

Міністерство освіти і науки України  
Національний університет «Львівська політехніка»

Кваліфікаційна наукова

праця на правах рукопису

Стецишин Юрій Богданович

УДК 554.47.051.7+54-126+66.095.261.2

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**Прищеплені полімерні щітки на мінеральних поверхнях, чутливі до дії  
зовнішніх чинників**

*спеціальність 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук*

*Галузь знань 10 – природничі науки*

Подається на здобуття наукового ступеня доктора хімічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Стецишин Ю. Б.

Науковий консультант

 **Воронов Станіслав Андрійович,**

доктор хімічних наук, професор

**Ідентичність всіх примірників дисертації**

засвідчую:

Вчений секретар спеціалізованої

вченої ради Д 35 05 01

 /О.Г. Будішевська/

Львів - 2021 р.



## АНОТАЦІЯ

**Стецишин Ю.Б. Прищеплені полімерні щітки на мінеральних поверхнях, чутливі до дії зовнішніх чинників.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – “Хімія високомолекулярних сполук” (102 – Хімія). – Національний університет «Львівська політехніка», Львів, 2021.

Дисертацію присвячено розробці стратегії синтезу та одержанню нових полімерних матеріалів – прищеплених полімерних щіток, які чутливі до дії зовнішніх чинників. Такі матеріали здатні змінювати свої властивості при відносно невеликих змінах температури чи рН. Це відкриває нові можливості для створення матеріалів для розвитку клітинної інженерії, біотехнології, наномедицини, у якості засобів доставки лікарських засобів, діагностики захворювань тощо.

**У першому розділі** представлено огляд літератури з методів одержання полімерних щіток, порівняно між собою адсорбовані та прищеплені макромолекули, наведено інформацію про типи конформацій прищеплених щіток у залежності від щільності прищеплення. Велика частина літературного огляду присвячена, чутливим полімерним системам та їх можливим застосуванням.

**У другому розділі** наводиться характеристика вихідних речовин, методики синтезу та методи дослідження одержаних полімерних матеріалів.

**Третій розділ** присвячений формуванню наношарів АПТЕС та мультифункціональних ініціаторів (МІ) на поверхнях неорганічних матеріалів. У цій роботі використовувалися два види МІ, що здатні ініціювати прищеплену полімеризацію від поверхні, у той же час вони містять функціональні групи, які відповідають за прищеплення до поверхні. Крім того деякі з досліджуваних нами МІ містять групи спеціального призначення, які надають поверхні певні функції, такі як

орієнтація рідких кристалів, рН-чутливість Перший вид МІ - це мультифункціональні пероксидні ініціатори (МПІ), розроблені та синтезовані на кафедрі органічної хімії Національного університету «Львівська політехніка». Друга група – це МІ прищепленої полімеризації «від поверхні» за принципом радикальної полімеризації з перенесенням атому, так звані ATRP ініціатори. В основі ATRP лежить утворення комплексу між органічним галогенопохідним, який виступає у формі ініціатора (МІ), з перехідним металом та основою Льюїса у нижчому ступені окиснення. Дана реакція веде до розриву зв'язку у ініціаторі з перенесення галогену на металокомплекс і утворенню алкільних радикалів  $R\bullet$ , які здатні ініціювати полімеризацію від поверхні. У роботі використано комерційно доступний продукт бромангідрид 2-бромо-2-метилпропанової кислоти. Показано основні закономірності формування прищеплених наночарів МІ на амінованих поверхнях, встановлено товщини, індекси рефракції, змочування та морфології прищеплених наночарів. Показано формування мономолекулярних прищеплених наночарів МІ, що повністю узгоджується з їх комп'ютерними моделями їх молекул. При цьому, кількість прищеплених молекул на поверхні, а відповідно кількість ініціюючих центрів суттєво залежить від природи функціональних груп у структурі МІ.

У четвертому розділі досліджено формування та властивості температурочутливих прищеплених полімерних щіток з нижньою критичною температурою розшарування на основі відомих (*N*-ізопропілакриламід, олігоетиленглікольметакрилатів, 4-вінілпіридину) та нових мономерів (пентаеритрилмонометакрилату) та комплексно досліджено їх властивості.

Сформовано наночари прищеплених щіток полі(*N*-ізопропілакриламід) - ПНІПАМ та досліджено їх властивості та вплив товщин наночарів на змочування, морфологію тощо. Показано одночасний вплив температури та рН на морфологію та змочування наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ. Для ілюстрації процесів, які проходять на поверхні за впливу різних рН та температур оточуючого середовища, нами запропоновано узагальнений механізм утворення водневих зв'язків між амідними групами ПНІПАМ, карбоксильними групами МПІ-1 та водою. За цією

схемою, після занурення зразків у буферні розчини за  $pH=9$  та  $7$  та  $T < T_c$ , переважають водневі зв'язки між гідрофільними групами ( $-NH-C=O$ ) сегментів ПНПАМ і водою. У той же час за підвищення температури до  $T > T_c$  розриваються існуючі водневі зв'язки та починає домінувати утворення водневих зв'язків між амідними групами ПНПАМ.

Після занурення зразків у кислий буферний розчин, у межах усього досліджуваного температурного інтервалу, домінують зв'язки, між протонованими карбоксильними групами МПІ-1 та амідними групами ПНПАМ. Таким чином, існуючі водневі зв'язки між амідними групами молекул ПНПАМ та карбоксильними групами МПІ-1 блокують утворення водневих зв'язків між амідними групами ПНПАМ та молекулами води. Тому термочутливі властивості модифікованих поверхонь не проявляються.

Одночасно температуро та  $pH$ -чутливі системи мають значні перспективи застосування як засоби контрольованої адсорбції білків.

Сформовано та досліджено властивості наночарів прищеплених щіток полі(етилового етеру триетиленглікольмонометакрилату) - ПОЕГМА246. Встановлено, що температуро-чутливі властивості прищеплених наночарів суттєво залежать від їх товщини, тобто від співвідношення етерних фрагментів ПОЕГМА246 та карбоксильних груп МПІ-1 у неіонізованому стані. Запропоновано схему утворення водневих зв'язків між етерними групами ПОЕГМА246, карбоксильними групами МПІ-1 та водою та ван-дер-вальсівські взаємодії за різних температур та  $pH$  середовища. Показано, що не тільки співвідношення між етерними фрагментами та карбоксильними групами має значення для температуро-чутливих властивостей, але і також співвідношення між  $-COOH$  (карбоксильними) та  $-COO^-$  (карбоксилатними групами). Для зміни динамічної рівноваги у кількості  $-COOH \leftrightarrow -COO^-$  достатньо занурити полімер у буферний розчин. Для кислотних умов домінують групи  $COOH$ , в той час як групи  $-COO^-$  є домінуючими для лужних умов. Лише протоновані кислотні групи здатні створювати комплекси з етерними оксигенами ПОЕГМА. Відповідно, при  $pH 7$  та  $9$  спостерігається описаний раніше

сценарій переходу, коли при температурах нижче НКТР переважає утворення водневих зв'язків між етерними фрагментами та молекулами води, у той же час при температурі вищій за НКТР відбувається розрив цих зв'язків, і конформацію макромолекул визначають ван-дер-вальсівські взаємодії між їх фрагментами. У той же час при кислому рН, де термочутливі властивості блокуються, домінують -COOH групи, які взаємодіють з етерними оксигенами ПОЕГМА і таким чином блокують утворення водневих зв'язків з молекулами води.

Показано рН-контрольовану адсорбцію білків від практично відсутньої при нейтральному та високому значенні рН до значної при кислому рН.

Сформовано та досліджено властивості наночарів прищеплених щіток полі(4-вінілпіридину) - П4ВП, вперше показано, що наночари П4ВП мають не тільки рН-чутливі, але також температуро-чутливі властивості. Запропоновано схему Ван-дер Вальсівської взаємодії та утворення водневих зв'язків між піридилними групами П4ВП, протонованими піридилними групами П4ВП та молекулами води при різних температурах та рН. При нейтральних і високих значеннях рН температуро-індукована відповідь П4ВП нагадує поведінку систем з НКТР, описану для інших полімерів. При  $T < \text{НКТР}$  відбувається утворення водневих зв'язків між нітрогеном піридилних залишків П4ВП і воднем молекули води. У свою чергу, при  $T > \text{НКТР}$  полімер-полімерні взаємодії (взаємодії Ван-дер-Ваальса) термодинамічно більш сприятливі, ніж взаємодії полімеру з водою, що у свою чергу індукує перехід П4ВП від відносно гідратованого до гідрофобного стану. Крім температуро-чутливих властивостей, наночари П4ВП інтенсивно реагують на зміну рН. При низькому рН піридилні групи перетворюються на протонізовані піридилні групи, ведучи до взаємного відштовхування позитивно заряджених фрагментів піридилу в макромолекулах П4ВП. Крім того, відбувається утворення водневих зв'язків між частково протонізованим гідрогеном, приєднаним до піридилного залишку, з оксигеном води. Встановлено вплив змін рН та температури на морфологію та змочуваність наночарів П4ВП, а також контрольовану адсорбцію білків.

Формування кополімерних температуро-чутливих щіток принципово новий напрямок полімерної хімії. Відомо, що введення певних фрагментів суттєво змінює значення НКТР, крім того веде до значних змін у значеннях контактних кутів змочування. Поєднання двох або більше температуро-чутливих мономерів у один прищеплений полімерний макроланцюг представляє не тільки практичний, але також значний теоретичний інтерес. Для формування прищеплених температуро-чутливих щіток кополімерів нами було вибрано мономер 4ВП та ОЕГМА246.

Сформовані та охарактеризовані прищеплені наночастиці щіток кополімеру полі(4-вінілпіридин-*ко*-етилового етеру триетиленглікольмонометакрилату) - П(4ВП-*ко*-ОЕГМА246), порівняно їх властивості з наночастицями прищеплених щіток П4ВП та ПОЕГМА246. Показано, що при певних співвідношеннях 4ВП та ОЕГМА246 фрагментів у прищеплених щітках, отримані наночастиці демонструють дві НКТР, які проявляються змінами значень контактних кутів змочування та топографії прищепленого наночастиці. Крім того, спостерігаються відповідні зміни у інтенсивності адсорбції білків.

Отримані наночастиці, також проявляють рН-чутливі властивості. Так, при рН = 3 виявлено тільки один температуро-індукований перехід за температури 13,8 °С, тобто в діапазоні, що відповідає НКТР для П4ВП. Однак у діапазоні температур, які відповідають НКТР для ПОЕГМА246, перехід не спостерігався. Значення обох НКТР мають тенденцію до зростання із зростанням рН. Для першого переходу спостерігається порівняно невелике зміщення (~ 4 °С), тоді як для другого переходу, НКТР збільшується на 7 °С, з 17 °С при рН = 5 до 24 °С при рН = 9.

Вперше сформовано та показано температуро-чутливі властивості для наночастиць прищеплених щіток полі(пентаеритрилмонометакрилату) – ППМ. Даний полімер містить велику кількість гідроксильних груп, які легко можуть бути модифіковані у реакціях постполімеризаційної модифікації. У результаті постполімеризаційної модифікації щіток ППМ отримали ацетиловий естер та естер піромелітової кислоти з ППМ. Модифікація, що проводиться за допомогою ацетилхлориду, яка веде до часткового перетворення гідроксильних груп в естерні,

призводить до одержання більш гідрофобних покриттів з менш вираженою зміною значень контактного кута змочування (близько 17 градусів). Температура переходу залишається незмінною в порівнянні з немодифікованим наночаром ППМ (НКТР = 14°C). У свою чергу, для часткової постполімеризаційної модифікації з використанням хлорангідриду піромелітової кислоти, НКТР незначно збільшується до 17°C. Крім того, це призводить до помітного зниження гідрофільності покриття, що супроводжується зміною значення контактного кута змочування.

У п'ятому розділі розглянуто застосування наночарів температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток з НКТР, як полімерних матриць для формування наночастинок срібла (Ag-НЧ).

Доведено вплив хімічної природи полімерної щітки на форму, розміри та кількість Ag-НЧ. Показано, що найменша кількість Ag-НЧ включена у прищеплені щітки П4ВП, де Ag-НЧ мають сфероподібну форму діаметром  $38 \pm 17$ . Зовсім інший тип морфології представлений для П(ОЕГМА246) щіток, де спостерігаються НЧ у формі паличок. Ці НЧ зустрічаються у двох модах, із середнім розміром приблизно  $20 \pm 6 \times 60 \pm 11$  нм і  $7 \pm 2 \times 20 \pm 7$  нм. Ag-НЧ, включені у наночари П(4ВП-ко-ОЕГМА246) характеризуються малим розміром, з формою слабо розгалужених дендритних наноструктур з середньою шириною гілок у діапазоні декількох нм. Їх кількість вища, ніж у наночарах П4ВП, і нижча, ніж у наночарах П(ОЕГМА246). Ag-НЧ паличкоподібної форми також характерні для П(ОЕГМА188) щіток. Типові розміри Ag-НЧ у цьому випадку становлять близько  $40 \pm 7 \times 80 \pm 14$  нм.

При включенні Ag-НЧ відбувалося суттєве зростання показника заломлення прищеплених наночарів. Дослідження температуро-залежних властивостей змочування наночарів та впливу на нього Ag-НЧ, показало, наночари із вбудованими Ag-НЧ є значно гідрофільнішими, ніж «чисті» наночари, проте зберігають свої температуро-чутливі властивості.

Отримано спектральні залежності оптичного поглинання Ag-НЧ, вбудованих у П4ВП, П(4ВП-ко-ОЕГМА246), П(ОЕГМА246) щітки, у сухому стані та водному середовищі за температурах, рівних 10, 20 і 30°C. Абсорбція наночастинками на

П4ВП поверхні має свій максимум у водному середовищі за температури 10°C та надалі спадає при збільшенні температури. Абсорбційна крива отримана для Ag-НЧ на щітках ПОЕГМА246 має схожий характер та максимум поглинання, як і у попереднього зразка, проте абсорбція за 20 та 30°C у водному середовищі та сухому стані є практично однаковою. Абсорбційна крива Ag-НЧ отриманих у наночарі П(4ВП-*ко*-ОЕГМА246) має максимуми поглинання у водному середовищі за двох температур 10°C і 30°C.

Антибактеріальні властивості наночарів прищеплених полімерних щіток ПОЕГМА188 та П4ВП із вбудованими Ag-НЧ по відношенню до *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 були досліджені методом серійного розведення з 12-годинним інкубаційним періодом за двох температур - 4 та 37 °C, тобто нижче та вище НКТР. За 4 °C немає суттєвої різниці між кількостями бактерій зафіксованими на поверхнях наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА188 та з вбудованими Ag-НЧ. У той же час, за температури 37 °C ми не спостерігаємо ріст бактерій на поверхні наночарів ПОЕГМА188 зі вбудованими Ag-НЧ, тоді як ріст бактерій залишається незмінним на «чистих» наночарах ПОЕГМА188 за обох температур, що вказує на сильну залежність антибактеріальних властивостей від температури для ПОЕГМА188 щіток з інтегрованими Ag-НЧ. Результати, отримані для бактерій, висіяних на полімерних наночарах на основі П4ВП, є аналогічними.

У шостому розділі досліджено властивості наночарів температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток з температурним переходом за принципом температури плавлення. Синтезовано та порівняно між собою, наночари прищеплених щіток полібутилметакрилату (ПБМА) та полібутилакрилату (ПБА), дослідженню їх фізико-хімічні властивості та температуро-індуковані зміни у морфології поверхні та контактних кутах змочування. Процес модифікації було підтверджено методами ToF-SIMS та еліпсометрії.  $T_g$  для ПБМА дорівнює 13-25 °C у залежності від товщини наночару, а для ПБА вона становить -55 °C, що значно нижче кімнатної. Для наночарів ПБМА підвищення температури призводить до підвищення гідрофобності з вираженим максимумом при 15-20 °C з подальшим



зменшенням значень кутів змочування при подальшому зростанні температури. У свою чергу, для наночарів ПБА показано повільне і майже лінійне збільшення кутів змочування із збільшенням температури. Можна припустити, що це явище сильно залежить від зростання мобільності сегментів полімеру при температурі вище  $T_g$ . Вперше досліджено адсорбцію білка на поверхню, модифіковану наночарами прищеплених щіток ПБМА та ПБА. Показано температурну залежність адсорбції, яка збільшується майже вдвічі при підвищенні температури для наночарів ПБМА, у протилежність до наночарів ПБА, де інтенсивність адсорбції білків майже не виявляє температурної залежності. За допомогою ToF-SIMS аналізу хімічної структури бичачого сировоткового альбуміну (БСА) та імуноглобуліну G (IgG) у поєднанні з методом головних компонент, вперше показано різну орієнтацію БСА та IgG адсорбованих на поверхні наночарів ПБМА при різних температурах. Вперше показано вплив товщини полімерного наночару на поведінку клітин ссавців.

**Сьомий розділ** присвячений формуванню та опису властивостей наночарів температуро-чутливих прищеплених рідкокристалічних полімерних щіток. Встановлено, що температури переходів для прищеплених щіток полі(холестерилметакрилату) - ПХМА зміщуються до більш низьких температур, порівняно з вільними макромолекулами цього ж полімеру, через зменшення числа ступенів свободи в прищеплених полімерних щітках. Перший температуро-індукований перехід, який спостерігається для температур від 5 до 25 °C, добре виражений при аналізі контактного кута змочування і слабший, але чітко помітний як при аналізі ДСК, так і при АСМ, свідчить про горизонтальну перебудову в структурі наночарів прищеплених щіток ПХМА, і може бути пов'язаний з явищем  $\beta$ -релаксації в склоподібному стані.  $\beta$ -релаксація пояснюється рухом елементарних ланок полімерів у склоподібному стані. Другий температуро-індукований перехід пов'язаний із переходом з склоподібного у високоеластичний стан полімеру, добре виражений у вимірюваннях диференційної скануючої калометрії та атомно-силової мікроскопії. Збільшення значення RMS при зміні температур у діапазоні переходу склоподібний високоеластичний стан полімеру передбачає вертикальну

переорієнтацію в структурі прищеплених полімерних щіток. Такі температуро-індуковані переходи супроводжуються зменшенням показників заломлення та зростанням товщини наночарів прищеплених полімерних щіток. Зниження значення RMS після переходу через температуру склування пояснюється підвищеною рухливістю полімерних ланцюгів, що призводить до пришвидшеної релаксації поверхневих структур. У нашому випадку це явище може бути пов'язане додатково з переорієнтацією прищеплених щіток ПХМА в нематичний порядок.

У **восьмому розділі** описано основні закономірності формування та властивості прищеплених чутливих щіток на поверхнях боронітридних нанотрубок (БННТ).

Прищеплені температурочутливі щітки ПНІПАМ були успішно синтезовані шляхом ініційованої полімеризації від пероксидних груп МПІ-1, попередньо іммобілізованого на поверхні БННТ. Запропонований спосіб приготування температурочутливих БННТ має щонайменше дві переваги. По-перше, функціоналізовані БННТ добре диспергуються у воді та володіють температурочутливими властивостями при фізіологічних температурах. По-друге, хімічна структура БННТ слабо змінюється через їх модифікацію МПІ-1 через взаємодію аміногруп (дефектів) БННТ з хлорангідридними групами МПІ-1. Крім того, кожна ковалентно прищеплена молекула МПІ-1 містить кілька центрів ініціювання прищепленої полімеризації. Масовий вміст ковалентно прищеплених щіток ПНІПАМ становить лише приблизно 6%, проте це веде до значної зміни колоїдних властивостей БННТ, особливо їх здатності до диспергування у воді. Більше того, БННТ, функціоналізовані прищепленими щітками ПНІПАМ проявляють температуро-залежні колоїдні та оптичні властивості.

Флуоресцентні водо-дисперсні наноматеріали на основі БННТ та полімерних щіток були успішно синтезовані в двохстадійному процесі. Вони добре диспергуються у воді та демонструють інтенсивну флуоресценцію при 520 нм, що дозволяє їх використанні для візуалізації клітин та як наноносіїв лікарських

препаратів. Функціоналізацію БННТ була показана за допомогою термогравіметричного аналізу, інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є, динамічного розсіювання світла, ультрафіолетової видимої спектрофотометрії, лазерної скануючої конфокальної мікроскопії та скануючої електронної мікроскопії. Отримані наноматеріали здатні змінювати інтенсивність флуоресценції у залежності від рН середовища. При нейтральному або лужному рН (7-10) БННТ функціоналізовані прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) є високоемісійними, що відповідає аніонній формі молекули моноакрилату флуоресцеїну, електронна густина якої у кон'югованій системі для молекул флуоресцеїну значно збільшується, що призводить до того, що квантовий вихід флуоресценції буде значно вищим, ніж при кислотному рН. На завершення БННТ, функціоналізовані прищепленими щітками П(АК-ко-ФА), були протестовані як флуоресцентна мітка для клітинної візуалізації. Функціоналізовані нанотрубки легко поглиналися клітинами і показали хороші флуоресцентні властивості.

**Ключові слова:** прищеплені полімерні щітки, температуро-чутливі полімери, нанотрубки, атомно-силова мікроскопія, контактний кут змочування, адсорбція білків.

## SUMMARY

**Stetsyshyn Y. B. Stimuli-responsive grafted polymer brushes onto mineral surface.** – Qualifying scientific work under the authority of manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Chemical Sciences in specialty 02.00.06 – Chemistry of High-Molecular Compounds (102 – Chemistry). – Lviv Polytechnic National University, Lviv, 2021.

The dissertation is devoted to the development of a strategy for the synthesis and production of new polymeric materials – grafted polymer brushes, which are sensitive to

external stimuli. Such materials are able to change their properties upon small temperature or pH changes. This opens up new opportunities for the creation of materials for the development of cell engineering, biotechnology, nanomedicine, as a means of drug delivery, disease diagnosis and more.

**The first section** presents a review of the literature on methods of obtaining polymer brushes, compared with adsorbed and grafted macromolecules, provides information on the types of conformations of grafted brushes depending on the density of grafting. Much of the literature review is devoted to sensitive polymer systems and their possible applications.

**The second section** describes the characteristics of the starting materials, the methods of synthesis and research of the polymeric materials.

**The third section** is devoted to the formation of APTES nanolayers and multifunctional initiators (MI) on the surfaces of inorganic materials. In our work, we used two types of MI that are able to initiate graft polymerization from the surface, at the same time they contain functional groups that are responsible for grafting to the surface. In addition, some MI studied by us contain special purpose groups that give the surface certain functions, such as the orientation of liquid crystals, pH-sensitivity. The first type of MI is multifunctional peroxide initiators (MPI), developed and synthesized at the Department of Organic Chemistry at Lviv Polytechnic National University. The second group is the MI of grafted polymerization "from the surface" on the principle of radical polymerization with atom transfer, the so-called ATRP initiators. ATRP is based on the formation of a complex between an organic halogen derivative, which acts in the form of an initiator (MI) with a transition metal and a Lewis base in the lower oxidation state. This reaction leads to the rupture of the bond in the initiator of the transfer of halogen to the metal complex and the formation of alkyl radicals  $R\bullet$ , which are able to initiate polymerization from the surface. The commercially available product bromanhydride of 2-bromo-2-methylpropanoic acid was used in the work. The basic regularities of formation of grafted MI nanolayers on aminated surfaces are shown, thicknesses, refractive indices, wetting and morphology of grafted nanolayers are established. The formation of

monomolecular grafted MI nanolayers is shown, which is completely consistent with their computer models of their molecules. In this case, the number of grafted molecules on the surface, and accordingly the number of initiating centers significantly depends on the nature of the functional groups in the structure of MI.

**In the fourth section** research the formation and properties of temperature-responsive grafted polymer brushes with lower critical solution temperature based on known (N-isopropylacrylamide, oligo(ethylene glycol) methacrylate, 4-vinylpyridine,) and new monomers (pentaerythritol monomethacrylate) and their properties were comprehensively studied.

Nanolayers of grafted PNIPAM brushes were formed and their properties and influence of thicknesses on wetting, morphology were studied. The simultaneous effect of temperature and pH on the morphology and wetting of nanolayers of grafted PNIPAM brushes is shown. To illustrate the processes that take place on the surface under the influence of different pH and ambient temperatures, we have proposed a generalized mechanism for the formation of hydrogen bonds between the amide groups of PNIPAM, carboxyl groups of MPI-1 and water. According to this scheme, after immersion of the samples in buffer solutions at  $\text{pH} = 9$  and  $7$  and  $T < T_c$ , hydrogen bonds between the hydrophilic groups ( $-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$ ) of the PNIPAM segments and water predominate. At the same time, as the temperature rises to  $T > T_c$ , the existing hydrogen bonds are broken and the formation of hydrogen bonds between the amide groups of PNIPAM begins to dominate.

After immersion of the samples in acidic buffer solution, within the entire studied temperature range, the bonds between the protonated carboxyl groups MPI-1 and amide groups PNIPAM dominate. Thus, the existing hydrogen bonds between the amide groups of PNIPAM molecules and the carboxyl groups of MPI-1 block the formation of hydrogen bonds between the amide groups of PNIPAM and water molecules. Therefore, temperature-responsive properties of the modified surfaces are not manifested.

At the same time, temperature and pH-sensitive systems have significant prospects for use as a means of controlled adsorption of proteins.

The properties of nanolayers of grafted POEGMA246 brushes were formed and investigated. It was found that the temperature-responsive properties of the grafted nanolayers significantly depend on their thickness, the ratio of ether fragments of POEGMA246 and carboxyl groups of MPI-1 in the non-ionized state. A scheme for the formation of hydrogen bonds between ether groups POEGMA246, carboxyl groups MFI and water and van der Waals interactions at different temperatures and pH of the medium was proposed. It is shown that not only the ratio between ether fragments and carboxyl groups is important for temperature-sensitive properties, but also the ratio between  $\text{-COOH}$  (carboxyl) and  $\text{-COO}^-$  (carboxylate) groups. To change the dynamic equilibrium in the amount of  $\text{-COOH} \leftrightarrow \text{-COO}^-$  it is enough to immerse the polymer in a buffer solution.  $\text{COOH}$  groups dominate for acidic conditions, while  $\text{-COO}^-$  groups are dominant for alkaline conditions. Only protonated acid groups are able to form complexes with ether oxygens POEGMA. Accordingly, at pH 7 and 9, the previously described transition scenario is observed, when at temperatures below LCST the formation of hydrogen bonds between ether fragments and water molecules prevails, at the same time at temperatures above LCST there is a rupture of these bonds and conformation of macromolecules determines van der Waals interactions between their fragments. At the same time, at acidic pH, where temperature-responsive properties are blocked, protonated ( $\text{-COOH}$ ) groups dominate, which allows the formation of complexes with ether oxygenates POEGMA and thus block the formation of hydrogen bonds with water molecules.

pH-controlled adsorption of proteins from practically absent at neutral and high pH to significant at acidic pH is shown.

The properties of nanolayers of grafted P4VP brushes were fabricated and studied, and it was shown for the first time that P4VP nanolayers have not only pH-sensitive but also temperature-responsive properties. A scheme of van der Waals interaction and formation of hydrogen bonds between pyridyl groups of P4VP, protonated pyridyl groups of P4VP and water molecules at different temperatures and pH is proposed. At neutral and high pH values, the temperature-induced P4VP response resembles the behavior of LCST systems described for other polymers. At  $T < \text{LCST}$ , hydrogen bonds are formed between

the nitrogen of the pyridyl residues P4VP and the hydrogen of the water molecule. In turn, at  $T > LCST$  polymer-polymer interactions (van der Waals interactions) are thermodynamically more favorable than polymer-water interactions, which in turn induces the transition of P4VP from a relatively hydrated to a hydrophobic state. In addition to temperature-sensitive properties, P4VP nanolayers react intensively to pH changes. At low pH, pyridyl groups are converted into protonated pyridyl groups, leading to mutual repulsion of positively charged pyridyl fragments in P4VP macromolecules. In addition, hydrogen bonds are formed between the partially protonated hydrogen attached to the pyridyl residue and the oxygen in the water. The influence of pH and temperature changes on the morphology and wettability of P4VP nanolayers, as well as the controlled adsorption of proteins was established.

The formation of copolymer temperature-responsive brushes is a fundamentally new direction of polymer chemistry. It is known that the introduction of certain fragments significantly changes the value of LCST, in addition, leads to significant changes in the values of the contact angles of wetting. The combination of two or more temperature-sensitive monomers in one grafted polymer macrochain is not only practical but also of considerable theoretical interest. We selected 4VP and OEGMA246 monomers for the formation of grafted temperature-responsive copolymer brushes.

The grafted brushes of copolymer P(4VP-co-OEGMA246) were formed and characterized, their properties were compared with grafted brushes P4VP and POEGMA246. It is shown that at certain ratios of 4VP and OEGMA246 fragments in the grafted brushes, the obtained nanolayers show two LCST, which are manifested by changes in the values of contact wetting angles and topography of the grafted brushes. In addition, there are corresponding changes in the intensity of protein adsorption.

The obtained nanolayers also exhibit pH-sensitive properties. Thus, at  $pH = 3$ , only one temperature-induced transition at a temperature of  $13.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ , in the range corresponding to the LCST for P4VP. However, in the temperature range corresponding to the LCST for POEGMA246, the transition was not observed. The values of both LCSTs tend to increase with increasing pH. For the first transition, a relatively small shift ( $\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) is observed,

while for the second transition, the LCST increases by 7 °C, from 17 °C at pH = 5 to 24 °C at pH = 9.

For the first time, temperature-sensitive properties for nanolayers of grafted poly(pentaerythritol monomethacrylate) - PPM brushes were shown. This polymer contains a large number of hydroxyl groups, which can be easily modified in the reactions of postpolymerization modification. As a result of postpolymerization modification of PPM brushes, acetyl ester and pyromelic acid ester from PPM were obtained. Modification performed with acetyl chloride, which leads to a partial conversion of hydroxyl groups in the ester, leads to more hydrophobic coatings with a less pronounced change in the values of the contact angle of wetting (about 17 degrees). The transition temperature remains unchanged compared to the unmodified PPM nanolayer (LCST = 14 °C). In turn, for partial postpolymerization modification using pyromelic acid chloride, LCST is slightly increased to 17 °C. In addition, this leads to a significant decrease in the hydrophilicity of the coating, accompanied by a change in the value of the contact angle of wetting.

**The fifth section** is devoted the use of nanolayers of temperature-responsive grafted polymer brushes with LCST as polymer matrices for the formation of silver nanoparticles (Ag-NPs).

The influence of the chemical nature of the polymer brush on the shape, size and amount of Ag-NPs is proved. It is shown that the smallest amount of Ag-NPs is included in the grafted brushes P4VP, where Ag-NPs have a spherical shape with a diameter of  $38 \pm 17$  nm. A completely different type of morphology is presented for POEGMA246 brushes, where nanoparticles in the form of nanorods are observed. These nanoparticles occur in two modes, with an average size of approximately  $20 \pm 6 \times 60 \pm 11$  nm and  $7 \pm 2 \times 20 \pm 7$  nm. Ag-NPs included in nanolayers P(4VP-co-OEGMA246) are characterized by small size, with the form of weakly branched dendritic nanostructures with an average width of branches in the range of several nm. Their number is higher than in P4VP brushes and lower than in POEGMA246 brushes. Rod-shaped Ag-NPs are characteristic of



POEGMA188 brushes. Typical dimensions of Ag-NPs in this case are in the range of approximately  $40\pm 7 \times 80\pm 14$  nm.

When Ag-NPs was included, there was a significant increase in the refractive index of the grafted nanolayers. The study of temperature-dependent properties of wetting of nanolayers and the influence of Ag-NPs showed that nanolayers with embedded Ag-NPs are much more hydrophilic than "pure" nanolayers, but retain their temperature-responsive properties.

The spectral dependences of the optical absorption of Ag-NPs embedded in P4VP, P(4VP-co-OEGMA246), POEGMA246 brushes in the dry state and aqueous medium at temperatures equal to 10, 20 and 30 °C were obtained. The absorption of nanoparticles on the P4VP surface has its maximum in the aqueous environmental at a temperature of 10 °C and further decreases with increasing temperature. The absorption curve obtained for Ag-NPs on POEGMA246 brushes has a similar character and maximum absorption as in the previous sample, but the absorption at 20 and 30 °C in aqueous environmental and dry state is almost the same. The absorption curve of Ag-NP obtained in the nanolayer P(4VP-co-OEGMA246) has absorption maxima in an aqueous environmental at two temperatures of 10 °C and 30 °C.

The antibacterial properties of nanolayers of grafted polymer brushes POEGMA188 and P4VP with embedded Ag-NP in relation to *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 were investigated by serial dilution with a 12-hour incubation period of 4 °C and 37 °C, lower and higher than LCST. At 4 °C, there is no significant difference between the amounts of bacteria recorded on the surfaces of the nanolayers of grafted POEGMA188 brushes and with incorporated Ag-NPs. At the same time, at 37 °C we do not observe bacterial growth on the surface of POEGMA188 nanolayers with embedded Ag-NPs, while bacterial growth remains unchanged on "pure" POEGMA188 nanolayers at both temperatures, which indicates a strong dependence of antibacterial properties on temperature for POEGMA188 brushes with embedded Ag-NPs. The results obtained for bacteria seeded on polymer nanolayers based on P4VP are similar.

**In the sixth section**, the properties of nanolayers of temperature-responsive grafted polymer brushes with a temperature transition according to the melting temperature principle are investigated. Grafted poly(butyl methacrylate) (PBMA) and poly(butyl acrylate) (PBA) brushes were synthesized, their physicochemical properties and temperature-responsive changes in surface morphology and wetting contact angles were studied. The modification process was confirmed by time-of-flight secondary ion mass spectrometry and ellipsometry.  $T_g$  for PBMA is 13-25 °C depending on the thickness of the coating, and for PBA it is -55 °C, which is much lower than room temperature. For PBMA coatings, the increase in temperature leads to an increase in hydrophobicity with a pronounced maximum at 15-20 °C with a subsequent decrease in the values of the wetting angles with a further increase in temperature. In turn, for PBA coatings, a slow and almost linear increase in wetting angles with increasing temperature is shown. It can be assumed that this phenomenon strongly depends on the increase in the mobility of the polymer segments at temperatures above  $T_g$ . For the first time, the adsorption of protein on the surface modified by nanolayers of grafted PBMA and PBA brushes is studied. The temperature dependence of adsorption is shown, which almost doubles with increasing temperature for PBMA nanolayers. In contrast to PBMA nanolayers, for PBA brushes intensity of protein adsorption shows almost no temperature dependence. By analyzing the structure of BSA with the MGC graph, for the first time the different orientation of BSA and IgG adsorbed on the surface of PBMA nanolayers at different temperatures is shown. The influence of the thickness of the polymer nanolayer on the behavior of cells is shown for the first time.

**The seventh section** is devoted to the formation and description of the properties of nanolayers of temperature-responsive grafted liquid crystal polymer brushes. It was found that the transition temperatures for grafted poly(cholesterol methacrylate) - PChMa brushes are shifted to lower temperatures compared to free macromolecules of the same polymer, due to a decrease in the number of degrees of freedom in the grafted polymer brushes. The first temperature-induced transition, which is observed for temperatures from 5 to 25 °C, is well expressed in the analysis of the contact angle of wetting and weaker, but

clearly visible in the analysis of DSC and AFM, indicates a horizontal adjustment in the structure of nanolayers grafted brushes PChMa, and may be associated with the phenomenon of  $\beta$ -relaxation in the vitreous state.  $\beta$ -relaxation is explained by a certain molecular rearrangement in the vitreous state of the polymer. The second temperature-induced transition is associated with the transition from vitreous to viscous state of the polymer, well expressed in the measurements of DSC and AFM. A similar system was described earlier, where the properties of grafted brushes in vitreous and viscous states were analyzed. In contrast to the horizontal reorientation during  $\beta$ -relaxation, the increase in the value of RMS when the temperature changes in the transition range glassy viscous state implies a vertical reorientation in the structure of the grafted polymer brushes. Such temperature-induced transitions are accompanied by a decrease in refractive indices and an increase in the thickness of nanolayers of grafted polymer brushes. The decrease in the value of RMS after the transition through the glass transition temperature is due to the increased mobility of the polymer chains, which leads to accelerated relaxation of surface structures. In our case, this phenomenon may be associated with the reorientation of the grafted PChMa brushes in a non-nematic order.

**The eighth section** describes the basic patterns of formation and properties of grafted sensitive brushes on the surfaces of nanotubes.

Grafted temperature-sensitive brushes PNIPAM were successfully synthesized by initiated polymerization from peroxide groups MPI-1 pre-immobilized on the surface of BNNTs. The proposed method of preparation of temperature-responsive BNNTs has at least two advantages. First, functionalized BNNTs are well dispersed in water and have temperature-responsive properties at physiological temperatures. Second, the chemical structure of BNNTs changes slightly due to their modification of MPI-1 due to the interaction of amino groups (defects) of BNNT with chloroanhydride groups of MPI-1. In addition, each covalently grafted molecule MPI-1 contains several centers of initiation of the grafted polymerization. The mass content of covalently grafted PNIPAM brushes is only about 6 %, but this leads to a significant change in the colloidal properties of BNNTs,

especially their ability to disperse in water. Moreover, BNNTs functionalized with grafted PNIPAM brushes exhibit temperature-dependent colloidal and optical properties.

Fluorescently water-dispersed nanomaterials based on BNNTs and polymer brushes were successfully synthesized in a two-stage process. They are well dispersed in water and exhibit intense fluorescence at 520 nm, which allows their use for cell imaging and as drug nanocarriers. Functionalization of BNNT was shown by Thermogravimetric Analysis, Fourier transform infrared spectroscopy, Dynamic Light Scattering, Ultraviolet-visible spectrophotometry, Laser scanning confocal microscopy and Scanning electron microscopy. The obtained nanomaterials are able to change the fluorescence intensity depending on the pH of the medium. At neutral or alkaline pH (7-10) BNNTs functionalized with grafted brushes P(AK-co-FA) are high-emission, which corresponds to the anionic form of the fluorescein monoacrylate molecule, the electron density of which in the conjugated system for fluorescein molecules increases that the quantum yield of fluorescence will be much higher than at acidic pH. Finally, BNNTs functionalized with grafted P(AK-co-FA) brushes were tested as a fluorescent label for cell imaging. Functionalized nanotubes were easily absorbed by cells and showed good fluorescent properties.

**Key words:** grafted polymer brushes, temperature-responsive polymers, nanotubes, atomic-force microscopy, ellipsometry, wetting contact angles, protein adsorption.

## Список публікацій здобувача за темою дисертації

### Публікації, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації Статті у наукових періодичних виданнях інших держав, що входять до наукометричних баз (*Scopus та Web of Science*)

1. **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Harhay K., Gajos K., Melnyk Y., Dąbczyński P., Shevtsova T., Budkowski A. Temperature-responsive and multi-responsive grafted polymer brushes with transitions based on critical solution temperature: synthesis, properties, and applications. *Colloid and Polymer Science*. 2020. P. 1-21. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: аналіз та систематизація літературних джерел, підготовка публікації до друку)*.
2. **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Harhay K., Awsiuk K., Shymborska Y., Nastyshyn S., Ohar H., Vasilyev V., Ostapiv D., Sharan M., Sharan O. Grafted polymer brush coatings for growth of cow granulosa cells i oocyte-cumulus cell complexes. *Biointerphases*. 2020. Vol. 15. No 3. P. 031006. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, вибір об'єктів дослідження, розробка методик синтезу, узагальнення отриманих результатів, написання статті)*.
3. Nastyshyn S., Raczkowska J., **Stetsyshyn Y.**, Orzechowska B., Bernasik A., Shymborska Y., Brzychczy-Włoch M., Gosiewski T., Lishchynskyi O., Ohar H., Ochońska D. Non-cytotoxic, temperature-responsive i antibacterial POEGMA based nanocomposite coatings with silver nanoparticles. *RSC Advances*. 2020. Vol. 10. No 17. P. 10155-10166. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: постановка проблеми дослідження, участь в обговоренні отриманих результатів, виконання частини експериментальних робіт, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації до друку)*.
4. Kalay S., **Stetsyshyn Y.**, Donchak V., Harhay K., Lishchynskyi O., Ohar H., Panchenko Y., Voronov S., Culha M. pH-Controlled fluorescence switching in water-dispersed polymer brushes grafted to modified boron nitride nanotubes for cellular imaging. *Beilstein J. Nanotechnol*. 2019. Vol. 10. P. 2428–2439. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, розробка методик синтезу, виконання*

*частини експериментальних робіт, аналіз спектральних даних, встановлення будови отриманих сполук, участь у підготовці публікації до друку).*

5. Raczowska J., **Stetsyshyn Y.**, Awwsiuk K., Brzychczy-Włoch M., Gosiewski T., Jany B., Lishchynskyi O., Shymborska Y., Nastyshyn S., Bernasik A., Ohar H., Krok F., Ochońska D., Kostruba A., Budkowski A. "Command" surfaces with thermo-switchable antibacterial activity. *Materials Science & Engineering C*. 2019. Vol. 103. P. 109806. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, виконання частини експериментальних робіт, інтерпретація експериментальних даних, узагальнення отриманих результатів, написання статті).*
6. Awwsiuk K., **Stetsyshyn Y.**, Raczowska J., Lishchynskyi O., Dąbczyński P., Kostruba A., Ohar H., Shymborska Y., Nastyshyn S., Budkowski A. Temperature-controlled orientation of proteins on temperature-responsive grafted polymer brushes. Poly(butyl methacrylate) versus poly(butyl acrylate): Morphology, wetting i protein adsorption. *Biomacromolecules*. 2019. Vol. 20. P. 2185-2197. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: аналіз та систематизація літературних джерел, підготовка публікації до друку).*
7. **Stetsyshyn Y.**, Awwsiuk K., Kusnezh V., Raczowska J., Jany B., Kostruba A., Harhay K., Ohar H., Lishchynskyi O., Shymborska Y., Kryvenchuk Y., Krok F., Budkowski A. Shape-Controlled synthesis of silver nanoparticles in temperature-responsive grafted polymer brushes for optical applications. *Appl. Surf. Sci.* 2019. Vol. 463. P. 1124-1133. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, вибір об'єктів дослідження, проведення комп'ютерного прогнозування, аналіз отриманих результатів, написання статті).*
8. Lisuzzo L., Cavallaro G., Lazzara G., Milioto S., Parisi F., **Stetsyshyn Y.** Stability of halloysite, imogolite, i boron nitride nanotubes in solvent media. *Applied Sciences*. 2018. Vol. 8. No 7. P. 1068. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, вибір об'єктів дослідження, проведення комп'ютерного прогнозування, аналіз отриманих результатів, написання статті).*

9. Kostruba A., **Stetsyshyn Y.**, Mayevska S., Yakovlev M., Vankevych P., Nastishin Y., Kravets V. Composition, thickness i properties of grafted copolymer brush coatings determined by ellipsometry: calculation i prediction. *Soft matter*. 2018. Vol. 14. No 6. P. 1016-1025. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, вибір об'єктів дослідження, проведення комп'ютерного прогнозування, аналіз отриманих результатів, написання статті)*.
10. **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Lishchynskyi O., Awsiuk K., Zemla J., Dabczynski P., Kostruba A., Harhay K., Ohar H., Orzechowska B., Panchenko Y., Vankevych P., Budkowski A. Glass transition in temperature-responsive poly(butyl methacrylate) grafted polymer brushes. Impact of thickness i temperature on wetting, morphology, i cell growth. *J. Mater. Chem. B*. 2018. Vol. 6. P. 1613-1621. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, вибір об'єктів дослідження, розробка методик синтезу, обробка розрахункових даних, аналіз отриманих результатів, підготовка публікації до друку)*.
11. Kostruba A., **Stetsyshyn Y.**, Vlokh R., Mayevska S., Rachiy B., Musiy R., Zarkov A., Kareiva A. Sensitivity i accuracy of new ellipsometric technique for the characterization of ultrathin films. *Chemija*. 2017. Vol. 28. No 4. P. 177–182. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: постановка завдання дослідження, вибір об'єктів дослідження, розробка методик синтезу, аналіз отриманих результатів, підготовка статті до друку)*.
12. **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Lishchynskyi O., Bernasik A., Kostruba A., Harhay K., Ohar H., Marzec M., Budkowski A. Temperature-controlled three-stage switching of wetting, morphology, i protein adsorption. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2017. Vol. 9. No 12. P. 12035–12045. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, виконання частини експериментальних робіт, аналіз отриманих результатів, підготовка статті до друку)*.
13. Raczkowska J., **Stetsyshyn Y.**, Awsiuk K., Lekka M., Marzec M., Harhay K., Ohar H., Ostapiv D., Sharan M., Yaremchuk I., Bodnar Y., Budkowski A. Temperature-responsive grafted polymer brushes obtained from renewable sources with potential

application as substrates for tissue engineering. *Applied Surface Science*. 2017. Vol. 407. P. 546–554. **Scopus**. (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, виконання частини експериментальних робіт, обробка розрахункових даних, аналіз отриманих результатів, підготовка статті до друку*).

14. **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Budkowski A., Awsiuk K., Kostruba A., Nastyshyn S., Harhay K., Lychkovskyy E., Ohar H., Nastishin Y. The cholesterol-based grafted polymer brushes as alignment coating with temperature-tuned anchoring for nematic liquid crystals. *Langmuir*. 2016. Vol. 32. No 42. P. 11029-11038. **Scopus**. (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, розробка методик синтезу, інтерпретація отриманих результатів, підготовка публікації до друку*).
15. Raczkowska J., **Stetsyshyn Y.**, Awsiuk K., Zemła J., Kostruba A., Harhay K., Marzec M., Bernasik A., Lishchynskiy O., Ohar H., Budkowski A. Temperature-responsive properties of poly(4-vinylpyridine) coatings: influence of temperature on the wettability, morphology, i protein adsorption. *RSC Advances*. 2016. Vol. 6. No 90. P. 87469-87477. **Scopus**. (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, розробка методик синтезу, інтерпретація отриманих результатів, підготовка публікації до друку*).
16. Kalay S., **Stetsyshyn Y.**, Lobaz V., Harhay K., Ohar H., Çulha M. Water-dispersed thermo-responsive boron nitride nanotubes: synthesis i properties. *Nanotechnology*. 2015. Vol. 27. P. 035703. **Scopus**. (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації до друку*).
17. **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Budkowski A., Kostruba A., Harhay K., Ohar H., Awsiuk K., Bernasik A., Ripak N., Zemła J. Synthesis i postpolymerization modification of thermoresponsive coatings based on pentaerythritol monomethacrylate: surface analysis, wettability, i protein adsorption. *Langmuir*. 2015. Vol. 31. No 35. P. 9675–9683. **Scopus**. (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір*



*об'єктів дослідження, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації до друку).*

18. Kostruba A., **Stetsyshyn Y.**, Vlokh R. Method for determination of the parameters of transparent ultrathin films deposited on transparent substrates under conditions of low optical contrast. *Applied Optics*. 2015. Vol. 54. No 25. P. 6208-6216. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації до друку).*
19. **Stetsyshyn Y.**, Kostruba A., Harhay K., Donchak V., Ohar H., Savaryn V., Kulyk B., Ripak L., Nastishin Y. Multifunctional cholesterol-based peroxide for modification of amino-terminated surfaces: Synthesis, structure i characterization of grafted layer. *Applied Surface Science*. 2015. Vol. 347. P. 299–306. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, участь в обговоренні експериментальних результатів, формулювання висновків, підготовка публікації до друку).*
20. Raczkowska J., Ohar M., **Stetsyshyn Y.**, Zemła J., Awsiuk K., Rysz J., Fornal K., Bernasik A., Ohar H., Fedorova S., Shtapenko O., Polovkovych S., Novikov V., Budkowski A. Temperature-responsive peptide-mimetic coating based on poly(N-methacryloyl-l-leucine): Properties, protein adsorption i cell growth. *Colloids i Surfaces B: Biointerfaces*. 2014. Vol. 118. P. 270–279. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, аналіз експериментальних результатів, підготовка публікації до друку).*
21. **Stetsyshyn Y.**, Fornal K., Raczkowska J., Zemla J., Kostruba A., Ohar H., Ohar M., Donchak V., Harhay K., Awsiuk K., Rysz J., Bernasik A., Budkowski A. Temperature i pH dual-responsive POEGMA-based coatings for protein adsorption. *Journal of Colloid i Interface Science*. 2013. Vol. 411. P. 247–256. **Scopus**. *(Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, аналіз експериментальних результатів, підготовка публікації до друку).*
22. Kostruba A., Ohar M., Kulyk B., Zolobko O, **Stetsyshyn Y.** Surface modification by grafted sensitive polymer brushes: An ellipsometric study of their properties. *Applied*

Surface Science. 2013. Vol. 276. P. 340–346. **Scopus**. (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, аналіз експериментальних результатів, підготовка публікації до друку*).

23. **Stetsyshyn Y.**, Zemla J., Zolobko O., Fornal K., Budkowski A., Kostruba A., Donchak V., Harhay K., Awsiuk K., Rysz J., Bernasik A., Voronov S. Temperature i pH dual-responsive coatings of oligoperoxide-graft-poly(N-isopropylacrylamide): Wettability, morphology, i protein adsorption. Journal of Colloid i Interface Science. 2012. Vol. 387. P. 95–105. **Scopus**. (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, аналіз експериментальних результатів, підготовка публікації до друку*).

24. **Stetsyshyn Y.**, Kostruba A., Jaczewska J., Zaichenko A., Mitina N., Budkowski A., Kuzyk P., Voloshinovskii A. Formation, structure i wettability of fluorescent nanolayers of oligoperoxide europium complexes adsorbed to glass surface. Thin Solid Films. 2010. Vol. 518. P. 4318–4321. **Scopus**. (*Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, вибір об'єктів дослідження, розробка методик синтезу, обробка розрахункових даних, аналіз отриманих результатів, підготовка публікації до друку*).

25. **Stetsyshyn Y.**, Donchak V., Harhay K., Voronov S., Raczkowska J., Budkowski A. Modification of poly(ethylene terephthalate) surface by attached dextran macromolecules. Polym. Int. 2009. Vol. 58. No 9. P. 1034–1040. **Scopus**. (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, виконання частини експериментальних робіт, обговорення експериментальних результатів, підготовка публікації до друку*).

**Статті у наукових фахових виданнях України, що входять до наукометричних баз (Scopus та Web of Science)**

26. Kostruba A., **Stetsyshyn Y.**, Zaichenko A., Mitina N., Zolobko O. Ellipsometric Ex-Situ study of nanolayers oligoperoxide with dihydroanthracene units adsorbed on a glass surface. Ukr. J. Phys. Opt. 2010. Vol. 11. No 4. P. 269-276 (*Особистий внесок*

здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, аналіз експериментальних результатів, підготовка публікації до друку).

27. Kostruba A., **Stetsyshyn Y.**, Zaichenko A., Mitina N. Ellipsometric Ex-Situ study of fluorescent oligoperoxide nanolayers with europium complexes adsorbed on a glass surface. Formation i structure. Ukr. J. Phys. Opt. 2009. Vol. 10. No 4. P. 175-181 (Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, виконання частини експериментальних робіт, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації до друку).

#### **Статті у наукових фахових виданнях України**

28. Огар М., **Стецишин Ю.**, Половкович С., Журахівська Л., Болібрух Л., Губицька І., Марінцова Н., Новіков В. Прищеплені наношари полі(N-метакрилоїл амінокислот) для контрольованої адсорбції білків та вирощування клітин. Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія «Біологія, хімія». 2013. Том 26. № 4. С. 315-322 (Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, виконання частини експериментальних робіт, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації до друку).
29. **Стецишин Ю.**, Жолобко О., Коструба А., Дончак В., Гаргай Х., Ріпак Л., Воронов С. Температурочутливі «non-fouling» наношари на основі щіток полі( $\omega$ -етилтріетиленгліколь- $\alpha$ -метакрилату). Український хімічний журнал. 2013. № 8. С. 123-128 (Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, участь в обговоренні експериментальних результатів, формулювання висновків, підготовка публікації до друку).
30. Дончак В., Гаргай Х., **Стецишин Ю.**, Воронов С. Олігоестери з функціональними діалкілпероксидними групами. Вісник НУ “Львівська політехніка”, Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2013. № 761. С. 349-354 (Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, обробка розрахункових даних, обговорення експериментальних результатів, підготовка публікації до друку).

31. Огар М., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Половкович С., Марінцова Н., Новіков В. Формування термочутливих покриттів на основі полі(N-метакрилоїл-L-фенілаланіну) на поверхні пероксидованого скла. Вісник НУ “Львівська політехніка”, Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2013. № 761. С. 442-447 *(Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об’єктів дослідження, виконання частини експериментальних робіт, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації до друку).*
32. Огар М., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Марінцова Н., Новіков В. Формування та властивості прищеплених наночарів деяких полі(N-метакрилоїл-L-амінокислот) на поверхні пероксидованого скла. Полімерний журнал. 2013. Том 35. № 2. С. 151-156 *(Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об’єктів дослідження, обробка розрахункових даних, обговорення експериментальних результатів, підготовка публікації до друку).*
33. Огар М., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Марінцова Н., Журахівська Л., Федорова С., Штапенко О., Новіков В. Формування та властивості декстрановмісного покриття для контрольованої адсорбції альбуміну та вирощування клітин. ДАН України. 2013. № 5. С. 511-517 *(Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об’єктів дослідження, участь в обговоренні експериментальних результатів, формулювання висновків, підготовка публікації до друку).*
34. Огар М., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Хом’як С., Половкович С., Марінцова Н., Новіков В. Синтез та властивості полімерних щіток на основі N-метакрилоїл-L-метіонінуприщеплених до поверхні модифікованого скла. Вісник НУ “Львівська політехніка”, Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2012. № 726. С. 373-377 *(Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, вибір об’єктів дослідження, обробка розрахункових даних, аналіз експериментальних результатів, підготовка публікації до друку).*
35. Жолобка О., **Стецишин Ю.**, Гаргай Х., Ріпак Л., Дончак В. Формування, структура та властивості рН- та термочутливого наночару олігопероксид-графт-полі(N-ізопропілакриламід), прищепленого до поверхні пероксидованого скла.

Вісник НУ “Львівська політехніка”, Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2012. № 726. С. 357-363 (*Особистий внесок здобувача: формулювання завдання, вибір об'єктів дослідження, розробка методик синтезу, обробка розрахункових даних, аналіз отриманих результатів, підготовка публікації до друку*).

36. Коструба А., Курисько Т., Жолобка О., Дончак В., Гаргай Х, Ріпак Л, **Стецишин Ю.** Дослідження адсорбції альбуміну на поверхню скла модифікованого прищепленим наночаром олігопероксид-графт-полі(N-ізопропілакриламід) методом еліпсометрії. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2012. № 59. С. 37–43 (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, виконання частини експериментальних робіт, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації до друку*).
37. **Стецишин Ю.**, Жолобка О., Коструба А., Земла Ю., Форнал К., Дончак В., Гаргай Х., Будковські А., Воронов С. Структура та властивості олігоестерного термочутливого наночару, прищепленого до поверхні скла. Доповіді НАН України. 2011. № 10. С. 125-130 (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, аналіз експериментальних результатів, підготовка публікації до друку*).
38. Штапенко О., Федорова С., Гевкан І., **Стецишин Ю.**, Жолобка О., Огар М. Вплив модифікованих поверхонь скла на адгезію та проліферацію клітин меланоми миші лінії В16F10. Біологія тварин. 2011. Том 13. № 1-2. С. 484-487 (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, аналіз експериментальних результатів, підготовка публікації до друку*).
39. **Стецишин Ю.**, Жолобка О., Бегей І., Дончак В., Гаргай Х., Ріпак Л. Структура та властивості поверхні пероксидованого скла, модифікованого полі(моноетилованим триетиленглікольметакрилатом). Вісник НУ “Львівська політехніка”, Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2011. № 700. С. 387-391 (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, участь в обговоренні експериментальних результатів, формулювання висновків, підготовка публікації до друку*).

40. **Стецишин Ю.**, Коструба А., Жолобко О., Заїченко О., Мітіна Н., Маєвська С. Дослідження структури наночастинок олігопероксиду з флуорованими ланками на поверхні скла. *Фізика і хімія твердого тіла*. 2011. Том 12. № 1. С. 186-191 (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, виконання частини експериментальних робіт, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації до друку*).
41. **Стецишин Ю.**, Коструба А., Гаргай Х., Дончак В., Курисько Т., Жолобко О., Ріпак Л., Воронов С. Дослідження адсорбції альбуміну на поверхні модифікованого скла методом еліпсометрії. *Вісник Львівського Національного університету ім. І. Франка. Серія біологічна*. 2010. № 54. С. 51-58 (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, обробка розрахункових даних, обговорення експериментальних результатів, підготовка публікації до друку*).
42. **Стецишин Ю.**, Жолобко О., Дончак В., Гаргай Х. Модифікація поверхні скла гетерофункціональними пероксидними олігоестерами. *Вісник НУ "Львівська політехніка", Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2010. № 667. С. 351-356 (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, виконання частини експериментальних робіт, обговорення експериментальних результатів, підготовка публікації до друку*).
43. **Стецишин Ю.**, Коструба А., Заїченко О., Мітіна Н. Дослідження структури наночастинок олігопероксидного європійвмісного металокомплексу на поверхні скла. *Фізика і хімія твердого тіла*. 2009. Том 10. № 4. С. 900-904 (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, участь в обговоренні експериментальних результатів, формулювання висновків, підготовка публікації до друку*).
44. Коструба А., Мітіна Н., Раєвська К., **Стецишин Ю.**, Лобаз В. Кінетика утворення та будова олігопероксидних наночастинок і прищеплених полімерних шіток на плоскій скляній поверхні. *Вісник НУ "Львівська політехніка", Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2008. № 622. С. 147-152 (*Особистий внесок*

здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, виконання частини експериментальних робіт, узагальнення отриманих результатів, підготовка публікації до друку).

45. **Stetsyshyn Y.**, Donchak V., Harhay K., Voronov S. Main regularities of polyethylenterephthalate surface modification by oligoperoxides. Chemistry and Chemical Technology. 2008. Vol. 2. No 3. P. 185-189 (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, участь в обговоренні експериментальних результатів, формулювання висновків, підготовка публікації до друку*).
46. **Стецишин Ю.**, Дончак В., Гаргай Х., Воронов С. Модифікація поверхні поліетилентерефталату декстраном. Вісник Львівського Національного університету ім. І. Франка. Серія біологічна. 2008. № 46. С. 47-54 (*Особистий внесок здобувача: постановка завдання, вибір об'єктів дослідження, участь в обговоренні експериментальних результатів, формулювання висновків, підготовка публікації до друку*).

### **Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

1. Shymborska Y., Lishchynskyi O., Kostenko M., Donchak V., Harhay K., **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Awsiuk K., Budkowski A. X International scientific-technical conference «Advance in Petroleum i Gas Industry i Petrochemistry». Lviv. 2020. P. 135-136.
2. Shymborska Y., Lishchynskyi O., Kostenko M., Raczkowska J., Awsiuk K., Budkowski A., **Stetsyshyn Y.** Temperature-responsive grafted polymer brushes for biomedical application. Current Chemical Problems. Vinnytsia. 2020. P. 185-185.
3. Lishchynskyi O., Awsiuk K., Raczkowska J., Ohar H., Nastyshyn S., Shymborska Y., Budkowski A., **Stetsyshyn Y.** Grafted polymer brushes: poly(butyl methacrylate) vs poly(butyl acrylate): influence of temperature on the wettability, morphology, protein adsorption. East West Chemistry Conference. Palermo. 2019. P. 40.

4. Nastyshyn S., Lishchynskyi O., Shymborska Y., **Stetsyshyn Y.**, Budkowski A. Silver nanoparticles embedded into thermo-switchable polymer grafted brushes: morphology, shape, temperature-responsivity i toxicity. East West Chemistry Conference. Palermo. 2019. P. 38.
5. Shymborska Y., Awwsiuk K., Raczowska J., Brzywczy-Włoch M., Kostruba A., Ohar H., Lishchynskyi O., Bernasik A., Budkowski A., Nastyshyn S., **Stetsyshyn Y.** Polymer-based coatings with self-activating temperature-dependent antibacterial properties. East West Chemistry Conference. Palermo. 2019. P. 75.
6. Lishchynskyi O., Awwsiuk K., **Stetsyshyn Y.**, Raczowska Y., Kostruba A., Ohar H., Shymborska Y., Nastyshyn S., Budkowski A. Temperature-responsive grafted polymer brushes: poly(butyl methacrylate) vs poly(butyl acrylate) with temperature-controlled orientation of proteins. II International scientific-technical conference «The modern technologies of polymer materials obtaining i processing» Book of abstracts. Lviv. 2019. P. 30
7. **Stetsyshyn Y.**, Raczowska Y., Awwsiuk K., Lishchynskyi O., Shymborska Y., Nastyshyn S., Harhay K., Ohar H., Kostruba A., Budkowski A., Voronov S. Nanoparticles embedded in temperatureresponsive polymer coatings attached to a glass surface: fabrication i application. II International scientific-technical conference «The modern technologies of polymer materials obtaining i processing» Book of abstracts. Lviv. 2019. P. 30.
8. Nastyshyn S., Lishchynskyi O., **Stetsyshyn Y.**, Budkowski A. Polymer grafted brushes as template layer for nanoparticles. International conference of students i young scientists in theoretical i experimental physics Heureka-2019. Lviv. 2019. P. D14.
9. Lishchynskyi O., Raczowska J., Awwsiuk K., Shymborska Y., **Stetsyshyn Y.** Temperature-responsive grafted polymer brushes: fabrication, properties i application. III International (XIII Ukrainian) scientific conference for students i young scientists "Current Chemical Problems" (CCP-2019). Vinnytsia. 2019. P. 202.
10. Shymborska Y., Raczowska J., Awwsiuk K., Lishchynskyi O., **Stetsyshyn Y.** Synthesis of silver nanoparticles in grafted polymer brushes. III International (XIII



Ukrainian) scientific conference for students i young scientists "Current Chemical Problems" (CCP-2019). Vinnytsia. 2019. P. 215.

11. **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Awsiuk K., Ohar H., Harhay K., Budkowski A. "Smart" grafted polymer brushes: from monomer building blocks to new functionalities i applications. European Polymer Congress, EPF-2019. Heraklion. 2019. P. 70.

12. Lishchynskyi O., Raczkowska J., Awsiuk K., Zemła J., Dąbczyński P., Kostruba A., Harhay K., Ohar H., Orzechowska B., Panchenko Y., Vankevych P., Budkowski A., **Stetsyshyn Y.** Glass transition in temperature-responsive poly(butyl methacrylate) grafted polymer brushes. Impact of thickness i temperature on wetting, morphology, i cell growth. East West Chemistry Conference. Lviv. 2018. P. 81.

13. Awsiuk K., **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Lishchynskyi O., Janiszewska N., Budkowski A. Study on protein adsorption to thin layers of poly(butyl methacrylate). East West Chemistry Conference. Lviv. 2018. P. 41.

14. Shevtsova T., Raczkowska J., Lishchynskyi O., Shymborska Y., Bernasik A., Kostruba A., Harhay K., Ohar H., Marzec M., Budkowski A., **Stetsyshyn Y.** Temperature-controlled three-stage switching of wetting, morphology, i protein adsorption. East West Chemistry Conference. Lviv. 2018. P. 95.

15. Shymborska Y., Awsiuk K., Kusnezh V., Raczkowska J., Jany B., Harhay K., Ohar H., Lishchynskyi O., Shevtsova T., Krok F., Budkowski A., **Stetsyshyn Y.** Shape-controlled synthesis of silver nanoparticles in temperature-responsive grafted polymer brushes for optical applications. East West Chemistry Conference. Lviv. 2018. P. 91.

16. **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Awsiuk K., Kostruba A., Harhay K., Ohar H., Kalay S., Culha M., Budkowski A. Temperature-Responsive Grafted polymer Brushes at Physiological Temperatures: Critical Solution versus Glass-Rubber Transition. East West Chemistry Conference. Lviv. 2018. P. 61.

17. Nastyshyn S., **Stetsyshyn Y.**, Budkowski A., Raczkowska J., Awsiuk K., Kostruba A., Harhay K., Lychkovskyy E., Ohar H., Nastishin Y. Cholesterol-Based Coating for Surface Alignment of Nematic Liquid Crystals. East West Chemistry Conference. Lviv. 2018. P. 95.

18. Kostruba A., **Stetsyshyn Y.** Composition, Thickness i Refractive Index of Ultrathin Polymer Grafted Brush Coatings Determined by Ellipsometry: Calculation i Prediction. East West Chemistry Conference. Lviv. 2018. P. 122.
19. Lishchynskyi O., Raczkowska J., Awsiuk K., Zemła J., Dąbczyński P., Kostruba A., Harhay K., Ohar H., Orzechowska B., Panchenko Y., Vankevych P., Budkowski A., **Stetsyshyn Y.** Fabrication of the temperature-responsive poly(butyl methacrylate) grafted polymer brushes. Conference of Young Scientists at East West Chemistry Conference. Lviv. 2018. P. 29.
20. Shymborska, Y., Awsiuk, K., Kusnezh, V., Raczkowska, J., Jany, B., Harhay, K., Ohar, H., Lishchynskyi, O., Shevtsova, T., Krok, F., Budkowski, A., **Stetsyshyn, Y.** Shape-Synthesis of silver nanoparticles in temperature-responsive grafted polymer brushes. Conference of Young Scientists at East West Chemistry Conference. Lviv. 2018. P. 30.
21. Shevtsova, T., Raczkowska, J., Lishchynskyi, O., Shymborska, Y., Bernasik, A., Kostruba, A., Harhay, K., Ohar, H., Marzec, M., Budkowski, A., **Stetsyshyn, Y.** Fabrication i properties new temperature-responsive grafted polymer brushes. Conference of Young Scientists at East West Chemistry Conference. Lviv. 2018. P. 31.
22. Дончак В., Воронов А., Будішевська О., Гаргай Х., **Стецишин Ю.**, Воронов С. Амфіфільні олігомери піромелітової кислоти – матеріали біомедичного призначення. Тези доповідей XIV української конференції з високомолекулярних сполук «ВМС-2018». Київ. 2018. С. 97-99.
23. **Stetsyshyn Y.** Fabrication of the temperature i pH-responsive grafted polymer brushes for stimuli-modulated bioseparations i orientations. 8th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry. Istanbul. 2018. Inv. 5.
24. **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Awsiuk K., Harhay K., Ohar H., Budkowski A. Temperature-responsive grafted polymer brushes with different mechanisms of action: molecular design, fabrication i application. Abstract book of the East West Chemical Conferennce. Skopje. 2017. P. 30.

25. Kostruba A., **Stetsyshyn Y.** New ellipsometric technique for characterization of ultrathin thermo-responsive polymer films in liquid ambient. Abstract book of the International conference “Nanotechnology i nanomaterials (NANO-2016)”. Lviv. 2016. P. 360.
26. Raczkowska J., **Stetsyshyn Y.**, Awsiuk K., Zemła J., Kostruba A., Harhay K., Marzec M., Bernasik A., Lishchynskyi O., Ohar H., Budkowski A. Temperature-responsive properties of poly (4-vinylpyridine) coatings: influence of temperature on the wettability, morphology, i protein adsorption. 15th Ukrainian-Polish Symposium “Theoretical i experimental studies of interfacial phenomena i their technological applications”. Lviv. 2016. P. 128.
27. **Stetsyshyn Y.**, Raczkowska J., Kostruba A., Harhay K., Ohar H., Ripak L., Budkowski A. Fabrication of the temperature-responsive coatings using multifunctional oligoperoxides. Actual problems of chemistry i technology of organic substances (APCTOS2). Lviv. 2015. P. 44.
28. Raczkowska J., Ohar M., **Stetsyshyn Y.**, Zemła J., Awsiuk K., Rysz J., Fornal K., Bernasik A., Ohar H., Fedorova S., Shtapenko O., Polovkovych S., Novikov V., Budkowski A. Temperature-responsive peptide-mimetic coating based on poly(N-methacryloyl-l-leucine): Properties, protein adsorption i cell growth. 8th ECNP International Conference on Nanostructured Polymers i Nanocomposites. Dresden. 2014. P. O30.
29. **Stetsyshyn Y.**, Ohar H., Raczkowska J., Zemła J., Donchak V., Budkowski A. Wrażliwe na bodźce nanowarstwy polimeryzowane ‘z powierzchni’ przy użyciu peroksydów wielofunkcyjnych i ich właściwości. Materiały XIX Ogólnopolskiej Konferencji Kryształy Molekularne. Sromowice Nizne. 2014. S. 43.
30. **Stetsyshyn Y.**, Kostruba A., Donchak V., Raczkowska J., Zemła J., Harhay K., Awsiuk K., Rysz J., Bernasik A., Ripak L., Budkowski A., Voronov S. Formation i properties of the novel surface-grafted polymer brushes based on the poly(pentaerythryl monomethacrylate). Abstract book of the International conference “Nanotechnology i nanomaterials (NANO-2014)”. Lviv. 2014. P. 391.

31. **Stetsyshyn Y.**, Fornal K., Raczkowska J., Zemla J., Kostruba A., Ohar H., Donchak V., Harhay K., Awsiuk K., Rysz J., Bernasik A., Voronov S., Budkowski A. Temperature i pH dual-responsive POEGMA-based coatings for protein adsorption. 10th Nanoscience i Nanotechnology Conference. Istanbul. 2014. P. 427.
32. **Stetsyshyn Y.**, Budkowski A., Zolobko O., Zemla J., Fornal K., Kostruba A., Harhay K., Awsiuk K., Rysz J., Bernasik A., Voronov S. pH- i temperature controlled protein adsorption to dual-responsive coatings of oligoperoxide-graft-poly(N-isopropylacrylamide). Journal 10-th International conference on Nanoscience i Nanotechnology. Thessaloniki. 2013. P. 231.
33. Огар М., **Стецишин Ю.**, Марінцова Н., Новіков В., Федорова С., Штапенко О. Біологічно-активні прищеплені полімерні наношари полі(N-метакрилоїл-L-амінокислот) на поверхні скла. IX International Scientific Conference da Rostim. 2013. P. 99-100.
34. **Stetsyshyn Y.**, Fornal K., Kostruba A., Donchak V., Raczkowska J., Zemla J., Ohar M., Harhay K., Awsiuk K., Rysz J., Bernasik A., Ripak L., Voronov S., Budkowski A. Construction of the surface-grafted polymer brushes for biomedical applications International conference "Nanotechnology i nanomaterials". Bukovel. 2013. P. 299.
35. Ohar M. , **Stetsyshyn Y.**, Kostruba A., Raczkowska J., Marintsova N., Fyodorova S., Shtapenko O., Novikov V., Budkowski A. Formation, structure i properties grafted sensitive polymer nanolayers on the base of the amino-acid derivatives. International conference "Nanotechnology i nanomaterials". Bukovel. 2013. P. 299.
36. Огар М., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Болібрух Л., Губицька І., Журахівська Л., Марінцова Н., Новіков В. Наноструктуровані полімерні матеріали для очищення води. Міжнародна науково-практична конференція «Хімія, Біо- і Нанотехнології, Екологія та Економіка в Харчовій та Косметичній Промисловості». Щелкіно. 2013. С. 124-126.
37. **Stetsyshyn Y.**, Budkowski A., Zemla J., Fornal K., Kostruba A., Harhay K., Ohar M., Awsiuk K., Rysz J., Bernasik A., Voronov S. Construction of the surface-grafted dual

temperature- i pH-sensitive polymer complexes for biomedical applications. 533th WE-Heraeus-Seminar "Advanced Functional Polymers for Medicine". Bonn. 2013.

38. Donchak V., Harhay K., Ripak L., **Stetsyshyn Y.**, Voronov S. Oligoperoxide on the base of pyromellitic acid for biomedical applications. 533th WE-Heraeus-Seminar "Advanced Functional Polymers for Medicine". Bonn. 2013.

39. Огар М., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Марінцова Н., Федорова С., Штапенко О., Новіков В. Формування біосумісних термочутливих полімерних покриттів на основі полі(N-метакрилоїл-L-фенілаланіну). Національна науково-технічна інтернет-конференція з міжнародною участю «Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно-активних сполук та фармацевтичних препаратів». Львів. 2013. С. 58.

40. Перепелиця Ю., Огар М., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Марінцова Н., Новіков В. Визначення поверхневого натягу нових прищеплених наночарів полі(N-метакрилоїл-L-амінокислот) на поверхні пероксидованого скла. Конференція Хімічні Каразинські читання. Харків. 2013. С. 273.

41. **Стецишин Ю.**, Дончак В., Гаргай Х., Огар Г., Рипак Л., Фахруллин Р. Формирование привитых чувствительных нанослоев на поверхности аминированого стекла для контролируемой адсорбции белков. Сборник материалов Всероссийской молодежной конференции «Химия поверхности и нанотехнология». Казань. 2012. С. 126.

42. Огар М., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Половкович С., Марінцова Н., Новіков В. Формування та властивості прищеплених наночарів полі(N-метакрилоїл-L-метіоніну) та полі(N-метакрилоїл-L-гліцину) на пероксидованих поверхнях. Тези доповідей VII української конференція молодих вчених з високомолекулярних сполук. Київ. 2012. С. 83.

43. Ohar M. , **Stetsyshyn Y.**, Kostruba A., Polovkovych S., Marintsova N., Novikov V. Formation i properties grafted nanolayers some poly(N-methacryloyl amino acids) onto peroxidated glass surface. Abstracts book of the VII Polish-Ukrainian Conference "Polymers of special application". Radom. 2012. P. 55.

44. Ohar M., **Stetsyshyn Y.**, Kostruba A. The formation i properties of novel grafted dextran-poly(N-methacryloyl amino acids) nanolayers on the aminated solid glass surface. Book of Abstracts The XVIIIth International Seminar on Physics i Chemistry of Solids. Lviv. 2012. P. 48.
45. **Стецишин Ю.**, Жолобко О., Огар М., Коструба А., Гаргай Х., Панченко Ю., Васильєв В., Дончак В. "Формування та властивості “розумних” прищеплених полімерних наночарів на поверхнях твердих тіл для контрольованої адсорбції білків". Всеукраїнська з міжнародною участю конференція молодих вчених “Хімія, фізика та технологія поверхні”. Київ. 2012. С. 68-69.
46. **Stetsyshyn Y.**, Fornal K., Zolobko O., Zemla J., Budkowski A., Kostruba A., Donchak V., Harhay K., Awsiuk K., Voronov S. «Smart» biomimetic surfaces – novel trend in biomaterials. Book of Abstracts Polychar 20 World Forum on Advanced Material. Dubrovnik. 2012. P. 226.
47. Donchak V., **Stetsyshyn Y.**, Harhay K., Ripak L., Voronov S. Formation on solid surface of bonded biospecific polymer nanolayers. Book of Abstracts Polychar 20 World Forum on Advanced Material. Dubrovnik. 2012. P. 297.
48. Жолобко О., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Дончак В., Гаргай Х., Ріпак Л., Воронов С. Формування та властивості прищепленого наночару олігопероксид-графт-полі(ω-етилтриетиленгліколь) метакрилату) на поверхні амінованого скла. Збірка тез доповідей VI науково-технічної конференції «Поступ у нафтогазопереробній та нафтохімічній промисловості». Львів. 2012. С. 222.
49. **Стецишин Ю.**, Жолобко О., Коструба А., Дончак В., Гаргай Х., Ріпак Л., Воронов С. Формування та властивості холестерилівмісного термочутливого наночару прищепленого до поверхні пероксидованого скла. Збірка тез доповідей VI науково-технічної конференції «Поступ у нафтогазопереробній та нафтохімічній промисловості». Львів. 2012. С. 253.
50. Огар М., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Хом'як С., Половкович С., Марінцова Н., Новіков В. Синтез та властивості прищеплених полімерних щіток на основі N-метакрилоїл-L-метіоніну. Збірка тез доповідей VI науково-технічної конференції

«Поступ у нафтогазопереробній та нафтохімічній промисловості». Львів. 2012. С. 241.

51. Лютик Г., Жолобко О., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Дончак В., Гаргай Х., Ріпак Л., Воронов С. Синтез та властивості щіток полі(холестерилметакрилату) прищеплених до поверхні пероксидованого скла. Збірка тез доповідей 13-тої всеукраїнської конференції з міжнародною участю студентів та аспірантів. Київ. 2012. С. 197.

52. Огар М., **Стецишин Ю.**, Хом'як С., Половкович С., Марінцова Н., Новіков В. Синтез та застосування реакційноздатних N-метакрилоїл амінокислотних мономерів. Збірка тез доповідей 13-тої всеукраїнської конференції з міжнародною участю студентів та аспірантів. Київ. 2012. С. 204.

53. **Stetsyshyn Y.**, Kostruba A., Zolobko O., Zemła J., Fornal K., Begej I., Donchak V., Harhay K., Budkowski A., Voronov S. Interaction of Proteins with Grafted Temperature i pH Dual-Responsive Brushes. Book of Abstracts Second International Conference “Nanobiophysics 2011: Fundamental i Applied Aspects”. Kiev. 2011. P. 121.

54. Огар М., Жолобко О., Штапенко О., Федорова С., **Стецишин Ю.** Конструювання прищеплених наночарів на поверхні скла з високим проліферативним індексом клітин меланоми миші лінії B16F10. Тези II міжнародної конференції молодих вчених (ССТ-2011). Львів. 2011. С. 39.

55. Дончак В., Гаргай Х., Ріпак Л., **Стецишин Ю.**, Воронов С. Олигопероксида на основе пиромеллитовой кислоты. Тезы докладов IV международной конференции-школы по химии и физикохимии олигомеров “Олигомеры-2011”. Казань. 2011. С. 199.

56. **Стецишин Ю.**, Жолобко О., Бегей И., Дончак В., Гаргай Х., Воронов С. Гетерофункциональные пероксидсодержащие олигоэфиры на основании пиромеллитовой кислоты – эффективные прекурсоры формирования привитых полимерных нанослоев. Тезы докладов IV международной конференции-школы по химии и физикохимии олигомеров “Олигомеры-2011”. Казань. 2011. С. 153.

57. **Stetsyshyn Y.**, Zolobko O., Zemła J., Fornal K., Kostruba A., Donchak V., Harhay H., Skorobohaty Y., Budkowski A., Voronov S. Creation, structure i properties of new thermo- i pH-responsible grafted nanolayers. Тези доповідей XIII міжнародної конференції "Фізика і технологія тонких плівок та наносистем". Івано-Франківськ. 2011. Т. 2. С. 211.
58. Жолобко О., **Стецишин Ю.**, Коструба А., Дончак В., Гаргай Х., Воронов С. Формування прищеплених наночарів пероксидовмісного полі(етиленоксидного) модифікатора та дослідження їх властивостей. Тези доповідей конференції "Львівські хімічні читання". Львів. 2011. НС. 11.
59. Жолобко О., Бегей І., **Стецишин Ю.** Формування «розумних» наночарів для контрольованої адсорбції білків. Тези доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю «YouthNanoBioTech-2011. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» у українському науково-медичному журналі. Київ. 2011. №4. С. 51-52.
60. Жолобко О., Коструба А., **Стецишин Ю.** Дослідження адсорбції бичачого сироваточного альбуміну на поверхню скла модифікованого прищепленим наночаром олігоелектроліт-графт-полі(N-ізопропілакриламід). Тези доповідей конференції "Молодь та поступ біології". Львів. 2011. С. 20-21.
61. Жолобко О., Бегей І., **Стецишин Ю.**, Дончак В., Гаргай Х., Воронов С., Коструба А., Будковскі А., Земла Ю., Форнал К. Структура та властивості олігоестерного термочутливого наночару прищепленого до поверхні скла. Всеукраїнська конференція молодих вчених «Фізика і хімія твердого тіла. Стан, досягнення і перспективи». Луцьк. 2010. С. 200-201.
62. Zolobko O., Zemła J., Fornal K., Kostruba A., Donchak V., Harhay K., **Stetsyshyn Y.**, Budkowski A., Voronov S. The structure i properties of oligoester thermoresponsible nanolayers grafted to the glass surface. Ukrainian-German Symposium on Physics i Chemistry of Nanostructures i on Nanobiotechnology. Beregove. 2010. P. 97.
63. **Stetsyshyn Y.**, Kostruba A., Zolobko O., Kurysko T., Donchak V., Harhay H., Ripak L., Voronov S. The formation i properties of dextran-albumine nanostructure on the



glass surface. Ukrainian-German Symposium on Physics i Chemistry of Nanostructures i on Nanobiotechnology. Beregove. 2010. P. 31.

64. Zolobko O., Kostruba A., **Stetsyshyn Y.**, Zaichenko A., Mitina N., Mayevska S. Kinetics of the adsorptive nanolayers forming from fluorinated oligoperoxides. Ellipsometric study. International Symposium devoted to the 80th anniversary of Academician O.O.Chuiko «Modern problems of surface chemistry i physics». Kyiv. 2010. P. 110.

65. **Stetsyshyn Y.**, Zaichenko A., Mitina N., Kostruba A., Jaczewska J., Voloshinovskii A., Budkowski A. Tailored design of luminescent functional polymer nanolayers on glass surface based on controlled adsorption i reactions of oligoperoxide complexes of rare earth elements. Polymer-Nano-Particles Interactions: Concepts, Observations i Applications. Wilhelm und Else Heraeus Seminar. Bonn. 2010.

66. **Стецишин Ю.**, Жолобко О. Дослідження поверхні скла модифікованого адсорбційними наночастинами олігопероксидів методом атомно-силової мікроскопії. Матеріали всеукраїнської наукової конференції Тернопільського державного університету ім. І. Пулюя. Тернопіль. 2009. С. 261.

67. Donchak V., **Stetsyshyn Y.**, Harhay K., Voronov S., Zholobko O. Poly(ethylene terephthalate) surface modification by peroxide oligomers i dextran. V науково-технічна конференція «Поступ у нафтогазопереробній промисловості». Львів. 2009. С. 77-78.

68. Коstrуба А., **Стецишин Ю.**, Заіченко О., Мітіна Н., Скоробогатий Я. Дослідження кінетики формування адсорбційних наночастинок новими олігопероксидними європійвмісними комплексами методом еліпсометрії. Всеукраїнська конференція хімія, фізика та технологія модифікування поверхні. Київ. 2009. С. 119-120.

69. Kostruba A., Bratychak M., Zaichenko A., **Stetsishin Y.**, Mitina N., Voloshinovskiy A. Functional polymer nanobrushes on flat surface via controlled sorption of functional oligoperoxides i following graft polymerization. “German-Ukrainian Symposium on Nanoscience i Nanotechnology”. Essen. 2008. P. 110.

## ЗМІСТ

	Стор.
<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ</b>	49
<b>ВСТУП</b>	51
<b>РОЗДІЛ 1. ПРОБЛЕМАТИКА “РОЗУМНИХ” ПРИЩЕПЛЕНИХ ПОЛІМЕРНИХ ЩІТОК: МЕТОДИ СИНТЕЗУ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ (ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД)</b>	61
1.1. Сучасні уявлення про прищеплені полімерні щітки.	62
1.1.1. Формування прищеплених полімерних щіток з використанням мультифункціональних ініціаторів радикальної полімеризації	69
1.1.1.1. Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з перенесенням атому з використанням мультифункціональних ATRP ініціаторів	71
1.1.1.2. Ініційована з поверхні полімеризація з передачею ланцюга за механізмом приєднання-фрагментації з використанням мультифункціональних RAFT ініціаторів	73
1.1.1.3. Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних алкоксиамінних ініціаторів	76
1.1.1.4. Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних фотоініфертерів	78
1.1.1.5. Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних фотоініціаторів	79
1.1.1.6. Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних пероксидовмісних та азоініціаторів	81
1.2. Прищеплені полімерні щітки спеціального призначення	84
1.2.1. Прищеплені полімерні щітки з температуро-індукованими переходами на основі нижньою критичної температури розшарування	89
1.2.2. Прищеплені полімерні щітки з температуро-індукованими переходами на основі температури склування	93

1.2.3. Прищеплені полімерні щітки рідкокристалічних полімерів з множинними температуро-індукованими переходами.	94
1.2.4. Формування рН-чутливих прищеплених полімерних щіток та фізико-хімічні основи їх дії.	95
1.3. Застосування прищеплених полімерних щіток з спеціальними властивостями	97
1.4. Теоретичні передумови досліджень і наукова гіпотеза.	101
<b>РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА</b>	103
2.1. Характеристика, синтез та очистка вихідних речовин	103
2.2. Синтез мультифункціональних пероксидовмісних ініціаторів на основі тетрахлорангідриду піромелітової кислоти	105
2.2.1. Синтез пероксидовмісного мультифункціонального ініціатора на основі тетрахлорангідриду піромелітової кислоти, поліетиленгліколю та <i>трет</i> -бутилгідропероксиду – (МПП-1).	105
2.2.2. Синтез дихлорангідрид дитрет-бутилпероксипіромелітату – (МПП-2).	
2.2.3. Синтез дихлорангідрид трет-бутилпероксихолестерилпіромелітату (МПП-3).	105
2.3. Синтез мономерів	106
2.4. Формування прищеплених наношарів	107
2.4.1. Формування прищепленого наношару 3-амінопропілтриетоксиану на поверхні скла	108
2.4.2. Методика формування наношарів мультифункціональних пероксидовмісних ініціаторів на поверхні амінованого скла	108
2.4.3. Методика формування прищеплених наношарів полімерних щіток методом „прищеплення від” пероксидованої поверхні	108
2.4.4. Методика формування наношару 2-бромоізобутирилброміду (ATRP ініціатора) на поверхні амінованого скла	108
2.4.5. Методика формування формування прищеплених наношарів	

полімерних щіток методом „прищеплення від” наношару ATRP	108
2.4.6. Методика формування наношару мультифункціонального пероксидовмісного ініціатору на поверхні боронітридних нанотрубок.	109
2.4.7. Методика синтезу прищеплених щіток від поверхні пероксидованих БННТ	109
2.4.8. Імобілізація срібних наночастинок Ag-НЧ у прищеплених полімерних щітках	
2.5. Методики аналізів.	109
2.5.1. Визначення вільної поверхневої енергії модифікованих поверхонь	109
2.5.2. Визначення ступеня модифікації полімерної поверхні	110
2.5.3. Дослідження поверхні методом часопротітної вторинної іонної мас-спектроскопії (TOF-SIMS).	110
2.5.4. Атомно-силова мікроскопія	112
2.5.5. Еліпсометричні дослідження	112
2.5.6. Спектральні дослідження	112
2.5.7. Термогравіметричний аналіз (ТГА)	112
2.5.8. Метод динамічного розсіювання світла (ДРС)	113
2.5.9. Скануюча електронна мікроскопія (СЕМ)	114
2.6. Дослідження адсорбції білків	114
2.6.1. Дослідження адсорбції білків методом флуоресцентної мікроскопії.	114
2.6.2. Дослідження адсорбції білків методами TOF-SIMS та головного компонентного аналізу.	115
2.7. Дослідження росту клітинних ліній ссавців	115
2.8. Антибактеріальні тести	116
<b>РОЗДІЛ 3. ЗАКОНОМІРНОСТІ АКТИВАЦІЇ НЕОРГАНІЧНИХ ПЛОСКИХ ПОВЕРХОНЬ ЗА ДОПОМОГОЮ МУЛЬТИФУНКЦІОНАЛЬНИХ ІНІЦІАТОРІВ РАДИКАЛЬНОЇ ПОЛІМЕРИЗАЦІЇ</b>	<b>117</b>

3.1	Основні закономірності функціоналізації поверхні скла 3-амінопропілтриетоксисиланом	123
3.2.	Формування та властивості прищеплених наночарів мультифункціональних ініціаторів	126
<b>РОЗДІЛ 4. ФОРМУВАННЯ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ТЕМПЕРАТУРО-ЧУТЛИВИХ ПРИЩЕПЛЕНИХ ПОЛІМЕРНИХ ЩІТОК З НИЖНЬОЮ КРИТИЧНОЮ ТЕМПЕРАТУРОЮ РОЗШАРУВАННЯ</b>		149
4.1.	Формування, властивості та застосування наночарів температуро- та рН-чутливих прищеплених полімерних щіток ПНІПАМ	150
4.1.1.	Одночасний вплив температури та рН на поведінку наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ.	155
4.1.2.	Вплив температури та рН на контрольовану адсорбцію білків на поверхню наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ	159
4.2.	Формування, властивості та застосування наночарів температуро- та рН-чутливих прищеплених полімерних щіток полі(етилловий етер триетиленглікольмонометакрилату)	161
4.2.1.	Одночасний вплив температури та рН на наночари прищеплених щіток ПООГМА246.	168
4.2.2.	Вплив температури та рН на контрольовану адсорбцію білків на поверхню наночарів прищеплених щіток ПООГМА246	172
4.3.	Формування, властивості та застосування наночарів температуро- та рН-чутливих прищеплених полімерних щіток полі(4-вінілпіридину)	173
4.3.1.	Одночасний вплив температури та рН на змочування та морфологію наночарів прищеплених щіток П4ВП.	179
4.3.2.	Вплив температури на адсорбцію білків на поверхню наночарів прищеплених щіток П4ВП	183
4.4.	Формування, властивості та застосування наночарів температуро- та	

рН-чутливих прищеплених прищеплених кополімерних щіток полі(4-вініл піридин-ко-етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату)	184
4.4.1. Вплив температури на нанощари прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)	184
4.4.2. Одночасний вплив рН на температури на нанощари прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)	191
4.4.3. Адсорбція білків на нанощари прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)	195
4.5. Формування, властивості та застосування нанощарів температуро-чутливих прищеплених щіток ППМ	198
4.5.1. Температуро-чутливі властивості нанощарів прищеплених щіток ППМ	200
4.5.2. Постполімеризаційна модифікація прищеплених щіток ППМ	204
4.5.3. Вплив температури на адсорбцію білків на поверхню нанощарів прищеплених щіток ППМ	206 211
<b>РОЗДІЛ 5. СИНТЕЗ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА У НАНОШАРАХ ТЕМПЕРАТУРО-ЧУТЛИВИХ ПРИЩЕПЛЕНИХ ПОЛІМЕРНИХ ЩІТОК З НКТР</b>	214
5.1. Синтез та властивості нанощарів прищеплених щіток з вбудованими Ag-НЧ.	216
5.2. Морфологія нанощарів та розмір Ag-НЧ вбудованих в нанощари прищеплених полімерних щіток.	220
5.3. Вплив температури на оптичні ефекти Ag-НЧ вбудованих у 464бета крилат чутливі прищеплені полімерні щітки	225
5.4. Температуро-контрольована антибактеріальна активність нанощарів прищеплених полімерних щіток з вбудованими Ag-НЧ	227
<b>РОЗДІЛ 6. ФОРМУВАННЯ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ТЕМПЕРАТУРО-ЧУТЛИВИХ ПРИЩЕПЛЕНИХ ПОЛІМЕРНИХ</b>	

<b>ЩІТОК 3 ТЕМПЕРАТУРОЮ СКЛУВАННЯ У ОБЛАСТІ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ТЕМПЕРАТУР</b>	233
6.1. Формування та властивості температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток полібутилметакрилату	233
6.2. Температуро-чутливі властивості наношарів прищеплених щіток ПБМА	237
6.3. Адсорбція та орієнтація білків на поверхні наношарів температуро-чутливих прищеплених щіток ПБМА	244
6.3.1. Температуро-індукована орієнтація білків на поверхні прищеплених щіток ПБМА	248
6.4. Вплив товщини наношарів прищеплених щіток ПБМА на поведінку клітин	253
<b>РОЗДІЛ 7. ФОРМУВАННЯ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ТЕМПЕРАТУРО-ЧУТЛИВИХ ПРИЩЕПЛЕНИХ РІДКОКРИСТАЛІЧНИХ ПОЛІМЕРНИХ ЩІТОК</b>	257
7.1. Формування та властивості температуро-чутливих наношарів прищеплених щіток полі(холестерилметакрилату)	258
7.2. Температурочутливі властивості наношарів прищеплених щіток ПХМА	261
7.3. Орієнтація нематичних рідких кристалів на поверхні наношарів прищеплених щіток ПХМА	267
7.4. Поведінка клітин на поверхні наношарів прищеплених щіток ПХМА	271
<b>РОЗДІЛ 8. ОСНОВНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ФОРМУВАННЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ ПРИЩЕПЛЕНИХ ЧУТЛИВИХ ЩІТОК НА ПОВЕРХНЯХ НАНОТРУБОК</b>	274
8.1. Температуро-чутливі прищеплені щітки на поверхні боронітридних нанотрубок	275

8.2. рН-чутливі флуоресцентні прищеплені полімерні щітки з здатністю до переключання флуоресцентних властивостей на поверхні боронітридних нанотрубок	286
8.2.1. Формування рН-чутливих флуоресцентних прищеплених полімерних щіток на поверхні боронітридних нанотрубок	287
8.2.2. рН-індуковане переключення флуоресцентної інтенсивності прищеплених щіток П(АК-ко-ФА)	293
8.2.3. Клітинна візуалізація з використанням БННТ, функціоналізованих прищепленими щітками П(АК-ко-ФА)	297
<b>ВИСНОВКИ</b>	301
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	304



## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ

$\theta_{\text{H}_2\text{O}}$	Кут змочування поверхні водою
$\theta_{\text{CH}_2\text{I}_2}$	Кут змочування поверхні метиленйодидом
$d_4^{20}$	Густина
$n$	Ступінь поліконденсації
$n_D^{20}$	Показник заломлення
Py	Піридин
АСМ	Атомно-силова мікроскопія
БСА	Бичачий сиворотковий альбумін
БННТ	Боронітридні нанотрубки
СЕМ	Скануюча електронна мікроскопія
ДСК	Диференційна скануюча калометрія
ToF-SIMS	Часопролітна вторинна йонна спектроскопія
АТРР ініціатор	Мультифункціональних ініціаторів для радикальної полімеризації з перенесенням атому
XPS	Ренгенівська фотоелектронна спектроскопія
IgG	Імуноглобулін G
MI	Мультифункціональний ініціатор радикальної полімеризації
МПП	Мультифункціональний пероксидний ініціатор
НКТР	Нижня критична температура розшарування
КТР	Критична температура розшарування
ПНІПАМ	Полі( <i>N</i> -ізопропілакриламід)
ПОЕГМА188	Полі(метиловий етер диетиленглікольмонометакрилат)
ПОЕГМА246	Полі(етиловий етер триетиленглікольмонометакрилат)
ППМ	Полі(пентаеритрилмонометакрилат)
ПХМ	Полі(холестерилметакрилат)
ПБМА	Полібутилметакрилат

ПБА	Полібутилакрилат
П4ВП	Полі(4-вінілпіридин)
П(4ВП-ко- ОЕГМА246)	Полі(4-вінілпіридин-ко-етилового етеру три етиленгліколь- монометакрилату)
П(АК-ко-ФА)	Полі(акрилова кислота-ко-флуоресцеїнакрилат)
Ag-НЧ	Срібні наночастинки
ТГА	Термогравіметрія
МГК	Метод головних компонент

## ВСТУП

**Актуальність теми.** На сучасному етапі розвитку хімії полімерів неухильно зростає частка досліджень, пов'язаних з проблемами медицини і біології. Особлива увага приділяється модифікації за допомогою полімерів поверхонь неорганічних матеріалів (нанотрубки, наповнювачі, скло тощо) з метою вирощування клітин, контрольованої адсорбції білків, одержання матриць для формування наночастинок, антибактеріальних покриттів та систем прецизійної контрольованої орієнтації білків і рідких кристалів. У ряді наукових робіт показано, що вирішення цих завдань досягається за допомогою цілеспрямованої іммобілізації відповідних полімерних макромолекул на мінеральних поверхнях. Слід зазначити, що відомі на сьогоднішній день об'єкти та методи іммобілізації мають низку недоліків. Перш за все, це обмежена інформація про методи одержання та механізм дії «розумних наношарів» на мінеральних поверхнях. А також застосування складного апаратурного обладнання, безпека його застосувань та нерівномірність іммобілізації макромолекул; низька біосумісність відомих наношарів, їхня нестабільність і руйнування в процесі експлуатації; практично не відомий механізм ступеневої модифікації поверхонь з метою контролю властивостей наношарів, наприклад, під дією рН та температури.

Ми передбачаємо, що подальший прогрес у конструюванні «розумних» наношарів полягає у формуванні прищеплених полімерних щіток на неорганічних поверхнях, які попередньо активовані мультифункціональними пероксидами, або з використанням мультифункціональних ініціаторів з перенесенням атому (ATRP ініціаторів). При цьому відбувається формування наношарів чутливих прищеплених полімерних щіток, властивості яких визначаються частково функціональними групами мультифункціональних ініціаторів, а частково природою прищеплених макромолекул. Чутливі прищеплені наношари здатні у контрольований спосіб за допомогою температури та рН взаємодіяти з біологічними об'єктами та рідкими кристалами. Формування ковалентно прищеплених ультратонких полімерних покриттів, що складаються з макромолекул, одним кінцем закріплених на твердій

поверхні, дозволяє надати полімерним макромолекулам «розумні» властивості, регульовану токсичність, стабільність і довготривалий ефект експлуатації. Важливим фактором є вплив функціональних груп мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації на властивості прищепленого поверхневого наночастиці, що дозволяє суттєво розширити сфери застосування отриманих поверхонь. Крім того, стоїть питання використання нових типів полімерів, одночасно чутливих до дії рН та температури, оскільки відомий полі(*N*-ізопропілакриламід) має низку недоліків: високу токсичність, відсутність реакційних центрів для наступної модифікації або тільки температурочутливість. Отже, розроблення способу формування нових типів прищеплених полімерних щіток, вплив функціональних груп ініціаторів на реакційну здатність наночастиць при створенні «розумних» поверхонь для: і. вирощування клітин, іі. контрольованої адсорбції білків; одержання: ііі. матриць для контрольованого формування наночастинок, іііі. «розумних» антибактеріальних покриттів, а також: ііііі. систем прецизійної контрольованої орієнтації білків та рідких кристалів, іііііі. контрольованої доставки лікарських препаратів є **важливим та актуальним завданням.**

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота відповідає науковому напрямку кафедри органічної хімії Національного університету «Львівська політехніка», а саме «Розробка реакційноздатних і ініціюючих систем для функціоналізації міжфазних поверхонь та формування на них спеціальних полімерних наночастиць» та є складовою частиною проектів, які виконувалися в межах держбюджетних науково-дослідних робіт та грантових робіт: ДБ/МПК «Нові біологічно активні мінерал-полімерні композиції для кісткової пластики та пункційної вертебропластики» (2016-2017 р.р., № держреєстрації 0116U004137); Грант Президента України для молодих вчених «Формування та модифікація декстранових наночастиць прищеплених до полімерної поверхні для біомедичного застосування» (2009-2010 р.р., GP/F27/0070); Грант Президента України для молодих вчених «Формування прищеплених температурочутливих наночастиць декстрану для контрольованого вивільнення білків та традиційних ліків»

(2007 р., GP/F13/0010). Автор дисертаційної роботи був співавтором запитів і одним із виконавців цих тем.

**Мета та завдання досліджень.** Метою роботи є розроблення наукових і практичних основ синтезу прищеплених полімерних щіток, чутливих до дії зовнішніх чинників на мінеральних поверхнях за допомогою мультифункціональних ініціаторів та застосування їх для вирощування клітин, контрольованої адсорбції білків, одержання матриць для формування наночастинок срібла з певною формою, «розумних» антибактеріальних покриттів, систем прецизійної контрольованої орієнтації білків та рідких кристалів, систем контрольованої доставки ліків.

Передбачалось встановити вплив природи мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації на температуро- та рН-чутливі властивості наночарів прищеплених щіток у залежності від їхньої структури (товщина та щільність прищеплення макромолекул тощо), розробити способи формування наночастинок срібла різних форм та розмірів у полімерній матриці наночару чутливих щіток, оцінити оптичні та біологічні ефекти наночастинок срібла, вбудованих у наночари щіток, а також можливість застосування наночарів прищеплених щіток з регульованою температурою переходу з одного фазового стану в інший для контрольованої за допомогою температури орієнтації макромолекул білків на поверхні наночару та вирощування клітин.

Для реалізації поставленої мети було необхідно вирішити наступні завдання:

- розробити наукові та практичні основи синтезу наночарів температуро- та/чи рН-чутливих прищеплених полімерних щіток на мінеральних поверхнях за допомогою мультифункціональних ініціаторів прищепленої радикальної полімеризації;

- розробити методи активації мінеральних поверхонь за допомогою мультифункціональних пероксидних ініціаторів чи з використанням мультифункціональних ініціаторів радикальної полімеризації з перенесенням атому (ATRP ініціаторів);

- розробити методи синтезу прищеплених полімерних наночастинок певної структури (висота наночастинок, щільність прищеплення та ін.) та певної хімічної природи з контрольованою гідрофобністю (або гідрофільністю) тощо, з регульованими температуро- та рН-чутливими властивостями;

- дослідити прищеплені полімерні щітки на основі *N*-ізопропілакриламід, метилового етеру діетиленглікольмонометакрилату, етилового етеру триетиленглікольмонометакрилату, 4-вінілпіридину, бутилметакрилату, бутилакрилату, пентаеритрилмонометакрилату та холестерилметакрилату із застосуванням методів АСМ, ToF-SIMS, XPS, еліпсометрії, визначення контактних кутів змочування тощо;

- дослідити вплив природи мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації на властивості прищеплених щіток;

- дослідити властивості температуро- та рН-чутливих прищеплених полімерних щіток з нижньою критичною температурою розшарування;

- дослідити властивості температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток з врахуванням температури склування;

- дослідити вплив температури на фізико-хімічні властивості рідкокристалічних полімерних щіток;

- розробити метод контрольованого формування наночастинок срібла певної форми та розміру в полімерній матриці наночастинок прищеплених чутливих щіток та одержати «розумні» антибактеріальні покриття;

- дослідити біосумісність чутливих наночастинок та їхню здатність контрольовано адсорбувати та орієнтувати білки та рідкі кристали на своїй поверхні;

- розробити методи синтезу та дослідити колоїдно-хімічні властивості боронітридних нанотрубок з прищепленими температуро- або рН-чутливими полімерними щітками з метою надання їм регульованої біосумісності, а також одержання сенсорних систем та наноносіїв.

**Об'єкт досліджень.** Основними об'єктами дослідження є наночастинок температуро- та рН-чутливих полімерних щіток, одержаних на основі акрилатних,

метакрилатних мономерів та вінілпіридину, прищеплених до функціоналізованих мінеральних поверхонь.

**Предмет досліджень.** Дослідження будови, властивостей наношарів температуро- та рН-чутливих прищеплених полімерних щіток на мінеральних поверхнях та методів їх синтезу за допомогою мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації. Дослідження їхнього застосування для: і. вирощування на них клітин, і.і. контрольованої адсорбції білків; одержання: і.і.і. матриць для формування наночастинок, і.в. «розумних» антибактеріальних покриттів, в. систем прецизійної контрольованої орієнтації білків та рідких кристалів, в.і. систем контрольованої доставки ліків.

**Методи дослідження.** Хімічні методи аналізу, елементний аналіз, рефрактометрія, UV-Vis спектроскопія (UV-Vis), флуоресцентна спектроскопія, інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR), скануюча електронна мікроскопія (SEM), термогравіметрія, диференційна скануюча калориметрія (ДСК), часопротітна йонна-вторинна мас-спектрометрія (ToF-SIMS), рентгенівська фотоелектронна спектроскопія (XPS), метод динамічного світлорозсіювання (ДРС), еліпсометрія, атомно-силова мікроскопія (АСМ), енергодисперсійна рентгенівська спектроскопія (EDX), визначення контактного кута змочування.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Робота є комплексним дослідженням, яке включає розроблення наукових і практичних основ синтезу наношарів нових температуро- та рН-чутливих прищеплених полімерних щіток на поверхнях скла та нанотрубок із застосуванням мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації та створення на їхній основі біосумісних та біоспецифічних систем для: вирощування клітин, контрольованої адсорбції білків; одержання: матриць для формування наночастинок, «розумних» антибактеріальних покриттів, систем прецизійної контрольованої орієнтації білків та рідких кристалів та контрольованої доставки ліків.

1. Вперше досліджено процес формування наношарів мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації, а саме: і. пероксиду, синтезованого з

тетрахлорангідриду піромелітової кислоти, поліетиленгліколю і *трет*-бутилгідропероксиду; ii. пероксиду, синтезованого з тетрахлорангідриду піромелітової кислоти та *трет*-бутилгідропероксиду; iii. пероксиду, синтезованого на основі тетрахлорангідриду піромелітової кислоти, *трет*-бутилгідропероксиду та холестеролу; iv. бромангідриду 2-бromo-2-метилпропанової кислоти на поверхнях амінованого скла та нанотрубок.

2. Вперше встановлено вплив природи мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації на властивості наночарів прищеплених щіток. Показано вплив температури та рН на фізико-хімічні властивості прищеплених наночарів у залежності від їхньої структури.

3. Вперше з використанням мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації одержано прищеплені чутливі полімерні щітки на основі N-ізопропілакриламід, метилового етеру діетиленглікольмонометакрилату, етилового етеру триетиленглікольмонометакрилату, 4-вінілпіридину, пентаеритрилмонометакрилату, бутилметакрилату, бутилакрилату та холестерилметакрилату.

4. Сформовано наночари статистичних щіток температуро- та рН-чутливих кополімерів полі(4-вінілпіридин-ко-етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату) та показано при певному співвідношенні мономерних фрагментів наявність для них двох нижніх критичних температур розшарування.

5. Розроблено системи, що дозволяють контролювати адсорбцію білків за допомогою температури та рН або тільки рН.

6. Розроблено спосіб формування наночастинок срібла визначеної форми та розміру в полімерній матриці наночарів прищеплених чутливих щіток.

7. Розроблено спосіб формування «розумних» антибактеріальних покриттів з наночастиками срібла та системи з контрольованою за допомогою температури антибактеріальною активністю.



8. Запропоновано застосування наношарів прищеплених щіток полібутилметакрилату для орієнтації макромолекул адсорбованих білків, контрольованої за допомогою температури.

9. Вперше показано контрольовану за допомогою температури орієнтацію нематичних рідких кристалів на поверхні наношарів прищеплених щіток полі(холестерилметакрилату).

