

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ САМООРГАНИЗАЦИИ
В СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСАХ ПОЛИОСНОВАНИЙ
И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КЛИНОВИДНЫХ АМФИФИЛОВ**

^{1,2}Марясеvская А.В.*, ^{1,2,3}Анохин Д.В., ³Баринов Н.А., ³Клинов Д.В., ^{1,2,3}Иванов Д.А.

¹Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

³Научно-технологический университет «Сириус»

*alina.maryasevskaya@yandex.ru

В данной статье были изучены строение и фазовое поведение комплексов амфифильных клиновидных сульфонатов и полимерных оснований методами дифференциальной сканирующей калориметрии, поляризационной оптической и атомно-силовой микроскопии, а также больше- и малоуглового рентгеновского рассеяния. Было продемонстрировано образование надмолекулярной ламеллярной структуры данных комплексов и потенциальная возможность создания наноразмерных везикул на их основе.

Ключевые слова: супрамолекулярные комплексы, самоорганизация, клинообразные лиганды, полимерные везикулы.

**SELF-ASSEMBLY OF SUPRAMOLECULAR COMPLEXES OF POLYBASES
AND LOW-MOLECULAR-WEIGHT WEDGE-SHAPED AMPHIPHILES**

^{1,2}Maryasevskaya A.V.*, ^{1,2,3}Anokhin D.V., ³Barinov N.A., ³Klinov D.V., ^{1,2,3}Ivanov D.A.

¹Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry RAS

²M.V. Lomonosov Moscow State University

³Sirius University of Science and Technology

In this article, the structure and phase behavior of complexes of amphiphilic wedge-shaped sulfonates and polybases were studied differential scanning calorimetry, polarization optical and atomic force microscopy, as well as wide- and small-angle X-ray scattering. The formation of a supramolecular lamellar structure of these complexes was demonstrated that makes them perspective for fabrication of nanoscaled polymersomes.

Keywords: supramolecular complexes, self-assembly, wedge-shaped ligands, polymer vesicles.

1. Введение

Термочувствительные полимеры можно разделить на две большие группы. Первая группа состоит из полимеров, которые демонстрируют гидрофобность или нерастворимость, в случаях, когда температура превышает определенное значение, называемое нижней критической температурой растворения (НКТР). Вторая группа включает в себя полимеры, которые проявляют гидрофильность или растворимость при достижении верхней критической температуры растворения (ВКТР). Эти термочувствительные полимеры широко изучаются в водных средах благодаря их способности имитировать биологические системы и реагировать на изменение физиологических условий. Синтетические полимеры, демонстрирующие такое поведение, вызывают большой научный интерес, прежде всего в области биомедицины, из-за потенциала их применения в системах доставки лекарств, генной терапии и тканевой инженерии. Среди различных термочувствительных полимеров широко исследуются полимеры на основе поли(N-изопропилакриламида) (PNIPAM), поскольку значение НКТР для них в водных растворах составляет приблизительно 32 °C, что близко к температуре человеческого тела [1, 2].

Другим важным классом высокомолекулярных веществ, реагирующих на изменения окружающей среды, являются полимеры, которые демонстрируют изменение конформации и гидратированного состояния в ответ на изменение pH раствора. Катионная природа этих полимеров в сочетании с их способностью набухать под воздействием pH делает их многообещающими кандидатами для систем доставки лекарственных

ных средств, а также в качестве синтетических векторов в невирусной генной терапии. К таким полимерам относится биосовместимый поли(2-(диметиламино)этилметакрилат) (PDMAEMA). PDMAEMA демонстрирует низкую цитотоксичность в культивируемых клетках и подвергается постепенной деградации в результате самокатализируемого процесса гидролиза в водной среде [3, 4]. Эти уникальные свойства делают диблок-сополимеры с двойной чувствительностью, такие как PNIPAM-*b*-DMAEMA, исключительными кандидатами для доставки лекарственных средств. Добавление с одного конца гидрофильных кислотных групп, а с другого – гидрофобных алкильных групп, приводят к фазовому разделению в водных растворах и образованию мицелл [5]. Однако структура мицелл не позволяет доставлять в клетки генный материал из-за наличия группы ферментов, нуклеаз, специфически атакующих нуклеиновые кислоты при попадании их внутрь клетки, поэтому более предпочтительной формой для эффективной доставки в клетку являются везикулы, защищающие внутреннее содержимое от действия нуклеаз.

Полимерные цепи и низкомолекулярные лиганды в случае их комплексования образуют гребнеобразные супрамолекулы, способные к самосборке на нанометровой шкале. Из-за несовместимости между полимером и неполярной частью лиганда эти комплексы образуют микрофазово-разделенную морфологию, и чаще всего получаются смектические структуры, в которых чередуются слои лигандов и полимеров [6].

Некоторые члены нашей группы ранее сообщали о получении нового класса клиновидных амфифильных сульфонатов, способных образовывать термотропные колончатые мезофазы в объеме [7]. В этой работе мы объединили способность к самоорганизации клиновидных сульфокислот и комплексообразование лиганда и полиоснования для создания нового класса макромолекулярных материалов.

