степень кристалличности ПГБ. В данном случае мы имеем типичный механизм зародышеобразования кристаллической фазы, как и в случае с ДПД. При охлаждении материала заметно торможение кристаллизационных процессов в ПГБ, что связано с сильным межмолекулярным взаимодействием.

При изучении кристаллической структуры волокон методом РСА было установлено, что с ростом концентрации Fe(III)CITФП растут продольный размер кристаллитов и большой период кристаллической фазы ПГБ, что согласуется с общим ростом степени кристалличности, измеренной методом ДСК (рис. 3, табл. 2). Это хорошо согласуется с закономерностями, полученными ранее при добавлении ДПД. При изучении волокон зондовым методом ЭПР мы также как и в случае волокон с ДПД, получили сложные спектры, состоящие из медленной и быстрой компонент (вставка на рис. 4). Введение Fe(III)CITФП в ПГБ приводит к уплотнению аморфной фазы полимера при формировании волокна на что указывает монотонное увеличение времени корреляции зонда (рис. 4).

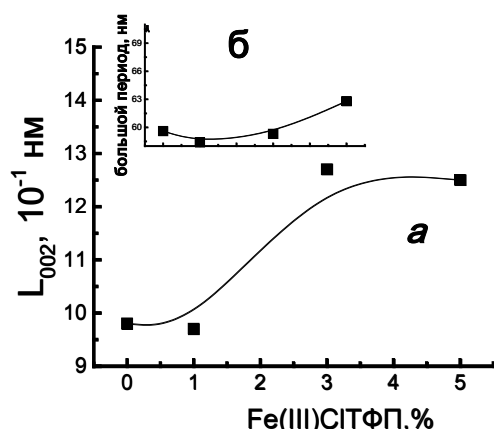


Рисунок 3 – Зависимость продольного размера кристаллитов (а) и большого периода (б) ПГБ от содержания Fe(III)CITFP.

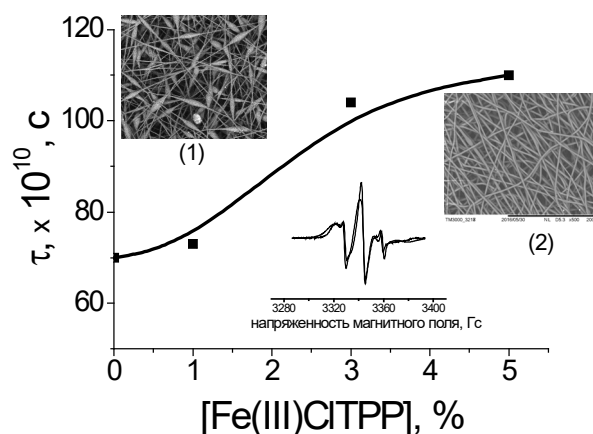


Рисунок 4 – Зависимость времени корреляции (τ) в волокнах ПГБ – Fe(III)CITFP от состава. На вставке спектр ЭПР радикала ТЕМПО в волокнах ПГБ – Fe(III)CITFP (3 %). Нетканые волокнистые материалы ПГБ (1), ПГБ – Fe(III)CITFP(3 %) (2). (СЭМ)

Доля плотных областей при увеличении концентрации Fe(III)CITFP возрастает. По-видимому, неравновесность волокна обуславливается большим количеством мезаморфных структур (недостроенных кристаллитов), образование которых происходит в результате межмолекулярных взаимодействий полярных групп ПГБ с сильно полярными комплексами Fe(III)CITFP, тормозящими процесс кристаллизации.

Заключение

В данной научно-исследовательской работе проведены фундаментальные исследования структурной организации гетерогенных фибриллярных матриц на основе поли-3-гидроксibuтирата, содержащих полярные низкомолекулярные вещества: ДПД и FeCl₃ ТФП. Продемонстрирована определяющая роль полярности растворимого низкомолекулярного вещества на формирование надмолекулярной структуры волокон ПГБ. Сделан вывод о том, что межмолекулярное взаимодействие приводит к совершенствованию кристаллической структуры ПГБ, не зависимо от химической природы низкомолекулярного компонента в структуре волокна. Также было определено, что характеристики полимерного раствора в значительной степени определяют геометрию и морфологию ультратонких волокон ПГБ. Введение в ПГБ волокна металлокомплексов тетрафенилпорфирина и ДПД приводит к существенному изменению геометрии и морфологии полимерных волокон. Рассмотренные в исследовании полимерные волокнистые материалы могут быть успешно использованы для создания матриц контролируемого высвобождения лекарственных препаратов, скаффолдов для тканевой инженерии, экосорбентов.

Литература

1. Al-Abduljabbar A., Farooq I. Electrospun Polymer Nanofibers: Processing, Properties, and Applications. *Polymers* 2023, 15, 65. <https://doi.org/10.3390/polym15010065>
2. Schiffman J.D., Schauer C.L. A review electrospinning of biopolymer nanofibers and their applications // *Polymer Reviews*. 2008. V. 48. № 2. P. 317.
3. Okutan N., Terzi P., Altay F. Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers // *Food Hydrocolloids*. 2014. V. 39. P. 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.022>.
4. Yang B., Wang L., Zhang M., Luo J., Lu, Z., Ding, X. Fabrication, applications, and prospects of aramid nanofiber // *Adv. Funct. Mater.* 2020. V. 30. P. 2000186. <https://doi.org/10.1002/adfm.202000186>
5. Hisano T., Kasuya K., Tezuka Y., Ishii N., Kobayashi T., Shiraki M., Oroudjev E., Hansma H., Iwata T., Doi Y., Saito T., Miki K. The Crystal Structure of Polyhydroxybutyrate Depolymerase from *Penicillium funiculosum* Provides Insights into the Recognition and Degradation of Biopolyesters // *Journal of Molecular Biology*. 2006. V. 356. Iss. 4. P. 993–1004. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.12.028>