10. Створено новий метод поверхневої модифікації боронітридних нанотрубок температуро-чутливими полі(*N*-ізопропілакриламідними) або рН-чутливими полі(акрилова кислота-*ко*-флуоресцеїнакрилатними) прищепленими щітками.

**Практичне значення отриманих результатів.** Розроблено спосіб формування прищеплених полімерних щіток, чутливих до дії зовнішніх чинників, на твердих мінеральних поверхнях (скло та нанотрубки) з використанням нових мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації. Одержані полімерні наношари мають перспективи застосування як: і. «розумні» поверхні для вирощування клітин, ii. контрольованої адсорбції білків; одержання: iii. матриць для формування наночастинок, iv. «розумних» антибактеріальних покриттів, v. систем прецизійної контрольованої орієнтації білків та рідких кристалів та vi. систем контрольованої доставки ліків. Нові матеріали можуть бути застосовані для виробництва медичного обладнання, приладів для роботи з кров'ю, тканинної інженерії, розумних носіїв медичних препаратів. Розумні полімерні поверхні можуть бути застосовані для виготовлення устаткування медичних та харчових закладів, наприклад, як «розумні» полімерні поверхні з бактерицидними властивостями, які вбивають мікроорганізми за певних температур, у той же час за інших - мають ефект самоочищення.

**Особистий внесок здобувача.** Особистий внесок здобувача є визначальним на всіх етапах досліджень і полягає в: і. науковому обґрунтуванні мети та завдання досліджень; ii. теоретично обґрунтованому поясненні одержаних експериментальних результатів; iii. формуванні та дослідженні властивостей наношарів мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації «від

поверхні), ковалентно закріплених на неорганічних плоских та дисперсних поверхнях; iv. формуванні та дослідженні властивостей наночарів прищеплених «розумних» полімерних щіток; v. дослідженні основних закономірностей формування наночарів мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації «від поверхні» та прищеплених «розумних» полімерних щіток; vi. розробленні методу одержання одночасно рН- та температуро-чутливих прищеплених наночарів; vii. формуванні температуро-чутливих наночарів з механізмом переходу, який ґрунтується на температурі плавлення; viii. формуванні температуро-чутливих наночарів з рідкокристалічних полімерів; ix. застосуванні «розумних» прищеплених наночарів для вирощування тканин, контрольованої адсорбції білків, як матриці для формування наночастинок срібла визначеної форми та розмірів, «розумних» антибактеріальних покриттів та систем прецизійної контрольованої орієнтації білків та рідких кристалів, як носіїв лікарських препаратів. Обговорення експериментального матеріалу та формування висновків автор проводив з проф. Вороновим С.А. та проф. Дончаком В.А. Частина експериментального матеріалу була отримана здобувачем разом з с.н.с. Гаргай Х., проф. Кострубою А., проф. Настишиним Ю., аспірантами та студентами Жолобко О., Бегей І., Настишиним С., Ліщинським О., Шимборською Я., Шевцовою Т., Костенко М., в Ягелонському університеті (Польща) у групі проф. Будковського А., у Єдитіпському університеті (Туреччина) у групі професора Цулхи М., в Інституті Макромолекулярної хімії (Чехія) у групі д-ра Лобаза В. та в університеті Палермо (Італія) в групі професора Лазарра Д. Активні консультації щодо роботи велися з доц. Фахрулліном Р. (Казанський федеральний університет, Татарстан).

**Апробація результатів дисертації.** Основні матеріали дисертаційної роботи представлялися та опубліковані в матеріалах конференцій та симпозіумів: “German-Ukrainian Symposium on Nanoscience і Nanotechnology” (Essen. 2008); Всеукраїнська конференція хімія, фізика та технологія модифікування поверхні (Київ. 2009); V науково-технічна конференція «Поступ у нафтогазопереробній промисловості» (Львів. 2009); Polymer-Nano-Particles Interactions: Concepts, Observations і

Applications. Wilhelm und Else Heraeus Seminar (Bonn. 2010); International Symposium devoted to the 80th anniversary of Academician O.O.Chuiko «Modern problems of surface chemistry i physics» (Kyiv. 2010); Ukrainian-German Symposium on Physics i Chemistry of Nanostructures i on Nanobiotechnology (Beregove. 2010); Всеукраїнська конференція молодих вчених «Фізика і хімія твердого тіла. Стан, досягнення і перспективи» (Луцьк. 2010); "Молодь та поступ біології" (Львів. 2011); «YouthNanoBioTech-2011. Молодіжний форум з нанобіотехнологій» у українському науково-медичному журналі (Київ. 2011); "Львівські хімічні читання" (Львів. 2011); XIII міжнародна конференція "Фізика і технологія тонких плівок та наносистем" (Івано-Франківськ. 2011); Міжнародна конференція молодих вчених (ССТ-2011) (Львів. 2011); Second International Conference "Nanobiophysics 2011: Fundamental i Applied Aspects" (Kiev. 2011); VI науково-технічна конференція «Поступ у нафтогазопереробній та нафтохімічній промисловості» (Львів. 2012); Polychar 20 World Forum on Advanced Material (Dubrovnik. 2012); Всеукраїнська з міжнародною участю конференція молодих вчених «Хімія, фізика та технологія поверхні» (Київ. 2012); The XVIIIth International Seminar on Physics i Chemistry of Solids (Lviv. 2012); VII Polish-Ukrainian Conference "Polymers of special application" (Radom. 2012); VII української конференція молодих вчених з високомолекулярних сполук (Київ. 2012); «Химия поверхности и нанотехнология» (Казань. 2012); Конференція Хімічні Каразинські читання (Харків. 2013); Національна науково-технічна інтернет-конференція з міжнародною участю «Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно-активних сполук та фармацевтичних препаратів» (Львів. 2013); 533th WE-Heraeus-Seminar "Advanced Functional Polymers for Medicine" (Bonn. 2013); Міжнародна науково-практична конференція «Хімія, Біо- і Нанотехнології, Екологія та Економіка в Харчовій та Косметичній Промисловості» (Щелкіно. 2013); International conference "Nanotechnology i nanomaterials" (Bukovel. 2013); 10-th International conference on Nanoscience i Nanotechnology (Thessaloniki. 2013); 10th Nanoscience i Nanotechnology Conference (Istanbul. 2014); International conference "Nanotechnology i nanomaterials (NANO-2014)" (Lviv. 2014); XIX Ogólnopolskiej

Konferencji Kryształy Molekularne (Sromowice Nizne. 2014); 8th ECNP International Conference on Nanostructured Polymers i Nanocomposites (Dresden. 2014); Actual problems of chemistry i technology of organic substances (APCTOS2) (Lviv. 2015); 15th Ukrainian-Polish Symposium “Theoretical i experimental studies of interfacial phenomena i their technological applications” (Lviv. 2016); International conference “Nanotechnology i nanomaterials (NANO-2016)” (Lviv. 2016); East West Chemical Conferennce (Skopje. 2017); 8th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry (Istanbul. 2018); XIV українська конференція з високомолекулярних сполук «ВМС-2018» (Київ. 2018); Conference of Young Scientists at East West Chemistry Conference (Lviv. 2018); East West Chemistry Conference (Lviv. 2018); European Polymer Congress, EPF-2019 (Heraklion. 2019); III International (XIII Ukrainian) scientific conference for students i young scientists "Current Chemical Problems" (CCP 2019) (Vinnytsia. 2019); International conference of students i young scientists in theoretical i experimental physics Heureka-2019 (Lviv. 2019); II International scientific-technical conference «The modern technologies of polymer materials obtaining i processing» (Lviv. 2019); East West Chemistry Conference (Palermo. 2019); Current Chemical Problems (Vinnytsia. 2020); X International scientific-technical conference «Advance in Petroleum i Gas Industry i Petrochemistry» (Lviv. 2020).

**Публікації.** Основний зміст дисертаційної роботи висвітлений у 115 публікаціях, зокрема, у 46 статтях, з яких 21 стаття - у фахових періодичних виданнях України (з них 2 опубліковано в наукових періодичних виданнях, що включені до наукометричних баз даних Scopus та Web of Science) та 25 у наукових періодичних виданнях інших держав, що включені до наукометричних баз даних Scopus та Web of Science. Апробацію роботи було проведено на 69 українських та міжнародних наукових конференціях.

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається із вступу, 8 розділів, висновків та списку використаної літератури. Основний зміст роботи викладений на 336 сторінках друкованого тексту, містить 13 таблиць та 148 рисунків. Бібліографічний список складається з 317 найменувань.

## РОЗДІЛ 1.

### ПРОБЛЕМАТИКА “РОЗУМНИХ” ПРИЩЕПЛЕНИХ ПОЛІМЕРНИХ ЩІТОК: МЕТОДИ СИНТЕЗУ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ (ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД)

Модифікація твердих неорганічних та органічних поверхонь (плоских чи дисперсних) для надання їм спеціальних поверхневих властивостей без погіршення фізико-механічних є одним з важливих напрямків розвитку сучасної полімерної хімії. Властивості поверхонь матеріалів є не менш важливими, ніж властивості матеріалів в об'ємі, так, як саме через поверхні відбувається їх взаємодія з довколишнім середовищем. Так, у роботі [1], було показано, що полімерний наночар на поверхні металу, товщиною тільки у 3 нм принципово змінював поведінку та морфологію клітин на поверхні. Модифікація поверхонь матеріалів значно збільшує різноманітність їх застосувань. Спостерігається чітка тенденція зміни напрямку їх використання, особливо скла, від звичайних конструкційних або споживацьких до матеріалів спеціального призначення, особливо у біонанотехнології. Модифікація поверхні часто здійснюється за допомогою цільового прищеплення полімерних наночарів, найчастіше прищеплених полімерних щіток, певної хімічної природи, визначеної висоти та будови. Завдяки модифікації поверхні отримує каталітичні та лікувальні властивості, антитромбогенність, гладкість, антибактеріальність, певний заряд тощо [2]. Найбільш перспективним напрямком модифікації поверхні матеріалів є створення прищеплених «розумних» наночарів, які здатні змінювати поверхневі властивості у відповідь на незначні зміни у оточуючому середовищі (температура, рН тощо). Без сумніву, цілеспрямована модифікація поверхонь матеріалів привертає все більш зростаючу увагу технологів та науковців та є актуальною проблемою. На сьогоднішній день вже здійснена модифікація поверхонь більшості відомих матеріалів. Відповідно, наступними перспективними напрямками поверхневої модифікації є створення прищеплених до поверхні полімерних візерунків [3-4], або

певних комбінацій прищеплених полімерних наношарів, які здатні змінювати свої властивості в залежності від незначних змін у оточуючому середовищі [5]. Такий дизайн поверхні створює можливість для розроблення «розумних» платформ для вирощування клітин, контрольованої адсорбції білків, одержання антибактеріальних поверхонь з контрольованою антибактеріальною активністю та «розумних» нононосіїв лікарських препаратів.

### **1.1. Сучасні уявлення про прищепленні полімерні щітки.**

Прищеплені полімерні щітки – це ультратонкі полімерні покриття які містять макромолекули, що одним кінцем закріплені на міжфазі, найчастіше на поверхні твердого субстрату [6-8]. У свою чергу, «розумні» прищеплені полімерні щітки володіють унікальною здатністю зворотньо змінювати свої фізико-хімічні властивості у відповідь на відносно незначні зміни зовнішнього середовища (температура, рН тощо) [9-11]. Вперше прищеплені полімерні щітки були синтезовані у 1950-х роках на поверхні колоїдних частинок, що суттєво підвищило стабільність їх суспензій [12-14]. Ефективність дії прищеплених полімерних щіток суттєво залежала від густини їх прищеплення до поверхні, так при високій гутині прищеплення макроланцюги витягалися від поверхні або міжфазної границі [12].

У теоретичних роботах, присвячених формуванню полімерних щіток, досліджувалася, в основному, взаємозалежність таких характеристик полімерних щіток як: і. товщина шару, ii. радіус інерції ланцюгу, який входить в шар (радіус полімерного клубка), iii. профіль щільності полімерної щітки у напрямку, перпендикулярному до площини прищеплення [12]. Одним з перших, хто шляхом теоретичного аналізу помітив відмінності у властивостях полімерних щіток, закріплених одним кінцем на поверхні, був Александер [12, 15]. Пізніше Де Жен та Кантор [12, 16] розширили теоретичні уявлення про поведінку закріпленого полімерного ланцюга. У своїх роботах вони дійшли до висновку, що можливість зміни конформації ланцюга, насамперед, обмежується присутністю міжфазної поверхні [12, 16]. При цьому, основною метою було встановлення закономірності

між товщиною щітки  $h$ , поверхневою густиною  $\sigma$  прищеплених полімерних ланцюгів і довжиною ланцюга  $L$  ( $L=N \cdot a$ , де  $a$  – довжина сегменту Куна,  $N$  – число сегментів Куна на кожний ланцюг) [12]. Зроблено висновок, що у випадку, коли середня віддаль між прищепленими полімерними ланцюгами є великою, порівняно з об'ємним радіусом інерції  $R_g$ , то спостерігається режим прищеплення макромолекул з низькою густиною, або, так званий, «грибовидний» режим, і товщина полімерного шару дорівнює [12]:

$$h = a \cdot N^p \quad (1)$$

де  $p$  – показник об'ємної скейлінгової експоненти, який визначає залежність радіуса інерції (радіус полімерного клубка) від числа сегментів, а саме [12, 16]:

$$R_g = a \cdot N^p \quad (2)$$

де  $p = 1/3, 1/2, 3/5$  в поганому, тета- і доброму розчинниках, відповідно [12]. Очевидно, що закріплені на поверхні полімерні ланцюги є деформованими, причому, ця закономірність має місце у будь-якому за характером розчиннику [12].

Якщо, середня відстань між прищепленими полімерами є малою, порівняно з радіусом інерції, товщина шару дорівнює [12]:

$$h = N \alpha (\sigma a^2)^{\frac{1-p}{2p}} \quad h = a \cdot N \cdot (\sigma \cdot a^2)^{(1-p)/2p} \quad (3)$$

де  $\sigma$  – густина прищеплення

Порівняння формул 1 та 3 для визначення товщини полімерного шару показує, що в останньому випадку товщина шару пропорційна  $N$  на відміну від грибовидного режиму, коли  $h$  є пропорційною до  $N^p$ . Це вказує на те, що товщина шару в останньому випадку є набагато більшою і макромолекули є сильно витягнутими від поверхні розділу, що і обумовило назву такого шару – «полімерна щітка» [12].

У загальному, в залежності від прищепленої густини полімерних ланок, виділяють три різні конформації полімерних щіток (конформація млинця, гриба чи щітки), рис.1.1 [12, 17-19].

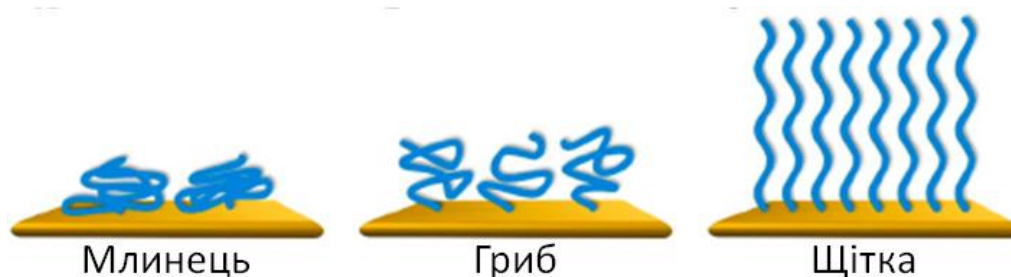


Рис.1.1 Типи конформацій прищеплених макромолекул [17-18]

При високій прищепленій густині полімерних щіток, коли дистанція між сусідніми точками прищеплення є малою, стеричні відштовхування ведуть до розтягнення полімерної макромолекули і зміни її конформації до форми так званої «щітки» [12]. При нижчих прищеплених густинах, закріплені на поверхні макромолекули приймають конформації гриба чи млинця, що суттєво залежить від того, наскільки великою є дистанція між прищепленими макромолекулами. Залежність типу конформації від прищепленої густини є індивідуальною для кожного полімеру [12]. Наприклад, прищеплені макромолекули поліакриламідую мають перехід від конформації «гриба» до конформації «щітки» при прищепленій густині більше  $0.065$  ланок на  $\text{nm}^2$  [20-21].

У залежності від носія, на якому було сформовано наношар прищеплених полімерних щіток, розглядають так звані «плоскі» щітки, «колоїдні» щітки та «молекулярні» щітки [22] (рис.1.2). «Колоїдні» та «молекулярні» прищеплені щітки утворюються полімерними ланцюгами, прищепленими до наночастинок діаметром від кількох одиниць до сотень нанометрів чи до більш довгих полімерних ланцюгів, а «плоскі» щітки формуються на плоских макроповерхнях.



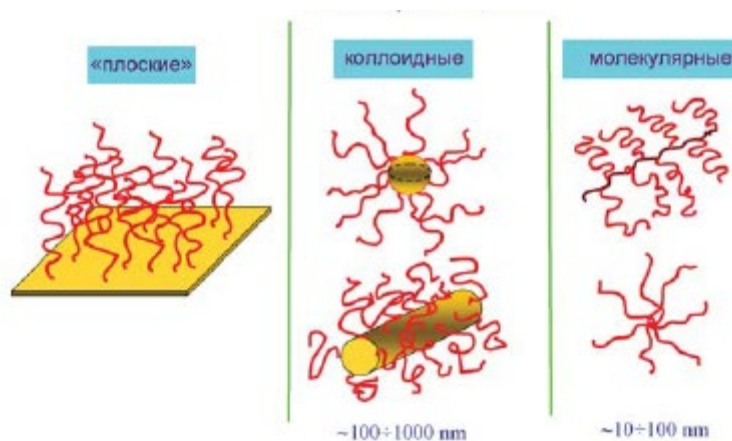


Рис.1.2 Типи прищеплених полімерних щіток в залежності від їх носія [22].

Спеціальної уваги заслуговує архітектура прищеплених полімерних щіток, яка представлена на рис. 1.3. [17]. Так, крім повсякчас поширених гомополімерних, блок-кополімерних чи статистичних кополімерних прищеплених полімерних щіток, виділяють перехресно зв'язані полімерні щітки, вільно стоячі щітки, полімерні «килими», йоржоподібні прищеплені щітки, високорозгалужені полімерні щітки, гіперрозгалужені полімерні щітки, полімерні щітки з градієнтом молекулярної маси, полімерні щітки з градієнтом прищепленої густини, двошарові бімодальні полімерні щітки, нанощар кополімерних щіток з горизонтальними хімічним градієнтом, нанощар кополімерних щіток з вертикальним хімічним градієнтом, бінарні змішані полімерні щітки, Y-подібні змішані кополімерні щітки, петлеподібні полімерні щітки [17].

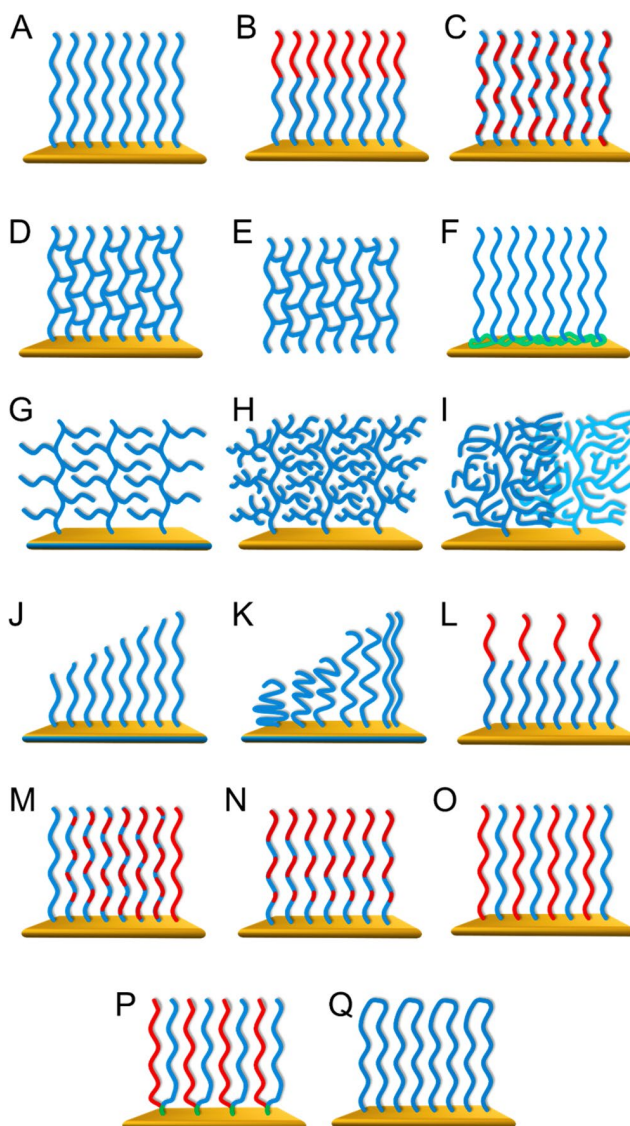


Рис.1.3. Різні типи архітектури прищеплених полімерних щіток [17]: (A) гомополімерні щітки; (B) блок-кополімерні щітки; (C) статистичні кополімерні щітки; (D) перехресно-зшиті щітки; (E) вільностоячі щітки; (F) полімерні «килим»; (G) йоржоподібні прищеплені щітки; (H) високорозгалужені полімерні щітки; (I) гіперрозгалужені полімерні щітки; (J) полімерні щітки з градієнтом молекулярної маси; (K) полімерні щітки з градієнтом прищепленої густини; (L) двошарові, бімодальні полімерні щітки; (M) наночар кополімерних щіток з горизонтальними хімічним градієнтом; (N) наночар кополімерних щіток з вертикальним хімічним градієнтом; (O) бінарні змішані полімерні щітки; (P) Y-подібні змішані кополімерні щітки; (Q) петлеподібні полімерні щітки.

Формування полімерних щіток можливе шляхом фізичної адсорбції полімерів або хемосорбції завдяки закріпленню макромолекули за рахунок активних центрів [12]. У випадку фізичної адсорбції, практично не вдається отримати стабільних полімерних щіток, внаслідок перебудови наношару навіть у стані термодинамічної рівноваги [12]. Сегменти адсорбованих макромолекул приєднуються та від'єднуються від поверхні, але, в середньому, товщина такого шару буде порядку  $R_g$  (рис.1.4) [12]. Структура поверхневого шару, найчастіше є такою, що має багато петель і хвостів, які є приєднані до поверхні. Крім того, під час адсорбції макромолекул на поверхні твердого тіла, встановлення рівноваги у міжфазних шарах буде вимагати певного часу, внаслідок повільного обміну між адсорбованими та неадсорбованими ланцюгами, при цьому адсорбовані полімерні макромолекули можуть змінювати свою конформацію і десорбуватися [12].

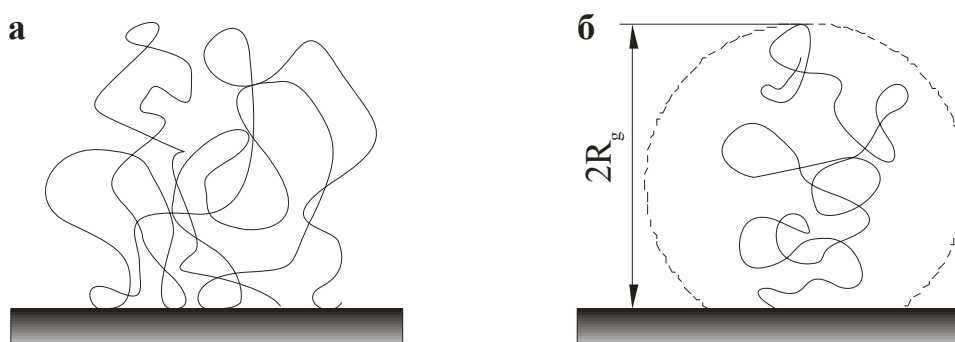


Рис.1.4. Фізично (а) та хімічно (б) адсорбовані макромолекули на тверду поверхню [12, 23-24].

Назагал, можливість формування ковалентно прищеплених полімерних щіток залежить від наявності реакційноздатного шару на поверхні субстрату. Ковалентне зв'язування з поверхнею, на відміну від фізично нашарованих полімерних молекул, має такі переваги: легке та контрольоване закріплення ланцюгів з регульованою густиною та визначеною локалізацією на поверхні; значно вища стабільність у різноманітних розчинниках [17-18].

Виділяють два методи ковалентного прищеплення полімерних щіток: це «прищеплення до» та «прищеплення від» (рис. 1.5) [9, 17-18, 25].

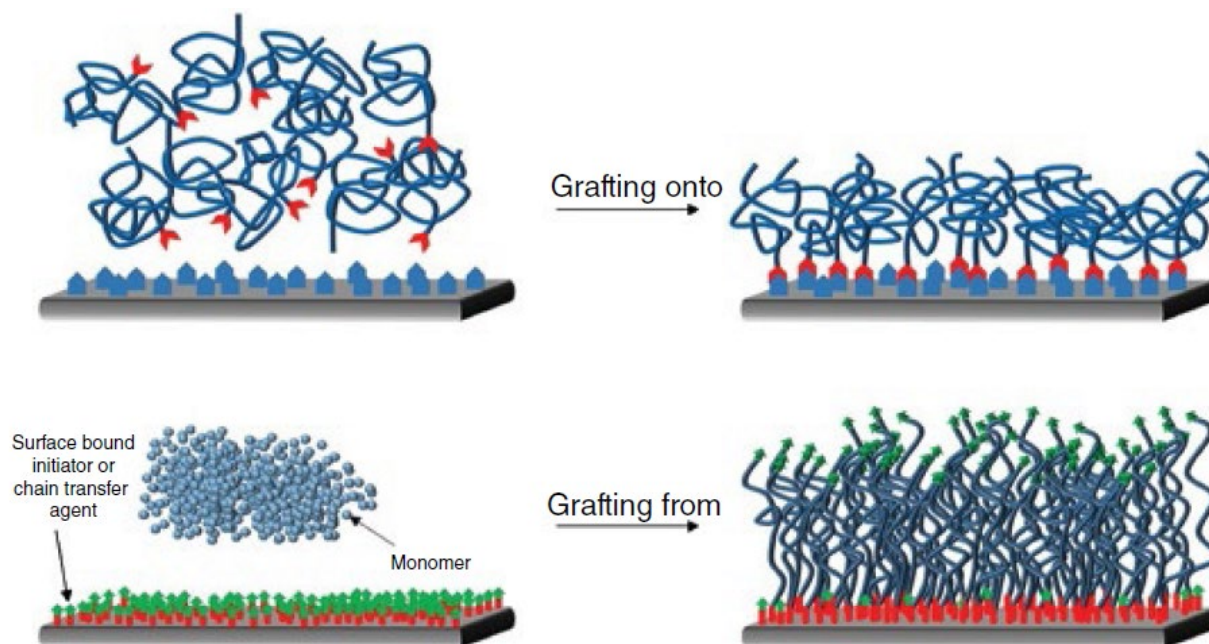


Рис. 1.5. Загальна схема формування наночару прищеплених полімерних щіток за допомогою методу «прищеплення до» та «прищеплення від» [26-27]

Формування прищеплених полімерних щіток з використанням стратегії «прищеплення до» описується у літературі, як реакція між макромолекулами, що містять на одному з кінців полімерного ланцюга реакційну групу, комплементарну до реакційноздатної групи на поверхні. Цей метод передбачає попередню підготовку поверхні, а також попередню високоселективну функціоналізацію макромолекул. Цей метод має ряд недоліків, таких як, наприклад висока неоднорідність модифікації, труднощі у формуванні достатньо товстих наночарів і полімерних щіток з високою густиною прищеплення. Останнє пов'язане зі стеричними утрудненнями взаємодії кінцевих реакційноздатних груп макромолекул з реакційними центрами на поверхні при зростанні ступеня модифікації поверхні [9, 12, 17-18, 25].

Інший підхід - це формування прищеплених полімерних щіток з використанням стратегії «прищеплення від», він включає у себе стратегію ініціації полімеризації та росту полімерних макромолекул від ініціюючих центрів, розташованих на поверхні твердого тіла [12]. Зважаючи на високу актуальність та

всезростаюче поширення застосування цього методу для формування прищеплених полімерних щіток, наша увага у подальшому була сконцентрована переважно на цьому методі. Для застосування цього методу, на поверхні мають бути сформовані групи, здатні ініціювати полімеризацію, інколи процес формування груп-ініціаторів полімеризації та сам процес формування прищеплених щіток не розділені у часі. Методи формування центрів ініціації на поверхні включають обробку плазмою, ультрафіолетове опромінення,  $\gamma$ -опромінення та використання мультифункціональних ініціаторів полімеризації, здатних до фізичної або хімічної іммобілізації на твердих поверхнях [12]. Застосування останніх, на нашу думку, є найбільш перспективним для формування прищеплених полімерних щіток за методом «прищеплення від» поверхні [12, 17-18, 25].

### ***1.1.1. Формування прищеплених полімерних щіток з використанням мультифункціональних ініціаторів радикальної полімеризації***

Мультифункціональні ініціатори прищепленої полімеризації від поверхні – це сполуки, що містять принаймні дві функціональні групи, одна з яких відповідає за взаємодію з поверхнею твердого тіла, інша - за ініціювання «прищеплення від» поверхні. У переважній більшості літератури наведено інформацію про 6 найбільш важливих видів ініційованої з поверхні радикальної полімеризації з використанням мультифункціональних ініціаторів радикальної полімеризації [17-18, 28-32]:

i. ініційована з поверхні радикальна полімеризація з перенесенням атому з використанням мультифункціональних ATRP ініціаторів - surface-initiated atom transfer radical polymerization;

i.i. ініційована з поверхні полімеризація з передачею ланцюга за механізмом приєднання-фрагментації з використанням мультифункціональних RAFT ініціаторів - surface-initiated reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization;

i.i.i. ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних алкоксиамінних ініціаторів - surface-initiated nitroxide-mediated polymerization;

i.v. ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних фотоініфертерів - surface-initiated photoiniferter polymerization;

v. ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних фотоініціаторів - surface-initiated photopolymerization;

v.i. ініційована з поверхні вільнорадикальна полімеризація з використанням мультифункціональних пероксидних чи азоініціаторів - surface-initiated polymerization from peroxide or azoinitiators.

Перші чотири методи відносяться до так званих, контрольованих (живих) полімеризацій, і їх застосування дозволяє формувати прищеплені полімерні шітки з вузьким молекулярно-масовим розподілом, а також блок-кополімери. Суть механізму контрольованих радикальних полімеризацій полягає у заміні незворотної реакції бімолекулярного обриву ланцюга на зворотну реакцію взаємодії радикалів росту з фрагментами ініціатора або спеціальними добавками, що вводять у реакційну суміш у каталітичних кількостях. Для успішного контролю полімеризації швидкість цієї реакції повинна більш ніж на порядок перевищувати швидкість бімолекулярного обриву макрорадикалів. Багаторазове повторення елементарних актів обриву і росту полімерного ланцюга (деактивація/активація полімеризації) забезпечує ступінчастий ріст ланцюгів у ході полімеризації, що веде до стабільної кількості активних центрів за будь-якої величини конверсії; середньочислове значення молекулярної маси ( $M_n$ ) лінійно зростає з конверсією; спостерігається низька полідисперсність ( $M_w/M_n$ ); виділені продукти полімеризації самі є макроініціаторами і здатні продовжувати полімеризацію при додаванні нової порції мономеру; послідовне введення кількох мономерів дозволяє синтезувати блок-кополімери. Проте ці види полімеризації є досить чутливі до наявності кисню у середовищі, ініціюючі групи у більшості ініціаторів контрольованої полімеризації є достатньо нестабільними, тому такі ініціатори не здатні зберігатися тривалий час. Крім того, такі ініціатори доволі дорогі, а процеси полімеризації з їх участю чутливі до присутності сторонніх домішок.

У той же час мультифункціональні ініціатори вільнорадикальної полімеризації, переважно, містять стабільні центри ініціації, які можуть зберігатися довгий час, методики їх синтезу є достатньо простими. У реакціях полімеризації вони, як правило, не потребують введення додаткових агентів. Суттєвим недоліком вільнорадикальної полімеризації є складність контролю полідисперсності макромолекулярних ланцюгів.

Є і інші методи прищепленої полімеризації від поверхні з застосуванням мультифункціональних ініціаторів (ініційована від поверхні «жива» полімеризація з розкриванням циклу, ініційована від поверхні метатезисна полімеризація з розкриванням циклу, ініційована з поверхні аніонна полімеризація), але оскільки вони не набули широкого практичного значення або тільки опосередковано відносяться до даної роботи, ми опускаємо їх розгляд. Поєднання різних методів, дозволяє модифікувати прищепленими полімерними шітками практично всі існуючі тверді поверхні.

#### *1.1.1.1. Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з перенесенням атому з використанням мультифункціональних ATRP ініціаторів*

Використання металоорганічних сполук як регуляторів росту полімерного ланцюга при радикальній полімеризації відкрило перспективи контролю процесу полімеризації як за рахунок індивідуальних особливостей атомів металів, так і будови лігандів металоорганічних сполук. У процесах такого типу як регулятори росту полімерного ланцюга використовуються галогеніди перехідних металів. Ця полімеризація називається радикальною полімеризацією з перенесенням атома або у англійській версії «Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP)». Процес ґрунтується на полімеризації мономеру в присутності спеціального ініціатора, утвореного з галогеніду перехідного металу, органічного галогенопохідного (мультифункціонального ініціатора) та основи Люїса.

Швидкість ATRP сильно залежить від таких параметрів, як концентрація каталізатора, тип ліганду, природа розчинника та ініціатора [33]. Ініційована з

поверхні ATRP проходить у той самий спосіб, як і аналогічна у розчині, за винятком того, що ініціюючі групи є іммобілізовані на твердій поверхні. Поверхні, які містять ініціюючі групи, поміщають у розчин мономеру, каталізатора та ліганду, щоб розпочати процес ініціації від поверхні. Полімеризація зупиняється при вичерпанні мономеру або при видаленні поверхні з реакційної суміші [34].

Одна з перших спроб синтезувати прищеплені полімерні щітки за допомогою мультифункціональних ATRP ініціаторів описана у роботі [35], де прищеплені макромолекули поліакриламіді були синтезовані полімеризацією з поверхні силіки попередньо функціоналізованої бензилхлоридом. Пізніше Фукуда [36] використав іммобілізований 2-(4-хлоросульфонілфеніл)етилсилан для синтезу прищеплених щіток поліметилметакрилату. Розвиваючи стратегію ATRP від поверхні Матіашевський [37] синтезував прищеплені щітки полістиролу на силіконових поверхнях з 2-бromoізобутиратними залишками. У роботі [34] здійснили прищеплення диблок-кополімерів ATR полімеризацією за допомогою 2-бromoізобутиратного похідного, хемосорбованого на поверхню золота (рис. 1.6).

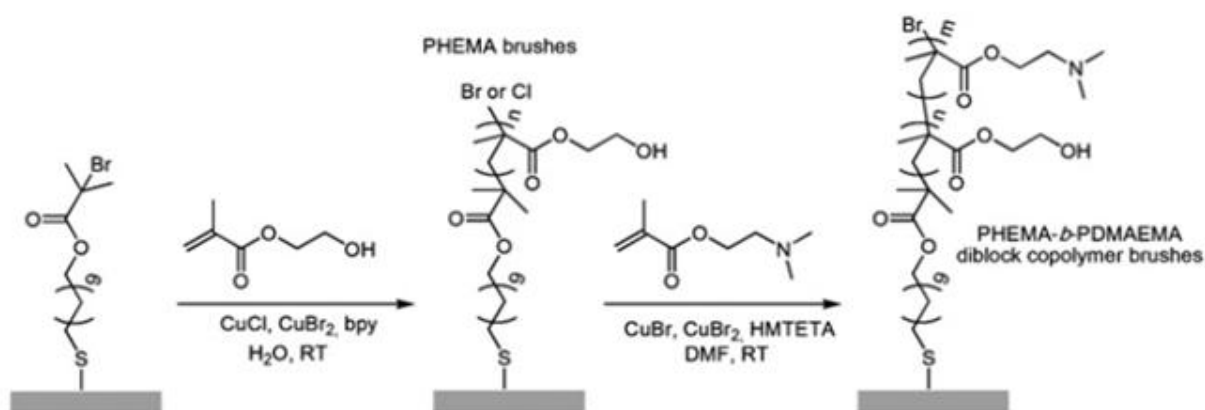


Рис.1.6. Схема синтезу полі(2-гідроксиетилметакрилат)-блок- полі(2-*N,N*-диметиламіноетилметакрилат) диблок-кополімерної щітки з використанням поверхнево ініційованої ATRP від 2-бromoізобутиратного похідного, хемосорбованого на поверхню золота [34].



На рис.1.7. наведено приклади найбільш поширених мультифункціональних ATRP ініціаторів.

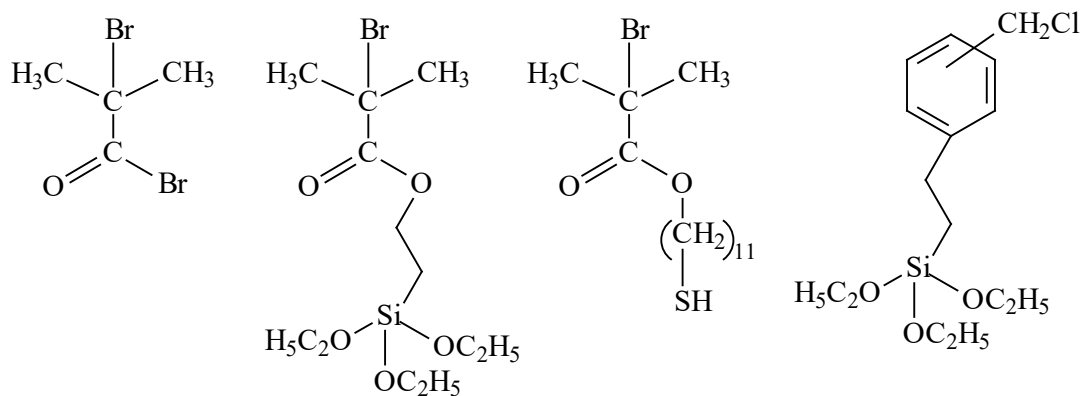


Рис.1.7. Приклади найбільш поширених мультифункціональних ATRP ініціаторів

ATRP дозволяє здійснювати прищеплену полімеризацію від поверхні широкого спектру мономерів з різними функціональними групами. Цей метод забезпечує точний контроль молекулярної архітектури полімеру при збереженні низької полідисперсності (1,05-1,2). Галоген, що залишається на кінці полімерного ланцюга після полімеризації, дозволяє проводити постполімеризаційну модифікацію полімерних ланцюгів чи синтезувати блок-кополімери при почерговому введенні мономерів у реакційну суміш [34]. Найбільш суттєвим недоліком ATRP є високі концентрації каталізатора, необхідні для проведення реакції. Стандартно, каталізатор складається з галогеніду купруму та ліганду на основі амінів. Видалення купруму з полімеру після полімеризації часто є складною процедурою. Крім того, ATRP дуже чутлива до найменших кількостей кисню у реакційній суміші. Ще одним з недоліків цієї полімеризації є складність проведення її у водних середовищах.

*1.1.1.2. Ініційована з поверхні полімеризація з передачею ланцюга за механізмом приєднання-фрагментації з використанням мультифункціональних RAFT ініціаторів*

Ініційована з поверхні полімеризація з передачею ланцюга за механізмом приєднання-фрагментації чи RAFT полімеризація є одним з видів контрольованої радикальної полімеризації. Для проведення ініційованої з поверхні RAFT полімеризації необхідний іммобілізований на поверхні RAFT агент. Встановлено, що ефективними агентами передачі ланцюга за принципом приєднання-фрагментації є різноманітні дитіоестери, дитіокарбамати, тритіокарбамати і ксантанати. Їх використання дозволяє ефективно керувати параметрами молекулярно-масового розподілу і навіть молекулярною архітектурою прищеплених полімерів.

У загальному мультифункціональні RAFT ініціатори можуть бути створені, використовуючи два синтетичні підходи, із застосуванням специфічних структур, які поділяють на «R-групи» та «Z-групи» (рис.1.8.). Більш часто використовуються структури «R-групи», у цьому випадку RAFT агент зв'язаний з поверхнею таким чином, що у процесі полімеризації зростаючий радикал міститься на периферії щітки, де немає стеричних утруднень, і тому він легко може реагувати з мономерами у розчині. Цей підхід був успішно застосований для створення прищеплених полімерних щіток, синтезованих від різноманітних субстратів, попередньо функціоналізованих дитіобензоатними чи тритіокарбонатними фрагментами [38-44]. За допомогою цього підходу досягається висока прищеплена густина макромолекул, проте зростає їх полідисперсність [45].

Структури за типом «Z-групи» (рис.1.8.) приєднують RAFT агент через стабілізуючу Z-групу і можуть бути використані для синтезу метакрилових, акрилових, стиренових та акриламідних полімерів [46-48]. Зростаючий вільний радикал дезактивується за рахунок взаємодії з Z-групою, яка ковалентно зв'язана з субстратом і міститься у глибині наношару, тому швидкість прищеплення, особливо при досягненні високих молекулярних мас, контролюється дифузійно [46-48].

Таким чином, цей підхід у дечому нагадує метод «прищеплення до» поверхні і не дозволяє сформувати наношари з високою прищепленою густиною полімерних щіток.

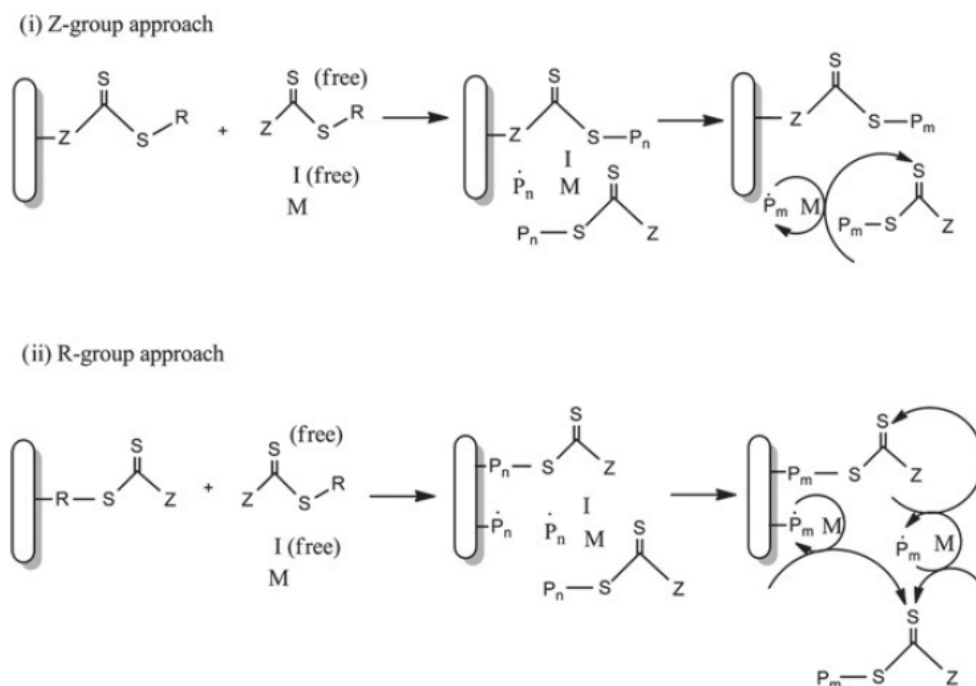


Рис. 1.8. Різні підходи для ініційованої з поверхні RAFT полімеризації (I, M, та P ініціатор, мономер та зростаючий радикал, відповідно).

На рис.1.9. наведено найбільш поширені мультифункціональні RAFT ініціатори.

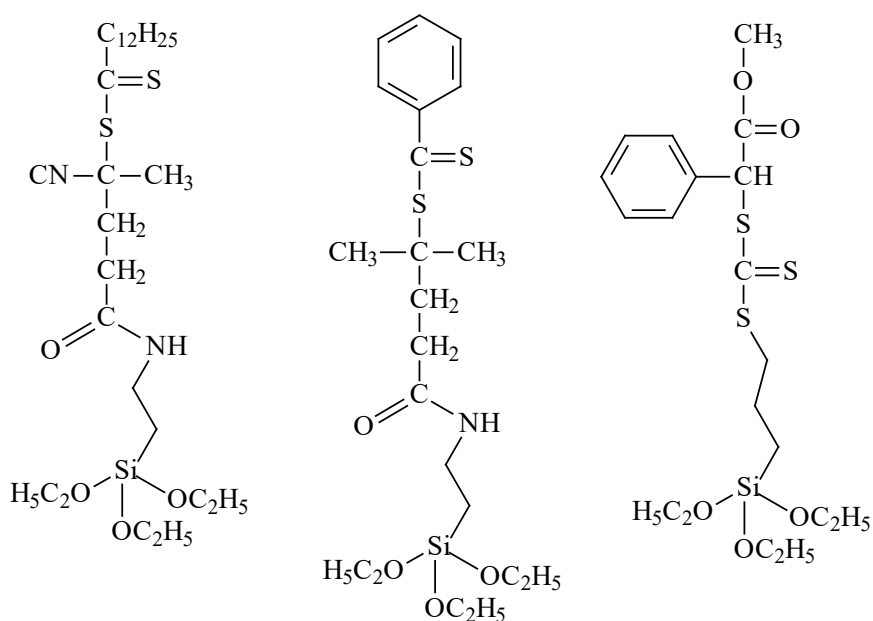


Рис.1.9. Приклади найбільш поширених мультифункціональних RAFT ініціаторів

Під час прищепленої полімеризації, ініційованої від поверхні за допомогою мультифункціональних RAFT ініціаторів, важливо додавати у реакційну суміш «вільні» RAFT агенти, які дозволяють ефективно контролювати перебіг реакції полімеризації. «Вільні» RAFT ініціатори перекривають ефект низької концентрації RAFT ініціаторів на поверхні і ефективно пригнічують реакції обриву ланцюгу у реакційній суміші [38]. Крім того, вільні RAFT ініціатори пригнічують реакції рекомбінації полімерних ланцюгів, що ростуть від поверхні.

Перевагою даної полімеризації є можливість її проведення у широкому діапазоні розчинників та температур, а також без іонів металів. RAFT полімеризація дозволяє отримати прищеплені полімерні щітки з низькою полідисперсністю. Протікання полімеризації за RAFT механізмом завжди зв'язане з побічними реакціями заміщення та бімолекулярного обриву. Суттєвим недоліком полімеризації є те, що конкретний RAFT агент підходить тільки для обмеженого набору мономерів, а його синтез є трудомістким процесом. Крім того, RAFT агенти є нестабільні при довготривалому зберіганні, а при розкладі видають неприємний запах.

### *1.1.1.3. Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних алкоксиамінних ініціаторів*

Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних алкоксиамінних ініціаторів – метод радикальної полімеризації, який дозволяє синтезувати прищеплені полімерні щітки з точно визначеною стереохімією та низьким індексом полідисперсності. Цей тип полімеризації належить до радикальної полімеризації зі зворотною дезактивацією, тобто зв'язок X–ON в алкоксиаміні термічно нестабільний і при певній температурі розщеплюється, утворюючи активний радикал на поверхні, здатний до ініціювання полімеризації, і стабільний нітроксильний радикал у розчині, який здатний до зворотної рекомбінації з радикалом на поверхні. Таким чином, зростаючі радикали перебувають у стані постійної дезактивації нітроксильним радикалом та активації

під дією термолізу. Активні та дезактивовані радикали перебувають у стані динамічної рівноваги, зсунутої у бік останніх. Щоб забезпечити ефективний контроль над полімеризацією (низький індекс полідисперсності), у реакційну суміш додають вільні алкоксиамінні ініціатори полімеризації, тому що концентрація ініціаторів на поверхні є дуже низькою, а концентрація мономеру високою [49-51].

Вперше мультифункціональні алкоксиамінні ініціатори для синтезу прищеплених полімерних щіток використали у роботі [52]. Прищеплений до поверхні алкоксиамінний ініціатор (рис.1.10.) використали для синтезу нанос шару прищеплених щіток полістирену товщиною 100 нм протягом 16 год за температури 120 °С. Отриманий нітроксильний радикал (2,2,6,6-тетраметилпіперидиннітроксил) зворотно зв'язувався зі зростаючими полімерними ланцюгами. За подібним принципом за допомогою алкоксиамінних ініціаторів було синтезовано і інші прищеплені полімерні ланцюги.

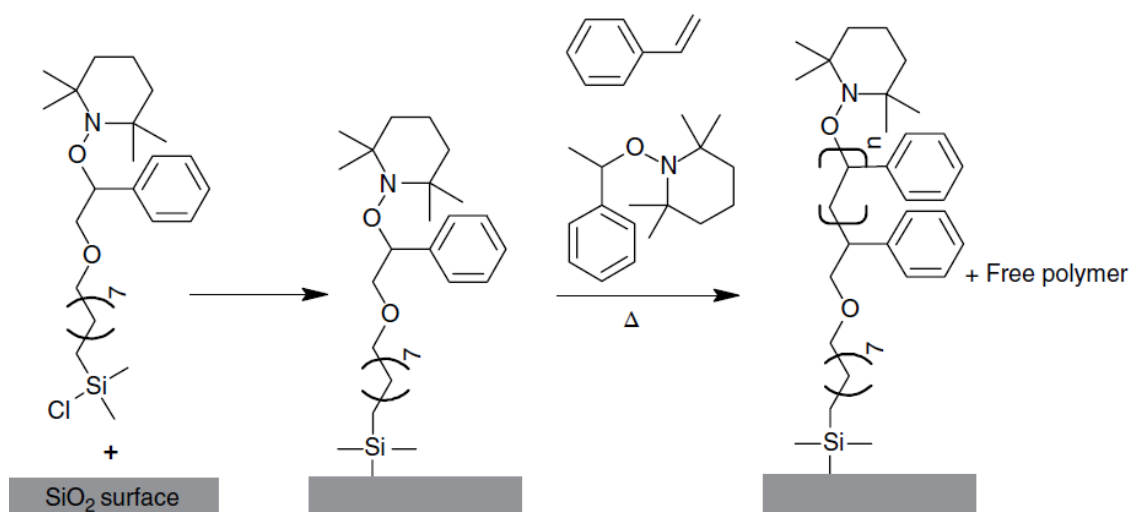


Рис.1.10. Схема ініційованої з поверхні радикальної полімеризації стирену з використанням мультифункціонального алкоксиамінного ініціатора [52]

На жаль, можливість використання мультифункціональних алкоксиамінів обмежена відсутністю універсальних і ефективних синтетичних методів їх отримання, зараз синтез і виділення алкоксиамінів є досить трудомістким і дорогим процесом. Незважаючи на зазначені раніше переваги, основною з яких є можливість

контролю за зростанням полімерного ланцюга за допомогою стабільних нітроксильних радикалів, є ряд істотних недоліків, таких як відносно високі температури проведення полімеризації та дуже низька швидкість прищепленої полімеризації.

#### *1.1.1.4. Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних фотоініфертерів*

Назва ініфертер (iniferter) походить від англійських термінів initiator – transfer agent-terminator). Одним з різновидів ініфертерів є фотоініфертери, які при опроміненні розпадаються з утворенням двох радикалів - активного ( $R^\bullet$ ), який ініціює полімеризацію мономеру на поверхні, та стабільного ( $X^\bullet$ ), який переважно приймає участь у зворотному обриві ланцюга. Як фотоініфертери часто використовують похідні дитіокарбаматів, які здатні ініціювати полімеризацію, діяти як передавач ланцюга та регулятор росту. Іншими словами, у той час коли утворений на поверхні карбоновий радикал є активним, дитіокарбаматний радикал практично не ініціює полімеризацію, однак здатний вступати у зворотну реакцію рекомбінації зі зростаючим ланцюгом, таким чином регулюючи процес полімеризації [53-54].

Група Матсуди інтенсивно досліджувала формування прищеплених полімерних щіток за допомогою фотоініфертерів, які попередньо іммобілізували на поверхню скла [55-57]. На рис.1.11. зображено схему синтезу прищеплених полімерних щіток ПНІПАМ за допомогою фотоініфертера. Для цього поверхню скла спочатку піддали хлорометилуванню, а потім приєднали дитіокарбаматне похідне, яке у свою чергу опромінили у присутності *N*-ізопропілакриламід. Важливо відмітити, що згідно даної методики, прищеплені щітки легко можуть бути функціоналізовані білками, наприклад альбуміном.

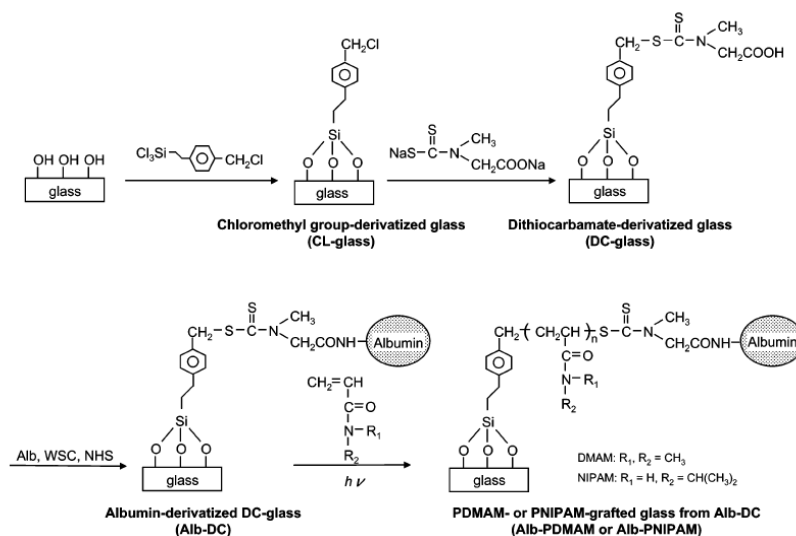


Рис. 1.11. Формування прищеплених полімерних щіток за допомогою мультифункціонального фотоініфертеру [60].

У роботі [58-60] (рис.1.11), для формування прищеплених полімерних щіток було використано, мультифункціональний фотоініфертер - триметокси-2-тіокарбамоїл-4-[*N,N*-діетиламіно]тіокарбамоїл]фенілсилан, який легко модифікує поверхні скла або кремнію та ініціює реакції синтезу прищеплених полімерних щіток. Слід зазначити, що даний ініціатор є трьохфункціональним та містить групу, яка ковалентно зв'язувала білкові молекули. Значною перевагою використання мультифункціональних фотоініфертерів для формування прищеплених полімерних щіток є їх висока стабільність, можливість отримувати прищеплені щітки з оптимальним молекулярно-масовим розподілом, вводити додаткові реакційні групи у дітіокарбамати, здатність легко синтезувати блок-кополімери. У той же час, синтез даних мультифункціональних ініціаторів досить трудомісткий, отримані продукти мають бути високого ступеня чистоти.

#### 1.1.1.5. Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних фотоініціаторів

Фотоініційована прищеплена полімеризація з використанням мультифункціональних фотоініціаторів була запропонована Ма [12, 61]. Похідні

бензофенону на першій стадії відщеплювали атом гідрогену від субстрату з утворенням радикалів фотоініціатору та поверхневих радикалів. Потім, при їх рекомбінації формувалися іммобілізовані на поверхні фотоініціюючі групи. Далі, активований субстрат вносили у розчин мономеру та під дією УФ-опромінення проводили прищеплену полімеризацію від поверхні. Завдяки цьому методу можна легко контролювати розмір та густину прищеплених макромолекул, так як формування ініціюючого нанос шару відбувається під час першої стадії, а прищеплена полімеризація на другій [12]. Крім цього, використання цього методу запобігає проходженню побічних процесів, таких як формування перехресно-зв'язаних полімерів та гомополімеру. Аналогічний підхід до модифікації поверхонь запропонований у роботі [12, 62]. Цей процес передбачає введення певних органічних фрагментів (R), до складу фотореакційноздатних молекул, звичайно похідних бензофенону (рис.1.12). Такі фрагменти в подальшому використовуються для іммобілізації біомолекул. На першому етапі, похідні бензофенону збуджуються та переходять у збуджений стан з наступним швидким переходом у триплетний стан. Ці реакційноздатні частинки здатні відривати атом гідрогену від поверхні субстрату та в результаті рекомбінації радикалів, утворюють ковалентний зв'язок з поверхнею. Після дії УФ-опромінення відбувається утворення радикалу на поверхні та формування прищеплених полімерних щіток.

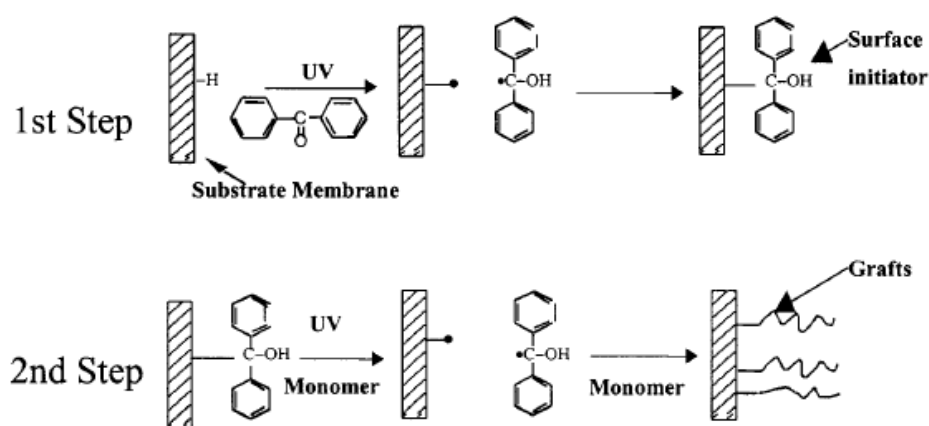


Рис.1.12. Формування прищеплених щіток з використанням мультифункціональних фотоініціаторів [12, 61].



Іншим методом модифікації поверхні [63] є хімічна іммобілізація еозину шляхом взаємодії його карбоксильної групи, активованої 2-етил-5-фенілізоксазоліном з аміногрупою на поверхнях твердих тіл. Іммобілізована таким чином група здатна вступати у реакції фотоініційованої прищепленої полімеризації при опроміненні УФ світлом. У роботі [64] прищеплені кополімерні щітки полі(*N*-ізопропілакриламід-*ко*-метакрилова кислоти), були сформовані на вкритій золотом пластинці за допомогою 4,4'-азобіс[(1,10-димеркаптодецил)-4-ціанопентаноату], який опромінювали світлом з довжиною хвилі 365 нм.

Найбільші переваги цього методу модифікації поверхні - відсутність підвищеної температури та довгого часу обробки, висока стійкість ініціаторів, можливість формування зшитих прищеплених щіток. Слід зазначити, що незважаючи на достатньо високі значення енергії УФ-опромінення, які діють на полімерну поверхню, квантовий вихід при фотолізі (відношення числа продисоційованих зв'язків до числа квантів, які поглинуті) для полімерних поверхонь є низьким. Це пов'язано з тим, що більша частина поглинутої енергії перетворюється в теплоту, крім того, через ефект клітки, одночасно протікають протилежні фотолізу реакції рекомбінації утворених радикалів (макрорадикалів). Значним недоліком даного методу є також слабкий контроль за дисперсністю прищеплених ланцюгів на поверхні, утворення небажаних перехресних зшивок.

#### *1.1.1.6. Ініційована з поверхні радикальна полімеризація з використанням мультифункціональних пероксидовмісних та азоініціаторів*

Використання цих методів передбачає застосування мультифункціональних ініціаторів вільнорадикальної полімеризації, що містять, переважно, азо- чи пероксидні групи. Мультифункціональні азоініціатори були застосовані одними з перших для формування прищеплених полімерних щіток. Так, у роботах [65-66] описують синтез прищеплених полістиренових щіток за температур від 50 до 90 °С, за допомогою мультифункціонального азоініціатора, здатного утворювати на поверхні силіки мономолекулярні наночастиці (рис.1.13).

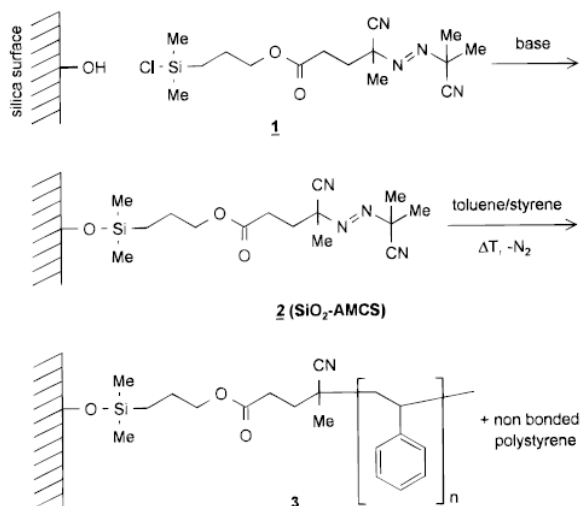


Рис. 1.13. Схема формування прищеплених щіток полістирену з використанням мультифункціонального азоініціатора [65-66]

У той же час, на кафедрі органічної хімії Національного університету "Львівська політехніка" накопичено великий досвід модифікації міжфазних поверхонь різної природи з застосуванням мультифункціональних пероксидовмісних ініціаторів та наступним формуванням прищеплених полімерних щіток [12]. Одним із перспективних мультифункціональних пероксидовмісних ініціаторів для модифікації поверхні поліпропілену є кополімер *5-трет*-бутилперокси-5-метил-1-гексен-3-іну з октилметакрилатом (рис. 1.13) [12, 67-68].

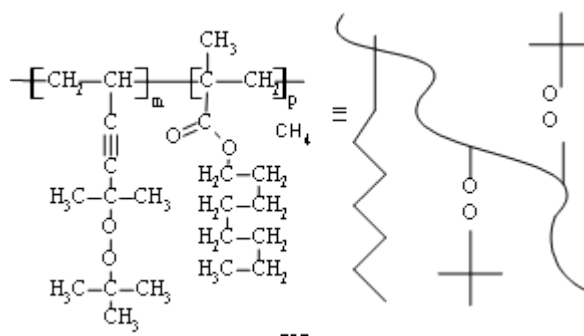


Рис. 1.14. Структура мультифункціонального пероксидовмісного ініціатора на основі *5-трет*-бутилперокси-5-метил-1-гексен-3-іну та октилметакрилату [12, 67-68]

Цей кополімер вміщає у своїй структурі фрагменти для первинної взаємодії з полімерною поверхнею за рахунок фізичних взаємодій, та фрагменти з пероксидними групами, які забезпечують протікання реакцій ініціювання, передачі ланцюгу та рекомбінації утворених макрорадикалів. У роботах [12, 67-68] описано формування широкого кола прищеплених полімерних щіток на поверхні поліпропілену з використанням цього ініціатора.

Мультифункціональний пероксидовмісний ініціатор на основі мономеру 5-*трет*-бутилперокси-5-метил-1-гексен-3-іну і малеїнового ангідриду (рис.1.15) був використаний для активації таких мінеральних поверхонь, як  $TiO_2$ ,  $Al_2O_3$ ,  $SiO_2$ ,  $ZnO$  [12].

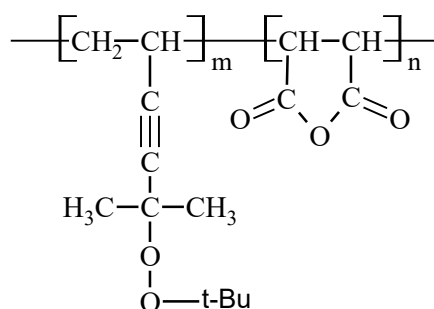


Рис. 1.15 . Структура мультифункціонального пероксидовмісного ініціатора на основі 5-*трет*-бутилперокси-5-метил-1-гексен-3-іну та малеїнового ангідриду [12]

Він має високу адсорбційну здатність [12]. Крім того, високу розчинність в органічних розчинниках та воді. Дослідження кінетики адсорбції цього кополімеру показало, що основна маса мультифункціонального пероксидовмісного ініціатора адсорбується на мінеральних поверхнях протягом 10 хвилин.

У роботі [69] показали принципову можливість активації поверхні карбонових нанотрубок мультифункціональним пероксидовмісним ініціатором (рис. 1.16). У результаті хімічної взаємодії його карбоксильних груп з аміногрупами на поверхні нанотрубок досягається його ковалентне зв'язування з поверхнею [69]. При нагріванні пероксидні групи розщеплюються з утворенням вільних радикалів, які забезпечують прищеплення макромолекул полімерної матриці до поверхні нанотрубок, ймовірно, через реакцію передачі ланцюга [69].

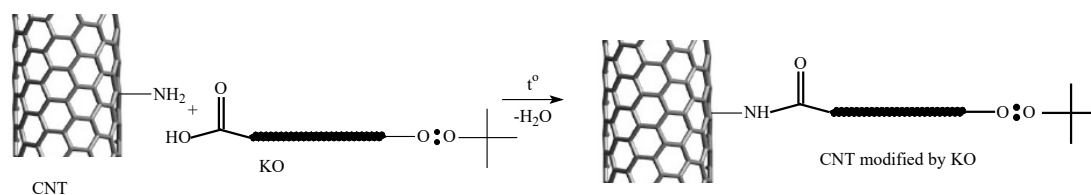


Рис. 1.16. Схема активації поверхні карбонових нанотрубок пероксидовмісним мультифункціональним ініціатором [69].

Хоча метод ініційованої з поверхні радикальної полімеризації з використанням мультифункціональних пероксидовмісних та азоініціаторів не відносять до контрольованої полімеризації, його використання має багато переваг. Найважливіші з яких, легкий синтез ініціатора, добра стабільність ініціюючих груп, висока толерантність до кисню у системі при полімеризації, відсутність металів та інших додатків при полімеризації, які важко видалити. Недоліком даної полімеризації є висока полідисперсність отриманих макромолекул. Цей метод, безсумніву, може бути успішно застосований для формування наношарів прищеплених полімерних щіток.

## 1.2. Прищеплені полімерні щітки спеціального призначення.

Прищеплені полімерні щітки спеціального призначення – це клас полімерних щіток, що володіють комплексом властивостей, які дозволяють активно реагувати на зміни оточуючого середовища. До таких властивостей належать, наприклад здатність до сомоочищення, самовідновлення, само впорядкованість, чутливість до температури, рН тощо.

У роботі [70] описується простий, високоселективний та ефективний спосіб формування густих прищеплених полімерних щіток поліетиленгліколю (ПЕГ) на кремнієвих підкладках за допомогою реакції циклолоприєднання між ацетиленовими та азидними групами (рис.1.17). Спочатку, полі(гліцидилметакрилат) був прищеплений до кремнієвої підкладки як шар для іммобілізації циклопропенонвмісного дибензоциклооктинаміну за допомогою

реакції між епоксидними та амінними групами. На наступному етапі  $\alpha$ -метокси- $\omega$ -азидо-ПЕГ з різною молекулярною масою (5, 10 та 20 кг/моль) були успішно прищеплені до поверхні модифікованої циклопропенонвмісним дибензоциклооктинаміном за допомогою реакції УФ-опромінення. Молекулярна маса ПЕГ, температура реакції та час реакції були використані для контролю щільності прищеплення. Найвища отримана щільність прищеплення була близькою до 1,2 ланцюгів/нм<sup>2</sup> і досягалася для ПЕГ 5 кг/моль. Сформовані полімерні щітки показали високу стабільність у водному буферному середовищі протягом принаймні двох місяців та низьку сорбційну активність білків на поверхню.

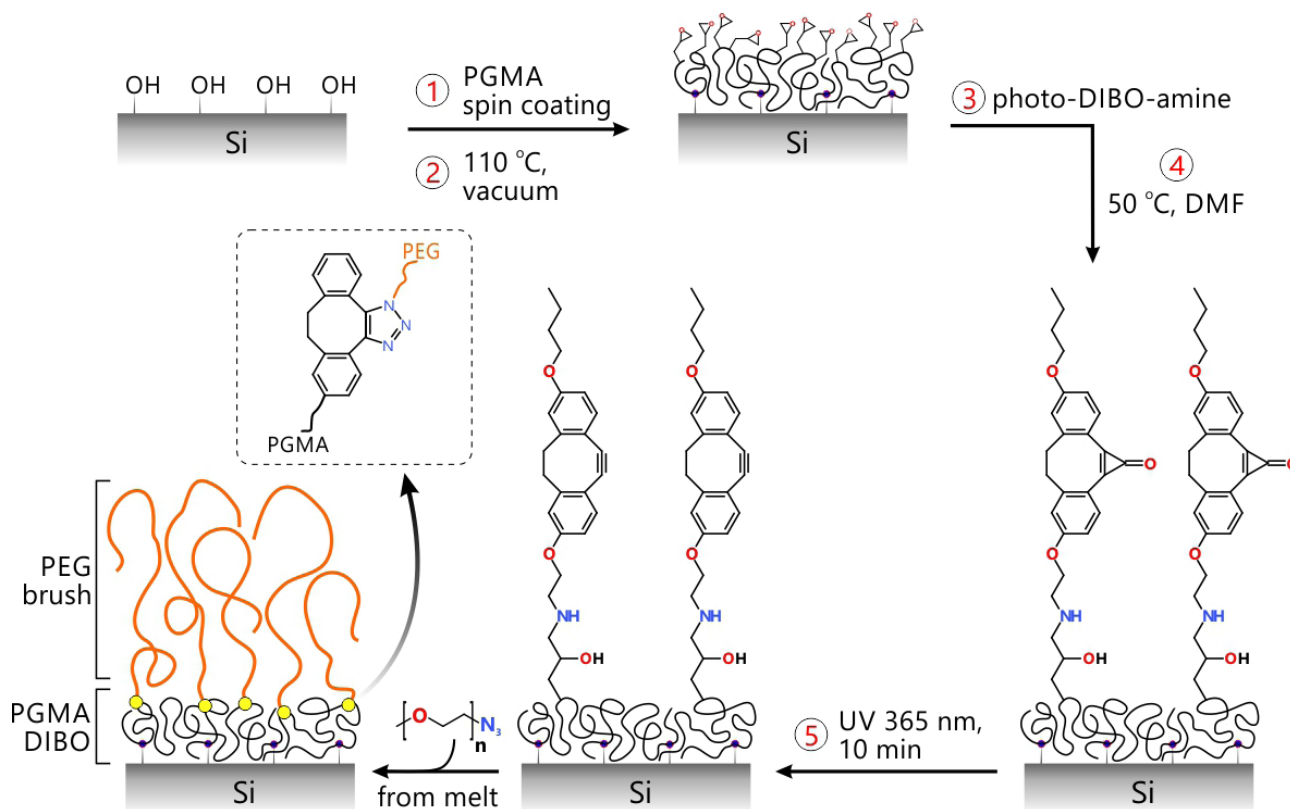


Рис.1.17. Схема приготування прищеплених щіток ПЕГ за допомогою реакції циклолоприєднання [70].

У роботі [71] розглягнуто метод синтезу нового рН-чутливого, самовідновлювального, не адсорбуючого матеріалу синтезованого за допомогою 3D-полімерного прищеплення (рис. 1.18). Самовідновлювальна поверхня генерується з полімерної сітки та полімерних макроланцюгів, прищеплених як до

поверхні на межі фаз, так і у середині сітки самого матеріалу. У традиційному підході, прищеплення полімерних щіток відбувається на межі фаз, що може вести до деградації полімерних ланцюгів і втрати не адсорбуючих властивостей матеріалом.

У цьому новому матеріалі, втрата прищеплених полімерних щіток на поверхні компенсується завдяки спонтанній (керованій виникаючим градієнтом хімічного потенціалу) заміні втрачених або пошкоджених полімерних ланцюгів на поверхні, сегментами полімерів з середини плівки. Полімерні плівки полі(2-вінілпіридину) чутливі до дії рН з 3D-прищепленням поліетиленоксиду у фізіологічних умовах (рН=7,4 та 37 ° C) демонструють 4-кратне зростання часу відсутності адсорбції білків на поверхню. У той же час 3D-прищеплені плівки зберігають властивості реагувати на зміну рН. Запропонований метод 3D-прищеплення може здійснюватися на різних поверхнях (полімери, нановолокна, нанопористі неорганічні матеріали тощо), а отже, може допомогти в розробці передових біоінтерфейсів для біомедичних та біотехнологічних застосувань.

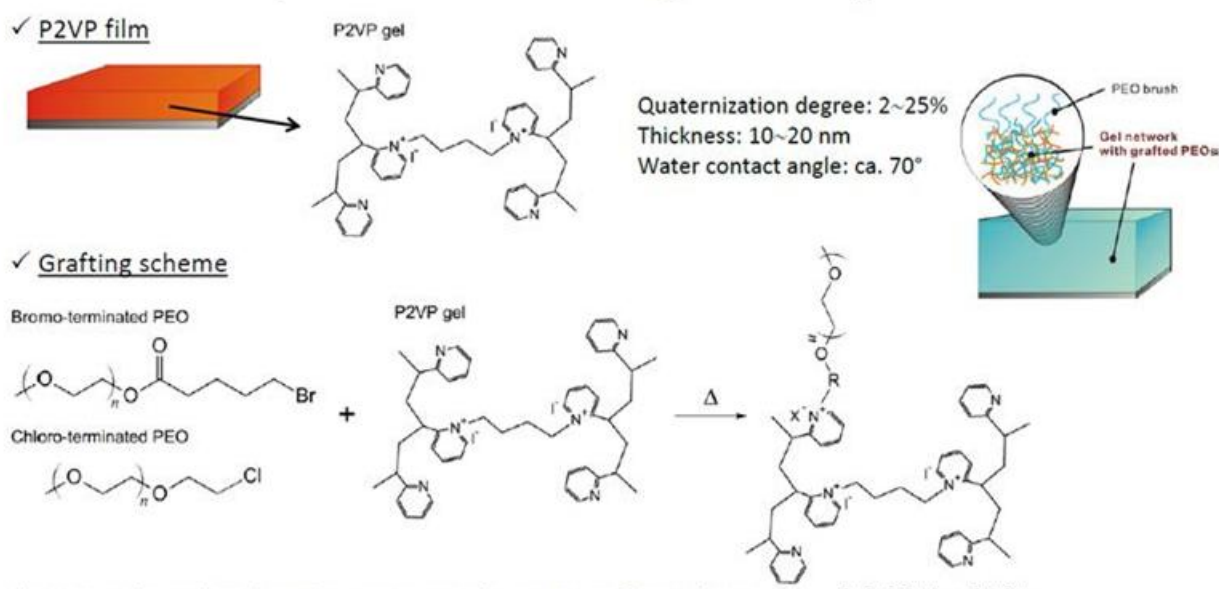


Рис.1.18. Схема формування 3D-полімерного прищеплення поліетиленоксиду на полі(2-вінілпіридин) [71]

У роботі [72] показано, що прищеплення «несумісних» за хімічною природою макромолекул до поверхні субстрату веде до макрофазової сепарації і утворення

самовпорядкованих ансамблів (рис.1.19). Морфологія змішаних полімерних щіток під впливом різних розчинників досліджувалася за допомогою атомної силової та рентгенівської фотоемісійної мікроскопії. У неселективному розчиннику різні види полімерних щіток сепаруються у паралельні циліндри ("структура пучків"). Під впливом селективного розчинника відбувається перехід до структури «ямочок», при якій несумісний компонент утворює кластери. Одночасно спостерігається посилена перпендикулярна сегрегація.

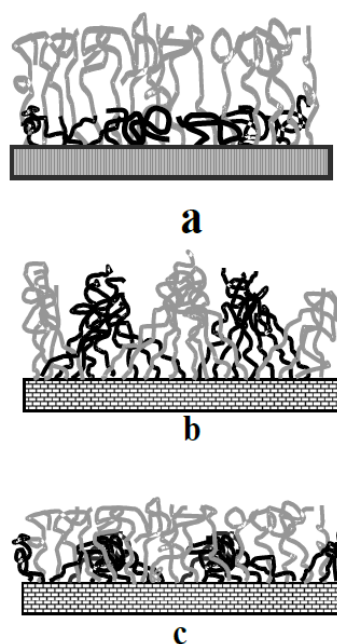


Рис.1.19. Вплив селективних розчинників на формування самовпорядкованих структур у нанощарах мішаних прищеплених полімерних щіток [72]

У той же час чутливі системи засновані на прищеплених полімерних щітках на даний час розвинуті не достатньо, особливо мало інформації, що стосується мультичутливих прищеплених полімерних щіток, а також впливу ініуючого нанощару на властивості прищеплених макромолекул. Так, температуро-чутливі переходи у прищеплених полімерних щітках реалізуються за допомогою різноманітних механізмів. У загальному, у прищеплених полімерних щітках температуро-індуковані зміни виражаються, як переорієнтування полімерних макромолекул (конформаційні зміни), які супроводжуються суттєвими змінами

змочування, морфології та товщини прищеплених ланцюгів. Загальну схему температуро-чутливих переходів у полімерних прищеплених щітках наведено на рис. 1.20.

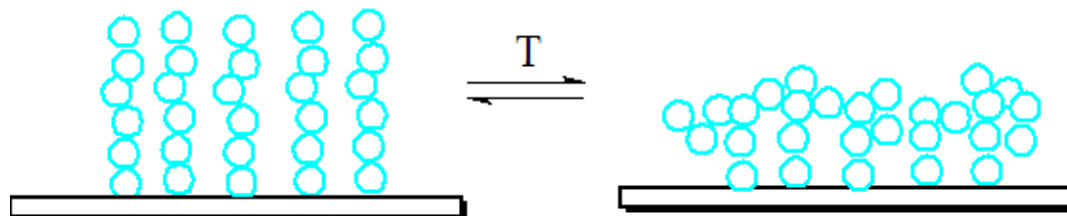


Рис.1.20. Загальна схема температуро-чутливих переходів у полімерних прищеплених щітках

Так, у випадку прищеплених щіток з нижньою критичною температурою розшарування, при підвищенні температури, відбувається зміна конформації прищепленого макроланцюга, який скручується у глобулу за рахунок термодинамічно вигідної взаємодії між собою полімерних фрагментів [73-74]. І навпаки, при температурі нижчій критичної температури розшарування, полімерний клубок розкручується за рахунок переважаючої взаємодії полімерних фрагментів з молекулами води.

У випадку, температуро-індукованих змін властивостей полімерних щіток за механізмом переходу з склоподібного у каучукоподібний стан, відбувається плавлення прищеплених полімерних щіток, що спричиняє активний рух їх сегментів та випростування макромолекул [75-76]. Більшість рідкокристалічних щіток характеризуються кількома температуро-індукованими переходами, зумовлених різними механізмами, основним з яких є перехід від нематичного до ізотропного стану [77-78].

### ***1.2.1. Прищеплені полімерні щітки з температуро-індукованими переходами на основі нижньою критичної температури розшарування***



Вперше явище нижньої критичної температури розшарування (НКТР) було описане Гескін та Жульєт для водних розчинів полі(*N*-ізопропілакриламід) – ПНІПАМ [79]. Розчинні у воді полімери містять гідрофобні фрагменти (наприклад, вуглеводневі ланцюги), а також гідрофільні групи (амідні, етерні тощо), які взаємодіють з молекулами води і спричиняють розчинність полімерів. Суть явища НКТР полягає у термодинамічно вигідному зворотному переході з однофазової системи (розчинений у воді полімер) у двофазову (нерозчинний полімер та вода) при зміні певної температурної величини, індивідуальної для кожного полімеру.

На рис. 1.21. наведено найбільш розповсюджені, на сьогоднішній день, мономери, які входять до складу температуро-чутливих полімерних щіток. До цього переліку належать *N*-ізопропілакриламід (НІПАМ), етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату (ОЕГМА246), метиловий етер діетиленглікольмонометакрилату (ОЕГМА188), 2-*N,N*-диметиламіноетилметакрилат (ДМАЕМА).

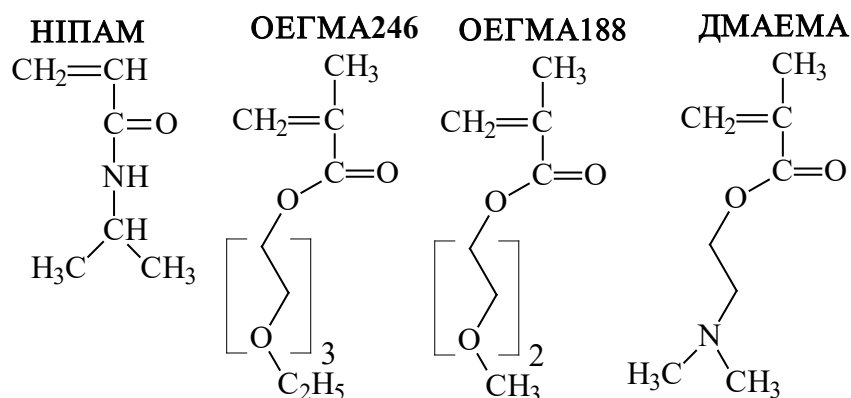


Рис. 1.21. Найбільш розповсюджені мономери для синтезу температуро-чутливих полімерних щіток.

При температурах, нижчих за критичну температуру розшарування, полімер перебуває у гідратованому стані, його полярні групи утворюють водневі зв'язки з молекулами води (рис. 1.22) і полімер приймає конформацію повністю розкрученої макромолекули. При температурі вищій за НКТР, водневі зв'язки між полімером та

молекулами води розриваються, в результаті чого починає домінувати більш термодинамічно вигідна взаємодія між фрагментами макромолекул [73-74, 80].

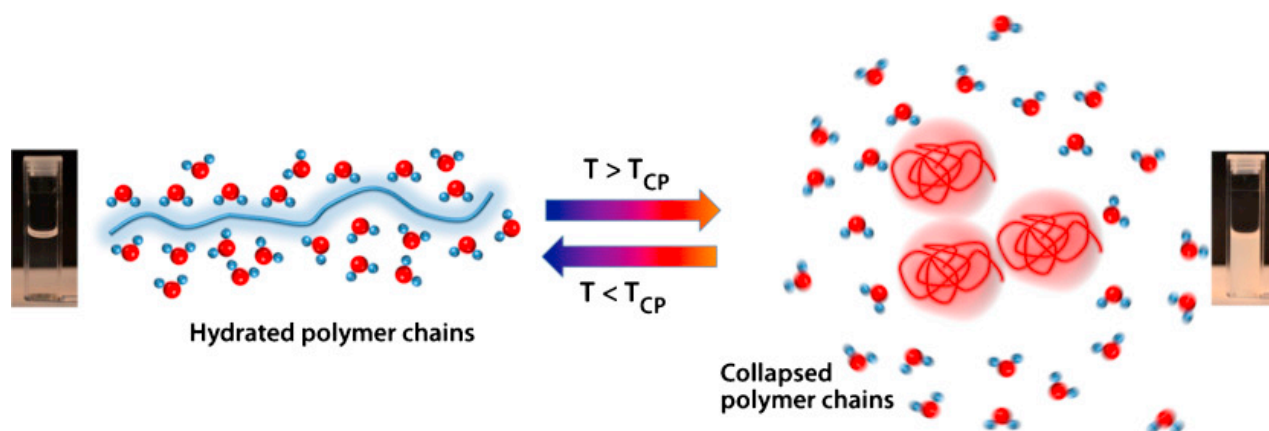


Рис.1.22. Схема термодинамічно вигідного зворотного переходу з однофазової системи (розчинений у воді полімер) у двофазову (полімер та вода) для полімерів з НКТР [80].

Прищеплені температуро-чутливі щітки були синтезовані різними методами: реакціями конденсації між кінцевою функціональною групою у макромолекулі полімеру та відповідною функціональною групою на поверхні; при УФ та  $\gamma$ -опроміненні; за допомогою мультифункціональних ATRP, RAFT та пероксидовмісних ініціаторів [81-93]. Як основу для формування щіток використовували гладкі та структуровані плоскі макроповерхні скла та кремнію, мікро- та наночастинки силіки, різноманітні нанотрубки та наночастинки [81-93].

Значний інтерес викликають прищеплені полімерні щітки кополімерів НІПАМ з іншими комономерами, які мають ряд переваг перед гомополімерними щітками: і. кополімерні щітки підвищують біосумісність прищеплених шарів [89]; і.і. кополімеризація – це ефективний метод змінити НКТР; і.і.і. макромолекули кополімерів отримують додаткові властивості, наприклад рН-чутливість або здатність вступати у реакції конденсації з білками. У роботах [94-103] були синтезовані та дослідженні властивості кополімерних щіток полі(*N*-ізопропілакриламід-*ко*-бутилметакрилату), полі(*N*-ізопропілакриламід-*ко*-акрилатна кислота-*ко*-*трет*-бутилакрилату), полі(*N*-ізопропілакриламід-*ко*--3-*N,N*-

диметиламінопропілакриламід-ко-бутилметакрилату), полі(*N*-ізопропілакриламід-ко-3-*N,N*-диметиламінопропілакриламід-ко-*N*-трет-бутилакриаміду), полі[*N*-ізопропілакриламід-ко-(адамантилметил) акрилату], функціоналізованого біомолекулами полі(*N*-ізопропілакриламід-ко-*N*-(2-карбокси-1-метилетил)акриламід) та полі(*N*-ізопропілакриламід)-блок-полі(*N*-акрилоїлглюкозаміну). Спеціальний інтерес викликають температуро-чутливі, катіонні кополімерні щітки полі(*N*-ізопропілакриламід-ко-3-*N,N*-диметиламінопропілакриламід-ко-*N*-трет-бутилакриаміду) (рис. 1.18.) та полі(*N*-ізопропілакриламід-ко-3-*N*-акрилоїламінопропілтриметиламоній хлорид-ко-*N*-трет-бутилакриаміду), які застосовувалися для сепарації різних типів клітин [102]. Інший цікавий випадок представляє собою, кополімер НІПАМ з *N*-(2-карбокси-1-метилетил)акриламідом) (рис. 1.23), який містить полярну карбоксильну групу [99], що здатна за певних умов блокувати температуро-чутливі властивості [104-105]. Крім того, карбоксильна група може бути легко функціоналізована біомолекулами.

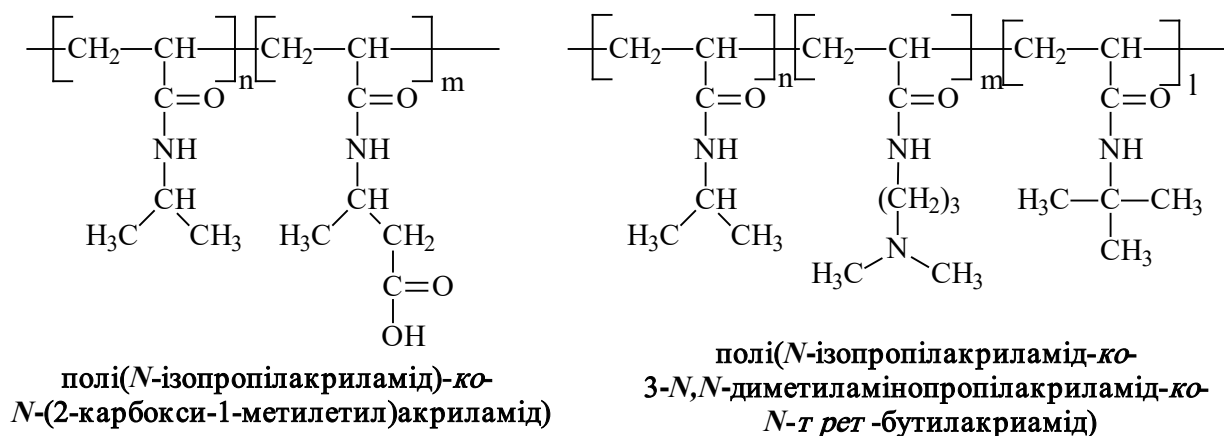
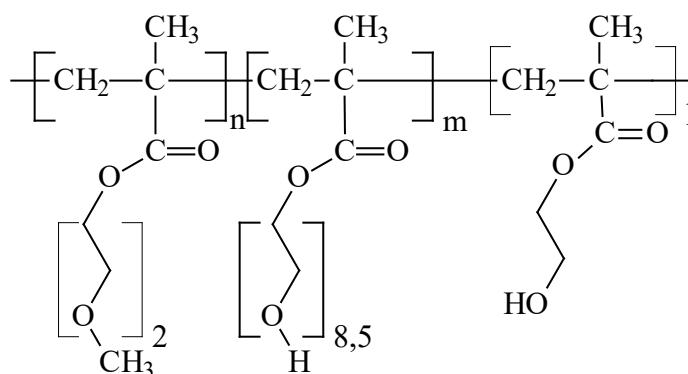


Рис.1.23. Приклади кополімерних прищеплених щіток з фрагментами НІПАМу

Полі(олігоетиленглікольмонометакрилати) – (ПОЕГМА) – це велика група полімерів з подібною хімічною структурою, високою біосумісністю, розчинністю у воді та низькою токсичністю [106-115]. НКТР полі(олігоетиленглікольмонометакрилатів) суттєво залежить від кількості фрагментів етиленгліколю у мономерній одиниці та природи етерного залишку

(метилового чи етилового) [106-109]. Найбільш важливими є полі(етиловий етер олігоетиленглікольмонометакрилату) (ПОЕГМА246), полі(метиловий етер олігоетиленглікольмонометакрилату) (ПОЕГМА188) (рис.1.16.), які демонструють НКТР 26 та 24 °С, відповідно [106-109]. У роботах [110-115] прищеплені полімерні щітки ПОЕГМА застосували для температуро-контрольованого приєднання-відщеплення клітин.

Певний інтерес представляють роботи [113-114], у якій описуються кополімерні щітки ОЕГМА188, ОЕГМА360 та 2-гідроксиетилметакрилату (рис. 1.24). Співвідношення ОЕГМА188 та ОЕГМА360 дозволяє регулювати НКТР у широкому діапазоні температур. Крім того, гідроксильні групи у таких кополімерах можуть бути легко функціоналізовані.



полі(метиловий етер олігоетиленглікольмонометакрилат-ко-  
олігоетиленглікольметакрилат-ко-  
2-гідроксиетилметакрилат)

Рис.1.24. Приклад кополімерної прищепленої щітки з фрагментами ОЕГМА

Щітки, що проявляють одночасно температуро- та рН-чутливі властивості, були синтезовані на поверхні силікону з ОЕГМА188 та метакрилової кислоти [116]. У роботі [117-118] для отримання температуро- та рН-чутливих щіток спочатку був синтезований кополімер ОЕГМА з *трет*-бутилакрилатом, а естерні групи останнього потім були гідролізовані до карбоксильних.

Полі(2-*N,N*-диметиламіноетилметакрилат) - (ПДМАЕМА) (рис.1.16) також має як температуро- так і рН-чутливі властивості. Його НКТР становить 40–50 °С, але

суттєво залежить від рН [119-127]. Прищеплені щітки ПДМАЕМА були синтезовані за допомогою мультифункціональних ATRP ініціаторів на планарних поверхнях та наночастинках неорганічних матеріалів, полімерних мікросферах тощо [119-127]. У роботі [123], де прищеплені щітки ПДМАЕМА були сформовані на наночастинках силіки, автори показали суттєвий ріст значення НКТР зі зменшенням рН розчину. При підвищенні температури вище НКТР частинки утворювали агрегати, які зворотно розпадалися при охолодженні розчину нижче НКТР.

Хоча прищеплені температуро-чутливі щітки на основі полімерів з НКТР утворюють найбільш досліджену групу, асортимент мономерів для їх синтезу далеко не вичерпаний, що спонукає вчених шукати нові структури з кращою біосумісністю, чітко визначеною температурою переходу, відсутністю гістерезису тощо. Окреме місце займає питання впливу функціональних груп мультифункціональних ініціаторів на властивості наношарів прищеплених щіток.

### ***1.2.2. Прищеплені полімерні щітки з температуро-індукованими переходами на основі температури склування***

Полімерні матеріали, у яких використовують переходи за принципом температури склування, традиційно називають полімери з ефектом пам'яті форми (shape memory polymers). Хоча практично усі полімерні матеріали мають свою певну температуру склування, для більшості з них вона лежить поза межами фізіологічних температур. Температура склування - це така температура, при якій полімер у склоподібному стані переходить у високоеластичний чи каучукоподібний стан (в залежності від його молекулярної маси). У роботі [128] досліджували прищеплені полімерні щітки поліметилметакрилату, полі(стирен-ко-2,3,4,5,6-пентафлуоростирену) тощо. Всі ці прищеплені полімерні щітки мали температуру топлення, значно відмінну за фізіологічні температури, що робить малоімовірним їх застосування у біомедичних дослідженнях. Так, температура склування поліметилметакрилату 125°C, полістирену 100°C, політрифлуороетилакрилату (-10) °C, а поліпентафлуоропропілакрилату (-26) °C. Разом з тим, було показано [128], що

температура склування прищеплених блок-кополімерів суттєво відрізняється від температури склування гомополімерів, що відкриває шлях для регулювання цього важливого параметру. Крім того, визначено значний вплив товщини наночастиці прищеплених полімерних щіток на їх температуру склування [129-131].

Значний практичний інтерес представляють прищеплені полімерні щітки полібутилметакрилату з температурною склування близько  $25^{\circ}\text{C}$ , що відкриває можливість їх застосування у біомедичних дослідженнях, як перспективного класу «розумних» поверхонь. У загальному, застосування температурних переходів на основі склування має великі перспективи застосування у біотехнології та нанотехнологіях.

### ***1.2.3. Прищеплені полімерні щітки рідкокристалічних полімерів з множинними температуро-індукованими переходами.***

Рідкокристалічні полімери мають дальній порядок орієнтації макромолекул (або їх фрагментів) й анізотропію фізичних властивостей, проте не мають чіткого позиційного упорядкування. Рідкокристалічний стан полімерів (фактично це різновид в'язкотекучого стану) є рівноважним фазовим станом, проміжним між рідкою та твердою фазами. Рідкокристалічні полімери містять гнучкі фрагменти, які відповідають за текучий стан рідкого кристалу, та мезогенні групи, які забезпечують упорядкування макромолекул. Останні можуть міститися у основному або бічному ланцюзі полімеру (рис.1.25) [132].

Значною перевагою використання рідкокристалічних полімерів, на відміну від «звичайних» є їх множинні температуро-індуковані переходи. Так, класичний рідкокристалічний полімер здатний переходити з аморфного склоподібного стану у каучукоподібний та в'язкотекучий, далі нематичний і на закінчення у ізотропний [133]. Незважаючи на такі цікаві властивості, тільки невелика кількість робіт присвячена дослідженню прищеплених полімерних щіток рідкокристалічних полімерів. Так, у роботі [134], за допомогою ініційованої з поверхні ATR полімеризації було синтезовано прищеплені рідкокристалічні щітки з бічними

мезогенними групами з реакційно-здатного мономеру RM488 і показано їх здатність орієнтувати рідкі кристали на своїй поверхні.

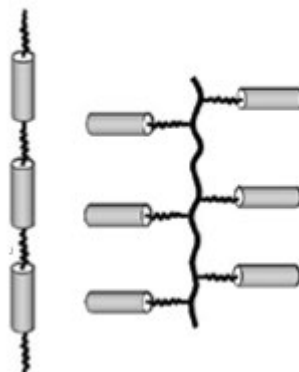


Рис.1.25. Розташування мезогенних груп у рідкокристалічних полімерах [132].

У роботі [135] за допомогою мультифункціонального азоціатора синтезували прищеплені полімерні щітки, що містять фенілбензоатні залишки зв'язані, з метакрилатними фрагментами. Було показано, що вони суттєво змінювали структуру наношару при температуро-індукованому переході з нематичного у ізотропний стан. У подібній роботі [136] за допомогою ATR полімеризації синтезовано полімерні щітки з мезогенними групами азобензену у бічному ланцюзі, які здатні змінювати орієнтацію рідких кристалів на своїй поверхні при дії УФ опромінення з певною довжиною хвилі.

Застосування прищеплених полімерних щіток рідкокристалічних полімерів з множинними температуро-індукованими переходами без сумніву має значний потенціал, і зважаючи на обмежену кількість інформації у науковій літературі, потребує детального вивчення.

#### ***1.2.4. Формування рН-чутливих прищеплених полімерних щіток та фізико-хімічні основи їх дії.***

рН - чутливі полімери представляють собою матеріали, які змінюють конформацію макромолекул при зміні рН середовища, тобто у залежності від рН відбувається або набухання, або колапс макромолекулярних ланцюгів.

Поліелектролітні прищеплені щітки - важливий клас розумних поверхонь, які у останні роки знайшли різноманітне застосування у біомедицині [137-143]. Приклади катіонних та аніонних мономерів, що використовуються для формування рН-чутливих прищеплених полімерних щіток наведено на рис.1.26.

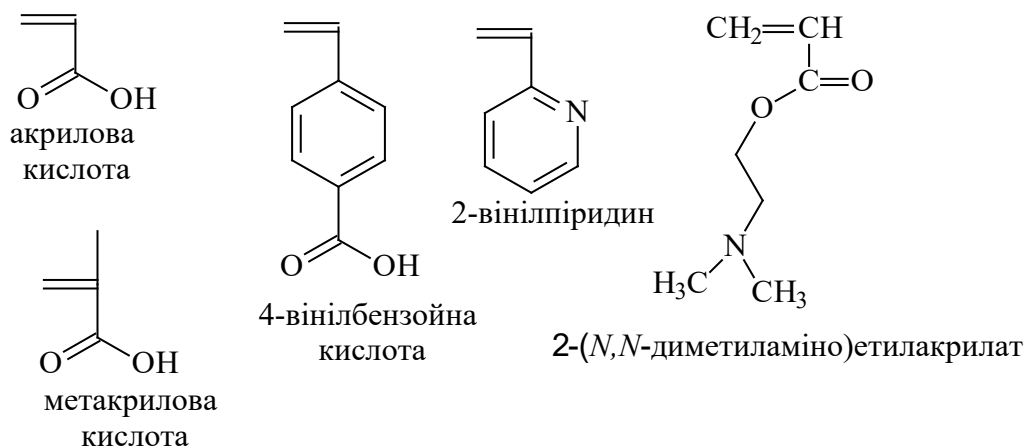


Рис.1.26. Приклади найбільш поширених катіонних та аніонних мономерів, що використовуються для формування рН-чутливих прищеплених полімерних щіток

Прищеплені щітки поліакрилової кислоти були синтезовані на поверхні слюди методом АТР полімеризації у двохстадійному процесі. Спочатку синтезували прищеплені щітки полі(*трет*-бутилметакрилату), а потім здійснювали їх гідроліз до поліакрилової кислоти [139]. У роботі [140] прищеплені щітки поліметилметакрилатної кислоти були синтезовані на поверхні наночастинок силіки. У роботі [141] показано синтез рН-чутливих щіток зі змішаним зарядом на основі 4-вінілбензойної кислоти та 4-вінілбензилтриметиламоній хлориду, які були здатні змінювати свої властивості у широкому діапазоні значень рН. Перспективним методом [142] є формування прищеплених кополімерних щіток полі(метилметакрилат-*ко*-4-вінілпіридину) на золотих наночастинок, які здатні до рН контрольованої саморганізації. Подібні результати були показано у роботі [143], де прищеплені щітки полі(4-вінілпіридину) були сформовані на наночастинок золота, вони не тільки змінювали конформацію наночастинок макромолекул у залежності від рН, але і утворювали агломерати наночастинок при рН>5.5.



Про актуальність вивчення прищеплених рН-чутливих полімерних щіток свідчить можливість їх застосування у наномедицині, як засобів доставки лікарських препаратів, систем діагностики тощо.

### **1.3. Застосування прищеплених полімерних щіток з спеціальними властивостями**

В останні роки прищеплені полімерні щітки інтенсивно досліджуються, робляться спроби їх використання у медицині, біоінженерії, нанотехнології тощо. Найбільш поширеним є застосування прищеплених полімерних щіток ПНІПАМ, які володіють НКТР, близькою до фізіологічних норм людського організму. У роботах Окано показана можливість їх застосування для сепарації білків та клітин, вирощування тканин та тканинної інженерії [81-83]. Принцип роботи таких покриттів полягає у їх добрій взаємодії з еукаріотичними клітинами при 37°C (гідрофобний стан поверхні), що сприяє формуванню тканинного шару, який легко від'єднується від поверхні при температурі, нижчій за НКТР (рис.1.27). Таким чином отримана тканина, наприклад, шкірний імплантант, буде непошкодженим, не обробленим додатковими хімічними агентами і безпосередньо може бути використаний у хірургії.

Застосування прищеплених щіток ПНІПАМу має щонайменше дві практичні переваги: і. дуже добре виражений перехід при 32 °C через КТР, який проявляється у зміні змочуваності нанощару, його товщини та морфології; і.і. включення комономерних фрагментів у прищеплену щітку ПНІПАМу веде до контрольованої зміни у значенні НКТР [81-83].

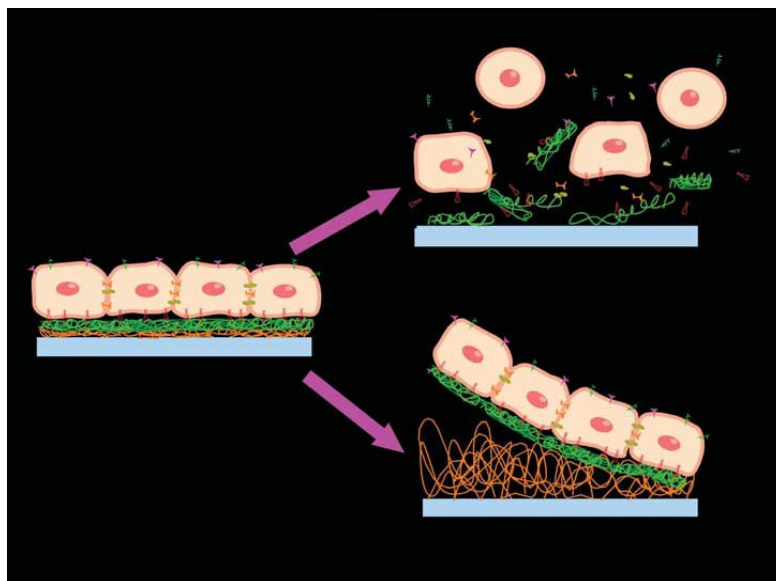


Рис.1.27. Отримання непошкодженої тканини за допомогою прищеплених полімерних щіток ПНІПАМ [81-83].

Здатність змінювати, пристосовувати та контролювати гідрофобні взаємодії має вирішальне значення при маніпулюванні взаємодією між біологічними об'єктами та поверхнею синтетичних матеріалів у водному середовищі (рис.1.28). З цією метою у роботі [144] було синтезовано прищеплений полімерний шар (багатокомпонентні змішані полімерні щітки поліакрилової кислоти та полістирену), які здатні зворотно оголювати гідрофобні фрагменти на гідрофільній поверхні, змінювати, включати та вимикати гідрофобні взаємодії. Зворотне перемикання відбувалося у відповідь на зміни довколишнього середовища та змінювало силу взаємодій між наночастиною та гідрофобними чи амфіфільними частинками у воді. Прищеплений шар зберігав свою загальну гідрофільність, у той же час локальні гідрофобні місця дозволяють прищепленому шару адсорбувати на собі білкові молекули з водного розчину. Гідрофобні взаємодії між матеріалом та білками досліджувалися за допомогою атомно-силової мікроскопії та вимірювань адсорбції білка фібриногену.

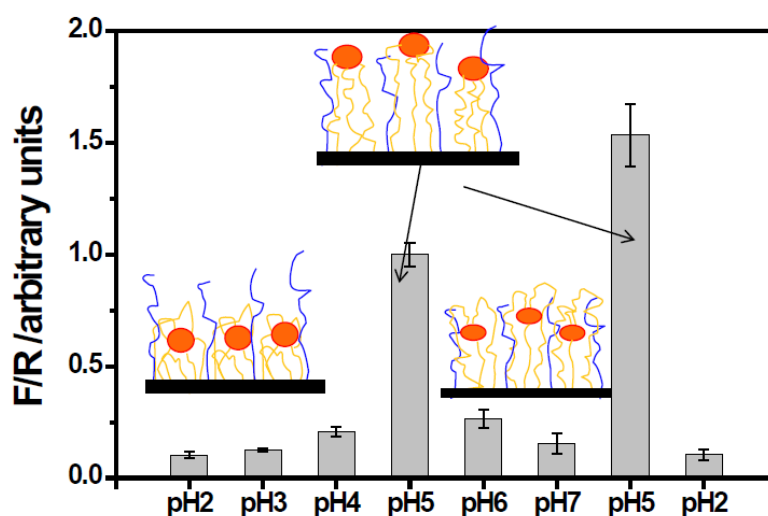


Рис.1.28. Вплив зміни рН на процес адсорбції білка фібриногену (від стеричного відштовхування до гідрофобних взаємодій) [144].

У роботі [145] описується створення зворотного механізму блокування формування анізотропних наноструктур імпульсом магнітного поля в рідких матрицях шляхом врівноваження теплової енергії, короткодіапазонних сил притягання і довгодіапазонних сил відштовхування сил та дипольно-дипольних взаємодій за допомогою спеціально підібраної полімерної оболонки магнітних наночастинок сформованої з прищеплених чутливих полімерних щіток (рис.1.29). Механізм блокування був використаний для точного регулювання розмірів самозбірних магнітних ланцюгів наночастинок і для генерації та дезінтеграції тривимірних (3D) наноструктурованих матеріалів у розчинниках та полімерах.

У роботі [146] створено синтетичний гібрид між ферментом лізоцимом та полімерними молекулярними щітками для покращення його каталітичної активності та стабільності. Для цього, спочатку здійснювали реакцію кон'югації між гліцидилметакрилатом та лізоцимом реакцією взаємодії епоксидного кільця з лізиновими залишками ферменту для синтезу ферментного макромономеру. Потім проводили вільнорадикальну кополімеризацію макромономеру з метиловим етером поліетиленглікольакрилату та метиловим етером поліетиленгліколь метакрилату. Показано, що імплантація однієї молекули лізоциму в полімерні ланцюги

молекулярних щіток призвела до значного зростання його термічної стійкості при 90 °С і в 9 разів збільшила період напіврозкладу для цієї синтетичної ферментної структури. Зростання ефективності ферментів пояснюється ефектом захисту білкової молекули дизайном прищеплених макроланцюгів.

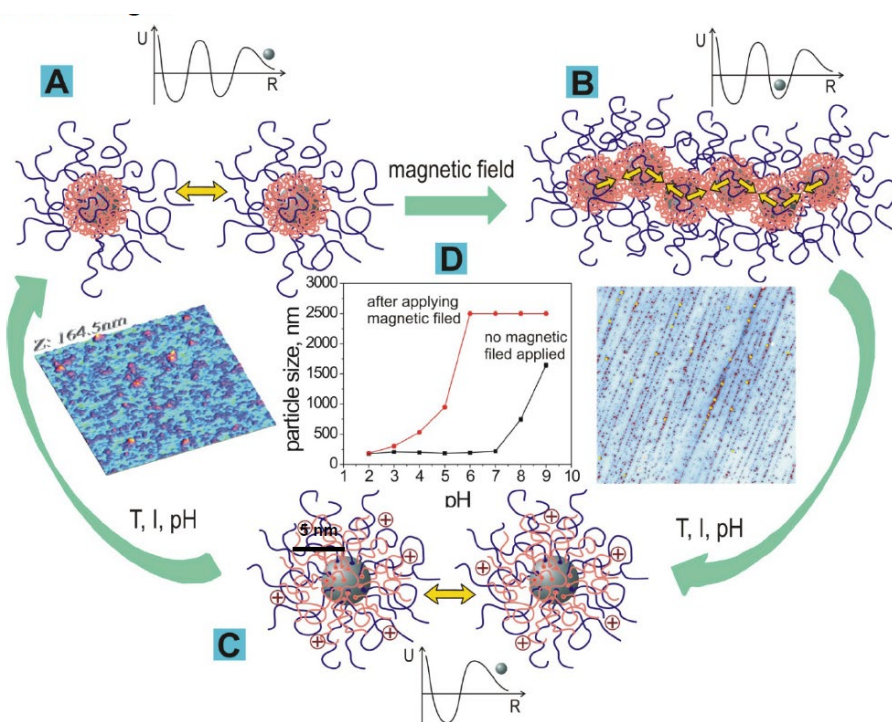


Рис.1.29. Контроль за поведінкою магнітних наночастинок модифікованих прищепленими чутливими полімерними щітками [145].

Таким чином, застосування прищеплених полімерних щіток зі спеціальними властивостями має значний потенціал, особливо у галузях біомедицини та нанотехнології. Стоїть стале питання про нові сфери їх використання, створення наноматеріалів на основі прищеплених полімерних щіток нового покоління, з довготривалим ефектом, здатністю реагувати на кілька подразників та високою контрольованістю відповіді.

#### 1.4. Теоретичні передумови досліджень і наукова гіпотеза.

З огляду літератури видно, що сьогодні перед науковцями стоїть питання про розвиток наукових та практичних основ ефективної модифікації поверхонь неорганічних матеріалів за допомогою прищеплених «розумних» полімерних наночарів, особливо таких, які містять у складі макроланцюги «розумних» полімерних щіток; пошук нових класів температуро-чутливих полімерів, особливо з рН- та температуро-чутливими властивостями одночасно; пошук нових сфер застосування прищеплених чутливих щіток.

Розвиток знань про «розумні» прищеплені полімерні щітки – багатообіцяючий напрям розвитку полімерної хімії, який у перспективі знайде практичне застосування, перш за все у таких галузях, як наномедицина та біонанотехнології. Суттєвий внесок у розвиток хімії прищеплених чутливих полімерних щіток здійснили наукові групи під керівництвом професорів Т. Окано, Ф. Лутца, А. Джонаса, М. Штамма, С. Мінька та Я. Гензера, які створили базові знання про цей новий клас полімерних матеріалів та показали шляхи їх практичного застосування.

З огляду літератури видно, що чутливі полімерні щітки є важливим інструментом сучасної науки і здатні змінювати свої властивості за рахунок реалізації різних механізмів. Однак, не існує загальної теорії, яка пов'язує можливість зміни властивостей щіток зі складом та будовою їх макромолекул. Крім того, далеко не вичерпано асортимент полімеризаційних та поліконденсаційних мономерів для створення чутливих щіток. Окреме місце займає питання впливу функціональних груп мультифункціональних ініціаторів на властивості наночарів прищеплених щіток.

Тому мета нашої роботи – синтез нових прищеплених полімерних щіток з різними механізмами температурної та рН-чутливої відповіді на плоских та колоїдних поверхнях з використанням мультифункціональних ініціаторів, дослідження впливу функціональних груп мультифункціональних ініціаторів на властивості наночарів цих щіток. Дослідження можливості застосування отриманих прищеплених полімерних щіток для вирощування на них тканин, контрольованої

адсорбції білків, як матриць для контрольованого формування полімерних композиційних матеріалів та наночастинок, для створення «розумних» анти-бактеріальних покриттів, систем прецизійної контрольованої орієнтації білків, систем контрольованої доставки ліків тощо.

## РОЗДІЛ 2

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

#### 2.1. Характеристика, синтез та очистка вихідних речовин

*Піромелітовий діангідрид (ПМДА)*, технічний, марки “А”, виробництва Уфимського нафтохімічного заводу, додатково очищали сублімацією у вакуумі при залишковому тиску 1,33 кПа.  $T_{\text{топл.}}=288\div 289^{\circ}\text{C}$  (літ.  $283\div 286^{\circ}\text{C}$  [147]), кислотне число 1036 мг КОН/г (розрах. 1029 мг КОН/г) [69].

*Піридин* очищали за методикою [148].

*Поліетиленгліколі* сушили у вакуумі (0,1÷0,3 кПа) за температури  $120^{\circ}\text{C}$  протягом 4 годин. Ідентифікували згідно результатів аналізу на вміст ОН груп за методикою [69, 149].

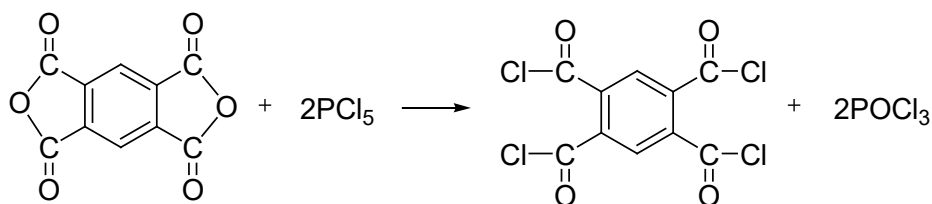
*2-бромоізобутирилбромід (ATRP-ініціатор) та мономери:* НІПАМ – N-ізопропілакриламід, ОЕГМА246 – етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату, ОЕГМА188 – метиловий етер диетиленглікольмонометакрилату, 4ВП – 4-вінілпіридин, БМА – бутилметакрилат, БА – бутилакрилат, АК - акрилова кислота, ФА - флуоресцеїнакрилат отримали від Sigma-Aldrich.

ПМ – пентаеритрилмонометакрилат отримали від Parchem.

ХМ – холестерилметакрилат синтезували самостійно згідно методики наведеної у 2.3.1.

*Мономери* відділяли від стабілізатора пропускаючи через колонку наповнену дрібнодисперсними оксидом алюмінію.

*Тетрахлорангідрид піромелітової кислоти (ТХАП)* одержували з піромелітового ангідриду (ПМДА) за розробленою у роботі [69] методикою:



109 г (0,5 моль) ПМДА і 229 г (1,1 моль) подрібненого  $\text{PCl}_5$  завантажували в двогорлу круглодонну колбу ємністю 1 л, споряджену термометром і зворотнім

холодильником, з'єднаним з пасткою для поглинання кислих парів. Суміш нагрівали на масляній бані з температурою 110-130 °С. Через 1,5-2 години реакційна маса стає рідкою. Її кип'ятили ще 15-16 год. Температура в реакторі 132-135 °С. Потім зворотній холодильник замінювали на прямий і відганяли  $\text{POCl}_3$ , слідкуючи за тим, щоб температура бані не перевищувала 160 °С. Залишки  $\text{POCl}_3$  відганяли у вакуумі 40-60 мм рт. ст. ТХАП очищали фракційною вакуум-перегонкою в тоці аргону.  $T_{\text{кип.}}=183-184$  °С /2 мм рт.ст. Вихід 126 г (77 %).  $T_{\text{топл.}}=64$  °С (літ. 64 °С [69, 150]).

*Трет-бутилгідропероксид* одержували алкілюванням гідроген пероксиду *трет*-бутиловим спиртом у присутності концентрованої сульфатної кислоти за методикою [69, 151], фракціонували на дефлегматорі висотою 70 см у вакуумі ( $T_{\text{кип.}}=32$ °С/1,6 кПа). Показник заломлення ( $n_d^{20}$ )=1,4008 (літ.  $n_d^{20}=1,4010$ ), вміст активного кисню 17,9% (розрах. 17,7%) [69].

*Вміст активного кисню* ( $O_{\text{акт.}}$ ) у мультифункціональних пероксидовмісних ініціаторах визначали йодометричним методом за методикою [69].

*Кислотне число* (К.Ч.) визначали титруванням розчину олігомеру в ацетоні 0,1 N розчином КОН за методикою [69].

*Визначення вмісту гідроксильних груп* в поліетиленгліколях проводили за методикою [69].

*Вміст активного хлору* ( $\text{Cl}_{\text{акт.}}$ ) визначали аргентометричним методом за методикою [69].

Боронітридні нанотрубки (БННТ) було синтезовано у групі проф. М. Чулха (Єдитіпський університет, Туреччина) шляхом хімічного осадження пари з колеманіту (2 г) та  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (0.166 г). Синтез БННТ проводили в насиченій атмосфері  $\text{NH}_3$ . Температуру печі встановлювали на швидкість нагрівання від 8 °С/хв до 1280 °С і потім витримували при цій температурі протягом 3 год. Піч охолоджували до температури навколишнього середовища. Після цього БННТ збирали і зберігали в сухому середовищі.

Для очищення продукту, до отриманих БННТ додавали 50 мл 4 М  $\text{HCl}$ , перемішували протягом 4 годин при 90 °С і потім осаджували центрифугуванням



(14000 об/хв, протягом 30 хв). Отриманий продукт перемішували з 30 мл 1 М  $\text{HNO}_3$  протягом 6 годин при 30 °С і потім знову осаджували центрифугуванням (14000 об/хв, протягом 30 хв). Після центрифугування БННТ промивали водою, а потім сушили при 60 °С 12 год.

## **2.2. Синтез мультифункціональних пероксидовмісних ініціаторів на основі тетрахлорангідриду піромелітової кислоти**

### **2.2.1. Синтез пероксидовмісного мультифункціонального ініціатора на основі тетрахлорангідриду піромелітової кислоти, поліетиленгліколю (ПЕГ-9, $M_n=400$ ) та трет-бутилгідропероксиду – (МПП-1).**

У реакторі на 100 мл, спорядженому мішалкою, термометром і крапельною лійкою, розчиняли 5 г (0,0152 моль) тетрахлорангідриду піромелітової кислоти у 15 мл безводного дихлоретану і додавали 1,37 г (0,0152 моль) *трет*-бутилгідропероксиду. Реакційну суміш охолоджували до 5°С і прикапували розчин піридину (1,2 г (0,0152 моль) в 5 мл безводного дихлоретану), слідкуючи за тим, щоб температура не піднімалась вище 5°С. За вказаної температури перемішували 1 год. Додавали 6,3 г (0,0152 моль) ПЕГ-9 і прикапували розчин піридину (2,4 г (0,0304 моль) в 10 мл безводного дихлоретану). Перемішували ще 2 год, поступово піднімаючи температуру до 20°С. Охолоджували реакційну масу до 5°С та відфільтровували осад хлориду піридинію ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}\cdot\text{HCl}$ ). Відганяли розчинник і сушили у вакуумі (0-2 мм рт. ст.) та 40°С протягом 3 год. Одержували 10 г продукту (90%) у вигляді жовтуватої смоли. К.Ч. 163 мг КОН/г (розрах. 155,3 мг КОН/г); вміст активного кисню 1,9% (розрах. 2,2%). ІЧ-спектр,  $\text{cm}^{-1}$ :  $\nu$  (C=O) в  $\text{Ar-C(O)Cl}$  1750;  $\nu$  (C=O) в естерних групах 1760; -OO- 830; *трет*-бутоксигрупа 848 [69, 152].

### **2.2.2. Синтез дихлорангідрид дитрет-бутилпероксипіромелітату - (МПП-2).**

У реакторі на 100 мл, спорядженому мішалкою, термометром і крапельною лійкою, розчиняли 5,1 г (0,0155 моль) тетрахлорангідриду піромелітової кислоти у 15 мл безводного дихлоретану і додавали 2,8 г (0,031 моль) *трет*-

бутилгідропероксиду. Реакційну суміш охолоджували до 5°C і прикапували розчин піридину (2,46 г (0,031 моль) в 10 мл безводного дихлоретану), слідкуючи за тим, щоб температура не піднімалась вище 5°C. За вказаної температури перемішували 1 год. Перемішували ще 1 год, поступово піднімаючи температуру до 20°C. Охолоджували реакційну масу до 5°C та відфільтровували осад хлориду піридинію ( $C_6H_5N \cdot HCl$ ). Відганяли розчинник і сушили у вакуумі (0-2 мм рт. ст.) та 40°C протягом 2 год. Одержували 6,1 г продукту (90%) у вигляді білої смоли. К.Ч. 440 мг КОН/г (розрах. 515 мг КОН/г); вміст активного кисню 6,1% (розрах. 7,3%) [69].

### 2.2.3. Синтез дихлорангідрид трет-бутилпероксихолестерилпіромелітату (МШ-3).

У реакторі на 300 мл, спорядженому мішалкою, термометром і крапельною лійкою, розчиняли 4,7 г (0,0143 моль) тетрахлорангідриду піромелітової кислоти в 15 мл безводного дихлоретану, охолоджували до 5°C та прикапували розчин *трет*-бутилгідропероксиду (1,3 г (0,0143 моль)) та піридину (1,13 г (0,0143 моль)) в 10 мл дихлоретану. За вказаної температури перемішували 1 год, після чого прикапували розчин холестеролу (5,53 г (0,0143 моль)) та піридину (1,13 г (0,0143 моль)) в 120 мл безводного дихлоретану. Реакційну суміш перемішували 1 год за температури 5°C та 6 год за 20°C. Охолоджували реакційну масу до 5°C та відфільтровували осад хлориду піридинію. З фільтрату відганяли розчинник у вакуумі за температури 40°C. Одержували 9,5 г (92 %) воскоподібної ледь бежуватої речовини. Знайдене кислотне число 290 мг КОН/г (розрах. К.Ч.=307); знайдений активний кисень 1,7% (розрах. 2,1%) [69].

Карбонільні групи в пероксиестерних та естерних фрагментах проявляються у вигляді інтенсивної смуги поглинання при  $1728\text{ см}^{-1}$ , а в хлорангідридних – при  $1784\text{ см}^{-1}$ . Група  $C(CH_3)_3$  дає характеристичний дублет смуг поглинання при  $1385$  та  $1360\text{ см}^{-1}$ . Наявність  $-O-O-$  зв'язку підтверджується інтенсивною смугою поглинання *трет*-бутоксигрупи  $OC(CH_3)_3$  при  $904\text{ см}^{-1}$ . Про наявність холестерольного фрагменту свідчать інтенсивні смуги поглинання  $CH_2$  та  $CH_3$  груп, а саме: валентні

асиметричні коливання в цих групах проявляються смугами при  $2944\text{ см}^{-1}$ , валентні симетричні коливання – при  $2864\text{ см}^{-1}$ , деформаційні коливання – при  $1464\text{ см}^{-1}$ . Група смуг при  $1480, 1520, 1608\text{ см}^{-1}$  відповідає коливанням ароматичного кільця. Інтенсивні смуги поглинання, які характерні для коливань С–О–С зв'язків в естерних фрагментах проявляються при  $1244$  і  $1100\text{ см}^{-1}$  [69].

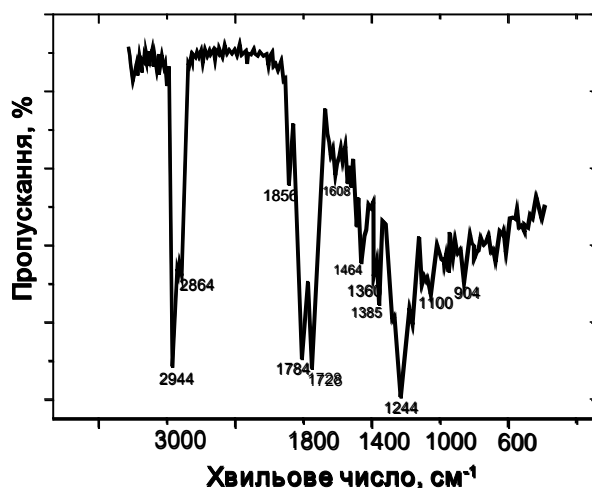


Рис.2.1. ІЧ спектр дихлорангідрид *трет*-бутилпероксихолестерилпіромелітату

## 2.3. Синтез мономерів

### 2.3.1. Синтез холестерилметакрилату.

У реакторі на 200 мл, спорядженому мішалкою, термометром і крапельною лійкою, розчиняли 23 г (0,056 моль) холестеролу в 50 мл хлористого метилену та 6 мл піридину. Реакційну суміш охолоджували до  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  і прикапували розчин метакрилоїлхлориду (9 г (0,086 моль) в 10 мл безводного хлористого метилену). За вказаної температури перемішували 5 год та 14 год за температури  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Концентрували реакційну суміш до 25 мл, відфільтровували осад та промивали його етиловим спиртом. Сушили у вакуумі (0-2 мм рт. ст.) та  $40^{\circ}\text{C}$  впродовж 2 год. Одержували 21 г продукту (84%).

## 2.4. Формування прищеплених наночарів

### 2.4.1. Формування прищепленого наночару 3-амінопропілтриетоксилану на поверхні скла

Скляні пластинки (предметні скельця) протягом 5 год промивалось етиловим спиртом у апараті Сокслету, потім сушилося на повітрі. Потім занурювали в 0,2 % розчин 3-амінопропіл(триетокси)силану (АПТЕС) у метанолі на 24, ковалентно неприщеплений силан змивали метанолом у апараті Сокслету протягом 5 год. Після промивання зразки сушили на повітрі.

#### ***2.4.2. Методика формування наношарів мультифункціональних пероксидовмісних ініціаторів на поверхні амінованого скла***

Аміновані скляні пластинки занурювали у 0,001 М розчин відповідного мультифункціонального пероксидовмісного ініціатора в діоксані на певний час модифікації. Неприщеплений до поверхні мультифункціональний пероксидовмісний ініціатор екстрагували діоксаном у апараті Сокслета протягом 5 год. Після промивання зразки сушили на повітрі.

#### ***2.4.3. Методика формування прищеплених наношарів полімерних щіток методом „прищеплення від” пероксидованої поверхні***

Пероксидовані скляні підкладинки поміщали в ампули з 0,01 М розчином мономеру у відповідному розчиннику, продували вміст ампул інертним газом. Після запаювання ампули прогрівали при температурі 90°C протягом необхідного часу. Модифіковані підкладинки виймали з ампул та екстрагували в апараті Сокслета протягом 5 год відповідними розчинником. Після промивання зразки сушили на повітрі.

#### ***2.4.4. Методика формування наношару 2-бромоізобутирилброміду (ATRP ініціатора) на поверхні амінованого скла***

Аміновані скляні пластинки занурювали у розчин 2-бромоізобутирилброміду (2,6 мл), безводного триетиламіну (3,0 мл) та 100 мл безводного тетрагідрофурану на 1 год. Потім зразки промивають тетрагідрофураном, сушать та використовують у наступній стадії модифікації.

#### ***2.4.5. Методика формування прищеплених наношарів полімерних щіток методом „прищеплення від” наношару ATRP***

У колбу з круглим дном поміщають метанол (16 мл), воду (4 мл) та відповідний мономер (120 ммоль) і знову дезоксигенують азотом протягом 10-15 хв. Потім додають  $\text{CuBr}_2$  (7.4 мг), 2,2'-дипіридил (51.5 мг) та L-аскорбат натрію (65.3 мг), продувають інертним газом. Суміш перемішують до розчинення твердих речовин.

Розчин наливають в попередньо дезоксигеновані посудини, у яких знаходилися попередньо приготовлені субстрати з наночаром ATRP ініціатора на поверхні. Полімеризація проходить при кімнатній температурі. Після необхідного часу полімеризації зразки промивали відповідним розчинником.

#### **2.4.6. Методика формування наночару мультифункціонального пероксидовмісного ініціатора на поверхні боронітридних нанотрубок.**

50 мг порошкоподібних БННТ змішували з 50 мл розчину МПІ-1 в безводному діоксані (1 мг/мл) та диспергували на ультразвукувій бані протягом 20 хв, а потім енергійно перемішували протягом 24 годин. Надлишок МПІ-1 видаляли багаторазовим диспергуванням з ультразвуком у діоксані та толуолі та осаджуванням нанотрубок центрифугуванням. Очищені функціоналізовані БННТ сушили і використовували для прищепленої полімеризації [152].

#### **2.4.7. Методика синтезу прищеплених щіток від поверхні пероксидованих БННТ**

БННТ з прищепленим ініціюючим наночаром мультифункціонального пероксидовмісного ініціатора поміщали в ємність з 0.1 М водним розчином *N*-ізопропілакриламідом чи 0.1 М водним розчином акрилової кислоти та 0.01 М водним розчином флуоресцеїнакрилат та диспергували на ультразвукувій бані протягом 20 хв. Потім суміш продували потоком інертного газу протягом 30 хв та нагрівали при 90 °С протягом 48 год при інтенсивному перемішуванні. У результаті реакції прищепленої полімеризації отримували БННТ з прищепленими полімерними щітками. Вони очищалися від неприщепленого полімеру та мономеру повторним диспергуванням у етанолі та воді з обробкою ультразвуком та наступним осаджуванням нанотрубок центрифугуванням. Очищені, функціоналізовані БННТ сушили і зберігали у вигляді порошку [152].

### 2.4.8. Імобілізація срібних наночастинок Ag-НЧ у прищеплених полімерних щітках

Скельця з прищепленими полімерними щітками занурювали в водний 0,005 М розчин  $\text{AgNO}_3$ , продутий потоком інертного газу протягом 30 хв. Після цього субстрати видаляли і швидко занурювали у водний 0,2 М розчин  $\text{NaBH}_4$  на 4 години. Потім зразки кілька разів промивали дистильованою водою, сушили та використовували для наступних досліджень.

## 2.5. Методики аналізів.

### 2.5.1. Визначення вільної поверхневої енергії модифікованих поверхонь

Визначення сумарної вільної поверхневої енергії  $\lambda_s$  та її складових (Лівшица-Ван-дер-Ваальса -  $\lambda_s^{\text{LW}}$ , кислотної -  $\lambda_s^-$ , основної -  $\lambda_s^+$  та полярної  $\lambda_s^{\text{AB}}$ ) проводили за Лівшиц-Ван-дер-Ваальс кислотно-основним методом [153-157].

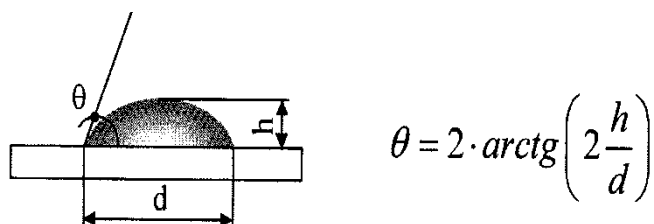


Рис. Схематичне зображення краплі.

Для цього вимірювали контактні кути змочування поверхні трьома рідинами (водою, дийодометаном та гліцерином). Значення поверхневої енергії рідин ( $\lambda_l$ ) та її складових: Лівшица-Ван-дер-Ваальса ( $\lambda_l^{\text{LW}}$ ), Льюїса кислотної складової ( $\lambda_l^+$ ) та Льюїса основної складової ( $\lambda_l^-$ ) наведені у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1.

### Значення поверхневої енергії та її складових для досліджуваних рідин

Рідина	$\lambda_l^{\text{LW}}$ , мН/м	$\lambda_l^+$ , мН/м	$\lambda_l^-$ , мН/м	$\lambda_l$ , мН/м
Вода	21,8	25,5	25,5	72,8
Дийодометан	50,8	0	0	50,8
Гліцерин	34,0	3,92	57,4	64,0

Оцінку складових поверхневої енергії за методом трьох рідин проводили шляхом розв'язування системи трьох рівнянь (2.1) [153-157]:

$$\begin{aligned}\lambda_{1l}(1 + \cos \theta_1) &= 2(\lambda_{1l}^{LW} \lambda_s^{LW})^{1/2} + 2(\lambda_{1l}^+ \lambda_s^-)^{1/2} + 2(\lambda_{1l}^- \lambda_s^+)^{1/2} \\ \lambda_{2l}(1 + \cos \theta_2) &= 2(\lambda_{2l}^{LW} \lambda_s^{LW})^{1/2} + 2(\lambda_{2l}^+ \lambda_s^-)^{1/2} + 2(\lambda_{2l}^- \lambda_s^+)^{1/2} \\ \lambda_{3l}(1 + \cos \theta_3) &= 2(\lambda_{3l}^{LW} \lambda_s^{LW})^{1/2} + 2(\lambda_{3l}^+ \lambda_s^-)^{1/2} + 2(\lambda_{3l}^- \lambda_s^+)^{1/2}\end{aligned}\quad (2.1)$$

де:  $\lambda$  – значення поверхневої енергії, в якій нижній індекс  $s$  відносяться до поверхні твердого тіла, а індекси 1l, 2l, 3l - до води, дийодометану та гліцерину, відповідно;

$\theta_1$  – контактний кут змочування твердої поверхні водою;

$\theta_2$  – контактний кут змочування твердої поверхні дийодометаном;

$\theta_3$  – контактний кут змочування твердої поверхні гліцерином.

Значення полярної складової вільної поверхневої енергії розраховували за рівнянням (2.2) [153-157]:

$$\lambda_s^{AB} = 2\sqrt{\lambda_s^- \lambda_s^+} \quad (2.2)$$

Розв'язок рівняння (2.3) дозволяє визначити сумарну вільну поверхневу енергію [153-157]:

$$\lambda_s = \lambda_s^{LW} + \lambda_s^{AB} \quad (2.3)$$

### 2.5.2. Визначення ступеня модифікації полімерної поверхні

Для поверхні, що включає ділянки з різною змочуваністю застосовували рівняння Касье (2.4) [156-157]:

$$\cos \theta = x \cos \theta_1 + (1-x) \cos \theta_2 \quad (2.4)$$

де  $x$  - частка поверхні, яка зайнята ділянками типу 1;

$(1-x)$  - частка поверхні, яка зайнята ділянками типу 2;

$\theta_1$  - крайові кути рідини на однорідній поверхні 1;

$\theta_2$  - крайові кути рідини на однорідній поверхні 2;

$\theta$  - крайовий кут поверхні, що досліджується.

Косинус крайового кута поверхні, що досліджується – є усередненим косинусом різних контактних кутів гетерогенної поверхні. Володіючи значеннями косинусів крайових кутів змочування рідини на однорідних поверхнях 1 та 2 визначали ступінь хімічної гетерогенності модифікованої поверхні та частку модифікованої поверхні [156-157].

### **2.5.3. Дослідження поверхні методом методом часопротітної вторинної іонної мас-спектроскопії (TOF-SIMS).**

TOF-SIMS вимірювання проводились використовуючи TOF.SIMS 5 (ION-TOF GmbH) з бісмутною рідкометалічною іонною гарматою, величина струму становила 30 кеВ. Для кожного типу зразків вимірювання проводили два рази з наступним усередненням отриманих даних. Маси отриманих інтермедіатів калібрували за допомогою  $H^+$ ,  $H_2^+$ ,  $CH^+$ ,  $C_2H_2^+$  і  $C_4H_5^+$  піків,  $M_r = 1, 2, 13, 26, 53$ , відповідно [158].

### **2.5.4. Атомно-силова мікроскопія**

Топографію поверхонь досліджували за допомогою атомно-силової мікроскопії з використанням приладу “CP Park Scientific Instruments” (безконтактний метод), щуп  $Si_3N_4$  за звичайних умов у пульсаційно-силовому режимі, на площі  $1 \text{ мкм}^2$  [155].

### **2.5.5. Еліпсометричні дослідження**

Товщину та оптичні параметри адсорбованих полімерних наночарів досліджували методом еліпсометрії “ex situ”. Еліпсометричні вимірювання проводили для кожного зразка поверхні перед і після прищеплення полімерних шарів з застосуванням нуль-еліпсометрії LEF-3M (Інститут Напівпровідникової Фізики, Новоросійськ, Росія), точність оптичного елементу становила  $\pm 0.01^0$  [158-159].

Поверхневу концентрацію прищеплених молекул ( $C_p$ ) визначали згідно рівняння: (2.5)

$$C_p = \rho h \quad (2.5)$$



де:  $\rho$  – об’ємна густина, а  $h$  – висота прищепленого наношару у сухому стані.

Молекулярні маси прищеплених полімерних щіток було вираховано згідно еліпсометричних даних та кінетичних параметрів полімеризації за допомогою рівняння: (2.6)

$$M = \frac{C_p}{C_o(1 - e^{-k\tau}) \cdot n} \quad (2.6)$$

де  $M$  – молекулярна маса (г/мол),  $C_p$  – концентрація прищепленого полімеру на поверхні (г/м<sup>2</sup>),  $C_o$  – первинна концентрація пероксидних груп пероксидовмісного ініціатора на поверхні (мол/м<sup>2</sup>) ( $C_o = 8.8 \cdot 10^{-6}$  мол/м<sup>2</sup>),  $k$  – константа першого порядку ініціації при 90<sup>0</sup>С ( $k = 8.1 \cdot 10^{-6}$  с<sup>-1</sup>),  $\tau$  – полімеризаційний час (с),  $n$  – полімеризаційна ефективність на поверхні ( $n = 0.4$ ) [12]. Слід відмітити, що розрахунок можливий лише значень часу полімеризації при якому все ще залишаються незаповнені прищепленим полімером ділянки.

Розрахунок прищепленої густини полімерних ланок на пероксидованій поверхні був проведений згідно рівняння: (2.7)

$$\sigma = \frac{h\rho N_A}{M} \quad (2.7)$$

де:  $\sigma$  - прищеплена густина (ланки/нм<sup>2</sup>),  $h$  – товщина шару у сухому стані, згідно даних еліпсометрії (нм),  $\rho$  - об’ємна густина полімеру в масі,  $N_A$  – константа Авогардо і  $M$  - молекулярна маса прищеплених полімерних щіток (г/моль).

### 2.5.6. Спектральні дослідження

<sup>1</sup>H ЯМР спектри записували в дейтерованих ацетоні, диметилсульфоксиді або хлороформі на спектрометрах JEOL ECA 400 MHz NMR та “Bruker AC-F” 300 MHz.

FTIR спектри записували за допомогою інфрачервоного спектрофотометру з Фур’є перетворювачем (FTIR) Nicolet 8700 (Thermo Scientific) в діапазоні 400-4000 см<sup>-1</sup> з компенсацією атмосферних CO<sub>2</sub> та H<sub>2</sub>O.

Ультрафіолетова видима спектрофотометрія. Оптичні спектри поглинання суспензії БННТ реєстрували на УФ-спектрофотометрі з двома променями ( $\lambda$ )

35, PerkinElmer, Німеччина) шляхом сканування в інтервалі 300–900 нм при кімнатній температурі. До вимірювання базову лінію фіксували для кювети з чистим розчинником. Концентрація нанотрубки становила 1 мг/мл, а рН регулювали додаванням розчинів HCl або NaOH [152].

#### **2.5.7. Термогравіметричний аналіз (ТГА)**

Аналіз ТГА проводили за допомогою приладу TGA Perkin Elmer Pyris з програмним забезпеченням для термічного аналізу та Pyris версії 11.1.1.0497. Зразки аналізували під потоком газу N<sub>2</sub>, який нагрівали від 30 до 600 °С.

#### **2.5.8. Метод динамічного розсіювання світла (ДРС)**

Вимірювання розподілу розмірів і дета-потенціалів нанотрубок проводили за допомогою приладу Zetasizer Nano ZS (Малверн, США) за температур 5-40 °С. Nano ZS містить 4 мВт He-Ne лазер, що працює на довжині хвилі 633 нм і лавиновий фотодіодний детектор. Розсіяне світло вловлювали під кутом 173°. Показник заломлення та поглинання наноматеріалу вважалися рівними 2.0 та 1.500 відповідно. Всі вимірювання розміру та зета-потенціалу проводилися в трьох комірках. Всі дані були проаналізовані за допомогою програмного забезпечення Malvern Instrument DST 5.00. 1 мг зразка суспендували в 1 мл дистильованої води і піддавали дії ультразвуку протягом 20 хв. Після дії ультразвуку проводили центрифугування з низькою швидкістю (5 хв) і супернатант використовували для аналізу [152].

#### **2.5.9. Скануюча електронна мікроскопія (СЕМ)**

БННТ розміщували на вуглецевому диску та покривали шаром золота товщиною 5 нм, використовуючи розпилювач Baltec SDC 005. Зображення СЕМ були отримані за допомогою приладу Carl Zeiss Evo-40 під високим вакуумом та прискорювальною напругою 10 кВ.

### **2.6. Дослідження адсорбції білків**

#### **2.6. 1. Дослідження адсорбції білків методом флуоресцентної мікроскопії.**

Білки з флуоресцентною міткою (лентіл лектин, бичачий сировотковий альбумін чи імуноглобулін G) розчинені у відповідному буферному розчині,

наносили на поверхню досліджуваного матеріалу за різних температур та рН. Для цього краплю розчину білку наносили на поверхню та інкубували протягом 15 хв за відповідної температури. Змивали неадсорбований білок буфером та дистильованою водою, сушили у потоці азоту. Флюоресценцію білків досліджували за допомогою оптичного мікроскопу «Olympus BX51» з галогеновою лампою (100 Вт), фільтрами довжин хвиль U-MNG2 та камерою DP72.

### **2.6.2. Дослідження адсорбції білків методами TOF-SIMS та головного компонентного аналізу.**

Білки (лентіл лектин, бичачий сиворотковий альбумін чи імуноглобулін G) розчинені у відповідному буферному розчині, наносили на поверхню досліджуваного матеріалу за різних температур та рН. Для цього краплю розчину білку наносили на поверхню та інкубували протягом 15 хв за відповідної температури. Змивали неадсорбований білок буфером та дистильованою водою, сушили у потоці азоту. TOF-SIMS вимірювання проводились використовуючи TOF.SIMS 5 (ION-TOF GmbH) з бісмутною рідкометалічною іонною гарматою, величина струму становила 30 кеВ. Аналіз отриманих результатів проводили зв використанням головного компонентного аналізу згідно методик описаних у роботах [160-161].

### **2.7. Дослідження росту клітинних ліній ссавців**

Для визначення впливу поверхні на ріст, виживання (проліферацію) клітини досліджуваної лінії засівали в кількості 200 000 клітин на чашку Петрі на дні якої була попередньо поміщена досліджувана пластинка згідно з методик наведених у роботі [162]. Зразки інкубували на відповідному середовищі для даного типу клітин впродовж 24, 48, 72 чи 144 год. Кількість паралельних зразків для одного виміру не менше трьох. Після завершення періоду інкубації, клітини на поверхні зразку зафарбовували відповідним барвником. клітин підраховували в гемоцитометрі за допомогою світлового мікроскопа або флуоресцентного мікроскопа.

## 2.8. Антибактеріальні тести.

У якості модельних бактерій використали - *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Антибактеріальну активність наношарів прищеплених щіток та контрольних зразків скла вивчали методом серійних розведення після 12-годинної інкубації при двох температурах - 4 та 37°C. Та наступного висівання серії розведень розчину з бактеріальною суспензією на відповідне поживне середовище. Крім того, для візуалізації життєздатності бактерій на поверхні зразків проводили флуоресцентне забарвлення клітин флуоресцентними барвниками, що дозволяють розрізнити мертві та живі клітини. До них відносяться йодид пропідіум та флуоресцеїн SYTO<sup>®</sup>9. SYTO<sup>®</sup>9 здатний проникати крізь клітинну мембрану, гідролізовану внутрішньоклітинними естеразами (активними лише в живих клітинах) і дає флуоресцентне зелене забарвлення. Для мертвих клітин характерною є понижена естеразна активність та пошкоджені мембрани, тому вони незначно накопичують флуоресцеїн SYTO<sup>®</sup>9, а тільки йодид пропідіум, який у свою чергу не проникає в неушкоджені мембрани живих клітин. Одночасне використання обох барвників та комп'ютеризованої системи аналізу зображень дозволяє візуально розрізнити живі та мертві клітини.

### РОЗДІЛ 3.

## ЗАКОНОМІРНОСТІ АКТИВАЦІЇ НЕОРГАНІЧНИХ ПЛОСКИХ ПОВЕРХОНЬ ЗА ДОПОМОГОЮ МУЛЬТИФУНКЦІОНАЛЬНИХ ІНІЦІАТОРІВ РАДИКАЛЬНОЇ ПОЛІМЕРИЗАЦІЇ

Модифікація твердих поверхонь полімерних матеріалів та надання їм певних поверхневих властивостей є одним з основних напрямів розвитку сучасної полімерної хімії [156, 163-165]. Звичайно, поверхнева модифікація полімерів здійснюється шляхом цільового прищеплення поверхневого полімерного шару визначеної природи та будови [156, 163-165]. При цьому, відбувається надання поверхні електропровідності, каталітичних або лікувальних властивостей, антитромбогенності, бактерицидності, певного електростатичного заряду тощо [156, 163-165]. Протягом останнього десятиріччя особливо важливою стала проблема створення нових підходів до формування на поверхнях неорганічних матеріалів, особливо скла [166-167], «розумних» полімерних наносфер, в тому числі біосумісних та з антибактеріальними властивостями, для застосування їх у нанотехнологіях виробництва композиційних матеріалів та імплантатів [168-169]. Важливою особливістю більшості неорганічних матеріалів, зокрема скла та інших неорганічних оксидних матеріалів, є високий вміст поверхневих гідроксильних груп, які легко функціоналізуються за допомогою органічних молекул. Так, наприклад у склі, кожен атом силіцію знаходиться в центрі тетраедра із кисневих атомів, у той же час на поверхні структура скла завершується силоксановими фрагментами (Si-O-Si) або силанольними групами (Si-OH). Для модифікації поверхні суттєве значення мають вільні гідроксильні групи і тому було розроблено ряд методів збільшення їх кількості через перетворення силоксанових фрагментів [166-167, 170]. Незважаючи на свою дешевизну та доступність, скло та інші неорганічні матеріали, мають ряд недоліків для створення сенсорних систем, платформ для вирощування клітинних ліній тощо. Основними з яких є проходження на його поверхні неконтрольованих хімічних та біологічних реакцій, швидке

«старіння» скла у біологічному середовищі, низька біосумісність тощо [166-167, 170].

Для покращення властивостей неорганічних матеріалів здійснюють їх функціоналізацію органічними молекулами. Найчастіше для модифікації неорганічних поверхонь застосовують мультифункціональні силани, які містять два типи груп. Перший тип - це реакційноздатні  $-\text{SiCl}_3$  чи  $-\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$  групи, які схильні до швидкого гідролізу та реакцій конденсації з гідроксильними групами. Другий тип груп – це органічні функціональні залишки, які надають молекулі бажаних властивостей.

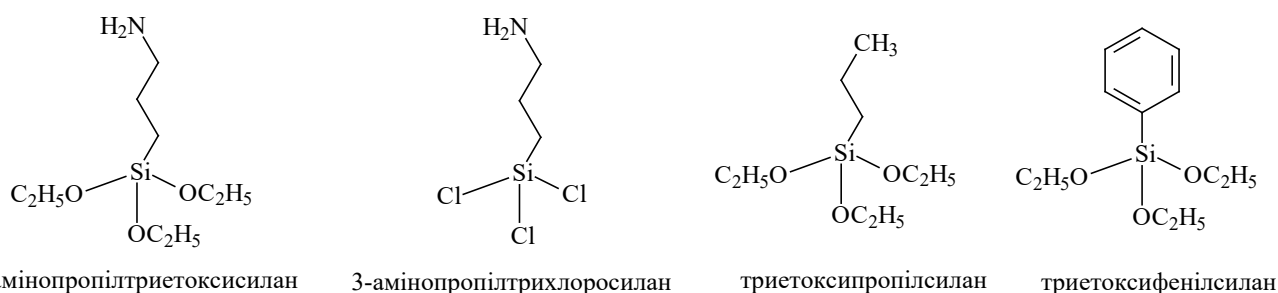


Рис. 3.1. Структурні формули найбільш поширених «комерційних» силанів.

На рис. 3.1. наведено структурні формули найбільш поширених «комерційних» силанів. Застосування окремих типів силанів, наприклад 3-амінопропілтриетоксисилану (АПТЕС) для модифікації поверхні скла та наступної іммобілізації біомолекул, полімерів чи молекул для орієнтації рідких кристалів було широко описане у літературі [171-172]. Крім того, наночастинки  $\text{SiO}_2$  та оксидів металів, такі як,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$ , та  $\text{SnO}_2$  були функціоналізовані аміногрупами у складі ковалентно прищепленого наношару АПТЕСу і вступали у подальші реакції модифікації [173]. Змішування різних типів силанів у реакційній суміші, наприклад АПТЕС та триетоксипропілсилану дозволяє регулювати не тільки поверхневі властивості, але також кількість функціональних груп на поверхні, наприклад аміногруп, як у прикладі з АПТЕС. Хоча поверхні функціоналізовані силанами суттєво змінюють свої властивості, значно перспективнішим є метод їх наступної ковалентної функціоналізації мультифункціональними ініціаторами радикальної

полімеризації, які у подальшому дозволяють формувати наношари прищеплених полімерних щіток.

Мультифункціональні ініціатори (МІ) для ініційованої від поверхні радикальної полімеризації містять щонайменше дві різні функціональні групи, які мають різне призначення [174-176]. На рис.3.2 наведено загальну схему будови МІ прищепленої полімеризації з різними функціональними групами: і. що відповідають за прищеплення «до поверхні», і.і. що дозволяють полімеризацію «від поверхні», а також і.і.і. групами з так званими «спеціальними властивостями». Групи зі спеціальними властивостями надають «додаткові» функціональності модифікованим поверхням, такі, як рН-чутливість чи біосумісність.



Рис. 3.2. Загальна схема будови МІ прищепленої полімеризації з функціями прищеплення «до поверхні», «від поверхні» та «спеціальними» властивостями.

Основне призначення МІ прищепленої полімеризації - формування прищеплених полімерних щіток з бажаними властивостями на поверхні матеріалів. Прищеплені полімерні щітки – це ультратонкі полімерні покриття, що складаються з макромолекул, які одним кінцем прикріплені до твердої поверхні. Застосування даного методу дозволяє формувати не тільки гомополімерні та кополімерні прищеплені макромолекули, але також змішані прищеплені щітки (mixed brushes), чи Y-подібні макромолекули [174]. Особливий інтерес представляє синтез блок-кополімерів, з використанням мультифункціональних ATRP ініціаторів [34].

У цій роботі використовувалися два види МІ прищепленої полімеризації з функціональними групами, які здатні вступати у реакції прищеплення «до поверхні» та «від поверхні». Перший вид - це мультифункціональні пероксидні ініціатори (МПІ), розроблені та синтезовані на кафедрі органічної хімії Національного

університету «Львівська політехніка» (рис.3.3). Цей клас сполук представлений мультифункціональними пероксидовмісними ініціаторами: і. олігомером, синтезованим на основі тетрахлороангідриду піромелітової кислоти, поліетиленгліколю ПЕГ-9 і *трет*-бутил гідропероксиду (МПП-1); і.і. дихлорангідридом дитрет-бутилпероксипіромелітату (МПП-2); і.і.і. дихлорангідриду *трет*-бутилпероксихолестерилпіромелітату (МПП-3). У основі процесу ініціювання прищепленої полімеризації «від поверхні» лежить термічний гомоліз пероксидних груп, в результаті чого утворюються прищеплені до поверхні макрорадикали та неприщеплені низькомолекулярні радикали, які здатні вступати у реакції росту макроланцюгів та їх рекомбінації.

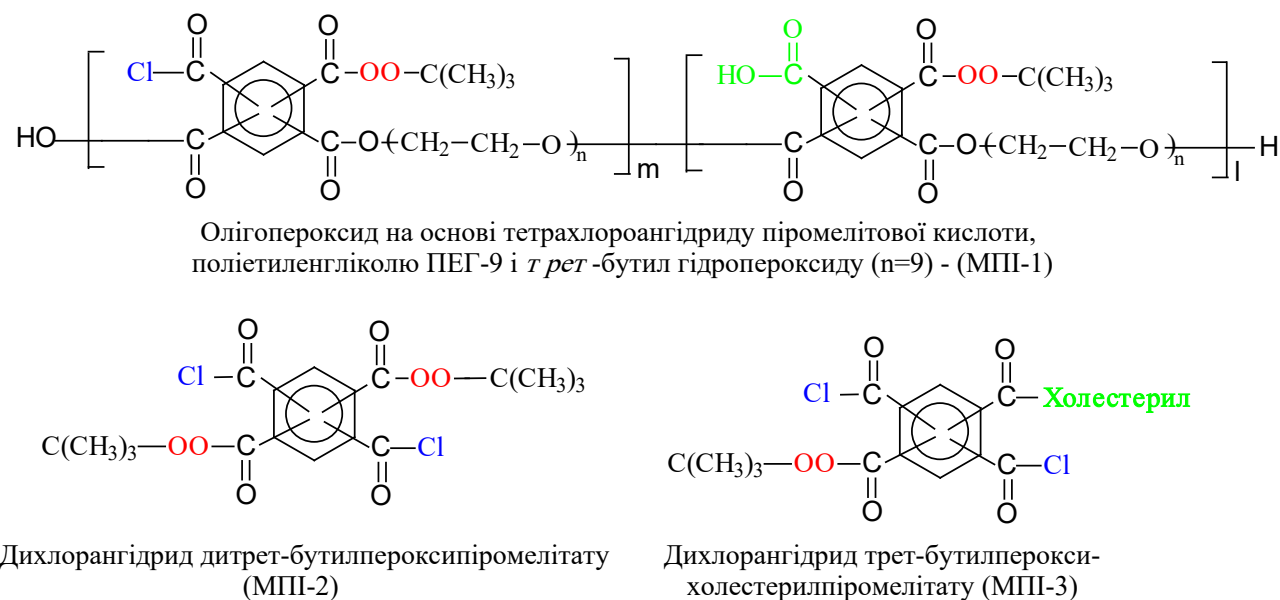
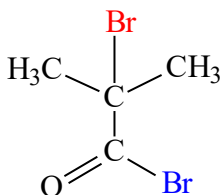


Рис.3.3. Мультифункціональні пероксидні ініціатори прищепленої полімеризації «від поверхні».

Друга група – це МІ прищепленої полімеризації «від поверхні» за принципом радикальної полімеризації з перенесенням атому, так звані АТРР ініціатори (Atom Transfer Radical Polymerization). В основі АТРР лежить утворення комплексу між органічним галогенопохідним, який виступає у формі ініціатора (МІ), з перехідним металом у нижчій ступені окиснення та основою Льюїса. Дана реакція веде до розриву зв'язку у ініціаторі з перенесення галогену на металокомплекс і утворення



алкільних радикалів  $R^{\bullet}$ , які здатні ініціювати полімеризацію від поверхні. У нашій роботі було використано комерційно доступний продукт бромангідрид 2-бромо-2-метилпропанової кислоти (рис.3.4.).



Бромангідрид 2-бромо-  
2-метилпропанової кислоти

Рис.3.4. Мультифункціональні ініціатор прищепленої полімеризації «від поверхні» за принципом радикальної полімеризації з перенесенням атому.

Представлені у роботі МІ прищепленої полімеризації «від поверхні» містять функціональну галогеноангідридну групу (хлорангідридну або бромангідридну), яка проявляє високу реакційну здатність по відношенню до первинних аміногруп.

Нами було запропоновану схему модифікації поверхні неорганічних матеріалів з гідроксильними групами на поверхні, прищепленими полімерними щітками, яка включає три стадії. На першій стадії згідно з розробленими раніше методиками було здійснено функціоналізацію поверхні скла молекулами АПТЕСу, тобто було проведено її амінування. Первинні аміногрупи, іммобілізовані на поверхні скла, дозволяють здійснювати його подальшу функціоналізацію МІ прищепленої полімеризації на основі хлорангідриду піромелітової кислоти або бромангідридом 2-бромо-2-метилпропанової кислоти. Остання стадія модифікації включає прищеплення до активованої поверхні полімерних «розумних» щіток. Це відбувається у результаті радикалоутворення і протікання прищепленої полімеризації «від поверхні». Слід зазначити, що дуже важливим є те, що, активація поверхні (формування наночастинок МІ прищепленої полімеризації), та її модифікація (формування прищеплених полімерних щіток) можуть бути проведені через певний період часу. Це суттєво розширює можливості проведення модифікації поверхні

шляхом цілеспрямованого формування поверхневого полімерного шару визначеної природи та будови.

Принципова схема формування прищеплених «розумних» полімерних щіток наведена на рис.3.5.

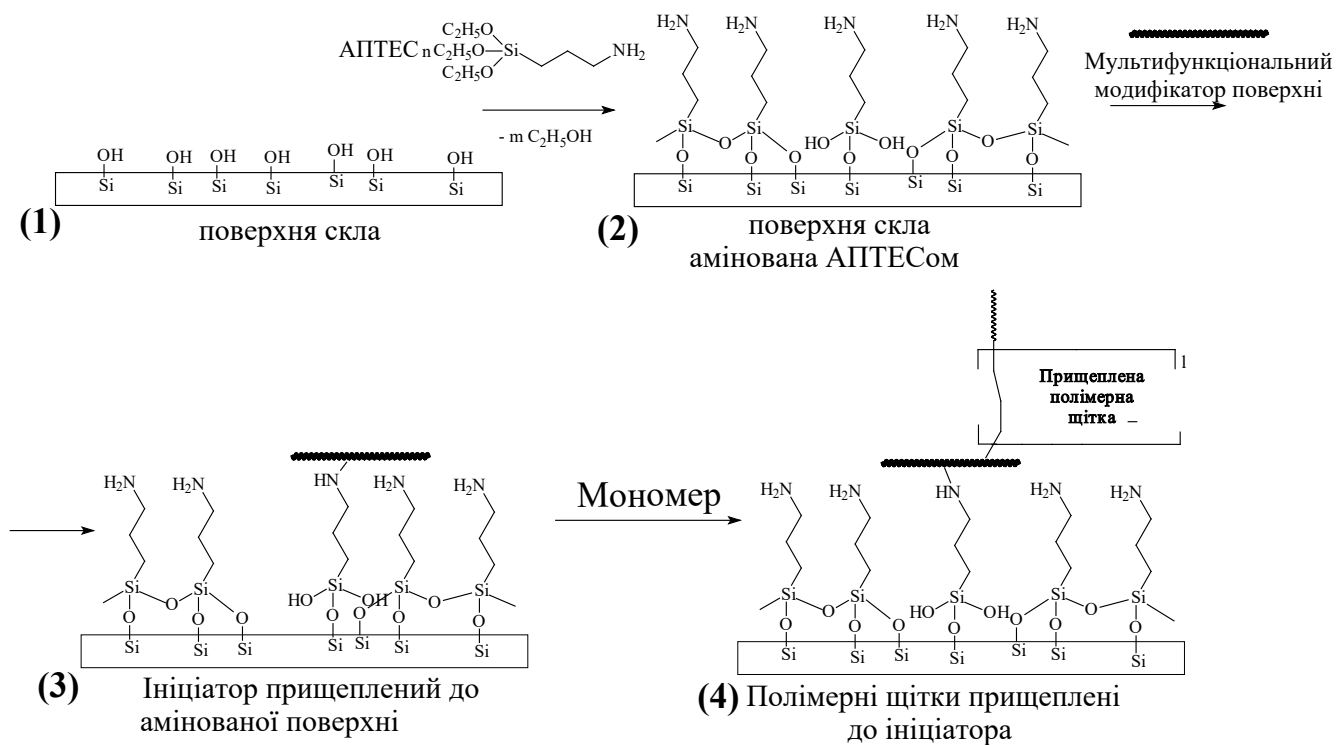


Рис.3.5. Принципова схема формування прищеплених «розумних» полімерних щіток на поверхні скла (1) амінованого наночаром амінопропілтриетоксисиланом (2) та наступною функціоналізацією МІ (3) та формуванням прищеплених полімерних щіток (4).

Запропонований підхід до формування архітектури полімерних прищеплених щіток на поверхнях неорганічних матеріалів з гідроксильними групами, включаючи амінування поверхні за допомогою аміносиланів та наступне ацилування нуклеофілів (аміногруп) на поверхні хлорангідридними чи бромангідридними групами МІ прищепленої полімеризації «від поверхні», дозволяє:

- формування ковалентно прищепленого наночару з рівномірним розподілом центрів ініціації полімеризації однакової природи на поверхні неорганічних

матеріалів і, як наслідок, у результаті реакції прищеплення «від поверхні» формування прищеплених «розумних» полімерних наночарів;

- синтезувати прищеплені «розумні» полімерні та кополімерні щітки різної хімічної природи;

- змінювати такі властивості прищеплених полімерних наночарів як рН-чутливість чи біосумісність за рахунок використання МІ з групами, що мають «спеціальні властивості».

### **3.1. Основні закономірності функціоналізації поверхні скла 3-амінопропіл-триетоксисиланом**

У роботі [177] описано використання органосиланів для прищеплення органічних полімерів до неорганічних субстратів, в цілях отримання підсилених полімерами неорганічних матеріалів. Здатність утворювати силанами впорядковані мономолекулярні наночари на неорганічних поверхнях, зокрема на поверхні скла описана у ряді робіт [178-180]. Слід проте відмітити, що властивості та структура прищеплених наночарів силанів суттєво залежить від умов проведення модифікації поверхні [178-180]. У нашому випадку, для амінування неорганічних поверхонь, покритих гідроксильними групами, здійснювали їх функціоналізацію за допомогою АПТЕС (див. розділ 3). Формування прищепленого наночару з 0,5% мас. розчину АПТЕС у сухому метанолі чи толуені протягом 24 год модифікації веде до формування практично мономолекулярного наночару АПТЕСу (рис.3.6.). Висока концентрація АПТЕС у розчині, довгий час модифікації, наявність у розчині каталітичних кількостей води суттєво сприяють формуванню, небажаного у нашому випадку, тривимірного прищепленого мультишару АПТЕС (рис.3.6.). У той же час, модифікація неорганічних поверхонь з фосфатного буферу приводить до утворення наночару АПТЕС при утворенні водневих зв'язків між гідроксильними групами на поверхні та аміногрупами АПТЕСу (рис. 3.6.).

Так як процес модифікації неорганічних поверхонь за допомогою наночарів АПТЕС добре описаний у ряді публікацій, ми акцентували увагу тільки на отриманні мономолекулярного ковалентно прищепленого наночару АПТЕС.

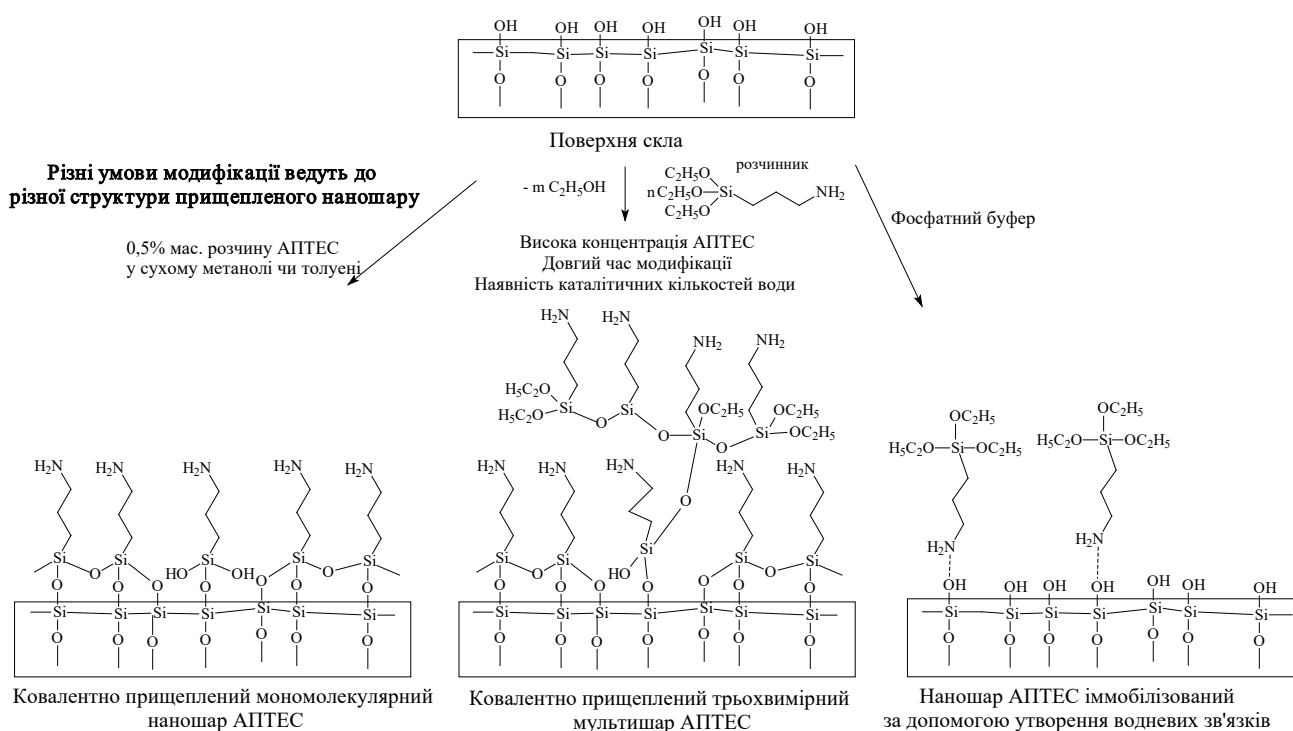


Рис.3.6. Вплив умов проведення реакції на структуру прищепленого наночару АПТЕС на неорганічних поверхнях [180].

Ковалентно-прищеплений мономолекулярний наночар АПТЕС був охарактеризований за допомогою методів вимірювання контактних кутів змочування, визначення поверхневої енергії, еліпсометрії та АСМ. У таблиці 3.1. представлені результати вимірювань висоти прищепленого наночару ( $h$ ), значення контактних кутів змочування ( $\theta$ ) та значень вільної поверхневої енергії та її складових ( $\lambda_s$ ) для скла та наночару АПТЕС отриманого з 0,5% мас. розчину АПТЕС у сухому метанолі чи толуені протягом не більше 24 год модифікації. Усереднена товщина прищепленого наночару АПТЕС становить близько 0,9 нм (мономолекулярний наночар АПТЕС), що відповідає геометричним розмірам молекули  $\approx 0,7$  нм. У процесі аналізу еліпсометричних даних було показано, що

поверхня скла є топографічно досить неоднорідною, і ця неоднорідність зменшується у процесі формування прищепленого наночастиці АПТЕС.

Аналіз контактних кутів змочування водою (табл.3.1) поверхні скла демонструє його значну гідрофільність, яка суттєво змінюється у процесі модифікації у сторону зростання величин контактних кутів змочування. Такі значення можна пояснити наявністю пропільних фрагментів у структурі прищепленого наночастиці. Аналіз значень загальної вільної поверхневої енергії ( $\lambda_S$ ) та її складових - Ван-дер-Ваальсівської ( $\lambda_S^{LW}$ ), кислотної ( $\lambda_S^-$ ), основної ( $\lambda_S^+$ ) та полярної ( $\lambda_S^{AB}$ ) показує високі значення  $\lambda_S$  для скла (54,4 мН/м), які дещо знижуються у процесі модифікації до 36,1 мН/м. Це пояснюється зменшенням всіх значень складових вільної поверхневої енергії, як і Ван-дер-Ваальсівської, так полярної.

Таблиця 3.1.

Висота прищепленого наночастиці ( $h$ ), значення контактних кутів змочування ( $\theta$ ), значення вільної поверхневої енергії ( $\lambda_S$ ) та її складових Ван-дер-Ваальсівської ( $\lambda_S^{LW}$ ), кислотної ( $\lambda_S^-$ ), основної ( $\lambda_S^+$ ) та полярної ( $\lambda_S^{AB}$ ) для скла та наночастиці АПТЕС отриманого з 0,5% мас. розчину АПТЕС у сухому метанолі чи толуені протягом 24 год модифікації

Поверхня	$H$ , нм	$\theta$ , °			$\lambda_S$ , мН/м				
		H <sub>2</sub> O	CH <sub>2</sub> I <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> (OH) <sub>3</sub>	$\lambda_S^{LW}$	$\lambda_S^-$	$\lambda_S^+$	$\lambda_S^{AB}$	$\lambda_S$
Скло	-	24±3,1	42,5±1,2	34,2±2	38,3	47,9	1,3	15,8	54,4
АПТЕС	0,9	51,8±2,8	46,4±1,9	50,1±1,5	29,9	44,3	0,2	6,2	36,1

На рис.3.7. наведено АСМ мікрофотографії поверхні скла та скла модифікованого прищепленим наночастиці АПТЕС. Отримані результати підтверджують згаданий раніше ефект згладжування шорсткості поверхні при формуванні прищепленого наночастиці АПТЕС. Порівняння між собою двох значень

середньоквадратичної шорсткості (RMS) показало, що RMS скла складає 1,46 нм, у той же час RMS з прищепленим наночаром АПТЕС 0,4 нм.

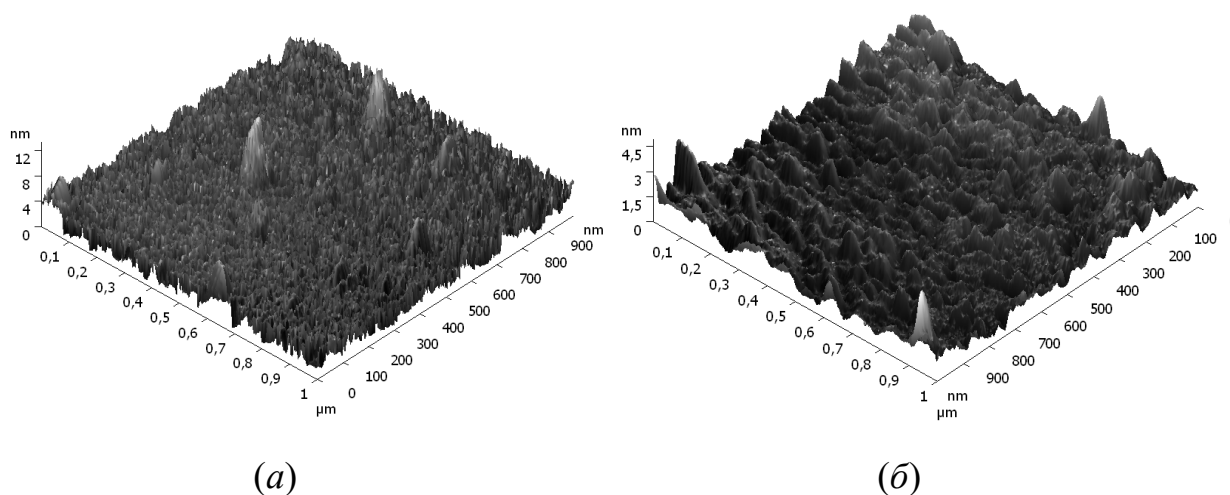


Рис.3.7. АСМ зображення поверхні скла (а) та поверхні скла з прищепленим наночаром АПТЕС (б) [71].

Таким чином, нами показано формування практично мономолекулярного наночару АПТЕС з товщиною близько 0,9 нм, причому у процесі модифікації відбувається вигладжування поверхні. Отримані на цій стадії зразки було використано для наступного прищеплення мультифункціональних ініціаторів прищепленої поверхневої полімеризації.

### 3.2. Формування та властивості прищеплених наночарів мультифункціональних ініціаторів

На рис.3.3. наведено МПІ прищепленої полімеризації «від поверхні», які були використано для модифікації попередньо амінованої поверхні скла. Принципова схема модифікації, яка включає взаємодію хлорангідридних груп МПІ на основі хлорангідриду піромелітової кислоти з аміногрупами АПТЕСу на поверхні амінованого скла, наведена на рис.3.8.

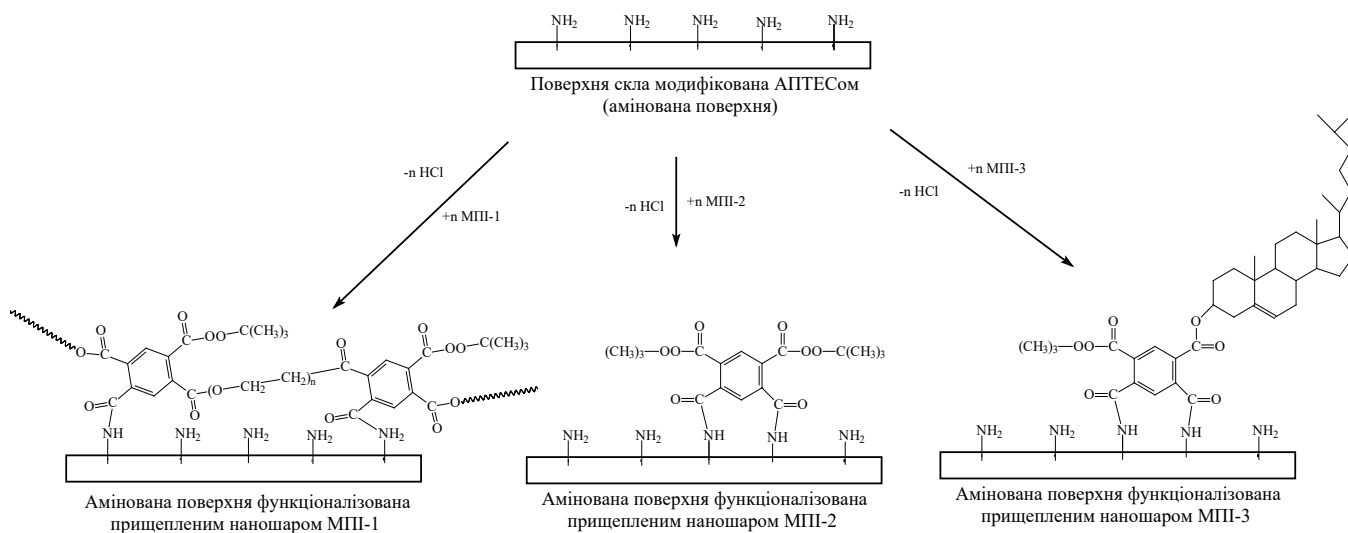


Рис.3.8. Схема формування прищеплених нанощарів МП на амінованих поверхнях.

Формування прищеплених нанощарів МП на поверхнях амінованого скла підтверджено за допомогою методів часопротітної вторинної іонної мас-спектрометрії (ToF-SIMS), еліпсометрії, контактних кутів змочування та атомно-силової мікроскопії (АСМ). Процес модифікації проводили у розчиннику, який відповідав кільком критеріям: і. інертність по відношенню до аміногруп на поверхні чи хлорангідридних груп ініціатора; і.і. спорідненість МІ з розчинником. Оптимальними параметрами для проведення процесу модифікації володів діоксан, який дозволяв не тільки ефективно проводити процес функціоналізації поверхні, а також очистити її від молекул, що ковалентно не прищепилися до поверхні. Після проходження відповідного часу модифікації, неприщеплені молекули екстрагували діоксаном. Як показали наші дослідження, концентрація МП у розчині також має суттєве значення для швидкості та повноти модифікації амінованих поверхонь, проте тільки до 0,001 М концентрації ініціатора у розчині.

У таблиці 3.2. наведено ідентифіковані групи за результатами ToF-SIMS аналізу поверхні скла з прищепленим нанощаром АПТЕС та наступною функціоналізацією трьома різними видами МП (час прищеплення 24 год для кожного). Для кожного зі зразків характерна наявність  $\text{CH}_4\text{N}^+$  групи, що свідчить

при присутність прищепленого наночару АПТЕС на поверхні скла. У свої чергу, всі зразки, модифіковані МПІ, утворюють під час ToF-SIMS аналізу як катіони, характерні для піромелітової кислоти і залишку *трет*-бутил гідропероксиду ( $C_2H_5O^+$ ,  $C_3H_8N^+$ ,  $C_3H_7O^+$  та  $C_7H_7^+$ ), так і катіони, специфічні тільки для кожного окремо взятого наночару. МПІ-2 (пероксид синтезований на основі тетрахлоороангідриду піромелітової кислоти та *трет*-бутил гідропероксиду) при ToF-SIMS аналізі, крім катіонів спільних для всіх зразків, показує додаткові  $C_3H_7^+$  та  $C_4H_9^+$ . Ці катіони також присутні у ToF-SIMS спектрограмі МПІ-3 (пероксиду, синтезованого на основі тетрахлоороангідриду піромелітової кислоти, холестеролу та *трет*-бутил гідропероксиду), крім того спостерігалася серія характерних для холестерильного залишку піків катіонів, таких як  $C_4H_7^+$ ,  $C_5H_7^+$ ,  $C_5H_9^+$  та  $C_6H_7^+$ . ToF-SIMS аналіз поверхні модифікованої МПІ-1 (олігопероксид синтезований на основі тетрахлоороангідриду піромелітової кислоти, поліетиленгліколю і *трет*-бутил гідропероксиду) показав наявність двох додаткових піків ( $CH_3O^+$  та  $C_5H_5O_2^+$ ), які були відсутні у інших зразках.

Таблиця 3.2.

Ідентифіковані позитивні вторинні іони, отримані у результаті ToF-SIMS аналізу з поверхонь модифікованих АПТЕС і потім МПІ.

Молекулярна маса	Катіонна група	АПТЕС	МПІ-1	МПІ-2	МПІ-3
30	$CH_4N^+$	+	+	+	+
31	$CH_3O^+$	-	+	-	-
43	$C_3H_7^+$	-	-	+	+
45	$C_2H_5O^+$	-	+	+	+
55	$C_4H_7^+$	-	-	-	+
57	$C_4H_9^+$	-	-	+	+
58	$C_3H_8N^+$	-	+	+	+



59	$C_3H_7O^+$	-	+	+	+
67	$C_5H_7^+$	-	-	-	+
69	$C_5H_9^+$	-	-	-	+
79	$C_6H_7^+$	-	-	-	+
91	$C_7H_7^+$	-	+	+	+
97	$C_5H_5O_2^+$	-	+	-	-

Результати, отримані внаслідок ToF-SIMS аналізу вказують на формування прищеплених наночарів МПІ та були підтвердженні за допомогою еліпсометричних вимірювань. Еліпсометричні вимірювання дають можливість визначити не тільки товщину прищепленого наночару, але також і показник заломлення (індекс рефракції), що є важливим параметром для розуміння хімічної однорідності наночару.

На рис.3.9. показано визначену за допомогою еліпсометричних вимірювань залежність товщини прищепленого наночару МПІ-1 (а) і його індексу рефракції (б) від часу прищеплення з 0,1 М розчину у діоксані. Усереднена товщина прищепленого наночару не перевершує 1,5 нм. На початковій стадії модифікації спостерігається швидкий ріст товщини прищепленого наночару, який досягає максимуму за проходження 3 год процесу прищеплення, при цьому кінцева усереднена товщина наночару становить 1,2 нм. Зростання товщини прищепленого наночару супроводжується зростанням індексу рефракції, який коливається у межах 1,52-1,59. Швидка стадія формування прищепленого наночару МПІ-1 завершується після 2-3 год модифікації, проте процес структурування триває ще деякий час і завершується тільки після 10-15 год модифікації, оскільки після цього часу як і товщина, так і індекс рефракції залишаються незмінними.

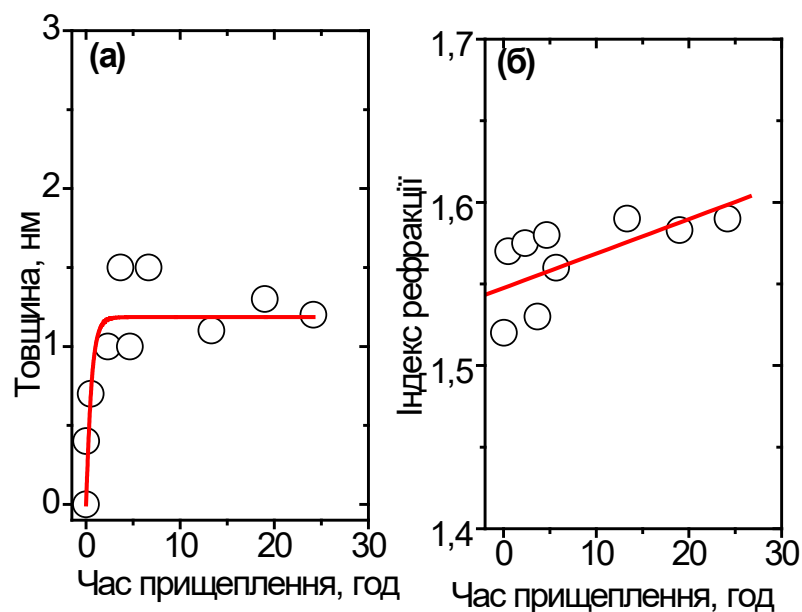


Рис.3.9. Залежність усередненої товщини прищепленого наночару МПІ-1 (а) і його індексу рефракції (б) від часу прищеплення з 0,001 М розчину у діоксані.

Формування наночару МПІ-2 за допомогою методу еліпсометрії було частково досліджено у попередній роботі [211], отримані результати потребували суттєвих уточнень особливо у значеннях індексів рефракції. Відповідно, залежність усередненої товщини наночару МПІ-2 і його індексу рефракції від часу прищеплення наведено на рис.3.10. Максимально можлива усереднена товщина прищепленого наночару становила  $\approx 1,5$  нм, а стадія швидкого росту товщини прищепленого наночару припинялась після 1 год модифікації. У той же час індекси рефракції прищепленого наночару свідчать, що ще деякий час відбувається процеси формування наночару, які повністю припиняються після 2-3 год проходження модифікації. Індекси рефракції даного наночару коливаються, від 1,45 до 1,51.

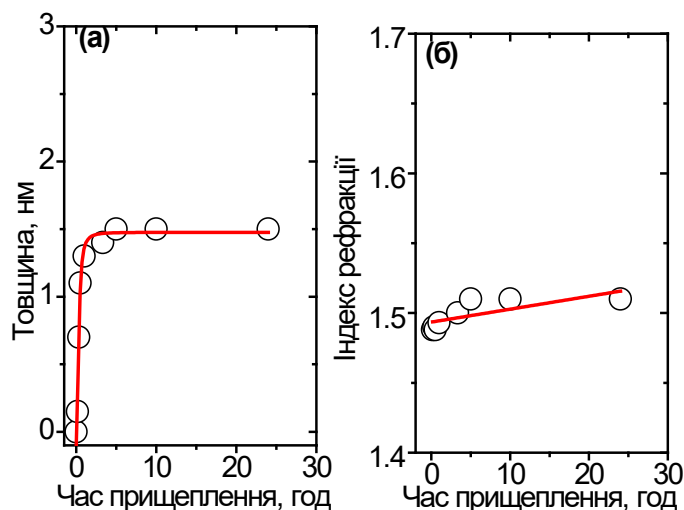


Рис.3.10. Залежність усередненої товщини наночару МПІ-2 (а) і його індексу рефракції (б) від часу прищеплення з 0,001 М розчину у діоксані.

На рис.3.11. наведено залежність усередненої товщини наночару МПІ-3 (а) і його індексу рефракції (б) від часу прищеплення з 0,001 М розчину у діоксані. На відміну від попередніх випадків, максимально можлива усереднена товщина прищепленого наночару становить 2,6 нм, що можна пояснити наявністю об'ємного холестерильного залишку. У загальному, кінетична крива прищеплення у випадку формування наночару МПІ-3 дуже подібна до попередніх, зі стадією швидкого росту наночару, де максимально можлива усереднена товщина наночару забезпечується тільки за 1-2 год модифікації. На нашу думку, це пов'язано, з стеричними затрудненнями у приєднанні наступних молекул ініціатора до поверхні, оскільки об'ємні холестерильні залишки у молекулах ініціаторів, вже прищеплених до поверхні, серйозно утруднюють наближення нових молекул до реакційних центрів на поверхні. Індокси рефракції для наночарів даного типу мультифункціонального ініціатора коливаються у межах 1,5-1,54. Можна стверджувати, що після 2-3 год модифікації значення індексів рефракції також практично не змінюються.

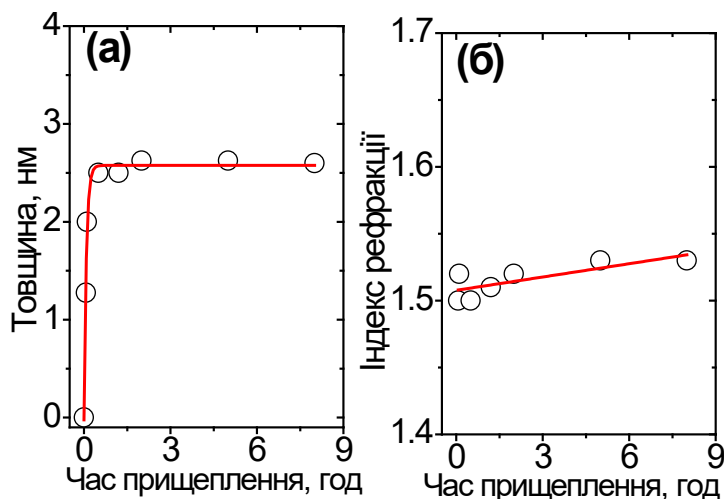


Рис.3.11. Залежність усередненої товщини наночару МПІ-3 (а) і його індексу рефракції (б) від часу прищеплення з 0,001 М розчину у діоксані.

Отримані результати еліпсометрії було порівняно з даними вимірювань контактних кутів змочування водою. Одночасно за допомогою рівняння Касье було розраховано вплив часу модифікації на ступінь модифікації поверхні. Ці результати дають важливу інформацію про структуру прищеплених наночарів, оскільки щільність прищеплення ініціатора до поверхні суттєво міняє її змочування та величини складових вільної поверхневої енергії.

На рис.3.13. показано залежність контактних кутів змочування водою прищепленого наночару МПІ-1 та ступеня модифікації поверхні від часу реакції. Як і у випадку еліпсометричних досліджень кінетики прищеплення, на кривій можна виділити дві ділянки, швидкого та повільного формування прищепленого наночару. Наявність цих двох ділянок очевидно можна пояснити стеричними перешкодами у доступі до аміногруп після ступеня модифікації поверхні більше 70%.

Під часу процесу модифікації гідрофобність поверхні незначно зростає і значення контактного кута змочування  $H_2O$  становить близько  $67^\circ$ . Отриманні значення контактного кута змочування для наночару МПІ-1, сформованого за допомогою метода спін-квотінгу з концентрованого розчину ініціатора, становить також  $67^\circ$ , що свідчить про практично повне покриття поверхні прищепленим наночаром ініціатора.

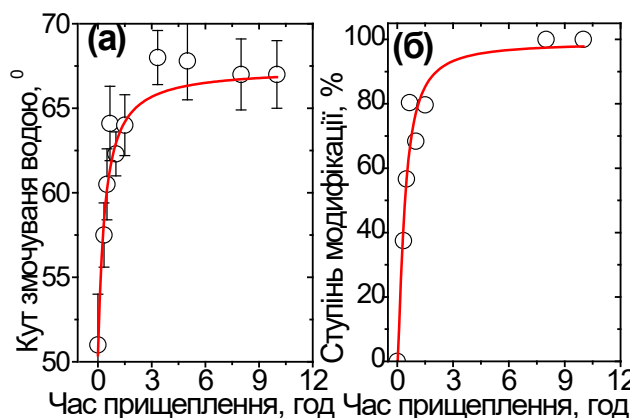


Рис.3.13. Залежність контактної кута змочування водою прищепленого наночару МПІ-1 (а) та ступеня модифікації поверхні (б) від часу модифікації з 0,001 М розчину МПІ-1 у діоксані.

Подібні закономірності демонструють залежності контактних кутів змочування водою прищепленого наночару МПІ-2 (рис. 3.14), які були частково описані у роботі [170]. Значення контактної кута для наночару, МПІ-2 сформованого за допомогою метода спін-квотінгу з концентрованого розчину, ініціатора становило  $71^\circ$ , що практично збігається з значенням контактної кута змочування для прищепленого наночару МПІ-2 на пізніх стадіях модифікації амінованої поверхні. З рівняння Касье впливає, що ступінь модифікації амінованої поверхні становить близько 100%.

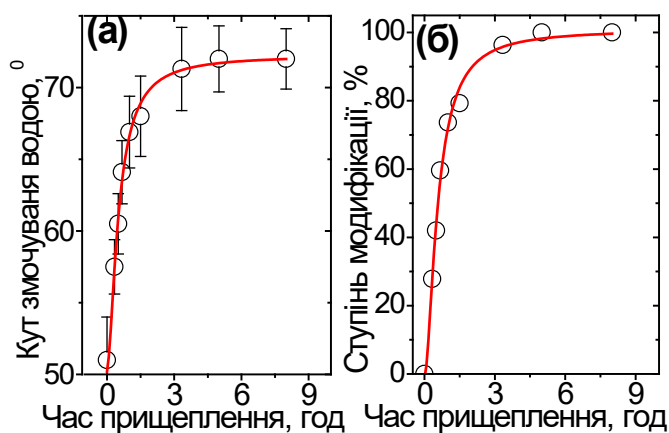


Рис.3.14. Залежність контактних кутів змочування водою прищепленого наночару МПІ-2 (а) та ступеня модифікації поверхні (б) від часу з 0,001 М розчину МПІ-2 у діоксані.

У випадку формування прищепленого наночару МПІ-3 відбувається швидка гідрофобізація амінованої поверхні. На відміну від попередніх випадків контактний кут змочування поверхні «чистого ініціатора», а відповідно і прищеплених наночарів є значно більшим і становить  $78^\circ$ , що вказує на значну гідрофобізацію поверхні. Цей показник досягається на 2-3 годину модифікації поверхні. Як і попередніх випадках максимальний ступінь модифікації поверхні є високим та дорівнює майже 100%.

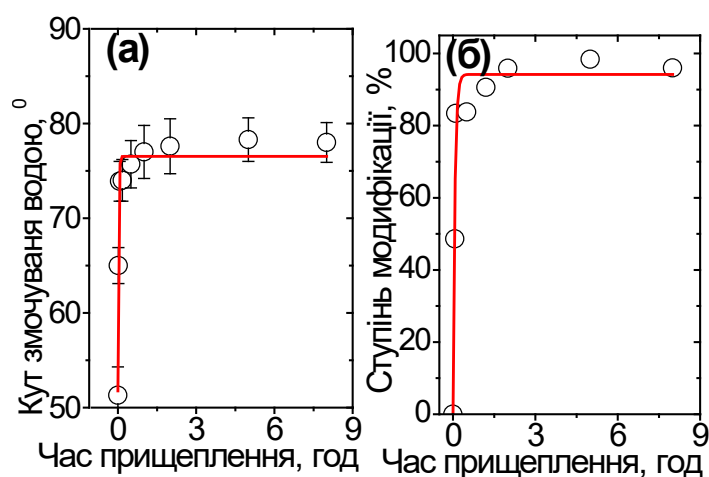


Рис.3.15 Залежність контактних кутів змочування водою прищепленого наночару МПІ-3 (а) та ступеня модифікації поверхні (б) від часу модифікації з 0,001 М розчину МПІ-3 у діоксані.

Важливу інформацію про структуру прищепленого пероксидовмісного покриття дає співставлення даних товщини наночару зі ступенем модифікації поверхні. Рис. 3.16 показує залежність ступеня модифікації поверхні наночаром МПІ-1 від товщини прищепленого наночару. Крива характеризується не лінійністю і наявністю точки перегину. Лінійна залежність спостерігається на ділянці зростання товщини до 1,2 нм та ступеня модифікації до 70%. У подальшому, хоча й відбувається зростання ступеня модифікації поверхні практично до 100%, усереднена товщина прищепленого наночару не тільки не зростає, а й незначно

зменшується. Такий феномен на нашу думку пов'язаний з олігомерною природою МПІ-1, який здатний здійснювати певну переорієнтацію фіксованих макромолекул на поверхні та заповнювати усю поверхню.

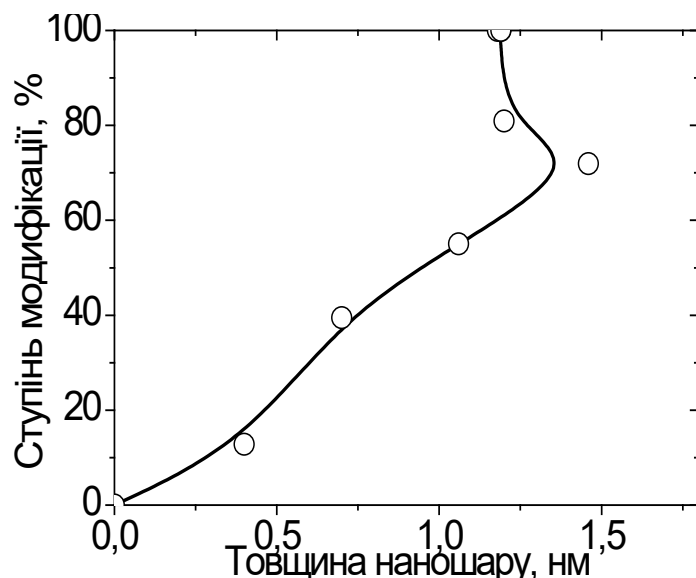


Рис.3.16. Залежність ступеня модифікації амінованої поверхні від товщини прищепленого наночастиці МПІ-1.

Залежність ступеня модифікації амінованої поверхні від товщини прищепленого наночастиці МПІ-2 була описана у роботі [170] і для порівняння наведена на рис.3.17. Отримана крива має видозмінений сигмоїдальний вигляд з обрізаним верхнім краєм. Зростання товщини прищепленого наночастиці МПІ-2 до 1,2 нм лише незначно змінює ступінь модифікації поверхні  $\approx 20\%$ . Після цього картина суттєво змінюється, незначне зростання товщини наночастиці (до 1,5 нм) веде до стрибкоподібного зростання ступеня модифікації. Очевидно, що незначна кількість рівномірно прищеплених молекул МПІ-2, які містять відносно необ'ємні замісники, не має суттєвого впливу на змочуваність поверхні водою, а відповідно і ступінь її

модифікації. І тільки після певного значення наповнення поверхні молекулами МПІ-2 суттєво змінюється змочуваність поверхні.

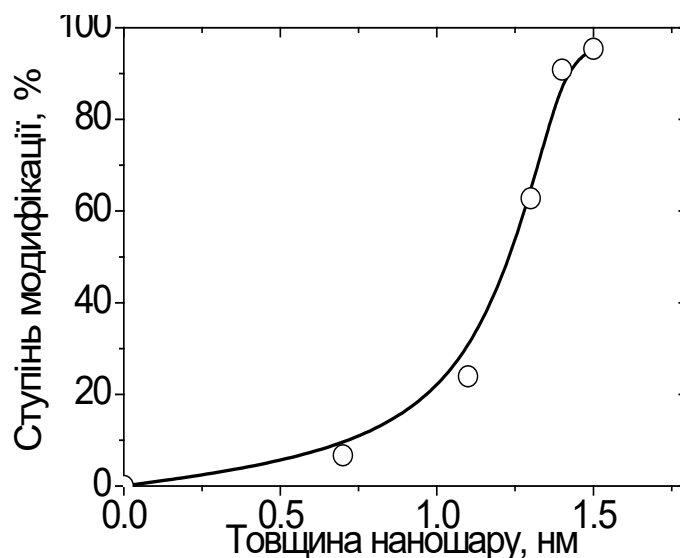


Рис.3.17. Залежність ступеня модифікації амінованої поверхні від товщини прищепленого наночару МПІ-2 .

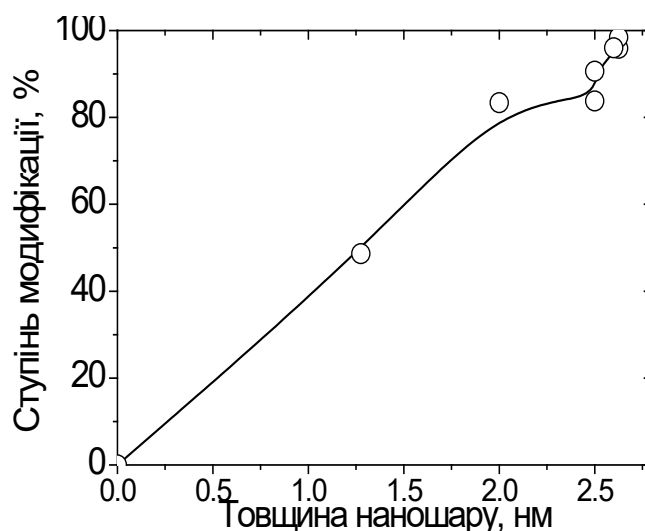


Рис.3.18. Залежність ступеня модифікації амінованої поверхні від товщини прищепленого наночару МПІ-3.

Принципово інша залежність між ступенем модифікації та товщиною прищепленого наночару спостерігається для МПІ-3, який містить не тільки залишок



*трет*-бутилгідропероксиду, а також об'ємний холестерильний замісник (рис.3.18). У цьому випадку практично лінійна залежність спостерігається на всій кривій.

Як видно з отриманих результатів, хоча у всіх випадках спостерігається практично 100% модифікація поверхні, природа замісника має суттєвий вплив на ступінь модифікації поверхні, а у випадку використання МПІ олігомерної природи, рівномірна модифікація на фінішних стадіях формування наночару відбувається скоріше шляхом переорієнтації прищеплених макромолекул на поверхні, а не приєднанням нових з розчину.

Морфологія поверхні була досліджена за допомогою АСМ аналізу. На рис.3.19. показано АСМ зображення поверхонь, модифікованих прищепленим наночаром АПТЕС та АПТЕС/МПІ-1 при 2 год модифікації. Слід зазначити, що поверхня амінованого скла та поверхня амінованого скла з прищепленим наночаром МПІ-1 суттєво відрізняються за своєю структурою, так RMS поверхні амінованого скла становить  $\approx 0,4$  нм, а RMS поверхні амінованого скла з прищепленим наночаром МПІ-1 становить 3,1 нм.

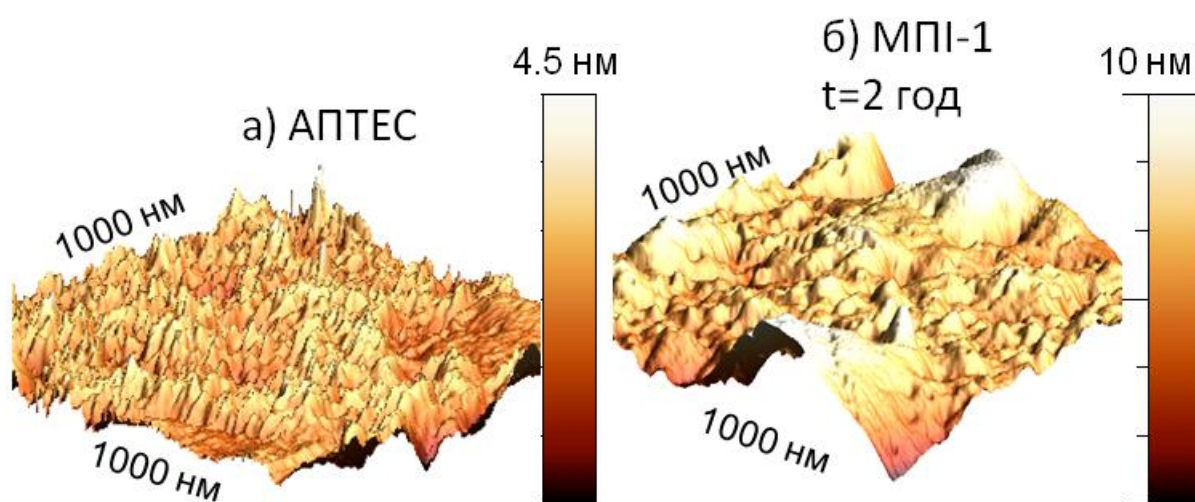


Рис.3.19 АСМ зображення поверхонь модифікованих прищепленим наночаром АПТЕС (а) та МПІ-1 при 2 год (б) часу прищеплення.

Візуально видно, що після прищеплення топографія прищепленого наночару стала більш горбистою, структура горбів є добре вираженою.

Подібні закономірності спостерігаються і у випадку наночару МПІ-3. На рис.3.20 показано АСМ зображення поверхонь модифікованих прищепленим наночаром АПТЕС та АПТЕС/МПІ-3 при 0,07 та 2 годинах часу прищеплення. Як видно з рисунків, а також значень RMS, у процесі модифікації гладенька поверхня скла, модифікована прищепленим наночаром АПТЕС ( $RMS \approx 0,4$ ), стає досить неоднорідною з добре вираженими острівковими структурами ( $RMS \approx 2,6$ ). Продовження процесу модифікації (2 год) призводить до згладжування поверхні, при цьому RMS становить 1,7. Ці дані добре узгоджуються з значеннями індексів рефракції, отриманими за допомогою методу еліпсометрії. Тобто зі зростанням часу модифікації до певного значення зростає не тільки хімічна, а також топографічна однорідність поверхні. Фазовий аналіз для таких досліджень був малоінформативним і тому не використовувався у цих дослідженнях.

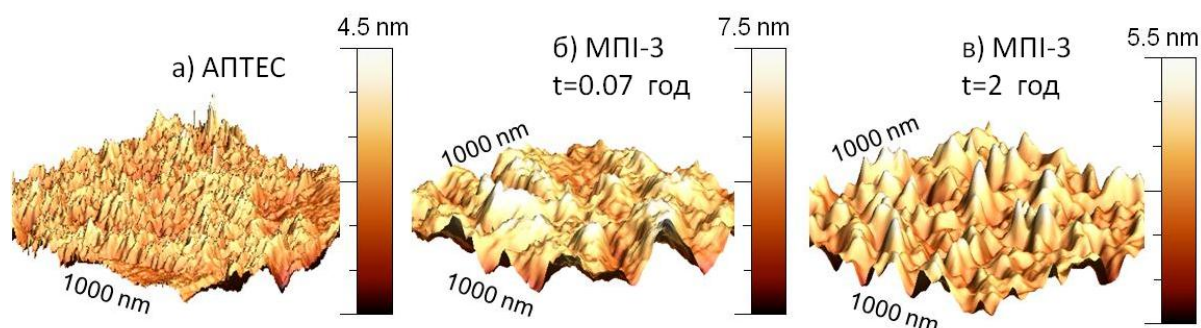


Рис.3.20. АСМ зображення поверхонь модифікованих прищепленим наночаром АПТЕС (а) та МПІ-3 при 0,07 год (б) та 2 год (в) часу прищеплення.

Таким чином можна зробити висновок, що прищеплення МПІ до амінованої поверхні суттєво змінює її топографію та веде до зростання значення RMS.

Для формування узагальнюючої картини про структуру наночарів прищеплених МПІ у програмі ACD/ChemSketch 14.01 нами було проведено

моделювання деяких властивостей та оцінювання лінійних розмірів використовуваних молекул МПІ.

На рис. 3.21. зображено фрагмент молекули МПІ-1 побудований за допомогою програми ACD/ChemSketch 14.01. Аналіз лінійних розмірів цієї молекули від хлорангідридної групи (точки взаємодії з аміногрупою на поверхні) та гідрогенів *трет*-бутилпероксидного залишку не перевищує 1,2 нм. Слід відмітити, що можлива усереднена товщина прищепленого наношару отримана за допомогою еліпсометричних досліджень становила  $\approx 1,5$  нм. Тобто, у переважній більшості олігомерні молекули МПІ-1 розміщені вертикально на поверхні з однією або найбільш ймовірно кількома точками ковалентного зв'язування. Наведений фрагмент - лише один з можливих видів конфігурацій отриманих молекул МІ, частина з яких, очевидно, не вступає у реакції прищеплення на поверхні, внаслідок утруднення доступу хлорангідридних фрагментів до аміногруп або їх гідролізу у процесі проведення модифікації.

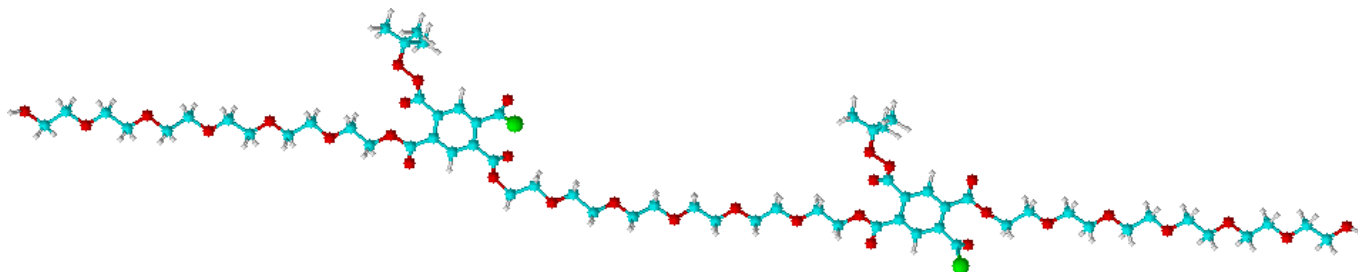


Рис.3.21. Модель фрагменту молекули МПІ-1 побудована за допомогою програми ACD/ChemSketch 14.01

Аналіз лінійних розмірів молекули МПІ-2 (рис.3.22.) від хлорангідридної групи (точки взаємодії з аміногрупою на поверхні) та гідрогенів *трет*-бутилпероксидного залишку, як у попередньому випадку не перевищує 1,2 нм. Це значення добре узгоджується з даними еліпсометричних досліджень, де максимальна товщина прищепленого наношару становила 1,5 нм. Більш товстий наношар МПІ-2 при однакових геометричних розмірах молекул від точки закріплення до гідрогенів

*трет*-бутилпероксидного залишку пояснюється формуванням більш компактних і щільних структур у випадку МПІ-2, у той же час при використанні МПІ-1 фрагменти олігомеру створюють стеричні перешкоди для створення щільної структури наносферу.

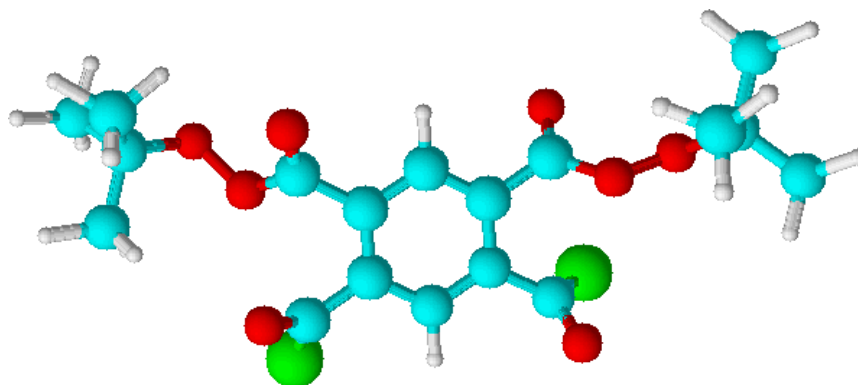


Рис.3.22. Модель молекули МПІ-2 побудована за допомогою програми ACD/ChemSketch 14.01

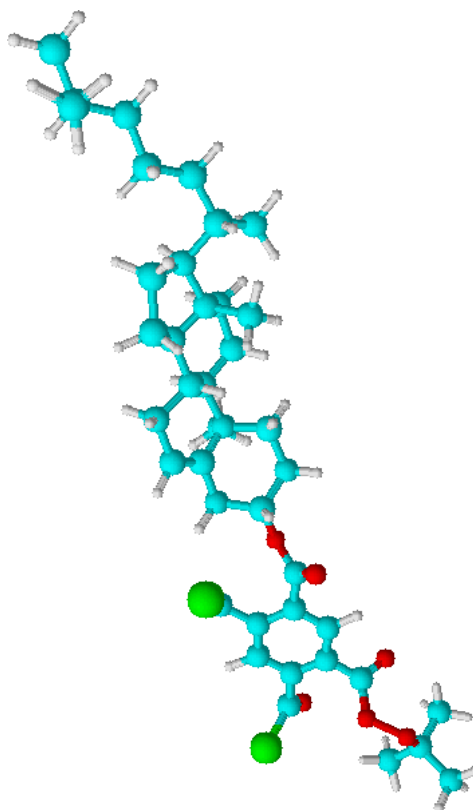


Рис.3.23. Модель молекули МПІ-3 побудована за допомогою програми ACD/ChemSketch 14.01

Лінійні розміри молекули МПІ-3  $\approx 2,4$  нм (між хлорангідридною групою та вершиною холестерильного залишку) також повністю узгоджуються товщиною наночару отриманою за допомогою еліпсометрії (2,6 нм) (рис.3.23). Такі значення свідчать, що холестерильний залишок розміщений перпендикулярно або під великим кутом до поверхні.

Для того, щоб підтвердити описані вище структури прищеплених наночарів на поверхні, було проведено досліди з орієнтації рідких кристалів. Із двох скляних підкладінок, покритих наночаром МПІ-1 утворено комірку. Щілина між підкладінками, яка утворювалась за допомогою майларових смужок фіксованої товщини, становила  $\sim 20$  мкм по краях підкладінок. Отримана комірка заповнювалась нематичним рідким кристалом Н-8. На рис.3.24. приведено фотографію поляризаційно-мікроскопічної текстури отриманої комірки. Ізольовані дефекти силою  $S=1/2$  свідчать про те, що орієнтація молекул нематика на поверхні підкладінок, покритих МПІ-1, є чітко планарною (паралельною до поверхні).

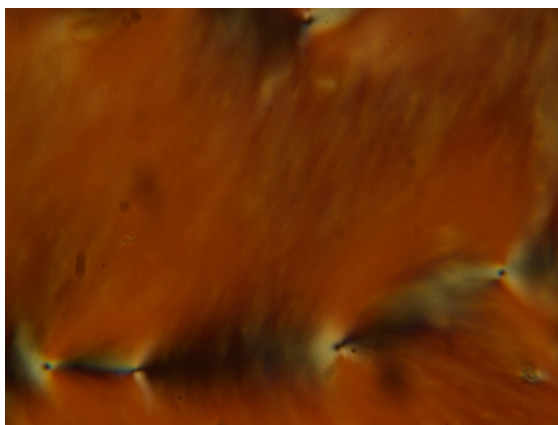


Рис.3.24. Мікрофотографії поляризаційно-мікроскопічної текстури отриманої при заливанні нематика у комірку, стінки якої модифіковані прищепленим наночаром МПІ-1. Ізольовані дефекти силою  $S=1/2$ , які свідчать про те, що орієнтація молекул нематика на поверхні підкладінок, покритих МПІ-1, є чітко планарною (паралельною до поверхні).

Якщо б молекули нематика були нахилені відносно поверхні підкладки, то із ядер дефектів сили  $S=1/2$  мали б виходити дефектні стінки, як це показано на рис.3.25.

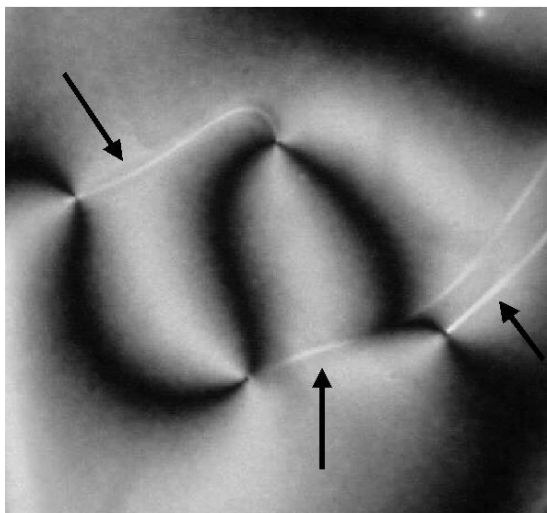


Рис.3.25. Дефектні стінки (показані стрілками), які виходять із ядер дефектів силою  $s=1/2$ , та вказують на похилу орієнтацію молекул нематика відносно поверхні [181-182].

Мікрофотографії поляризаційно-мікроскопічної текстури, отриманої при заливанні нематика у комірку, стінки якої модифіковані прищепленим наношаром ПМІ-3, що спостерігаються між схрещеними поляризаторами при різних азимутальних орієнтаціях, наведено на рис.3.26. Обертання комірки змінює текстуру від майже повного згасання до просвітління на більшій частині комірки. Останнє вказує на те, що нематичні молекули орієнтуються планарно або нахилені відносно площини субстрату. У різних місцях комірки текстура при зміні її положення змінюється нерівномірно, що свідчить про нерівномірну азимутальну орієнтацію директора (тобто прищеплені молекули МПІ-3, які впливають на орієнтацію нематика не направлені у одну сторону). Щоб виправити азимутальну орієнтацію директора, модифікована поверхня натирається у певному напрямку вельветовою тканиною, а потім формується комірка з нематиком.

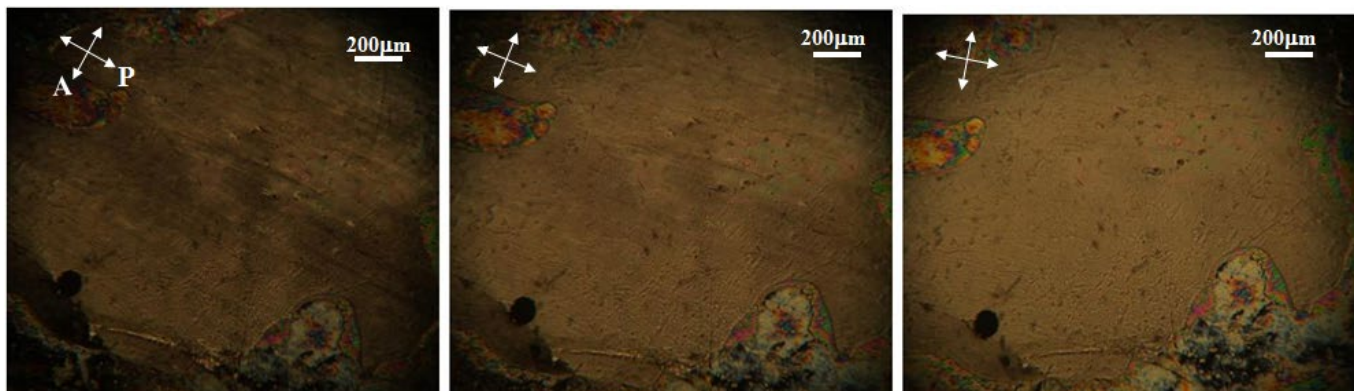


Рис. 3.26. Мікрофотографії поляризаційно-мікроскопічної текстури отриманої при заливанні нематика у комірку, стінки якої модифіковані прищепленим наночаром ПМІ-3, при поступовій зміні положення перехрещених поляризаторів.

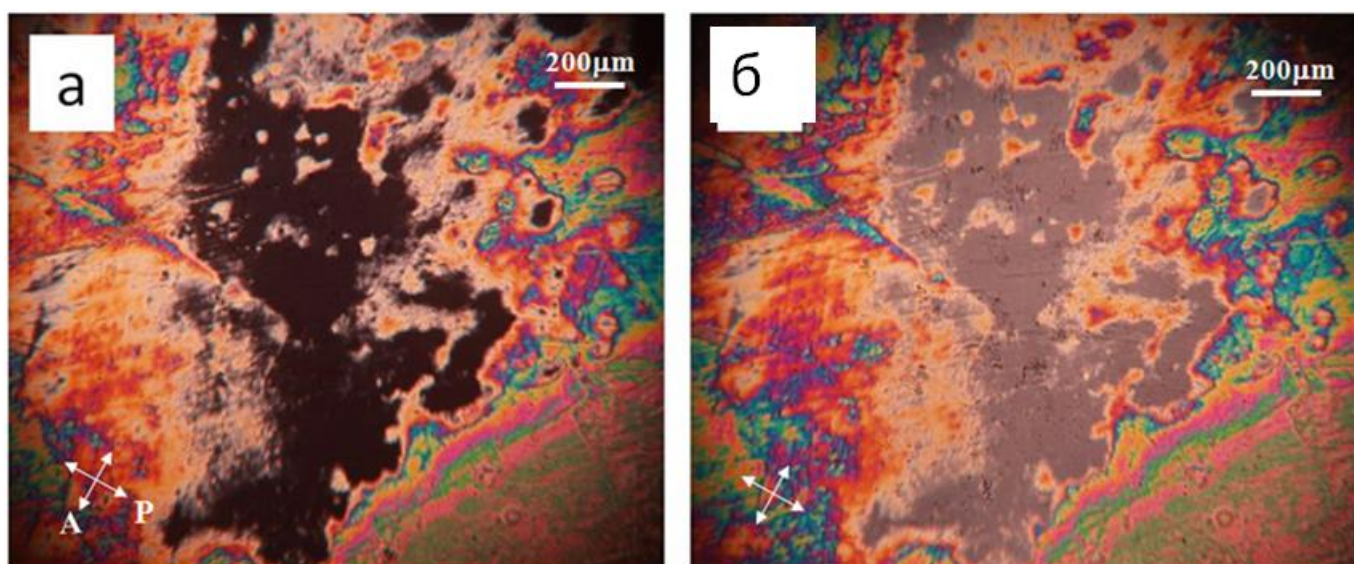


Рис. 3.27. Мікрофотографії поляризаційно-мікроскопічної комірок залитих нематиком з наночаром МПП-3, орієнтованим на поверхні за допомогою механічного натирання, що демонструє повне згасання в області (а), де нематичні молекули є нормальними щодо поверхні, покритої РСНР. Натискання на комірку веде до блискавичного зростання яскравості (б), що дискримінує гомеотропне вирівнювання щодо випадку ізотропної фази.

Механічне натирання поверхні веде до вирівнювання напрямку директора, за винятком деяких острівців, де видно повне згасання для будь-якої азимутальної орієнтації клітини (рис. 3.27.). Останнє дозволяє припустити, що в цих місцях

орієнтація нематичного директора є гомеотропною, тобто перпендикулярною щодо обох субстратів комірки. Таку ж текстуру, що залишилася погашеною для будь-якої азимутальної орієнтації клітини, можна спостерігати за ізотропною фазою. Два випадки, що відповідають гомеотропній нематичній та ізотропній фазі, легко розрізнити натисканням комірки голкою, що для гомеотропної нематичної орієнтації у комірці призводить до блискавичного зростання яскравості текстури, тоді як комірці з ізотропною фазою залишалася погашеною навіть під пресуванням. У досліджуваній комірці ми спостерігаємо блискавичне освітлення текстури (рис. 3.27б) при натисканні, тому області тотального згасання відповідають гомеотропній орієнтації директора з нематичним директором перпендикулярним на обох субстратів комірки. У той же час, навколо гомеотропної області спостерігаються яскраві кольори інтерференції, що вказує на те, що в цих місцях нематичні молекули злегка нахилені на одному або обох клітинних субстратах щодо норми.

Прищеплена густина - важливий параметр, який показує кількість молекул на поверхні, а також дозволяє визначити кількість пероксидних груп ініціатора на одиницю площі. Цей параметр був вирахований згідно формули:

$$\sigma = \frac{h\rho N_A}{M},$$

де  $\sigma$  – прищеплена густина (молекул/нм<sup>2</sup>),  $h$  – висота наночару у сухому стані, визначена за допомогою еліпсометрії (нм),  $\rho$  – об'ємна густина сполуки в масі (г/см<sup>3</sup>),  $N_A$  – стала Авогадро,  $M$  – молярна маса прищепленої молекули (г/моль) ( $M_{\text{МПП-1}} \approx 2844$ ;  $M_{\text{фрагменту МПП-1}} = 711$ ;  $M_{\text{МПП-2}} = 329$ ;  $M_{\text{МПП-3}} = 731$ ).

Значення об'ємної густини сполуки у масі було отримано нами з даних програми ACD/ChemSketch 14.01. Для ПМІ-1, ПМІ-2 та ПМІ-3 вони становили 1.35, 1.32, 1.2 г/см<sup>3</sup>, відповідно.

Крім того, було визначено площу, яка приходить на одну прищеплену молекулу, використовуючи рівняння:

$$S = 1/\sigma,$$



де  $S$  – площа, яка припадає на одну прищеплену молекулу ( $\text{нм}^2$ ),  $\sigma$  - прищеплена густина (молекул/ $\text{нм}^2$ ).

Отримані результати наведені у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Максимально можлива концентрація прищеплених МПІ на амінованій поверхні, їх прищеплена густина та площа, яка припадає на одну прищеплену молекулу

Зразок		h, нм	Концентрація МПІ		Б, молекул(ланок)/ нм <sup>2</sup>	S, нм <sup>2</sup>
			мг/м <sup>2</sup>	моль/нм <sup>2</sup>		
МПІ-1	молекул	1,3	1,75	$0,61 \cdot 10^{-24}$	0,371	2,7
	ланок			$2,46 \cdot 10^{-24}$	1,484	0,67
МПІ-2		1,5	1,98	$6,01 \cdot 10^{-24}$	3,623	0,276
МПІ-3		2,6	3,12	$4,27 \cdot 10^{-24}$	2,570	0,39

У таблиці 3.3. наведено розраховані прищеплені концентрації МПІ на амінованих поверхнях, а також густина їх прищеплення та площа, яка припадає на одну прищеплену молекулу. Максимально можлива концентрація МПІ на поверхні суттєво залежить від природи замісника, так найвище значення прищепленої густини показано для наночастиці МПІ-2  $\approx 3,6$  молекули/ $\text{нм}^2$  (де у якості замісників містяться дві *трет*-бутильні групи), а найнижче для МПІ-1, який має олігомерну природу  $\approx 1,4$  ланки/ $\text{нм}^2$ . Відповідно, використання різних МПІ для модифікації амінованих поверхонь дозволяє суттєво регулювати кількість ініціюючих центрів на поверхні амінованих субстратів.

Закономірності формування прищепленого наночастиці 2-бромо-2-метилпропанової кислоти описані у численних публікаціях [33-37, 183]. Зважаючи

на популярність цього реагента, ми оминули у цій роботі детальне вивчення формування наночарів на основі цього МІ, проте у наших дослідженнях було підтверджено формування його прищепленого наночару, показано його товщину та кут змочування. На рис. 3.28. наведено схему формування прищеплених наночарів 2-бromo-2-метилпропанової кислоти (ATRP ініціатор) на амінованих поверхнях. Формування наночару ATRP ініціатора проводилося за рекомендованими методиками [183].

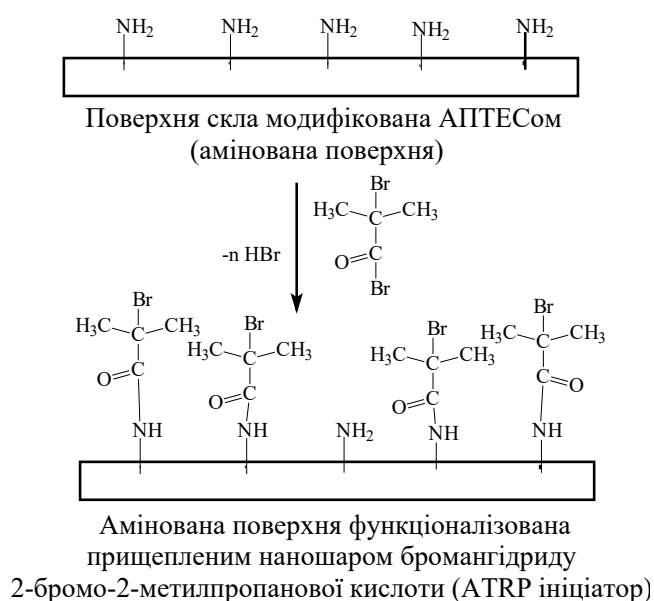


Рис.3.28. Схема формування прищеплених наночарів 2-бromo-2-метилпропанової кислоти на амінованих поверхнях.

Проходження модифікації поверхні підтверджено за допомогою ToF-SIMS вимірювання. На відміну від поверхні скла зі наночаром АПТЕС, де було ідентифіковано тільки  $\text{CH}_4\text{N}^+$  групу, різноманіття виявлених вторинних іонів після прищеплення ATRP ініціатора значно зростає. Нами були ідентифіковані  $\text{C}_4\text{H}_7\text{O}^+$ ,  $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}^+$ ,  $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}^+$ ,  $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}^+$ ,  $\text{C}_4\text{H}_{16}\text{N}^+$ , що свідчить про присутність прищепленого наночару ATRP ініціатора на поверхні амінованого скла. Згідно з даних еліпсометрії усереднена товщина прищепленого наночару ATRP ініціатора становила близько 0,7 нм, що добре узгоджується з лінійними розмірами молекули

розрахованими від бром у бром ангідридній групі до атомів гідрогену у метильних групах чи бром у (рис. 3.29).

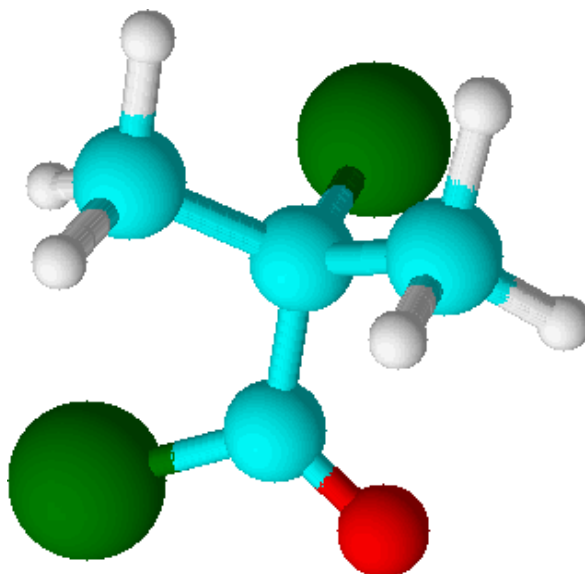


Рис.3.29. Модель молекули ATRP ініціатора побудована за допомогою програми ACD/ChemSketch 14.01

У свою чергу кут змочування водою поверхні модифікованої прищепленим наночаром ATRP ініціатора становить близько  $55^\circ$ , ступінь модифікації поверхні при подібних значеннях вихідного та цільового кутів змочування є недоцільними для розрахунку, проте, спираючись на попередній досвід, ми можемо припустити, що за допомогою ATRP ініціатора досягаються високі ступені модифікації поверхні.

Розрахована прищеплена густина молекул ATRP ініціатора при  $\rho = 1,946$  (г/см<sup>3</sup>) та  $M = 229,9$  (г/моль) становила 3,566 молекул/нм<sup>2</sup>, а площа, яка припадає на одну прищеплену молекулу ATRP ініціатора – 0,28 нм<sup>2</sup>.



Модифікація твердих неорганічних поверхонь за допомогою мультифункціональних ініціаторів радикальної полімеризації та надання їм певних поверхневих властивостей є одним з основних напрямків розвитку сучасної полімерної хімії. Молекули наведених ініціаторів у своїй структурі містять одночасно групи, які здатні ініціювати прищеплену полімеризацію (пероксидні), та інші функціональні групи, зокрема, хлорангідридні, які забезпечують іммобілізацію модифікуючої молекули на поверхні, карбоксильні, які надають рН-чутливі властивості прищепленим полімерним щіткам. Певну орієнтацію рідких кристалів на твердій поверхні скла забезпечують холестерильні групи. Створені прищеплені полімерні щітки мають температуру- та рН-чутливі властивості.

Відповідно до представлених нами та відомих з літературних джерел результатів МПІ та ATRP ініціатори можуть бути використані для формування мономолекулярних наночарів на амінованих неорганічних поверхнях. При чому, кількість прищеплених молекул на поверхні, а відповідно кількість ініціюючих центрів суттєво залежить від природи функціональних груп у структурі МІ. Таким чином, використання МІ різної природи – елегантний спосіб регулювання кількості ініціюючих груп на поверхні.

## РОЗДІЛ 4.

### ФОРМУВАННЯ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ТЕМПЕРАТУРО-ЧУТЛИВИХ ПРИЩЕПЛЕНИХ ПОЛІМЕРНИХ ЩІТОК З НИЖНЬОЮ КРИТИЧНОЮ ТЕМПЕРАТУРОЮ РОЗШАРУВАННЯ

«Розумні» полімери (smart or intelligent polymers) – новий тренд сучасної полімерної хімії, що розвинувся у останні роки. «Розумні» полімери здатні до значної реакції на відносно слабке зовнішнє подразнення. Вони можуть стрибкоподібно змінити форму чи стан при незначній зміні температури, вологості, кислотності чи освітлення. Очевидна привабливість застосування таких систем у медицині та біотехнологіях. Вони дають можливість здійснювати контрольовані маніпуляції біологічними системами. Зміна температури на декілька градусів чи незначні зміни у рН дозволяють суттєво (у десятки разів) змінювати властивості таких полімерів, їх морфологію, м'якість тощо. Суттєво зріс інтерес до створення мультичутливих систем, які можуть змінювати свої властивості під впливом кількох факторів, наприклад рН та температури середовища. Найбільш поширені чутливі полімерні системи, які ґрунтуються на нижній критичній температурі розшарування (НКТР). Це пов'язано з певною поширеністю мономерів ОЕГМА та НІПАМ. Проте синтез, властивості та застосування прищеплених щіток з НКТР все ще досить обмежені. Особливо цікавим є застосування прищеплених полімерних щіток з НКТР, що дозволяє здійснювати контрольовані маніпуляції об'єктами на рівні окремих клітин та біомакромолекул, мікро- та наночасток, контрольовано орієнтувати рідкі кристали чи створювати нанокомпозиційні матеріали.

На рис.4.1 представлена схема формування наночасток прищеплених щіток з НКТР. Більшість з наведених на схемі мономерів не тільки не використовували для синтезу прищеплених щіток, але і не досліджували як потенційні мономерні для одержання температуро-чутливих полімерів. Нами вперше було створено наночастки температуро- та рН-чутливих прищеплених щіток полі(*N*-ізопропілакриламід), полі(етилового етеру триетиленглікольмонометакрилату), полі(метилового етеру

диетиленглікольмонометакрилату). Вперше показано температуро-чутливі властивості для наночарів прищеплених щіток полі(4-вінілпіридину) та полі(пентаеритрилмонометакрилату).

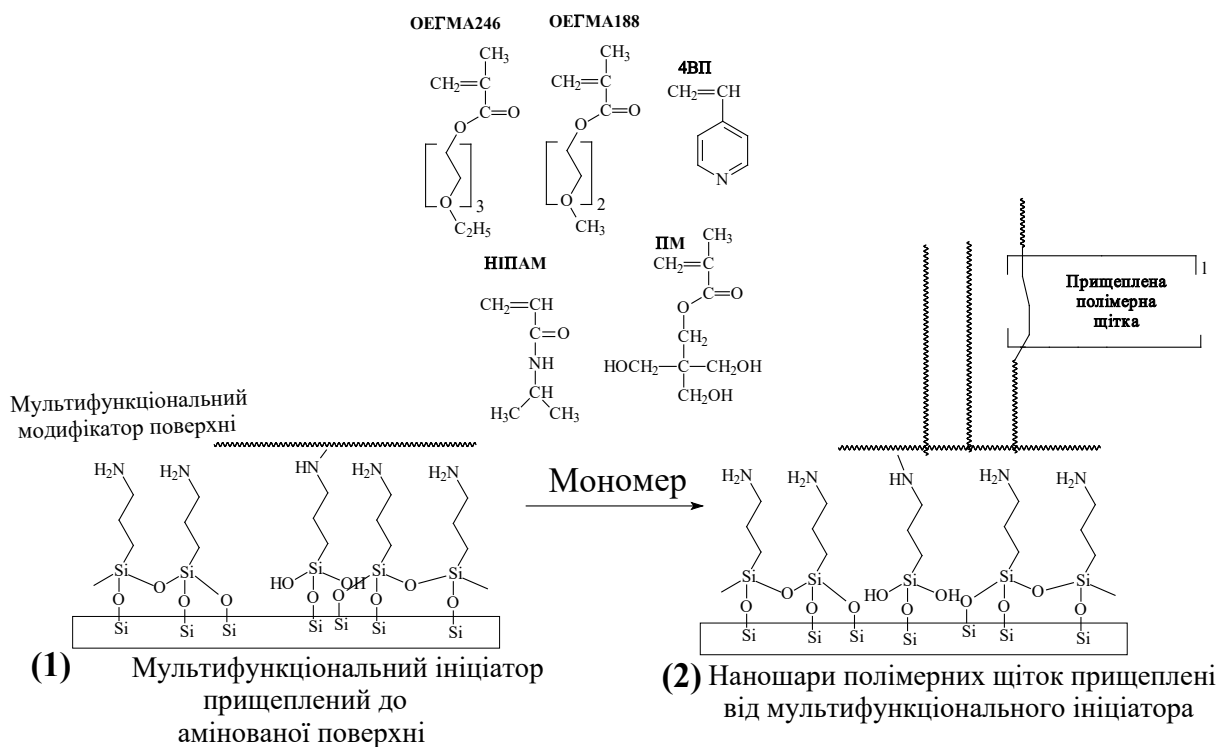


Рис.4.1. Схема формування наночарів прищеплених щіток з НКТР (2) від мультифункціонального ініціатора прищепленої полімеризації іммобілізованого на поверхні амінованого скла. НІПАМ – *N*-ізопропілакриламід, ОЕГМА246 – етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату, ОЕГМА188 – метиловий етер диетиленглікольмонометакрилату, ПМ – пентаеритрилмонометакрилат, 4ВП – 4-вінілпіридин

#### 4.1. Формування, властивості та застосування наночарів температуро- та рН-чутливих прищеплених полімерних щіток ПНІПАМ

У останні роки певна увага приділяється синтезу, вивченню властивостей та застосуванню наночарів прищеплених щіток полі(*N*-ізопропілакриламиду) – ПНІПАМ [105, 158, 184-185]. Проте у жодній з розглянутих нами робіт не описані рН чутливі властивості гомополімерів ПНІПАМ, проте наведені дані про суттєве погіршення температуро-чутливих властивостей для кополімерів на основі *N*-

ізопропілакриламідів, які містять у своїй структурі рН-чутливі ланки. Модифікація поверхні скла наночастинами прищеплених щіток ПНПАМ здійснювали за допомогою МПІ-1. Методом ініціювання “від поверхні” до отриманого пероксидованого наночастиною прищеплювали наночастиною щіток ПНПАМ. Прищеплення, тут і далі, відбувається за рахунок радикалоутворення при термічному гомолізі ( $T=90^{\circ}\text{C}$ ) пероксидних груп МПІ-1. Змінюючи час прищеплення, досягали контрольованого ступеня модифікації поверхні [158].

Для підтвердження процесів формування прищеплених наночастинок здійснювали дослідження поверхні з використанням часопротіної вторинної іонної мас-спектрометрії (TOF-SIMS). Використання TOF-SIMS дозволяє отримати інформацію про тонку молекулярну будову поверхні. Результати TOF-SIMS представлені у вигляді спектрів позитивних іонів, отриманих з поверхонь, модифікованих наночастинами АПТЕС, АПТЕС/МПІ-1, та наночастинами прищеплених щіток ПНПАМ (в) (рис.4.2). Спектрограма з поверхні скла, модифікованого АПТЕСом (товщина покриття згідно даних еліпсометрії  $\sim 0.5$  нм), наведена на рис.4.2а. На спектрограмі ідентифікований  $\text{CH}_4\text{N}^+$  сигнал, характерний для наночастинок АПТЕС. Спектрограма, отримана з поверхонь, модифікованих прищепленим наночастиною АПТЕС/МПІ-1 (товщина прищепленого наночастиною МПІ-1, згідно даних еліпсометрії, становить близько 1 нм) наведена на рис.4.2б. На ній ідентифіковані фрагменти МПІ-1, які містять Оксиген ( $\text{CH}_3\text{O}^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^+$ ,  $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}^+$  та  $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2^+$ ), а також характерний фрагмент піромелітової кислоти ( $\text{C}_7\text{H}_7^+$ ). Крім того, видно піки, які належать іонам  $\text{CH}_4\text{N}^+$  та  $\text{C}_3\text{H}_8\text{N}^+$ , що свідчить про прищеплення МПІ-1 до АПТЕСу. На останній стадії модифікації, методом «прищеплення від», формували наночастиною прищеплених щіток ПНПАМ [158]. Спектрограма TOF-SIMS цієї поверхні наведена на рис.4.2в. Товщина отриманого наночастиною, згідно даних еліпсометрії, становила близько 40 нм. Вторинні іони, характерні для МПІ-1, відсутні на цій спектрограмі, що свідчить про повну модифікацію поверхні наночастиною прищеплених щіток ПНПАМ [158]. Проте, на спектрограмі добре виражені піки, характерні для ПНПАМ:  $\text{C}_3\text{H}_8\text{N}^+$  і  $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}^+$  [158, 184-185].

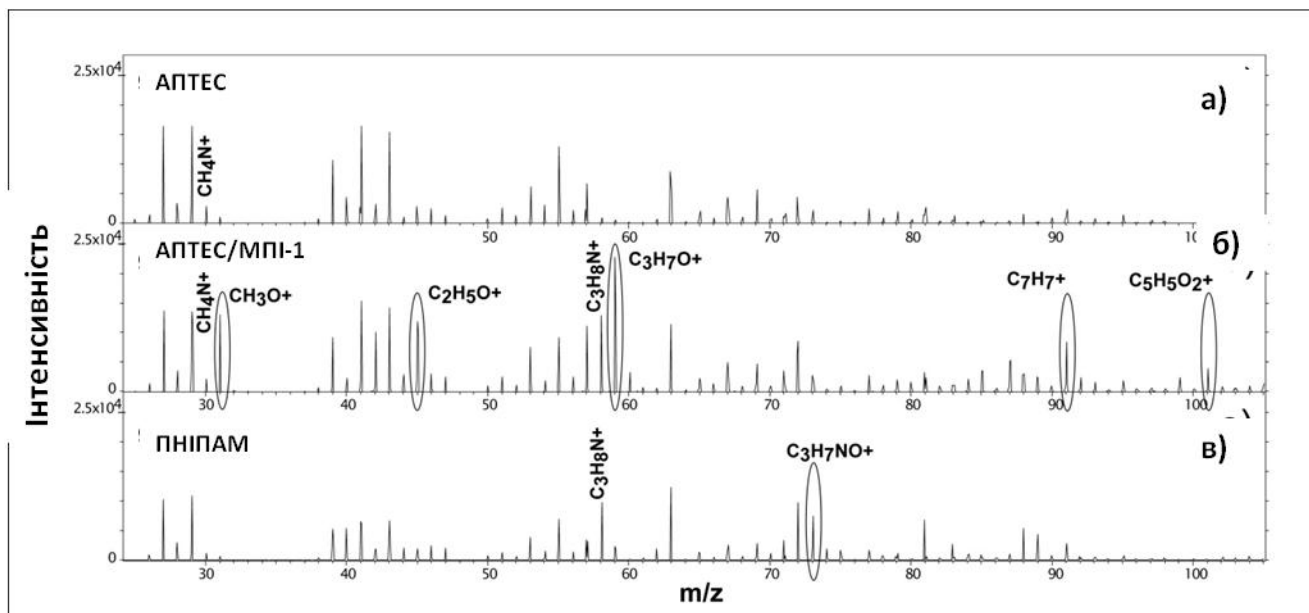


Рис.4.2. TOF-SIMS спектрограми піків позитивних вторинних іонів, отримані з поверхонь, модифікованих наночастинами АПТЕС (а), АПТЕС/МПІ-1 (б), та наночастинами прищеплених щіток ПНІПАМ (в) [158].

Вимірювання контактного кута змочування водою прищеплених наночастинок ПНІПАМ з різним часом формування прищепленого шару (0-48 год), а відповідно із різним ступенем модифікації поверхні було проведено у температурному діапазоні від 20 до 40 °С [158]. Зміни у значеннях контактних кутів змочування водою спостерігалися для всіх випадків за винятком наночастинок мультифункціонального ініціатора, при цьому хоча НКТР розшарування ПНІПАМ у розчині складає 32 °С, нами спостерігався зсув значень НКТР до 28-30 °С. Зміна значень контактних кутів змочування водою добре узгоджується з температурно-індукованим переходом прищеплених щіток ПНІПАМ від гідратованого стану (набухлі полімерні ланцюги) до гідрофобного стану (колапсовані полімерні ланцюги) [158, 186]. Слід відмітити, що НКТР спостерігається навіть для незначних часів прищепленої полімеризації (2 год), де ступінь модифікації поверхні становить тільки 25% (рис. 4.3).



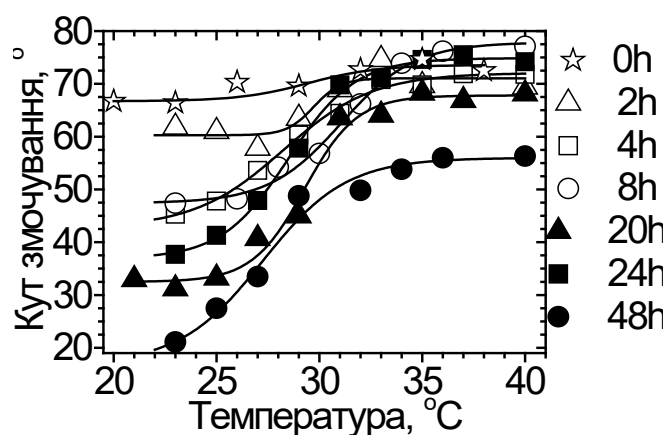


Рис.4.3. Залежність контактних кутів змочування водою наночарів прищеплених щіток ПНПАМ, отриманих за різної тривалості процесу полімеризації.

На рис.4.4 наведено криву залежності ступеня модифікації поверхні, від часу прищеплення [158]. Ступінь модифікації розраховували за рівнянням Касьє [156-157], на основі значень контактного кута змочування водою, отриманих при 25°C. Значення контактного кута змочування водою поверхні «чистого» мультифункціонального пероксидного ініціатора становило  $67 \pm 3^\circ$ , а значення контактного кута змочування водою поверхні «чистого» полі(N-ізопропілакриламід) –  $19 \pm 3^\circ$ . Згідно отриманих даних, досягнуті високі значення модифікації поверхні (більше 90%) прищепленим наночаром полі(N-ізопропілакриламід). Процес прищепленої полімеризації відбувається дуже швидко на початкових стадіях, високий ступінь модифікації поверхні щітками ПНПАМ (близько 75%) спостерігається після 20 год. термообробки [158].

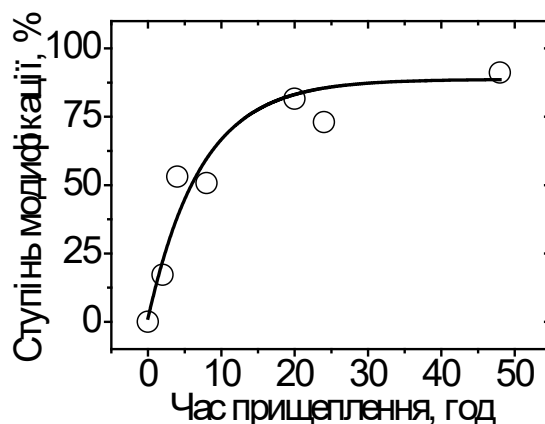


Рис.4.4. Залежність ступеня модифікації поверхні прищепленими щітками ПНІПАМ від часу прищепленої полімеризації

На рис. 4.5 наведено усереднену товщину та індекс рефракції наночару прищеплених щіток ПНІПАМ від часу полімеризації [158]. Максимально можлива товщина прищепленого наночару досягалася за 25 год і становила близько 38 нм. У той же час індекс рефракції, після значного падіння на початку процесу модифікації, що пов'язано з неоднорідністю наночару ПНІПАМ на початкових стадіях модифікації, поступово зростає і досягає значення 1.51. На початкових стадіях полімеризації відбувається швидкий ріст прищепленого наночару, який з часом сповільнюється, що пов'язано з одного боку зі стеричними перешкодами доступу мономерів та ростучого макрорадикала у розчині до макрорадикалів на поверхні, а з іншого боку – з вичерпуванням груп ініціатора на поверхні у процесі полімеризації [158]. Виходячи з товщини прищепленого наночару та об'ємної густини ПНІПАМ в масі ( $1.07 \text{ г/см}^3$  [184-185]), легко розрахувати масу прищепленого ПНІПАМ до поверхні, яка для товщини наночару у 38 нм буде дорівнювати приблизно  $40 \text{ мг/м}^2$  [158].

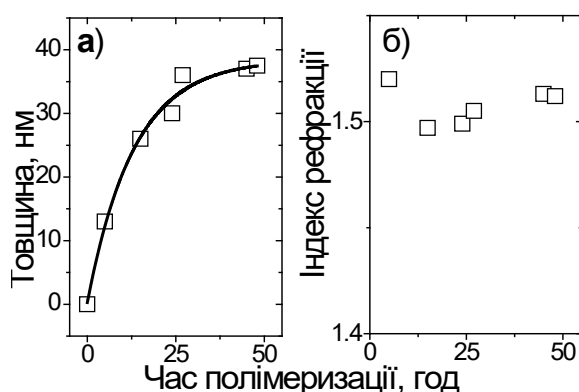


Рис.4.5. Залежність усередненої товщини (а) та індексу рефракції (б) наночару прищеплених щіток ПНІПАМ від часу полімеризації

#### 4.1.1. Одночасний вплив температури та рН на поведінку наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ.

Наступним етапом роботи було дослідження впливу рН на властивості прищеплених наночарів. На рис.4.6 зображено залежність контактних кутів змочування водою від температури, після обробки зразків буферними розчинами з різними значеннями рН (3, 5, 7, 9). Заміри здійснювалися для поверхонь з різним часом модифікації ПНІПАМом. Температурна залежність спостерігається для зразків, на яких сформовано прищеплений наночар полі(N-ізопропілакриламід) (рис.4.6 б, в та г). При цьому спостерігалися температурочутливі зміни після перебування поверхонь у буферних розчинах за рН 7 та 9, однак, за рН 3 та 5 змін не виявлено. Інтенсивність термочутливих переходів суттєво залежить від часу прищепленої полімеризації, а отже від ступеня модифікації поверхні та товщини прищепленого наночару. Для поверхонь з низьким ступенем модифікації (рис. 4.6 б) спостерігається відносно слабо виражений температурний перехід. У протилежність, для поверхонь з високими ступенями модифікації, відбувається значна зміна природи поверхні, після переходу певної температурної точки. На відміну від промивання зразків водою, їх промивання у буферних розчинах дещо змінило значення НКТР, які тепер становлять 31-32<sup>0</sup>С [158].

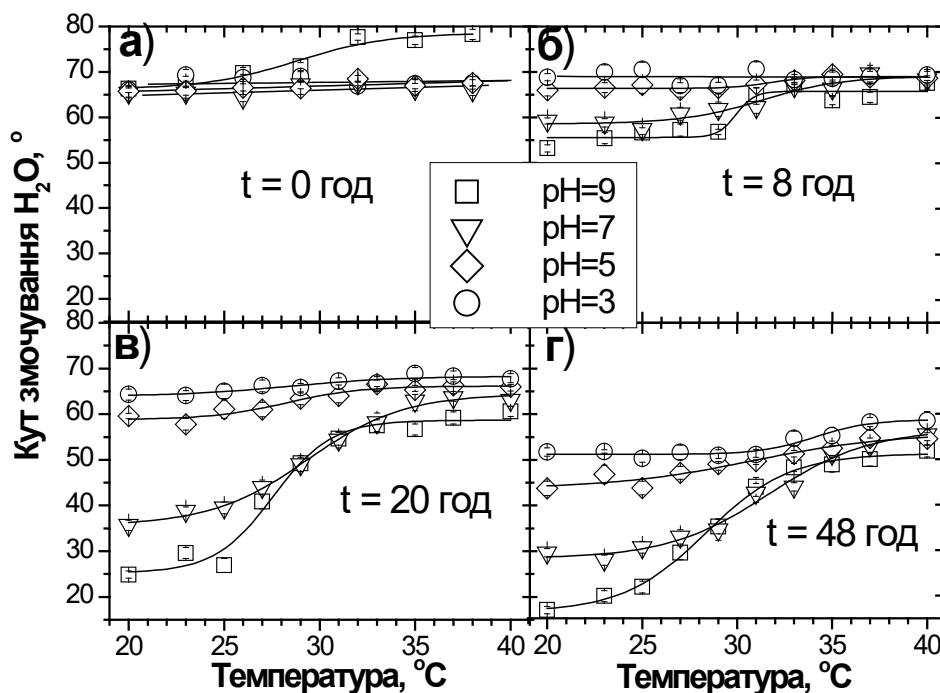


Рис.4.6. Криві залежностей контактних кутів змочування водою від температури, визначені при різних значеннях рН, для немодифікованих зразків (а) та з часом модифікації поверхні наночаром ПНПАМ 8 (б), 20 (в) і 48 (г) год.

Для ілюстрації процесів, які проходять на поверхні за впливу різних рН та температур оточуючого середовища, нами запропоновано узагальнений механізм утворення водневих зв'язків між амідними групами ПНПАМ, карбоксильними групами МПІ-1 та водою (рис. 4.7). За цією схемою, після занурення зразків у буферні розчини за рН=9 та 7 та  $T < T_c$ , переважають водневі зв'язки між гідрофільними групами ( $-NH-C=O$ ) сегментів ПНПАМ і водою. У той же час за підвищення температури до  $T > T_c$  розриваються існуючі водневі зв'язки та починають домінувати водневі зв'язки між амідними групами ПНПАМ [158, 187].

Після занурення зразків у кислий буферний розчин, у межах усього досліджуваного температурного інтервалу, домінують зв'язки, між протонованими карбоксильними групами МПІ-1 та амідними групами ПНПАМ. Таким чином, існуючі водневі зв'язки між амідними групами молекул ПНПАМ та карбоксильними групами МПІ-1 блокують утворення водневих зв'язків між

амідними групами ПНІПАМ та молекулами води. Тому термочутливі властивості модифікованих поверхонь не проявляються [158, 187].

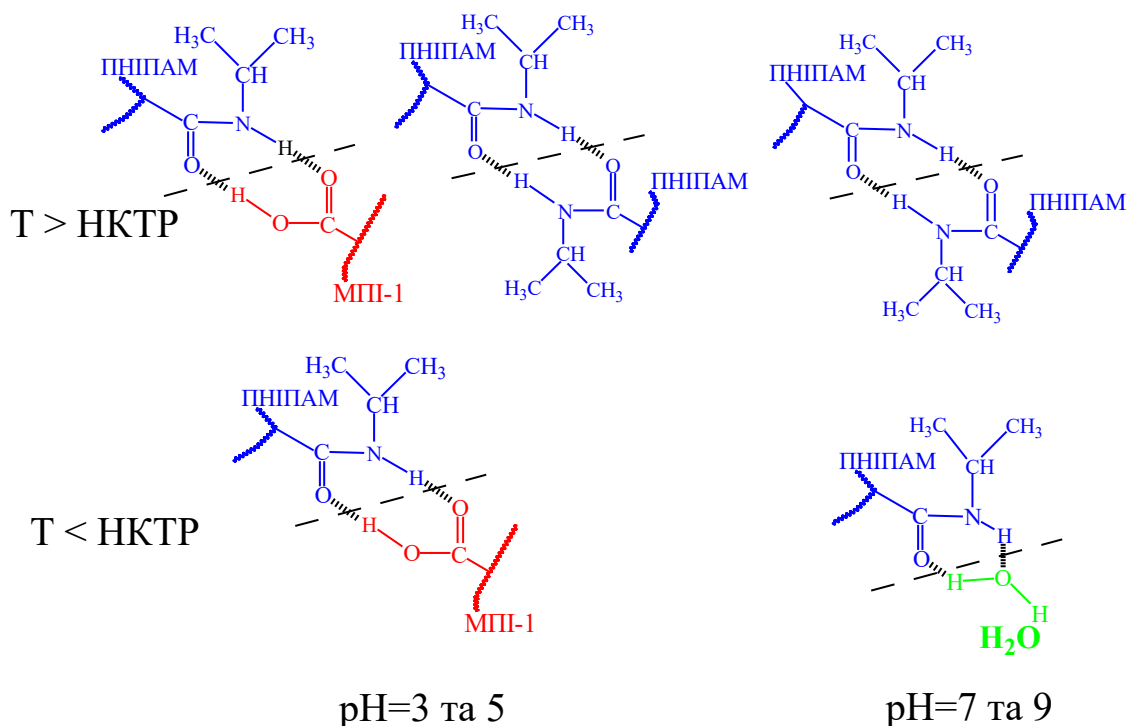


Рис.4.7. Гіпотетичні схеми утворення водневих зв'язків між амідними групами полі(N-ізопропілакриламід), карбоксильними групами МПІ-1 та водою за різних температур та рН середовища [158].

Для аналізу одночасного впливу температури та рН на морфологію наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ були проведені дві серії вимірювань з використанням АСМ. У першому випадку було досліджено морфологію наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ за різних температур після занурення у буферний розчин (рН=9), а у другому випадку заміри проводилися після занурення зразка у буферні розчини з різними рН при сталій температурі 22 °С. Результати першої серії замірів представлені на рис.4.8. Мікрофотографії зображають морфологію поверхні при послідовних температурах від 20 до 32 °С. З підвищенням температури поверхня наночару прищеплених щіток ПНІПАМ стає одночасно більш шорсткою і структурованою з виникненням островкових структур. Середньо-квадратична шорсткість (RMS) поверхні зростала від 1,2 нм при 20 °С до 2,0 нм при 32 °С. Ці

морфологічні зміни добре узгоджуються з теоретичними та експериментальними даними про температуро-індукований перехід конформації макромолекул ПНІПАМ від розгорнутих набухлих щіток, і відповідно відносно плоскої поверхні при 20 °С до колапсованих гідрофобних агрегатів макромолекул при температурі 32 °С, які представлені на поверхні у вигляді острівковоподібних структур [158].

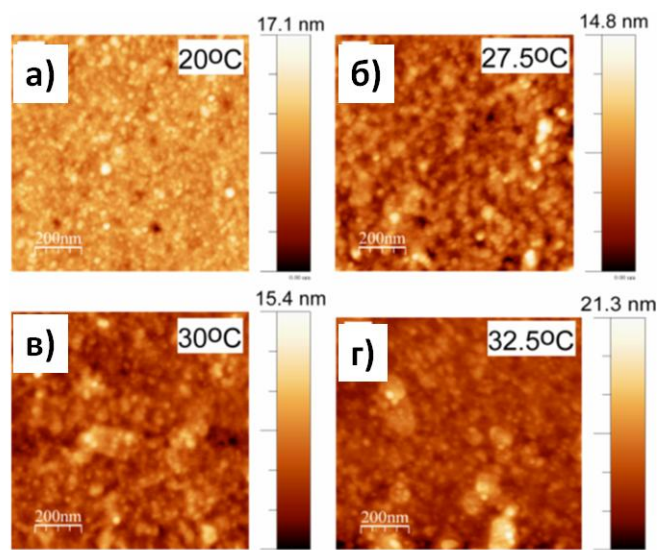


Рис.4.8. АСМ мікрофотографії наношарів прищеплених щіток ПНІПАМ записані при рН=9 для температур 20 (а), 27.5 (б), 30 (в) і 32.5°C (г) зі значеннями RMS 1.2, 1.7, 1.5 і 2.0 нм відповідно.

У свою чергу, мікрофотографії, наведені на рис.4.9 свідчать про рН-індукований перехід наношарів прищеплених щіток ПНІПАМ від гідратованого до гідрофобного стану після послідовних занурень у буферні розчини з рН від 9 до 3 при 22 °С. Спочатку відносно гладка поверхня (рН=9) змінюється на шорстку та структуровану після поміщення у буферні розчини з рН від 7 до 3. Це відображається на значенні RMS, яке зростає від 0,7 (рН 9) до 2,4 нм (рН 3). Морфологічні зміни під впливом рН є краще виражені, ніж під впливом температури. Причиною цього є принципово різний механізм колапсування прищеплених макромолекул ПНІПАМ [158].

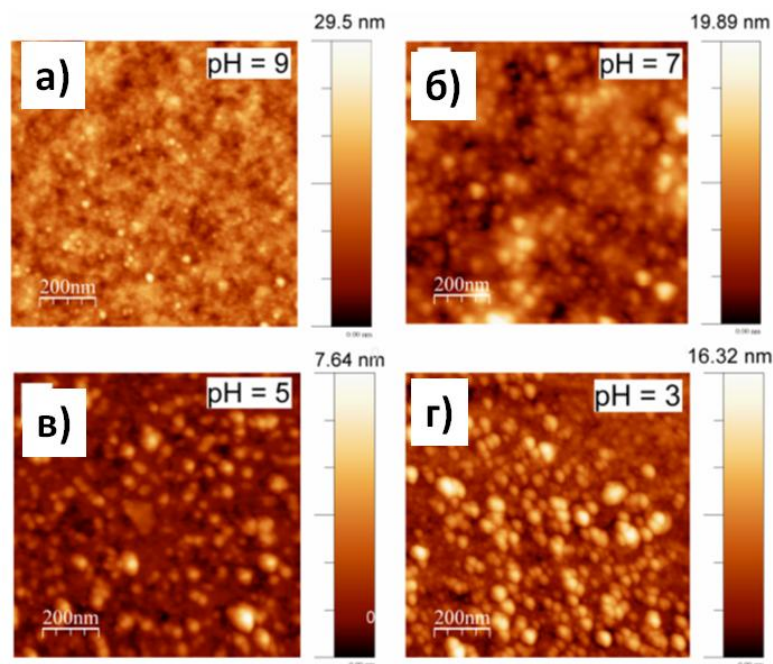


Рис. 4.9. АСМ мікрофотографії морфології наношарів прищеплених щіток ПНІПАМ записані при температурі 22 °С для рН 9 (а), 7 (б), 5 (в) і 3 (г) з значеннями RMS 0.7, 2.3, 3.1 і 2.4 нм відповідно.

#### ***4.1.2. Вплив температури та рН на контрольовану адсорбцію білків на поверхні наношарів прищеплених щіток ПНІПАМ***

Одночасно температуро- та рН-чутливі системи мають значні перспективи застосування як засоби контрольованої адсорбції білків. На рис. 4.10 наведено флуоресцентні мікрофотографії адсорбованого білка соєвого лецитину, міченого флуоресцеїном при різних умовах проведення адсорбції. Лецитин відноситься до класу лектинів – білків, які здатні специфічно зв'язувати вуглеводи, особливо фрагменти  $\alpha$ -D-манози, що часто присутні на поверхні клітин [188, 189]. Фрагменти манози входять до складу манозних рецепторів, які відповідають за процеси адгезії на поверхні і запускають певні біологічні реакції [190]. Таким чином, наношари ПНІПАМ чутливі одночасно до дії температури та рН, потенційно здатні ініціювати та контрольовано змінювати певні біологічні процеси. Слід відмітити, що зміна рН може безпосередньо впливати на структуру і поведінку білків, проте у випадку соєвого лецитину такі зміни скоріше є незначними [191].

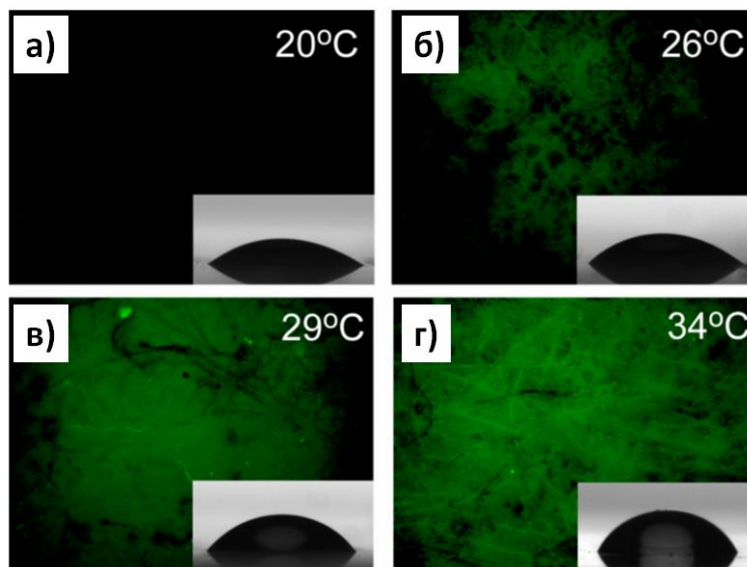


Рис.4.10. Флуоресцентні мікрофотографії білка соєвого лецитину адсорбованого на поверхні наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ при рН=9 та температурах 20 (а), 26 (б), 29 (в) і 34°C (г).

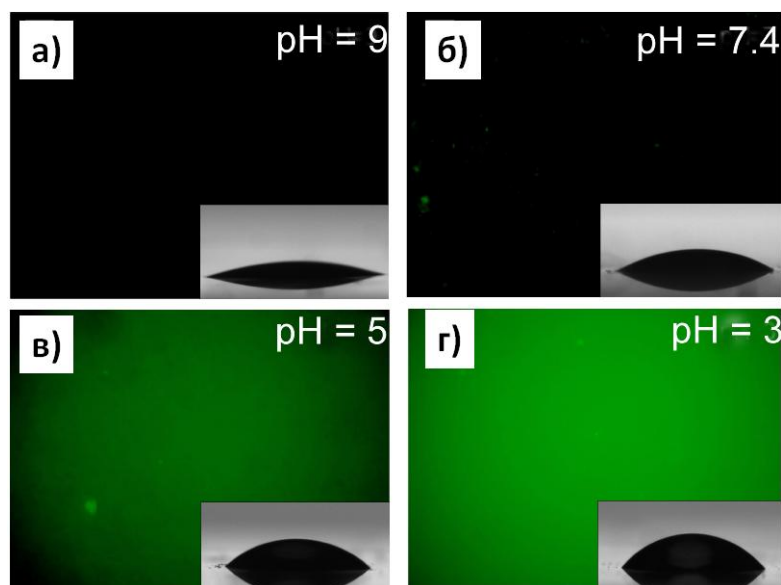


Рис. 4.11. Флуоресцентні мікрофотографії білка соєвого лецитину адсорбованого на поверхню наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ при температурі 22 °С та значеннях рН 9 (а), 7.4 (б), 5 (в) і 3 (г).

На рис.4.10 наведено флуоресцентні мікрофотографії білка соєвого лецитину адсорбованого на поверхні наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ при рН=9 та температурах від 20 до 34°C. Видно, повну відсутність адсорбованого білка при 20



°C, незначну його кількість при 26 °C, та високу при 29 та 34 °C. Тобто зі зростанням гідрофобності наночарів прищеплених щіток ПНППАМ, зростає їхня здатність адсорбувати білок. У продовження було проведено адсорбцію білка соєвого лецитину на поверхню наночарів прищеплених щіток ПНППАМ при температурі 22 °C та значеннях рН від 9 до 3. Відповідні результати представлені на рис.4.11. Видно практично повну відсутність адсорбції при рН 9 та 7,4, у протилежність до значної адсорбції при рН 5 та 3. Такі зміни у адсорбційній активності супроводжувались рН-індукованим переходом поверхні наночару від гідрофільної до відносно гідрофобної. Таким чином, наночари прищеплених полімерних щіток ПНППАМ можуть успішно бути використані для контролю адсорбції білків за допомогою не тільки температури, але і рН.

#### **4.2. Формування, властивості та застосування наночарів температуро- та рН-чутливих прищеплених полі(етилового етеру триетиленглікольмонометакрилату)**

Наночари прищеплених щіток полі(етиленглікольметакрилатів) відносяться не тільки до температурочутливих, але і до так званих “non-fouling” полімерів, які мають низьку здатність сорбувати білки, володіють високою біосумісністю та антиімунногенними властивостями, що важливо при їх використанні у біологічних системах [192-193]. Наночари прищеплених щіток полі(етилового етеру триетиленглікольмонометакрилату) - ПОЕГМА246 було сформовано з використанням МПІ-1 згідно методики описаної у розділі 2.4.

Формування прищепленого наночару ПОЕГМА246 було підтверджено за допомогою методу TOF-SIMS (рис.4.12). Видно, що після прищепленої полімеризації ПОЕГМА246 за рахунок розпаду пероксидних груп МПІ-1, синтезований наночар демонструє ряд нових піків позитивних іонів. Так, на TOF-SIMS спектрограмах піків позитивних вторинних іонів поверхні скла, попередньо модифікованої молекулами АПТЕС та МПІ-1 виявлено піки  $C_3H_8N^+$ ,  $C_3H_7O^+$ ,  $C_3H_7N_2O^+$  та  $C_3H_9O_2^+$ , унікальні для молекул МПІ-1 [192-193]. У той же час, при

прищеплені наносарів ПОЕГМА246, на спектрограмі з'являється ряд піків, характерних для ПОЕГМА246:  $C_2H_5O^+$ ,  $C_4H_5O^+$  і  $C_4H_9O^+$ , а також  $C_2H_3^+$ ,  $C_2H_5^+$ ,  $C_3H_5^+$ ,  $C_5H_7^+$ ,  $C_4H_7^+$ . У виносці представлені нормовані інтенсивності чотирьох піків, унікальних для шару МПІ-1. Показано, що їхні інтенсивності при прищепленні ПОЕГМА246 знижуються на 94%, 90%, 85% та 96% для  $C_3H_8N^+$ ,  $C_3H_7O^+$ ,  $C_3H_7N_2O^+$  та  $C_3H_9O_2^+$ , відповідно, що вказує на повне покриття поверхні наносаром прищеплених щіток ПОЕГМА246.

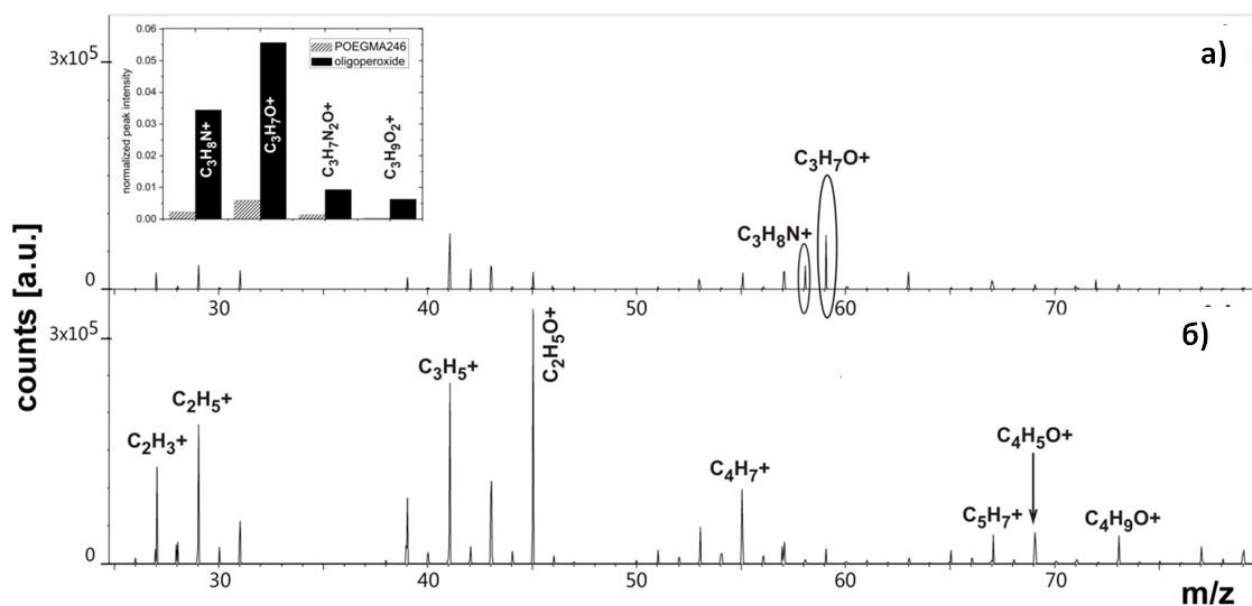


Рис.4.12. TOF-SIMS спектрограми піків позитивних вторинних іонів, отримані з поверхонь, модифікованих наносарями АПТЕС/МПІ-1 (а) та прищеплених щіток ПОЕГМА246 (б)

Усереднена товщина наносарів прищеплених щіток ПОЕГМА246 зростала з часом полімеризації до 37-40 нм протягом 40 год. На основі даних еліпсометрії було розраховано концентрації МПІ-1 та ПОЕГМА246 на поверхні. Об'ємна густина МПІ-1 та ПОЕГМА246 становила  $1,35 \text{ г/см}^3$  та  $1,0 \text{ г/см}^3$  відповідно, а обчислена концентрація МПІ-1 дорівнює  $2 \text{ мг/м}^2$ , тоді як концентрація ПОЕГМА246 (рис.4.13) зростає від 0 до  $40 \text{ мг/м}^2$  із збільшенням часу полімеризації [192-193].

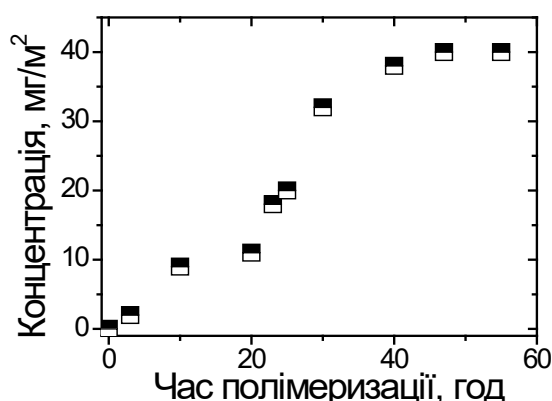


Рис. 4.13. Концентрація прищеплених макроланцюгів ПОЕГМА246 у залежності від часу прищепленої полімеризації.

Контактні кути змочування водою наночарів ПОЕГМА246 вимірювали в інтервалі від 18 до 33 °С для зразків, виготовлених при різній тривалості процесу полімеризації (0 до 48 год). Результати, представлені на рис.4.14, показали практично повну відсутність реакції на зміну температури для наночару МПІ-1 (зірочки, рис.4.14) [192-193].

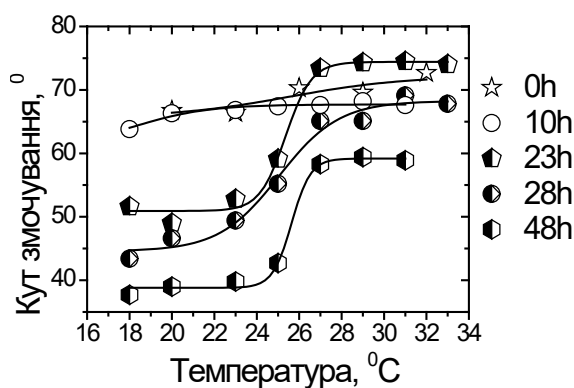


Рис.4.14. Залежність значень контактних кутів змочування водою від температури для наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246 отриманих при різній тривалості процесу полімеризації.

У той же час, наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246 виготовлених з часом полімеризації в межах від 23 до 48 год демонструють значні зміни у змочуванні, з переходом поверхонь від гідрофільних до гідрофобних при підвищенні температури

від 18 до 32 °С. Вони відповідають переходам від конформації розтягнутих гідратованих щіток (при температурах нижче НКТР) у гідрофобний стан з колапсованими макроланцюгами (при температурах вищих за НКТР) [110, 192-193]. У попередніх роботах [110, 113-116, 192-193] фазовий перехід ПОЕГМА246 у водному розчині характеризувався стрибкоподібними змінами властивостей при НКТР = 26 °С. На відміну, щітки ПОЕГМА246, прищені до МПІ-1 із часом полімеризації 10 год (рис) та 20 год (еліпсометрично визначена концентрація ПОЕГМА246 - 9 та 11 мг/м<sup>2</sup>, відповідно) не демонстрували типової температурочутливої поведінки. Більше того, значення контактних кутів змочування були дуже схожі на значення записані для поверхні, модифікованої лише мультифункціональним ініціатором. Це явище можна пояснити блокуванням типових температурочутливих властивостей ПОЕГМА246 в результаті утворення комплексу між карбоксильними групами мультифункціонального ініціатора та етерними фрагментами ПОЕГМА246 [192, 193, 194, 195]. Подібні взаємодії спостерігаються між полі(карбоновими кислотами) та полі(етиленоксидом) навіть у нейтральному середовищі [194-195]. Співвідношення концентрацій неіонізованих карбоксильних груп (-COOH), здатних брати участь у утворенні комплексу та іонізованих груп (-COO<sup>-</sup>) у мультифункціональному ініціаторі у нейтральному середовищі (після занурення в дистильовану воду) є постійним. Концентрація етерних груп у ПОЕГМА246 змінюється для наночарів прищеплених щіток приготовлених при різній тривалості процесу полімеризації.

На рис.4.15а наведено контактні кути змочування водою наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246 при 20°C як функції часу полімеризації. Для часу полімеризації ПОЕГМА246 до 23 год та відповідної концентрації фрагментів ПОЕГМА246 - 18 мг/м<sup>2</sup> спостережувані контактні кути змочування показують поверхню більш гідрофобною, ніж очікувалося, що можна пояснити утворенням комплексу між етерними групами ПОЕГМА246 та неіонізованими карбоксильними групами МПІ-1 [194-195]. Схему колексоутворення наведено на рис.4.15 в та г. Для

низької концентрації етерних груп ПОЕГМА246 температуро-чутливі властивості повністю блокуються карбоксильними групами ініціатора (рис.4.15в), тоді як для більш високих концентрацій прищеплених щіток ПОЕГМА246 деяка кількість етерних груп залишається незаблокованими (рис. 4.15г). Тому для часу полімеризації вище 23 год спостерігається гідрофільність поверхонь та типова температуро-чутлива поведінка. Залежність різниці між верхнім і нижнім значеннями контактних кутів змочування від часу полімеризації (рис.4.15б), також показує значну зміну властивостей поверхні для зразків приготованих із часом полімеризації більше 20 год [192-193].

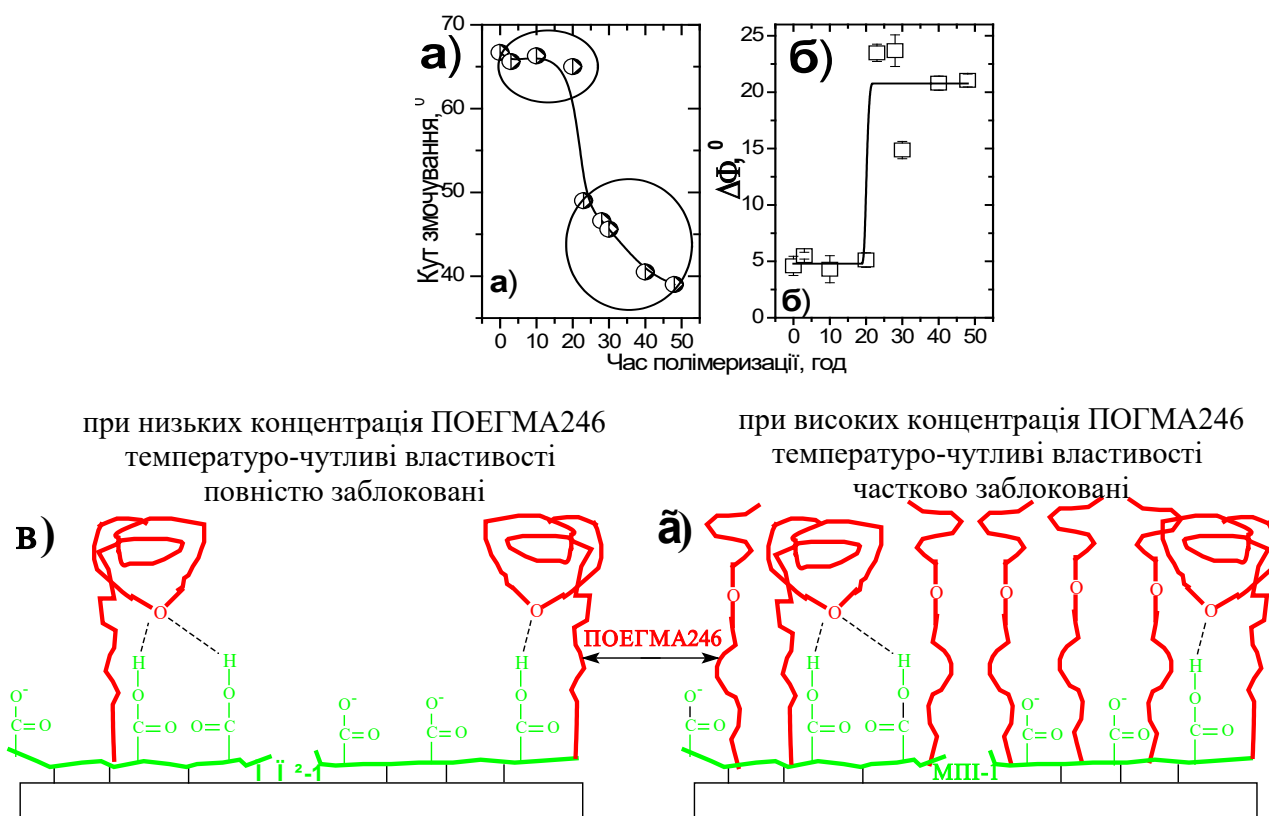


Рис.4.15. Залежність контактних кутів змочування наносфер прищеплених щіток ПОЕГМА246 при 20 °С від часу прищеплення (а); залежність різниці між значенням контактних кутів змочування при температурах нижче та вище НКТР ( $\Delta\Phi$ ) від часу прищеплення (б). Повністю (в) та частково блоковані (г) прищеплені щітки ПОЕГМА246 при високій та низькій концентрації ПОЕГМА246 на поверхні.

Таким чином, підтверджується гіпотеза, що температуро-залежна поведінка наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246 залежить від співвідношення концентрацій МПІ-1 та ПОЕГМА246 (карбокисильних та етерних груп). Для наночарів ПОЕГМА246 з концентрацією на поверхні меншою за  $20 \text{ мг/м}^2$ , температуро-чутливі властивості були заблоковані для всіх досліджуваних температур, навіть у нейтральному середовищі. А для концентрації ПОЕГМА246 на поверхні вище  $20 \text{ мг/м}^2$  прищеплені щітки здатні проявляти температуро-чутливі властивості при значеннях рН, близьких до 7 [192-193].

За допомогою еліпсометрії було підтверджено вплив концентрацій прищеплених щіток ПОЕГМА246 на їх температуро-чутливу поведінку. Вміст води в структурі наночарів ПОЕГМА246 занурених у воду розраховували, приймаючи показники заломлення ПОЕГМА246 та води, рівними 1,5 та 1,33 відповідно. Показники індексу рефракції практично не змінювалися при зміні температури (рис. 4.16). Вміст води в покритті ПОЕГМА246 після 10 годин полімеризації становить при  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  - 82,3%, а при  $31 \text{ }^\circ\text{C}$  - 81,1%, що говорить про відсутність температуро-чутливих властивостей для цього наночару [192-193].

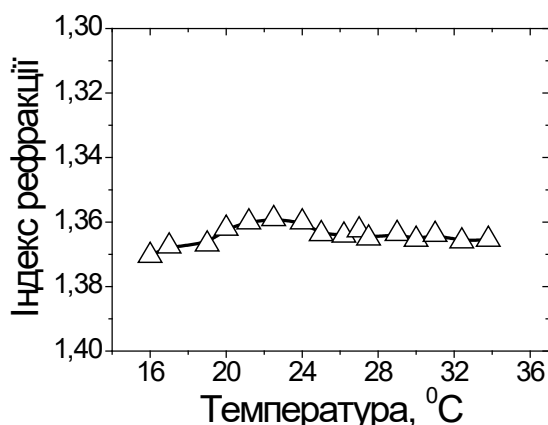


Рис.4.16. Залежність індексу рефракції наночару прищеплених щіток ПОЕГМА246 у воді з часом полімеризації 10 год. від температури.

Навпаки, для зразків, приготовлених з часом полімеризації тривалістю 30 год. було продемонстровано добре виражений температуро-індукований перехід. На

рис.4.17 наведено залежність висоти наночару прищеплених щіток ПОЕГМА246 у воді з часом полімеризації 30 год та індексу його рефракції від температури. Видно, що при 18 °С товщина наночару ПОЕГМА246 становить близько 100 нм, а при підвищенні температури до 36 °С вона зменшується до 35 нм. У той же час спостерігається зростання індексу рефракції (рис.4.17), що свідчить про утворення щільніше упакованих структур [192-193]. Така здатність змінювати конформацію макромолекул пов'язана з тим, що при температурі, нижчій НКТР етерні фрагменти ПОЕГМА246 утворюють водневі зв'язки з молекулами води, що надає поверхні гідрофільності. При температурі вищій за нижню критичну температуру розшарування відбувається розрив цих зв'язків, і конформацію макромолекул ПОЕГМА246 визначають ван-дер-ваальсові взаємодії між його власними фрагментами (рис.4.20). Це веде до виштовхування молекул води з шару полімеру, він ущільнюється, його товщина зменшується, а поверхня стає більш гідрофобною [110, 192-193].

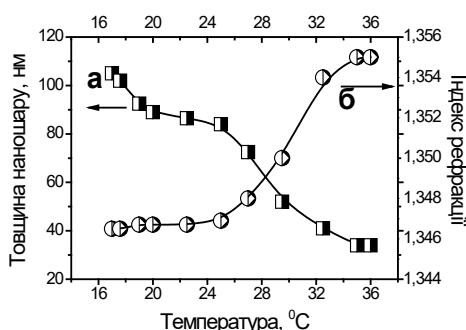


Рис.4.17. Залежність висоти (а) та індексу рефракції (б) наночару прищеплених щіток ПОЕГМА246 у воді з часом полімеризації 30 год від температури.

Розрахований вміст води у цьому зразку становив 91,6% і 87,1% при 20 °С та 31 °С відповідно. Це підтверджує гіпотезу, що температурно-залежна поведінка щіток ПОЕГМА246 суттєво залежить від співвідношення концентрації мультифункціонального ініціатора та ПОЕГМА246. Для наночарів ПОЕГМА246 з концентрацією, меншою за 20 мг/м<sup>2</sup>, чутливі до температури властивості, були заблоковані для всіх досліджуваних температур, навіть при рН ≈ 7. Для концентрації

ПОЕГМА246 на поверхні вище  $20 \text{ мг/м}^2$  карбоксильні групи очевидно не здатні заблокувати взаємодію етерних фрагментів з молекулами води і тому наночар зберігає температуро-чутливі властивості [192-193].

#### 4.2.1. Одночасний вплив температури та рН на наночари прищеплених щіток ПОЕГМА246.

Температуро-чутливі властивості наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246, синтезованих за різних часів полімеризації, досліджували на вплив різних рН. На рис. 4.18 наведено залежність контактних кутів змочування водою від температури для зразків з часом модифікації ПОЕГМА246 0 (а), 20 (б), 30 (в) і 48 год після занурювання зразків у буферні розчини з різним рН. Температурну залежність контактного кута змочування водою визначали при чотирьох значеннях рН, від 3 до 9 і додатково при рН - 11, для зразків з часом модифікації 20 год [192-193].

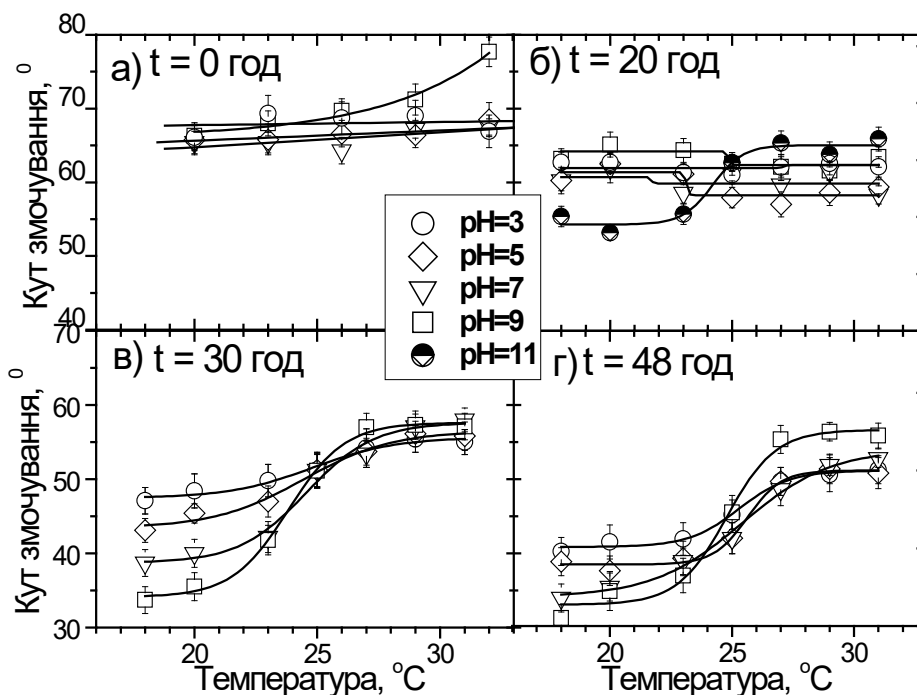


Рис.4.18. Криві залежностей контактних кутів змочування водою від температури, визначені при різних значеннях рН, для немодифікованих зразків (а) та з часом модифікації поверхні наночаром ПОЕГМА 20 (б), 30 (в) і 48 (г) год.



Для зразків модифікованих МПІ-1, практично, не спостерігалось впливу температури та рН на змочуваність поверхні (рис.4.18а). Аналогічна поведінка була виявлена для зразків з прищепленим наночаром ПОЕГМА246 з часом полімеризації 20 год та концентрацією ПОЕГМА246, що дорівнює  $11 \text{ мг/м}^2$  (рис.4.18б). У цьому випадку типову температуро-чутливу поведінку спостерігали лише після занування зразку у буферний розчин з рН = 11. На відміну від цього зразка для наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246 сформованих 30 год полімеризації та концентрації ПОЕГМА246 близько  $30 \text{ мг/м}^2$ , залежність контактного кута змочування водою від температури суттєво залежить від рН. Так, температуро-чутливі властивості були заблоковані в кислих середовищах з рН 3 та 5, та добре виражені у лужному та нейтральному середовищах з рН 7 та 9. У випадку, наночару ПОЕГМА246, отриманого з часом полімеризації 48 год, відсутній будь-який вплив рН на температуро-чутливі властивості, що підтверджує попередньо запропоноване нами припущення про те, що вплив рН визначається співвідношенням карбоксильних груп у неіонізованому стані ініціатора та етерних фрагментів ПОЕГМА246. Коли концентрація етерних фрагментів значно переважає кількість, що може бути зв'язана карбоксильними групами, вплив рН не спостерігається. Аналогічна система була створена групою під керівництвом професора Лаоякса, при синтезі кополімеру метакрилової кислоти (від 4 до 14 мол.%) та олігоетиленглікольмонометакрилатів [192-193].

Морфологія наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246, отриманих при 30 год полімеризації, була записана при різних температурах та рН за допомогою методу АСМ. Для температури  $20^\circ\text{C}$  (рис. 4.19) зростання рН від 5 до 9 веде до формування більш розвинутої поверхні, з вищими та вузькими піками. Подібні закономірності спостерігаються також для температури  $32^\circ\text{C}$  (рис.4.19), проте при цій температурі структури на поверхні є більш широкими ніж при  $20^\circ\text{C}$ . У загальному, вплив рН на морфологію наночарів є значно сильніший, ніж вплив температури [192-193].

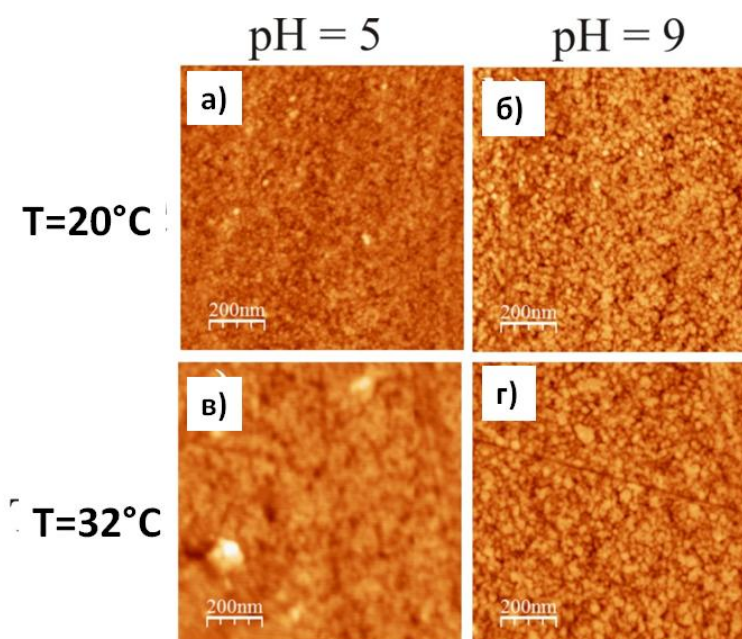


Рис.4.19. АСМ мікрофотографії наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246 з часом полімеризації 30 год після обробки буферним розчином з рН 5 (а та в) та 9 (б та г) та температурах 20 (а та б) та 32 (в та г) °С.

Спираючись на існуючі теоретичні уявлення та наші експериментальні дані, було запропоновано гіпотетичну схему утворення водневих зв'язків між етерними групами ПОЕГМА246, карбоксильними групами МПІ-1 і молекулами води, а також ван-дер-ваальсових взаємодій за різних температур та рН середовища. У попередніх дослідженнях було описано формування інтерполімерних комплексів, утворених системами специфічних взаємодій між карбоксильними групами іоногенних полімерів та неіонними полімерами, наприклад, полі(етиленоксидом) [194-195]. Було показано, що взаємодія між цими полімерами регулюється водневими зв'язками. У розчині полікомплекс існує тільки в лужних середовищах, тоді як в кислих – взаємодія приводить до розділу фаз. Подібна система була розроблена у нашій роботі, де показано, що не тільки співвідношення між етерними фрагментами та карбоксильними групами має значення для температуро-чутливих властивостей полімеру, але і також співвідношення між карбоксильними ( $-COOH$ ) та карбоксилатними ( $-COO^-$  групами). Для зміни динамічної рівноваги у кількості цих груп достатньо занурити полімер у буферний розчин з відповідним рН. У кислих

умовах домінують групи  $\text{COOH}$ , у той час як у лужних середовищах переважають іонізовані карбоксильні групи. Лише неіонізовані карбоксильні групи здатні утворювати комплекси з етерними Оксигенами ПОЕГМА [192-193]. Відповідно, при рН 7 та 9 спостерігається описаний раніше сценарій переходу, коли при температурах нижчих за НКТР переважає утворення водневих зв'язків між етерними фрагментами та молекулами води, у той же час при температурі, вищій за НКТР, відбувається розрив цих зв'язків і конформацію макромолекул визначають ван-дер-ваальсові взаємодії між їх фрагментами. У той же час при кислому середовищі, де термочутливі властивості блокуються, домінують неіонізовані карбоксильні групи, що дозволяє створювати комплекси з етерними Оксигенами ПОЕГМА і таким чином блокувати утворення водневих зв'язків з молекулами води [192-193].

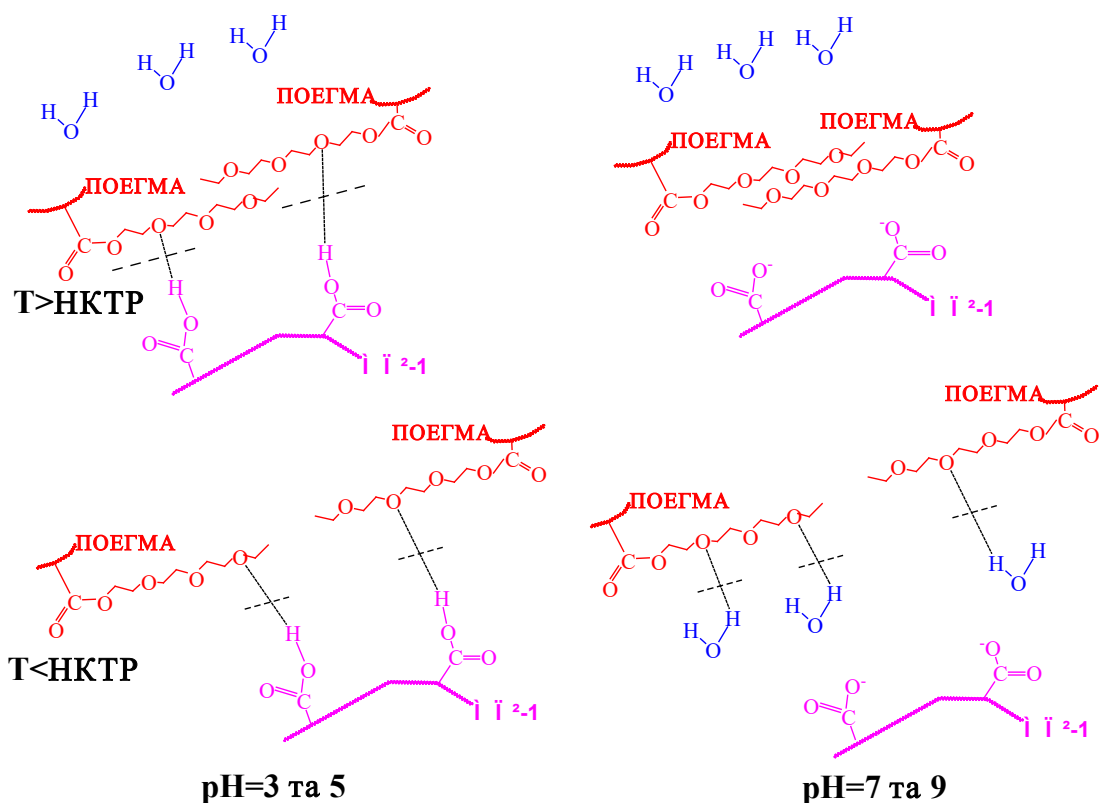


Рис.4.20. Гіпотетична схема утворення водневих зв'язків між етерними групами ПОЕГМА, карбоксильними групами МПІ-1 і молекулами води та ван-дер-ваальсових взаємодій за різних температур та рН середовища [192-193].

#### 4.2.2. Вплив температури та рН на контрольовану адсорбцію білків на поверхню наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246

Адсорбція білків на модифіковані поверхні досліджувалась на прикладі білка соєвого лектину з флуоресцентною міткою. На рис.4.21 наведені флуоресцентні мікрофотографії білка соєвого лецитину, адсорбованого на поверхню наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246 з часом прищеплення 30 год при різних температурах та рН.

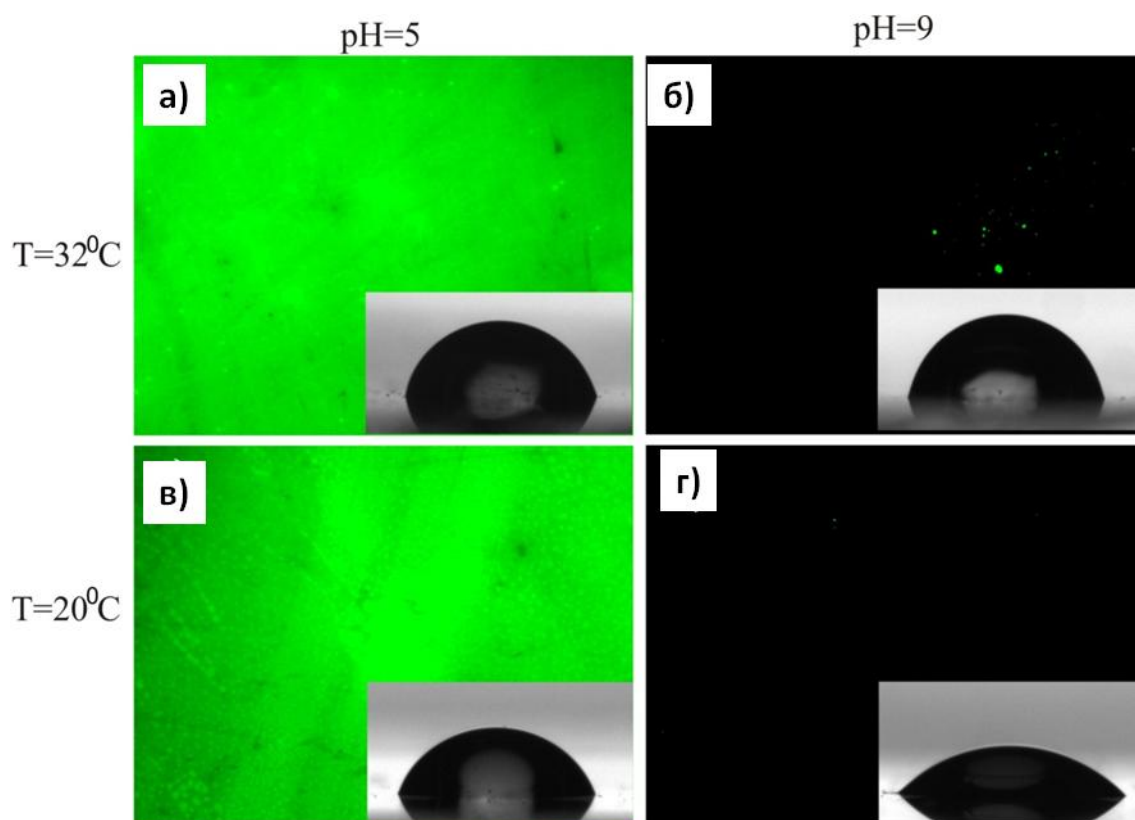


Рис.4.21. Флуорисцентні мікрофотографії білка соєвого лецитину адсорбованого на поверхню наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246 з часом прищеплення 30 год після обробки буферним розчином з рН 5 (а та в) та 9 (б та г) та температурах 20 (а та б) та 32 (в та г) °С.

При рН=9, практично відсутня будь-яка флуоресценція, тобто білки не адсорбувалися на поверхню наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246 з часом прищеплення 30 год за кожної з досліджуваних температур. Цей результат відповідав літературним даним, де наночари ПОЕГМА відносять до таких, які не

адсорбують на своїй поверхні білки [110, 113-116]. Проте, для рН=5 (рис.4.21 а та в) чітко видно сильну флуоресценцію для обох досліджуваних температур, що свідчить про суттєву зміну у властивостях поверхні та її вплив на адсорбцію білку.

Таким чином, було отримано прищеплені наночастиці які здатні у контрольований спосіб при зміні рН середовища контролювати адсорбцію білків. На рис. 4.22 інтенсивність флуоресценції білків була виражена у числових значеннях.

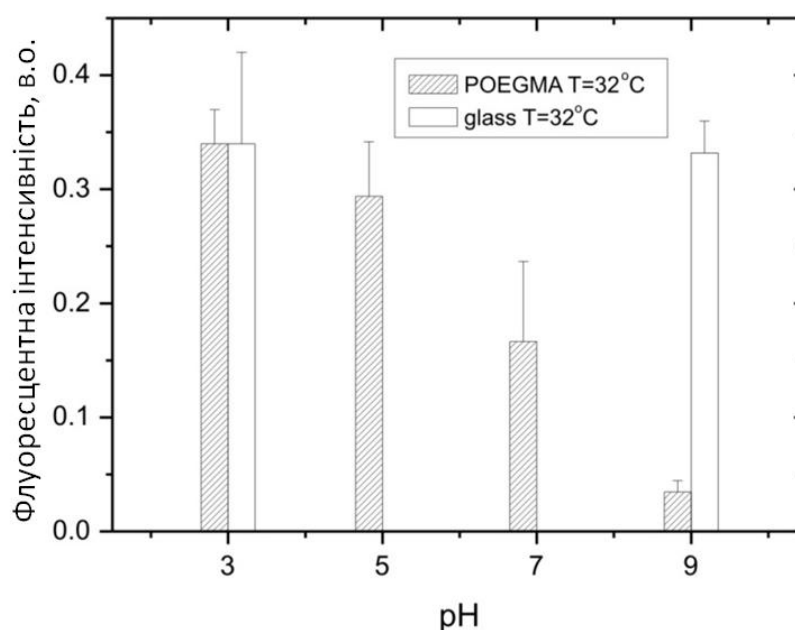


Рис.4.22. **Інтенсивність флуоресценції** соєвого лецитину, адсорбованого при різних рН та температурі 32°C на поверхню наночастиць прищеплених щіток ПОЕГМА246 та скла.

Видно, зменшення інтенсивності адсорбції білка зі зростанням рН при температурі 32°C на поверхнях прищеплених щіток ПОЕГМА246, у той же час зміна рН не впливала на інтенсивність адсорбції білка на поверхню скла.

#### **4.3. Формування, властивості та застосування наночастиць температуро- та рН-чутливих прищеплених полімерних щіток полі(4-вінілпіридину)**

Полівінілпіридини знайшли своє широке застосування через наявність у них широкого ряду цінних властивостей. Так, відомо їх використання для створення

антибактеріальних поверхонь [196-197], рН-чутливих систем, що суттєво змінюють свої властивості від гідрофільних до гідрофобних і навпаки при незначних змінах рН [198-199], інгібування процесів корозії [200], для формування сенсорів вологості [201] чи визначення нітроароматичних сполук тощо. Крім того, PVP здатні іммобілізувати наночастинки металів, через їх сильну афінність до металів та здатність формувати водневі зв'язки з полярними групами [202]. Синтез, властивості та застосування рН-чутливих наночастинок на основі полівінілпіридину були описані у роботах Мінька [203] та Фуджі [204], які показали їх контрольоване набухання в кислому середовищі. Слід відмітити, що полі(4-вінілпіридин) – П4ВП нерозчинний у воді, якщо принаймні 35% піридинових груп не перебувають у протонізованому стані [205]. Хоча рН-чутливі системи, зокрема прищеплені полімерні щітки були описані для цього полімеру у попередніх працях, інформація про його температуро-чутливі властивості була відсутня до цього часу.

Як і у попередніх роботах, прищеплені полімерні щітки були сформовані на поверхні скла, попередньо функціоналізованій МПП-1 згідно методики описаної у розділі 2.4. Проходження процесу модифікації було підтверджено за допомогою XPS спектроскопії (рис.4.23). Видно суттєву різницю у спектрах перед і після проходження процесу модифікації поверхні наночастинами прищеплених щіток П4ВП. Середні товщини і індекси рефракцій наночастинок прищеплених щіток П4ВП у сухому стані при кімнатній температурі та відносній вологості  $\sim 40\%$  лежали у діапазоні від 17 до 40 нм та від 1.51 до 1.57, відповідно. Для підтвердження температуро-чутливих властивостей наночастинок макроланцюгів П4ВП за допомогою методу спіноутінгу з розчину П4ВП у етанолі з концентраціями 6 мг/мл та 23 мг/мл було сформовано спіноутінг наночастинок структури. Товщина досліджуваних наночастинок становила 38 та 180 нм, відповідно, а з значеннями індексів рефракції 1.57 та 1.581. Ці значення збігаються з літературними даними, де індекс рефракції становить 1.58 [206-207]). На рис. 4.24. схематично наведено структури досліджуваних наночастинок.

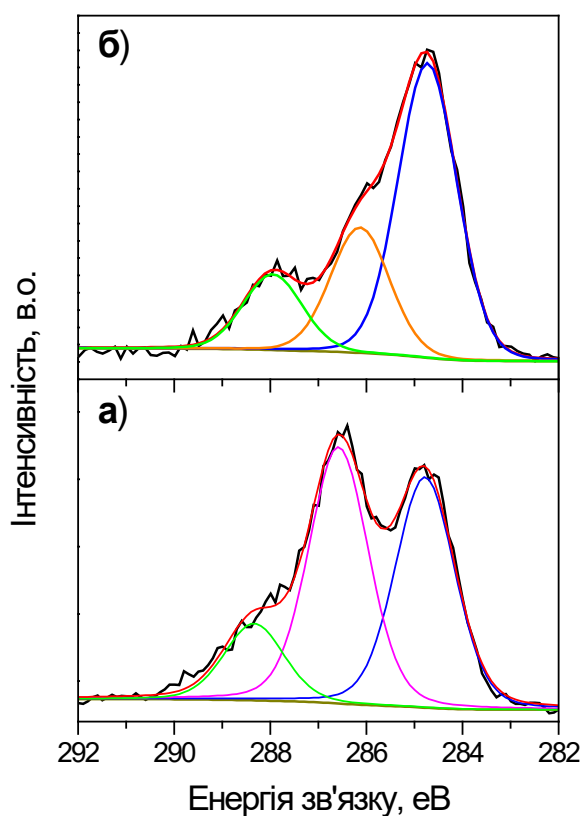


Рис.4.23. XPS спектри поверхні скла, модифікованої наночаром МПІ-1 (а) та наночаром прищеплених щіток П4ВП після 48 год полімеризації (б).

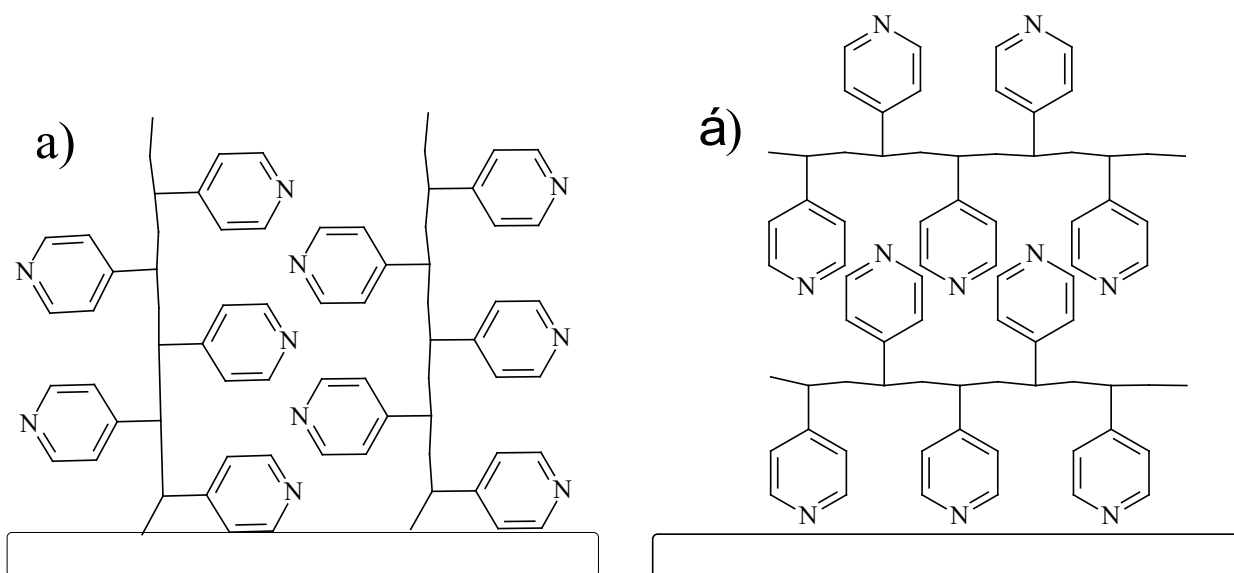


Рис.4.24. Гіпотетичні структури наночарів П4ВП на поверхні скла: прищеплених щіток (а); нашарованих за допомогою методу спін-квотінгу з розчину (б).

Вплив температури на змочуваність наночарів П4ВП досліджувався у діапазоні 6-30 °С методом вимірювань контактних кутів змочування. Представлені результати, наведені на рис.4.25, і демонструють стрибкоподібну зміну значень контактних кутів змочування водою при зростанні температури для наночарів П4ВП, сформованих методом спін-квотінгу (38 і 180 нм), від 62 до 65 і від 70 до 75 ° відповідно. Проте для прищеплених наночарів щіток П4ВП ці зміни виражені набагато краще. У випадку наночару з товщиною 40 нм (рис. 4.25б, квадратики) контактний кут змочування змінювався на 25 °, від 50 до 72-76 ° при переході через 14 °С. У той же час більш тонкі наночари (17 і 26 нм) показували слабше виражений температуро-індукований перехід та зсув НКТР до нижчих температур.

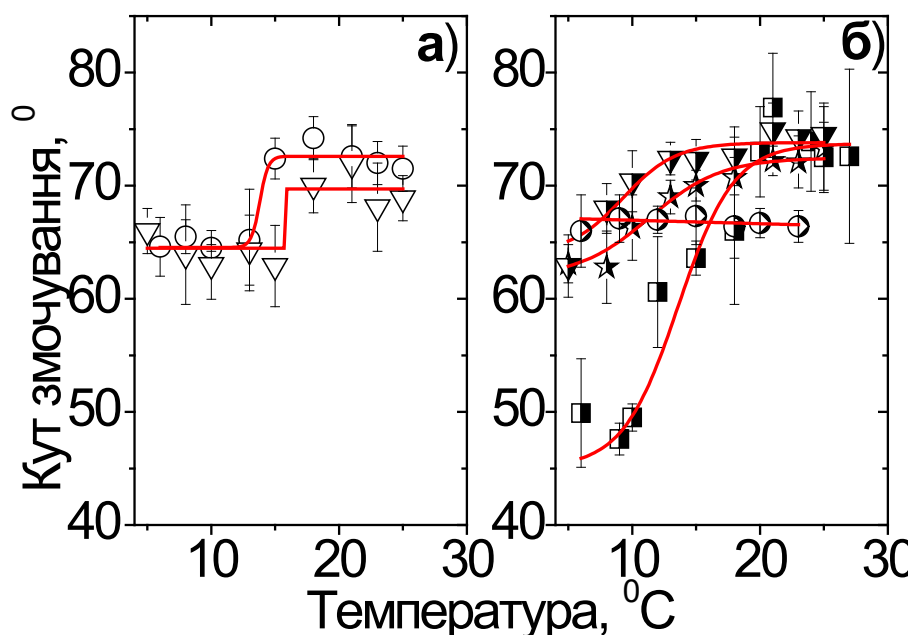


Рис.4.25. Залежність від температури значень контактних кутів змочування водою наночарів П4ВП: сформованих за допомогою спін-квотінгу (а) з товщиною 38 нм (трикутники), 180 нм (кружки) та наночарів прищеплених щіток П4ВП (б) з товщиною 0 нм (кружки), 17 нм (трикутники), 26 нм (зірочки) і 40 нм (квадрати).

Для кожного з досліджуваних наночарів проявляється температуро-індукована зміна змочуваності з чітко визначеними переходами при 9-15 °С. Однак порівняння температурних залежностей змочуваності водою, виміряних для різних типів



наношарів П4ВП, показує на різну інтенсивність відповіді, яка залежала від типу наношару.

Для кращого числового вираження досліджуваних змін для обох типів наношарів було визначено їх поверхневу енергію. З цією метою, крім вимірювання кута контактного кута змочування водою, визначали також кути змочування дийодометаном і гліцеролом при 10, 15 і 25 °С. Вимірні значення використовувались для обчислення поверхневої енергії  $\lambda_s$  і її компонентів (аполярної складової Ліфшица – ван дер Ваальса  $\lambda_s^{LW}$  та полярної кислотно-основної складової Льюїса  $\lambda_s^{AB}$ ), за методикою, описаний у розділі 2.5.1. Результати обчислень зведено у таблиці 4.1. Для наношару прищеплених щіток П4ВП (висота 40 нм) при 10 °С значення обох складових вільної поверхневої енергії є високими. Навпаки, для температури 15-25 °С значення  $\lambda_s^{LW}$  компоненти більш ніж у десять разів перевищує значення  $\lambda_s^{AB}$  (табл.4.1), що вказує на те, що при підвищенні температури прищеплені щітки П4ВП суттєво змінюють конформацію і починають проявляти аполярні характеристики поверхні. Нанесений за допомогою спін-квотінгу шар П4ВП (38 нм) проявляє схожі тенденції. Однак значення аполярної складової Ліфшица – ван дер Ваальса більш ніж у десять разів вище, ніж значення кислотно-основної Льюїса лише для 25 °С. Цікаво, що загальна поверхнева енергія наношарів прищеплених щіток П4ВП є найвищою для 10 °С, на відміну від наношару П4ВП, який отриманий за допомогою спін-квотінг нанесення, де найбільша сумарна поверхнева енергія спостерігається при 25 °С.

Таблиця 4.1.

Значення контактних кутів змочування ( $\theta$ ), вільної поверхневої енергії ( $\lambda_S$ ) та її складових: Ван-дер-Ваальсової ( $\lambda_S^{LW}$ ), кислотної ( $\lambda_S^-$ ), основної ( $\lambda_S^+$ ) та полярної ( $\lambda_S^{AB}$ ) для наночарів П4ВП за різних температур.

Температура [°C]	$\theta$ [°]			$\lambda_S$ [мН/м]				
	H <sub>2</sub> O	CH <sub>2</sub> I <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> (OH) <sub>3</sub>	$\lambda_S^{LW}$	$\lambda_S^-$	$\lambda_S^+$	$\lambda_S^{AB}$	$\lambda_S$
Наночар прищеплених щіток П4ВП (40 нм)								
10	49.5±1.2	51.9±2.4	78.6±3.5	33.2	64.6	2.1	23.7	56.9
15	63.6±1.5	49±1.8	70.5±2.5	34.8	27.4	0.08	2.9	37.7
25	72.8±3.1	46.3±1.0	65.1±2.9	36.3	10.6	0.26	3.3	39.6
Наночар П4ВП сформований за допомогою спін-квотінгу (38 нм)								
10	63.0±3	53.6±2.1	60.6±2.2	32.2	20.0	0.5	6.7	39.1
15	62.9±3.6	42.7±1.6	62.4±2.1	38.2	20.6	0.05	8.2	40.3
25	68.9±2.0	46.6±2.3	51.4±2	36.2	7.4	2.3	2.1	44.4

У попередніх роботах [208-209] було показано вплив піридинових груп на вологочутливі властивості поліуретанів з ефектом пам'яті форми. Тому нами був вивчений вплив вологості на змочуваність обох покриттів П4ВП. Результати, представлені на рис, відображають вплив вологості на значення контактних кутів змочування водою при різних температурах (8 і 25 ° C) для наночарів П4ВП, та за умов, кімнатної вологості (~ 40%) після нагрівання протягом 5 годин при температурі 40 °C (рис. 4.26а), після висушування на повітрі (рис.4.26б), а також при високій вологості (> 80%) після висушування на повітрі (рис.4.26в). Видно, що для підвищеної вологості (> 80%) інтенсивність відповіді на зміну температури є більш вираженою, особливо у випадку прищеплених щіток П4ВП.

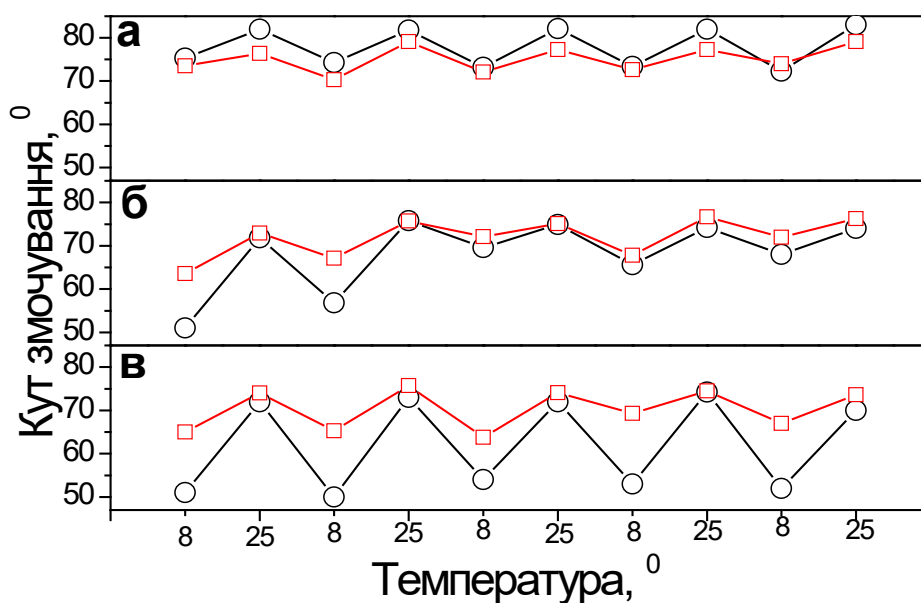


Рис.4.26. Залежність значень контактних кутів змочування водою для наночастинок прищеплених щіток з товщиною 40 нм (квадрати) та наночастинок сформованих за допомогою методу спінодінгу з товщиною 180 нм (кружечки) від температури при вологості ( $\sim 40\%$ ) після прогрівання 5 год при  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  (а), вологості ( $\sim 40\%$ ) після висушування на повітрі (б) та високій вологості ( $>80\%$ ) після висушування на повітрі (в).

#### **4.3.1. Одночасний вплив температури та рН на змочування та морфологію наночастинок прищеплених щіток П4ВП.**

Можна припустити, що фрагменти піридину у макроланцюгах П4ВП, здатні утворювати водневі зв'язки з водою, подібно до взаємодії молекул піридину з водою [210-213], крім того для них характерні взаємодії Ван-дер-Ваальса або  $\pi$ - $\pi$  взаємодії [214-215]. Для дослідження механізмів температурно-індукованої відповіді наночастинок П4ВП нами було виміряно контактні кути змочування водою при двох значеннях рН (2 та 7) за умов зростання температури. З рис. 4.27 видно, що при рН=2 (червоні трикутники), коли майже всі піридинові цикли протонізовані, не спостерігається зміна у змочуваності [198-199, 210-213]. Це вказує на те, що температурно-індуковані зміни неможливі для П4ВП у протонізованому стані.

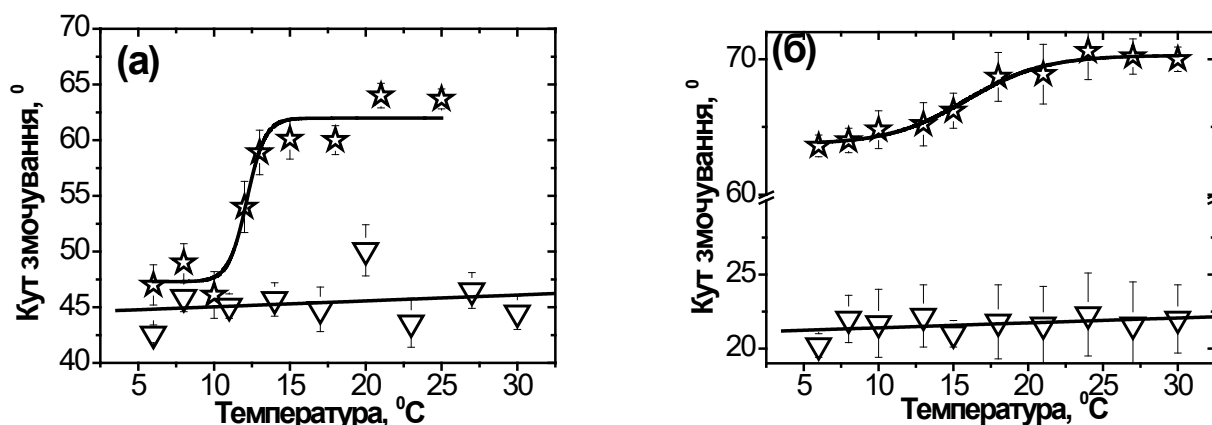


Рис. 4.27. Криві залежностей контактних кутів змочування водою від температури, визначені при значеннях рН 2 (трикутники) та 9 (зірки) для наносарів прищеплених щіток П4ВП (а) і наносарів П4ВП сформованих за допомогою спін-коутингу (б) з кислого (рН=2) та лужного розчинів у етанолі (рН=9).

У той же час, наносари П4ВП отримані методом спін-коутингу з кислого розчину етанолу (рН=2) (рис.4.27б, трикутники), є сильно гідрофільними, про що свідчать малі значення контактних кутів змочування (20-25 град). Цей факт добре узгоджується з літературою [198-199]. Проте, контактні кути змочування водою, прищеплених щіток П4ВП (рис.4.27а) мають значно вищі значення (на рівні ~ 45 град). Для наносарів, сформованих з нейтральних і слаболужних розчинів (рН = 7 або 9, зірочки), температурний-перехід змочуваності спостерігається при 12-15 ° С для обох типів наносарів. Однак цей ефект значно краще виражений для прищеплених щіток П4ВП.

Дослідження впливу температури та рН на топографію прищеплених щіток П4ВП здійснювалося за допомогою методу АСМ у водному середовищі. Отримані АСМ мікрофотографії показали практично плоску морфологію наносарів з невеликими рідко розташованими горбами, при зануренні у кислий водний розчин (рис. 4.28а та б) за кожної з аналізованих температур. У протилежність до кислого середовища, при зануренні зразків у лужне середовище, топографія поверхні суттєво змінюється від відносно гладкої при 10 °С до структурованої та горбистої при 20°С.

Якщо виразити ці характеристики у числовому еквіваленті, то при  $\text{pH}=3$  за  $10$  та  $20$   $^{\circ}\text{C}$   $\text{RMS} = 5.3\pm 0.7$  нм і  $5.4\pm 0.9$  нм, відповідно. У протилежність, при  $\text{pH} = 7$ ,  $\text{RMS}$  зростає від  $3.8\pm 0.6$  нм при  $10^{\circ}\text{C}$  до  $7.4\pm 0.8$  нм при  $20^{\circ}\text{C}$ . Ці морфологічні зміни супроводжувалися переходом набряклих прищеплених ланцюгів у колапсовані та формуванням добре виражених агрегатів на поверхні.

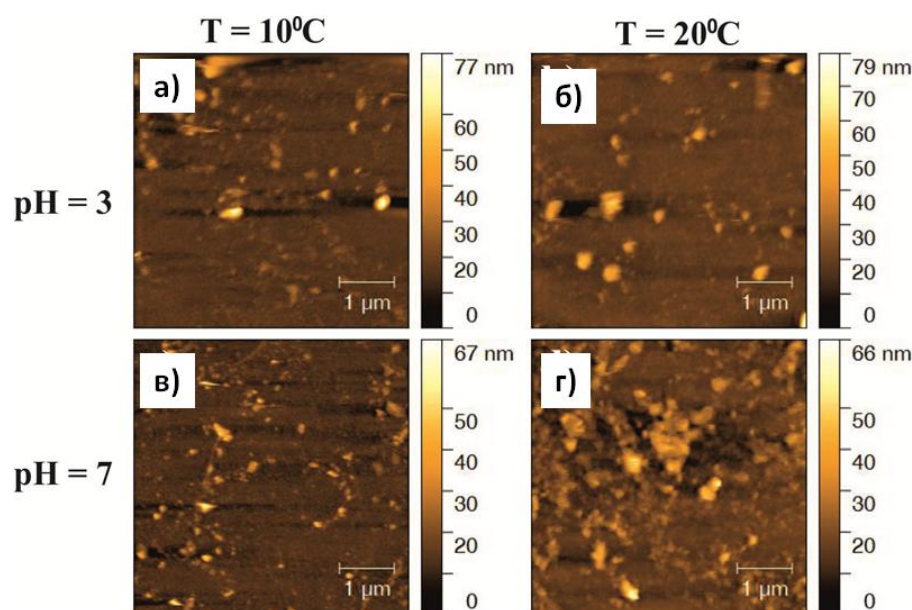


Рис.4.28. АСМ зображення наносару прищеплених щіток П4ВП при різних температурах та  $\text{pH}$  ( $T = 10$   $^{\circ}\text{C}$  (а) і (в);  $T = 20$   $^{\circ}\text{C}$  (б) і (г)); ( $\text{pH} = 3$  (а) і (б);  $\text{pH} = 7$  (в) і (г))

Спираючись на отримані експериментальні результати, нами було запропоновано гіпотетичну схему Ван-дер Ваальсової взаємодії та утворення водневих зв'язків між піридинними групами П4ВП, протонованими піридинними групами П4ВП та молекулами води при різних температурах та  $\text{pH}$ . В нейтральних і лужних середовищах ( $\text{pH} \geq 7$ ), температуро-індукована відповідь П4ВП (рис.4.29 в та г) нагадує поведінку систем з НКТР, описану для інших прищеплених щіток [39-43]. У цьому випадку при  $T < \text{НКТР}$  відбувається утворення водневих зв'язків між Нітрогеном у піридинних залишках П4ВП і Гідрогеном молекулах води [16-17, 34-35] (рис.4.29).

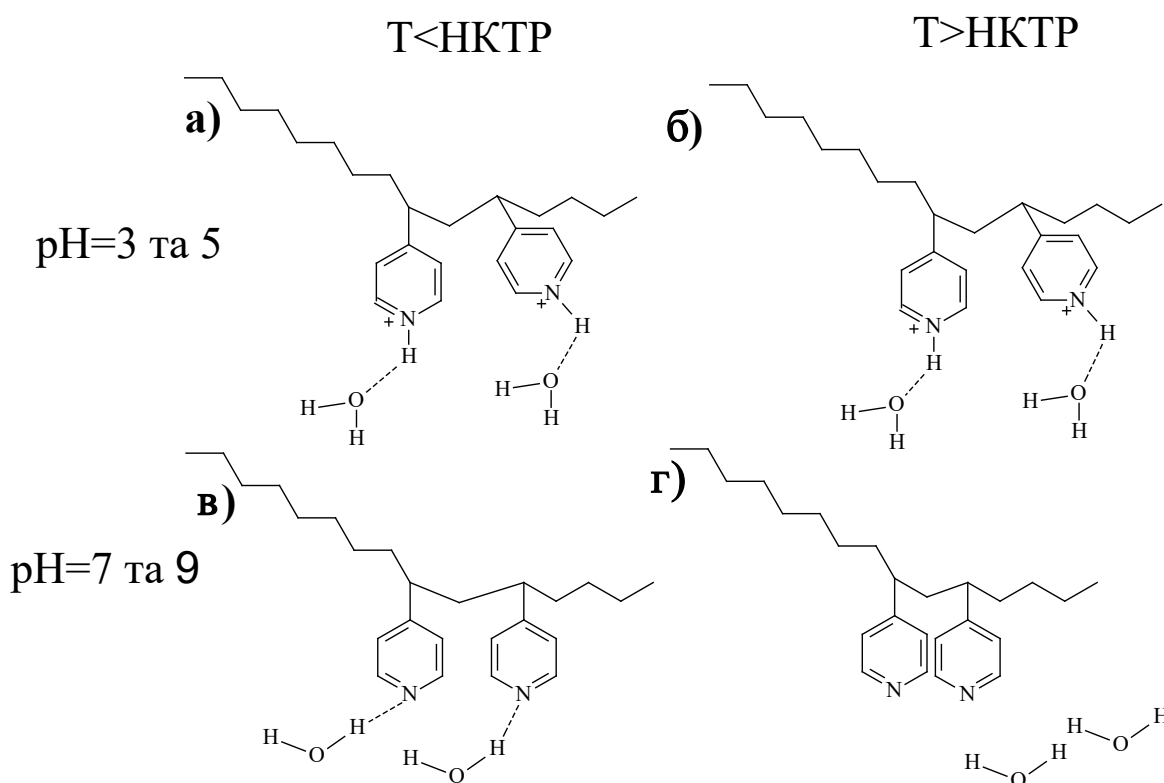


Рис.4.29. Гіпотетична схема утворення Ван-дер Вальсівських взаємодій та водневих зв'язків між піридилними групами П4ВП, протонованими піридилними групами П4ВП та молекулами води при різних температурах та рН.

У свою чергу, при  $T > \text{НКТР}$  полімер-полімерні взаємодії (взаємодії Ван-дер-Ваальса) [214-215] термодинамічно більш сприятливі, ніж взаємодії полімеру з водою (рис. 4.29), що у свою чергу індукує перехід П4ВП від відносно гідратованого до гідрофобного стану. Крім температуро-чутливих властивостей, наночастиці П4ВП мають також сильну реакцію на зміну рН, подібно до рН-чутливості вільних макроланцюгів П4ВП [205]. При низькому рН піридилні групи протонізуються, що призводить до взаємного відштовхування позитивно заряджених фрагментів піридилу в макромолекулах П4ВП. Крім того, відбувається утворення водневих зв'язків між частково протонізованим Гідрогеном, приєднаним до піридилного залишку і Оксигеном води (рис.4.29 а та б).

### 4.3.2. Вплив температури на адсорбцію білків на поверхню нанощарів прищеплених щіток П4ВП

Однією з найважливіших властивостей температуро-чутливих матеріалів є їх здатність суттєво змінювати адсорбцію білків при різних температурах. Так звані «не адсорбуючі» поверхні запобігають неспецифічній адсорбції білків і адгезії клітин завдяки високій гідратації полімерних макромолекул, яка утворює фізичний і енергетичний бар'єр для адсорбції білків на поверхню.

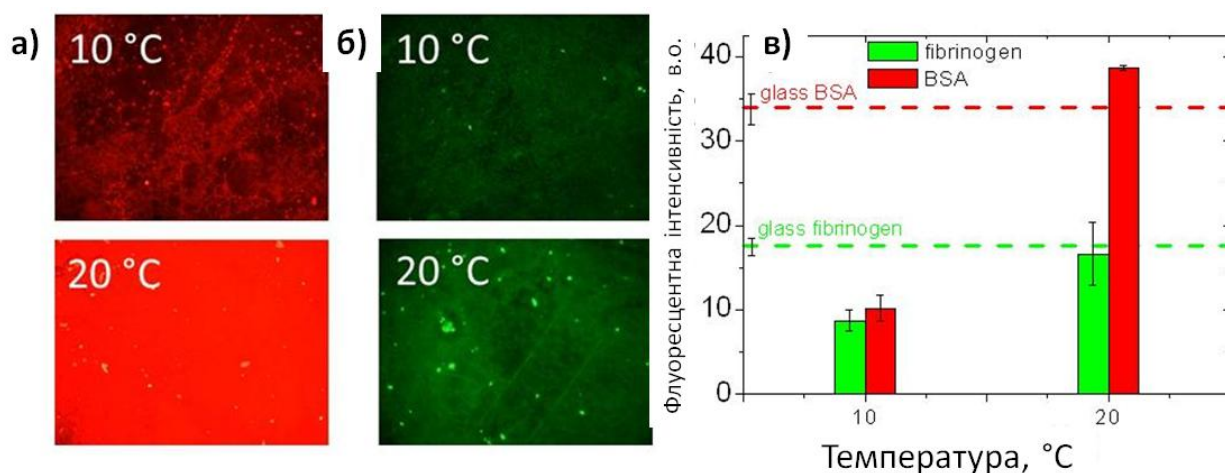


Рис.4.30. Репрезентативні флуоресцентні мікрофотографії БСА (а) та людського фібриногену (б) (мічені Alexa Fluor), адсорбованих на нанощарах прищеплених щіток П4ВП при 10 та 20 °С та розраховані інтенсивності флуоресценції адсорбованих білків на досліджуваних поверхнях (стовпчики) та еталонному склі (пунктирна лінія) (в).

Як модельні об'єкти для оцінки адсорбції білків було використано БСА і людський фібриноген, мічені флуоресцентними мітками Alexa Fluor. Результати флуоресцентної мікроскопії представлені на рис.4.30. Видно значну зміну інтенсивності флуоресценції у залежності від температури проведення адсорбції, від незначної при 10 °С до високої при 20 °С.

Кількісна інтерпретація інтенсивності флуоресценції показала чотирикратне зростання кількості адсорбованого БСА при 20° С у порівнянні з 10° С (рис.4.30в). У

той же час, кількість адсорбованого людського фібриногену при 20° С зростала тільки у 2 рази.

#### **4.4. Формування, властивості та застосування наночарів температуро- та рН-чутливих прищеплених кополімерних щіток полі(4-вініл піридин-ко-етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату)**

Формування кополімерних температуро-чутливих щіток - принципово новий напрям полімерної хімії. Відомо, що введення певних фрагментів суттєво змінює значення НКТР, крім того веде до значних змін у значеннях контактних кутів змочування. Поєднання двох або більше температуро-чутливих мономерів у один прищеплений полімерний макроланцюг представляє не тільки практичний, але також значний теоретичний інтерес. Для формування прищеплених температуро-чутливих щіток кополімерів нами було вибрано мономер 4-вініл піридин (4ВП), температуро-чутливі властивості наночарів прищеплених щіток якого описано у розділі 4.3, та етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату (ОЕГМА246), результати дослідження прищеплених щіток якого представлені у розділі 4.2. У представленому розділі наведено інформацію про сформовані та охарактеризовані прищеплені наночари щіток кополімеру полі(4-вініл піридин-ко-етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату) - П(4ВП-ко-ОЕГМА246)) (рис.4.31) та порівняно їх властивості з наночарами прищеплених щіток П4ВП та ПОЕГМА246. У кожному випадку наночари були синтезовані на поверхні скла з використанням трьохстадійного процесу, описаного у методиці 2.4.

Процес кополімеризації 2-вінілпіридину (2ВП) з метиловим етером оліго(етилен гліколь) метакрилату з молекулярною масою (300 г/моль) (ОЕГМА300) описаний у [216]. Розраховані константи кополімеризації дорівнювали  $r_{ВП} = 1.08$  та  $r_{ОЕГМА300} = 0.23$  для статистичних кополімерів П(2ВП-ко-ОЕГМА300) і вказували, що гомополімеризація 2ВП переважає над гомополімеризацією відповідних мономерів метакрилату. Так як використані у нашій роботі мономерні є дуже схожі



за хімічною природою, ми припустили, що значення їх констант кополімеризації є близькими до значень, наведених у роботі [216].

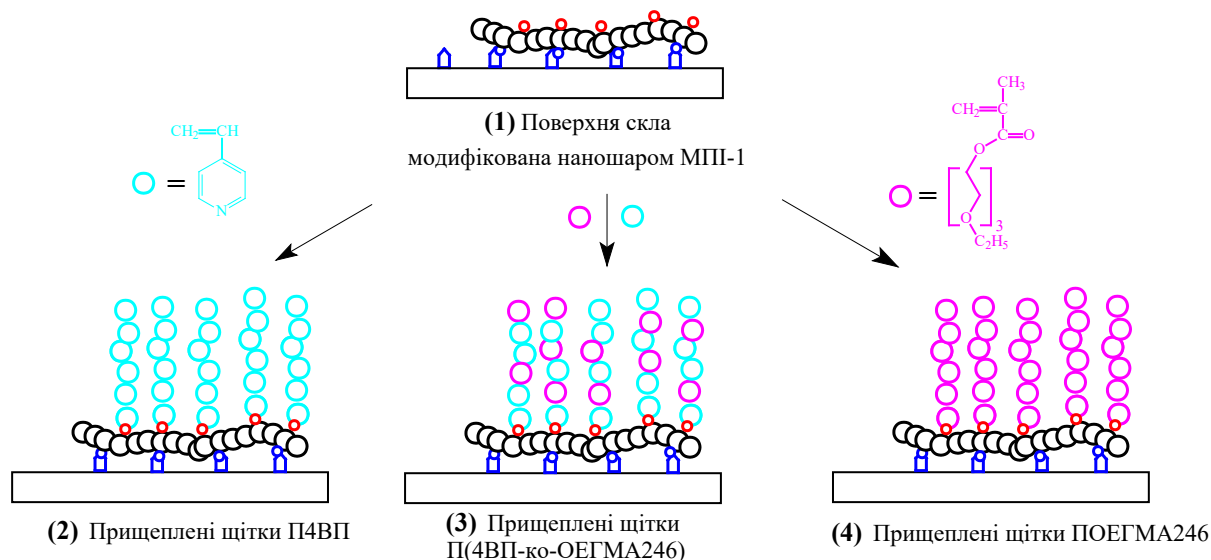


Рис.4.31. Формування прищеплених щіток П4ВП (2), П(4ВП-ко-ОЕГМА246) (3) та ПОЕГМА246 (4) за допомогою прищепленої полімеризації від пероксидних груп МПП-1 (1), ковалентно зв'язаного з аміногрупами АПТЕС на поверхні скла.

Молярний склад П(4ВП-ко-ОЕГМА246) покриттів контролювали зміною співвідношення мономерів у реакційній суміші і розраховували за рівнянням 4.1 та 4.2 [37]:

$$F_{4VP} = \frac{r_{4VP} \cdot f_{4VP}^2 + f_{4VP} \cdot f_{OEGMA246}}{r_{4VP} \cdot f_{4VP}^2 + 2f_{4VP} \cdot f_{OEGMA246} + r_{OEGMA246} \cdot f_{OEGMA246}^2} \quad (4.1)$$

$$F_{OEGMA246} = 1 - F_{4VP} \quad (4.2)$$

де  $F_{4VP}$  та  $F_{OEGMA246}$  - молярні частки 4ВП і ОЕГМА246 у кополімері, відповідно;  $r$  - константи кополімеризації,  $r_{4VP} = 1,08$  і  $r_{OEGMA246} = 0,23$ ;  $f_{4VP}$  і  $f_{OEGMA246}$  - концентрації 4ВП і ОЕГМА246 у реакційній суміші.

Таблиця 4.2.

Розрахований мольний склад П(4ВП-ко-ОЕГМА246) прищеплених кополімерних щіток у залежності від співвідношення мономерів у реакційній суміші

Зразок	Молярне співвідношення мономерів у реакційній суміші, 4ВП/ ОЕГМА246	Мольне співвідношення фрагментів у кополімерних щітках П(4ВП-ко-ОЕГМА246)	
		4ВП	ОЕГМА246
П4ВП	0,1/0	1	0
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)1	0,09/0,01	0,91	0,09
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)2	0,08/0,02	0,83	0,17
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3	0,05/0,05	0,63	0,37
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)4	0,03/0,097	0,11	0,89
ПОЕГМА246	0/0,1	0	1

Хімічний склад синтезованих наночарів підтверджували за допомогою рентгенівської фотоелектронної спектроскопії (XPS). Типові XPS спектри, записані для прищеплених наночарів щіток П4ВП, ПОЕГМА246 та кополімерів П(4ВП-ко-ОЕГМА246), представлені на рис.4.32.

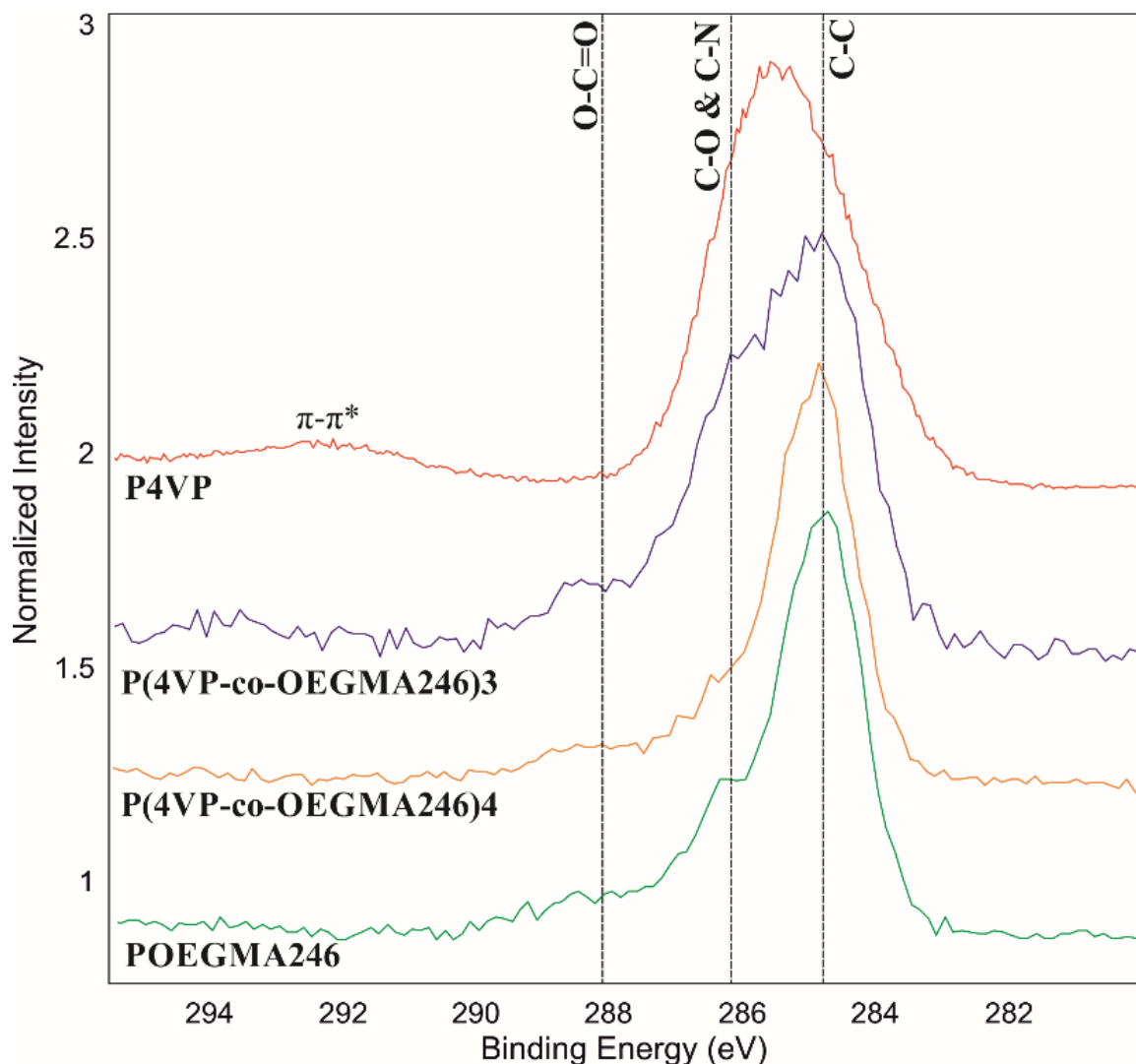


Рис.4.32 XPS спектри отримані з поверхні наночарів прищеплених щіток П4ВП, П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3 та П(4ВП-ко-ОЕГМА246)4.

Для П4ВП щіток (рис. 4.32, червона лінія) спостерігається широкий асиметричний пік, що складається з двох складових, які відповідають зв'язкам С-С (284.80 eV) і С-Н (286.05 eV) та супроводжуються  $\pi-\pi^*$  переходом при 292.0 eV, характерним для ароматичного кільця, присутнього в структурі П4ВП. На відміну від цього, спектр, записаний для П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3 щіток з високим вмістом атомів Оксигену (рис.4.32, зелена лінія), значно вужчий і складається з трьох піків, що відповідають зв'язкам С-С, С-О (286.37 eV) та О-С=О (288.37 eV). У випадку XPS спектрів, записаних для кополімерних наночарів, їхній вигляд сильно залежать від молекулярного складу прищеплених кополімерних щіток. Для реакційної суміші, з

якої синтезовано щітки П(4ВП-ко-ОЕГМА246) з високим вмістом ПОЕГМА246 ланок (рис.4.32, помаранчева лінія), досліджуваний спектр нагадує спектр, одержаний для ПОЕГМА246 наночарів. Однак, для П(4ВП-ко-ОЕГМА246) кополімерних наночарів з однаковим молярним вмістом мономерів у реакційній суміші, вигляд спектру істотно міняється (рис.4.32, синя лінія). Інтенсивність піку, при 286.37 еВ, помітно зростає, завдяки високому вмісту С-N зв'язків, характерних для П4ВП ланок.

Для отримання інформації про кількісний вміст функціональних груп, спектри були розбиті на три складові групи (С-С), (С-О та С-N), (О-С=О, С=О), та їх відносні інтенсивності проаналізовані (табл.4.3).

Таблиця 4.3.

Відносні інтенсивності (ІНТ) сигналів функціональних груп С-С, С-О, С-N і О-С=О (ЕЗ – енергія зв'язування, ПШПМ - повна ширина на половині максимуму)

Зразок	Тип зв'язку	ЕЗ [еВ]	ПШПМ М [еВ]	ІНТ [%]
П4ВП	С-С	284,80	1,76	35,0
	С-N (С-О)	286,05	1,76	65,0
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3	С-С	284,80	1,54	58,0
	С-О (С-N)	286,25	1,54	34,5
	О-С=О (С=О)	288,25	1,54	7,5
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)4	С-С	284,80	1,37	75,1
	С-О (С-N)	286,37	1,37	17,8
	О-С=О (С=О)	288,27	1,37	7,1
ПОЕГМА246	С-С	284,80	1,39	72,4
	С-О	286,37	1,39	20,8
	О-С=О (С=О)	288,37	1,39	6,8

Відносна інтенсивність С-С сигналу збільшується з 35% для П4ВП до 72% для ПОЕГМА246 наношарів. При цьому, пік, який спостерігається для енергії зв'язування С-N (С-O) та дорівнює 286,05 еВ для П4ВП, злегка зміщується до вищої енергії (286,37 еВ), а його інтенсивність різко зменшується з 65% для С-N зв'язку у П4ВП до 20% для С-O зв'язку у ПОЕГМА246. Крім того, відносна інтенсивність С-O (С-N) піку, записаного для асиметричного кополімеру, є подібною до "чистого" ПОЕГМА246. Інтенсивність С=О піку, характерна для ПОЕГМА246 з великим вмістом Оксигену, залишається постійною для всіх зразків з фрагментами ПОЕГМА246. Отримані результати XPS аналізу підтверджують утворення кополімерних щіток та їх хімічний склад.

Крім того, прищеплені кополімерні щітки були охарактеризовані за допомогою методу еліпсометрії. Змінюючи співвідношення між мономерами (4ВП і ОЕГМА246) у реакційній суміші, були отримані прищеплені полімерні щітки з різним складом та властивостями. Середні товщини, показники заломлення, молекулярні маси, густини прищеплення (поверхнева густина) та контактні кути змочування, визначені за 20°C у сухому стані для прищеплених покриттів, наведені у табл.4.4.

Виміряні значення середньої товщини знаходяться в діапазоні від 32 до 54 нм. Показник заломлення лежить в межах від 1,480 до 1,550. Поверхнева густина для всіх прищеплених щіток порівнянна і дорівнює приблизно 0,1 ланцюгів на  $\text{nm}^2$ , аналогічно до значення, описаного раніше в [12]. Цікаво порівняти значення контактних кутів змочування, виміряних для різних типів прищеплених щіток за 20°C. П4ВП є найбільш гідрофобним з усіх проаналізованих зразків, тоді як ПОЕГМА246 і кополімери з високим вмістом ОЕГМА246 ланцюгів є гідрофільними. Однак немає лінійної залежності між кількістю мономерних ланок обох кополімерів і значенням контактних кутів змочування.

Таблиця 4.4.

Середні товщини, показники заломлення та контактні кути змочування (КЗ) при 20°C у сухому стані для різних типів прищеплених полімерних щіток

Характеристика прищеплених полімерних щіток	Тип прищеплених полімерних щіток					
	П4ВП	П(4ВП-ко-ОЕГМА246)				ПОЕГМА246
		1	2	3	4	
Товщина [нм]	32	40	42	54	40	40
Показник заломлення	1.508	1.506	1.502	1.494	1.48	1.48
Молекулярна маса	174000	219000	232000	301000	223000	245000
Прищеплена густина ланцюгів на нм <sup>2</sup>	0.11	0.11	0.11	0.1	0.1	0.1
КЗ	73.0 ± 3.0	59.8 ± 3.3	60.6 ± 3.8	49.5 ± 1.2	45.9 ± 2.3	46.0 ± 3.2

Використовуючи індекси рефракції, а також рівняння Бругмана, згідно методики наведеної у роботі [217], нами розраховані пористість прищеплених наночарів ( $f_c$ ), яка виносилася на повітрі,  $f_{c1} = 0.121$  та  $f_{c2} = 0.039$  для наночарів П4ВП та ПОЕГМА246, відповідно. Значення пористості кополімерів П(4ВП-ко-ОЕГМА246) залежали від співвідношення фрагментів у структурі прищепленого наночару та лежали між значеннями гомо полімерів (рис.4.33). Таким чином, пористість наночарів П4ВП є більш ніж у 3 рази вищою, ніж пористість наночарів ПОЕГМА246. Це може бути пояснено невеликим молярним об'ємом одиниць 4ВП ( $108.6 \pm 3 \text{ cm}^3$ ) у порівнянні до ПОЕГМА246 ( $244 \pm 3 \text{ cm}^3$ ).

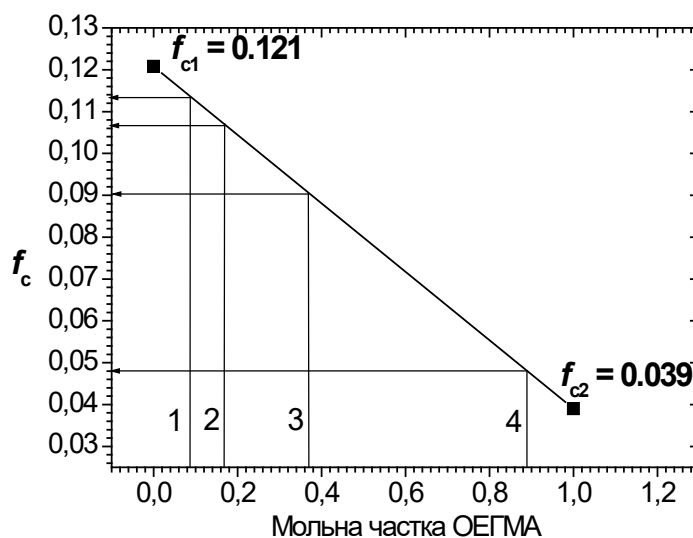


Рис.4.33 Лінійна залежність між пористістю прищеплених наночарів та вмістом ОЕГМА246 фрагментів у прищеплених щітках П(4ВП-ко-ОЕГМА246).

#### 4.4.1. Вплив температури на наночари прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)

Для дослідження змін у змочуванні за різних температур вимірювали контактні кути змочування водою у діапазоні від 6 до 38°C. Температурні залежності контактних кутів змочування, визначені для прищеплених наночарів, синтезованих з різних полімеризаційних сумішей, наведені на рис.4.34. Усі зразки показали значні зміни у змочуваності, що пов'язано з переходом від гідрофільних до гідрофобних властивостей у досліджуваному інтервалі температур. Однак, характер цього переходу залежить від хімічного складу прищеплених щіток. Температури переходу, визначені для всіх проведених експериментів, зведені в таб.4.6.

«Чисті» наночари прищеплених щіток П4ВП та ПОЕГМА246 характеризувалися добре вираженими переходами у значеннях контактних кутів змочування за температур 13 та 23°C, відповідно. У протилежність, П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3 і П(4ВП-ко-ОЕГМА246)4, отримані з реакційних сумішей із співвідношенням 4ВП до ОЕГМА246 ланок 50:50, або 97:3 % мол., відповідно, відображають криві контактних кутів змочування з двома переходами, добре

вираженими за 9-11 та 23-24°C (таб.4.6). Нарешті, П(4ВП-ко-ОЕГМА246)1 і П(4ВП-ко-ОЕГМА246)2 прищеплені покриття, приготовлені з реакційної суміші з низьким вмістом ОЕГМА246 (10 і 20% мол.), демонструють лише один перехід за 12-13°C. Ці результати вимірювань контактних кутів змочування означають, що зразки, виготовлені за допомогою реакційної суміші з співвідношення 50:50% мол. 4ВП до ОЕГМА246, є найбільш перспективним матеріалом для подальших досліджень та потенційних застосувань, і тому ми зосередили наші дослідження на цьому типі зразків (П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3). Хоча П(4ВП-ко-ОЕГМА246)4 нанощари також демонструють подвійний перехід у змочуванні, проте його інтенсивність була значно нижчою.

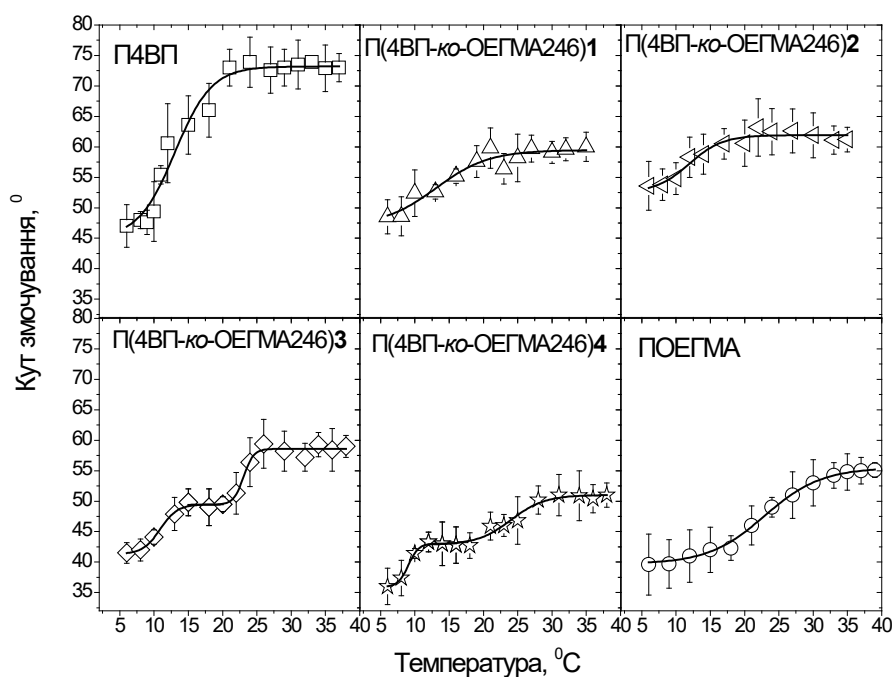


Рис.4.34. Температурні залежності контактних кутів змочування, визначені для нанощарів прищеплених полімерних щіток приготовлених з реакційних сумішей з різним співвідношенням 4ВП та ОЕГМА246, час полімеризації 48 годин.



Таблиця 4.6.

Значення нижніх критичних температур розшарування (НКТР<sub>1</sub> та НКТР<sub>2</sub>), значення контактних кутів змочування водою у кривих Больцма: нижче переходу (КЗНП<sub>1</sub> і КЗНП<sub>2</sub>) та вище переходу (КЗВП<sub>1</sub> і КЗВП<sub>2</sub>), визначені для наночарів прищеплених полімерних щіток (рис.4.34).

Зразок	К-сть переходів	КЗНП <sub>1</sub> [град]	КЗНП <sub>2</sub> [град]	КЗВП <sub>1</sub> [град]	КЗВП <sub>2</sub> [град]	НКТР <sub>1</sub> [°C]	НКТР <sub>2</sub> [°C]
П4ВП	1	45	73,2±0,7			13±0,4	
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)1	1	47±1,7	59,5±0,6			13,1±0,9	
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)2	1	52,5±1,7	61,9±0,4			11,9±1,2	
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3	2	41,3±0,5	49,5±0,3	49,5±0,3	58,6±0,3	10,9±0,4	23±0,3
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)4	2	35,9±0,4	42,8±0,5	42,9±0,2	51,0±0,4	9±0,2	24±0,7
ПОЕГМА246	1	39,7±0,5	55,5±0,5			23±0,5	

Топографія поверхні є важливим фактором, котрий має істотний вплив на її взаємодію з біомолекулами. Наноструктуровані матеріали можуть впливати на конформацію та орієнтацію приєднаних білків, а також на клітинну адгезію та проліферацію або на бактеріальні забруднення поверхні. Тому вплив температури на топографію наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА246, П4ВП та П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3, як перспективних матеріалів для біомедичних застосувань, було досліджено за допомогою методу АСМ. Записані топографії (рис.4.35) показують відносно гладкі поверхні П4ВП (рис. з, б, в), що характеризуються значеннями середньоквадратичного значення (RMS), що незначно збільшуються від 3,8 до 5,7 нм при зміні температури від 10 до 30 °C. Аналогічно шорсткість наночарів ПОЕГМА246 (рис. 4.35 є, ж, з) зростає зі зростанням температури. Однак у цьому

випадку цей ефект є суттєво вираженіший і значення RMS зростає більш ніж удвічі (від 4,9 нм при 10 °С до 10,4 нм при 30 °С). Навпаки, для наночастиці П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3 (рис. 4.35 г, д, е) сильне зростання шорсткості поверхні з 6,5 нм при 10 °С до 11,8 нм при 20 °С супроводжується наступним зниженням значення RMS до 2,1 нм при 30 °С.

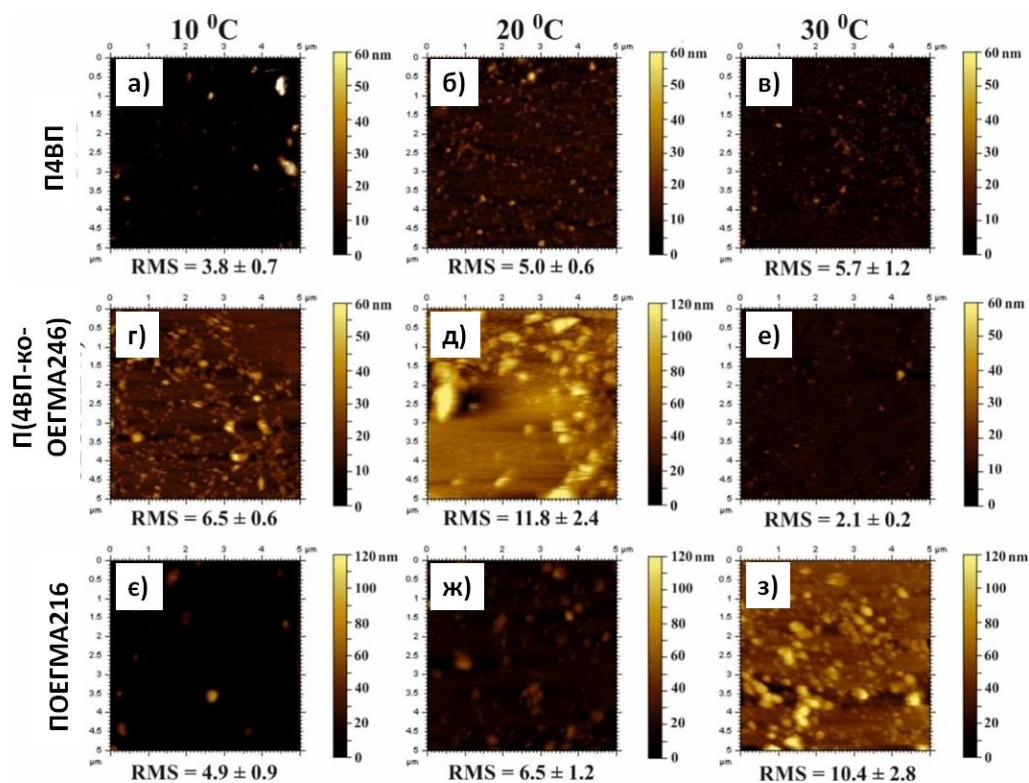


Рис.4.35. АСМ зображення поверхні наночастиць прищеплених щіток П4ВП (а, б, в), П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3 (г, д, е) і ПОЕГМА246 (є, ж, з) при температурах 10 °С (а, г, є), 20 °С (б, д, ж) і 30 °С (в, е, з).

Такі зміни поверхневого рельєфу можуть бути пов'язані з переходом прищеплених макромолекул з гідратованого стану з конформацією розтягнутих макроланцюгів (при нижчих температурах) у гідрофобний стан з колапсованими ланцюгами (при більш високих температурах) [217]. Незвична поведінка наночастиці П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3 вказує на двохступеневу зміну морфології під впливом температури, що відображає напівколапсований стан прищеплених макромолекул при 20 °С. Взаємодія фрагментів 4ВП з молекулами води руйнується (розриваються водневі зв'язки між піридинними фрагментами та водою), тоді як фрагменти

ОЕГМА246 продовжують утримувати молекули води. При 30 °С наношар практично не містить води, тобто прищеплені макромолекули втрачають молекули води. Однак, на відміну від щіток гомополімеру П4ВП та ПОЕГМА246, спостережувана поверхня є відносно гладкою. Цей ефект може бути пов'язаний з існуванням при 20 °С макромолекул у напівколапсованому стані.

#### ***4.4.2. Одночасний вплив рН на температури на наношари прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)***

У попередніх розділах нами було показано значний вплив рН на прищеплені щітки гомополімерів. Температурочутливі властивості прищеплених щіток П4ВП зникали при низькому значенні рН за рахунок перетворення піридилних груп у протоновані піридилні групи, де сильно полегшується утворення водневих зв'язків з Оксигеном води. Крім того, було продемонстровано, що температурочутливі властивості прищеплених щіток ПОЕГМА були заблоковані при низькому рівні рН [192-195], завдяки взаємодії (-COOH) груп з етерними Оксигенами ПОЕГМА.

Виходячи з цих результатів, ми очікували знайти подібні залежності, тобто блокування температурочутливих властивостей при низькому значенні рН. Відповідно, для досліджуваного наношару прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)<sub>3</sub> виявлено дуже добре виражений температурний перехід при рН = 3 за температури 13,8 °С, тобто в діапазоні, що відповідає НКТР для П4ВП. Однак у діапазоні температур, які відповідають НКТР для ПОЕГМА246, перехід не спостерігався. Для інших значень рН криві можна розділити на дві незалежні частини, описані двома кривими Больцмана. Обидві температури переходу мають тенденцію до зростання із зростанням рН (табл.4.7). Для першого переходу спостерігається порівняно невелике зміщення (~ 4 °С), тоді як для другого переходу НКТР<sub>2</sub> збільшується на 7 °С, з 17 °С при рН = 5 до 24 °С при рН = 9.

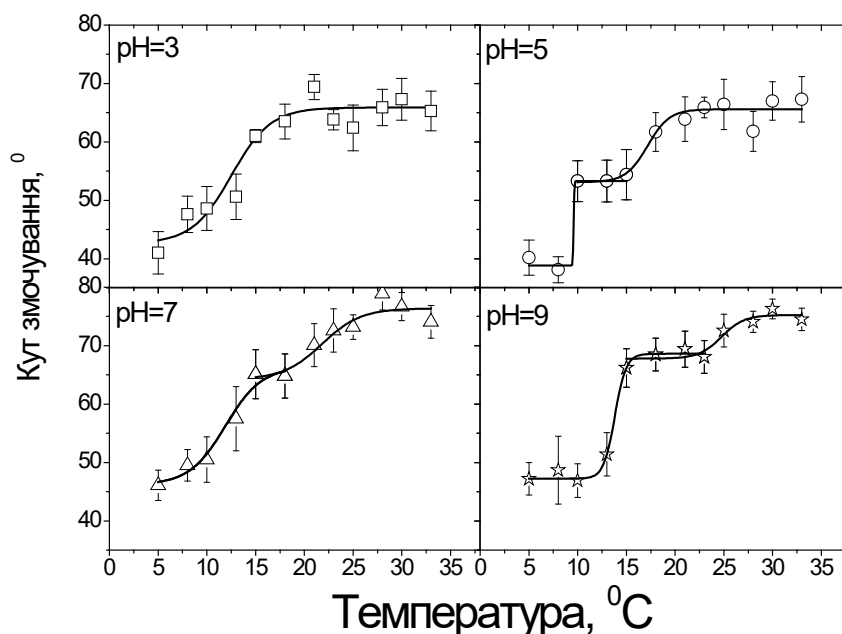


Рис.4.36. Температурна залежність контактних кутів змочування наночарів прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3 при різних значеннях рН.

Таблиця 4.7.

рН	К-сть переходів	КЗНП <sub>1</sub> [град]	КЗНП <sub>2</sub> [град]	КЗВП <sub>1</sub> [град]	КЗВП <sub>2</sub> [град]	НКТР <sub>1</sub> [°C]	НКТР <sub>2</sub> [°C]
3	1	45,6±2,1	65,6±1			13,8±0,6	
5	2	38,1±1,4	54,4±1,9	53,3±1,6	67,3±0,7	9,1±1,1	17,4±0,5
7	2	46,1±1,8	65,1±1,7	64,8±3,8	78,9±1,5	12,2±0,8	22,4±0,5
9	2	46,9±3,8	69,4±2,1	66,2±1,2	76,3±0,8	13,9±0,5	24,4±±0,7

Значення нижніх критичних температур розшарування (НКТР<sub>1</sub> та НКТР<sub>2</sub>), значення контактних кутів змочування водою отримані з кривих Больцма (рис.4.36): нижче переходів 1 та 2 (КЗНП<sub>1</sub> і КЗНП<sub>2</sub>) та вище переходів 1 та 2 (КЗВП<sub>1</sub> і

КЗВП<sub>2</sub>) було для наночарів прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3 за різних рН наведені у таблиці 4.7.. Для дослідження впливу рН та температури на топографію П(4ВП-ко-ОЕГМА246) було проведено декілька АСМ вимірювань кожного зі зразків. Оскільки механізми реакції на зміну рН тісно пов'язані з утворення водневих зв'язків між макромолекулами та водою, експерименти проводилися у водному середовищі. Для значень рН, рівних 5, 7 та 9, записані топографії (рис.4.37) показали подібну поведінку після дії води як і у попередніх дослідженнях. Структуровані і шорсткі поверхні при 10 і 20 °С перетворюються на більш гладкі при 30 °С. Однак при рН=3 цей ефект змінюється і спостерігається швидке підвищення шорсткості поверхні при 20 °С. Ця поведінка може бути пов'язана з температуро-чутливими властивостями прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3, для яких при рН=3 спостерігається лише один температурний перехід.

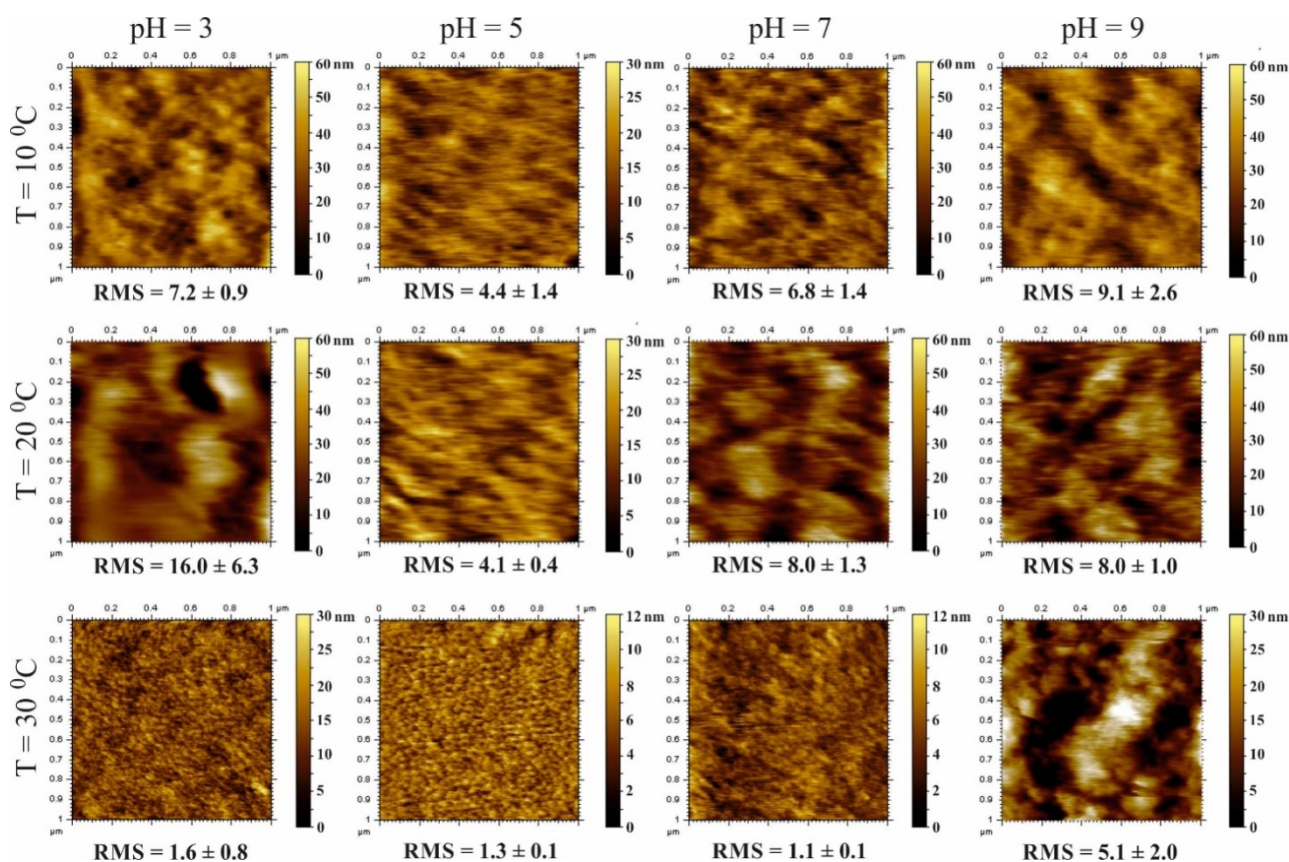


Рис.4.37. АСМ зображення поверхні наночарів прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3 для різних значень рН та температури.

#### **4.4.3. Адсорбція білків на наночастиці прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246)**

«Розумні» поверхні, які здатні змінювати свої властивості при зміні температур, необхідні для застосування в регенеративній медицині, біоінженерії та біології клітин [48]. Однією з найважливіших властивостей цих матеріалів є їх здатність стрипкободібно змінювати адсорбцію білків при різних температурах [48]. Неспецифічна адсорбція білка на полімерних поверхнях є дуже складним процесом, що залежить як від розміру, так і конформації білка, а також від фізико-хімічних властивостей самої поверхні. Однак найважливішу роль у адсорбції білка відіграють гідрофобні взаємодії [49–51]. Оскільки досліджувані полімерні покриття демонструють значні зміни властивостей при зміні температури, адсорбцію білка досліджували для модельного білка БСА за чотирьох різних температур, що відповідають значенню нижчому за перший (10 °С) та вищому за другий температурні переходи (32 °С), а також точки між цими переходами (15 і 20 °С).

Репрезентативні флуоресцентні мікрофотографії бичачого сироваткового альбуміну, адсорбованого на наночастиці П4ВП, ПОЕГМА246 та їх кополімеру, представлені на рис. 4.38а. Для наночастиці прищеплених щіток П4ВП (верхній ряд) показано високу інтенсивність флуоресценції, особливо для температур, вищих за температуру переходу, що вказує на надзвичайно ефективну адсорбцію білка, яка незначно залежить від температури. На відміну від цього, мікрофотографії, записані для наночастиці ПОЕГМА246 (нижній ряд), залишаються чорними для всіх досліджуваних температур, що підтверджує добре відомі властивості не адсорбувати білки наночастиці ПОЕГМА [10]. Більш складна залежність адсорбції білка від температури спостерігається для наночастиці П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3. Інтенсивність флуоресценції зростає від надзвичайно низького рівня при температурі 10 °С до дещо вищих значень при 15 °С, а потім значно зростає при 20 °С та 32 °С.

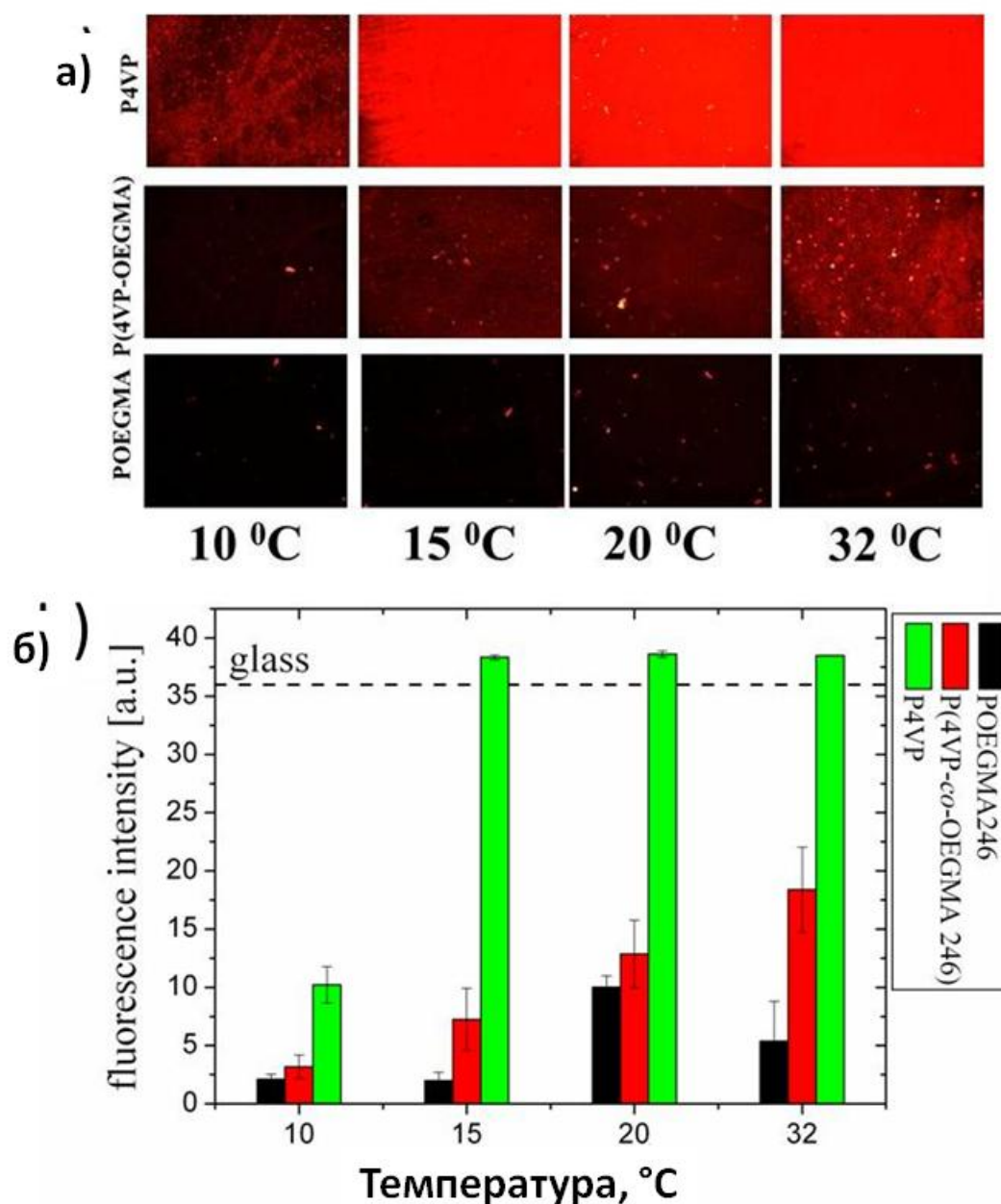


Рис. 4.38. Репрезентативні флуоресцентні мікрофотографії БСА (мічені Alexa Fluor), адсорбованого на наночарах прищеплених щіток П4ВП, П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3 та ПОЕГМА246 при 10, 15, 20 та 32 °C (а) та розраховані інтенсивності флуоресценції адсорбованого білка на досліджуваних поверхнях (стовпчики) та еталонному склі (пунктирна лінія) (б).

Ці спостереження були кількісно підтверджені розрахунком показника інтенсивності флуоресценції (рис. 4.38б). Отримані результати підтверджують залежність процесу адсорбції білка на досліджуваних поверхнях від температури.

Тобто спостерігалася слабка адсорбція на поверхню наночастинок П(ОЕГМА246), дуже висока інтенсивність адсорбції білка на П4ВП та нетривіальну залежність адсорбції БСА на наночастинок щіток кополімеру П(4ВП-ко-ОЕГМА246)3. Для останнього наночастинок, при 10 °С адсорбція БСА незначною, що нагадує адсорбцію на П(ОЕГМА246). При збільшенні температури до 15 °С адсорбція БСА збільшується майже в 3 рази. Подальше зростання температури до 20 °С призводить до збільшення адсорбції білка майже вдвічі порівняно з адсорбцією при 15 °С. При 30 °С інтенсивність адсорбції БСА знову збільшується, приблизно у 1,5 рази порівняно з інтенсивністю адсорбції при 20 °С.

#### **4.5. Формування, властивості та застосування наночастинок температурочувливих прищеплених щіток полі(пентаеритрилмонометакрилату)**

У попередній роботі [218] вперше було показано, що гомополімери та блок-кополімери полі(2-гідроксипропілметакрилату) показують НКТР при 30-60 °С у залежності від хімічного складу. У представленій роботі було вперше сформовано прищеплені щітки полі(пентаеритрилмонометакрилату) – ППМ (рис.4.1), який має подібну хімічну будову, а тому, як очікувалось, може володіти температурочувливими властивостями. Крім того, даний полімер містить велику кількість гідроксильних груп, які легко можуть бути модифіковані у реакціях постполімеризаційної модифікації.

Прищеплені полімерні щітки ППМ були сформовані на поверхні скла, попередньо функціоналізованій МПІ-1 згідно методики описаної у розділі 2.4. Формування наночастинок прищеплених щіток ППМ було підтверджено за рахунок XPS спектроскопії. XPS спектроскопію проводили на поверхні скла, попередньо модифікованої прищепленими наночастинами АПТЕС та МПІ-1, а також наночастинок прищеплених щіток ППМ (рис.4.39).

Для обох проаналізованих зразків XPS спектри містять три піки, характерні для зв'язків С-С, С-О і С=О (отримані при 284,8 еВ, 286,4 еВ і 288,4 еВ, відповідно). Однак, відносні інтенсивності сигналів, записані для кожного зразка, значно



різняться. Для наночару МПІ-1 (рис.4.39) інтенсивності сигналів, характерних для зв'язків С-С і С-О, є приблизно однаковими і приблизно у три рази інтенсивнішими за сигнал від С=О зв'язків. У свою чергу, спектр, записаний після прищеплення щіток ППМ (рис.4.39б), відображає високо-інтенсивні С-С сигнали, які супроводжують два слабкі піки, характерні для С-О і С=О зв'язків. Порівняння форм обох спектрів однозначно свідчить про покриття вихідного наночару ініціатора наночаром прищеплених щіток ППМ.

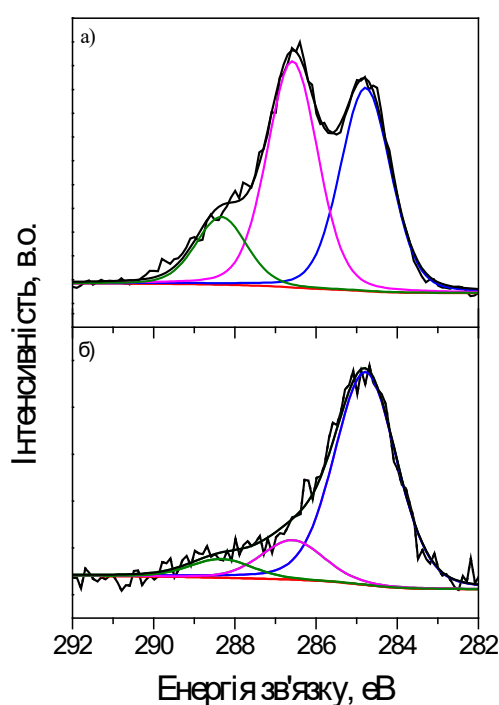


Рис.4.39. Типові XPS спектрограми поверхні скла, попередньо модифікованої прищепленим наночаром АПТЕС та МПІ-1(а) та після прищепленої полімеризації ППМ протягом 48 годин (б). Сині, фіолетові і зелені лінії відповідають сигналам, характерним для зв'язків С-С, С-О і С=О, відповідно.

Товщини прищеплених наночарів досліджували методом еліпсометрії. Усереднена товщина наночару прищеплених щіток ППМ зростає з часом полімеризації, та для 30 год становить близько 24 нм. При цьому, незначно зростає індекс рефракції (рис.4.41), який становить наприклад для наночарів прищеплених щіток ППМ отриманих при часі полімеризації 30 год 1,492. Концентрація ППМ в

прищеплених наночарах розраховувалася виходячи з того, що об'ємна густина ППМ дорівнює  $1,255 \text{ г/см}^3$  (розрахована з використанням ACD/ChemSketch 14.01). Відповідно, концентрація щіток ППМ на поверхні зростає зі зростанням часу полімеризації від 0 до  $48 \text{ мг/м}^2$  (рис.4.40).

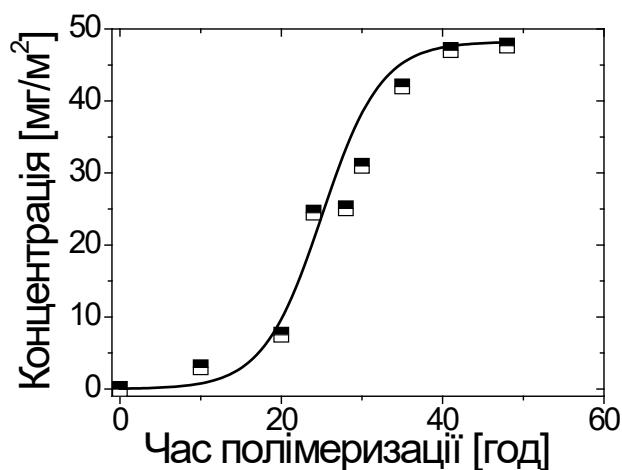


Рис.4.40. Залежність концентрації наночарів прищеплених щіток ППМ від часу полімеризації.

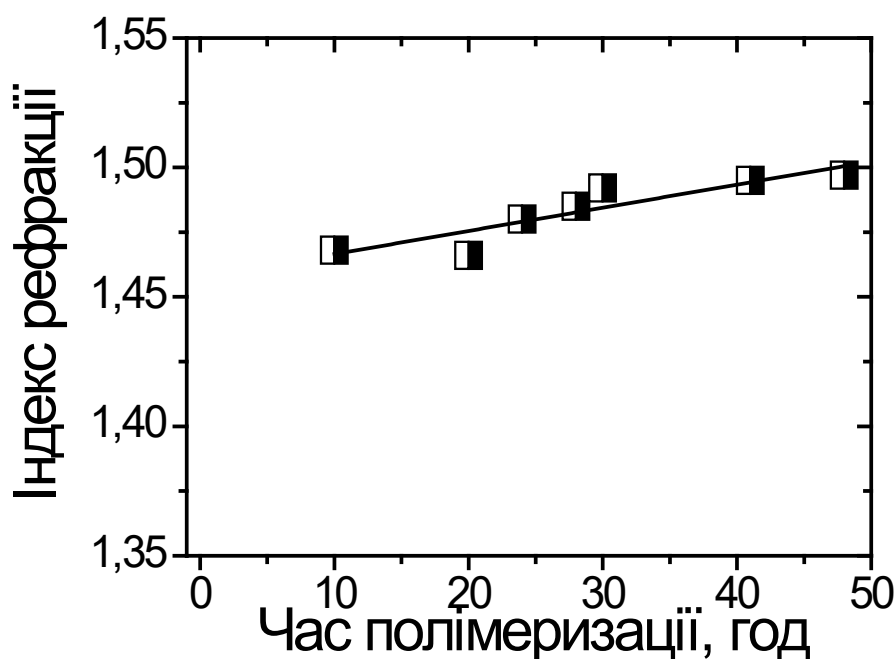


Рис.4.41. Залежність індексу рефракції наночарів прищеплених щіток ППМ від часу полімеризації.

Розрахунок поверхневої густини макроланцюгів ППМ прищеплених до скляної поверхні показав, що при 30 та 40 год полімеризації він становить 0,17 і 0,2 ланцюгів/нм<sup>2</sup>.

Для дослідження морфології наночарів прищеплених щіток ППМ, отриманих за різної тривалості процесу полімеризації (частково і повністю модифікована поверхня), використовувалися АСМ вимірювання при кімнатній температурі. Результати фазового аналізу (рис.4.42) демонструють високу однорідність ППМ наночарів, отриманих після 30 годин полімеризації. Зі збільшенням часу прищепленої полімеризації поверхня ППМ наночарів змінюється від відносно шорсткої (рис.4.42а) до більш гладкої (рис.4.42в), що підтверджує одержання повністю модифікованої поверхні. Ці характеристики були визначені кількісно та вказують на зниження середньоквадратичного показника шорсткості (RMS) від 3,4 до 1,3.

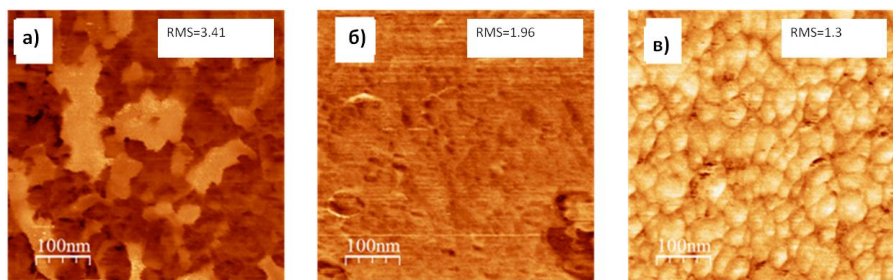


Рис.4.42. АСМ мікрофотографії наночарів прищеплених щіток ППМ записані, як фазовий аналіз, за різної тривалості процесу прищепленої полімеризації 21 (а), 30 (б) і 35 (в) год.

Використовуючи значення контактних кутів змочування при 5°C (рис.4.43) і співвідношення Касьє, нами було визначено ефективність модифікації поверхні прищепленими щітками ППМ. Значення контактних кутів змочування становило  $67 \pm 3,0$  і  $15,3 \pm 2$  для шару «чистого» мультифункціонального модифікатора та ППМ, відповідно. Максимальне покриття поверхні наночаром прищеплених щіток ППМ становило близько 95%.

#### *4.5.1. Температуро-чутливі властивості наночарів прищеплених щіток ППМ*

Температурна чутливість подібних систем спостерігалася раніше [218-220] для блок-кополімерів полі(2-гідроксиетилметакрилату) з полі(2-гідроксипропілметакрилатом) та гомополімерів полі(2-гідроксипропілметакрилату), де повідомлялося про вплив молекулярної маси як на розчинність у воді, так і на НКТР. Полі(гліцерилмонометакрилат) повністю розчинявся у воді у діапазоні досліджуваних температур [221], але його кополімери з полі(2-гідроксипропілметакрилатом) показували НКТР між 7 і 20°C [222]. Інформація про температуро-чутливі властивості ППМ та його прищеплених щіток ніколи раніше не повідомлялася у науковій літературі.

Для дослідження термочутливих властивостей наночарів прищеплених щіток ППМ вимірювали контактні кути змочування в межах між 4 і 30°C для зразків, приготованих з різним часом прищепленої полімеризації (від 0 до 48 год). Видно, виразні, поступові зміни контактного кута змочування ( $\approx 30$  градусів) з НКТР біля 14°C для зразків отриманих шляхом полімеризації протягом більше 28 годин (рис.4.43). У свою чергу, наночари прищеплених щіток, отримані шляхом полімеризації протягом 20 і 24 годин (дані не представлені на рис. 4.43.), практично не показують змін у контактних кутах змочування при зміні температури. Поступова зміна значень контактного кута змочування в широкому діапазоні температур, що спостерігається для наночарів ППМ, швидше за все, може бути пов'язана з поступовим вивільненням молекул води, зв'язаних з макромолекулами ППМ, завдяки великій кількості гідроксильних груп.

Аналогічно відсутня реакція на зростання температури у наночару МПІ-1 (зірочки на рис.4.44). Важливою властивістю термочутливих систем є їх здатність витримувати кілька циклів перемикання температури. На рис.4.44 наведені температуро-індуковані зміни контактних кутів змочування водою під час декількох циклів нагріву та охолодження наночарів ППМ, приготовлених шляхом

полімеризації протягом 30 годин. Зміна циклів демонструє хорошу відтворюваність результатів та є доказом можливості багаторазового використання таких систем.

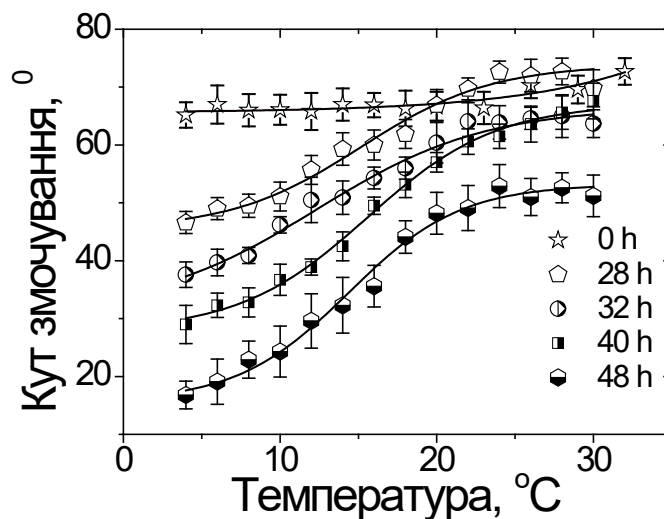


Рис. 4.43. Криві залежностей контактних кутів змочування водою від температури, визначені для наночарів прищеплених щіток ППМ, отриманих для різних часів полімеризації.

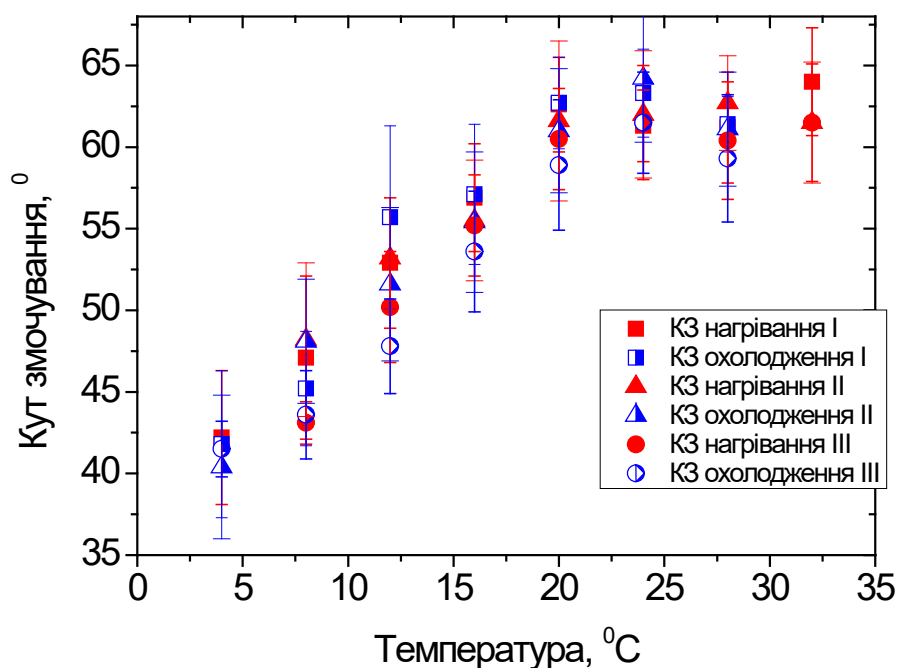


Рис. 4.44. Температурні залежності контактних кутів змочування протягом трьох послідовних циклів нагрівання та охолодження для наночарів прищеплених щіток ППМ, отриманих шляхом полімеризації протягом 30 год.

Для вивчення процесу температуро-індукованих конформаційних змін зразків, отриманих після 30 годин полімеризації прищеплених щіток ППМ були проведені еліпсометричні дослідження у воді. Усереднена товщина наночару прищеплених щіток ППМ у воді при 5°C становить 30 нм і показник заломлення 1,482 (набряклий стан). Підвищення температури до 18°C призводить до зменшення товщини до 23 нм і збільшення показника заломлення до 1,493 (колапсований стан) (рис.4.45б) Ці значення добре узгоджуються для наночару прищеплених щіток ППМ з аналогічним часом полімеризації у сухому стані при кімнатній температурі (див. вище). Вміст води у наночарі ППМ було визначено з використанням наближення ефективного середовища Максвелла-Гарнетта для об'ємного показника заломлення ППМ і води 1,501 та 1,33 відповідно. При 5°C вміст води становить - 11,1%, а при 18°C - 4,4%.

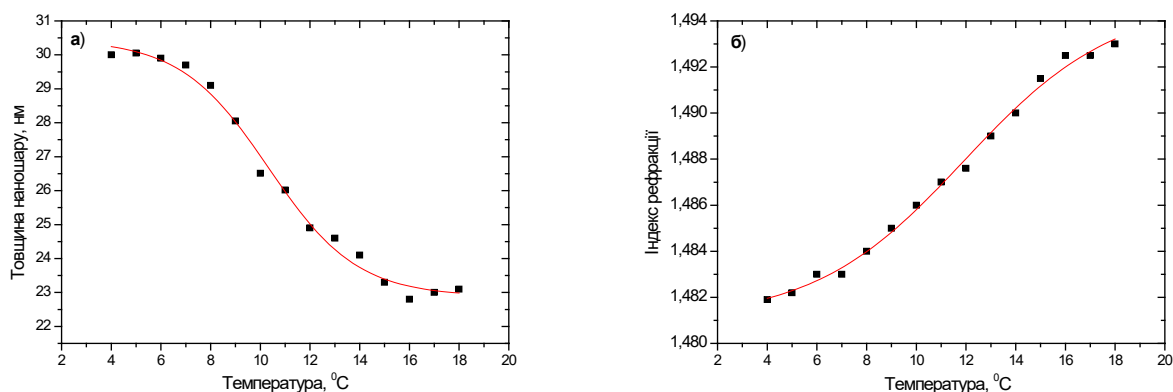


Рис.4.45. Залежність усередненої товщини та індексу рефракції від температури для наночарів прищеплених щіток ППМ у воді.

#### 4.5.2. Постполімеризаційна модифікація прищеплених щіток ППМ

Постполімеризаційна модифікація прищеплених полімерних щіток дозволяє вводити певні функціональні групи у структуру полімеру або трансформувати їх реакційноздатні функціональні частини та створювати поверхні з новими потенційними застосуваннями. Наприклад, були описані способи постполімеризаційної модифікації щіток полі(2-гідроксиетилметакрилату)

алканолхлоридами [223], а також фторованими агентами, що містять різні функціональні групи, включаючи ацилхлориди, ангідриди і органосилани [224]. Щітки, полі(гліцидил метакрилату) модифіковані пропіламіном і бичачим сироватковим альбуміном були описані у роботі [225]. У даній роботі ми демонструємо можливість часткової постполімеризаційної модифікації гідроксильних груп у прищеплених щітках ППМ з використанням ацетилхлориду чи тетрахлорангідриду піромелітової кислоти. У результаті постполімеризаційної модифікації щіток ППМ ми отримали ацетиловий естер ППМ (АЕ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ ) або естер піромелітової кислоти (ПЕ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_6\text{H}_2(\text{COOH})_3$ ), групи яких ковалентно зв'язані з щітками ППМ (рис.4.46). Модифікація щіток ППМ тетрахлорангідридом піромелітової кислоти може привести до утворення кількох різних сполук, включаючи міжмолекулярне зшивання, що пояснюється багатofункціональністю хлорангідриду піромелітової кислоти. Однак, найбільш ймовірно утворення моноестеру з вільними карбоксильними групами (рис. 4.46).

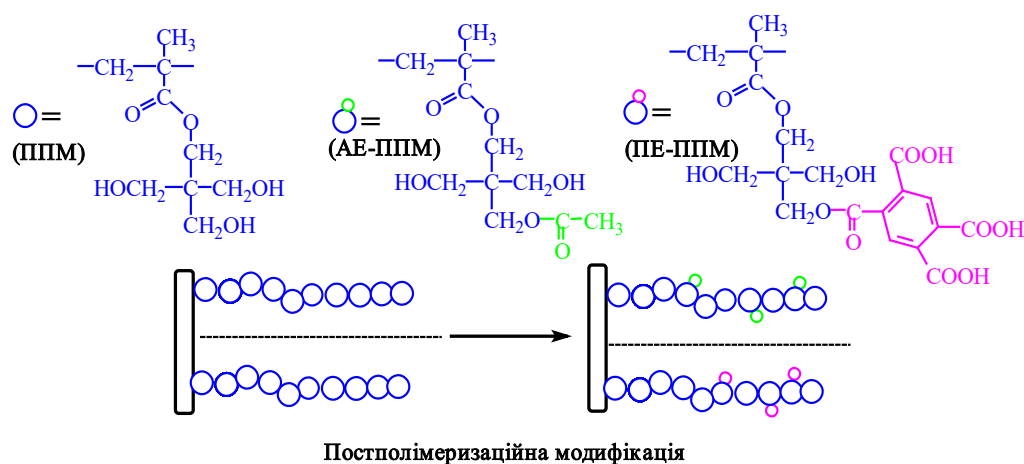


Рис. 4.46. Постполімеризаційна модифікація прищеплених щіток ППМ (після 48 годин полімеризації) ацетилхлоридом чи тетрахлорангідридом піромелітової кислоти, з утворенням ацетилового естеру ППМ (АЕ-ППМ) чи естеру піромелітової кислоти ППМ(ПЕ-ППМ), відповідно.

Для вивчення постполімеризаційної модифікації щіток ППМ використовувалися такі методи, як ToF-SIMS, XPS та вимірювання контактного кута

змочування. Для вихідних наночарів ППМ, а також для обох модифікованих зразків АЕ-ППМ та ПЕ-ППМ були записані ToF-SIMS спектри. Отримані спектри були проаналізовані з використанням методу принципного компонентного аналізу (ПКА) [226], який дозволяє отримати інформацію навіть про незначні зміни у хімічній структурі.

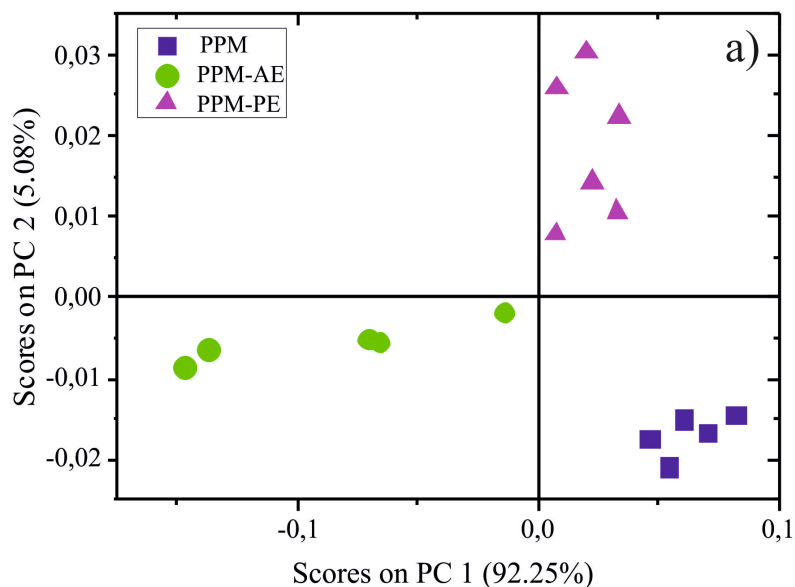


Рис.4.47. ПКА аналіз ToF-SIMS спектрів. Графіки оцінок ПК1 проти ПК2 (а) Різні символи, відповідають різним типам зразків (ППМ, АЕ-ППМ та ПЕ-ППМ) [226].

ПКА аналіз визначив два напрями некорельованих основних варіацій у наборі даних ToF-SIMS, так звані основні компоненти (ПК1 і ПК2), охоплюючи 92,25% і 5,08% загальної дисперсії в наборі даних. Розрахований графік оцінок для ПК1 і ПК2 представлений на рис.4.47. Він чітко розділяє результати ToF-SIMS на три групи точок даних, відповідних зразків ППМ, АЕ-ППМ та ПЕ-ППМ, що вказує на їх різний хімічний склад. Поділ оцінок у ПКА аналізі добре виражений для всіх постмодифікованих поверхонь, що свідчить про ефективність процесу модифікації для всіх проаналізованих зразків.

Крім того, постполімеризаційна модифікація щіток ППМ PPM була додатково підтверджена за допомогою XPS аналізу. Отримані XPS спектри представлені на рис.4.48 та позначені синім кольором для вихідного наночару ППМ, зеленим – АЕ-



ППМ (ацетильованого ППМ) та фіолетовим - ПЕ-ППМ (ППМ з фрагментами піромелітової кислоти).

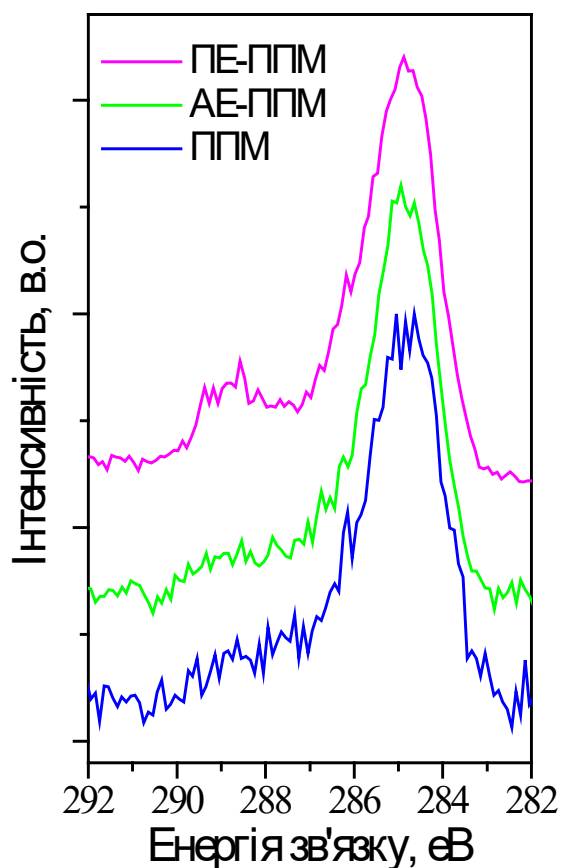


Рис.4.48. XPS спектри наночарів прищеплених щіток ППМ (синій), ПЕ-ППМ (зелений) та ПЕ-ППМ (фіолетовий).

Порівняння записаних спектрів (рис.4.48) вказує на відсутність видимої різниці між вихідними щітками ППМ і щітками ППМ модифікованими ацетилхлоридом (рис.4.48). Однак, для зразку, модифікованого хлорангідридом піромелітової кислоти, форма спектру суттєво змінюється - з'являється додатковий пік при 288,4 еВ, що відповідає С=О зв'язку, характерний як для карбоксильної, так і для карбонільної груп, які присутні в аналізованому зразку. Це спостереження підтверджується кількісним аналізом відносних інтенсивностей сигналів С-С, С-О і

C=O. Інтенсивність сигналу C=O збільшується приблизно на 50% для зразка з фрагментом піромелітової кислоти, у порівнянні з вихідним наночаром ППМ.

Підводячи підсумок, можна сказати, що вимірювання, виконані за допомогою чутливих методів ToF-SIMS і XPS, які надають інформацію про тонкий хімічний склад зразків, підтверджують постполімеризаційну модифікацію вихідних щіток ППМ. Цей ефект чітко видно для всіх зразків, проаналізованих за допомогою ToF-SIMS, тоді як XPS спектри показують помітні зміни лише для зразка, модифікованого хлорангідридом піромелітової кислоти. Оскільки глибина заміру для XPS (6,2 нм [227]) значно вища, ніж для методу ToF-SIMS (1-1,5 нм [228]), ці результати свідчать про модифікацію тільки верхнього шару покриття у випадку формування естеру оцтової кислоти. Навпаки, модифікація гідроксильних груп у більш глибоких шарах покриття характерна для формування естеру піромелітової кислоти. Крім того, ступіні модифікації усіх зразків дуже низькі - не більше декількох відсотків від усіх гідроксильних груп.

Температурна залежність контактних кутів змочування для наночарів прищеплених щіток ППМ до та після їх модифікації показана на рис.4.49. Представлені результати підтверджують температурочутливі властивості у змочуванні для всіх зразків. Однак модифікація, що проводиться за допомогою ацетилхлориду і веде до часткового перетворення гідроксильних груп на естерні, призводить до одержання більш гідрофобних покриттів з менш вираженою зміною значень контактного кута змочування (близько 17 градусів). Температура переходу залишається незмінною в порівнянні з немодифікованим наночаром ППМ (НКТР = 14°C). У свою чергу, для часткової постполімеризаційної модифікації з використанням хлорангідриду піромелітової кислоти, НКТР незначно збільшується до 17°C. Крім того, це призводить до помітного зниження гідрофільності покриття, що супроводжується зміною значення контактного кута змочування.

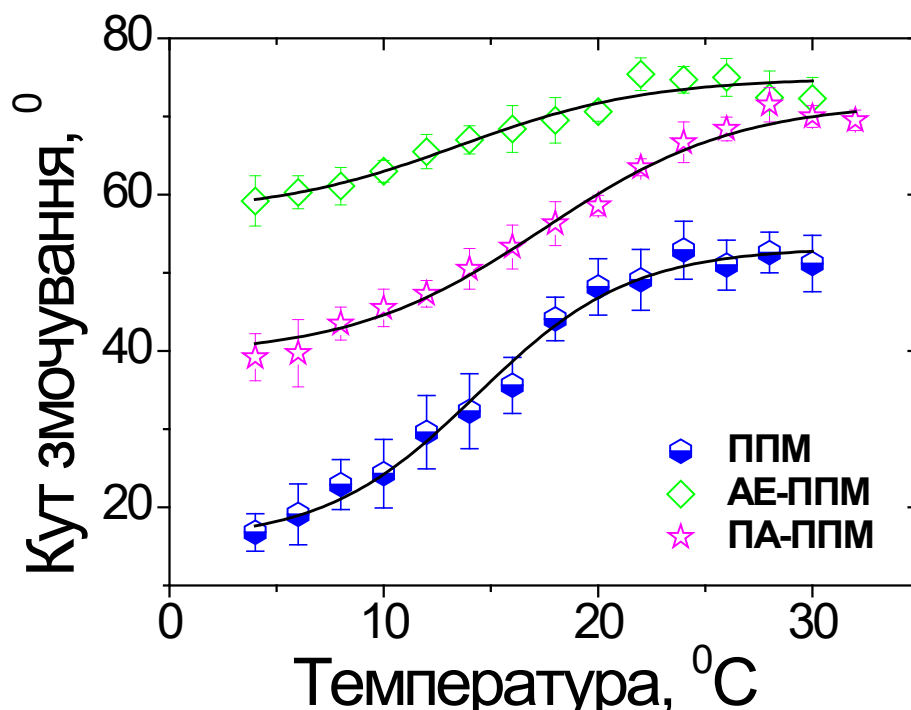


Рис. 4.49. Криві залежностей контактних кутів змочування водою від температури, визначені для наночарів прищеплених щіток ППМ з часом полімеризації 48 год та після модифікації ацетилхлоридом чи тетрахлорангідридом піромелітової кислоти.

Результати вимірювань контактних кутів змочування дають підставу стверджувати, що часткова постполімеризаційна модифікація прищеплених щіток ППМ (декілька відсотків від усієї кількості гідроксильних груп), ймовірно, має більший вплив на змочуваність поверхонь наночарів, ніж на НКТР.

#### **4.5.3. Вплив температури на адсорбцію білків на поверхню наночарів прищеплених щіток ППМ**

У роботі показано вплив часткової модифікації щіток ППМ (всього декілька відсотків від загальної кількості гідроксильних груп) на адсорбцію БСА з флуоресцентною міткою при різних температурах. Адсорбція білка здійснювалася при 10 та 30 °C на поверхню наночару прищеплених щіток ППМ та наночарів ППМ, модифікованих ацетилхлоридом та тетрахлорангідридом піромелітової кислоти.

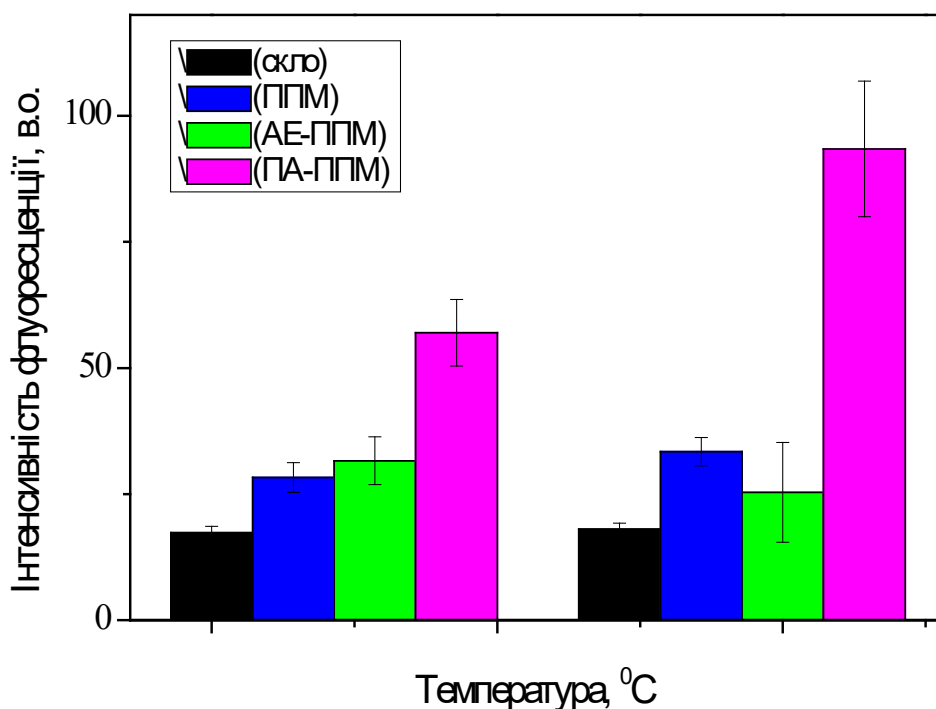


Рис. 4.50. Нормалізовані інтенсивності флуоресценції БСА, адсорбованого на поверхні скла, наночарі щіток ППМ та модифікованому шарі щіток ППМ.

Нормалізовані інтенсивності флуоресценції адсорбованого білка представлені на рис.4.50. На всіх зразках показана висока інтенсивність адсорбції БСА, що очевидно пов'язано з досить низьким вмістом води у прищеплених щітках ППМ, при цьому не спостережено значної різниці між адсорбцією при різних температурах на поверхню наночарів ППМ. У той же час, адсорбція БСА на поверхню наночарів з прищепленими щітками модифікованими тетрахлоангідридом піромелітової кислоти, значно зростає у порівнянні з ППМ. Більш того, у цьому випадку спостерігається найбільш виражений вплив температури на адсорбцію білка – інтенсивність флуоресценції збільшується більш, ніж на 60% при підвищенні температури вище НКТР. Зростання інтенсивності адсорбції, швидше за все, пов'язане з введенням відповідних груп у склад прищеплених щіток. Відомо, що поверхні, модифіковані полістиролом [229] або

речовинами з вільними карбоксильними групами [230], мають високу адсорбційну ефективність, особливо у випадку БСА.



Найбільш поширені чутливі полімерні системи, які ґрунтуються на НКТР. Це пов'язано з певною поширеністю, мономерів ОЕГМА та НПАМ. Проте синтез, властивості та застосування прищеплених щіток з НКТР все ще досить обмежені. Нами вперше із задіянням функціональних груп МПІ створено наношари температуро- та рН-чутливих прищеплених щіток полі(Н-ізопропілакриламід), полі(етилового етеру триетиленглікольмонометакрилату), полі(метилового етеру диетиленглікольмонометакрилату) та полі(4-вініл піридин-ко-етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату). Вперше показано температуро-чутливі властивості для наношарів прищеплених щіток полі(4-вінілпіридину) та полі(пентаеритрилмонометакрилату).

Вперше показано одночасний вплив температури та рН на фізико-хімічні властивості прищеплених наношарів у залежності від їхньої морфології (товщина та щільність прищеплення макромолекул). Вперше показано вплив природи мультифункціонального ініціатора прищепленої полімеризації на температуро- та рН-чутливі одночасні властивості наношарів прищеплених щіток. На основі наношарів прищеплених полімерних щіток з НКТР вперше розроблено системи, що дозволяють одночасно контролювати адсорбцію білків за допомогою температури та рН.

## РОЗДІЛ 5. СИНТЕЗ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА У НАНОШАРАХ ТЕМПЕРАТУРО-ЧУТЛИВИХ ПРИЩЕПЛЕНИХ ПОЛІМЕРНИХ ЩІТОК З НКТР

Введення металевих або напівпровідникових наночастинок у полімерні системи відкриває нові шляхи для конструювання композиційних матеріалів, що володіють унікальними механічними, електричними або оптичними властивостями.

Наночастинки металів можуть бути використані в оптичних, електронних, магнітних пристроях, мікроелектроніці та біотехнологіях [231-233]. Особлива увага в області застосування наночастинок (НЧ) приділяється наночастинкам срібла (Ag-НЧ) завдяки їхньому легкому синтезу і відносно низькій собівартості. Крім того, Ag-НЧ привертають велику увагу завдяки їх хорошій провідності, хімічній стабільності [234], антибактеріальним, електричним та оптичним властивостям [235-238]. Ag-НЧ використовуються як каталізатори хімічних процесів, а також у медицині та харчовій промисловості як антибактеріальні агенти при пакуванні харчових продуктів.

В останні роки було розроблено кілька ефективних способів синтезу Ag-НЧ. Вони включають відновлення прекурсорів срібла з використанням відновника (етиленгліколю або цитрату) у присутності стабілізуючих агентів [239-242], а також термічні [243], фотохімічні [244], електрохімічні [245] і біологічні методи [246]. Одним з найбільш відомих і поширених методів є синтез Ag-НЧ з використанням Натрій боргідриду ( $\text{NaBH}_4$ ) як відновника [247-248].

Зміна умов синтезу (відновника і стабілізуючого агенту, концентрації прекурсорів срібла, температури, рН розчину, молярного співвідношення між стабілізуючим агентом і прекурсором срібла та ін.) приводить до можливості контролю синтезу Ag-НЧ з різними формами і розмірами, включаючи такі форми як сфери, стержні, кубічні і дендритні структури тощо. Розмір та форма Ag-НЧ суттєво впливає на їхні фізичні, хімічні і біологічні властивості [234]. Що важливо, форма

НЧ грає вирішальну роль в їх антибактеріальних, каталітичних і оптичних властивостях [249-250]. Таким чином, срібні дендритні наноструктури отримали значну увагу завдяки їхньому потенційному застосуванню у Раман-спектроскопії з поверхневим підсиленням [251-253]. Оскільки анізотропні наночастинки мають більшу площу поверхні, ніж сферичні, їх флуоресценція сильніша за флуоресценцію сферичних наночастинок [254]. Натомість, найбільший антибактеріальний ефект показали наночастинки срібла сферичної форми, далі стержнеподібні і, нарешті, кубічні. Токсичний ефект Ag-НЧ щодо *S. aureus* корелюється з кількістю вивільнених іонів срібла [255]. За останні роки значна кількість зусиль була присвячена вивченню взаємодії між клітинами ссавців і Ag-НЧ. Були продемонстровані залежності цитотоксичності і генотоксичності Ag-НЧ від типу клітин [256-257].

Стабільність НЧ також має сильний вплив на антибактеріальні і оптичні властивості. У роботі німецьких дослідників три різні агенти (цитринова кислота, поліетиленгліколь і полівінілпіролідон) були використані для стабілізації Ag-НЧ [258]. Стабілізовані цитриновою кислотою частинки при зберіганні утворювали агломерати в різних середовищах і були менш стабільні, ніж частинки, стерично стабілізовані за допомогою поліетиленгліколю і полівінілпіролідону. Крім того, Ag-НЧ здатні окиснювально розчинятися, утворюючи іони  $\text{Ag}^+$ . Ag-НЧ чутливі до дії кисню, причому вважають, що тільки частково окиснені Ag-НЧ проявляють антибактеріальну активність. Так, Джокич і Баррелл показали, що тільки срібні плівки, що містять оксид срібла, проявляють антимікробну активність [259].

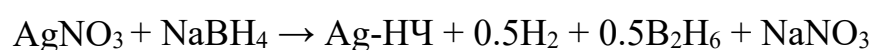
Перші спроби включити Ag-НЧ у прищеплені полімерні щітки з використанням Натрій боргідриду, як відновника були описані в роботах Гурта і Агравал ще 10 років тому, де полігідроксиетилметакрилат, полі(2-вінілпіридин) і полі(2-(диметиламіно)етилметакрилат), відповідно, були використані як стабілізуючі агенти (полімерна матриця) [260-262]. У цих роботах був показаний успішний синтез Ag-НЧ, включених у прищеплені полімерні щітки, але відсутня інформація про форму НЧ.

Крім того, в останні десятиліття часте використання антибіотиків широкого спектру дії викликало антибіотикорезистентність у численних бактерій, загрожуючи можливості лікувати поширені інфекційні захворювання. Зниження потенціалу діючих біоцидів та антибіотиків призводить до збільшення смертності та зростання витрат на тестування нових препаратів і, відповідно, мотивує наукову спільноту до інтенсивного пошуку альтернативних методів антибактеріальної терапії. Один з найбільш перспективних підходів включає застосування металевих наночастинок, як антибактеріальних агентів. Серед них найефективнішими виявилися наночастинки срібла.

Багато зусиль прикладається для розробки ефективних антибактеріальних матеріалів. Їх можна загалом розділити на два типи. Перший з них включає в себе антибактеріальні пасивні захисні поверхні, де використовуються матеріали, такі як поліетиленгліколь та цвіттер-іонні полімери для запобігання первинного приєднання бактерій [263-264]. У свою чергу, другий тип – це антибактеріальні поверхні, що активно атакують мікроорганізми, і містять у своїй структурі синтетичні або природні біоциди [265-266]. Розумні антибактеріальні поверхні мають великий потенціал в області охорони здоров'я та промислового застосування, оскільки вони запобігають адгезії мікроорганізмів та утворенню біоплівки. Такі матеріали здатні не тільки вбивати бактерії, прикріплені до їхньої поверхні, але також до самоочищення [267-273]. Механізми дії «розумних» антибактеріальних поверхонь ґрунтуються на температуро-, рН-, світло-чутливості полімерів, що «вмикають» антибактеріальні властивості.

### **5.1. Синтез та властивості наночастинок прищеплених щіток з вбудованими Ag-НЧ.**

Синтез Ag-НЧ здійснювали спочатку занурюючи зразки у розчин  $\text{AgNO}_3$ , а потім відновлюючи іони срібла за допомогою Натрій боргідриду згідно схеми (розділ 2.4.8):





У якості полімерної матриці використали наночастиці прищеплених щіток П4ВП, П(4ВП-*ко*-ОЕГМА246), П(ОЕГМА246), синтезовані за допомогою МПІ-1 (див. розділ 2.4.3). Крім того, синтез Ag-НЧ проводили у прищеплених полімерних щітках полі(метиловий етер диетиленглікольмонометакрилату) - П(ОЕГМА188 та П4ВП), сформованих за допомогою ATRP ініціатора (див. розділ 2.4.5). Отримані результати дозволяють перевірити правильність теорії про вирішальний вплив природи прищепленого наночастиці на форму, кількість та властивості наночастинок, а не методу його формування.

Присутність срібла у наночастицях прищеплених полімерних щіток була показана за допомогою методу ToF-SIMS. Усі досліджені зразки характеризуються двома піками, що відповідають  $^{107}\text{Ag}$  і  $^{109}\text{Ag}$ , які є характерними для Ag-НЧ.

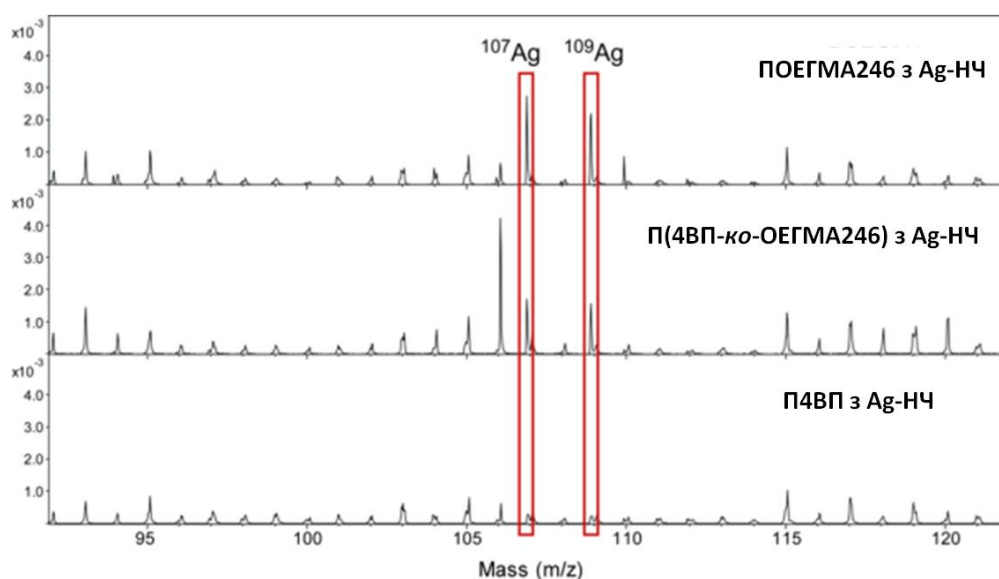


Рис. 5.1. ToF-SIMS спектри наночастиць прищеплених щіток П4ВП, П(4ВП-*ко*-ОЕГМА246), П(ОЕГМА246) з вбудованими Ag-НЧ. Наночастиці прищеплених полімерних щіток сформовані за допомогою МПІ-1.

Показано істотну різницю у кількості іонів срібла для кожного з наночастиць, від відносно низького рівня для П4ВП до значно вищого – для П(ОЕГМА246).

Присутність Ag-НЧ в наночастицях прищеплених щіток П(ОЕГМА188 та П4ВП) було підтверджено за допомогою трьох незалежних методів: XPS (рис. 5.2 а, г), ToF-SIMS (рис. 5.2 б, д) та EDX (рис. 5.2 в, е).

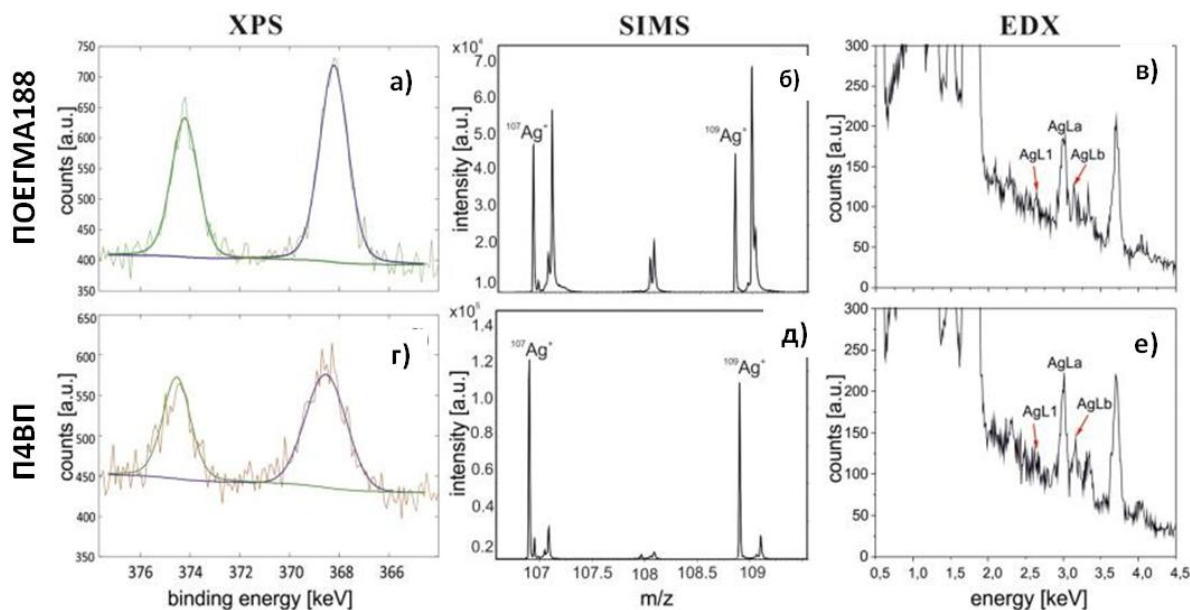


Рис. 5.2. XPS (а, г), ToF-SIMS (б, д) та EDX (в, е) спектрограми наночарів прищеплених ПОЕГМА188 (верхній ряд) та П4ВП (нижній ряд) з вбудованими Ag-НЧ. Наночари прищеплених полімерних щіток сформовані за допомогою ATRP ініціатора. Усі спектри були отримані з випадкових точок у полі зору зображень.

Спектри XPS (рис. 5.2 а та г) зображують два піки 367,8 та 373,8 еВ, що відповідають станам 3d<sub>5/2</sub> та 3d<sub>3/2</sub> відповідно. Згідно з даними літератури, енергія зв'язку Ag 3d<sub>5/2</sub>, що дорівнює 367,7 еВ, характерна для Оксиду срібла.

Результати аналізу ToF-SIMS обох наночарів прищеплених полімерних щіток, представлених на рис. 5.2 б та д повністю узгоджуються з попередніми результатами (рис.5.1) та відображають два характерні піки, що відповідають ізотопам срібла  $^{107}\text{Ag}^+$  та  $^{109}\text{Ag}^+$ .

У свою чергу, спектри EDX (рис. 5.2 в та е) відображають послідовність піків AgL, несучи інформацію про кількість Ag-НЧ у полімерних матрицях. Особливо добре видно сильний сигнал AgL $\alpha$  при 2.964 кеВ, характерний для покриттів з включеними Ag-НЧ (рис. 5.2 в, е). Більше того, спектри EDX, записані в різних точках, помітно не відрізняються, що вказує на однорідний розподіл Ag-НЧ. Усі спектроскопічні дані, записані для обох типів аналізованих полімерних покриттів,

підтверджують наявність Ag-НЧ у полімерній матриці, а також їх однорідний розподіл у полімерному шарі.

Товщини всіх покриттів були майже однаковими в сухому стані при кімнатній температурі. На відміну від цього, у водному стані поведінка різних прищеплених щіток істотно різниться. Таким чином, товщини наночарів прищеплених щіток П4ВП, П(4ВП-ко-ОЕГМА246) і П(ОЕГМА246) сформовані за допомогою МПП-1 при кімнатній температурі мають значення  $46,5 \pm 0,4$ ,  $62,2 \pm 0,6$  і  $45,5 \pm 0,8$  нм, відповідно. Їх індекси рефракції становлять 1.508, 1.502 та 1.48. Подібна картина спостерігається для наночарів прищеплених щіток П4ВП та П(ОЕГМА188), сформованих за допомогою ATRP ініціатора, де товщина наночару складала  $42 \pm 0,4$  та  $45,2 \pm 0,6$  нм, відповідно а індекси рефракції 1,54 та 1,44. Показники заломлення для наночарів прищеплених щіток П4ВП та П(ОЕГМА188) суттєво змінювалися із включенням Ag-НЧ та склали відповідно 1,6 та 1,56. Таке зростання показника заломлення є достатньо очікуваним для полімерних щіток із вбудованими металевими НЧ та може бути використане для обчислення вмісту металевих включень у покриттях.

Для дослідження температурно-залежних властивостей змочування та впливу вбудованих Ag-НЧ на значення контактних кутів змочування, їх вимірювали за температур від 5 до 40°C для наночарів прищеплених щіток П(ОЕГМА188) (рис. 5.3 а) і від 5 до 30°C – для П4ВП (рис. 5.3 б).

"Чисті" наночари П(ОЕГМА188), а також із вбудованими Ag-НЧ, характеризуються різким зростанням значень контактних кутів змочування при температурі близько 19°C. Хоча криві температурних залежностей контактних кутів змочування водою, визначені для наночарів прищеплених полімерних щіток П(ОЕГМА188) та П(ОЕГМА188) із вбудованими Ag-НЧ, мають подібний характер, значення контактних кутів змочування для цих зразків значно відрізняються. Наночари прищеплених щіток П(ОЕГМА188) із вбудованими Ag-НЧ є значно гідрофільнішими, ніж наночари «чистих» щіток П(ОЕГМА188). Аналогічно, наночари прищеплених щіток П4ВП із вбудованими Ag-НЧ мають більші

гідрофільні властивості, ніж без Ag-НЧ. Зростання, гідрофільності поверхні пов'язане з впливом металічних наночастинок, оскільки відомо, що металічні частинки мають високу поверхневу енергію, особливо її гідрофільну складову.

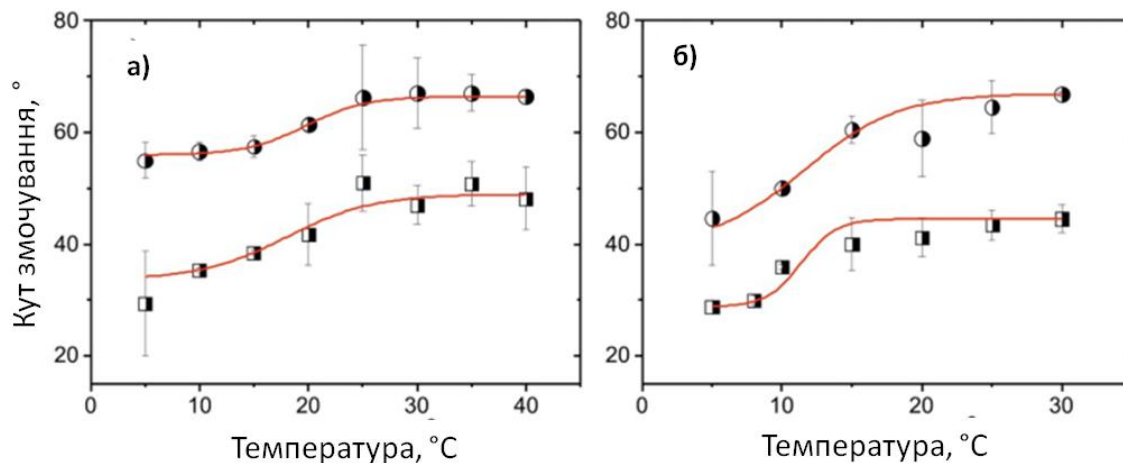


Рис. 5.3. Залежності контактних кутів змочування, визначені для «чистих» полімерних щіток (кружечки) та полімерних щіток із вбудованими Ag-НЧ (квадрати), виміряні для покриттів на основі ПОЕГМА188 (а) та П4ВП (б). Наночари прищеплених полімерних щіток сформовані за допомогою ATRP ініціатора.

Порівняння всіх отриманих даних показує співставність властивостей обох наночарів з Ag-НЧ. Однак форма окремих наночастинок та їх кількість залежить від природи полімерної матриці.

## 5.2. Морфологія наночарів та розмір Ag-НЧ, вбудованих в наночари прищеплених полімерних щіток.

Аналіз розміру і морфології Ag-НЧ у прищеплених полімерних щітках був здійснений за допомогою СЕМ. На рис. 5.4 показані СЕМ мікрофотографії Ag-НЧ, включених у наночари прищеплених полімерних щіток П4ВП, П(4ВП-ко-ОЕГМА246), ПОЕГМА246. Найменша кількість Ag-НЧ включена у прищеплені П4ВП щітки, де Ag-НЧ мають сферичну або сфероподібну форму з діаметром  $38 \pm 17$  нм, визначений як середнє значення з 10 незалежних вимірювань. Зовсім інший тип

морфології представлений для наночастинок прищеплених щіток П(ОЕГМА246), де спостерігаються Ag-НЧ у формі наностержнів. Ці Ag-НЧ зустрічаються у двох розмірах, із середнім розміром приблизно  $20\pm 6 \times 60\pm 11$  нм і  $7\pm 2 \times 20\pm 7$  нм. Поверхнева густина Ag-НЧ висока, що повністю корелюється з результатами аналізу ToF-SIMS.

Ag-НЧ, включені в наночастинок П(4ВП-ко-ОЕГМА246) мають дуже малі розміри. Вони мають форму слабо розгалужених дендритних наноструктур з середньою шириною гілок у діапазоні декількох нм. Їх кількість більша, ніж для наночастинок П4ВП, але менша, ніж для наночастинок П(ОЕГМА246). Крім того, агреговані Ag-НЧ, що значно переважають за розміром окремі Ag-НЧ, спостерігалися на всіх досліджених зразках.

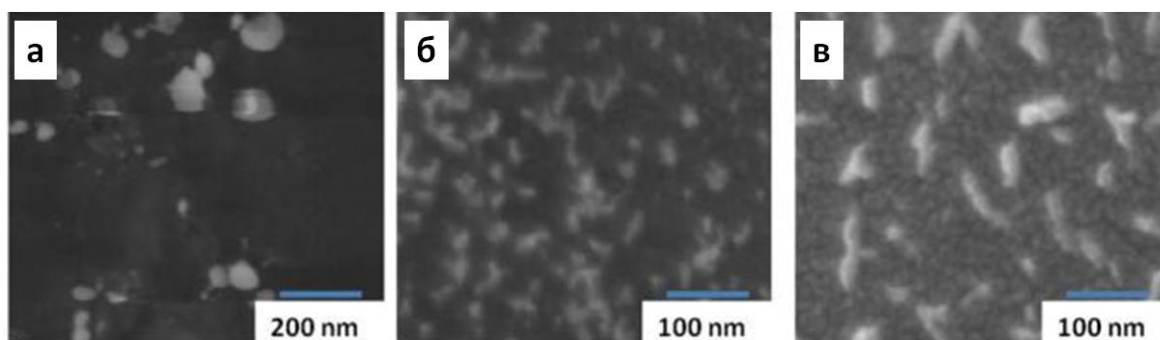


Рис. 5.4. Типові зображення Ag-НЧ, вбудованих у наночастинок прищеплених щіток П4ВП (а), П(4ВП-ко-ОЕГМА246) (б), П(ОЕГМА246) (в). Наночастинок прищеплених полімерних щіток сформовані за допомогою МПП-1.

Для візуалізації морфології покриттів у сухому стані до та після включення срібних наночастинок використовували метод АСМ. На рис. 5.3 представлені мікрофотографії АСМ до (зліва) і після (праворуч) включення Ag-НЧ. АСМ зображення, записані для всіх проаналізованих типів «чистих» полімерних наночастинок (рис. 5.3 а, б, д, е, з, и), відображають відносно гладкі поверхні. І навпаки, для зразків з включеними Ag-НЧ (рис. 5.3 в, г, є, ж, і, і), характерні розгалужені острівцеподібні структури.

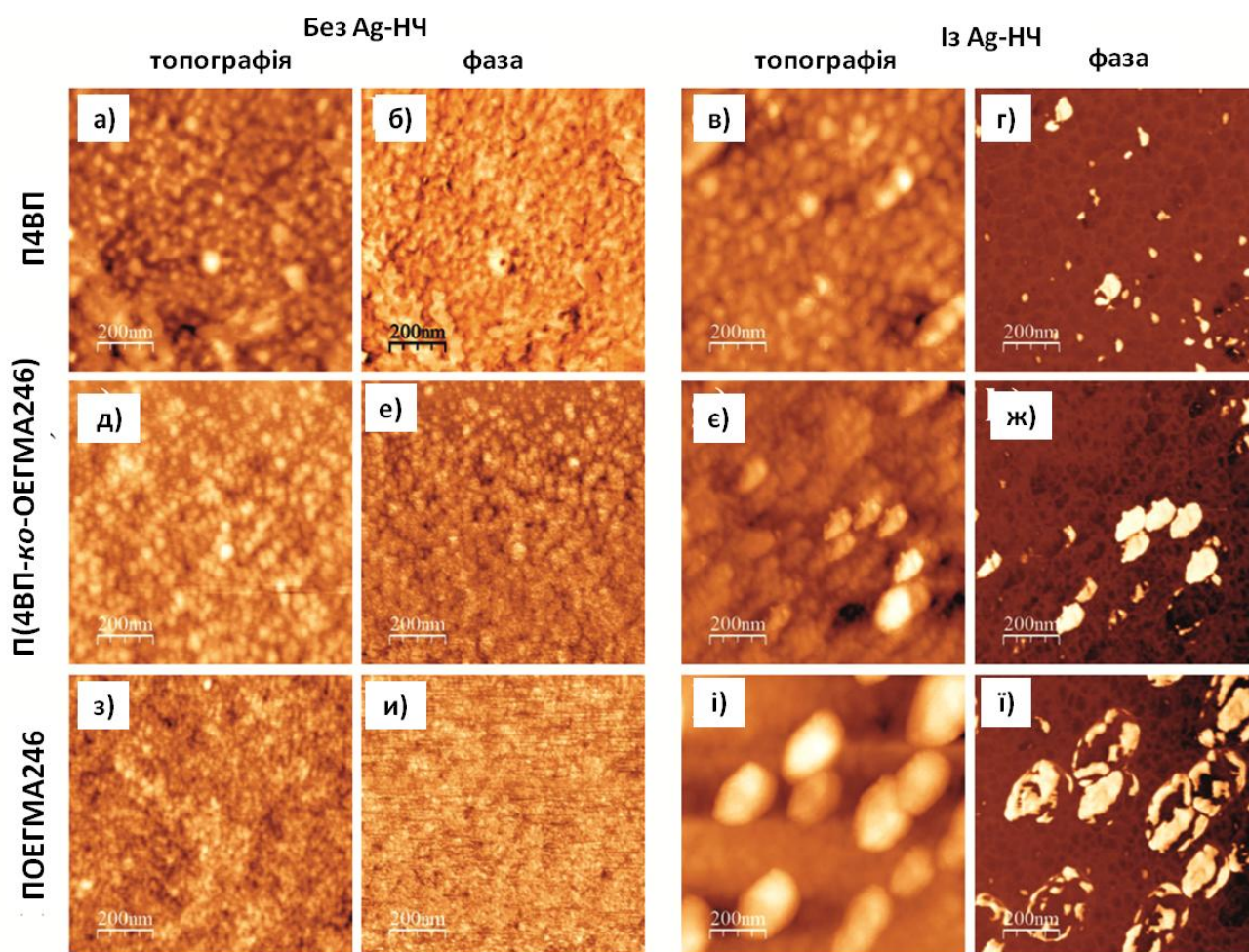


Рис. 5.5. Типові зображення АСМ наночарів "чистих" П4ВП (а, б), П(4ВП-ко-ОЕГМА246) (д, е), ПОЕГМА246 (з, и), а також із вбудованими Ag-НЧ у наночари П4ВП (в, г), П(4ВП-ко-ОЕГМА246) (є, ж) і ПОЕГМА246 (і, ї), записані в сухому стані як топографія (а, в, д, є, з, і) і фазовий аналіз (б, г, е, ж, и, ї). Наночари прищеплених полімерних щіток сформовані за допомогою МПІ-1.

Ці спостереження кількісно підтверджуються значеннями RMS, що значно зростають у випадку наночарів із вбудованими Ag-НЧ (табл. 5.1).

Таблиця 5.1.

Значення RMS для прищеплених полімерних щіток у сухому стані.

Тип прищепленої полімерної щітки	Значення RMS для наночарів щіток без Ag-НЧ [нм]	Значення RMS для наночарів щіток з вбудованими Ag-НЧ [нм]
П4ВП	1.4±0.3	2.1±0.8
П(4ВП-ко-ОЕГМА246)	0.5±0.04	1.5±0.1
ПОЕГМА246	0.3±0.04	11.5±0.7

Напрошується висновок що форма і розміри наноструктур Ag-НЧ сильно залежать від хімічного складу полімерної матриці, що співставляється з результати аналізу СЕМ. Для П4ВП щіток (рис. 5.5 в і г) спостерігаються сферичні структури з типовими розмірами приблизно 10-50 нм, тоді як для ПОЕГМА246 покриттів (рис. 5.5 і і і) можуть спостерігатися подовжені структури значно більшого розміру (200 нм). Навпаки, для кополімерних П(4ВП-ко-ОЕГМА246) щіток (рис. 5.5 є і ж) Ag-НЧ утворюють великі деревоподібні розгалужені структури. Однак, у цьому випадку видно поодинокі наночастинки з розмірами приблизно 100-150 нм. Крім того, кількість Ag-НЧ також помітно змінюється для різних наночарів, від дуже малої для П4ВП, до середньої для П(4ВП-ко-ОЕГМА246) і до відносно великої для ПОЕГМА246.

Аналогічний аналіз морфології був проведений для наночарів прищеплених щіток, сформованих за допомогою АТРР ініціатора. Для наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА188 видно паличкоподібну форму Ag-НЧ (рис. 5.6 а, б і в). Типові розміри Ag-НЧ, визначені за допомогою СЕМ знаходяться в діапазоні  $40\pm 7 \times 80\pm 14$  нм.

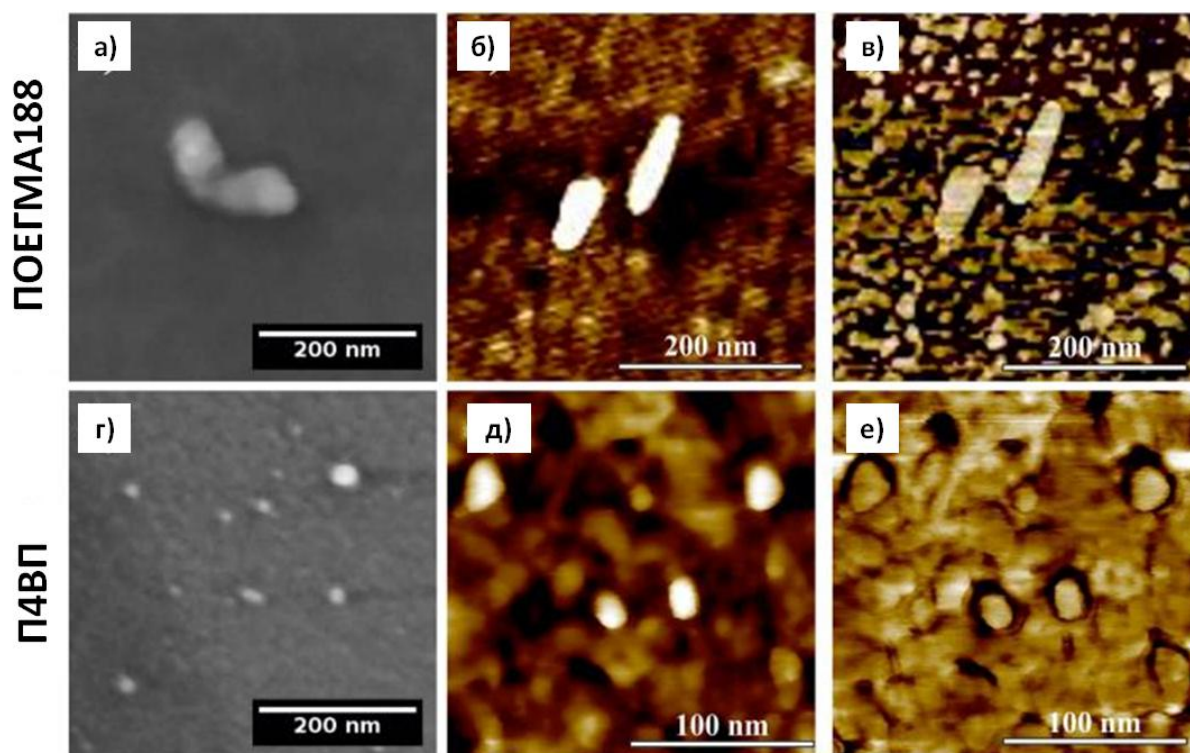


Рис. 5.6. Мікрофотографії Ag-НЧ у наносшарах прищеплених щіток ПОЕГМА188 (верхній ряд) і П4ВП (нижній ряд), отримані за допомогою СЕМ (а, г) та АСМ; їхня топографія (б, д) та фазовий контраст (в, е). Наносшари прищеплених полімерних щіток сформовані за допомогою АТРР ініціатора.

Аналогічний аналіз СЕМ та АСМ зображень для Ag-НЧ в матриці П4ВП (рис. 5.6 г, д та е), показує, що наночастинки мають сферичну або сфероподібну форму діаметром  $14 \pm 6$  нм.

На нашу думку, згідно результатів СЕМ та АСМ форма частинок та їх кількість перш за все пов'язані з хімічним складом прищеплених полімерних щіток, а не способом формування наносшарів. Крім того, утворення Ag-НЧ різної форми може бути обумовлено різною конформацією полімерних ланцюгів і принциповими відмінностями у розташуванні і кількості місць взаємодії полімерних ланцюгів з іонами срібла (рис. 5.7). Так, у літературі була описана сильна взаємодія Нітрогену піридинової групи П4ВП, а також Оксигену в етерних групах ПОЕГМА246 з іонами Аргентуму.



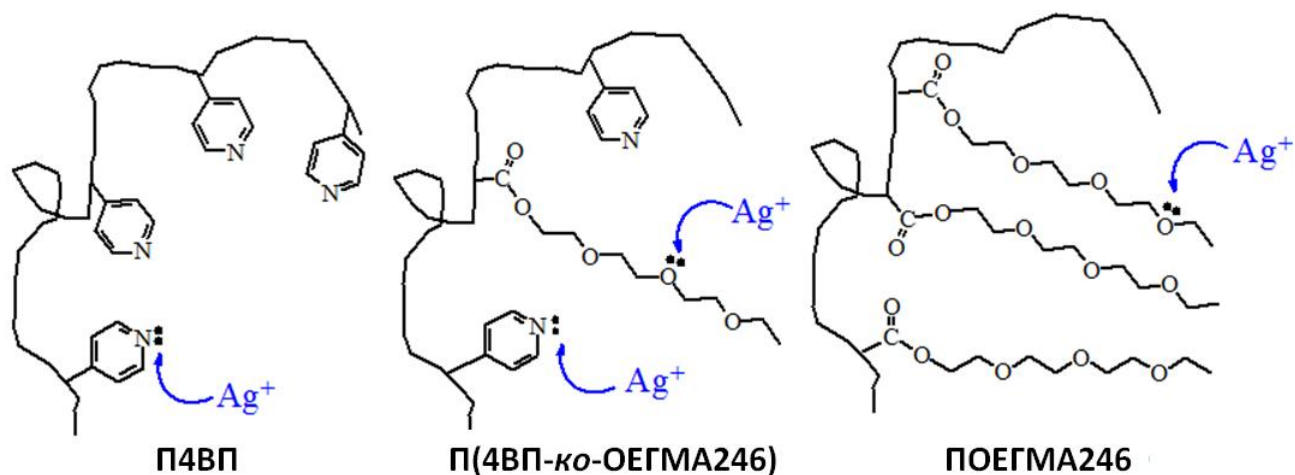


Рис. 5.7. Схема взаємодії прищеплених полімерних щіток з іонами срібла.

### 5.3. Вплив температури на оптичні ефекти Ag-НЧ вбудованих у температурочутливі прищеплені полімерні щітки

Вплив температури на оптичні ефекти Ag-НЧ вбудованих у температурочутливі прищеплені полімерні щітки досліджували за допомогою UV–VIS спектроскопії в ультрафіолетовій та видимій зоні спектру. На рис. 5.9. наведено залежність абсорбції Ag-НЧ, вбудованих у наночастиці температурочутливих прищеплених полімерних щіток у сухому стані та у водному середовищі за різних температур.

Спектральні залежності оптичного поглинання Ag-НЧ всіх трьох зразків прищеплених полімерних щітках свідчать про наявність піку плазмонного поглинання в діапазоні довжин хвиль 400-550 нм (криві 1 на рис. 5.8). Довгохвильова частина кривих поглинання від 600 до 1000 нм є монотонною і практично не відрізняється для сухих і вологих зразків. Необроблені спектри (рис. 5.8) були проінтегровані у проміжку між 400 і 1000 нм у результаті чого отримані гістограми залежностей інтенсивності поглинання світла Ag-НЧ залежно від температури і умов проведення дослідів (рис. 5.9).

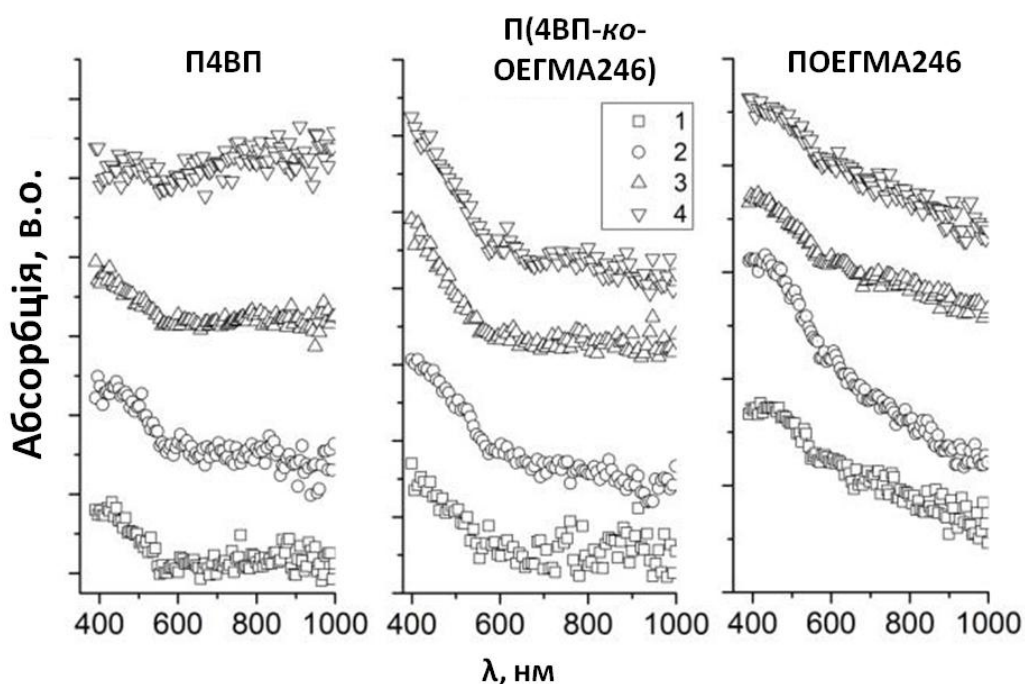


Рис. 5.8. Залежність інтенсивності абсорбції світла Ag-НЧ вбудованими у наночарі температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток у сухому стані (1) та водному середовищі за температури 10°C (2), 20°C (3), 30°C (4).

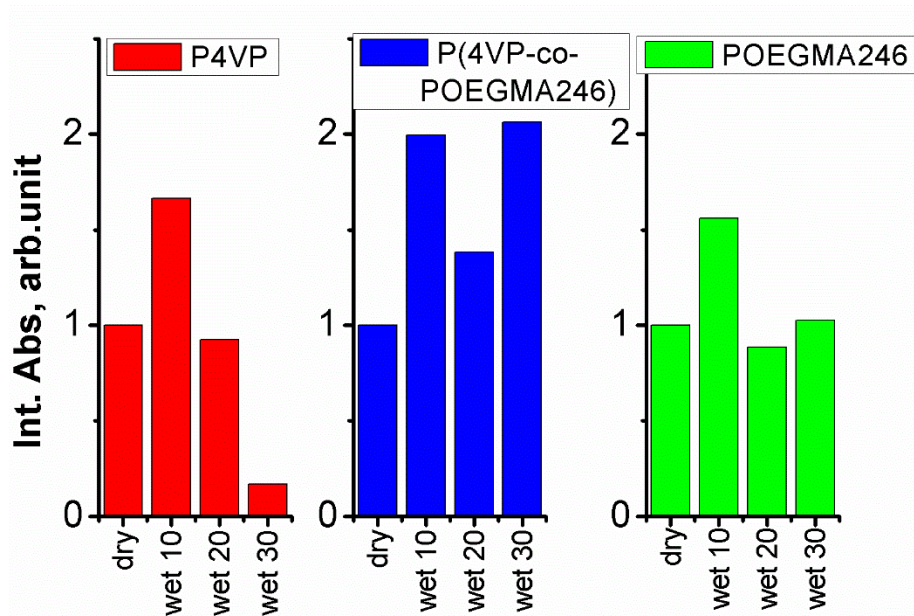


Рис. 5.9. Порівняльна інтенсивність абсорбції світла Ag-НЧ, вбудованими у наночарі прищеплених полімерних щіток у залежності від температури та умов проведення досліджень.

Інтенсивність абсорбції світла Ag-НЧ вбудованими у наночар П4ВП поверхні має свій максимум у водному середовищі за температури 10°C та надалі спадає при зростанні температури. Максимум кривих поглинання в області 420 нм характерний для Ag-НЧ зі сферичною формою. Найпростішим поясненням спостережуваних явищ є перетворення структури полімерної матриці зі зміною температури, що веде до різкого зменшення відстані між Ag-НЧ і їхньої взаємодії. Виявлена залежність може бути використана в датчиках температури в рідкому середовищі.

Абсорбційна крива Ag-НЧ, вбудованих у наночар прищеплених щіток П(ОЕГМА246) має схожий характер та максимум поглинання у тій же області, проте абсорбція за інших температур у воді та сухому стані є практично однаковою. Абсорбція Ag-НЧ, вбудованих у наночар прищеплених щіток П(4ВП-ко-ОЕГМА246) має максимуми за двох температур 10°C і 30°C у водному середовищі. Площа під кривою поглинання для водного середовища більша, ніж для сухого стану, і зменшується зі зростанням температури від 10°C до 20°C, як і для попередніх зразків. Подальше підвищення температури до 30°C призводить до значного зростання поглинання, площа під кривою поглинання у два рази більша від площі для сухого стану.

#### **5.4. Температуро-контрольована антибактеріальна активність наночарів прищеплених полімерних щіток з вбудованими Ag-НЧ**

«Розумні» антибактеріальні покриття були розроблені на основі наночарів температурочувливих прищеплених полімерних щіток П(ОЕГМА188) та П4ВП з вбудованими Ag-НЧ. Завдяки температуро-чутливим властивостям полімерних щіток спостерігалися зміни антибактеріальних властивостей наночарів у залежності від температури. Так, при температурах нижчих НКТР вплив на бактеріальні клітини був мінімальний, у той же час при температурах вищих за НКТР практично всі бактерії на поверхні наночарів гинули. У якості модельних бактерій використали - *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *E.coli* вважається однією з найбільш патогенних та домінуючих грамнегативних

бактерій. Вона може викликати сильну діарею, що спричиняє високу смертність. *S. aureus* є широко поширеною грампозитивною бактерією, що вражає від 50% до 60% населення, викликаючи численні захворювання та синдроми, включаючи бактеріємію, пневмонію та остеомієліт. Крім того, обидві досліджувані бактерії мають здатність набувати стійкості до антибіотиків. Актибактеріальну активність наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА188 та П4ВП із вбудованими Ag-НЧ вивчали методом серійних розведень після 12-годинної інкубації при двох температурах - 4 та 37°C, тобто нижче та вище НКТР. Аналогічні дослідження були проведені для наночарів прищеплених щіток без Ag-НЧ та контрольних зразків скла, як еталону. Результати, представлені на рис. 5.10, показують вплив наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА188 з вбудованими Ag-НЧ на кількість бактерій.

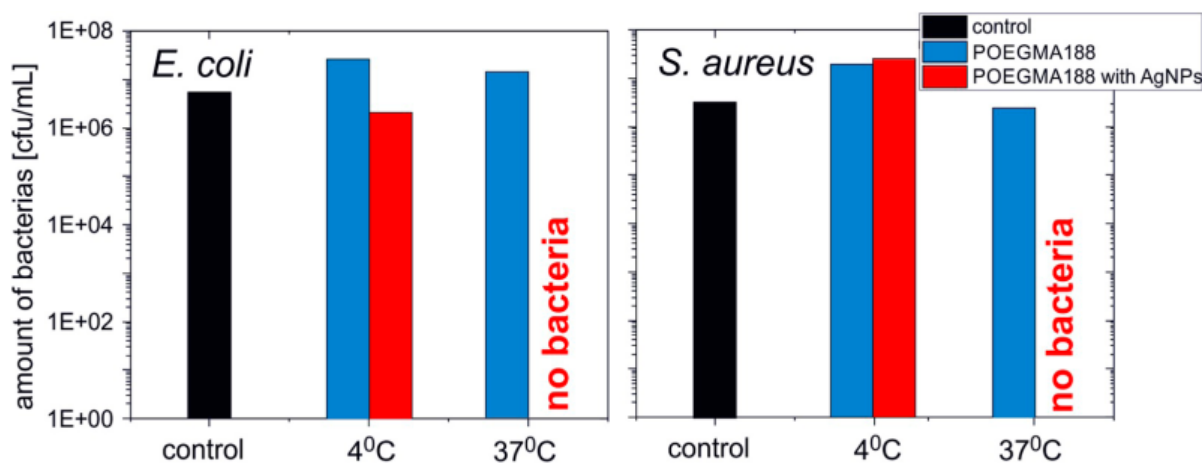


Рис. 5.10. Кількість бактерій *E. coli* та *S. aureus*, отриманих з розчинів після інкубації 12 год разом з наночарами прищеплених щіток ПОЕГМА188 (синій), ПОЕГМА188 з вбудованими Ag-НЧ (червоний) та на контрольним зразком (чорний).

При 4°C практично немає різниці між кількістю бактерій, отриманих з розчинів після інкубації 12 год разом з наночарами прищеплених щіток ПОЕГМА188, ПОЕГМА188 з вбудованими Ag-НЧ та на контрольному зразку. Проте, при 37°C не спостерігається бактерій на зразку ПОЕГМА188 з вбудованими Ag-НЧ, тоді як кількість бактерій залишалася незмінною для «чистих» наночарів ПОЕГМА188 за

двох температур, що вказує на залежність антибактеріальних властивостей зразку ПОЕГМА188 з вбудованими Ag-НЧ від температури.

Результати, отримані для бактерій, інкубованих разом із наночастинами прищеплених щіток П4ВП (рис. 5.11) є схожими до попередніх.

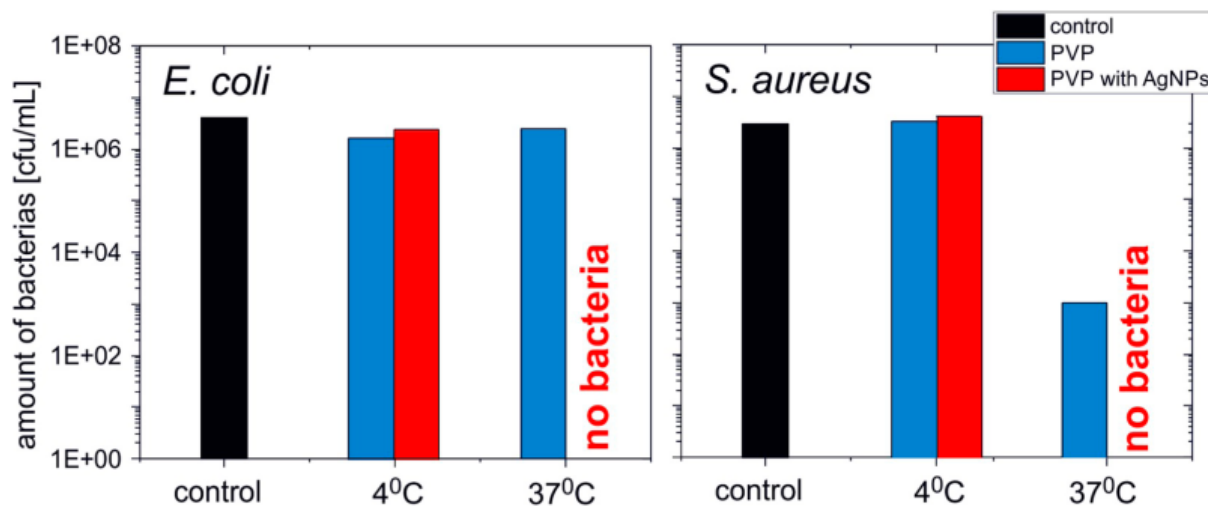


Рис. 5.11. Кількість бактерій *E. coli* та *S. aureus*, отриманих з розчинів після інкубації 12 год разом з наночастинами прищеплених щіток П4ВП (синій), П4ВП з вбудованими Ag-НЧ (червоний) та на контрольним зразком (чорний).

Антибактеріальні властивості П4ВП з вбудованими Ag-НЧ активуються вище НКТР. Однак у цьому випадку, щітки П4ВП самі по собі проявляють певні антибактеріальні властивості. Кількість бактерій зменшується при підвищенні температури на три порядки для грампозитивного *S. aureus* і не змінюється для грамнегативної кишкової палички. Цю різницю в антимікробній ефективності можна пояснити характеристиками бактеріальної стінки бактерій.

Для візуалізації життєздатності бактерій проводили флуоресцентне забарвлення клітин барвниками, що дозволяють розрізнити мертві та живі клітини. До цих флуоресцентних барвників відносять йодид пропідіум та флуоресцеїн SYTO®9. SYTO®9 має здатність проникати крізь клітинну мембрану, гідролізовану внутрішньоклітинними естеразами (активними лише в живих клітинах) і дає флуоресцентне зелене забарвлення. Для мертвих клітин характерною є понижена естеразна активність та пошкоджені мембрани, тому вони незначно накопичують

флуоресцеїн SYTO<sup>®</sup>9, а тільки йодид пропідіум, не проникає в неушкоджені мембрани живих клітин. Одночасне використання обох барвників та комп'ютеризованої системи аналізу зображень дозволяє візуально розрізняти живі та мертві клітини. Зображення, записані для *S.aureus* на поверхні наношарів прищеплених щіток ПОЕГМА188 та П4ВП з та без включених Ag-НЧ після інкубації протягом 12 год за температури 4°C та 37°C представлені на рис. 5.12.

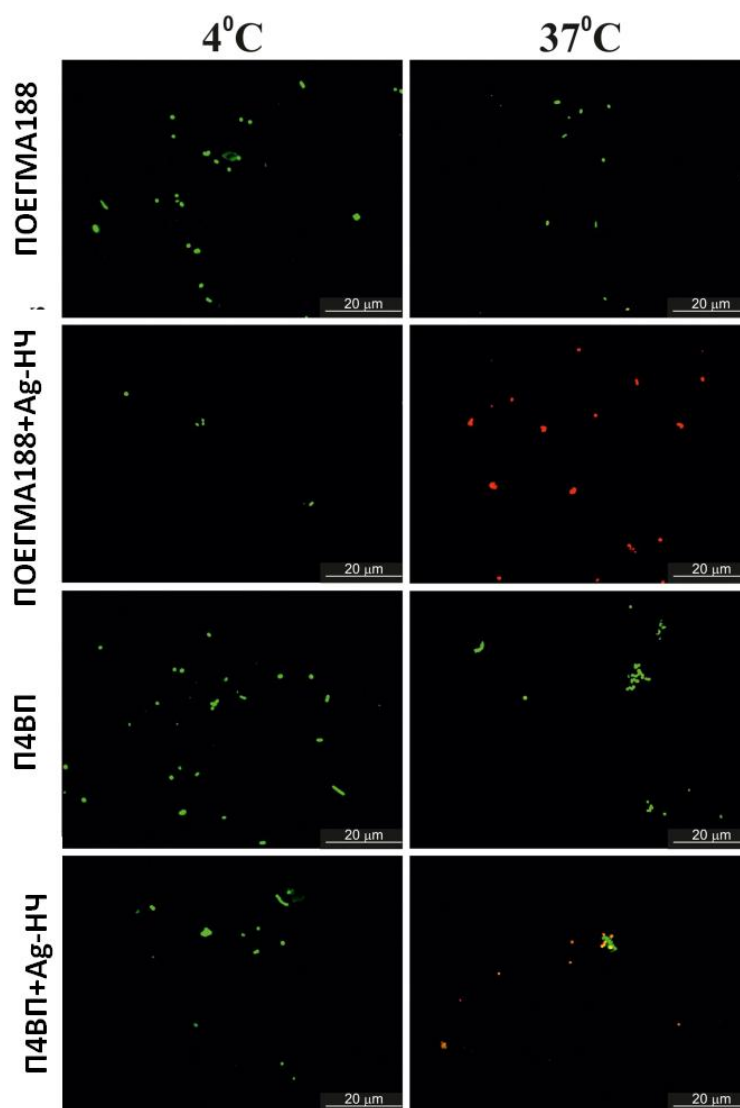


Рис. 5.12. Зображення мертвих (червона флуоресценція) та живих (зелена флуоресценція) клітин *S. aureus* на поверхні наношарів прищеплених щіток ПОЕГМА188 та П4ВП з та без включених Ag-НЧ після інкубації протягом 12 год за температури 4°C та 37°C.

Флуоресцентні зображення відповідають результатам, отриманим з використанням методу серійного розведення. Для «чистих» наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА188 та П4ВП не спостерігаються відмінності у життєздатності бактерій *S. aureus* для обох температур. При цьому, для наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА188 та П4ВП із вбудованими Ag-НЧ спостерігалася температурна залежність активності бактерій. Практично, усі бактерії, що інкубуються при 4°C, залишаються живими, тоді як інкубація при 37°C веде до загибелі частини бактеріальних клітин. Крім того, кількість живих клітин на наночарів прищеплених щіток ПОЕГМА188 та П4ВП з Ag-НЧ значно нижча, ніж на наночарах без Ag-НЧ. Ag-НЧ проявляють свою антимікробну дію через різні механізми, які, як правило, пов'язані з поверхневим зв'язуванням Ag-НЧ з бактеріями та вивільненням іонів  $Ag^+$  з подальшим впливом високого окиснювального стресу на клітини. У нашій роботі температурозалежне знищення бактерій, пов'язане з двома можливими механізмами (рис. 5.13).

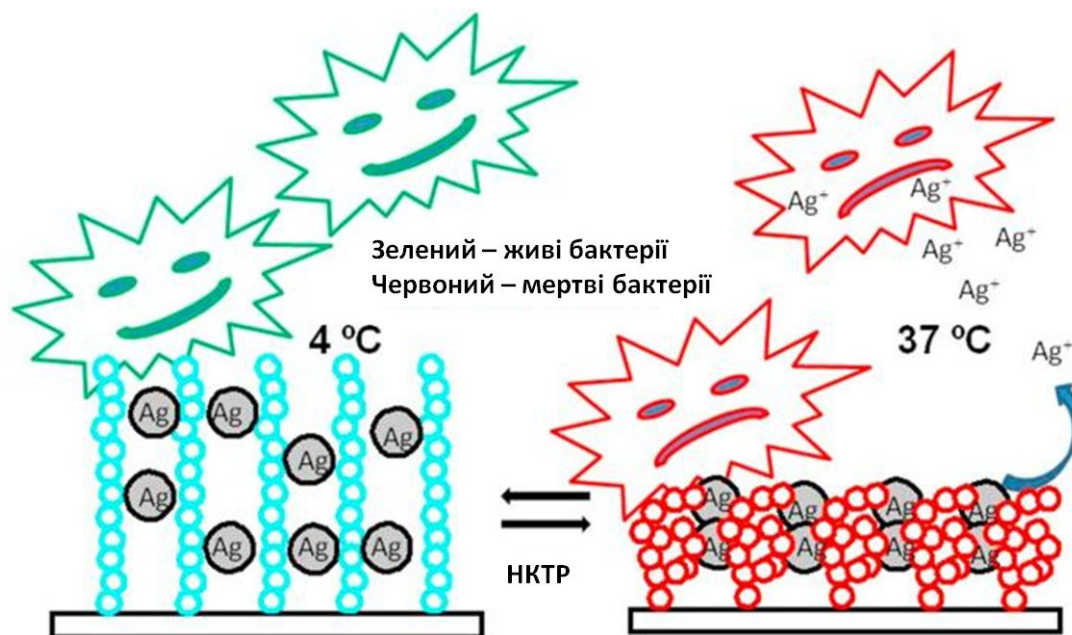


Рис. 5.13. Гіпотетичний механізм температурно-залежного знищення бактерій за допомогою наночарів температурно-чутливих прищеплених полімерних щіток з вбудованими Ag-НЧ.

Перший з них включає температурозалежне вивільнення іонів  $Ag^+$ , яке переважно блокується в температуро-чутливих прищеплених полімерних щітках для температур нижчих за НКТР (набряклий стан наношару). А другий пов'язаний з прямим поверхневим зв'язуванням Ag-НЧ з бактеріями за температури вищої, ніж НКТР (колапсований стан наношару) та блокуванням цих взаємодій при температурі нижче НКТР.



Нами розроблено новий спосіб формування Ag-НЧ різних форм та розмірів у полімерній матриці наношару прищеплених рН- та температуро-чутливих щіток. Синтез Ag-НЧ здійснювали, спочатку занурюючи зразки у розчин  $AgNO_3$  а потім відновлюючи іони срібла у полімерній матриці за допомогою борогідрату натрію. У якості полімерної матриці використали наношари прищеплених щіток П4ВП, ПОЕГМА188, ПОЕГМА246, П(4ВП-ко-ОЕГМА246). Форма та розміри Ag-НЧ суттєво залежали від хімічного складу полімерної матриці. Для П4ВП щіток спостерігаються сферичні структури з типовими розмірами приблизно 10-50 нм, тоді як для наношарів ПОЕГМА188 спостерігатися подовжені структури значно більшого розміру (до 200 нм). Крім того, розміст Ag-НЧ суттєво змінюється для різних наношарів, від незначного для П4ВП, до високого для наношарів ПОЕГМА.П

Показано вирішальний вплив температури на оптичні та біологічні ефекти Ag-НЧ вбудованих у наношари температуро-чутливих прищеплених полімерні щіток. Вперше, завдяки температуро-чутливим властивостям полімерних щіток з вбудованими Ag-НЧ отримано систему з контрольованою, за допомогою температури, антибактеріальною активністю.



## РОЗДІЛ 6.

### **ФОРМУВАННЯ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ТЕМПЕРАТУРО-ЧУТЛИВИХ ПРИЩЕПЛЕНИХ ПОЛІМЕРНИХ ЩІТОК З ТЕМПЕРАТУРОЮ СКЛУВАННЯ У ОБЛАСТІ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ТЕМПЕРАТУР**

Температура топлення або температура склування ( $T_g$ ) полімерів – це температура при якій речовина переходить з склоподібного у каучукоподібний стан. Хоча цей ефект давно і широко відомий, на сьогоднішній день він рідко використовується для біомедичних досліджень тому, що, як правило температура топлення лежить далеко за межами фізіологічної температури організму [274].  $T_g$  перехід описаний для прищеплених полімерних щіток поліметилметакрилату, полістирену, полістиренових кополімерів тощо.

При переході від склоподібного до каучукоподібного стану, наночастиці прищеплених полімерних щіток стрибкоподібно змінюють свої властивості, такі як товщина шару, морфологія, змочуваність тощо. Практично всі раніше досліджувані прищеплені полімерні щітки мають температури склування, які не відповідають діапазону фізіологічних температур, що робить їх непридатними для використання у якості "розумних" біологічно активних поверхонь. Важливо відмітити, що на відміну від неприщепленого до поверхні полімеру,  $T_g$  прищеплених полімерних наночастиць суттєво залежить від їх товщини. Наприклад, поліметилметакрилатні та полістиренові прищеплені наночастиці показують різке зростання значення зі збільшенням товщини прищепленого наночастиці, що дає змогу додатково впливати на  $T_g$ .

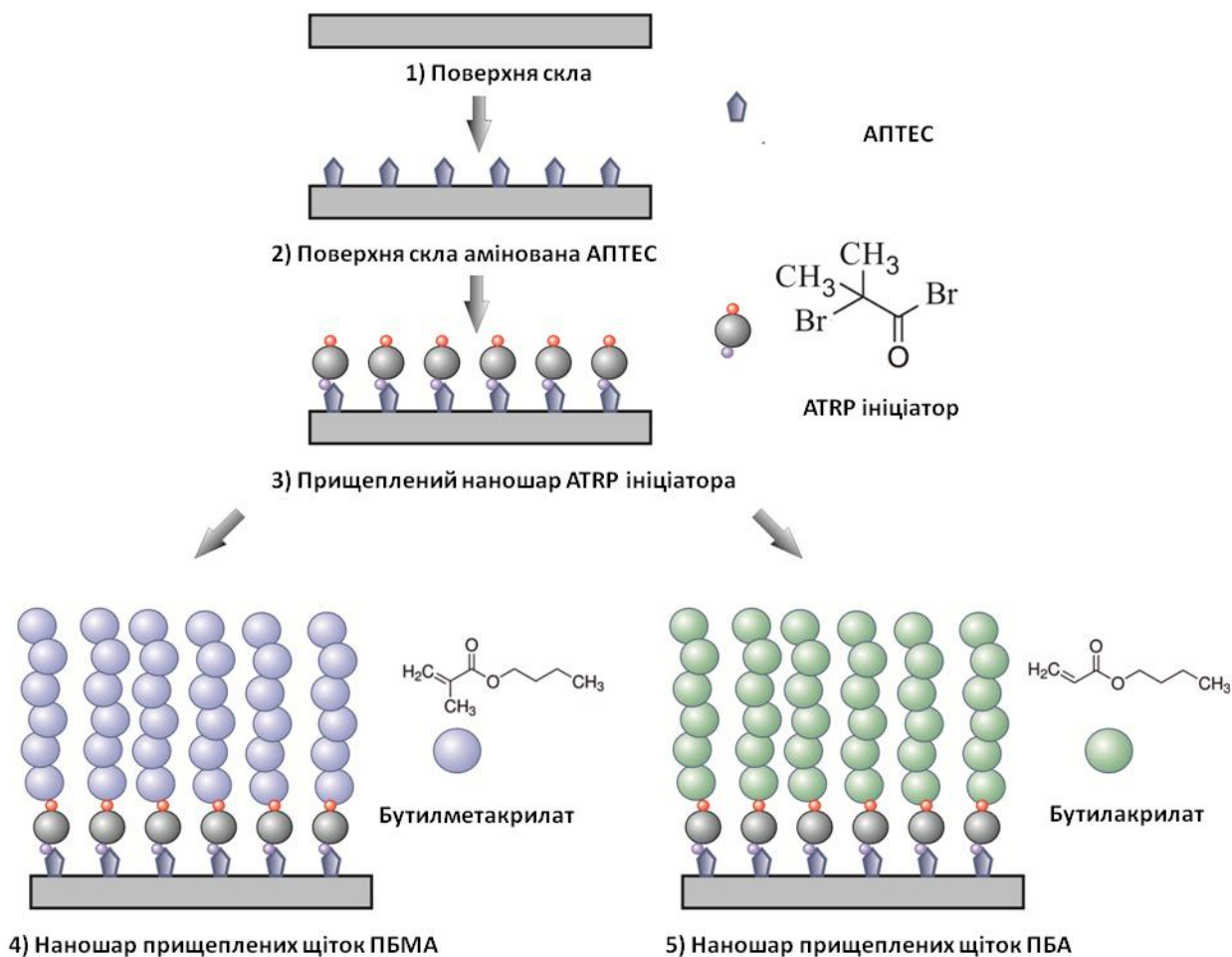
#### **6.1. Формування та властивості температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток полібутилметакрилату**

Провівши відповідний аналіз літературних джерел, нами було відмічено можливість застосування наночастиць прищеплених щіток полібутилметакрилату (ПБМА), як перспективного матеріалу, зокрема і для біологічних досліджень. Цікаво

порівняти його властивості з подібним за структурою полімером – полібутилакрилатом (ПБА), у якого замість метильної групи міститься гідроген. Бутилметакрилат і бутилакрилат - це два надзвичайно поширені синтетичні мономери, які знайшли застосування для синтезу полімерів та кополімерів прикладного значення. Ці структури широко використовуються у виготовленні клеїв та покриттів. Полібутилакрилат має  $T_g$  близько  $-55\text{ }^\circ\text{C}$  [275], що є важливою вимогою для створення м'яких і еластичних полімерних структур. Бутилметакрилат має лише одну додаткову метильну групу, порівняно з бутилакрилатом, та властивості його полімеру є кардинально іншими. Наприклад,  $T_g$  полібутилметакрилату становить приблизно  $20\text{-}25\text{ }^\circ\text{C}$  [276], що знаходиться у межах діапазону фізіологічних температур. Показано, що ці полімери мають високу біосумісність та були абсолютно безпечними в *in vitro* тестах з використанням фібробластів та первинних ендотеліальних клітин [277].

На рис.6.1. наведено схему формування наночарів прищеплених щіток ПБМА та ПБА з застосуванням ATRP ініціатора згідно методики 2.4.5. У цьому випадку, для ініціації прищепленої полімеризації від поверхні нами було застосовано ATRP ініціатор. Хоча механізми прищепленої полімеризації суттєво відрізняються при застосуванні мультифункціональних ATRP та пероксидного ініціаторів, проте властивості отриманих наночарів є, як правило схожими.

Для більш детального вивчення наночарів прищеплених щіток ПБМА та ПБА, зокрема впливу товщини наночару на фізико-хімічні властивості, нами було синтезовано покриття з різною товщиною. Товщину наночарів визначали за допомогою методу еліпсометрії. Для наночарів прищеплених щіток ПБМА, приготованих із часом полімеризації 5 та 12 год, середні товщини склали відповідно  $43\pm 4$  та  $82\pm 3$  нм. У свою чергу, для наночарів прищеплених щіток ПБА, приготованих із часом полімеризації 5 та 12 год, середні товщини були трохи нижчими і дорівнювали відповідно  $38\pm 3$  та  $75\pm 8$  нм.



Поправити малюнок

Рис.6.1. Функціоналізація скляної поверхні (1) за допомогою АПТЕС (2) з наступним формування наночару АТРР ініціатора (3) та наночару прищеплених щіток ПБМА (4) та ПБА (5)

На рис.6.2 наведено залежність товщини наночарів прищеплених щіток ПБМА від часу реакції полімеризації. Визначено залежність швидкості росту полімерного наночару від часу полімеризації. З рис. 6.2. видно, що ця залежність носить майже лінійний характер і швидкість зростання товщини прищепленого ПБМА наночару становить 10-15 нм/год.

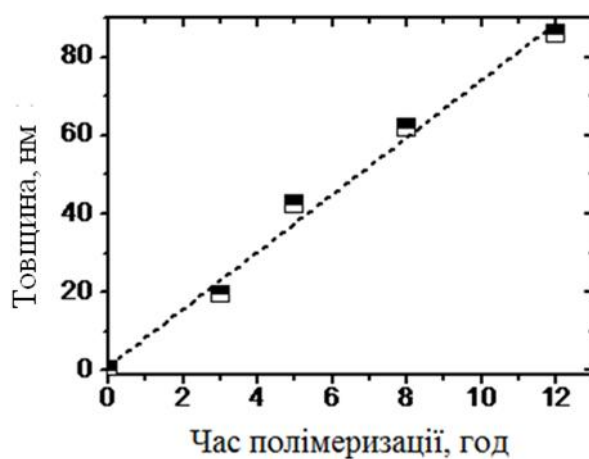


Рис. 6.2. Залежність товщини наночарів прищеплених щіток ПБМА від часу реакції полімеризації

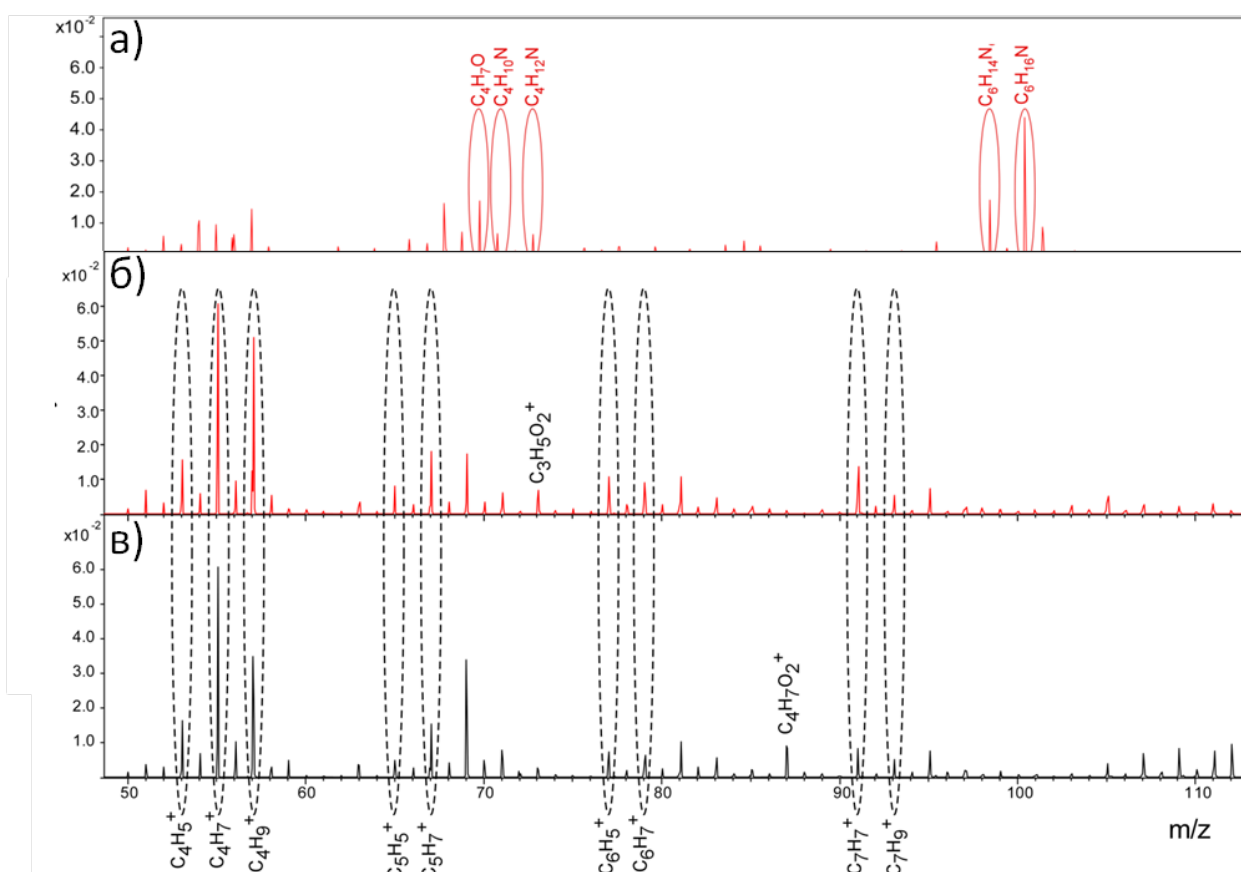


Рис. 6.3. TOF-SIMS спектрограми вторинних катіонів, отримані з поверхонь, модифікованих наночарами ATRP ініціатора (а) та прищеплених щіток ПБМА (б) та ПБА (в).

Хімічна структура наночарів прищеплених щіток ПБМА та ПБА була показана за допомогою ToF-SIMS. На рис.6.3 зображено TOF-SIMS спектрограми вторинних катіонів, отримані з поверхонь, модифікованих наночарами ATRP ініціатора та наночарами прищеплених щіток ПБМА та ПБА. Отримані спектри відображають ряд алкільних та алкенільних фрагментів, характерних для обох полімерів. Сигнали, характерні та унікальні для наночарів після кожного етапу приготування, позначені еліпсами. Нормалізована інтенсивність піків катіонів представлена на рис. 6.4. Крім того, спостерігаємо добре виражені піки, які характерні для ПБА ( $C_3H_5O_2^+$  та  $C_3H_3O_2^+$ ), а також для ПБМА ( $C_4H_5O^+$  та  $C_4H_7O_2^+$ ) [278]. Представлені результати підтвердили ефективність запропонованого процесу для синтезу наночарів прищеплених полімерних щіток обох типів.

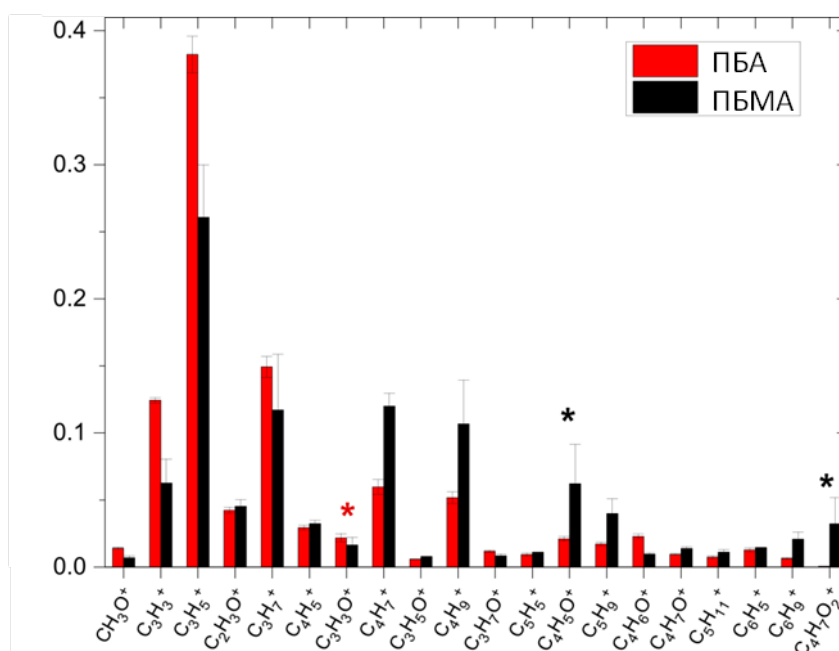


Рис. 6.4. Нормалізовані ToF-SIMS спектри наночарів прищеплених щіток ПБА (червоний) та ПБМА (чорний)

## 6.2. Температуро-чутливі властивості наночарів прищеплених щіток ПБМА

Згідно літературних даних [275-276]  $T_g$  для ПБМА становить 13-25 °С, а для ПБА -55 °С, що значно нижче кімнатної температури. Для визначення  $T_g$  наночарів

прищеплених щіток ПБМА було задіяно методи вимірювання контактних кутів змочування і АСМ.

Вимірювання АСМ проводили в інтервалі температур від 5 до 35 °С з кроком у 5 °С для зразків з різною товщиною наночарів прищеплених щіток. Репрезентативні зображення АСМ для наночарів ПБМА з товщиною 43 та 82 нм, а також для наночарів ПБА з товщиною 38 та 75 нм та їх перерізи при різних температурах представлені відповідно на рис. 6.5. та 6.6.

Середньоквадратичні значення шорсткості наночарів (RMS), оцінені з топографічних зображень АСМ для наночарів прищеплених щіток ПБМА та ПБА різної товщини при різних температурах, показують, що з підвищенням температури відбувається морфологічна трансформація наночару ПБМА від структурованої та розвинутої морфології до відносно гладкої (рис. 6.7).

Крім того, спостережувані зміни проявлялись слабше для більш товстого наночару ПБМА (82 нм). Аналіз RMS для наночарів ПБМА з товщиною близько 43 нм дозволив визначити температуру їх склування, яка становить  $\sim 16$  °С. Близьке значення  $T_g$  мають покриття ПБМА з товщиною 82 нм ( $T_g \sim 17$  °С). Навпаки, для покриттів з ПБА, істотних змін у морфології поверхні при різних температурах не спостерігалось. Крім того, морфологія наночарів ПБА з різною товщиною схожа на морфологію наночарів ПБМА при температурі вище  $T_g$ . Відсутність морфологічних змін при підвищеній температурі для наночарів ПБА очевидно пов'язана з його температурою склування, яка становить  $-55$  °С.

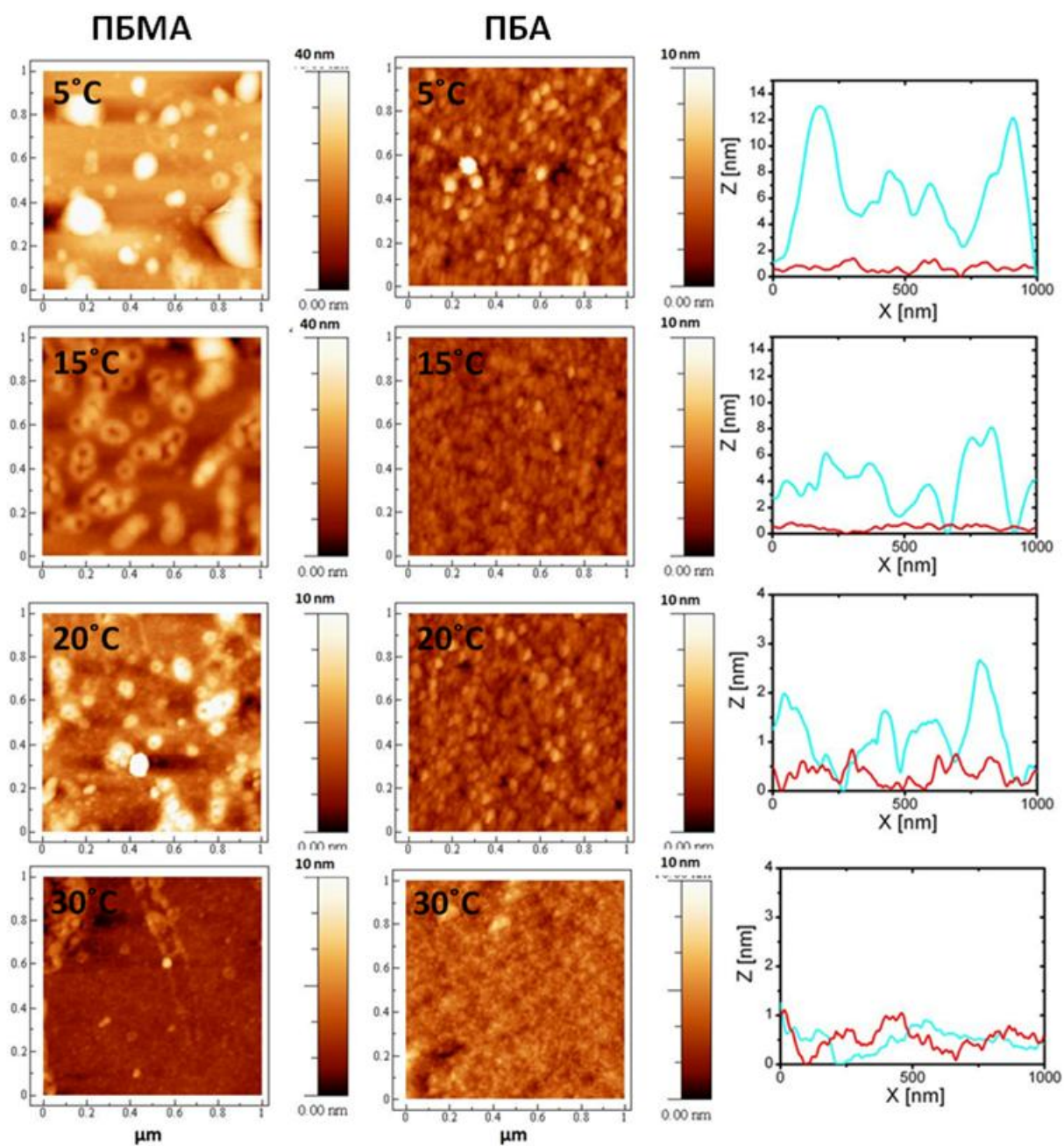


Рис. 6.5. Зображення АСМ та поперечні перерізи наночарів прищеплених щіток ПБМА (синя лінія) та ПБА (червона лінія) з товщинами 43 нм та 38 нм відповідно при різних температурах

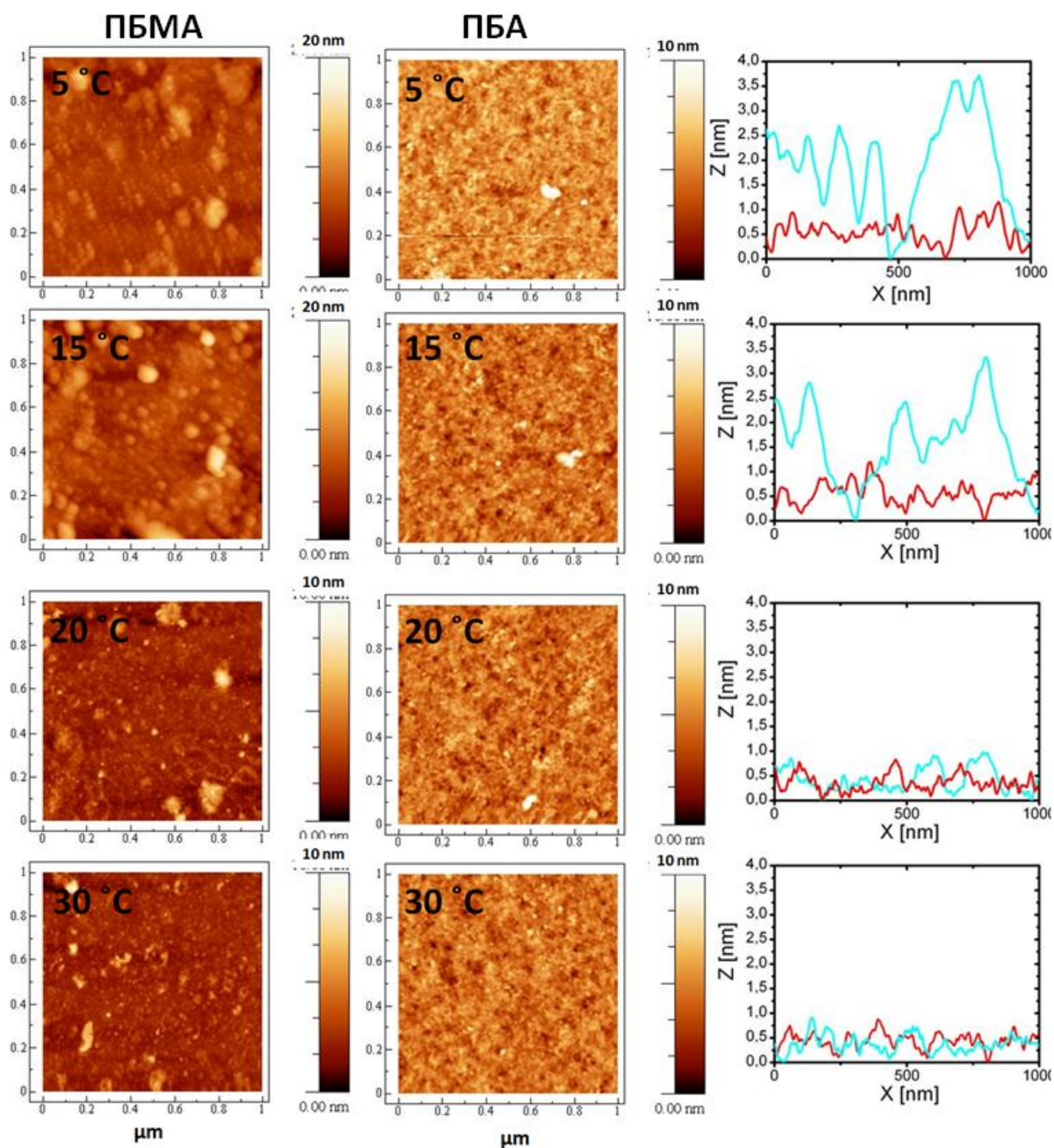


Рис. 6.6. Зображення АСМ та поперечні перерізи наночарів прищеплених щіток ПБМА (синя лінія) та ПБА (червона лінія) з товщинами 82 нм та 75 нм відповідно при різних температурах



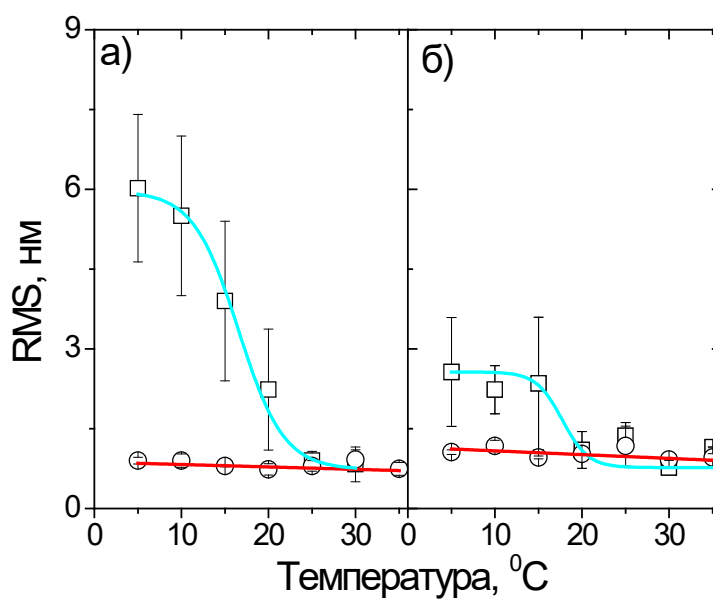


Рис. 6.7. Залежність значень RMS для покриттів ПБМА з товщиною 43 (а), 82 (б) нм (квадрати, зелені лінії) та покриттів ПБА з товщиною 38 (а), 75 (б) нм (кола, червоні лінії) при різних температурах

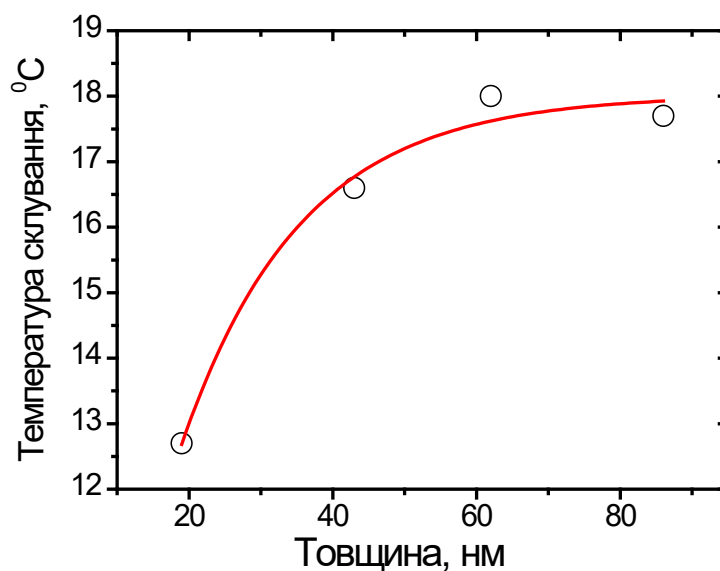


Рис. 6.8. Залежність  $T_g$  від товщини наночару прищеплених щіток ПБМА

Використовуючи результати АСМ вимірювань, нами було визначено залежність температури склування від товщини наночару прищеплених щіток ПБМА (рис. 6.8). Видно, зростання значень  $T_g$  від 12,5 °С при товщині 20 нм до

18°C при товщині 60 нм. Подальше зростання товщини прищепленого наночару не веде до зростання температури склування.

Залежність значень контактних кутів змочування наночарів прищеплених щіток ПБМА та ПБА з різною товщиною від температури наведено на рис. 6.8. Отримані криві мають складний характер і їх важко інтерпретувати. У загальному, наночари з більшою товщиною більш гідрофобні. Для наночарів прищеплених щіток ПБМА підвищення температури призводить до підвищення гідрофобності з добре вираженим максимумом при 15-20 °С та з подальшим зниженням контактного кута змочування зі зростанням температури.

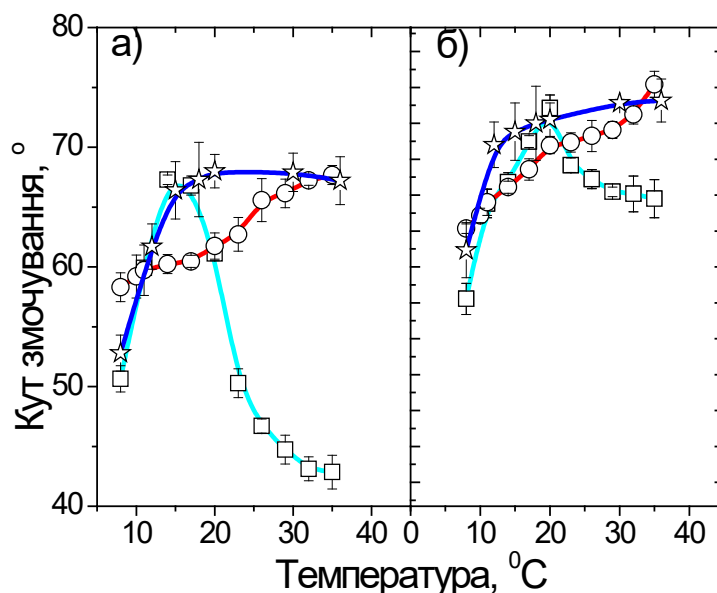


Рис. 6.8. Залежність значень контактних кутів змочування наночарів прищеплених щіток ПБМА товщиною 43 (а), 82 (б) нм (зелена лінія, квадрати - перший температурний цикл; синя лінія, зірки - другий та наступні температурні цикли) та ПБА з товщиною 38 (а), 75 (б) нм (червона лінія, кружечки) від температури.

Для наночарів прищеплених щіток ПБМА добре виражене зменшення кута змочування при температурі вище 20 °С спостерігається лише при першому дослідженні температури зразків, і майже зникає протягом наступних циклів дослідження (рис. 6.8, синя лінія, зірки). У цьому випадку підвищення температури викликає молекулярні коливання, аж поки не почнеться переміщення фрагментів

полімерних молекул. Коли температура досить висока, локальні ланцюгові взаємодії вже не можуть блокувати переміщення цілих макромолекул (перехід у каучукоподібний стан). Прищеплені наночастиці ПБА товщиною 75 нм є більш гідрофобними, ніж ПБА з товщиною 38 нм. Початкові та наступні цикли температурних досліджень для наночастиць прищеплених щіток ПБА мають аналогічні криві. Щоб перевірити відтворюваність результатів нами було проведено кілька циклів нагрівання до 20 °С та охолодження до 8 °С зразків з прищепленими щітками ПБА різної товщини. Результати представлені на рис. 6.9. Підтверджують, що температуро-індуковані зміни у змочуваності можуть тривати протягом багатьох циклів.

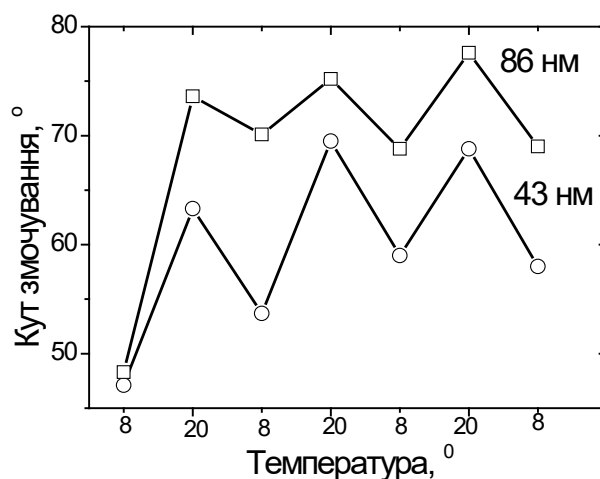


Рис. 6.9. Залежність контактних кутів змочування від температури для наночастиць прищеплених щіток ПБА з товщинами – 86 нм (квадрати) та 43 нм (кружечки)

На основі літературних даних [279-280] та результатів наших експериментальних досліджень, ми запропонували гіпотетичну схему температурної чутливості щіток ПБА та ПБА за температур, наближених до фізіологічної (10-36 °С). При  $T < T_g$  (у нашому випадку нижче 16-18 °С) покриття з прищепленими ПБА ланцюгами знаходяться у склоподібному стані (рис.6.10 а). При  $T > T_g$  властивості наночастиць прищеплених щіток ПБА суттєво відрізняються (рис.6.10 б). Таким чином, у цій температурній області дифузійні переміщення короткого діапазону в

полімерних сегментах відбуваються набагато швидше, але кооперативні рухи ланцюгів на великій відстані обмежені через сильні локальні взаємодії між сусідніми ланцюгами.

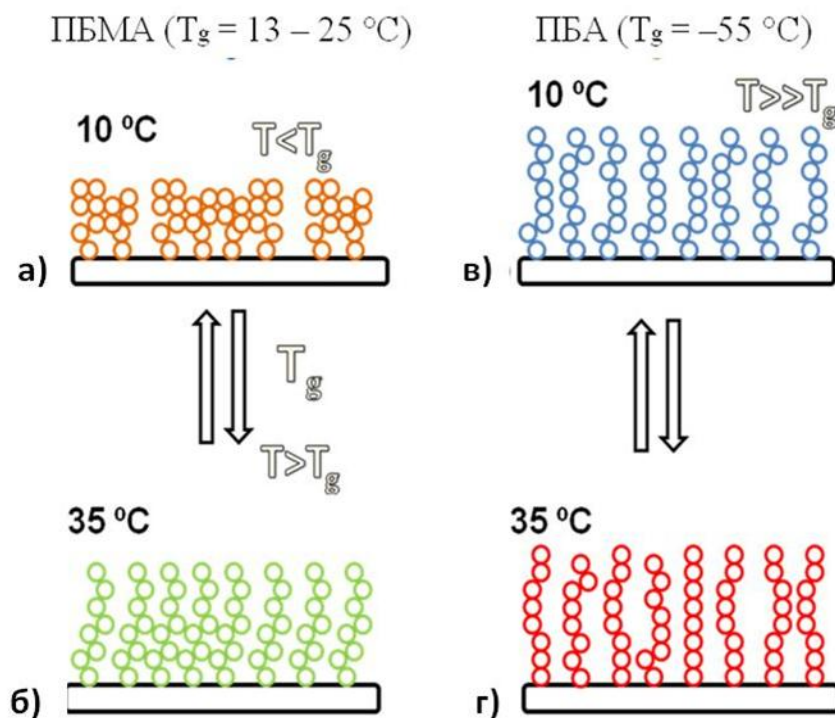


Рис.6.10. Гіпотетична схема температурної чутливості прищеплених щіток ПБМА (а, б) та ПБА (в, г) при  $T < T_g$  (а),  $T > T_g$  (б) та  $T \gg T_g$  (в, г)

Досліджений температурний інтервал для наночарів прищеплених щіток ПБА далекий від  $T_g$ , тому при  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  та  $36 \text{ }^\circ\text{C}$  щітка знаходиться в температурній області каучукоподібного стану (рис. 6.10. в та г). Хоча ланцюги полімерів у нашій системі прищеплені, їх сегменти здатні інтенсивно переміщуватися один відносно іншого, що відображається зміною значень кутів змочування при зростанні температури.

### 6.3. Адсорбція та орієнтація білків на поверхні наночарів температурочутливих прищеплених щіток ПБМА

Наночари прищеплених щіток ПБМА та ПБА із середніми товщинами  $43 \pm 4$  та  $38 \pm 3$  нм відповідно були обрані для досліджень адсорбції білків, як поверхні з більш шорсткою та наноструктурованою морфологією, у порівнянні з більш товстими

наношарами (оскільки змочуваність та шорсткість поверхні є двома основними факторами, що суттєво впливають на адсорбцію білків). Крім того, інша важлива характеристика – це гнучкість полімерного ланцюга, що може навіть вплинути на біосумісність полімерів. БСА та анти-IgG були використані як модельні білки для оцінки адсорбції білків при різних температурах. Інтенсивність флуоресценції свідчить про кількість адсорбованих білків. Результати флуоресцентної активності БСА адсорбованого на поверхню наношарів прищеплених щіток ПБМА та ПБА, представлені на рис. 6.11.

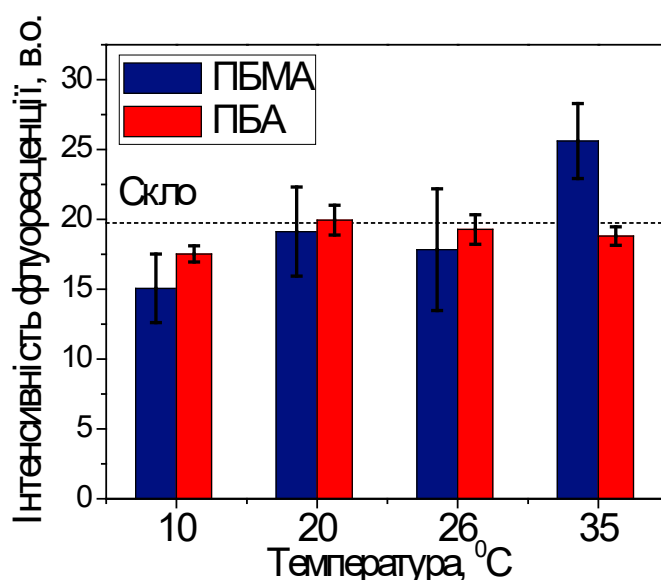


Рис. 6.11. Інтенсивність флуоресценції БСА адсорбованого на поверхню наношарів прищеплених щіток ПБМА (синій) та ПБА (червоний), а також для контрольного зразка скла (пунктирна лінія) при різних температурах.

При адсорбції БСА на наношари прищеплених щіток ПБА визначена інтенсивність флуоресценції (червоні смуги на рис. 6.11) є майже постійною для всіх проаналізованих температур і трохи слабшою, ніж для зразку контрольного скла (пунктирна лінія на рис. 6.11). Навпаки, для покриттів ПБМА адсорбція білка показує сильну температурну залежність і збільшується майже вдвічі при підвищенні температури від 10 °C (нижче  $T_g$ ) до 35 °C (вище  $T_g$ ).

Проведені дослідження на адсорбцію антитіл кроля анти-IgG були більш комплексними і дозволили показати не тільки інтенсивність адсорбції у залежності від температура, але також вплив орієнтації білків на фізіологічну відповідь.

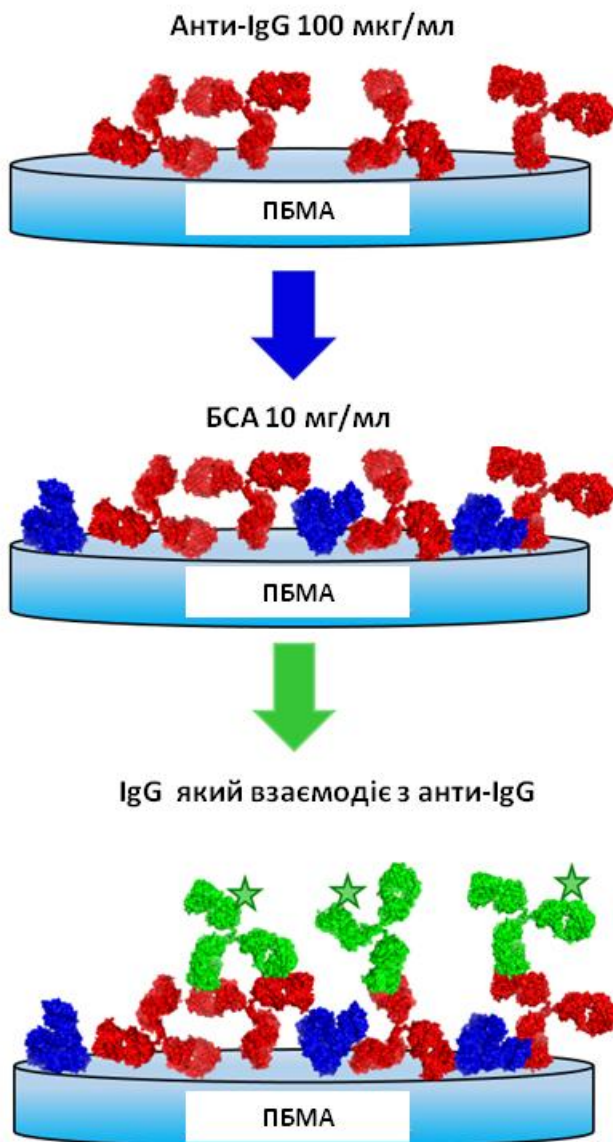


Рис. 6.12. Схема проведення імунореакції між антитілами кролика анти-IgG, адсорбованими при різних температурах на поверхню наночарів ПБМА, наступним блокуванням вільних сайтів на поверхні ПБМА за допомогою БСА та імунореакцією між анти-IgG та IgG кози.

Для цього на поверхню наночарів прищеплених щіток ПБМА при різних температурах адсорбували антитіла кролика анти-IgG, потім блокували залишкові

місця для адсорбції на поверхні ПБМА за допомогою БСА та проводили імунореакцією між анти-IgG та IgG кози. У цьому випадку IgG кози виступає імуногеном до антитіла крілика анти-IgG і вступає з ним у реакцію, тобто інтенсивність флуоресценції IgG кози показує наскільки інтенсивно відбувається взаємодія між вже адсорбованими антитілами крілика анти-IgG та IgG кози.

На рис.6.13 наведено інтенсивність флуоресценції анти-IgG адсорбованого на поверхню наночарів прищеплених щіток ПБМА при різних температурах та наступної імунореакції при взаємодії анти-IgG, адсорбованого на поверхні, з IgG при кімнатній температурі. Видно чітко виражену залежність між кількістю адсорбованого анти-IgG та температурою адсорбції. Крім того, інтенсивність приєднання IgG до анти-IgG суттєво залежить від температури адсорбції анти-IgG, що дозволяє зробити висновок про вплив температури, а отже властивостей наночарів прищеплених щіток ПБМА на орієнтацію анти-IgG на поверхні. Зростання температури адсорбції анти-IgG веде до зниження приєднання IgG та імунологічної реакції, хоча кількість адсорбованого анти-IgG значно зростала з підвищенням температури.

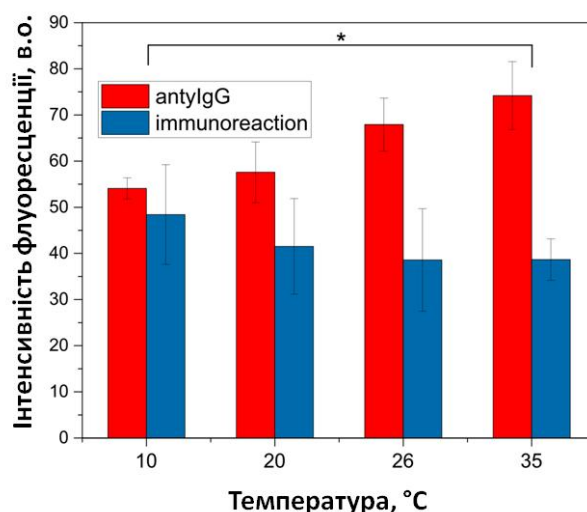


Рис. 6.13. Інтенсивність флуоресценції анти-IgG, адсорбованого на поверхню наночарів прищеплених щіток ПБМА (червоний) при різних температурах та наступної імунореакції при взаємодії анти-IgG, адсорбованого на поверхні з IgG при кімнатній температурі (синій).

#### 6.4. Температуро-індукована орієнтація білків на поверхні прищеплених щіток ПБМА

Для аналізу відмінностей у орієнтації макромолекул БСА та анти-IgG, адсорбованих на нанощарах прищеплених щіток, були проведені ToF-SIMS дослідження з застосуванням методу головних компонент МГК (principal component analysis). МГК – це метод факторного аналізу, який дозволяє визначити відмінності між зразками по сукупності множинних факторів. У нашому випадку МГК проводили за допомогою набору даних, що містили піки, що походять тільки з амінокислот білків. Результати аналізу адсорбції БСА на нанощари прищеплених щіток ПБМА при різних температурах представлені на рис. 6.14.

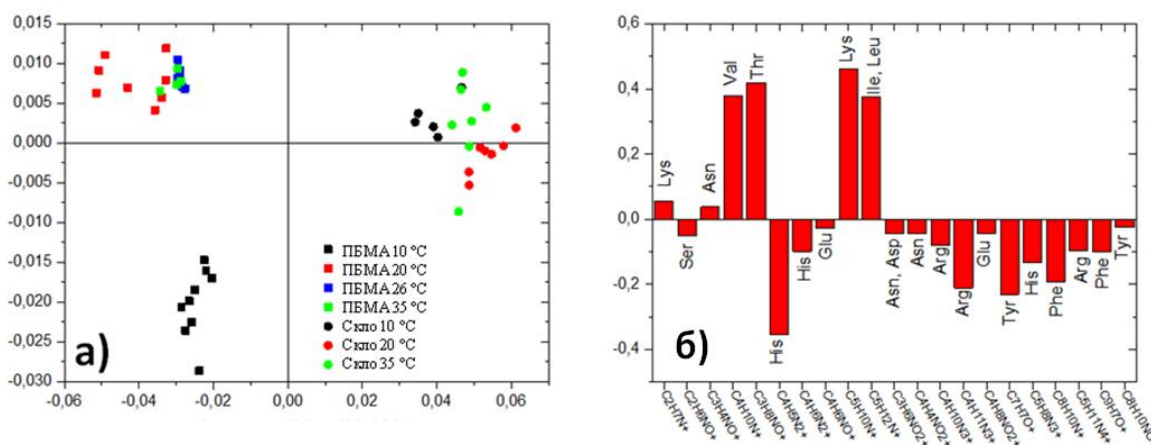


Рис. 6.14. Графік результатів МГК для БСА, адсорбованого на поверхню нанощарів прищеплених щіток ПБМА (квадрати) та контрольного скла (кола) при 10 °C (чорний), 20 °C (червоний), 26 °C (синій) та 35 °C (зелений) (а). Діаграма навантаження піками віднесеними до амінокислот (б).

Головна компонента 1 (ГК1) фіксувала різницю між адсорбцією БСА на різні поверхні, у той же час головна компонента 2 (ГК2) фіксує різницю (6.42 %), що походить від БСА, адсорбованого на нанощари прищеплених щіток ПБМА при різних температурах. Зразки з БСА, адсорбованого при 10 °C (нижче  $T_g$ ), завантажуються негативно в ГК2, тоді як зразки, інкубовані при температурі вище  $T_g$  завантажуються позитивно в ГК2. Крім того, точки даних з еталонних зразків



розподіляються випадковим чином навколо нульового значення ГК2 незалежно від самої температури. На підставі діаграми навантаження (рис. 6.14б) видно, що негативні показники пов'язані з фрагментами гістидину, аргініну, тирозину, серину та фенілаланіну. У свою чергу, позитивні показники обумовлені позитивними навантаженнями катіонів, що походять з валіну, лізину, треоніну, ізолейцину та лейцину. БСА складається з трьох доменів (Альбумін 1, Альбумін 2 та Альбумін 3), а розмір його молекули становить приблизно  $9 \times 5.5 \times 5.5$  нм [281]. Оскільки глибина заміру проби за допомогою ToF-SIMS є меншою за розміри молекул білків, метод дає можливість визначити орієнтацію молекул БСА на поверхні [228, 282]. Довжина кожного домену приблизно однакова, але їх амінокислотні склади різні. З цієї причини композиції амінокислот для всіх трьох доменів БСА були розраховані з даних про БСА (табл. 6.1) [283].

Виходячи з цього результату, можна побачити, що Альбумін 1 і Альбумін 2 порівняно з Альбуміном 3 більш багаті на гістидин та тирозин. Структура молекули БСА з помітним положенням гістидину, треоніну чітко показує, що гістидину та треоніну більше в Альбуміні 1, тоді як Альбумін 3 збагачений на валін та треонін. Натомість, серин найбільш поширений у Альбуміні 2 (порівняно з Альбуміном 1 та Альбуміном 3).

Поєднання аналізу структури БСА з МГК виявило різну орієнтацію БСА при адсорбції на наночастиці прищеплених щіток ПБМА при різних температурах. БСА, адсорбований на наночастиці ПБМА за температур нижчих, ніж  $T_g$ , приймає таку орієнтацію, що Альбумін 1 і Альбумін 2 переважно не взаємодіють безпосередньо з поверхнею і знаходяться на вершині адсорбованого наночастиці БСА (рис.6.15).

Таблиця 6.1

## Амінокислотний склад для різних доменів БСА

	Альбумін 1	Альбумін 2	Альбумін 3
Аланін	13	21	11

Цистеїн	11	12	12
Аспарагінова кислота	14	16	10
Глутамінова кислота	21	19	19
Фенілаланін	11	7	9
Гліцин	8	3	5
Гістидин	8	6	3
Ізолейцин	4	5	5
Лізин	18	21	20
Лейцин	19	21	20
Метіонін	2	0	2
Аспарагін	5	3	6
Пролін	9	7	12
Глютамін	6	5	8
Аргінін	6	9	8
Серин	7	12	8
Треонін	7	7	17
Валін	6	11	19
Триптофан	1	1	0
Тирозин	9	7	4

Тоді як для температур вищих, за  $T_g$  домен Альбумін 3 (рис. 6.15) знаходиться на вершині наночару адсорбованого БСА. Відмінності в орієнтації молекул БСА, пояснюють відмінності у кількості адсорбованого БСА виявлених флуоресцентною мікроскопією. Так відомо, що молекули БСА, можуть утворювати димери [55], і як результат, спостерігається збільшення сигналу флуоресценції, проте це можливо тільки між певними доменами БСА.

Аналогічний аналіз даних ToF-SIMS був проведений для БСА, адсорбованого на поверхні наночарів прищеплених щіток ПБА. Нами не було виявлено різниці у

температурних відмінностях адсорбції білка. Ці результати відповідають даним, отриманим за допомогою флуоресцентної мікроскопії, де також не спостерігалось відмінностей у кількості білків, адсорбованих на покритті ПБА.

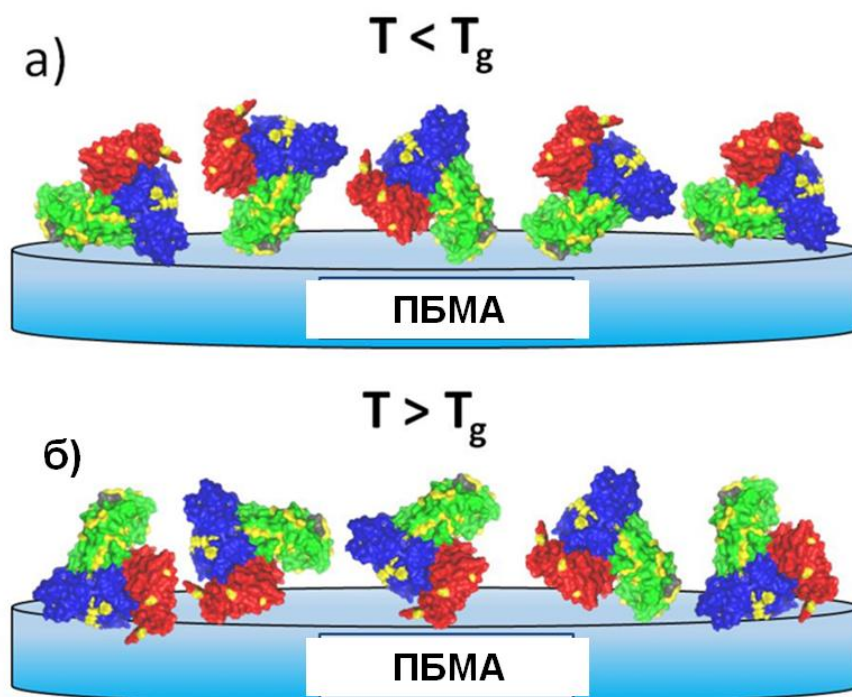


Рис. 6.15. Орієнтація молекул БСА, адсорбованого на поверхню наношарів прищеплених щіток ПБМА за температур нижчих (а) і вищих (б) ніж  $T_g$ . Три домени молекули БСА відрізняються кольором: червоний - Альбумін 1, синій - Альбумін 2 та зелений - Альбумін 3. Положення треоніну та валіну позначено жовтим кольором

За таким принципом було проаналізовано орієнтацію молекул анти-IgG при адсорбції на поверхню наношару прищеплених щіток ПБМА за різних температур. Анти-IgG складається з трьох фрагментів:  $F_c$  та двох однакових  $F(ab')$ , які записуються як  $F(ab')_2$ . На рис. 6.16. представлено графік результатів МГК для анти-IgG, адсорбованого на поверхню наношарів прищеплених щіток ПБМА при різних температурах.

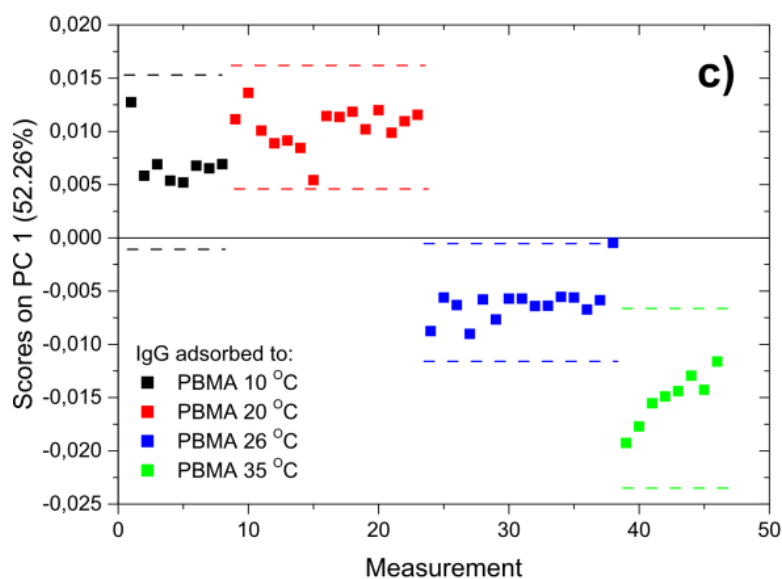


Рис. 6.16. Графік результатів МГК для анти-IgG, адсорбованого на поверхню наночарів прищеплених щіток ПБМА при 10 °С (чорний), 20 °С (червоний), 26 °С (синій) та 35 °С (зелений) (а).

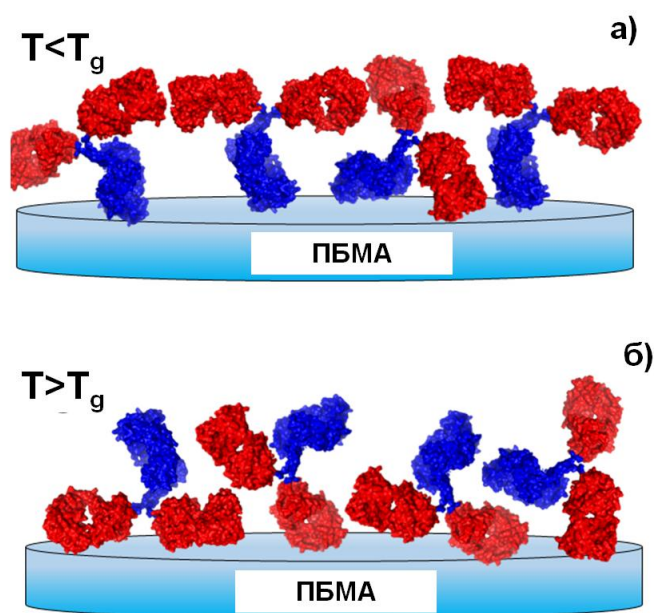


Рис. 6.17. Орієнтація молекул анти-IgG, адсорбованого на поверхню наночарів прищеплених щіток ПБМА за температур нижчих (а) і вищих (б) ніж  $T_g$ .

Метод МГК показує суттєві різниці між амінокислотним складом на вершині наночару анти-IgG (рис.6.16), а отже і у орієнтації молекул анти-IgG на поверхні

при різних температурах. Опираючись, на знання про амінокислотний склад у кожному з доменів анти-IgG нами запропоновано схему орієнтації молекул анти-IgG, адсорбованого на поверхню наночарів прищеплених щіток ПБМА за температур нижчих і вищих, ніж  $T_g$  (рис.6.17).

Застосування контрольованої орієнтації білків має значні перспективи у біотехнології та біонаномедицині. Запропонований підхід не тільки може підвищити ефективність імунореакцій, але дає також фундаментальні знання про значення та вплив орієнтації білкових молекул на поверхнях матеріалів.

### **6.5. Вплив товщини наночарів прищеплених щіток ПБМА на поведінку клітин**

Для вивчення біосумісності наночарів прищеплених щіток ПБМА, що має вирішальне значення для їх біомедичного застосування, ми культивували на них ракові клітини сечового міхура карциноми IV класу. Мікрофотографії, представлені на рис. 6.18, показують ріст клітин НТВ-5 на прищеплених наночарах ПБМА товщиною 86 нм та 43 нм, а також на склі.

Після 24 годин культивування на всіх типах досліджуваних субстратів лише зрідка спостерігаються ізольовані клітини. Після 72 год. інкубації, клітини, як правило, об'єднуються і утворюють широкі конгломерати, і їх кількість значно зростає. Нарешті, після 144 годин культивування, добре розвинений шар клітин спостерігається на поверхні, модифікованій наночарами прищеплених щіток ПБМА з товщиною 86 нм. У свою чергу, клітини, інкубовані на тоншому наночарі ПБМА (43 нм) і на склі, тільки починають утворювати суцільний шар. Ці спостереження були кількісно підтверджені шляхом розрахунку індексу проліферації (рис. 6.19), визначеного як кількість клітин, поділених на початкове значення після 24 годин інкубації. Після 72 год. індекс проліферації, розрахований для всіх аналізованих субстратів, незначно відрізняється, і його значення змінюється від 7.1 для товстішого наночару ПБМА до 5.0 для контрольного зразка, що вказує на кращу цитосумісність субстратів ПБМА, порівняно з контрольним склом.

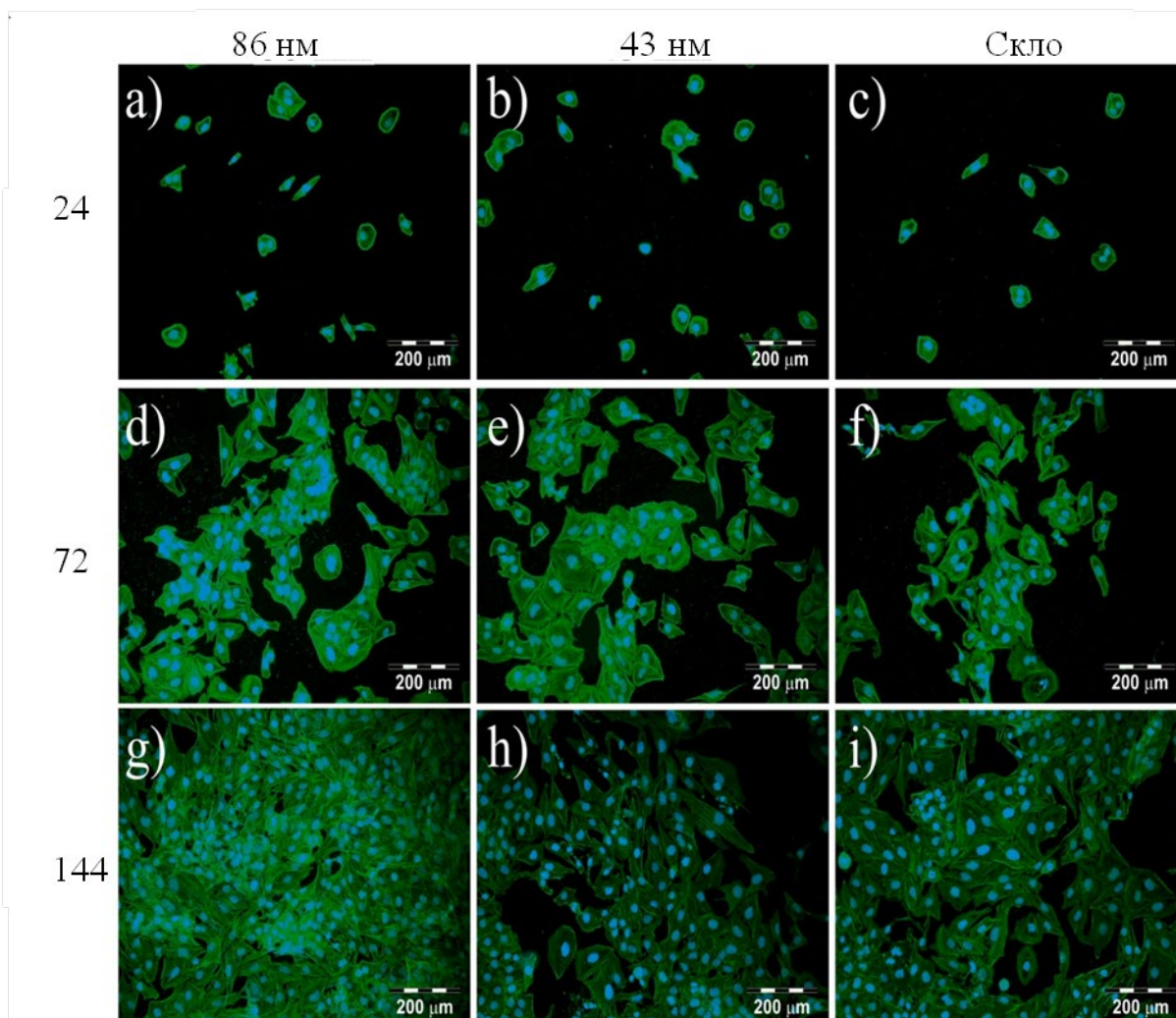


Рис. 6.18. Флуоресцентні мікрофотографії ракових клітин сечового міхура карциноми IV класу протягом 24, 72 та 144 годин на поверхнях наношарів прищеплених щіток ПБМА товщиною 86 нм та 43 нм, а також на склі

Навпаки, за найдовший час інкубації (144 год) індекс проліферації значно зростає у випадку клітин культивованих на поверхні наношарів ПБМА з товщиною 86 нм, і він у 2 рази вищий, ніж у обох інших субстратів. Це показує, що найефективніша проліферація клітин НТВ-5 спостерігається на поверхні наношарів ПБМА з товщиною 86 нм, що говорить про його найкращу цитосумісність.

Аналіз літературних даних показує, що найбільш важливою властивістю поверхні, що визначає цитосумісність та можливість її потенційного застосування у біомедицині, є змочуваність водою. Клітини краще ростуть на гідрофільних поверхнях, ніж на гідрофобних, що підтверджується морфологією клітин та швидкістю проліферації. Так, на гідрофобних поверхнях, форма клітин є переважно

заокругленою, а на гідрофільних розтягнутою у різні боки. Заокруглена форма клітин веде до зниження їх розповсюдження та рівня проліферації.

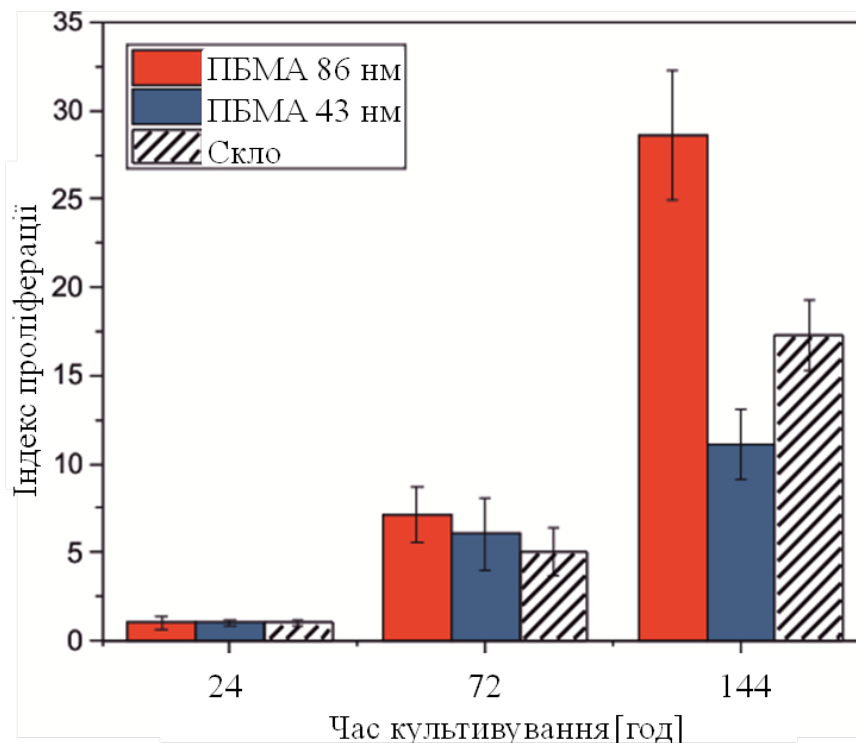


Рис. 6.19. Індекс проліферації клітин НТВ-5 на нанощарах прищеплених щіток ПБМА та поверхні скла. Вихідна концентрація клітин  $0.8 \times 10^6$  клітин/мл, інкубували при температурі 37 °С

У нашому випадку обидва прищеплених покриття ПБМА при температурі 37 °С демонструють відносну гідрофобність поверхні, проте товстіший нанощар ПБМА є більш гідрофільним у порівнянні з його тоншим аналогом. Сам цей ефект не може пояснити кращу цитосумісність покриттів ПБМА, а також швидкість проліферації порівняно зі зразком гідрофільного контрольного скла. Тому слід враховувати інші властивості поверхні, що значно впливають на поведінку клітин, такі як шорсткість та еластичність поверхні.

Середньоквадратичне значення шорсткості поверхні обох зразків, виміряні у водному середовищі, дорівнювали  $4.33 \pm 0.21$  нм та  $8.93 \pm 0.15$  нм для товстішого і

тоншого наночарів ПБМА відповідно, і це набагато вище типового значення шорсткості скла, що становить менше 1 нм.

Ракові клітини виділяють значну кількість білків позаклітинного матриксу. Залежно від фізико-хімічних властивостей субстратів, на них адсорбуються різні секреторні білки. Показано, що білки адсорбуються переважно на більш гідрофобних поверхнях, крім того нано-шорсткість і розміри білка також мають вирішальне значення для культивування клітин. Один з таких факторів може посилювати або навіть компенсувати дію іншого. У нашому дослідженні припускаємо, що спостережуване збільшення значення проліферації клітин НТВ-5 на більш товстому наночарі прищеплених щіток ПБМА є результатом впливу наношорсткості поверхні та нижчої змочуваності, які спричиняють збільшення адсорбованих білків.



На основі результатів наших експериментальних досліджень запропоновано гіпотетичну схему температурної чутливості щіток ПБМА за температур, наближених до фізіологічних (10-36 °C). При  $T < T_g$  (у нашому випадку нижче 16-18 °C) ланцюги ПБМА знаходяться у склоподібному стані, у той же час  $T > T_g$  переходять у високоеластичний, а властивості наночарів прищеплених щіток ПБМА суттєво змінюються.

Вперше запропоновано застосування наночарів прищеплених щіток ПБМА з  $T_g \approx 20-25$  °C для контрольованої за допомогою температури орієнтації макромолекул білків на поверхні наночару та вирощування клітин. Властивості наночарів ПБМА суттєво відрізнялися, зокрема закономірностями адсорбції білків, від ПБА у якого замість метильної групи міститься Гідроген,  $T_g$  останнього становить  $\approx -55$  °C.



## РОЗДІЛ 7.

### ФОРМУВАННЯ, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ТЕМПЕРАТУРО-ЧУТЛИВИХ ПРИЩЕПЛЕНИХ РІДКОКРИСТАЛІЧНИХ ПОЛІМЕРНИХ ЦІТОК

Рідкокристалічні полімери поєднують у собі властивості полімерних макромолекул та рідкокристалічних сполук, такі як хіральність, амфіфільність, кристалічність та біосумісність. Синтез та застосування таких полімерів орієнтовані на розвиток систем доставки ліків, створення платформ для вирощування тканин, вони також знаходять застосування в оптоелектроніці та інформаційних технологіях [284-285]. У роботі [286] описано синтез серії амфіфільних полімерів з полі(аскорбілакрилатом) у ролі гідрофільних блоків, у той же час поліакрилати, що містять холестерильні залишки у бічному ланцюзі, виступають як гідрофобні блоки.

Холестерол також може бути введений в поліетиленгліколь шляхом функціоналізації його кінцевих гідроксильних груп. Дослідження поліетиленгліколів, що закінчуються холестеролом, показало, що блок ПЕГ утворює біосумісні оболонки міцел, а блок холестеролу - гідрофобні ядра міцел [287]. Інші приклади ПЕГ, функціоналізованих холестеролом, включають пептид-ПЕГ-холестерильні кон'югати, кополімери метоксиполі(етиленгліколю) та холестерильного етеру 2-гідроксиетилметакрилату [288-289]. Утворювані ними біоміметичні міцели мають здатність солубілізувати та вивільняти гідрофобні лікарські препарати та характеризуються низькою цитотоксичністю тощо [288-289]. Дослідження, проведені групою проф. Горака для структур на основі полі(2-гідроксиетилметакрилату) з холестерилметакрилатом [290-291] показали, що фрагменти холестеролу мали вирішальний вплив на адгезію та проліферацію клітин. У подібних роботах [292-293] описано синтез та характеристику біологічно-активних, пористих, рідкокристалічних холестерилорганічних еластомерів, а також їх використання як тривимірних платформ для вирощування нейробластів та клітин міобластів.

Щітки, що містять рідкокристалічні полімери, можна використати для орієнтації рідких кристалів. Такі щітки були синтезовані групою Пенга [135, 294]. Їх характерною особливістю є здатність до односпрямованого планарного (паралельно поверхні) вирівнювання рідких нематичних кристалів на своїх поверхнях. У роботі [134] описано синтез нематичних рідкокристалічних полімерних щіток, які мали здатність орієнтувати рідкі нематичні кристали гомеотропно (перпендикулярно до поверхні). У роботі [135] рідкі кристалічні полімерні щітки, що містять мезогенний азобензолний фрагмент, були синтезовані на кварцовій та кремнієвій підкладках. Бічні ланцюги азобензолу, зв'язані з прищепленими полімерними щітками утворювали рідкокристалічну смектичну фазу (високо-впорядкована орієнтація) завдяки паралельній орієнтації фрагментів мезогену таким чином, що смектичні молекули орієнтувалися перпендикулярно підкладці.

### 7.1. Формування та властивості температуро-чутливих наночарів прищеплених щіток полі(холестерилметакрилату)

Наночари прищеплених щіток полі(холестерилметакрилату) – (ПХМА) на поверхні підкладок скла (рис.7.1) синтезували у три стадії з використанням МПІ-1 (розділ 2.4).

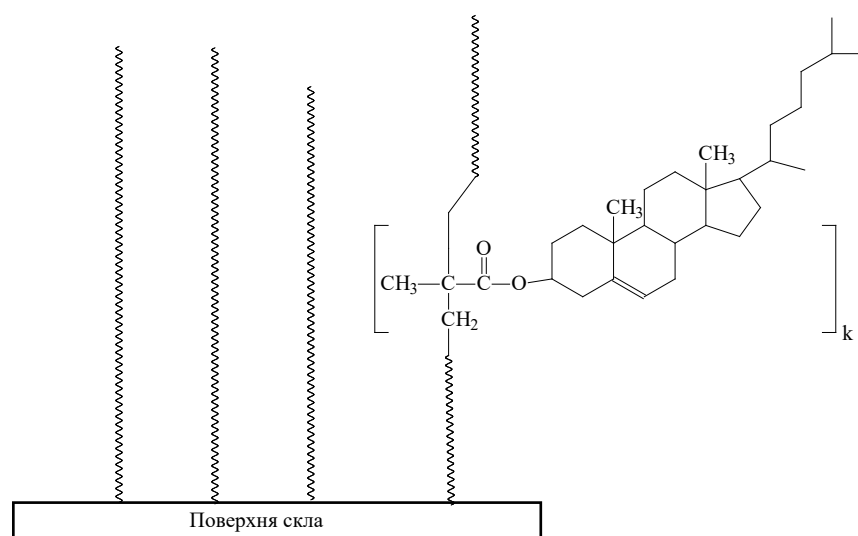


Рис. 7.1. Наночари прищеплених щіток ПХМА

Хімічний склад наночарів ПХМА аналізували за допомогою методу TOF-SIMS з глибиною відбору проб менше 2 нм. Типові TOF-SIMS спектрограми піків позитивних вторинних іонів, отримані з поверхонь, модифікованих наночарами АПТЕС та МПІ-1 та наночарами прищеплених щіток ПХМА, наведені на рис 7.2, відповідно. TOF-SIMS спектр записаний для наночару МПІ-1 (рис.7.2а), має ряд піків катіонів:  $\text{CH}_3\text{O}^+$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^+$ ,  $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}^+$  і  $\text{C}_4\text{H}_9\text{O}^+$ , які є специфічними для молекул з високим вмістом кисню і, є характерними для молекул МПІ-1. У свою чергу, у другому спектрі, записаному для наночару прищеплених щіток ПХМА (рис.7.2б), проявилася серія піків катіонів:  $\text{C}_4\text{H}_7^+$ ,  $\text{C}_5\text{H}_7^+$ ,  $\text{C}_5\text{H}_9^+$  та  $\text{C}_6\text{H}_7^+$ , специфічних для холестерильних залишків. Видно, що кількість оксигеновмісних вторинних катіонів сильно знизилася, що свідчить про формування однорідного наночару ПХМА на поверхні МПІ-1.

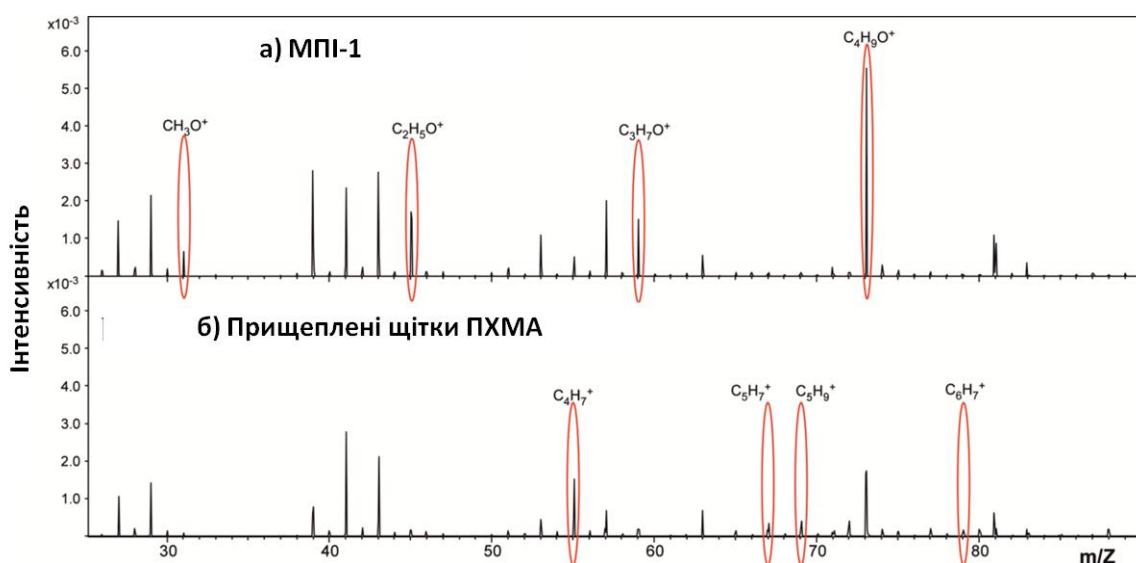


Рис.7.2. TOF-SIMS спектрограми позитивних вторинних іонів, отримані з поверхонь, модифікованих наночарами АПТЕС та МПІ-1 (а) та наночарами прищеплених щіток ПХМА (б).

Товщину наночарів прищеплених щіток ПХМА контролювали за допомогою методу еліпсометрії. Усереднена товщина наночару прищеплених щіток ПХМА за час прищепленої полімеризації 48 год становила 34 нм (рис. 7.3а). Ріст наночару

супроводжувався чітко вираженим зростанням показника заломлення в межах 1,49–1,506 (рис.7.3б).

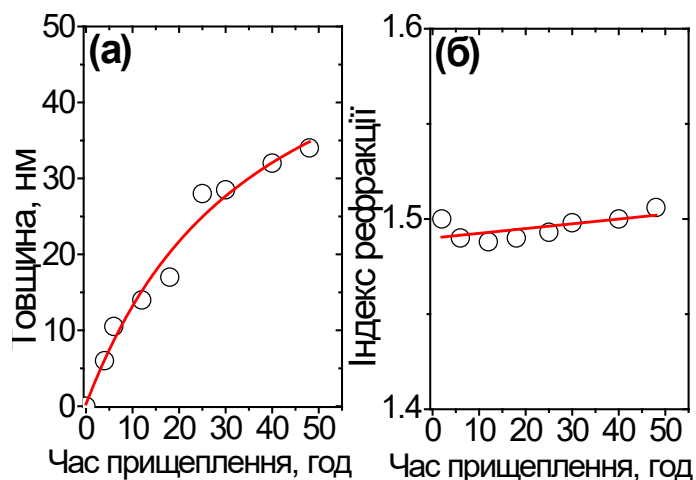


Рис.7.3. Залежності усереднених товщин (а) та індексів рефракції (б) наночарів прищеплених щіток ПХМА від часу полімеризації.

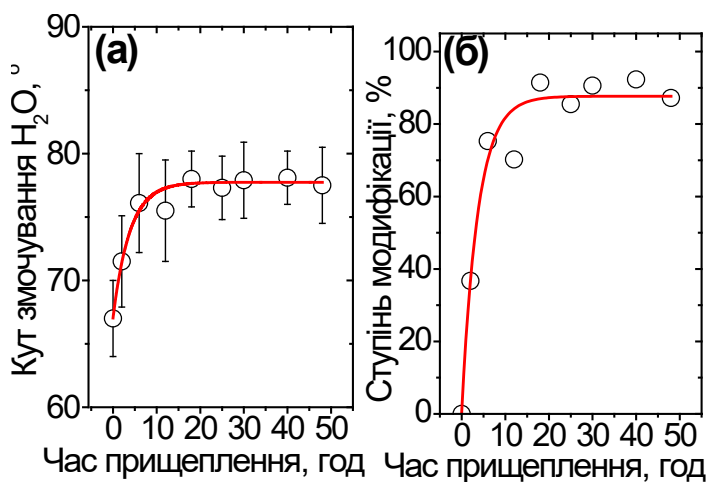


Рис.7.4. Залежність контактних кутів змочування водою (а) та ступеня модифікації поверхні (б) прищепленими щітками ПХМА від часу прищепленої полімеризації.

Залежність контактних кутів змочування водою наночарів прищепленими щітками ПХМА від часу прищепленої полімеризації зображена на рис.7.4а. Процес модифікації поверхні супроводжується поверхневою гідрофобізацією. На початковому етапі модифікація відбувається дуже швидко, що очевидно пов'язано з природою об'ємного гідрофобного холестерильного залишку у структурі

метакрилатного мономеру. Значення контактних кутів змочування водою при формуванні наночарів прищеплених щіток ПХМА варіюють у діапазоні значень, вимірних для поверхні МПІ-1 (67 °) і для еталонного товстого шару ПХМА (79 °).

Залежність ступеня модифікації поверхні прищепленими щітками ПХМА від часу прищепленої полімеризації, отримана з рівняння Касьє, представлена на рис.7.4б, де показано, що максимально можлива модифікація поверхні становить близько 95%. Значення контактних кутів змочування, які були показані для поверхні, модифікованої самоорганізованими моношарами, що містять холестерильні залишки, разом із результатами TOF-SIMS вимірювань та еліпсометричними даними є переконливим доказом практично повної модифікації поверхні наночарами прищеплених щіток ПХМА.

## **7.2. Температурочутливі властивості наночарів прищеплених щіток ПХМА.**

Згідно з літературними джерелами [295-296] сполуки, синтезовані на основі холестеролу, здатні до численних температуро-індукованих переходів. Для мономеру холестерилметакрилату було показано перехід при 64 °С та утворення ізотропної рідини при 114 °С [295]. У роботі [296] були визначені температури переходу ПХМА з склоподібного до каучукоподібного стану при 82–94 °С та розкладання при 250 °С. Очікувано, що численні температуро-індуковані переходи можуть бути виявлені і для прищеплених щіток ПХМА. Для перевірки цієї гіпотези були застосовані методи вимірювання контактного кута змочування водою та АСМ. Вимірювання кута змочування у цьому випадку є ефективними в дуже обмеженому діапазоні температур через випаровування води з підвищенням температури. Температурна залежність контактного кута змочування водою для трьох послідовних серій нагрівання для наночарів прищеплених щіток ПХМА показана на рис.7.5. Підвищення температури викликає зміни контактного кута змочування майже на 15 градусів, з 65 до 78-81 градусів. Важливим моментом є відтворюваність результатів, що свідчить про збереження температуро-чутливих властивостей у процесі експлуатації зразків.

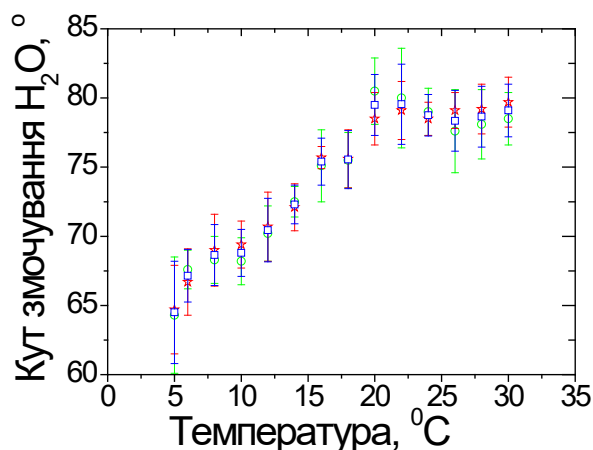


Рис.7.5. Температурна залежність контактного кута змочування водою у серії трьох послідовних нагрівань наносферу прищеплених щіток ПХМА, приготованого з часом полімеризації 48 год.

Щоб краще охарактеризувати наносфери прищеплених щіток ПХМА, було визначено їх поверхневу енергію при різних температурах (нижче, вище представленого температуро-індукованого переходу, а також при температурі, переходу). Для цього, крім вимірювання контактної кута змочування водою, також визначали контактні кути змочування диіодометаном та гліцерином при 5, 15 та 25 °С. Виміряні значення використовувались для розрахунку поверхневої енергії  $\lambda_s$  та її компонентів, використовуючи методику наведену у розділі 2.3.1. Результати зведені в табл.7.1. Для всіх температур значення  $\lambda_s^{LW}$  (ван-дер-ваальсівської) компоненти є високими. Більше того, значення  $\lambda_s^+$  (основна компонента вільної поверхневої енергії) розрахованої при 25 °С, є більш ніж у шістдесят разів вищою, ніж при 5 °С, тоді як значення  $\lambda_s^-$  (кислотна компонента вільної поверхневої енергії) при 25 °С є більш ніж у десять разів нижчою, ніж при 5 °С, що вказує на температурозалежну зміну конформації прищеплених щіток ПХМА. Згідно з літературними джерелами [295-296], можна стверджувати, що у розглянутому температурному діапазоні прищеплені щітки ПХМА знаходяться у склоподібному полімерному стані. Незважаючи на те, що їх молекулярна рухливість сильно обмежена нижче температури склування, зміна величин компонентів вільної

поверхневої енергії свідчить про явище, яке називається  $\beta$ -релаксація, яка буде детальніше описана нижче [40].

Таблиця 7.1.

Контактні кути змочування та компоненти вільної поверхневої енергії наночарів прищеплених щіток ПХМА при різних температурах

Температура [°C]	Контактний кут, градус			Поверхнева енергія компонентів, mN/m				
	H <sub>2</sub> O	CH <sub>2</sub> I <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> (OH) <sub>3</sub>	$\lambda_S^{LW}$	$\lambda_S^-$	$\lambda_S^+$	$\lambda_S^{AB}$	$\lambda_S$
5	64.5±3.5	37.4 ± 1.9	60.8 ± 1.9	40.9	25.0	0.03	1.8	42.7
15	73.4±1.7	40.4 ± 0.1	62.1 ± 1.2	39.4	8.0	0.4	3.5	42.9
25	78.7±1.5	42.5 ± 0.7	56.4 ± 1.9	38.3	2.2	1.9	4.2	42.5

Для підтвердження змін у конформації прищеплених щіток ПХМА за допомогою АСМ вимірювання проводили дослідження морфології наночарів прищеплених щіток ПХМА в широкому діапазоні температур (5-70°C). Репрезентативні зображення АСМ, записані для наночарів прищеплених щіток ПХМА при різних температурах, представлені на рис.7.6. Показано відносно рівні поверхні для низьких температур (рис.7.6, температура 5-55 °C). Топографія помітно змінюється зі збільшенням температури від гладкої при 55 °C до дуже структурованої та шорсткої при 60 °C і знову повертається до відносно гладкої при 85 °C. Ці спостереження були кількісно визначені за допомогою розрахунку значення RMS (рис.7.7). RMS значення варіювали в діапазоні 0,2-0,4 нм для вимірювань, проведених при 5-55 °C. На відміну від цього, при 60 °C RMS зростає з 0,4 нм до майже 1,6 нм і швидко зменшується, досягаючи 0,5 нм при 85 °C. Такі значні зміни в морфології ми пов'язуємо з переходом прищеплених щіток ПХМА із склоподібного у каучукоподібний стан з подальшою переорієнтацією прищеплених щіток ПХМА в нематичний порядок. Крім того, цікавим є аналіз змін морфології

наношарів ПХМА в інтервалі температур 5-25 °С, тобто діапазоні, доступному для вимірювання контактного кута змочування. Підвищення температури в цьому діапазоні призводить до незначного, але помітного збільшення значення RMS в 1,5 рази, що передбачає горизонтальну перебудову в структурі наношарів прищеплених щіток ПХМА.

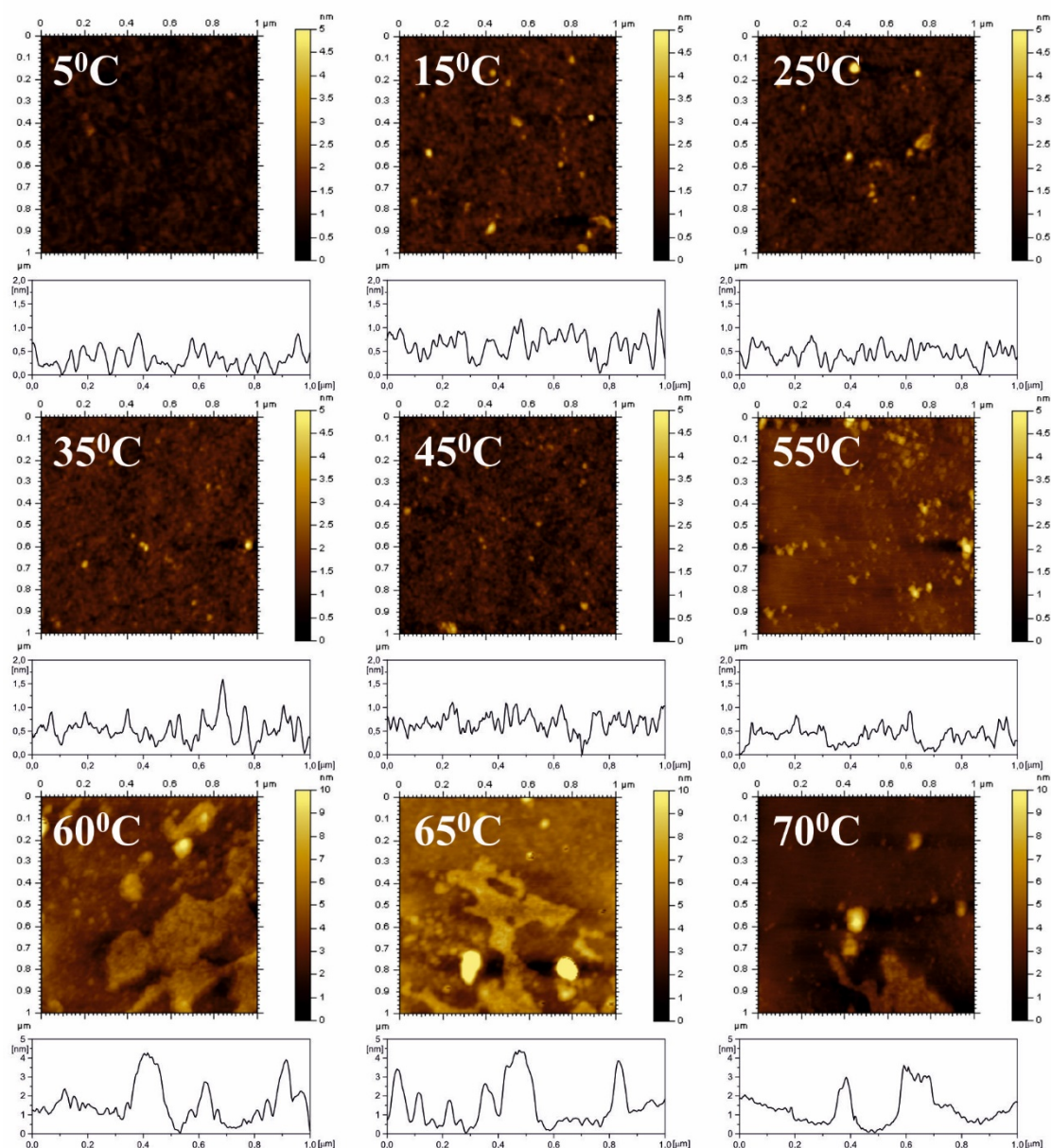


Рис.7.6. АСМ зображення морфології та поперечні перерізи наношарів прищеплених щіток ПХМА за різних температур.



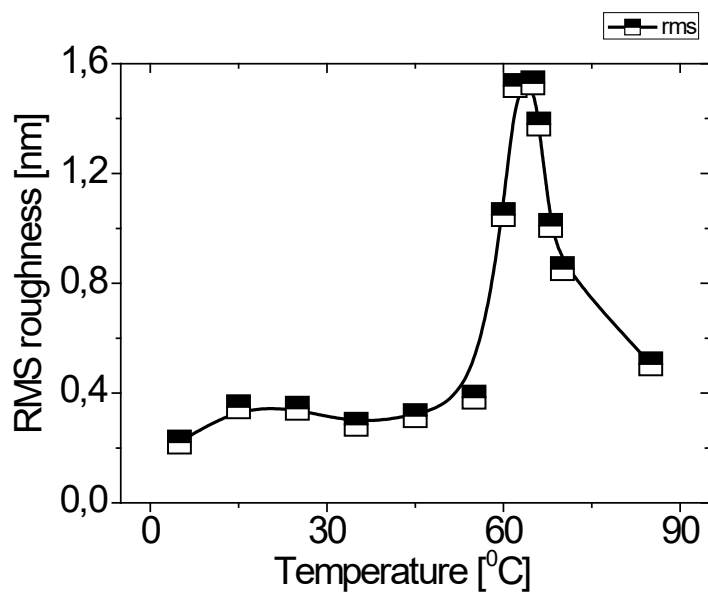


Рис.7.7. RMS, отримані з АСМ зображень (рис.7.6) наночарів прищеплених щіток ПХМА за різних температур

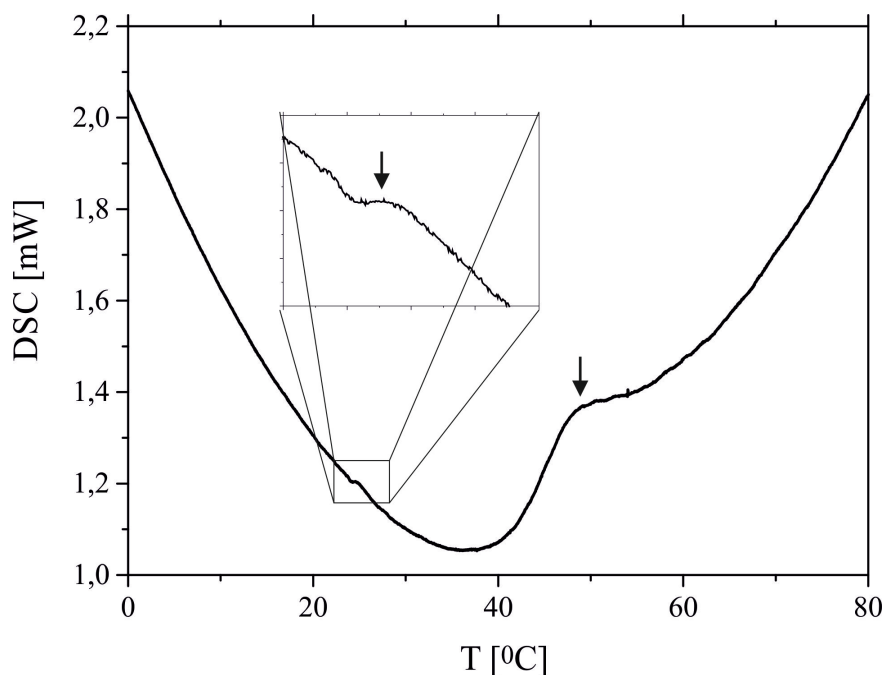


Рис.7.8. Крива ДСК, записана для вільних макромолекул ПХМА при швидкості нагрівання 20 К/хв.

Для кращого розуміння структурних переходів макромолекул ПХМА застосовували диференціальну скануючу калориметрію (ДСК). Загалом, поведінка вільних полімерних макромолекул повинна бути подібною до поведінки

прищеплених полімерних щіток, тому ДСК аналіз проводили для вільних макромолекул, отриманих із середовища полімеризації. Репрезентативна крива ДСК, отримана після віднімання стандартної базової лінії (рис.7.8), показує поступові зміни вимірюваного сигналу, що передбачає безперервне перегрупування молекул ПХМА. Подібний ефект спостерігався для температуро-чутливих наночарів прищеплених щіток ПХМА. Більше того, на кривій виявлено два ендотермічні піки, що виявляють наявність додаткових різких переходів у структурі ПХМА - дуже добре виражений пік при 50 °С і набагато слабший, але чітко помітний – при 25 °С. Ці перетворення підтверджуються також змінами поверхневого змочування, морфологією та відповідними RMS.

На основі результатів вимірювань контактного кута змочування, спільно з аналізами АСМ та ДСК пропонується гіпотетична модель поведінки прищеплених щіток ПХМА при різних температурах. По перше, встановлено, що температури переходів для прищеплених щіток ПХМА зміщуються до нижчих температур, порівняно з вільними макромолекулами цього ж полімеру, через зменшення числа ступенів свободи в прищеплених полімерних щітках. По друге, перехід, який спостерігається для температур від 5 до 25 °С, добре виражений при аналізі контактного кута змочування і слабший, але чітко помітний як при аналізі ДСК, так і при АСМ, свідчить про горизонтальну перебудову в структурі наночарів прищеплених щіток ПХМА, і може бути пов'язаний з явищем  $\beta$ -релаксації в склоподібному стані [297].  $\beta$ -релаксація пояснюється рухом елементарних ланок полімерів у склоподібному стані. По третє, другий виявлений перехід пов'язаний із переходом з склоподібного у каучукоподібний стан полімеру, добре виражений у вимірюваннях ДСК та АСМ. Подібна система була описана в роботі [298], де аналізували властивості прищеплених щіток у склоподібному та каучукоподібному станах. На відміну від горизонтальної переорієнтації при  $\beta$ -релаксації, збільшення значення RMS при зміні температур у діапазоні переходу зі склоподібного у каучукоподібний стан передбачає вертикальну переорієнтацію в структурі прищеплених полімерних щіток. У роботі [299] такі температуро-індуковані

переходи супроводжуються зменшенням показників заломлення та зростанням товщини наночарів прищеплених полімерних щіток. Більше того, у роботі [300] АСМ була застосована для аналізу топографії прищеплених полістиренових щіток при різних температурах та показує схожі на наші результати (рис.7.6-7.7 ). Зниження значення RMS після переходу через температуру склування пояснюється підвищеною рухливістю полімерних ланцюгів, що призводить до прискореної релаксації поверхневих структур. У нашому випадку це явище може бути пов'язане додатково з переорієнтацією прищеплених щіток ПХМА у нематичний порядок.

### **7.3. Орієнтація нематичних рідких кристалів на поверхні наночарів прищеплених щіток полі(холестерилметакрилату)**

Орієнтація нематичних рідких кристалів на поверхні наночарів прищеплених щіток ПХМА досліджувалася за допомогою поляризаційної оптичної мікроскопії. Для цього створювали комірку з скляних пластинок, модифікованих прищепленими щітками ПХМА, при чому прищеплені наночари містяться на внутрішній стороні комірки. Комірку заповнювали нематиком ZLI-4119 та розміщали між перехрещеними поляроїдами де спостерігали текстуру упорядкованого тематика. Азимутальне обертання комірки у мікроскопі не призводило до значного зростання яскравості текстури, що свідчить про гомеотропну або квазі-гомеотропну орієнтацію нематика у комірці при 24 °С. Більше того, натискання на поверхню призводить до спалахоподібного висвітлення текстури, що є додатковим свідченням гомеотропної або квазі-гомеотропної орієнтації нематика у комірці. Зміни у текстурі стають добре вираженими при 40 °С, але текстура продовжує робитися більш яскравою при подальшому нагріванні зразка (рис. 7.9). Зростання яскравості текстури, без сумніву, вказує на нахил у загальній орієнтації нематика, при цьому ці зміни відбуваються під впливом змін у структурі наночару прищеплених щіток ПХМА, тому що перехід з нематичної фази у ізотропну для даного нематика становить приблизно 80 °С (рис.7.9, 78 °С).

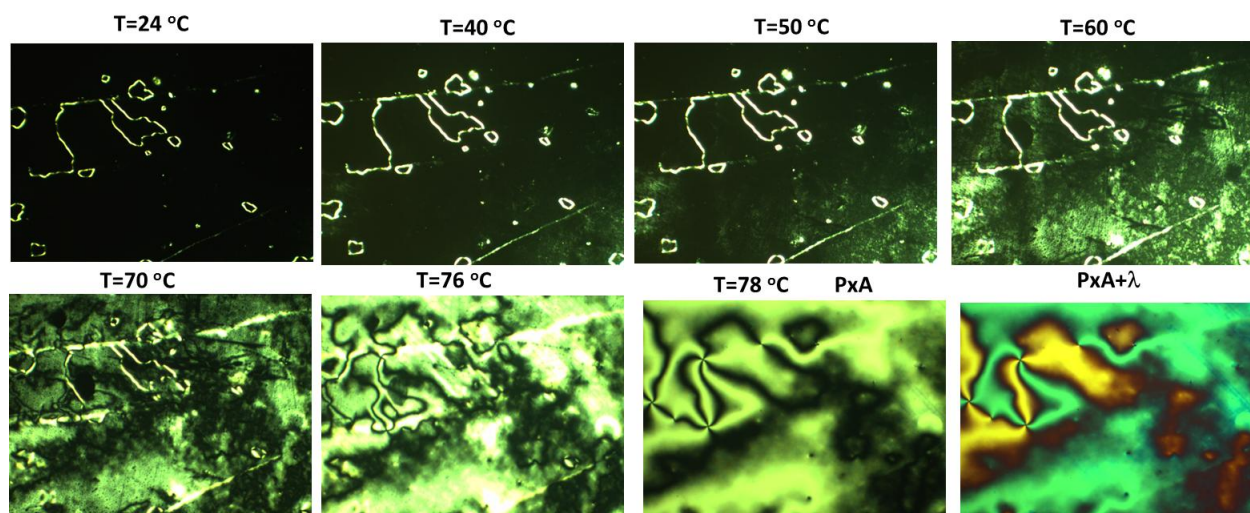


Рис. 7.9. Мікрофотографії зроблені за допомогою оптичного поляризаційного мікроскопа для комірки з прищепленими щітками ПХМА, заповненої нематиком ZLI-4119 при різних температурах.

Проведенні дослідження показали зворотність у текстурі при циклах нагрівання та охолодження зразків. Для визначення кута нахилу нематика ZLI-4119 у комірці з прищепленими щітками ПХМА при різних температурах нами було застосовано один з різновидів поляризаційної оптичної мікроскопії, так званий метод «PolScore». Цей метод дозволяє за допомогою, порівняння подвійного променезаломлення нематиком у звичайній комірці та з нанощарами ПХМА визначити кут нахилу нематика при різних температурах. На рис.7.10 наведено залежність подвійного променезаломлення нематика ZLI-4119 у комірці з нанощарами прищеплених щіток ПХМА, виміряне за допомогою методу PolScore. На рис. 7.11. показано мікрофотографії текстур нематика ZLI-4119 у комірці з нанощарами прищеплених щіток ПХМА виміряні за допомогою методу PolScore, а також вказано кут нахилу молекул нематика у залежності від температури.

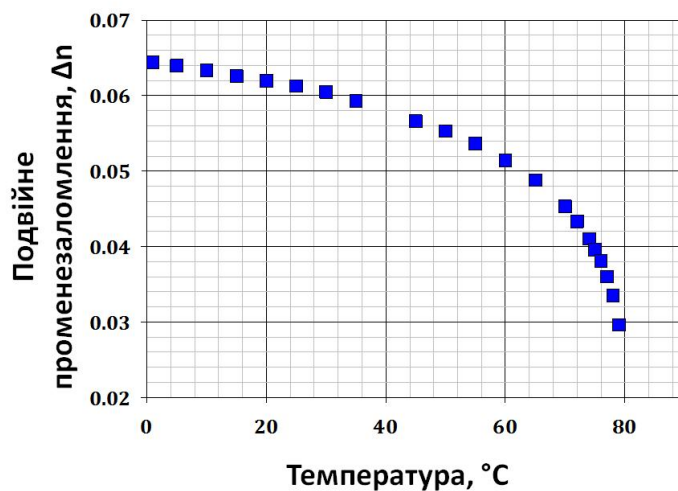


Рис. 7.10. Залежність подвійного променезаломлення нематика ZLI-4119 у комірці з наночарами прищеплених щіток ПХМА, виміряне за допомогою методу PolScore.

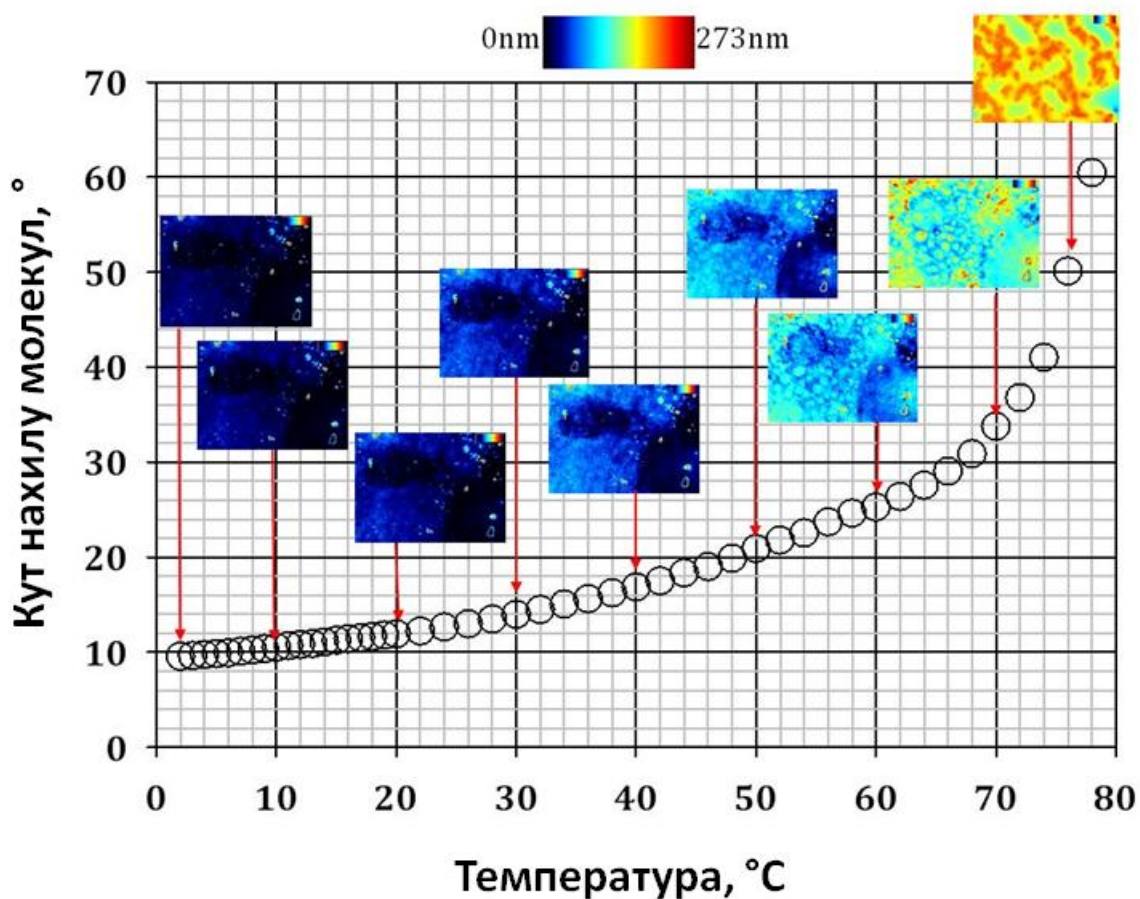


Рис. 7.11. Залежність нахилу молекул нематика ZLI-4119 у залежності від температури у комірці з наночарами прищеплених щіток ПХМА. Мікрофотографії PolScore відповідають відповідному куту нахилу молекул нематика.

Результати PolScore вимірювань повністю співпадають з результатами оптичної поляризаційної мікроскопії. Слабкі текстурні зміни спостерігаються, також при температурах нижчих за кімнатну, проте добре виражені при температурі близько 40 °С. При кімнатній температурі, а також нижче кімнатної кут нахилу молекул нематика відповідає квазі-гомеотропному упорядкуванню, з підвищенням температури кут нахилу зростає, проте не за рахунок перебудови рідкого кристалу, а за рахунок впливу змін у структурі прищепленого наночару ПХМА. При температурі близько 76 °С сам нематик є у стані нематично-ізотропної транзиції, і тому подальше спостереження за впливом поверхні на його орієнтацію не було доцільним. Для кращого розуміння впливу поверхонь на орієнтацію рідких кристалів, на рис.7.12 наведено схему орієнтації молекул нематика на поверхні з наночаром МПІ-1 та прищепленими щітками ПХМА за різних температур.

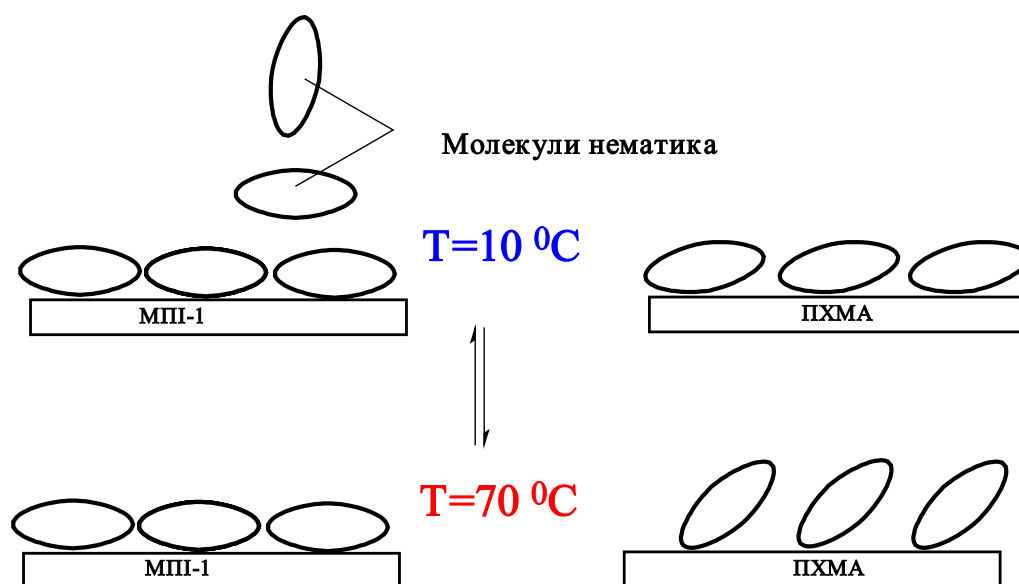


Рис.7.12. Схема орієнтації молекул нематика на поверхні з наночаром МПІ-1 та прищепленими щітками ПХМА за різних температур.

Таким чином, результати досліджень з температуро-індукованої орієнтації рідких кристалів на поверхні наночарів прищеплених щіток ПХМА повністю

збігаються з представленими раніше АСМ та ДСК дослідженнями, а під впливом температури щітки перебувають у постійному динамічному русі, який реалізується за рахунок різних механізмів. Отримані результати мають значний практичний інтерес для створення температуро-контрольованих платформ для орієнтації рідких кристалів.

#### **7.4. Поведінка клітин на поверхні наночарів прищеплених щіток ПХМА.**

Незважаючи на прогрес у виробництві рідкокристалічних систем, існує лише кілька літературних джерел, які описують їх застосування в біомедичних дослідженнях [292-293]. У роботі [292] повідомляється про синтез та властивості біодеградабельних, пористих, рідкокристалічних еластомерів та їх використання як тривимірних каркасів для розвитку культури клітин. Еластомери отримували зшиванням блок-кополімерів з бічними фрагментами холестеролу, що призводило до утворення рідкокристалічних еластомерів. Дослідження росту культур клітин на таких платформах показують, що отримані структури є біосумісними для клітинних ліній нейробластів та міобластів при вирощуванні їх протягом тривалого періоду часу (близько місяця).

Для вивчення біосумісності наночарів прищеплених щіток ПХМА, що має вирішальне значення для їх потенційного застосування в тканинній інженерії, їх використовували як субстрати для культивування клітин гранульози та незлоякісних клітин раку сечового міхура (лінія HCV29). Мікрофотографії, представлені на рис.7.13, показують ріст клітин гранульози на наночарах прищеплених щіток ПХМА та еталонних зразках скла. Через 24 години культивування кількість клітин на поверхні наночару ПХМА, що спостерігається за допомогою оптичного мікроскопа, є дуже низькою, на відміну від контрольного зразка. Однак після ще 24 годин інкубації, кількість клітин гранульози на поверхні з ПХМА збільшується вдвічі. Після 72 годин інкубації на контрольній поверхні утворився одноклітинний шар, тоді як на ПХМА все ще спостерігаються лише поодинокі клітини та їх

хаотично розміщені конгломерати. Загальна кількість клітин, розрахована після 96 годин інкубації на еталонному зразку та поверхні наношару ПХМА, помітно відрізнялася і дорівнювала  $62 \times 10^3$  та  $24 \times 10^3$  клітин/мл відповідно.

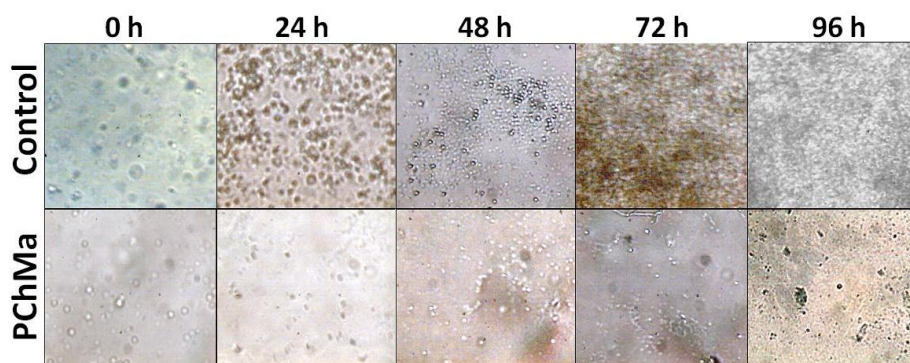


Рис.7.13. Фазово-контрастні мікрофотографії клітин гранульози в різні періоди культивування.

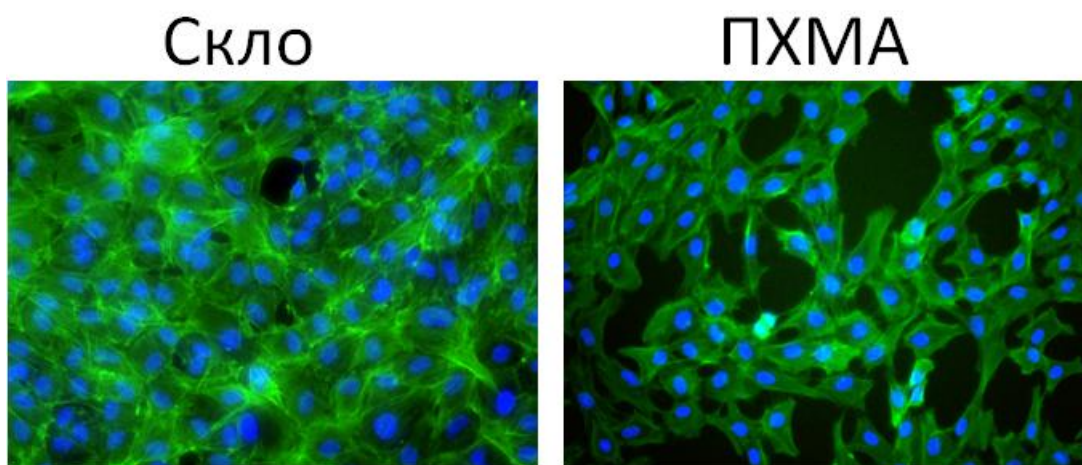


Рис.7.14. Флуоресцентні мікрофотографії клітин раку сечового міхура HCV29 після 72 год культивування на склі та прищепленому покритті ПХМА (збільшення у 200 разів).

Навпаки, флуоресцентні мікрофотографії клітин раку сечового міхура HCV29, записані після 72 годин інкубації (рис. 7.14), демонструють хорошу динаміку росту клітин на поверхні зразків з прищепленим наношаром ПХМА. Хоча кількість клітин менша приблизно на 25%, порівняно з контрольним зразком, клітини HCV29 зберігають характерну видовжену форму і починають формувати однорідний шар.



Отримані результати вказують на те, що біосумісні властивості наночарів прищеплених щіток ПХМА є дуже специфічними для кожного окремо взятого типу клітин. Хоча ріст клітин на покриттях ПХМА нижчий, ніж на контрольних зразках, можна стверджувати, що ці поверхні мають великі перспективи для виготовлення динамічних субстратів для вирощування клітинних ліній [25-26, 44].



Рідкокристалічні полімери поєднують у собі властивості полімерних макромолекул та рідкокристалічних сполук, такі як хіральність, амфіфільність, кристалічність та біосумісність. У нашій роботі, вперше сформовано наночари рідкокристалічних прищеплених щіток ПХМА та показано їх застосування для контрольованої орієнтації рідких кристалів.

На основі результатів вимірювань контактного кута змочування, спільно з аналізами АСМ та ДСК запропонована гіпотетична модель поведінки прищеплених щіток ПХМА при різних температурах. Перехід, який спостерігається для температур від 5 до 25 °С, добре виражений при аналізі контактного кута змочування і слабший, але чітко помітний як при аналізі ДСК, так і при АСМ, свідчить про горизонтальну перебудову в структурі наночарів прищеплених щіток ПХМА, і може бути пов'язаний з явищем  $\beta$ -релаксації в склоподібному стані. Другий виявлений перехід пов'язаний із переходом з склоподібного у каучукоподібний стан полімеру. Зростання значення RMS при зміні температур у діапазоні переходу зі склоподібного у каучукоподібний стан передбачає вертикальну переорієнтацію в структурі прищеплених полімерних щіток.

Біосумісні властивості наночарів ПХМА є специфічними для кожного окремо взятого типу клітин. Ріст клітин на покриттях ПХМА нижчий, ніж на контрольних зразках, проте ці поверхні мають великі перспективи для виготовлення динамічних субстратів для вирощування клітинних ліній

## РОЗДІЛ 8

### ОСНОВНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ФОРМУВАННЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ ПРИЩЕПЛЕНИХ ЧУТЛИВИХ ЩІТОК НА ПОВЕРХНЯХ НАНОТРУБОК

В останні роки значні зусилля спрямовано на розробку гібридних наноматеріалів, зокрема нанотрубок, з регульованими властивостями за допомогою зовнішніх подразників, таких як рН, температура, світло та магнітне поле. Інтенсивно вивчаються вуглецеві нанотрубки, металеві нанотрубки, оксидні нанотрубки, а також боронітридні нанотрубки (БННТ) [152]. Причина широкого інтересу до нанотрубок пов'язується з їх високим потенціалом застосування відразу у кількох сферах, таких як медицина, техніка, біотехнологія тощо. У нашій роботі спеціальна увага була приділена формуванню прищеплених чутливих щіток на поверхні БННТ, як зручного модельного об'єкту для модифікації. БННТ були вперше синтезовані групою вчених на чолі з професором А. Чопрю в 1995 р [152]. Вони володіють високими механічними властивостями та є слаботоксичними. Вони є супер гідрофобними і не можуть бути дисперговані у водному середовищі та в більшості органічних розчинників. Для покращення їх диспергованості у водних середовищах використовуються численні методи функціоналізації поверхні [152].

Стратегії функціоналізації БННТ можна поділити на три групи [152, 301-306]:

- 1) не ковалентне прищеплення до поверхні,
- 2) ковалентне прищеплення до поверхні,
- 3) утворення аміно- та/або гідроксильних груп на місцях дефектів.

Функціоналізація може бути досягнута через перетворення поверхневих аміногруп, які вже існують на кінцях нанотрубок або як дефекти [152]. Крім того, також можливе збільшення кількості  $-NH_2$  груп на поверхнях БННТ шляхом їх обробки плазмою у середовищі аміаку [152].

На сьогоднішній день найбільш перспективною процедурою функціоналізації БННТ є ковалентне прищеплення полімерних щіток шляхом полімеризації «від поверхні» [152, 307]. Зокрема, БННТ були модифіковані гідрофобними полімерними щітками полістиролу та полі(гліцидилметакрилату). Такі модифіковані

нанотрубки демонстрували високу диспергованість у різноманітних органічних розчинниках [152, 307].

### 8.1. Температуро-чутливі прищеплені щітки на поверхні боронітридних нанотрубок

Температуро-чутливі боронітридні нанотрубки були приготовані у простому двохстадійному процесі, схема якого наведена на рис.8.1. суть методу полягає у полімеризації ПНІПАМ «від поверхні» БННТ попередньо функціоналізованої МПІ-1.

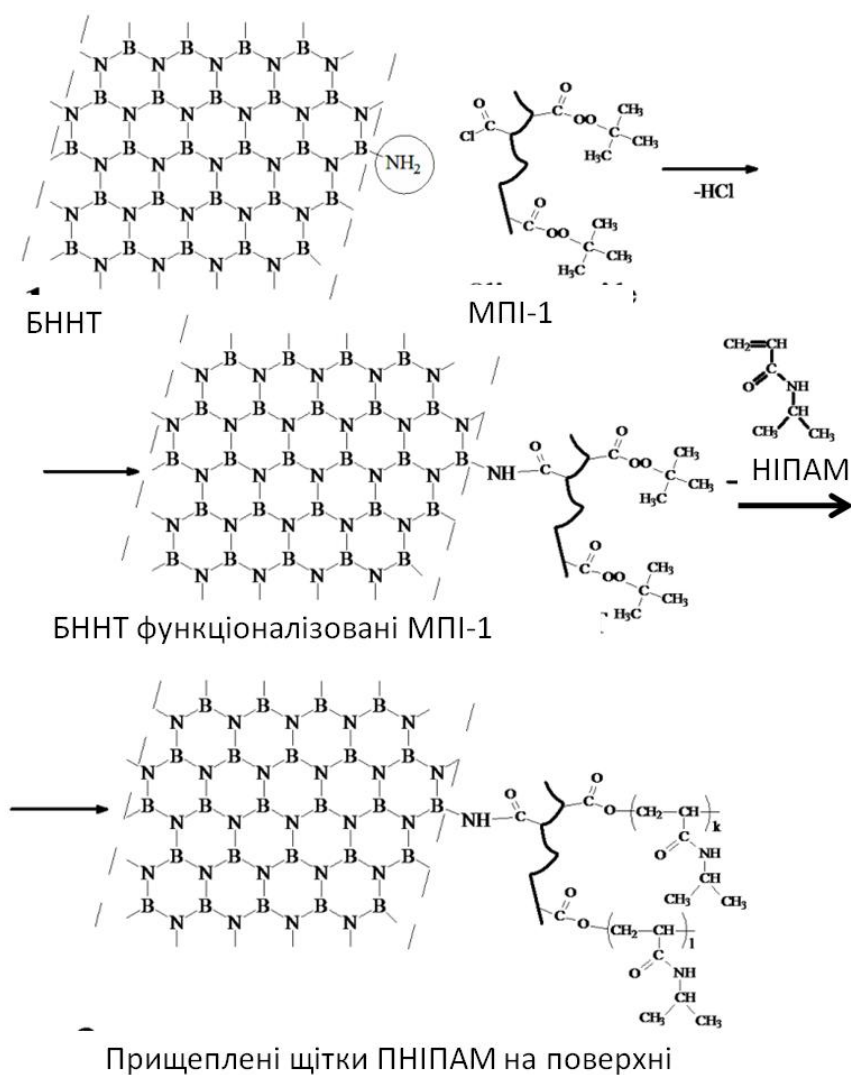


Рис.8.1. Функціоналізація БННТ за допомогою МПІ-1 та подальше формування прищеплених щіток ПНІПАМ, ініційоване термолізмом пероксидних груп МПІ-1.

БННТ з прищепленими щітками НППАМ добре диспергуються у воді та деяких органічних середовищах (діоксан, дихлоретан *тощо*). Супернант отриманий внаслідок центрифугування «чистих» БННТ диспергованих у воді є слабо мутним (рис.8.2 а), що свідчить про практично повну відсутність диспергованих «чистих» БННТ у воді. Супернатанти, отримані в тих самих умовах з водної дисперсії БННТ функціоналізованих МПІ-1 та МПІ-1 з прищепленими щітками ПНППАМ є суттєво мутнішими, особливо у останньому випадку, що свідчить про значне покращення диспергованості (зростання концентрації функціоналізованих БННТ у водному розчині супернатанта) (рис.8.2 б та в).

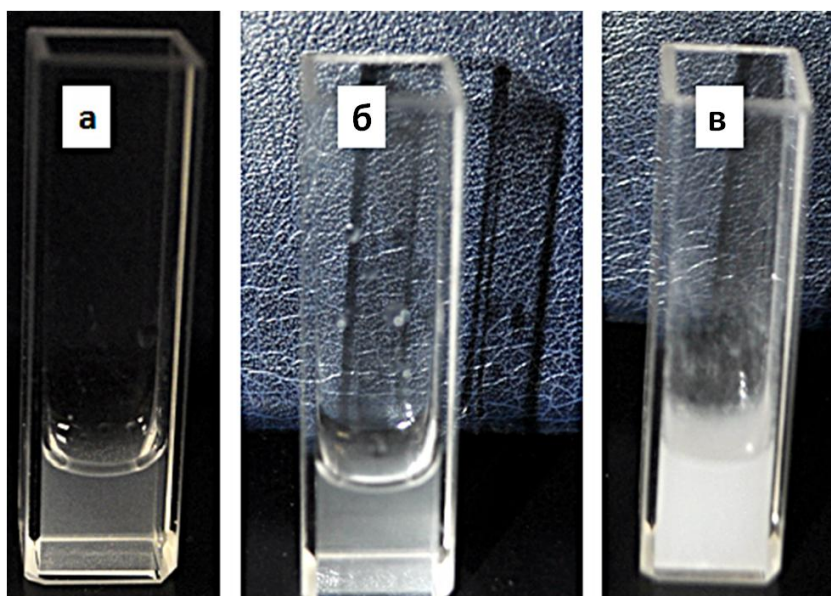


Рис.8.2. Супернатанти, отримані після центрифугування водних суспензій вихідних БННТ (а); БННТ, функціоналізованих МПІ-1 (б) та БННТ, функціоналізованих МПІ-1 та прищепленими щітками ПНППАМ (в). Концентрації 1 мг/мл у воді, після обробки ультразвуком.

Макромоллекули МПІ-1 чи ПНППАМ можуть бути зв'язані з поверхнею БННТ фізично або за допомогою хімічних зв'язків (рис.8.3). Для підтвердження хімічної модифікації поверхні проводили повторні цикли промивання БННТ у поєднанні з термогравіметричним аналізом.

Модифіковані БННТ очищали від неприщепленого МПІ-1, використовуючи поперемінно кілька циклів центрифугування, декантації та повторного диспергування по чергово у діоксані та толуолі.

Рисунок 8.3. (криві б, в і г) демонструє втрату маси БННТ, функціоналізованих МПІ-1 порівняно з «чистими» БННТ (крива а). Зі збільшенням кількості промивань, втрата маси суттєво зменшується, що пояснюється наявністю на поверхні макромолекул не тільки ковалентно прищепленого, але й адсорбованого МПІ-1. Виділення БННТ з наночастиною прищепленого МПІ-1 трудомісткий процес і потребує близько 10 циклів центрифугування, декантації та диспергування. Це переконливе свідчення існування дуже сильних нековалентних взаємодій між БННТ та МПІ-1 за допомогою  $\pi$ - $\pi$  взаємодій між циклічними структурами БННТ та бензеновими циклами МПІ-1 [30].

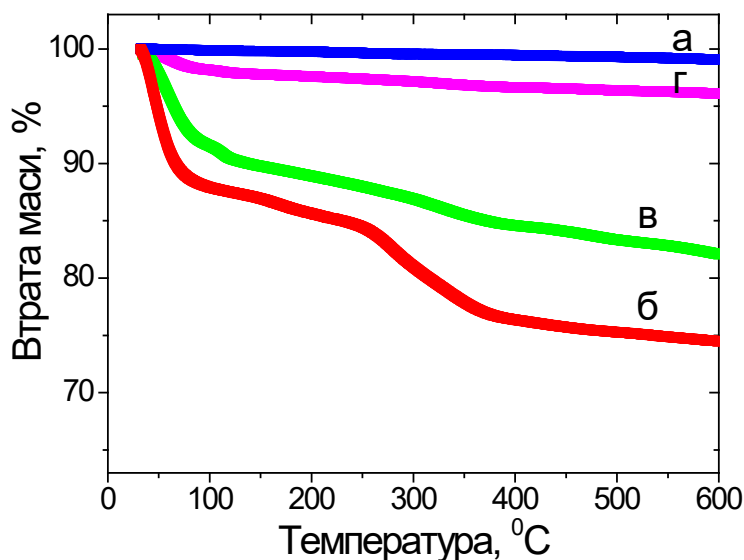


Рис. 8.3. Термогравіметричні криві для вихідних БННТ (а) та БННТ, функціоналізованих МПІ-1 (б, в і г) після центрифугування, декантації та повторного диспергування - один цикл у діоксані (б), два цикли у діоксані та толуолі (в), десять циклів по чергово у діоксані та толуолі (г).

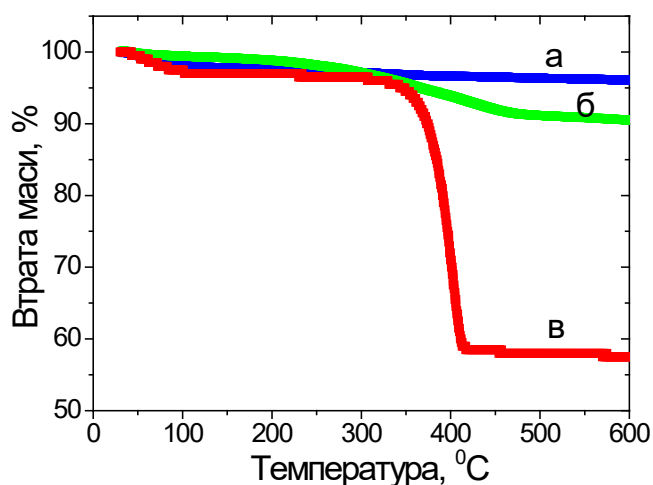


Рис. 8.4. Термогравіметричні криві для БННТ, функціоналізованих ковалентно прищепленим наночаром МПІ-1 (а), ковалентно прищепленим наночаром ПНІПАМ (б) функціоналізованих хімічно та фізично зв'язаним шаром ПНІПАМ (в).

На відміну від БННТ, функціоналізованих МПІ-1 для відділення нанотрубок з ковалентно прищепленим наночаром щіток ПНІПАМ від незв'язаних макромолекул ПНІПАМ достатньо два цикли центрифугування, декантації та повторного диспергування у воді (рис.8.4.). На рис. 8.4. показані термогравіметричні криві для БННТ, функціоналізованих МПІ-1 та БННТ з прищепленими щітками ПНІПАМ (б та в). БННТ з прищепленими щітками ПНІПАМ показали значні втрати маси при 350°C. Як видно з рис.8.4 (крива б), приблизно 6% втрати маси може бути віднесено до ковалентно прищепленого ПНІПАМ, отриманого на поверхні БННТ після полімеризації.

Для розрахунку концентрацій МПІ-1 та ПНІПАМ у прищеплених наночарах було використано дані термогравіметричного аналізу. Якщо припустити, що молярні маси МПІ-1 та ПНІПАМ становлять відповідно 3000 г/моль та 113 г/моль, а питома поверхня БННТ становить 260 м<sup>2</sup>/г, обчислена

концентрація прищепленого МПІ-1 дорівнює 0,0103 ммоль/г (0,11 мг/м<sup>2</sup>), тоді як концентрація прищеплених фрагментів ПІПАМ становить 0,566 ммоль/г (0,24 мг/м<sup>2</sup>).

FTIR спектри вихідних та функціоналізованих БННТ записували для зразків, висушених при 60°C протягом 6 год, щоб видалити залишки розчинників. Спектр вихідних БННТ складається з двох широких асиметричних смуг поглинання з піками при 1327 см<sup>-1</sup> та 758 см<sup>-1</sup> (рис. 8.5а, чорна лінія) та повністю узгоджується з літературними даними [151, 301-306]. Точне положення смуг залежить від довжини та діаметру нанотрубок, а розширення смуг виявляє полідисперсність діаметрів та довжини БННТ.

Після прищеплення МПІ-1 форма смуг, які відносяться до БННТ, залишається незмінною, але з'явилася широка смуга при 3360 см<sup>-1</sup> (рис.8.5а, зелена лінія). Цьому діапазону відповідає коливання гідроксильних груп у складі МПІ-1, або до адсорбованої води. Слабко виражений вузький пік при 870 см<sup>-1</sup> може бути віднесений до планарних коливань N–H-зв'язків у амідних групах, які утворилися на поверхні у результаті взаємодії між аміногрупою БННТ та хлорангідридною групою МПІ-1. Ніяких додаткових смуг поглинання у звичайному спектрі FTIR для цього зразка не вдалося ідентифікувати. Однак за допомогою більш чутливого приладу – конфокальної FTIR мікроскопії нами було виявлено смуги адсорбції при 2850 та 2923 см<sup>-1</sup>, віднесені до -CH<sub>2</sub>- груп поліетиленоксиду, що свідчить про успішну модифікацію БННТ МПІ-1 (див. рисунок 8.5б, зелена лінія). Після прищеплення ПІПАМ з'являється значна кількість нових піків: при 1525 см<sup>-1</sup> та 1625 см<sup>-1</sup> (рис. 8.5., червона лінія), що відносяться до вібрації амідної групи [-C(O)NH-], а саме її карбонільної частини; коливання N-H зв'язку при 870 см<sup>-1</sup> стають більш інтенсивними; піки у діапазоні 1130 та 1180 см<sup>-1</sup> відносяться до коливань -CH<sub>3</sub> групи; піки при 2850 та 2917 см<sup>-1</sup>, належить до коливань фрагментів -CH<sub>2</sub>-; пік при 2970 см<sup>-1</sup> належить до асиметричних коливань -CH<sub>3</sub>-груп; широка смуга при 3000-3700 см<sup>-1</sup> складається з двох

максимумів при  $3280$  і  $3470$   $\text{cm}^{-1}$  і належить до коливань O-H і N-H зв'язків. Додатково інтенсивність смуги поглинання при  $2976$   $\text{cm}^{-1}$ , присвоєної метильним групам, суттєво збільшується порівняно зі смугами при  $2785$ - $2923$   $\text{cm}^{-1}$  демонструючи збагачення зразка метильними групами під час прищеплення ПНПАМ (рис. 8.5., червона лінія). Смуги адсорбції характерні для БННТ після прищеплення макромолекул ПНПАМ стають вужчими, а максимуми зміщуються у сторону вищого діапазону. На нашу думку, це відбувається завдяки розбиванню агломератів БННТ на окремі ізольовані нанотрубки під час процесів модифікації та виділення.

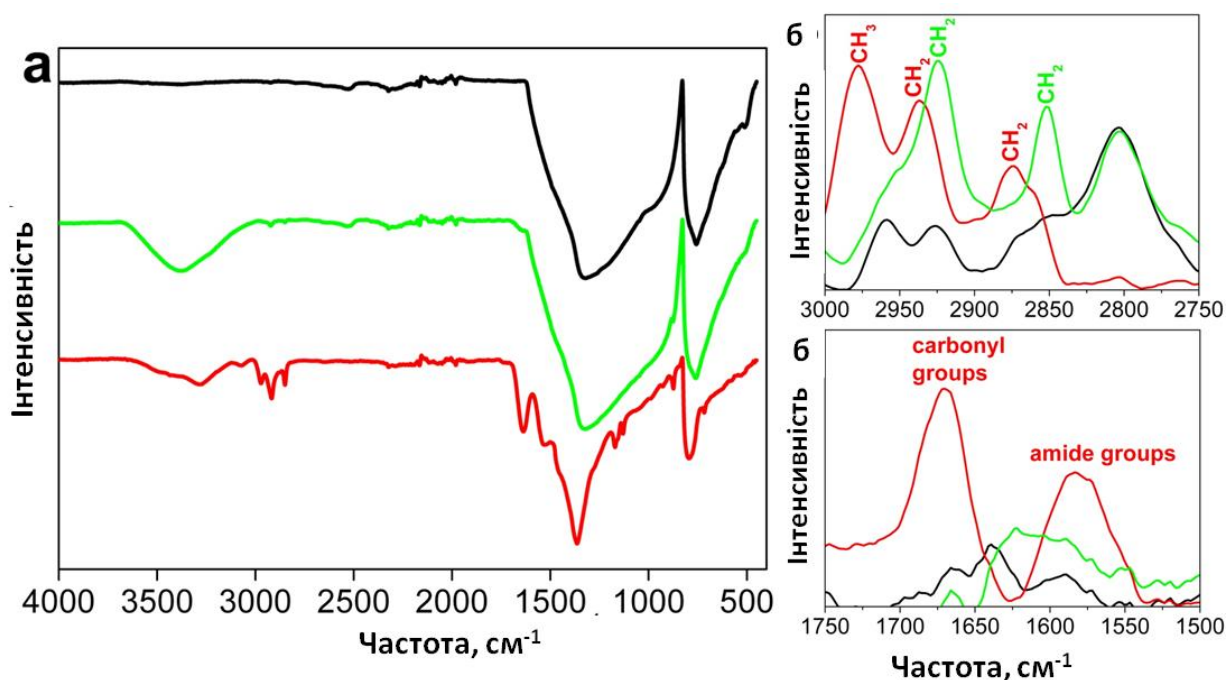


Рис.8.5. FTIR спектри вихідних БННТ (чорна лінія), функціоналізованих МПШ-1 (зелена лінія) та МПШ з прищепленими щітками ПНПАМ (червона лінія), записані спектрометром FTIR (а) та FTIR конфокальним мікроскопом (б)

Розподіл гідродинамічних діаметрів вихідних та модифікованих МПШ-1 БННТ, виміряних в інтервалі температур від  $25$  до  $40^\circ\text{C}$ , досить широкий, індекс полідисперсності для цих зразків коливається в межах  $0,5$ . Криві залежності усередненого діаметру БННТ від температури для цих зразків



повільно спадають із зростанням температури, що очевидно пов'язано з осіданням агрегатів БННТ під час експерименту. Однак навіть невелика кількість ковалентно прищеплених макромолекул ПНППАМ суттєво змінює колоїдні властивості БННТ. По-перше, вимірювання DLS показують майже подвійне зменшений усередненого гідродинамічного діаметру БННТ після прищеплення макроланцюгів ПНППАМ (рис. 8.6, крива в). Крім того, індекс полідисперсності для цих зразків знаходиться у межах 0,2 - 0,3. Вихідні БННТ та БННТ функціоналізовані МПІ-1 перебувають у водній дисперсії у формі агрегатів. Прищеплення щіток ПНППАМ призводить до ефективного диспергування БННТ, крім того прищеплений полімер перешкоджає утворенню агрегатів.

Зразки БННТ з прищепленими щітками ПНППАМ показують добре виражену та відтворювану реакцію на зміну температури при 32°C, що добре узгоджується з даними, опублікованими в інших дослідженнях [85-86]. Температуро-чутливі властивості пояснюються утворенням водневих зв'язків між гідрофільними амідними групами ( $\text{H-N-C=O}$ ) сегментів ПНППАМ та водою, які є домінуючими при температурах нижче НКТР, проте замінюються на водневі зв'язки між амідними групами у ланцюгах ПНППАМ при температурах вище НКТР (32-36°C). Це викликає перехід прищеплених макроланцюгів від конформації розтягнутих гідратованих щіток до конформації колапсованих гідрофобних ланцюгів, які згортаються і приводять до зменшення усередненого гідродинамічного діаметру БННТ з прищепленими щітками ПНППАМ майже у два рази.

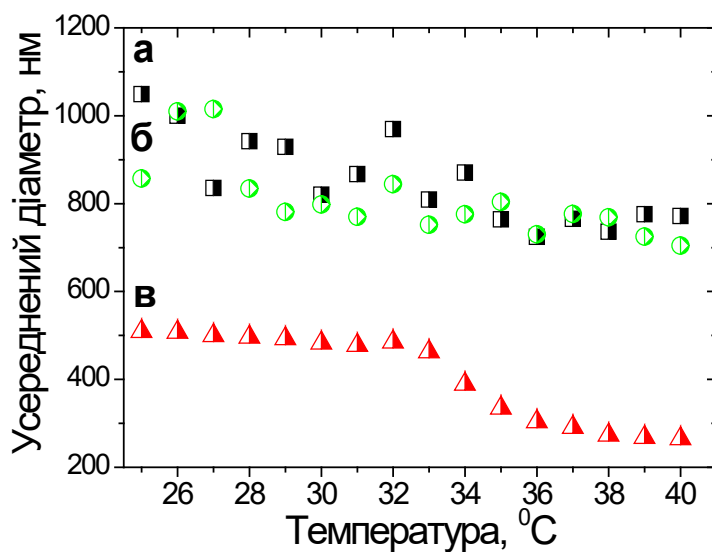


Рис.8.6. Усереднені гідродинамічні діаметри вихідних БННТ (а), функціоналізованих МПІ-1 (б) та БННТ з прищепленими щітками ПНІПАМ (в) за різних температур. Концентрація нанотрубок 1 мг/мл.

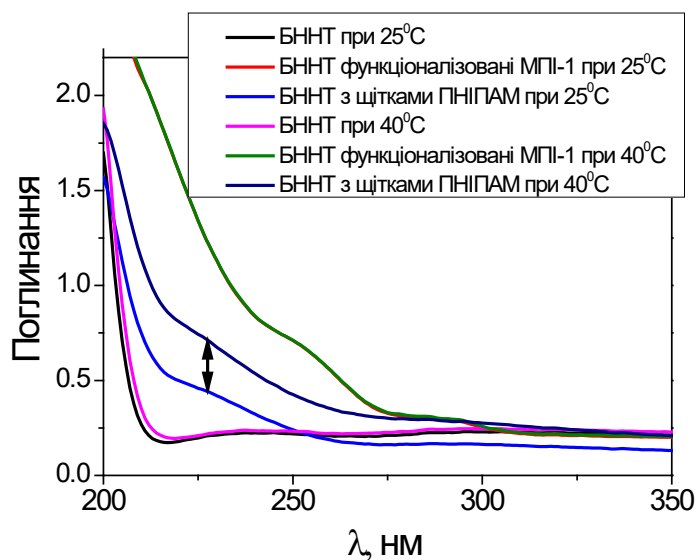


Рис.8.7. UV-Vis спектри поглинання вихідними БННТ, БННТ, функціоналізованими МПІ-1 та БННТ з МПІ-1 та прищепленими щітками ПНІПАМ при температурі 25 і 40°C. Концентрація нанотрубок 1 мг/мл.

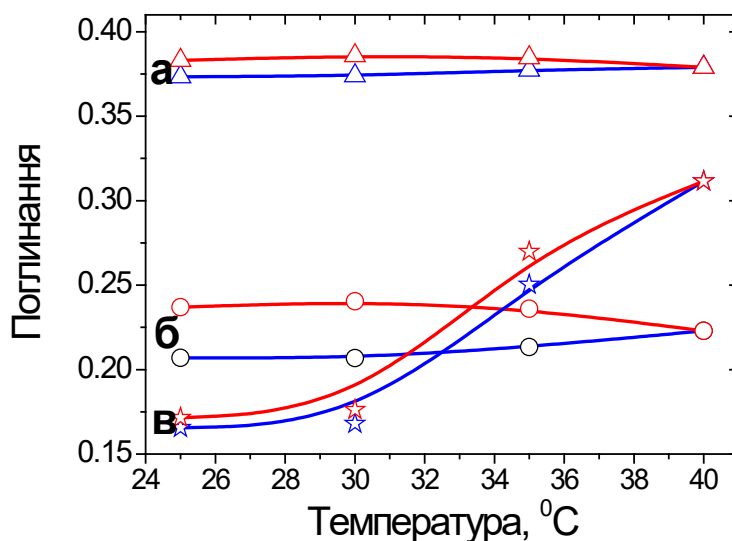


Рис. 8.8. Температуро-залежне поглинання при 270 нм при нагріванні (червоні лінії) та охолодженні (сині лінії) вихідних БННТ (а), БННТ, функціоналізованих МПІ-1 (б) та БННТ з МПІ-1 та прищепленими щітками ПНІПАМ. Концентрація нанотрубок 1 мг/мл.

Температурні зміни при 25 та 40 °C у модифікованих та вихідних БННТ було візуалізовано за допомогою UV-Vis спектроскопії, де спектри БННТ було записано у діапазоні 200-500 нм (рис. 8.7) і показано вплив температури на зміни значень поглинання тільки для зразків модифікованих прищепленими щітками ПНІПАМ з максимумом при 270 нм.

На рис.8.8 наведено криві залежності поглинання від температури, отримані за допомогою UV-Vis спектроскопії при 270 нм. Як і попередніх вимірюваннях значні температурозалежні зміни у значеннях екстинції були виявлені тільки для зразків БННТ з прищепленими щітками ПНІПАМ.

Явище екстинції БННТ зв'язане з розсіюванням електромагнітного випромінювання БННТ як функції їх діаметра та показника заломлення. Як видно з рис.8.8 показник заломлення та розмір вихідних БННТ та БННТ модифікованих МПІ-1 залишаються незмінними при будь-яких температурах. Це твердження добре узгоджується з нашими DLS дослідженнями. Однак для

БННТ, модифікованих прищепленими щітками ПНПАМ разом зі зменшенням гідродинамічного діаметру спостерігається зростання розсіювання. Тобто, при переході від конформації розтягнутих гідратованих щіток до конформації колапсованих гідрофобних ланцюгів відбувається значне зростання значень показника заломлення  $i$ , як наслідок, зростання розсіювання світла.

Результати DLS аналізу (рис.8.6) показали погану диспергованість як вихідних БННТ, так і БННТ, функціоналізованих прищепленими макромолекулами МПП-1. На відміну від цих зразків, БННТ з прищепленими щітками ПНПАМ мають високу здатність до диспергування у воді при кімнатній температурі.

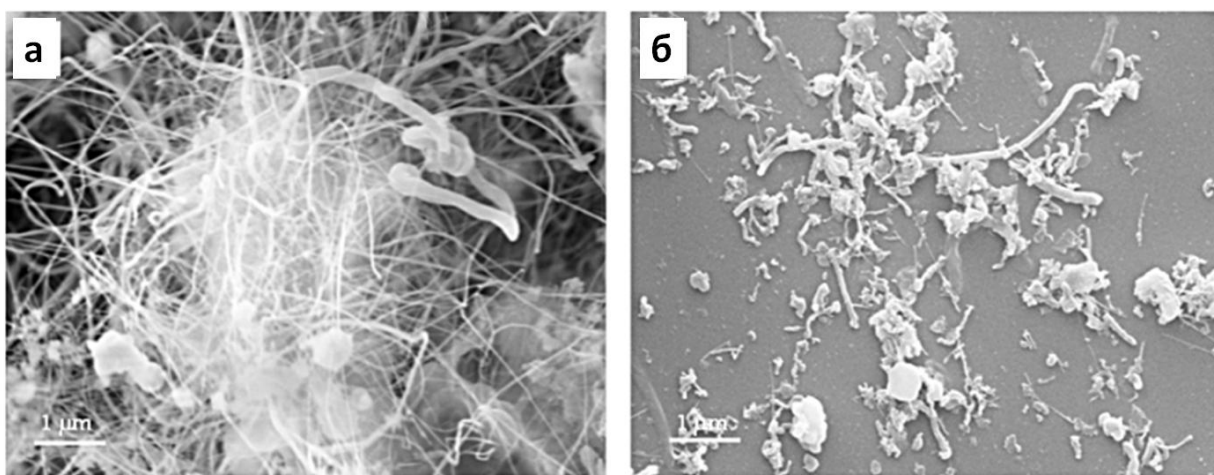


Рис.8.9. СЕМ зображення вихідних БННТ (а) та БННТ з прищепленими щітками ПНПАМ (б) після диспергування у воді та наступного нанесення краплі дисперсії на скляну підкладинку.

На рис.8.9 показано СЕМ зображення вихідних БННТ та БННТ, модифікованих прищепленими щітками ПНПАМ після висихання краплі водної дисперсії на скляній підкладинці. Вихідні БННТ утворюють великі агломерати величиною у кілька мікрон. У той же час БННТ, функціоналізовані ПНПАМ розміщені на поверхні у вигляді поодиноких нанотрубок чи їх з'єднаних скупчень, які утворюють невеликі структури

довжиною 500–1000 нм і діаметром 20-80 нм, що добре узгоджується розмірами представленими для борононітридних нанотрубок у роботах [301-302]. З рис.8.9 також видно, що досліджувані нанотрубки містяться певні домішки (пластівці тощо) які є частинками нітриду бору як побічного продукту при синтезі БННТ.

На рис.8.10. наведено АСМ зображення низької та високої роздільних здатностей БННТ (а та б); БННТ, функціоналізованих МПІ-1; прищепленими щітками ПНІПАМу (в та г) та їх перехресний переріз. Аналіз лінійних розмірів БННТ показав, що діаметри БННТ та БННТ функціоналізованих МПІ-1 з прищепленими щітками ПНІПАМ дорівнюють відповідно  $63 \pm 5$  та  $91 \pm 6$  нм, що є додатковим свідченням успішно проведеного процесу модифікації.

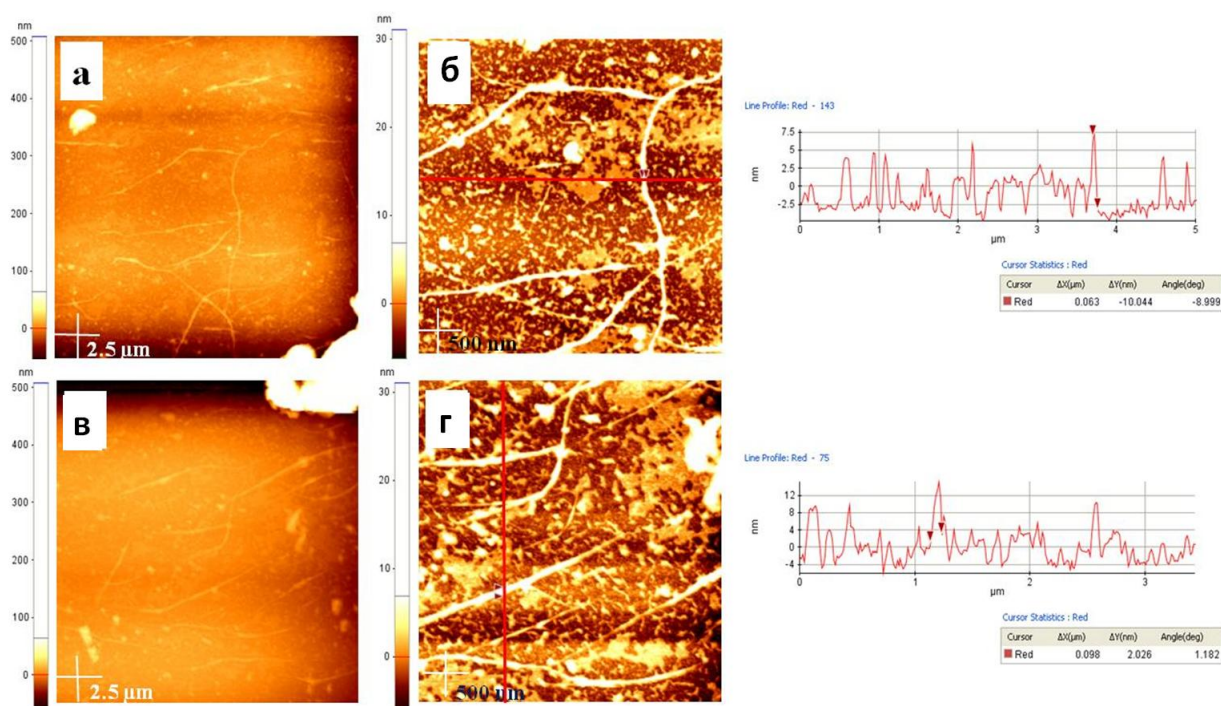


Рис.8.10. АСМ зображення низької та високої роздільних здатностей БННТ (а та б); БННТ, функціоналізованих МПІ-1 з прищепленими щітками ПНІПАМ (в та г) та їх перехресні перерізи.

У підсумку можемо зробити висновок, що прищеплені температурочутливі щітки ПНІПАМ були успішно синтезовані шляхом ініційованої

полімеризації від пероксидних груп МПП-1, попередньо іммобілізованого на поверхні БННТ. Запропонований спосіб приготування температуро-чутливих БННТ має щонайменше дві переваги. По-перше, функціоналізовані БННТ добре диспергуються у воді та володіють температуро-чутливими властивостями при фізіологічних температурах. По-друге, хімічна структура БННТ слабо змінюється після їх модифікації МПП-1 через взаємодію аміногруп (дефектів) БННТ з хлорангідридними групами МПП-1. Крім того, кожна ковалентно прищеплена молекула МПП-1 містить кілька центрів ініціації прищепленої полімеризації.

Масовий вміст ковалентно прищеплених щіток ПНППАМ становить лише приблизно 6%, проте це веде до значної зміни колоїдних властивостей БННТ, особливо їх здатності до диспергування у воді. Більше того, БННТ, функціоналізовані прищепленими щітками ПНППАМ проявляють температурозалежні колоїдні та оптичні властивості, що відкриває перспективи їх застосування в біомедицині як «розумних» наноносіїв лікарських препаратів.

## **8.2. рН-чутливі флуоресцентні прищеплені полімерні щітки зі здатністю до переключання флуоресцентних властивостей на поверхні боронітридних нанотрубок**

Поряд з іншими наноматеріалами, різні нанотрубки часто використовують, як флуоресцентні зонди для ряду біологічних застосувань, починаючи від доставки ліків у клітини та до впливу на геном [152, 301-306]. Як і всі нанотрубки, БННТ не є флуоресцентними, і флуорофорні групи (наприклад, органічна молекула або квантова точка) вводяться за допомогою поверхневої модифікації.

Інший підхід – це модифікація поверхні прищепленими полімерами, що містять органічні флуорофори. Однією з найбільш часто використовуваних міток є флуоресцеїн. У біомедичних застосуваннях флуоресцеїн має ряд переваг перед іншими барвниками [152, 308-309]:

- 1) низька токсичність,

2) висока розчинність у воді,

3) чутливість до рН середовища: флуоресцеїн демонструє високу ефективність флуоресценції при значеннях  $pH > 7$ , але стає не флуоресцентним у кислому середовищі [152].

### **8.2.1. Формування рН-чутливих флуоресцентних прищеплених полімерних щіток на поверхні боронітридних нанотрубок**

Модифікація БННТ за допомогою прищеплених щіток полі(акрилової кислоти-ко-флуоресцеїнакрилату) - П(АК-ко-ФА) була здійснена у двохстадійному процесі, де спочатку через дефектні аміногрупи на поверхні БННТ було ковалентно прищеплено МПІ-1 за допомогою його хлорангідридних груп (рис. 8.12) [11], а потім задіяно прищеплену полімеризацію «від поверхні» БННТ функціоналізованих МПІ-1 (рис. 8.12) [152].

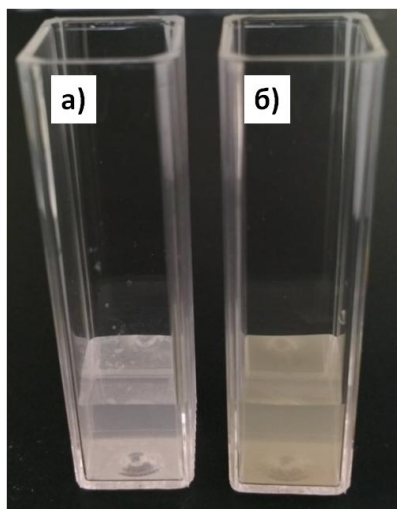


Рис.8.11. Суспензії БННТ (а) та БННТ з МПІ-1 та прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) (б). Концентрація 1 мг/мл у воді, після обробки ультразвуком [152].

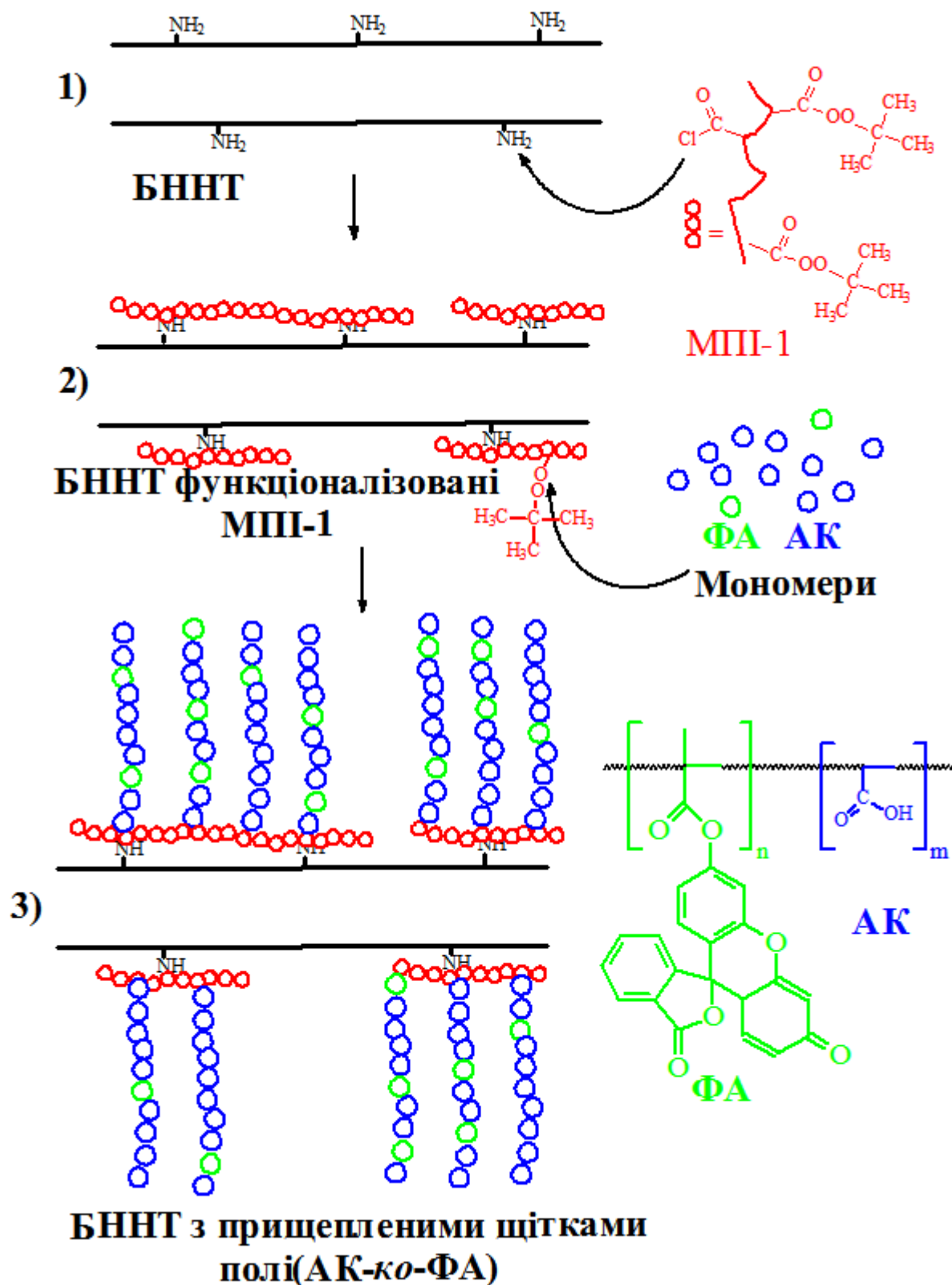


Рис.8.12. Функціоналізація БННТ (1) за допомогою МПП-1 (2) з подальшою ініційованою від поверхні прищепленою кополімеризацією акрилової кислоти (АК) та флуоресцеїн акрилату (ФА) з формуванням їх прищеплених щіток (3) [152].



Модифіковані БННТ добре диспергуються у воді (рис. 8.11б), утворюючи суспензію світло-жовтого кольору без утворення видимих агрегатів. На відміну від цього, не модифіковані БННТ не диспергуються у воді, їх білі агрегати видно у верхній частині суспензії та з боків кювети (рис. 8.11а) [152].

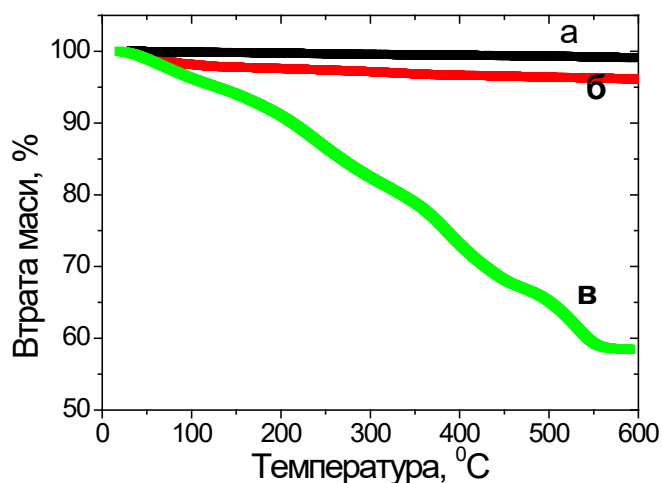


Рис.8.13. Термогравіметричні криві БННТ (а), МПП-1 функціоналізованих БННТ (б) та БННТ з МПП-1 і прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) (в).

На рис.8.13 показано термогравіметричні криві БННТ, МПП-1 функціоналізованих БННТ та БННТ з МПП-1 та прищепленими щітками П(АК-ко-ФА). Втрата маси для зразків БННТ, функціоналізованих МПП-1 (рис. 2. крива б), є відносно низькою і становить лише кілька відсотків. БННТ з прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) навпаки показують значну втрату маси, яка становить майже 60 %. Зразок термостабільний при температурах, нижчих за 80 °C, однак при подальшому зростанні температури до 550 °C спостерігається 40 %-на втрата маси [152].

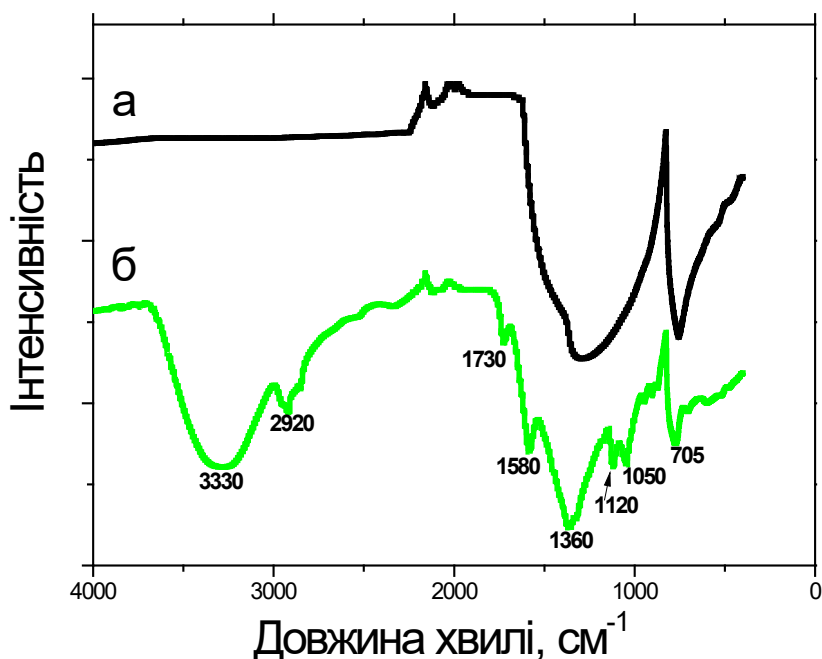


Рис. 8.14. ІЧ-спектри вихідних БННТ (а) та БННТ з МПП-1 і прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) (б).

Записані ІЧ-спектри вихідних та функціоналізованих БННТ представлені на рис.8.14. Спектр вихідних БННТ складається з двох широких асиметричних смуг поглинання, при  $1327 \text{ cm}^{-1}$  та  $758 \text{ cm}^{-1}$ , що характерно для В–N–В зв'язків (рис. 8.14а). Після модифікації БННТ кополімером П(АК-ко-ФА) було виявлено кілька нових смуг пов'язаних з процесом модифікації (рис. 8.14б). Так з'явилися неідентифіковані смуги поглинання при  $1327 \text{ cm}^{-1}$  та  $758 \text{ cm}^{-1}$ . Широка смуга поглинання при  $3330 \text{ cm}^{-1}$  відноситься до -ОН групи акрилової кислоти. Смуга при  $2920 \text{ cm}^{-1}$  пояснюється коливаннями С–Н зв'язків, а смуга поглинання при  $1730 \text{ cm}^{-1}$  відноситься до карбонілів карбоксильної групи акрилової кислоти та естерного фрагменту флуоресцеїнакрилату. Характерний пік бензольного кільця акрилату флуоресцеїну проявляється приблизно при  $1580 \text{ cm}^{-1}$ . Крім того, зв'язки С–О–С в естерних фрагментах проявляються у вигляді коливань при  $1120$  та  $1050 \text{ cm}^{-1}$ . Все це підтверджує успішне проходження процесу функціоналізації БННТ [152].

Оптичні властивості функціоналізованих БННТ вивчалися методами UV-Vis спектроскопії та конфокальної мікроскопії. На рисунку 8.15а показані спектри поглинання вихідним БННТ, БННТ функціоналізованими МПІ-1 та БННТ з МПІ-1 та прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) у воді. БННТ функціоналізовані прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) демонструють добре виражену смугу поглинання при  $\lambda=490$  нм, яка майже співпадає зі смугою адсорбції флуоресцеїну. У той же час БННТ та БННТ, функціоналізовані МПІ-1 не мають оптичного поглинання в цій області [152].

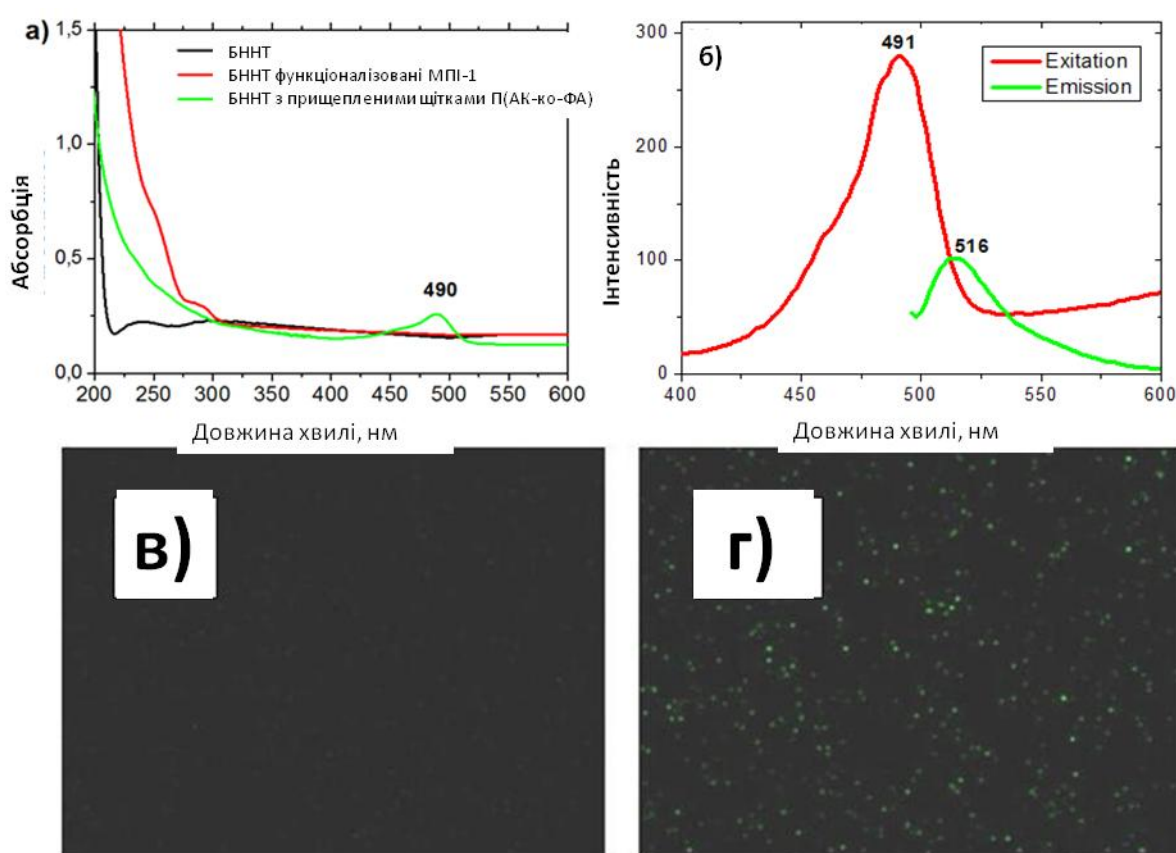


Рис. 8.15. UV-Vis спектр поглинання вихідними БННТ, БННТ, функціоналізованими МПІ-1 та БННТ з МПІ-1 та прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) (а); флуоресцентна спектроскопія БННТ з прищепленими щітками П(АК-ко-ФА): довжина хвилі збуджування - 490 нм, довжина хвилі випромінювання - 520 нм (б). Мікрофотографії конфокальної мікроскопії для вихідних БННТ (в) та БННТ, функціоналізованих П(АК-ко-ФА) (г).

На рис. 8.15б показані результати флуоресцентного сканування функціоналізованих БННТ, для яких спектри флуоресценції зберігають максимум збудження при  $\lambda = 490$  нм та максимум випромінювання при  $\lambda = 520$  нм, що відповідає літературним даним для флуоресцеїну [308-309]. На рис. 8.15в та г наведено мікрофотографії конфокальної мікроскопії для вихідних БННТ та БННТ, функціоналізованих П(АК-ко-ФА)). Тобто, на відміну від вихідних БННТ, де флуоресценція відсутня, БННТ, функціоналізовані П(АК-ко-ФА) демонструють інтенсивну зелену флуоресценцію при довжині хвилі випромінювання  $\lambda = 520$  нм зумовлену  $\pi$ - $\pi^*$  переходами у спряженій хромофорній системі флуоресцеїну акрилату [152].

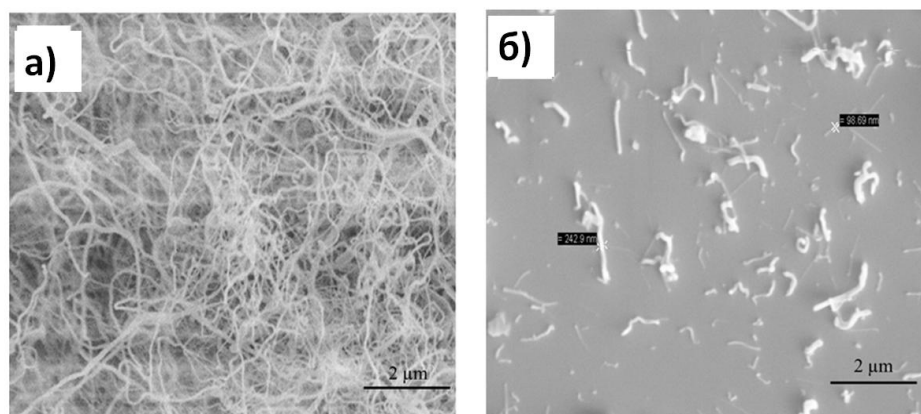


Рис.8.16. СЕМ зображення БННТ (а) та БННТ з прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) (б) після диспергування у воді та висушування краплі дисперсії на поверхні скла.

СЕМ зображення вихідних та БННТ з прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) після диспергування у воді та висиханні на поверхні скла представлені на рис.8.16. Як видно з рисунку модифіковані БННТ розміщені на поверхні поодинокі чи формують невеликі скупчені структури, у той же час вихідні БННТ формують один суцільний переплетений клубок [152].

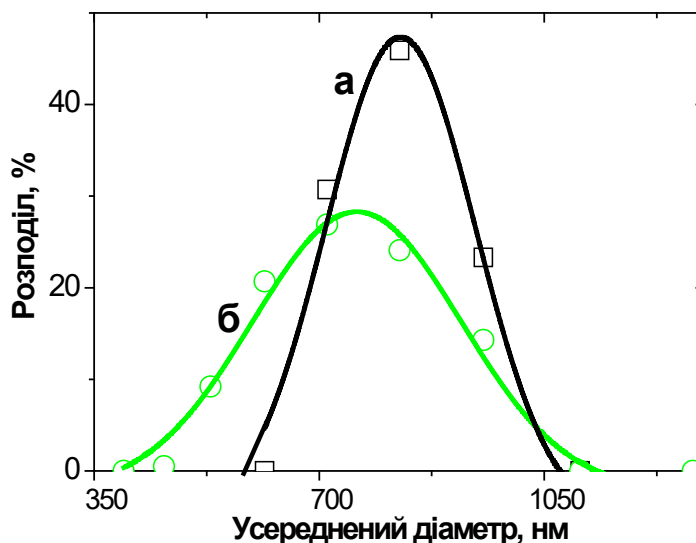


Рис.8.17. Розподілу розмірів БННТ (а) та БННТ з прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) (б) у воді. Концентрація нанотрубок 1 мг/мл [152].

Розподіл розмірів нанотрубок у воді, отриманий за допомогою методу DLS наведено на рис.8.17. БННТ, функціоналізовані П(АК-ко-ФА) демонструють менший середній діаметр, у порівнянні з вихідними БННТ, що свідчить про їх кращу диспергованість у воді [152].

Виходячи з отриманих результатів, можна зробити висновок, що БННТ, функціоналізовані прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) демонструють хорошу здатність диспергуватись у воді, а їх флуоресцентні властивості відкривають перспективи застосування у біомедичних цілях [152].

### **8.2.2. рН-індуковане переключення флуоресцентної інтенсивності прищеплених щіток П(АК-ко-ФА)**

Залежно від рН середовища флуоресцеїн може існувати як катіон, моноаніон, діаніон, нейтральна хіноїдна структура або нейтральна лактонна молекула [310]. Моноакрилат флуоресцеїну, аналогічно флуоресцеїну, також може перетворюватися у різні молекулярні форми (рис 8.18) залежно від рН середовища, які мають або не мають флуоресцентних властивостей [311-312]. Нейтральні та аніонні форми

фрагментів ФА здатні до флуоресценції, на відміну від його катіонної форми [311-312]. Флуоресцеїновий фрагмент у складі кополімерних прищеплених щіток П(АК-ко-ФА) здатний вмикати чи вимикати флуоресценцію БННТ в залежності від рН середовища.

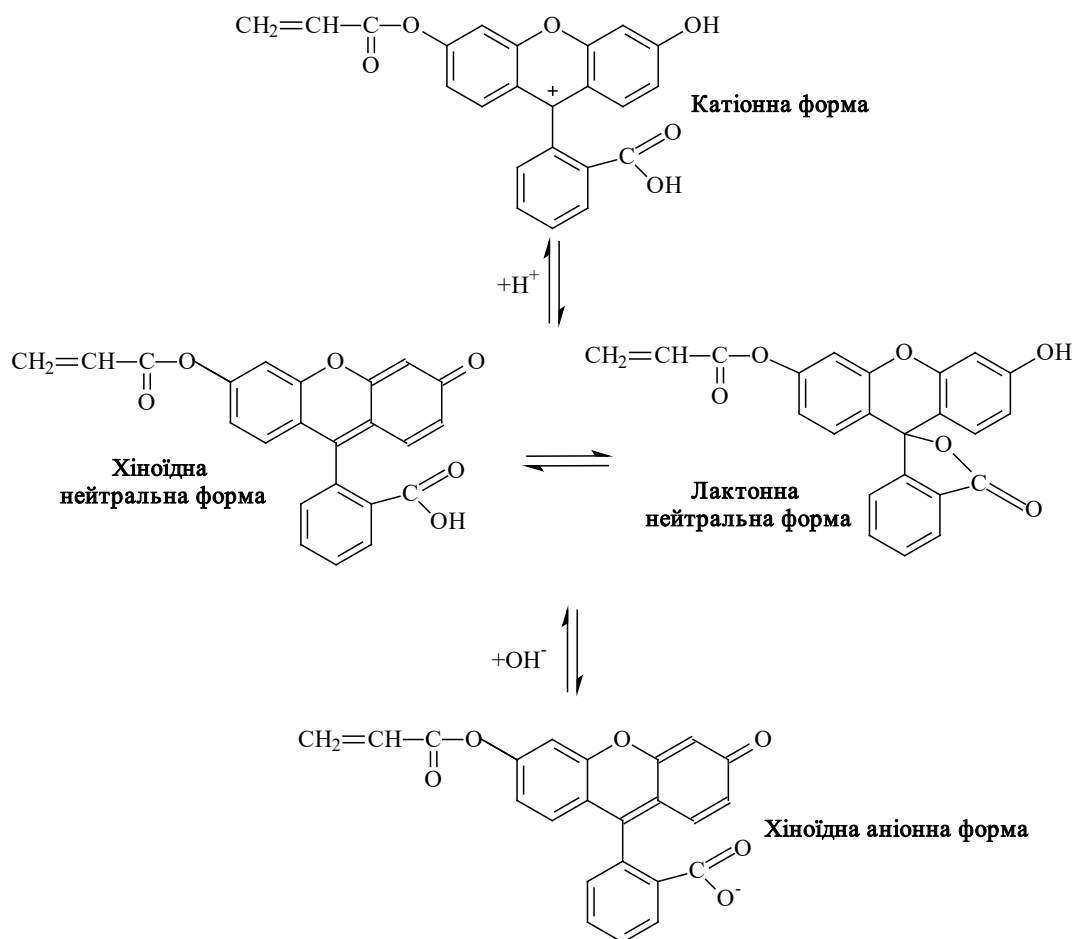


Рис.8.18. Форми флуоресцеїнакрилату при різному рН [310]

На рис. 8.19 наведено UV-Vis спектри водної суспензії БННТ, функціоналізованих прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) при різних значеннях рН. Всі зразки мали концентрацію модифікованих нанотрубок. З літератури [310] відомо, що в кислих середовищах максимальне поглинання флуоресцеїну відбувається при 437 нм, а в лужному розчині – близько 490 нм. Крім того інтенсивність поглинання у лужному середовищі є суттєво вищою, ніж у кислому. З рис.8.19 видно, що найвища інтенсивність поглинання спостерігається при 490 нм за умов рН=10 (рис.8.19, зелена лінія), слідуюча трохи менша – за рН = 7-8 (рис.8.19, сині та червоні лінії).

Натомість, при  $\text{pH}=6$  (рис.8.19, жовта лінія) видно сильно зміщений малоінтенсивний пік поглинання. У той же час при  $\text{pH}=4$  (рис.8.19, оливкова лінія) поглинання дуже слабке або практично відсутнє. І лише при  $\text{pH}=2$  (рис.8.19, коричнева лінія) відбувається максимальне поглинання флуоресцеїну при 437 нм, що добре узгоджується з літературними даними [310].

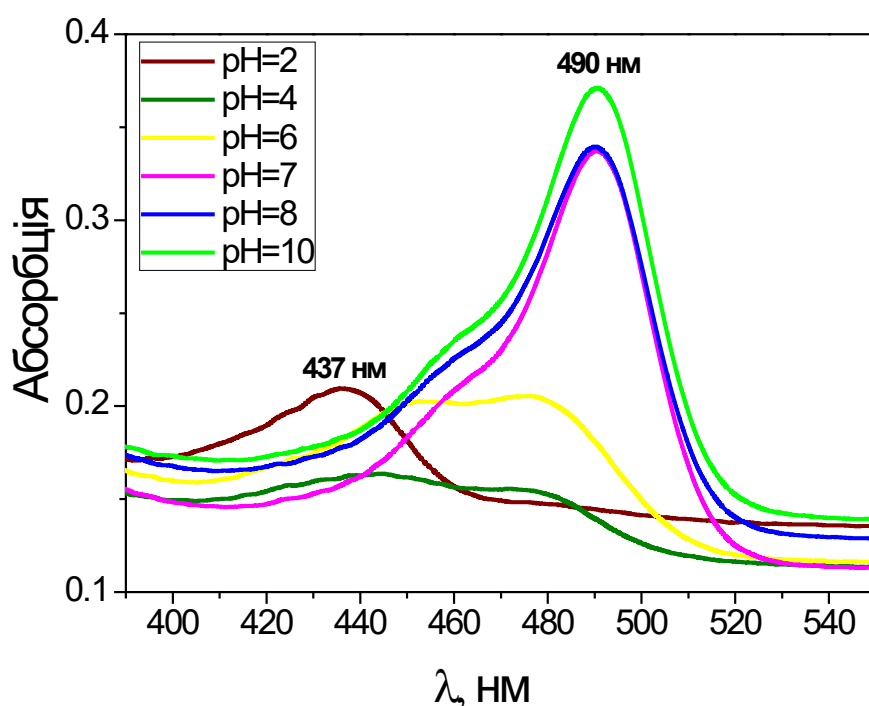


Рис.8.19. UV-Vis спектри водної суспензії БННТ, функціоналізованих прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) при різних значеннях рН. Концентрація нанотрубок 1 мг/мл.

Типові спектри флуоресценції БННТ, функціоналізованих П(АК-ко-ФА) при різних значеннях рН наведені на рис.8.20. Дослідження проводили при значеннях рН від 2 до 10. Рис.8.21 показує інтенсивність флуоресценції для БННТ функціоналізованих прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) при 520 нм. У кислому середовищі ( $\text{pH}=2-6$ ) молекули флуоресцеїну існують у нейтральній формі, при цьому смуги випромінювання БННТ, функціоналізованих П(АК-ко-ФА) відсутні або мають низьку інтенсивність (рис.8.20 та рис.8.21).

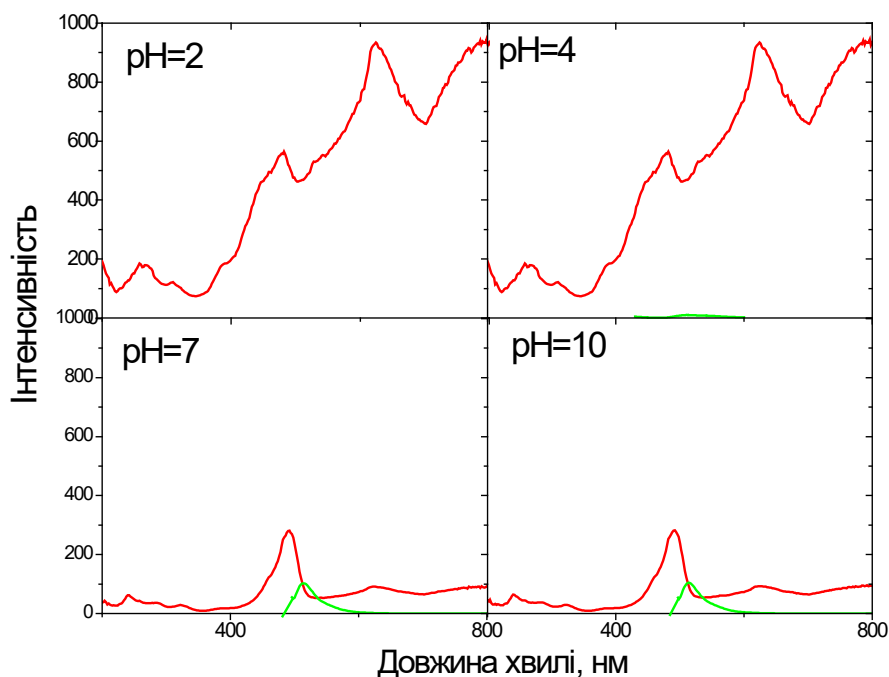


Рис.8.20. Флуоресцентне сканування (типові спектри збудження та випромінювання) БННТ, функціоналізованих прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) при різному рН. Інтенси́вність флуоресценції вимірювали в деіонізованій воді і регулюванні рН додаванням НСІ або NaOH. Концентрація нанотрубок 1 мг/мл.

У нейтральних або лужних середовищах (рН=7-10) БННТ, функціоналізовані прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) є високоемісійними, що відповідає аніонній формі молекули флуоресцеїнакрилату. Карбоксильна група флуоресцеїну за цих умов іонізована і він існує у вигляді аніону, хромофорна кон'югована система якого характеризується підвищеною електронною густиною, що призводить до зростання квантового вихід флуоресценції [310]. Слід відзначити, що при підвищенні рН від 7 до 10 не спостерігається підвищення інтенсивності поглинання БННТ, функціоналізованими прищепленими щітками П(АК-ко-ФА). Це означає, що максимальна концентрація аніонної форми флуоресцеїнакрилату досягається при значенні рН близьким до 7.



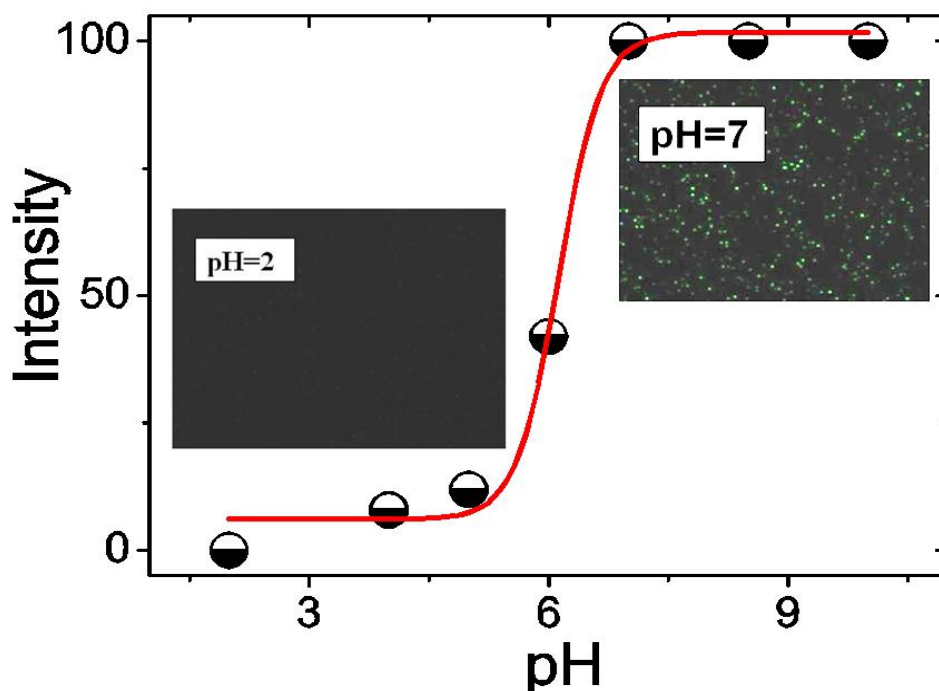


Рис.8.21. Інтенсивність флуоресценції БННТ, функціоналізованих прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) диспергованих у водному розчині при різних значеннях рН.

Концентрація нанотрубок 1 мг/мл. Зображення демонструють інтенсивність флуоресценції зразків в сухому стані, отриманих з водного розчину при різному рН.

Довжина хвилі збудження - 490 нм, довжина хвилі випромінювання - 520 нм.

Можна припустити, що конформаційні зміни прищеплених щіток під дією рН у цій системі незначно впливатимуть на флуоресцентні властивості. Вирішальну роль у рН-контрольованому перемиканні флуоресценції відіграє перетворення флуоресцеїнових фрагментів з катіонної форми в нейтральну та особливо аніонну форму.

### 8.2.3. Клітинна візуалізація з використанням БННТ, функціоналізованих прищепленими щітками П(АК-ко-ФА)

Флуоресцентна мікроскопія живих клітин стала невід'ємною частиною сучасної клітинної біології. Найчастіше клітинна візуалізація забезпечується за

допомогою флуоресцентних міток, включаючи флуоресцентні барвники, наночастинки, нанокompозити або білки [313]. Цей об'єкт повинен відповідати деяким критеріям, таким як біосумісність, молекулярне розпізнавання, хімічна стабільність, та можливість поглинатись клітинами тощо [313].

Відомо, що рН та температура всіх живих клітин змінюються під час клітинних процесів, таких як ферментативні реакції, експресія генів та метаболізм [314-315]. Тому аномальні значення внутрішньоклітинного рН пов'язані з невідповідними функціями клітин та погіршенням їх стану і спостерігаються при таких поширених захворюваннях, як рак [316] та хвороба Альцгеймера [317]. Моніторинг внутрішньоклітинного рН може надати важливу інформацію для вивчення фізіологічних та патологічних процесів всередині живих клітин.

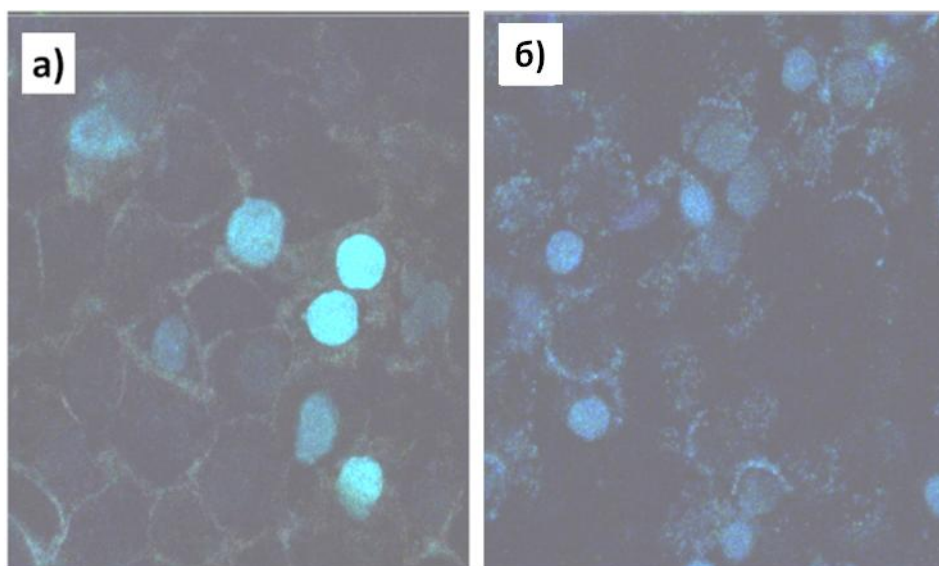


Рис.8.22. Флуоресцентні зображення клітин після поглинання БННТ, функціоналізованих прищепленим щітками П(АК-ко-ФА), записані для клітинних ліній нормального епітелію простати людини (PNT1A) (а) та раку передміхурової залози людини (DU145) (б)

На рис.8.22 наведено флуоресцентні зображення клітин після поглинання БННТ, функціоналізованих прищепленим щітками П(АК-ко-ФА), записані для клітинних ліній нормального епітелію простати людини (PNT1A) (а) та раку передміхурової залози людини (DU145) (б). Довжина хвилі збудження 490 нм та

довжина хвилі випромінювання 520 нм. Автофлуоресценція здорових та ракових клітин була відсутня при даній довжині хвилі. Видно, що ракові клітини DU145 поглинули вищі концентрації БННТ, функціоналізованих прищепленими щітками П(АК-ко-ФА). Цікаво, що клітини PNT1A показують флуоресценцію переважно у ядрах, у той же час для клітин лінії DU145 флуоресценція виявлена як у ядрах так і у цитозолі. Причиною цього явища, ймовірно, є проникнення більшої кількості нанотрубок у ракові клітини, ніж здорові, а також різниця у метаболізмі між цими клітинними лініями. Це дослідження чітко показало, що поглинання БННТ, функціоналізованих прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) різними клітинними лініями суттєво відрізняється і вони можуть бути використані як наноносії для контрольованого лікування клітин.

Флуоресцентні водо-дисперсні наноматеріали на основі БННТ та полімерних щіток були успішно синтезовані в двохстадійному процесі. Вони добре диспергуються у воді та демонструють інтенсивну флуоресценцію при 520 нм. Функціоналізація БННТ була показана за допомогою термогравіметричного аналізу, інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є, динамічного розсіювання світла, ультрафіолетової та видимої спектрофотометрії, лазерної скануючої конфокальної мікроскопії та скануючої електронної мікроскопії. Отримані наноматеріали здатні змінювати інтенсивність флуоресценції у залежності від рН середовища. В нейтральному або лужному середовищі (рН 7-10) БННТ, функціоналізовані прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) є високоемісійними, що відповідає аніонній формі молекули флуоресцеїну акрилату, хромофорна кон'югована система якого характеризується підвищеною електронною густиною, що призводить до зростання квантового вихіду флуоресценції. На завершення БННТ функціоналізовані прищепленими щітками П(АК-ко-ФА) були протестовані як флуоресцентні мітки для клітинної візуалізації. Функціоналізовані нанотрубки легко поглиналися клітинами і показали хороші флуоресцентні властивості, що дозволяє використовувати їх для візуалізації клітин та для створення наноносіїв лікарських препаратів.



БННТ мають високі механічні властивостями та є слаботоксичними, проте супергідрофобними і диспергуються у воді та більшості органічних розчинників. Їх диспергованість у воді досягається за допомогою функціоналізації БННТ. У роботі вперше запропоновано метод направленої модифікації поверхні БННТ прищепленими щітками водорозчинних чутливих полімерів, що дозволяє диспергувати БННТ у воді та органічних розчинниках. Модифікація БННТ за допомогою прищеплених полімерних щіток здійснювалася у двохстадійному процесі, де спочатку до аміногруп у дефектних ділянках БННТ ковалентно прищеплювали МПП-1 за допомогою реакції взаємодії з його хлорангідридними групами, а потім задіювали прищеплену полімеризацію «від поверхні» БННТ функціоналізованих МПП-1.

Запропонований метод поверхневої модифікації боронітридних нанотрубок прищепленими чутливими щітками надає їм здатність до вододиспергування, біосумісних та флуоресцентних властивостей тощо. Показано, що боронітридні нанотрубки модифіковані прищепленими полімерними щітками здатні проникати у клітини, а тому мають перспективи у застосуванні, як носії лікарських препаратів контрольованого звільнення та наносенсорні системи.

## ВИСНОВКИ

1. У результаті проведених досліджень розвинуто новий напрям у хімії високомолекулярних сполук – формування за допомогою мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації наношарів чутливих прищеплених полімерних щіток на мінеральних поверхнях, властивості яких частково визначаються функціональними групами мультифункціональних ініціаторів, а частково природою прищеплених макромолекул. Чутливі прищеплені наношари здатні в контрольований спосіб за допомогою температури та рН взаємодіяти з біологічними об'єктами та рідкими кристалами та активно на них впливати.
2. Молекули мультифункціональних ініціаторів містять реакційноздатні групи, які здатні ініціювати прищеплену полімеризацію (пероксидні), та інші функціональні групи, зокрема, хлорангідридні, що забезпечують локалізацію на мінеральній поверхні реагентів з карбоксильними групами та надають рН-чутливі властивості прищепленим полімерним щіткам. Певну орієнтацію рідких кристалів на твердій поверхні скла забезпечують холестерильні групи. Синтезовані полімерні щітки мають температуро- та рН-чутливі властивості.
3. Застосування мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації як модифікаторів поверхні надає можливість активувати вихідну поверхню (наприклад, пероксидувати або ввести інші функціональні групи) та за допомогою реакцій радикальної полімеризації сформувати прищеплені полімерні наношари певної структури (висота наношару, щільність прищеплення та ін.), певної хімічної природи, з контрольованою гідрофобністю (або гідрофільністю) *тощо*. При цьому природа мультифункціонального ініціатора прищепленої полімеризації визначає фізико-хімічні властивості прищеплених наношарів у залежності від їхньої структури (товщина та щільність прищеплення макромолекул).
4. Вперше з використанням нових мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації одержано прищеплені чутливі полімерні щітки на основі *N*-ізопропілакриламід (НКТР=27-31°C, блокується за рН≤5), метилового етеру діетиленглікольмонометакрилату (НКТР=26-30°C, блокується за рН≤5, для зразків з

30 год полімеризації), етилового етеру триетиленглікольмонометакрилату (НКТР=18-21°C), 4-вінілпіридину (НКТР=10-14°C, блокується за  $\text{pH} \leq 5$ ), пентаеритрилмонометакрилату (НКТР=14°C), бутилметакрилату ( $T_g=20-25^\circ\text{C}$ ), бутилакрилату ( $T_g=-55^\circ\text{C}$ ) і холестерилметакрилату (температура  $\beta$ -релаксації  $\approx 25^\circ\text{C}$ ,  $T_g=50^\circ\text{C}$ ) та досліджено їхні властивості з застосуванням АСМ, ToF-SIMS, XPS, еліпсометрії та інших методів. Одержані наночастиці прищеплених полімерних щіток мають чутливість до дії зовнішніх чинників (температура та  $\text{pH}$ ).

5. Наночастиці статистичних щіток кополімерів полі(4-вініл піридин-ко-етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату) при певному співвідношенні фрагментів мають дві НКТР (НКТР<sub>1</sub> =9-11°C та НКТР<sub>2</sub> =23-24 °C). При цьому за дії  $\text{pH}=3$ , друга НКТР зникає, для інших значень  $\text{pH}$  існують дві НКТР.

6. Одержані прищеплені полімерні наночастиці перспективні для вирощування клітин та контрольованої адсорбції білків. Вперше розроблено системи, що дозволяють контролювати адсорбцію білків за допомогою температури та  $\text{pH}$  (прищеплені щітки полі(*N*-ізопропілакриламід)) та тільки  $\text{pH}$  (прищеплені щітки полі(метилового етеру диетиленглікольмонометакрилату)).

7. Вперше розроблено новий спосіб формування наночастинок срібла у полімерній матриці наночастинок прищеплених чутливих щіток. Зміна хімічної структури прищеплених полімерних щіток дозволяє регулювати отримання Ag-НЧ різних форм та розмірів. Показано вирішальний вплив температури на оптичні та біологічні ефекти Ag-НЧ, вбудованих у наночастиці температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток.

8. Завдяки температуро-чутливим властивостям полімерних щіток з вбудованими Ag-НЧ вперше одержано «розумні» антибактеріальні покриття та системи з контрольованою за допомогою температури антибактеріальною активністю.

9. Вперше запропоновано застосування наночастинок прищеплених щіток полібутилметакрилату з  $T_g=20-25^\circ\text{C}$  для контрольованої за допомогою температури орієнтації макромолекул адсорбованих білків (бичачий сировотковий альбумін та

імуноглобулін G) на поверхні наношару. Показано механізм орієнтації білкових макромолекул на поверхні наношарів прищеплених щіток полібутилметакрилату при їхніх температуро-індукованих переходах.

10. Вперше за допомогою різних методів поляризаційної оптичної мікроскопії показано контрольовану за допомогою температури орієнтацію нематичних рідких кристалів на поверхні наношарів прищеплених щіток полі(холестерилметакрилату). При цьому за температур нижче кімнатної кут нахилу молекул нематика відповідає квазі-гомеотропному упорядкуванню, з підвищенням температури кут його нахилу поступово зростає через вплив змін у структурі прищепленого наношару.

11. Запропоновано метод поверхневої модифікації боронітридних нанотрубок температуро-чутливими (полі(*N*-ізопропілакриламід)) або рН-чутливими (полі(акрилова кислота-*ко*-флуоресцеїнакрилат)) прищепленими щітками з метою надання їм здатності до вододиспергування, біосумісних та флуоресцентних властивостей *тощо*. Показано, що боронітридні нанотрубки, модифіковані прищепленими полімерними щітками, здатні проникати у клітини, а тому мають перспективи застосування як носії лікарських препаратів контрольованого звільнення та наносенсорні системи.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. *Ren T., Mao Z., Guo J., Gao C.* Directional migration of vascular smooth muscle cells guided by a molecule weight gradient of poly (2-hydroxyethyl methacrylate) brushes // *Langmuir*. - 2000. - Vol.29. - P.6386-6395.
2. *Hoffman A. S.* Surface Modification of Polymers: Physical, Chemical, Mechanical i Biological Methods // *Macromolecular Symposia*. - 1996. - Vol.101. - P.443-454.
3. *Husemsnn M., Morrison M., Benoit D., Frommer J., Mate M., Hendrick J., Hawker C.* Manipulation of Surface Properties by Patterning of Covalently Bound Polymer Brushes // *J. Am. Chem.Soc.* - 2000. - Vol.122. - P.1844-1845.
4. *Braun H., Meyer E.* Microprinting - a new approach to study competitive structure formation on surface // *Macromol. Rapid Commun.* - 1999. - Vol.20. - P.325-327.
5. *Roters A., Schimmel M., Ruhe J., Johannsmann D.* Collapse of a Polymer Brush in a Poor Solvent Probed by Noise Analysis of a Scanning Force Microscope Cantilever // *Langmuir*. - 1998. - Vol.14. - P.3999-4004.
6. *Kieviet B., Schön P., Vancso G.* Stimulus-responsive polymers i other functional polymer surfaces as components in glass microfluidic channels. // *Lab. Chip*. - 2014. - Vol.14. - P.4159-4170.
7. *Peng S., Bhushan B.* Smart polymer brushes i their emerging applications // *RSC Advances*. - 2012. - Vol. 2. - P.8557-8578.
8. *Budkowski A., Klein J., Fetters L.* Brush formation by symmetric i by highly asymmetric diblock copolymers at homopolymer interfaces // *Macromolecules*. - 1995. - Vol.28. - P.8571-8578.
9. *Zhao B., Brittain W.* Polymer brushes: surface-immobilized // *Prog. Polym. Sci.* - 2000. - Vol.25. - P.677-710.
10. *Stuart M., Huck W., Genzer J., Muller M., Ober C., Stamm M., Sukhorukov G., Szleifer I., Tsukruk V., Urban M., Winnik F., Zauscher S., Luzinov I., Minko S.* Emerging applications of stimuli-responsive polymer materials // *Nat. Mater.* - 2010. - Vol.9. - P.101-113.



11. *Zhou F., Huck W.* Surface grafted polymer brushes as ideal building blocks for “smart” surfaces // *Phys. Chem.* - 2006. - Vol.8 - P.3815-3823.
12. Воронов С. Пероксидовані макромолекули на межі розділу фаз: монографія / С.А. Воронов, С.М. Варваренко. – Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2011. -312 с.
13. *Mackor E.* The colloid-chemical stability of dispersions in hydrocarbons // *J. Colloid Sci.* - 1951. - Vol.6. - P.492.
14. *Clayfield E., Lumb E.* Simulation of riom copolymer adsorption. II. Loop formation i segment density distribution // *J. Colloid Sci.* -1974. - V.47. - P.16.
15. *Alexier S.* Adsorbtion of chain molecules with a polar head A scaling description // *J. Phys.* - 1977. - Vol.38. - P.983-987.
16. *De Gennes P.* Conformation of polymers attracted to an interface // *Macromolecules.* - 1980. - Vol.13. - P.1069-1075.
17. *Zoppe J., Ataman N., Mocny P., Wang J., Moraes J., Klok H.* Surface-Initiated Controlled Radical Polymerization: State-of-the-Art, Opportunities, i Challenges in Surface i Interface Engineering with Polymer Brushes // *Chem. Rev.* -2017. - Vol.117. - P.1105-1318.
18. *Barbey R., Lavanant L., Paripovic D., Schuwer N., Sugnaux C., Tugulu S., Klok H.* Polymer Brushes via Surface-Initiated Controlled Radical Polymerization: Synthesis, Characterization, Properties, i Applications // *Chem. Rev.* - 2009. - Vol.109. - P.5437-5527.
19. *Budkowski A.* Interfacial Phenomena in Thin Polymer Films: Phase Coexistence i Segregation // *Advances in Polymer Science.* - 1999. - Vol.148.
20. *Bhat R., Tomlinson M., Wu T., Efimenko K., Genzer J.* Surface-Grafted Polymer Gradients: Formation, Characterization, i Applications // *Adv. Polym. Sci.* - 2006. - Vol.198 - P.51-124.
21. *Wu T., Efimenko K., Vlček P., Šubr V., Genzer J.* Formation i Properties of Anchored Polymers with a Gradual Variation of Grafting Densities on Flat Substrates // *Macromolecules.* - 2003. - Vol.36. - P.2448-2453.

22. Борисов О. Теория конформаций заряженных макромолекул в растворах и вблизи поверхностей раздела фаз: автореферат / О. Борисов. – Санкт-Петербург: Физический факультет Санкт-Петербургского государственного университета, 2014. - 31 с.
23. Гросберг А. Статистическая физика макромолекул: монография / Гросберг А.Ю., Хохлов А.Р. - Москва: Наука, 1989. - 342 с.
24. Кулик Е.А. Различие между энергиями взаимодействия протеин-поверхность и структурные изменения адсорбированных молекул / Е.А. Кулик, В.И. Севастьянов // Журнал физической химии. - 1991. - Т.65, № 8: С. 1181-1184.
25. *Edmondson S., Osborne V., Huck W.* Polymer brushes via surface-initiated polymerizations // *Chem. Soc. Rev.* - 2004. - Vol.33. -P.14-22.
26. *Brittain W., Minko S.* A structural definition of polymer brushes // *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry.* - 2007. - Vol.45. - P.3505-3512.
27. *Tsujii Y., Ohno K., Yamamoto S., Goto A., Fukuda T.* Structure and properties of high-density polymer brushes prepared by surface-initiated living radical polymerization // *Adv. Polym. Sci.* - 2006. - Vol.197. - P.1-45.
28. *Shaffer M., Koziol K.* Polystyrene grafted multi-walled carbon nanotubes. *Chemical Communications.* - 2002. - Vol.18. - P.2074-2075.
29. *Ejaz M., Rai S. C., Wang K., Zhang K., Zhou W., Grayson S.* Surface-initiated atom transfer radical polymerization of glycidyl methacrylate i styrene from boron nitride nanotubes // *Journal of Materials Chemistry C.* - 2014. - Vol.2 - P.4073-4079.
30. *Ohno K, Morinaga T, Koh K, Tsujii Y, Fukuda T.* Synthesis of monodisperse silica particles coated with well-defined, high-density polymer brushes by surface-initiated atom transfer radical polymerization // *Macromolecules* - 2005. - Vol.38. - P.2137-2142.
31. *Moraes J, Ohno K, Gody G, Maschmeyer T, Perrier S.* The synthesis of well-defined poly(vinylbenzyl chloride)-grafted nanoparticles via RAFT polymerization // *Beilstein J. Org. Chem.* - 2013. - Vol.9. - P.1226-1234.

32. *Heeb R., Bielecki R., Lee S., Spencer N.* Room-Temperature, Aqueous-Phase Fabrication of Poly(methacrylic acid) Brushes by UV-LED-Induced, Controlled Radical Polymerization with High Selectivity for Surface-Bound Species // *Macromolecules* - 2009. - Vol.42. - P.9124-9132.
33. *Ladmiral V., Morinaga T., Ohno K., Fukuda T., Tsujii Y.* Synthesis of monodisperse zinc sulfide particles grafted with concentrated polystyrene brush by surface-initiated nitroxide-mediated polymerization // *Eur. Polym. J.* - 2009. - Vol.45. - P.2788-2796.
34. *Kostruba A., Ohar M., Kulyk B., Zolobko O., Stetsyshyn Y.* Surface modification by grafted sensitive polymer brushes: An ellipsometric study of their properties // *Appl. Surf. Sci.* - 2013. - Vol.276. - P.340-346.
35. *Patten T., Matyjaszewski K.* Copper (I)-catalyzed atom transfer radical polymerization // *Acc. Chem. Res.* - 1999. - Vol.32. - P.895–903.
36. *Azzaroni O., Szleifer I.* (Eds.). *Polymer and Biopolymer Brushes: For Materials Science and Biotechnology.* John Wiley & Sons. - 2018.
37. *Huang X., Wirth M.* Surface-initiated radical polymerization on porous silica // *J. Anal. Chem.* - 1997. - Vol.69. - P.4577–4580.
38. *Ejaz M., Yamamoto S., Ohno K., Tsujii Y., Fukuda T.* Controlled graft polymerization of methyl methacrylate on silicon substrate by the combined use of the langmuir blodgett and atom transfer radical polymerization techniques // *Macromolecules.* - 1998. - Vol.31. - P.5934–5936.
39. *Matyjaszewski K., Miller P., Shukla N., Immaraporn B., Gelman A., Luokala B., Siclovan T., Kickelbick G., Vallant T., Hoffmann H.* Polymers at interfaces: Using atom transfer radical polymerization in the controlled growth of homopolymers and block copolymers from silicon surfaces in the absence of untethered sacrificial initiator // *Macromolecules.* - 1999. - Vol.32. - P.8716–8724.
40. *Rowe-Konopacki M., Boyes S.* Synthesis of surface initiated diblock copolymer brushes from flat silicon substrates utilizing the RAFT polymerization technique // *Macromolecules.* - 2007. - Vol.40. - P.879–888.

41. Yuan K., Li Z., Ling-Ling L., Shi X.-N. Synthesis and characterization of well-defined polymer brushes grafted from silicon surface via surface reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization // *Mater. Lett.* - 2007. - Vol.61. - P.2033–2036.
42. Ranjan R., Brittain W. Tandem RAFT polymerization and click chemistry: an efficient approach to surface modification // *Macromol. Rapid Commun.* - 2007. - Vol.28. - P.2084–2089.
43. Lu C.-H., Zhou W.-H., Han B., Yang H.-H., Chen X., Wang X.-R. Surface-imprinted core-shell nanoparticles for sorbent assays // *Anal. Chem.* - 2007. - Vol.79. - P.5457–5461.
44. Tsujii, Y.; Ejaz, M.; Sato, K.; Goto, A.; Fukuda, T. *Macromolecules* 2001, 34 (26), 8872–8878.;
45. Raula J., Shan J., Nuopponen M., Niskanen A., Jiang H., Kauppinen E., Tenhu H. Synthesis of gold nanoparticles grafted with a thermoresponsive polymer by surface-induced reversible-addition-fragmentation chain-transfer polymerization // *Langmuir.* - 2003. - Vol.19. - P.3499–3504.
46. Xu G., Wu W.-T., Wang Y., Pang W., Zhu Q., Wang P. Functionalized carbon nanotubes with polystyrene-block-poly (N-isopropylacrylamide) by in situ RAFT polymerization // *Nanotechnology.* - 2007. - Vol.18. - P.145606.
47. Zhao Y., Perrier S. Synthesis of well-defined homopolymer and diblock copolymer grafted onto silica particles by Z-supported RAFT polymerization // *Macromolecules.* - 2006. - Vol.39. - P.8603-8608.
48. Peng Q., Lai D., Kang E., Neoh K. Preparation of polymer-silicon (100) hybrids via interface-initiated reversible addition-fragmentation chain-transfer (RAFT) polymerization // *Macromolecules.* - 2006. - Vol.39. - P.5577-5582.
49. Takolpuckdee P., Mars C., Perrier S. Merrifield resin-supported chain transfer agents, precursors for RAFT polymerization // *Organic letters.* - 2005. - Vol.7. - P.3449-3452.

50. *Perrier S., Takolpuckdee P., Mars C.* Reversible addition - Fragmentation chain transfer polymerization mediated by a solid supported chain transfer agent // *Macromolecules.* - 2005. - Vol.38. - P.6770-6774.
51. *Matsuno R., Yamamoto K., Otsuka H., Takahara A.* Polystyrene-and poly (3-vinylpyridine)-grafted magnetite nanoparticles prepared through surface-initiated nitroxide-mediated radical polymerization // *Macromolecules.* - 2004. - Vol.37. - P.2203-2209.
52. *Kobayashi M., Matsuno R., Otsuka H., Takahara A.* Precise surface structure control of inorganic solid and metal oxide nanoparticles through surface-initiated radical polymerization // *Science and Technology of Advanced Materials.* - 2006. - Vol.7. - P.617-628.
53. *Andruzzi L., Senaratne W., Hexemer A., Sheets E., Ilic B., Kramer E., Ober C.* Oligo (ethylene glycol) containing polymer brushes as bioselective surfaces // *Langmuir.* - 2005. - Vol.21. - P.2495-2504.
54. *Husseman M., Malmström E., McNamara M., Mate M., Mecerreyes D., Benoit D., Hawker C.* Controlled synthesis of polymer brushes by “living” free radical polymerization techniques // *Macromolecules.* - 1999. - Vol.32. - P.1424-1431.
55. *Otsu T., Yoshida M., Tazaki T.* A model for living radical polymerization // *Die Makromolekulare Chemie Rapid Communications.* - 1982. - Vol.3. - P.133-140.
56. *Otsu T., Ogawa T., Yamamoto T.* Solid-phase block copolymer synthesis by the iniferter technique // *Macromolecules.* - 1986. - Vol.19. - P.2087-2089.
57. *Lee H., Nakayama Y., Matsuda T.* Spatio-resolved, macromolecular architectural surface: highly branched graft polymer via photochemically driven quasiliving polymerization technique // *Macromolecules.* - 1999. - Vol.32. - P.6989-6995.
58. *Kidoaki S., Nakayama Y., Matsuda T.* Measurement of the interaction forces between proteins and iniferter-based graft-polymerized surfaces with an atomic force microscope in aqueous media // *Langmuir.* - 2001. - Vol.17. - P.1080-1087.

59. *Matsuda T., Ohya S.* Photoiniferter-based thermoresponsive graft architecture with albumin covalently fixed at growing graft chain end // *Langmuir*. - 2005. - Vol.21. - P.9660-9665.
60. "Living" Free Radical Photopolymerization Initiated from Surface-Grafted Iniferter Monolayers;
61. *Ma H., Davis R., Bowman C.* A novel sequential photoinduced living graft polymerization // *Macromolecules*. - 2000. - Vol.33. - P.331-335.
62. *Amos R., Guire P.* Surface Modification of Polymers // *Trans. Soc. Biomater.* - 1991. - Vol.14. - P.175-193.
63. *Kızılel S., Sawardecker E., Teymour F., Pérez-Luna V.* Sequential formation of covalently bonded hydrogel multilayers through surface initiated photopolymerization // *Biomaterials*. - 2006. - Vol.27. - P.1209-1215.
64. *Kaholek M., Lee W., Feng J., LaMattina B., Dyer D., Zauscher S.* Weak polyelectrolyte brush arrays fabricated by combining electron-beam lithography with surface-initiated photopolymerization // *Chemistry of materials*. - 2006. - Vol.18. - P.3660-3664.
65. *Prucker O., Rühle J.* Polymer layers through self-assembled monolayers of initiators // *Langmuir*. - 1998. - Vol.14. - P.6893-6898.
66. *Prucker O., Rühle J.* Mechanism of radical chain polymerizations initiated by azo compounds covalently bound to the surface of spherical particles // *Macromolecules*. - 1998. - Vol.31. - P.602-613.
67. *Samaryk V., Voronov A., Tarnavchyk I., Varvarenko S., Nosova N., Budishevskaya O., Kohut A., Voronov S.* Formation of coatings with tailored properties on polyperoxide-modified polymeric surfaces // *Progress in Organic Coatings*. - 2012. - Vol.74. - P.687-696.
68. Самарик В. Я. Модифікація полімерних поверхонь з використанням поліпероксидів: автореферат / Я. В. Самарик – Львів: Національний університет «Львівська політехніка», 2009. - 40 с.

69. Дончак В. А. Синтез, властивості та застосування амфіфільних олігомерів на основі піромелітової кислоти: дисертація / А. В. Дончак – Львів: Національний університет «Львівська політехніка», 2018. - 364 с.
70. *Laradji A., McNitt C., Yadavalli N., Popik V., Minko S.* Robust, solvent-free, catalyst-free click chemistry for the generation of highly stable densely grafted poly (ethylene glycol) polymer brushes by the grafting to method and their properties // *Macromolecules*. - 2016. - Vol.49. - P.7625-7631.
71. *Kuroki H., Tokarev I., Nykypanchuk D., Zhulina E., Minko S.* Stimuli-responsive materials with self-healing antifouling surface via 3D polymer grafting // *Adv. Functional Mater.* - 2013. - Vol.23. - P.4593-4600.
72. *Minko S., Müller M., Usov D., Scholl A., Froeck C., Stamm M.* Lateral versus perpendicular segregation in mixed polymer brushes // *Phys. Rev. Lett.* - 2002. - Vol.88. - P.035502.
73. *Roy D., Brooks W., Sumerlin B.* New directions in thermoresponsive polymers // *Chem. Soc. Rev.* - 2013. - Vol.42. - P.7214-7243.
74. *Aseyev V., Tenhu H., Winnik F.* Non-ionic thermoresponsive polymers in water. In: Müller AHE, Borisov O (eds) *Self Organized Nanostructures of Amphiphilic Block Copolymers II*, Springer Berlin Heidelberg, Germany, - 2010. - P.29-89.
75. *Awsiuk K., Stetsyshyn Y., Raczkowska J., Lishchynskiy O., Dąbczyński P., Kostruba A., Ohar H., Shymborska Y., Nastyshyn S., Budkowski A.* Temperature-Controlled Orientation of Proteins on Temperature-Responsive Grafted Polymer Brushes: Poly(butyl methacrylate) vs Poly(butyl acrylate): Morphology, Wetting, i Protein Adsorption // *Biomacromolecules*. - 2019. - Vol.20. - P.2185-2197.
76. *Stetsyshyn Y., Raczkowska J., Lishchynskiy O., Awsiuk K., Zemla J., Dąbczyński P., Kostruba A., Harhay K., Ohar H., Orzechowska B., Panchenko Y., Vankevych P., Budkowski A.* Glass transition in temperature-responsive poly(butyl methacrylate) grafted polymer brushes. Impact of thickness i temperature on wetting, morphology, i cell growth // *J. Mater. Chem. B*. - 2018. - Vol.6. - P.1613-1621.

77. *Stetsyshyn Y., Raczowska J., Budkowski A., Awsiuk K., Kostruba A., Nastyshyn S., Harhay K., Lychkovskyy E., Ohar H., Nastishin Y.* Cholesterol-based grafted polymer brushes as alignment coating with temperature-tuned anchoring for nematic liquid crystals // *Langmuir*. - 2016. - Vol.32. - P.11029-11038.
78. *Raczowska J., Stetsyshyn Y., Awsiuk K., Lekka M., Marzec M., Harhay K., Ohar H., Ostapiv D., Sharan M., Yaremchuk I., Bodnar Y., Budkowski A.* Temperature-responsive grafted polymer brushes obtained from renewable sources with potential application as substrates for tissue engineering // *Appl. Surf. Sci.* - 2017. - Vol.407. - P.546-554.
79. *Heskins M., Guillet J.* Solution Properties of Poly(N-isopropylacrylamide) // *J. Macromol. Sci. Pure*. - 1968. - Vol.2. - P.1441-1455.
80. *Victor R., Woisel P., Hoogenboom R.* Supramolecular control over thermoresponsive polymers // *Materials Today*. - 2016. - Vol.19. - P.44-55.
81. *Nakayama M., Okano T., Winnik F.* Poly(N isopropylacrylamide)-based Smart Surfaces for Cell Sheet Tissue Engineering // *Material Matters*. - 2010. - Vol.5. - P.56-58.
82. *Kano K., Yamato M., Okano T.* Ectopic transplantation of hepatocyte sheets fabricated with temperature-responsive culture dishes // *Hepato Res.* - 2008. - Vol.38. - P.1140-1147.
83. *Yamada N., Okano T., Sakai H., Karikusa F., Sawasaki Y., Sakurai Y.* Thermo-responsive polymeric surfaces; control of attachment i detachment of cultured cells // *Makromol. Chem. Rapid. Commun.* - 1990. - Vol.11. - P.571-576.
84. *Nagase K., Yamato M., Kanazawa H., Okano T.* Poly(N-isopropylacrylamide)-based thermoresponsive surfaces provide new types of biomedical applications // *Biomaterials*. - 2018. - Vol.153. - P.27-48.
85. *Takei Y., Aoki T., Sanui K., Ogata N., Sakurai Y., Okano T.* Temperature-modulated platelet i lymphocyte interactions with poly(N-isopropylacrylamide)-grafted surfaces // *Biomaterials*. - 1995. - Vol.16. - P.667-673.
86. *LeMieux M., Peleshanko S., Ierson K., Tsukruk V.* Adaptive Nanomechanical Response of Stratified Polymer Brush Structures // *Langmuir*. - 2007. - Vol.23. - P.265-273.



87. *Matsuda T., Ohya S.* Photoiniferter-Based Thermoresponsive Graft Architecture with Albumin Covalently Fixed at Growing Graft Chain End // *Langmuir*. - 2005. - Vol.21. - P.9660-9665.
88. *Choi B., Choi S., Leckbi D.* Poly(N-isopropyl acrylamide) Brush Topography: Dependence on Grafting Conditions i Temperature // *Langmuir*. - 2013. - Vol.29. - P.5841-5850.
89. *Shiddiky M., Kithva P., Kozak D., Trau M.* An electrochemical immunosensor to minimize the nonspecific adsorption i to improve sensitivity of protein assays in human serum // *Biosens Bioelectron*. - 2012. - Vol.38. - P.132-137.
90. *Cavallaro G., Lazzara G., Lisuzzo L., Milioto S., Parisi F.* Selective adsorption of oppositely charged PNIPAAm on halloysite surfaces: a route to thermo-responsive nanocarriers // *Nanotechnology*. - 2018. - Vol.29. - P.325702.
91. *Kalay S., Stetsyshyn Y., Lobaz V., Harhay K., Ohar H., Çulha M.* Water-dispersed thermo-responsive boron nitride nanotubes: synthesis i properties // *Nanotechnology*. - 2016. - Vol.27. - P.035703.
92. *Lisuzzo L., Cavallaro G., Lazzara G., Milioto S., Parisi F., Stetsyshyn Y.* Stability of halloysite, imogolite, i boron nitride nanotubes in solvent media // *Appl. Sci*. - 2018. - P.8. - Vol.1068-1077.
93. *Durkut S., Elçin Y.* Synthesis i characterization of thermosensitive poly(N-vinylcaprolactam)-g-collagen // *Artif. Cell Nanomed. B*. - 2017. - Vol.45. - P.1665-1674.
94. *Tsuda Y., Kikuchi A., Yamato M., Nakao A., Sakurai Y., Umezu M., Okano T.* The Use of Patterned Dual Thermoresponsive Surfaces for the Collective Recovery as Co-cultured Cell Sheets. *Biomaterials*. - 2005. - Vol.26. - P.1885-1893.
95. *Nagase K., Kobayashi J., Kikuchi A., Akiyama Y., Kanazawa H., Okano T.* Monolithic Silica Rods Grafted with Thermoresponsive Anionic Polymer Brushes for High-Speed Separation of Basic Biomolecules i Peptides // *Biomacromolecules*. - 2014. - Vol.15. - P.1204-1215.

96. *Sakamoto C., Okada Y., Kanazawa H., Ayano E., Nishimura T., Io M., Kikuchi A., Okano T.* Temperature- and pH Responsive Aminopropyl-Silica Ion-Exchange Columns Grafted with Copolymers of N-isopropylacrylamide // *J. Chromatogr. A.* - 2004. - Vol.1030. - P.247-253.
97. *Nagase K., Kobayashi J., Kikuchi A., Akiyama Y., Kanazawa H., Okano T.* Thermally-Modulated on/off-Adsorption Materials for Pharmaceutical Protein Purification // *Biomaterials.* - 2011. - Vol.32. - P.619-627.
98. *Jonas A., Glinel K., Oren R., Nysten B., Huck W.* Thermo-Responsive Polymer Brushes with Tunable Collapse Temperatures in the Physiological Range // *Macromolecules.* - 2007. - Vol.40. - P.4403-4405.
99. *Ebara M., Yamato M., Hirose M., Aoyagi T., Kikuchi A., Sakai K., Okano T.* Copolymerization of 2-Carboxyisopropylacrylamide with N-Isopropylacrylamide Accelerates Cell Detachment from Grafted Surfaces by Reducing Temperature // *Biomacromolecules.* - 2003. - Vol.4 -P.344-349.
100. *Hatakeyama H., Kikuchi A., Yamato M., Okano T.* Bio-Functionalized Thermoresponsive Interfaces Facilitating Cell Adhesion and Proliferation. *Biomaterials.* - 2006. - Vol.27. - P.5069-5078.
101. *Shi X., Chen G., Wang Y., Yuan L., Zhang Q., Haddleton D., Chen H.* Control the Wettability of Poly(N-isopropylacrylamide-co-1-adamantan-1-ylmethyl acrylate) Modified Surfaces: The More Aza, the Bigger Impact? // *Langmuir.* - 2013. - Vol.29. - P.14188-14195.
102. *Nagase K., Hatakeyama Y., Shimizu T., Matsuura K., Yamato M., Takeda N., Okano T.* Thermoresponsive Cationic Copolymer Brushes for Mesenchymal Stem Cell Separation // *Biomacromolecules.* - 2005. - Vol.16. - P.532-540.
103. *Stenzel M., Zhang L., Huck W.* Temperature-Responsive Glycopolymer Brushes Synthesized via RAFT Polymerization Using the Z-group Approach // *Macromol. Rapid. Commun.* - 2006. - Vol.27. - P.1121-1126.
104. *Chen G., Hoffman A.* Graft copolymers that exhibit temperature-induced phase transitions over a wide range of pH // *Nature.* - 1995. Vol.373. - P.49-52.

105. *Xia F., Feng L., Wang S., Sun T., Song W., Jiang W., Jiang L.* Dual-Responsive Surfaces That Switch between Superhydrophilicity i Superhydrophobicity // *Adv. Mater.* - 2006. - Vol.18 - P.432-436.
106. *Lutz J.* Polymerization of Oligo(Ethylene Glycol) (Meth)Acrylates: Toward New Generations of Smart Biocompatible Materials // *J. Polymer Sci. Polymer Chem.* - 2008. - P.46. 3459-3470.
107. *Duncan R.* The dawning era of polymer therapeutics // *Nat. Rev. Drug. Discov.* - 2003. - Vol.2. - P.347-360.
108. *Badi N., Lutz J.* PEG-based thermogels: Applicability in physiological media // *J. of Contr. Rel.* - 2009. - Vol.140. - P.224–229.
109. *Hu Z., Cai T., Chi C.* Thermoresponsive oligo(ethylene glycol)-methacrylate- based polymers i microgels // *Soft Matter.* - 2010. - Vol.6. - P.2115-2123.
110. *Wischerhoff E., Badi N., Laschewsky A., Lutz J.* Smart Polymer Surfaces: Concepts i Applications in Biosciences // *Adv. Polym. Sci.* - 2011. - Vol.240. - P.1–33.
111. *Pop-Georgievski O., Zimmermann R., Kotelnikov I., Proks V., Romeis D., Kučka J., Caspari A., Rypáček F., Werner C.* Impact of bioactive peptide motifs on molecular structure, charging i non-fouling properties of poly(ethylene oxide) brushes // *Langmuir.* - 2018. - Vol.34. - P.6010-6020.
112. *Dworak A., Utrata-Wesolek A., Szweda D.* Poly[tri(ethylene glycol) ethyl ether methacrylate]-Coated Surfaces for Controlled Fibroblasts Culturing // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* - 2013. - Vol.5. - P.2197-2207.
113. *Jiang S., Müller M., Schönherr H.* Toward Label-Free Selective Cell Separation of Different Eukaryotic Cell Lines Using Thermoresponsive Homopolymer Layers // *ACS Appl. Bio. Mater.* - 2019. - Vol.2. - P.2557-2566.
114. *Uhlig K., Wischerhoff E., Lutz J., Laschewsky A., Jaeger M., Lankenau A., Duschl C.* Monitoring cell detachment on PEG-based thermoresponsive surfaces using TIRF microscopy // *Soft Matter.* - 2010. - Vol.6. - P.4262-4267.

115. *Synytska A., Svetushkina E., Puretskiy N., Stoychev, G., Berger, S., Ionov, L., Bellmann C., Eichhorn K., Stamm, M.* Biocompatible polymeric materials with switchable adhesion properties // *Soft Matter*. - 2010. - Vol.6. - P.5907-5914.
116. *Laloyaux X., Fautré E., Blin T., Purohit V., Leprince J., Jouenne T., Jonas A., Glinel K.* Temperature-Responsive Polymer Brushes Switching from Bactericidal to Cell-Repellent // *Adv. Mater.* - 2010. - Vol.22. - P.5024-5028.
117. *Laloyaux X., Mathy B., Nysten B., Jonas A.* Bidimensional response maps of adaptive thermo-*i* pH-responsive polymer brushes // *Macromolecules*. - 2010. - Vol.43. - P.7744-7751.
118. *Medel S., Garcia J., Garrido L., Quijada-Garrido I., Paris R.* Thermo- *i* pH-responsive gradient *i* block copolymers based on 2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate synthesized via atom transfer radical polymerization *i* the formation of thermoresponsive surfaces // *J. Pol. Sci. A*. - 2011. Vol.49. - P.690-700.
119. *Gao J., Zhai G., Song Y., Jiang B.* Multidimensionally Stimuli- Responsive Phase Transition of Aqueous Solutions of Poly((N,N-Dimethylamino) Ethyl Methacrylate) *i* Poly(N,N-Dimethyl-N-(Methacryloyl)Ethyl Ammonium Butane Sulfonate) // *J. Appl. Polym. Sci.* - 2008. - Vol.107. - P.3548-3556.
120. *Yu W., Kang E., Neoh K., Zhu S.* Controlled Grafting of Well-Defined Polymers on Hydrogen-Terminated Silicon Substrates by Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization // *J. Phys. Chem. B*. - 2003. - Vol.107. -P.10198-10205.
121. *Xu F., Cai Q., Kang E., Neoh K.* Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization from Halogen-Terminated Si(111) (Si-X, X = Cl, Br) Surfaces for the Preparation of Well-Defined Polymer-Si Hybrids // *Langmuir*. - 2005. - Vol.21. - P.3221-3225.
122. *Lee S., Koepsel R., Morley S., Matyjaszewski K., Sun Y., Russell A.* Permanent, Nonleaching Antibacterial Surfaces. 1. Synthesis by Atom Transfer Radical Polymerization // *Biomacromolecules*. - 2004. - Vol.5. - P.877-882.
123. *Chen X., Riall D., Perruchot C., Watts J., Patten T., Werne T., Armes S.* (2003) Synthesis *i* aqueous solution properties of polyelectrolyte-grafted silica particles

prepared by surface-initiated atom transfer radical polymerization // *J. Colloid Interface Sci.* - 2003. - Vol.257. - P.56–64.

124. *Liu T., Jia S., Kowalewski T., Matyjaszewski K., Casado-Portilla R., Belmont J.* Water-Dispersible Carbon Black Nanocomposites Prepared by Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization in Protic Media // *Macromolecules.* - 2006. - Vol.39. - P.548-556.
125. *Zheng G., Stöver H.* (2003) Grafting of Poly( $\epsilon$ -caprolactone) i Poly( $\epsilon$ -caprolactone-block-(dimethylamino)ethyl methacrylate) from Polymer Microspheres by Ring-Opening Polymerization i ATRP // *Macromolecules.* - 2003. - Vol.36. - P.7439-7445.
126. *Cheng Z., Zhu X., Shi Z., Neoh K., Kang E.* Polymer Microspheres with Permanent Antibacterial Surface from Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization // *Ind. Eng. Chem. Res.* - 2005. - Vol.44. - P.7098-7104.
127. *Dong Z., Wei H., Mao J., Wang D., Yang M., Bo S., Ji X.* Synthesis i responsive behavior of poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) brushes grafted on silica nanoparticles i their quaternized derivatives // *Polymer.* - 2012. - Vol.53. - P.2074-2084.
128. *Granville A., Boyes S., Akgun B., Foster M., Brittain W.* Thermoresponsive behavior of semifluorinated polymer brushes // *Macromolecules.* - 2005. - Vol.38. - P.3263-3270.
129. *Lan T., Torkelson J.* Substantial spatial heterogeneity and tunability of glass transition temperature observed with dense polymer brushes prepared by ARGET ATRP // *Polymer.* - 2015. - Vol.64. - P.183-192.
130. *Prucker O., Christian S., Bock H., Rühle J., Frank C., Knoll W.* On the glass transition in ultrathin polymer films of different molecular architecture // *Macromolecular Chemistry and Physics.* - 1998. - Vol.199. - P.1435-1444.
131. *Yamamoto S., Tsujii Y., Fukuda T.* Glass transition temperatures of high-density poly (methyl methacrylate) brushes // *Macromolecules.* - 2002. - Vol.35. - P.6077-6079.

132. *Шубаев В. П.* Жидкокристаллические полимеры – прошлое, настоящее и будущее // *Высокомолекулярные соединения.* - 2009. - Том.51. - No.11. - С.1863–1929.
133. Van Krevelen, Dirk Willem, and Klaas Te Nijenhuis. *Properties of polymers: their correlation with chemical structure; their numerical estimation and prediction from additive group contributions.* Elsevier, 2009.
134. *Hamelinck P., Huck W.* Homeotropic alignment on surface-initiated liquid crystalline polymer brushes // *Journal of Materials Chemistry.* - 2005. - Vol.15. - P.381-385.
135. *Peng B., Johannsmann D., Rühle J.* Polymer brushes with liquid crystalline side chains // *Macromolecules.* - 1999. - Vol.32. - P.6759-6766.
136. *Uekusa T., Nagano S., Seki T.* Unique molecular orientation in a smectic liquid crystalline polymer film attained by surface-initiated graft polymerization // *Langmuir.* - 2007. - Vol.23. - P.4642-4645.
137. *Tokareva I., Minko S., Fendler J., Hutter E.* Nanosensors based on responsive polymer brushes and gold nanoparticle enhanced transmission surface plasmon resonance spectroscopy // *Journal of the American Chemical Society.* - 2004. – Vol.126. - P.15950-15951.
138. *Moya S., Azzaroni O., Farhan T., Osborne V., Huck W.* Locking and unlocking of polyelectrolyte brushes: toward the fabrication of chemically controlled nanoactuators // *Angewandte Chemie International Edition.* - 2005. - Vol.44. - P.4578-4581.
139. *Lego B., Skene W., Giasson S.* Swelling study of responsive polyelectrolyte brushes grafted from mica substrates: effect of pH, salt, and grafting density // *Macromolecules.* - 2010. - Vol.43. - P.4384-4393.
140. *Lay C., Tan H., Lu X., Liu Y.* pH-Responsive Poly (methacrylic acid)-Grafted Hollow Silica Vesicles // *Chemistry—A European Journal.* - 2011. - Vol.17. - P.2504-2509.

141. *Demirci S., Kinali-Demirci S., Caykara T.* Novel pH-responsive mixed-charge copolymer brushes based on carboxylic acid and quaternary amine monomers // *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. - 2013. - Vol.51. - P.1612-1619.
142. *Song J., Cheng L., Liu A., Yin J., Kuang M., Duan H.* Plasmonic Vesicles of Amphiphilic Gold Nanocrystals: Self-Assembly i External-Stimuli-Triggered Destruction // *J. Am. Chem. Soc.* - 2011. - Vol.133. - P.10760–10763.
143. *Li D., He Q., Yang Y., Möhwald H., Li J.* Two-stage pH response of poly (4-vinylpyridine) grafted gold nanoparticles. *Macromolecules*. - 2008. - Vol.41. - P.7254-7256.
144. *Hoy O., Zdyrko B., Lupitsky R., Sheparovych R., Aulich D., Wang J., Müller M.* Synthetic hydrophilic materials with tunable strength and a range of hydrophobic interactions // *Advanced Functional Materials*. - 2010. - Vol.20. - P.2240-2247.
145. *Motornov M., Malynych S., Pippalla D., Zdyrko B., Royter H., Roiter Y., Kornev K.* Field-directed self-assembly with locking nanoparticles // *Nano letters*. - 2012. - Vol.12. - P.3814-3820.
146. *Wang X., Yadavalli N., Laradji A., Minko S.* Grafting through method for implanting of lysozyme enzyme in molecular brush for improved biocatalytic activity and thermal stability // *Macromolecules*. - 2018. - Vol.51. - P.5039-5047.
147. *Борщенко В. П.* Пиромеллитовый диангидрид, получение и применение. Москва: ЦНИИТЭнефтехим. - 1974. - С.120.
148. *Вайсбергер А., Проскауэр Э.* Органические растворители. Москва: Иностранная литература. - 1958. - С.519.
149. *Сорокин М. Ф., Лялюшко К. А.* Практикум по химии и технологии пленкообразующих веществ. Москва: Химия. - 1971. - С.264.
150. *Губен-Вейль.* Методы органической химии. Москва: Химия. - 1967. - С.1032.
151. *Milas N., Surgenor D.* Studies in Organic Peroxides. VIII. T-butyl hydroperoxide i Di-t-butyl peroxide // *J. Am. Chem. Soc.* - 1946. - Vol.68. - P.205–208.

152. *Стецишин Ю. Б.* Вододисперсні флуоресцентні наноматеріали на основі боронітридних нанотрубок // *Chemistry, Technology and Application of Substances*. - 2020.
153. *Van Oss C., Chaudhury M., Good R.* Interfacial Lifshitz-van der Waals and polar interactions in macroscopic systems // *Chemical reviews*. - 1988. - Vol.88. - P.927-941.
154. *Van Oss C., Chaudhury M., Good R.* Monopolar surfaces // *Advances in colloid and interface science*. - 1987. - Vol.28. - P.35-64.
155. *Стецишин Ю., Жолобко О., Дончак В., Гаргай Х.* Модифікація поверхні скла гетерофункціональними пероксидними олігоестерами // *Вісник НУ "Львівська політехніка", Хімія, технологія речовин та їх застосування*. - 2010. - № 667. - С.351-356.
156. *Стецишин Ю. Б.* Пероксидація поліолефінових поверхонь і формування прищеплених біосумісних та антибактеріальних шарів: дисертація / Б. Ю. Стецишин – Львів: Національний університет "Львівська політехніка", 2005. – С.146.
157. *Swain P., Lipowsky R.* Contact angles on heterogeneous surfaces: A new look at Cassie's i Wenzel's laws // *Langmuir*. - 1998. - Vol.14. - P.6772–6780.
158. *Жолобко О., Стецишин Ю., Гаргай Х., Ріпак Л., Дончак В.* Формування, структура та властивості рН- та термочутливого наночару олігопероксид-графт-полі(N-ізопропілакриламід), прищепленого до поверхні пероксидованого скла // *Вісник НУ "Львівська політехніка", Хімія, технологія речовин та їх застосування*. - 2012. - №726. - С.357-363.
159. Коструба А. М. Еліпсометрія ультратонких плівкових структур: автореферат дисертації / М. А. Коструба – Львів: Ін-т фіз. оптики ім. О. Г. Влоха. - 2016. - С.32.
160. *Stetsyshyn Y., Zemla J., Zolobko O., Fornal K., Budkowski A., Kostruba A., Donchak V., Harhay K., Awsiuk K., Rysz J., Bernasik A., Voronov S.* Temperature i pH dual-responsive coatings of oligoperoxide-graft-poly(N-isopropylacrylamide): Wettability, morphology, i protein adsorption // *Journal of Colloid i Interface Science*. - 2012. - Vol.387. - P.95–105.



161. *Awsiuk K., Stetsyshyn Y., Raczkowska J., Lishchynskiy O., Dąbczyński P., Kostruba A., Ohar H., Shymborska Y., Nastyshyn S., Budkowski A.* Temperature-controlled orientation of proteins on temperature-responsive grafted polymer brushes. Poly(butyl methacrylate) versus poly(butyl acrylate): Morphology, wetting i protein adsorption // *Biomacromolecules*. - 2019. - Vol.20. - P.2185-2197.
162. *Doyle A., Griffiths J.* Cell i Tissue Culture: Laboratory Procedures in Biotechnology. — John Willey i Sons. - 1998. - P.332.
163. *Polymers in Medicine: Biomedical i Pharmacological Applicatios / Chiellini E., Giusti P. (Ed.) // Bauser H., Chmiel H.* Improvement of the Biocompatibility of Polymers through Surface Modification. - New York: Plenum Press. - 1983. - P.297-309.
164. *Uyama Y., Kato K., Ikada Y.* Surface Modification of Polymers by Grafting // *Advances in Polymer Science*. - 1998. - Vol.137. - P.1-39.
165. *Tirrell M., Korroli E., Biesalski M.* The Role of Surface Science in bioengineered materials // *Surface Science*. - 2002. - Vol.500. - P.61-83.
166. *Plueddemann E.* Silane coupling agents. New York: Plenum Press. - 1991.
167. *Лусичкин Г., Фадеев А., Сердан А., Нестеренко П., Мингалев П., Фурман Д.* Химия привитых поверхностных соединений // *ФИЗМАТЛИТ*. - 2003. - 592 с.
168. *Awsiuk K., Bernasik A., Kitsara M., Budkowski A., Rysz J., Haberko J., Petrou P., Beltsios K., Raczkowska J.* Protein coverage on silicon surfaces modified with amino-organic films: A study by AFM i angle-resolved XPS // *Colloids i Surf. B: Biointerfaces*. - 2010. - Vol.80. - P.63-71.
169. *Awsiuk K., Rysz J., Petrou P., Budkowski A., Bernasik A., Kakabakos S., Marzec M., Raptis I.* Immobilization of oligonucleotide probes on silicon surfaces using biotin–streptavidin system examined with microscopic i spectroscopic techniques // *Appl. Surf. Science*. - 2014. - Vol.290. - P.199–206.
170. *Огар Г. І.* Синтез полімерних біологічно сумісних наночарів на поверхні амінованого скла: автореферат до дисертація / М. О. Огар – Львів: Національний університет "Львівська політехніка", 2014. - 21 с.

171. *Kostruba A., Ohar M., Kulyk B., Zolobko O., Stetsyshyn Y.* Surface modification by grafted sensitive polymer brushes: An ellipsometric study of their properties // *Appl. Surf. Science.* - 2013. - Vol.276. - P.340–346.
172. *Marques M., Mansur A., Mansur H.* Chemical functionalization of surfaces for building three-dimensional engineered biosensors // *Appl. Surf. Science.* - 2013. - Vol.275. - P.347– 360.
173. *Sakeye M., Smått J.* Comparison of different amino-functionalization procedures on a selection of metal oxide microparticles: degree of modification i hydrolytic stability // *Langmuir.* - 2012. - Vol.28. - P.16941-16950.
174. *Julthongpiput D., Lin Y., Teng J., Zubarev E., Tsukruk V.* Y-shaped polymer brushes: nanoscale switchable surfaces, *Langmuir* - Vol.19 (2003) - P.7832-7836.;
175. *Voronov S., Tokarev V., Petrovska G.* Heterofunctional polyperoxide. Theoretical basis of their synthesis i application in compounds, Lviv Polytechnic State University, Lviv. - 1994.
176. *Voronov S., Samaryk V.* Heterofunctional oligoperoxides on the interfase // *Chemistry i Chemical Technology.* - 2007. - Vol.1. - P.1-13.
177. *Whitesides G., Laibinis P.* Wet chemical approaches to the characterization of organic-surfaces-self-assembled monolayers, wetting, i the physical organic-chemistry of the solid liquid interface // *Langmuir.* - 1990. - Vol.6. - P.87–96.
178. *Xia Y., Zhao X-M., Whitesides G.* Pattern transfer: self-assembled monolayers as ultrathin resists // *Microelectron Eng.* - 1996. - Vol.32. - P.255–268.
179. *Faucheux N., Schweiss R., Lutzow K., Werner C., Groth T.* Self-assembled monolayers with different terminating groups as model substrates for cell adhesion studies // *Biomaterials.* - 2004. - Vol.25. - P.2721–2730.
180. *Acres R., Ellis A., Alvino J., Lenahan C., Khodakov D., Metha G., Andersson G.* Molecular structure of 3-aminopropyltriethoxysilane layers formed on silanol-terminated silicon surfaces // *The Journal of Physical Chemistry C.* - 2012. - Vol.116. - P.6289-6297.
181. *Nastishin Y.* Optical techniques for characterization of distorted liquid crystals // *Ukrainian Journal of Physical Optics.* - 2002. - Vol.3. - P.171-193.

182. *Kleman M., Lavrentovich O.* Soft Matter Physics: An Introduction, Springer-Verlag New York, Inc. - 2003.
183. *Zhu B., Edmondson S.* Controlled Radical Polymerization, Guide of Aldrich Material Science, Sigma-Aldrich, ARGET ATRP: Procedure for PMMA Polymer Brush Growth. - 2012. - P.15–17.
184. *Burkert S., Bittrich E., Kuntzsch M., Müller M., Eichhorn K., Bellmann C., Stamm M.* Protein resistance of PNIPAAm brushes: application to switchable protein adsorption // *Langmuir*. - 2010. - Vol.26. - P.1786-1795.
185. *Bittrich E., Kuntzsch M., Eichhorn K., Uhlmann P.* Complex pH-and temperature-sensitive swelling behavior of mixed polymer brushes // *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. - 2010. - Vol.48. - P.1606-1615.
186. *Schild H.* Poly (N-isopropylacrylamide): experiment, theory and application // *Progress in polymer science*. - 1992. - Vol.17. - P.163-249.
187. *Fujishige S., Ando K.* Phase transition of aqueous solutions of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(N-isopropylmethacrylamide) // *J. Phys. Chem. A*. - 1989. - Vol.93. - P.3311-3313.
188. *Loris R., Casset F., Bouckaert J., Pletinckx J., Dao-Thi M. H., Poortmans F., Wyns L.* The monosaccharide binding site of lentil lectin: an X-ray and molecular modelling study // *Glycoconjugate journal*. - 1994. - Vol.11(6), - P.507-517.
189. *Salisbury J., Banga J.* Lentil lectin binding properties of the leucocyte common antigen from rat dividing and non-dividing thymocytes. *Thymus*. – 1985. - Vol.7. - P.335.
190. *Drickamer K., Taylor M.* Biology of animal lectins // *Annual review of cell biology*. - 1993. - Vol.9. - P.237-264.
191. *Loris R., Hamelryck T., Bouckaert J., Wyns L.* Legume lectin structure. *Biochimica et biophysica acta (BBA)-Protein structure and molecular enzymology*. - 1998. - Vol.1383. - P.9-36.
192. *Стецишин Ю., Жолобка О., Коструба А., Дончак В., Гаргай Х., Рінак Л., Воронов С.* Температурочутливі «non-fouling» наночари на основі щіток полі( $\omega$ -

етилтрієтиленгліколь- $\alpha$ -метакрилату) // Український хімічний журнал. - 2013. - №8. - С.123-128.

193. *Стецишин Ю., Жолобка О., Бегей І., Дончак В., Гаргай Х., Рінак Л.* Структура та властивості поверхні пероксидованого скла, модифікованого полі(моноетилованим триєтиленглікольметакрилатом) // Вісник НУ “Львівська політехніка”, Хімія, технологія речовин та їх застосування. - 2011. - №700. - С. 387-391.

194. *Khutoryanskiy V., Dubolazov A., Nurkeeva Z., Mun G.* pH effects in the complex formation and blending of poly (acrylic acid) with poly (ethylene oxide) // *Langmuir*. - 2004. - Vol.20. - P.3785-3790.

195. *Nurkeeva Z., Khutoryanskiy V., Mun G., Bitekenova A., Kadlubowski S., Shilina Y., Rosiak J. M.* Interpolymer complexes of poly (acrylic acid) nanogels with some non-ionic polymers in aqueous solutions // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. - 2004. - Vol.236. - P.141-146.

196. *Tiller J., Liao C., Lewis K., Klivanov A.* Designing surfaces that kill bacteria on contact // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 2001. - Vol.98. 5981-5985.

197. *Tiller J., Lee S., Lewis K., Klivanov A.* Polymer surfaces derivatized with poly (vinyl-N-hexylpyridinium) kill airborne and waterborne bacteria // *Biotechnology and bioengineering*. - 2002. - Vol.79. 465-471.

198. *Wang Y., Kozlovskaya V., Arcibal I., Crokek D., Kharlampieva E.* Highly swellable ultrathin poly (4-vinylpyridine) multilayer hydrogels with pH-triggered surface wettability // *Soft Matter*. - 2013. - Vol.9. 9420-9429.

199. *Sidorenko A., Minko S., Schenk-Meuser K., Duschner H., Stamm M.* Switching of polymer brushes // *Langmuir*. - 1999. - Vol.15. 8349-8355.

200. *Abed Y., Arrar Z., Hammouti B., Taleb M., Kertit S., Mansri A.* Poly(4-vinylpyridine) and poly(4-vinylpyridine poly-3-oxide ethylene) as corrosion inhibitors for Cu<sub>60</sub>Zn<sub>40</sub> in 0.5 M HNO<sub>3</sub> // *Anti-Corrosion Methods and Materials*. - 2001. - Vol.48. - P.304.

201. Sakai Y., Sadaoka Y., Matsuguchi M. A humidity sensor using cross-linked quaternized Polyvinylpyridine // Journal of the Electrochemical Society. - 1989. - Vol.136. - P.171.
202. Malynych S., Luzinov I., Chumanov G. Poly (vinyl pyridine) as a universal surface modifier for immobilization of nanoparticles // The Journal of Physical Chemistry B. - 2002. - Vol.106. - P.1280-1285.
203. Motornov M., Royter H., Lupitskyy R., Roiter Y., Minko S. Stimuli-responsive hydrogel hollow capsules by material efficient and robust cross-linking-precipitation synthesis revisited // Langmuir. - 2011. - Vol.27. - P.15305-15311.
204. Fujii S., Armes S., Araki T., Ade H. Direct imaging and spectroscopic characterization of stimulus-responsive microgels. Journal of the American Chemical Society. - 2005. - Vol.127. - P.16808-16809.
205. Satoh M., Yoda E., Hayashi T., Komiyama J. Potentiometric titration of poly (vinylpyridines) and hydrophobic interaction in the counterion binding // Macromolecules. - 1989. - Vol.22. - P.1808-1812.
206. Minko S., Luzinov I., Luchnikov V., Müller M., Patil S., Stamm M. Bidisperse mixed brushes: Synthesis and study of segregation in selective solvent // Macromolecules. - 2000. - Vol.36. - P.7268-7279.
207. Biesalski M., Rühle J. Swelling of a polyelectrolyte brush in humid air // Langmuir. - 2000. - Vol.16. - P.1943-1950.
208. Chen S., Hu J., Yuen C., Chan L. Novel moisture-sensitive shape memory polyurethanes containing pyridine moieties // Polymer. - 2009. - Vol.50. - P.4424-4428.
209. Chen S., Hu J., Yuen C., Chan L. Fourier transform infrared study of supramolecular polyurethane networks containing pyridine moieties for shape memory materials // Polymer international. - 2010. - Vol.59. - P.529-538.
210. Schlücker S., Singh R., Asthana B., Popp J., Kiefer W. Hydrogen-bonded pyridine–water complexes studied by density functional theory and Raman spectroscopy // The Journal of Physical Chemistry A. - 2001. - Vol.105. - P.9983-9989.

211. *Sicilia M., Niño A., Muñoz-Caro C.* Mechanism of pyridine protonation in water clusters of increasing size // *The Journal of Physical Chemistry A.* - 2005. - Vol.109. - P.8341-8347.
212. *Arnett E., Chawla B., Bell L., Taagepera M., Hehre W., Taft R.* Solvation and hydrogen bonding of pyridinium ions // *Journal of the American Chemical Society.* - 1997. - Vol.99. - P.5729-5738.
213. *Pak C., Lee H., Kim J., Kim D., Kim K.* Theoretical investigation of normal to strong hydrogen bonds // *Structural Chemistry.* - 2005. - Vol.16. - P.187-202.
214. *Zhang J., Gao Y., Yao W., Li S., Tao F.* Ab initio study of the  $\pi$ - $\pi$  interaction in the pyridine dimer: effects of bond functions // *Computational and Theoretical Chemistry.* - 2014. - Vol.1049. - P.82-89.
215. *Piacenza M., Grimme S.* Van der Waals interactions in aromatic systems: structure and energetics of dimers and trimers of pyridine // *ChemPhysChem.* - 2005. - Vol.6. - P.1554-1558.
216. *Driva P., Bexis P., Pitsikalis M.* Radical Copolymerization of 2-Vinyl Pyridine and Oligo(ethylene glycol) Methyl Ether Methacrylates: Monomer Reactivity Ratios and Thermal Properties // *Eur. Polym. J.* - 2011. - Vol.47. - P.762-771.
217. *Kostruba A., Stetsyshyn Y., Mayevska S., Yakovlev M., Vankevych P., Nastishin Y., Kravets V.* Composition, thickness and properties of grafted copolymer brush coatings determined by ellipsometry: calculation and prediction // *Soft matter.* - 2018. - Vol.14. - P.1016-1025.
218. *Vo C., Rosselgong J., Armes S., Tirelli N.* Stimulus-responsive polymers based on 2-hydroxypropyl acrylate prepared by RAFT polymerization // *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* - 2010. - Vol.48. - P.2032-2043.
219. *Weaver J., Bannister I., Robinson K., Bories-Azeau X., Armes P., Smallridge M., McKenna P.* Stimulus-responsive watersoluble polymers based on 2-hydroxyethyl methacrylate // *Macromolecules.* - 2004. - Vol.37. - P.2395-2403.

220. *Eggenhuisen T., Becer C., Fijten M., Eckardt R., Hoogenboom R., Schubert U.* Libraries of statistical hydroxypropyl acrylate containing copolymers with LCST properties prepared by NMP // *Macromolecules*. - 2008. - Vol.41. - P.5132-5140.
221. *Save M., Weaver J., Armes S., McKenna P.* Atom transfer radical polymerization of hydroxy-functional methacrylates at ambient temperature: Comparison of glycerol monomethacrylate with 2-hydroxypropyl methacrylate // *Macromolecules*. - 2002. - Vol.35. - P.1152–1159.
222. *Verber R., Blanazs A., Armes S.* Rheological studies of thermo-responsive diblock copolymer worm gels // *Soft Matter*. - 2012. - Vol.8. - P.9915–9922.
223. *Brantley E., Holmes T., Jennings G.* Modification of ATRP surface-initiated poly(hydroxyethyl methacrylate) films with hydrocarbon side chains // *J. Phys. Chem. B*. - 2004. - Vol.108. - P.16077–16084.
224. *Arifuzzaman S., Ozcam, A., Efimenko K., Fischer D., Genzer J.* Formation of surface-grafted polymeric amphiphilic coatings comprising ethylene glycol and fluorinated groups and their response to protein adsorption // *Biointerphases*. - 2009. - Vol.4. - P.33–44.
225. *Barbey R., Laporte V., Alnabulsi S., Klok H.-A.* Postpolymerization modification of poly(glycidyl methacrylate) brushes: An XPS depth-profiling study // *Macromolecules*. - 2013. - Vol.46. - P.6151–6158.
226. *Awsiuk K., Budkowski A., Marzec M., Petrou P., Rysz J., Bernasik A.* Effects of polythiophene surface structure on adsorption and conformation of bovine serum albumin: A multivariate and multitechnique study // *Langmuir*. - 2014. - Vol.30. - P.13925–13933.
227. *Briggs D.* *Surface Analysis of Polymers by XPS and Static SIMS*, Cambridge University Press, Cambridge. - 1998.
228. *Tidwell C., Castner D., Golledge S., Ratner B., Meyer K., Hagenhoff B., Benninghoven A.* Static time-of-flight secondary ion mass spectrometry and x-ray photoelectron spectroscopy characterization of adsorbed albumin and fibronectin films // *Surf. Interface Anal.* - 2001. - Vol.31. - P.724–733.

229. *Hentschel C., Wagner H., Smiatek J., Heuer A., Fuchs H., Zhang X., Studer A., Chi L.* AFM-based force spectroscopy in polystyrene brushes: Effect of brush thickness on protein adsorption // *Langmuir*. - 2013. - Vol.29. - P.1850–1856.
230. *Reichhart C., Czeslik C.* Native-like structure of proteins at a planar poly(acrylic acid) brush // *Langmuir*. - 2009. - Vol.25, - P.1047–1053.
231. *Culha M., Kahraman M., Çam, D., Sayın I., Keseroğlu K.* Rapid identification of bacteria and yeast using surface-enhanced Raman scattering // *Surf. Interf. Anal.* - 2010. - Vol.42. - P.462–465.
232. *Dzamukova M., Naumenko E., Rozhina E., Trifonov A., Fakhrullin R.* Cell surface engineering with polyelectrolyte-stabilised magnetic nanoparticles: a facile approach for fabrication of artificial multicellular tissue-mimicking clusters // *Nano Res.* - 2015. - Vol.8. - P.2515–2532.
233. *Raza M., Kanwal Z., Rauf A., Sabri A., Riaz S., Naseem S.* Size- and shape-dependent antibacterial studies of silver nanoparticles synthesized by wet chemical routes // *Nanomaterials*. - 2016. - Vol.6. - P.74.
234. *Khodashenas B., Ghorbani H.* Synthesis of silver nanoparticles with different shapes // *Arabian J. Chem.* - 2019. - Vol.12. - P. 1823-1838.
235. *Hill W., Pillsbury D.* *Argyria: The Pharmacology of Silver.* - Williams & Wilkins Co., Baltimore. - 1939. - P.128–132.
236. *Rai M., Yadav A., Gade A.* Silver Nanoparticles as a new generation of antimicrobials // *Biotechnol. Adv.* - 2009. - Vol.27. - P.76–83.
237. *Lue J.* A review characterization and physical property studies of metallic nanoparticles // *Phys. Chem. Solids.* - 2001. - Vol.62. - P.1599–1612.
238. *Evanoff D., Chumanov G.* Synthesis and optical properties of the silver nanoparticles and arrays // *Chem. Phys. Chem.* - 2005. - Vol.6. - P.1221–1231.
239. *Rycenga M., McLellan J., Xia Y.* Controlling the assembly of silver nanocubes through selective functionalization of their faces // *Adv. Mater.* - 2008. - Vol.20. - P.2416–2420.



240. *Cheng W.-T., Chih Y.-W.* Manipulation of silver nanostructures using supercritical fluids in the presence of polyvinyl pyrrolidone and ethylene glycol // *J. Supercrit. Fluids.* - 2010. - Vol.54. - P.272–280.
241. *Im S., Lee Y., Wiley B., Xia Y.* Large-scale synthesis of silver nanocubes: the role of HCl in promoting cube perfection and monodispersity // *Angew. Chem.* - 2005. - Vol.44. - P.2154–2157.
242. *Zeena S., Kamat P.* What factors control the size and shape of silver nanoparticles in the citrate ion reduction method? // *Phys. Chem.* - 2004. - Vol.108. - P.945–951.
243. *Métraux G., Mirkin C.* Rapid thermal synthesis of silver nanoprisms with chemically tailorable thickness // *Adv. Mater.* - 2005. - Vol.17. - P.412–415.
244. *Bordenave M., Scarpettini A., Roldán M., Pellegrini N., Brsilveras A.* Plasmon-induced photochemical synthesis of silver triangular prisms and pentagonal bipyramids by illumination with light emitting diodes // *Mater. Chem. Phys.* - 2013. - Vol.139. - P.100–106.
245. *Zhu J., Liu S., Palchik O., Kolytyn Y., Gedanken A.* Shape-controlled synthesis of silver nanoparticles by pulse sonoelectrochemical methods // *Langmuir.* - 2000. - Vol.16. - P.6396–6399.
246. *Ghorbani H., Safekordi A., Attar H., Sorkhabadi S.* Biological and non-biological methods for silver nanoparticles synthesis // *Chem. Biochem. Eng. Q.* - 2011. - Vol.25. - P.317–326.
247. *Wagner J., Tshikhudo T., Köhler J.* Microfluidic generation of metal nanoparticles by borohydride reduction // *Chem. Eng. J.* - 2008. - Vol.135. - P.104–109.
248. *Zhang H., Hussain I., Brust M.* Emulsion-templated gold beads using gold nanoparticles as building blocks // *Adv. Mater.* - 2004. - Vol.16. - P.27–30.
249. *Xu R., Wang D., Zhang J., Li Y.* Shape-dependent catalytic activity of silver nanoparticles for the oxidation of styrene // *Chem. Asian J.* - 2006. - Vol.1. - P.888–893.
250. *Mock L., Barbic M., Smith D., Schultz D., Schultz S.* Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles // *J. Chem. Phys.* - 2002. - Vol.116. - P.6755–6759.

251. *Xiao J., Xie Y., Tang R., Chen M., Tian X.* Novel ultrasonically assisted template synthesis of palladium and silver dendritic nanostructures // *Adv. Mater.* - 2001. - Vol.13. - P.1887–1891.
252. *Aslan K., Lakowicz J., Geddes C.* Metal-enhanced fluorescence using anisotropic silver nanostructures: critical progress to date // *Anal. Bioanal. Chem.* - 2005. - Vol.382. - P.926–933.
253. *Drozdowicz-Tomsia K., Xie F., Goldys E.* Deposition of silver dendritic nanostructures on silicon for enhanced fluorescence // *J. Phys. Chem. C.* - 2010. - Vol.114. - P.1562–1569.
254. *Gu C., Zhang T.* Electrochemical synthesis of silver polyhedrons and dendritic films with superhydrophobic surfaces // *Langmuir.* - 2008. - Vol.24. - P.12010–12016.
255. *Helmlinger J., Sengstock C., Groß-Heitfeld C., Mayer C., Schildhauer T., Köller M., Epple M.* Silver nanoparticles with different size and shape: equal cytotoxicity, but different antibacterial effects // *RSC Adv.* - 2016. - Vol.4. - P.18490–18501.
256. *Sur I., Altunbek M., Kahraman M., Culha M.* The influence of the surface chemistry of silver nanoparticles on cell death // *Nanotechnology.* - 2012. - Vol.23. - P.375102.
257. *Sur I., Cam D., Kahraman M., Baysal A., Culha M.* Interaction of multi-functional silver nanoparticles with living cells // *Nanotechnology.* - 2010. - Vol.21. - P.175104.
258. *Tejamaya M., Römer I., Merrifield R., Lead J.* Stability of citrate, PVP, and PEG coated silver nanoparticles in ecotoxicology media // *Environ. Sci. Technology.* - 2012. - Vol.46. - P.7011–7017.
259. *Lok C.-N., Ho C.-M., Chen R., He Q.-Y., Yu W.-Y., Sun H., Kwong-Hang Tam P., Chiu J.-F., Che C.-M.* Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities // *J. Biol. Inorg. Chem.* - 2007. - Vol.12. - P.527–534.
260. *Benetti E., Sui X., Zapotoczny S., Vancso G.* Surface-grafted gel-brush/metal nanoparticle hybrids // *Adv. Funct. Mater.* - 2010. - Vol.20. - P.939–944.
261. *Gupta S., Uhlmann P., Agrawal M., Chapuis S., Oertel U., Stamm M.* Immobilization of silver nanoparticles on responsive polymer brushes // *Macromolecules.* - 2008. - Vol.41. - P.2874–2879.

262. Gupta S., Agrawal M., Conrad M., Hutter N., Olk P., Simon F., Eng L., Stamm M., Jordan R. Poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate) brushes with incorporated nanoparticles as a SERS active sensing layer // *Adv. Funct. Mater.* - 2010. - Vol.20. - P.1756–1761.
263. Sur I., Altunbek M., Kahraman M., Culha M. The influence of the surface chemistry of silver nanoparticles on cell death // *Nanotechnology.* - 2012. - Vol.23. - P.375102.
264. Sur I., Cam D., Kahraman M., Baysal A., Culha M. Interaction of multi-functional silver nanoparticles with living cells // *Nanotechnology.* - 2010. - Vol.21. - P.175104.
265. Banerjee I., Pangule R., Kane R. Antifouling coatings: recent developments in the design of surfaces that prevent fouling by proteins, bacteria, and marine organisms // *Adv. Mater.* - 2011. - Vol.23. - P.690–718.
266. Gu H., Ren D. Materials and surface engineering to control bacterial adhesion and biofilm formation: a review of recent advances // *Front. Chem. Sci. Eng.* - 2014. - Vol.8. - P.20–33.
267. D'Agostino A., Taglietti A., Grisoli P., Dacarro G., Cucca L., Patrinic M., Pallavicini P. Seed mediated growth of silver nanoplates on glass: exploiting the bimodal antibacterial effect by near IR photo-thermal action and Ag<sup>+</sup> release // *RSC Adv.* - 2016. - Vol.6. - P.70414–70423.
268. D'Agostino A., Taglietti A., Desando R., Bini M., Patrini M., Dacarro G., Cucca L., Pallavicini P., Grisoli P. Bulk surfaces coated with triangular silver nanoplates: antibacterial action based on silver release and photo-thermal effect // *Nanomaterials.* - 2017. - Vol.7. - P.7.
269. Konnova S., Danilushkina A., Fakhrullina G., Akhatova F., Badrutdinov A., Fakhrullin R. Silver nanoparticle-coated “cyborg” microorganisms: rapid assembly of polymer stabilized nanoparticles on microbial cells // *RSC Adv.* - 2015. - Vol.5. - P.13530–13537.
270. Camorani P., Cristofolini L., Fontana M., Angiolini L., Giorgini L., Paris F. Azocontaining polymer brushes: photoalignment and application as command surfaces // *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* - 2009. - Vol.502. - P.56–64.

271. *Chang L., Liu H., Ding Y., Zhang J., Li L., Zhang X., Liu M., Jiang L.* A smart surface with switchable wettability by an ionic liquid // *Nanoscale*. - 2017. - Vol.9. - P.5822–5827.
272. *He M., Wang Q., Zhang J., Zhao W., Zhao C.* Substrate-independent Ag-nanoparticle-loaded hydrogel coating with regenerable bactericidal and thermoresponsive antibacterial properties // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. - 2017. - Vol.9. - P.44782–44791.
273. *Wei T., Tang Z., Yu Q., Chen H.* Smart antibacterial surfaces with switchable bacteria-killing and bacteria-releasing capabilities // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. - 2017. - Vol.9. - P.37511–37523.
274. *Keddie J., Jone R., Cory R.* Size-dependent depression of the glass transition temperature in polymer films // *Europhys. Lett.* - 1994. - Vol.27. - P.59–64.
275. *Cui J., Kratz K., Hiebl B., Jung F., Lendlein A.* Soft poly(nbutyl acrylate) Networks with Tailored Mechanical Properties Designed as Substrates for in vitro Models // *Polym. Adv. Technol.* - 2011. - Vol.22. - P.126–132.
276. *Luengo G., Pan J., Heuberger M., Israelachvili J.* Temperature and Time Effects on the “Adhesion Dynamics” of Poly(butyl methacrylate) (PBMA) Surfaces // *Langmuir*. - 1998. - Vol.14. - P.3873–3881.
277. *Cox-Nowak K., Al-Yamani O., Grant C., Green, N.; Rimmer, S.* Poly(n-butyl methacrylate) with Primary Amine end Groups for Supporting Cell Adhesion and Proliferation of Renal Epithelial Cells // *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* - 2017. - Vol.66. - P.762–767.
278. *Zimmerman P., Hercules D.* Time-of-flight Secondary Ion Mass Spectrometry of poly(alkyl acrylates): comparison with poly(alkyl methacrylates) // *Anal. Chim. Acta*. - 1994. - Vol.297. - P.301–311.
279. *Shaw M., MacKnight W.* Introduction to Polymer Viscoelasticity, 3rd ed.; John Wiley & Sons: Hoboken, New Jersey. - 2005.
280. *Frank B., Gast A., Russell T., Brown H., Hawker C.* Polymer Mobility in Thin Films // *Macromolecules*. - 1996. - Vol.29. - P.6531–6534.

281. *Rezwan K., Meier L., Rezwan M., Vörös J., Textor M., Gauckler L.* Bovine Serum Albumin Adsorption onto Colloidal Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Particles: A New Model Based on Zeta Potential and UV–Vis Measurements // *Langmuir*. - 2004. - Vol.20. - P.10055–10061.
282. *Awskiuk K., Budkowski A., Petrou P., Marzec M., Biernat M., Jaworska-Gołąb T., Rysz J.* Orientation and Biorecognition of Immunoglobulin Adsorbed on Spin-Cast Poly(3-alkylthiophenes): Impact of Polymer Film Crystallinity // *Colloids Surf., B*. - 2016. - Vol.148. - P.278–286.
283. [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org).
284. *Zhou Y., Briand V., Sharma N., Ahn S., Kasi R.* Polymers comprising cholesterol: synthesis, self-assembly, and applications // *Materials*. - 2009. - Vol.2. - P.636–660.
285. *Hosta-Rigau L., Zhang Y., Teo B., Postma A., Städler B.* Cholesterol –abiological compound as a building block in bionanotechnology // *Nanoscale*. - 2013. - Vol.5. - P.89–109.
286. *Liu Y., Wang Y., Zhuang D., Yang J.* Bionanoparticles of amphiphilic copolymers polyacrylate bearing cholesterol and ascorbate for drug delivery // *J. Colloid Interface Sci.* - 2012. - Vol.377. - P.197–206.
287. *Liu L., Guo K., Lu J., Venkatraman S., Luo D., Ng K., Ling E., Mochhala S., Yang Y.* Biologically active core/shell nanoparticles self-assembled from cholesterol-terminated PEG–TAT for drug delivery across the blood–brain barrier // *Biomaterials*. - 2008. - Vol.29. - P.1509–1517.
288. *Chern C., Chiu H., Chuang Y.* Synthesis and characterization of amphiphilic graft copolymers with poly (ethylene glycol) and cholesterol sidechains // *Polym. Int.* - 2004. - Vol.53. - P.420–429.
289. *Wang Y., Ke C., Beh C., Liu S., Goh S., Yang Y.* The self-assembly of biodegradable cationic polymer micelles as vectors for gene transfection // *Biomaterials*. - 2007. - Vol.28. - P.5358–5368.
290. *Kubinova S., Horák D., Sykova E.* Cholesterol-modified superporous poly(2-hydroxyethyl methacrylate) scaffolds for tissue engineering // *Biomaterials*. - 2009. - Vol.30. - P.4601–4609.

291. Kubinová S., Horak D., Hejcl A., Plichta Z., Kotek J., Sykova E. Highly superporous cholesterol-modified poly(2-hydroxyethyl methacrylate) scaffolds for spinal cord injury repair // *J. Biomed. Mater. Res. Part A*. - 2011. - Vol.99. - P.618–629.
292. Bera T., Freeman E., McDonough J., Clements R., Aladlaan A., Miller D., Malcuit C., Hegmann T., Hegmann E. Liquid crystal elastomer microspheres as three-dimensional cell scaffolds supporting the attachment and proliferation of myoblasts // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. - 2015. - Vol.7. - P.14528–14535.
293. Sharma A., Neshat A., Mahnen C., Nielsen A., Snyder J., Stankovich T., Daum B., LaSpina E., Beltrano G., Gao Y., Li S., Park B., Clements R., Freeman E., Malcuit C., McDonough J., Korley L., Hegmann T., Hegmann E. Biocompatible, biodegradable and porous liquid crystal elastomer scaffolds for spatial cell cultures // *Macromol. Biosci.* - 2015. - Vol.15. - P.200–214.
294. Peng B., Rühle J., Johannsmann D. Homogeneously aligned liquid-crystal polymer brushes // *Adv. Mater.* - 2000. - Vol.12. - P.821–824.
295. DeVisser A., De Groot K., Feyen J., Bantjes A. Liquid crystalline acrylates and their polymers // *Polym. Lett. Ed.* - 1972. - Vol.10. - P.851–854.
296. Zhou Y., Kasi R. Synthesis and characterization of polycholesteryl methacrylate – polyhydroxyethyl methacrylate block copolymers // *J. Polym. Sci.: Part A Polym. Chem.* - 2008. - Vol.46. - P.6801–6809.
297. Hill A., Tant M. *The Structure and Properties of Glassy Polymers*, Chapter 1, ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington, DC. - 1999.
298. Bahramian A. Molecular dynamics simulation of surface morphology and thermodynamic properties of polyaniline nanostructured film // *Surf. Interface Anal.* - 2015. - Vol.47. - P.1–14.
299. Wang W., Barber A. Measurement of size-dependent glass transition temperature in electrospun polymer fibers using AFM nanomechanical testing // *J. Polym. Sci.: Part A Polym. Phys.* - 2012. - Vol.50. - P.546–551.

300. *Tanaka K., Kojio K., Kimura R., Takahara A., Kajiyama T.* Surface relaxation processes of poly(methyl methacrylate) brushes prepared by atom transfer radical polymerization // *Polym. J.* - 2003. - Vol.35. - P.44–49.
301. *Marchenko I., Yashchenok A., German S., Inozemtseva O., Gorin D., Bukreeva T., Mohwald H., Skirtach A.* Polyelectrolytes: Influence on evaporative self-assembly of particles and assembly of multilayers with polymers, nanoparticles and carbon nanotubes // *Polymers.* - 2010. - Vol.2. - P.690.
302. *Lisuzzo L., Cavallaro G., Lazzara G., Milioto S., Parisi F.* Stability of halloysite, imogolite, and boron nitride nanotubes in solvent media // *Appl. Sci. (Switzerland).* - 2018. - Vol.8. - P.1068.
303. *Ciofani G., Genchi G., Liakos I., Athanassiou A., Dinucci D., Chiellini F., Mattoli V.* A simple approach to covalent functionalization of boron nitride nanotubes // *J. Colloid Interface Sci.* - 2012. - Vol.374. - P.308.
304. *Zhi C., Bando Y., Tang C., Xie R., Sekiguchi T., Golberg D.* Perfectly dissolved boron nitride nanotubes due to polymer wrapping // *J. Am. Chem. Soc.* - 2005. - Vol.127. - P.15996.
305. *Terao T., Zhi C., Bando Y., Mitome M., Tang C., Golberg D.* Alignment of boron nitride nanotubes in polymeric composite films for thermal conductivity improvement // *J. Phys. Chem. C.* - 2010. - Vol.114. - P.4340.
306. *Gao Z., Zhi C., Bando Y., Golberg D., Serizawa T.* Noncovalent functionalization of boron nitride nanotubes in aqueous media opens application roads in nanobiomedicine // *Nanobiomedicine.* - 2014. - Vol.1. - P.7.
307. *Ejaz M., Rai S., Wang K., Zhang K., Zhou W., Grayson S.* Surface-initiated atom transfer radical polymerization of glycidyl methacrylate and styrene from boron nitride nanotubes // *J. of Materials Chem. C.* - 2014. - P.2. - Vol.4073.
308. *Song A., Zhang J., Zhang M., Shen T., Tang J.* Spectral properties and structure of fluorescein and its alkyl derivatives in micelles // *Colloids Surf. A.* - 2000. - Vol.167. - P.253.

309. *Martin M., Lindqvist L.* The pH dependence of fluorescein fluorescence // *J. Lumin.* - 1975. - Vol.10. - P.381.
310. *Song A., Zhang. J., Zhang M., Shen T., Tang J.* Spectral properties and structure of fluorescein and its alkyl derivatives in micelles // *Colloids Surf., A.* - 2000. - Vol.167. - P.253-262.
311. *Martin M., Lindqvist L.* The pH dependence of fluorescein fluorescence // *Journal of Luminescence.* - 1975. - Vol.10, - P.381–390.
312. *Govindaiah P., Lee S., Kim J., Cheong I.* Synthesis and characterization of poly (styrene-co-fluorescein O-methacrylate)/poly (N-isopropylacrylamide)–Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> core/shell composite particles // *Polymer.* - 2011. - Vol.52. - P.5058–5064.
313. *Demchenko A.* Nanoparticles and nanocomposites for fluorescence sensing and imaging // *Methods Appl. Fluoresc.* - 2013. - Vol.1. - P.022001.
314. *Lowell B., Spiegelman B.* Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis // *Nature.* - 2000. - Vol.404. - P.652–660.
315. *Yamada A., Hiruta Y., Wang J., Ayano E., Kanazawa H.* Design of environmentally responsive fluorescent polymer probes for cellular imaging // *Biomacromolecules.* - 2015. - Vol.16. - P.2356–2362.
316. *Izumi H., Torigoe T., Ishiguchi H., Uramoto H., Yoshida Y., Tanabe M., Ise T., Murakami T., Yoshida T., Nomoto M., Kohno K.* Cellular pH regulators: potentially promising molecular targets for cancer chemotherapy // *Cancer Treat. Rev.* - 2003. - Vol.29. - P.541–549.
317. *Davies T., Fine R., Johnson R., Levesque C., Rathbun W., Seetoo K., Smith S., Strohmeier G., Volicer L., Delva L., Simons E.* Non-age related differences in thrombin responses by platelets from male patients with advanced Alzheimer' s disease // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1993. - Vol.194. - P.537–543.