Экспериментальная часть

Синтез лигандов. Синтез клиновидной молекулы сульфокислоты **1** с октильными и додецильными цепями был описан ранее [8]. Для получения комплексов с блок-сополимером PDMAEMA-*b*-PNIPAM раствор лигандов в хлороформе добавляли в необходимом количестве для достижения 25 %-ной степени нейтрализации к р-ру полимера в хлороформе (1,0 мг/мл). Смесь перемешивали в течение 3 ч. При пониженном давлении растворитель удаляли. Комплекс сушили в вакууме при температуре 40 °С в течение 6 часов. В результате были получены комплексы, представленные на рис. 1, которые в дальнейшем в статье будут называться C8-DN25 и C12-DN25 в случае октильных и додецильных цепей, соответственно.

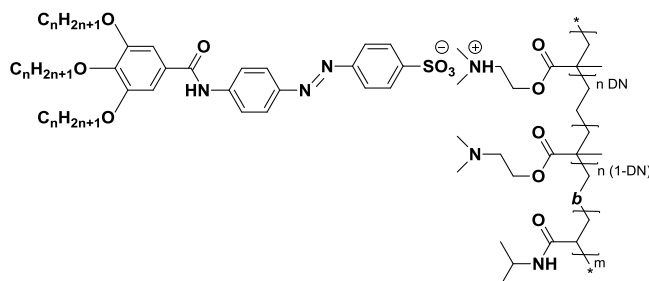


Рис. 1. Комплексы с блок-сополимером PDMAEMA-*b*-PNIPAM

Поляризационная оптическая микроскопия. Текстура тонких пленок комплексов была исследована методом поляризационной оптической микроскопии (ПОМ) на приборе Axio A1, Zeiss, совмещенном с температурным столиком Linkam. Микрочастицы комплексов нагревались со скоростью 10 К/мин с 25 °С до температур изотропизации с последующим охлаждением со скоростью 1 К/мин до комнатной температуры.

Дифференциальная сканирующая калориметрия. Исследование фазовых переходов проводилось методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) на приборе DSC 214 Polyma, Netzsch. Образцы помещали в алюминиевый тигель с отверстием, после чего проводились два цикла нагрева – охлаждения со скоростью 10 К/мин в диапазоне температур от -20 до 190 °С, что ниже температуры разложения.

Рентгеновское рассеяние. Эксперименты по рентгеновскому рассеянию в больших (WAXS) и малых (SAXS) углах осуществлялись на линиях ID02 и BM26 в Европейском центре синхротронного излучения ESRF (Гренобль, Франция). Двумерные дифрактограммы были получены на порошках, а также на ориентированных волокнах в геометрии на просвет на двумерном детекторе Pilatus 1M.

Атомно-силовая микроскопия. Измерения с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) проводились в tapping mode на микроскопе NT-MDT. Тонкие пленки комплексов для исследования ме-

тодом АСМ изготавливались из раствора с концентрацией 20 мг/мл в тетрагидрофуране поверх кремниевой подложки методом spin-coating со скоростью 1000 об/мин в течение 1 мин. Затем пленки выдерживались во влажностной ячейке в парах воды в течение 12 часов при комнатной температуре.

Результаты и обсуждение

Согласно данным термогравиметрического анализа и ДСК (рис. 2а) температура разложения комплексов составляет $T_d=200$ °С. По данным ПОМ, комплексы демонстрируют двулучепреломление вплоть до температур изотропизации, лежащих в диапазоне 140-160 °С (рис. 3). Медленное охлаждение из изотропного состояния не приводит к повторному появлению двулучепреломления из-за медленного образования мезофазы, что подтверждается данными ДСК. Кривая ДСК первого нагрева демонстрирует широкий эндотермический пик плавления в области 30–110 °С. Небольшой пик, соответствующий изотропизации комплексов, наблюдался при 150 °С с энтальпией 1,3 Дж/г. При втором нагреве становится отчетливо видно стеклование блока PNIPAM, рис. 2б. После месяца хранения тех же образцов при комнатной температуре вновь появляется широкий эндотермический пик.

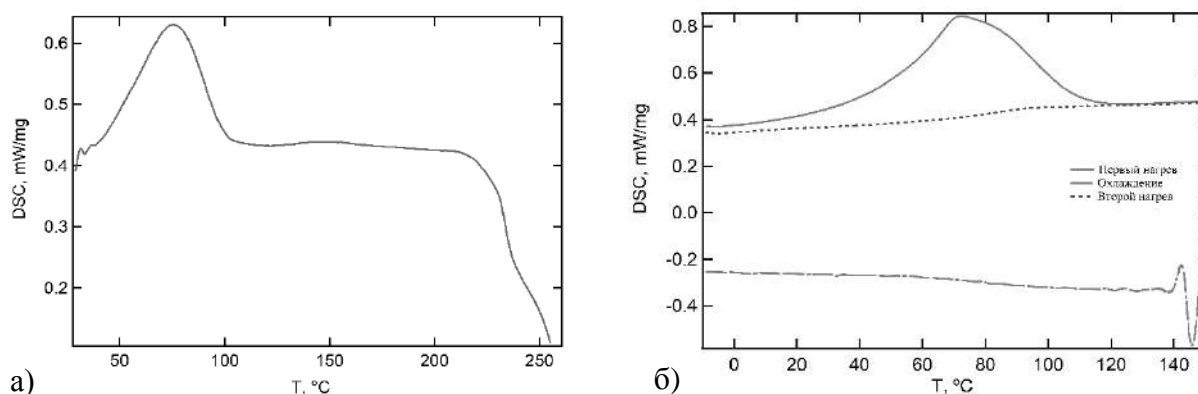


Рис. 2. Кривая ДСК комплекса C8-DN25 (а) и C12-DN25 (б)

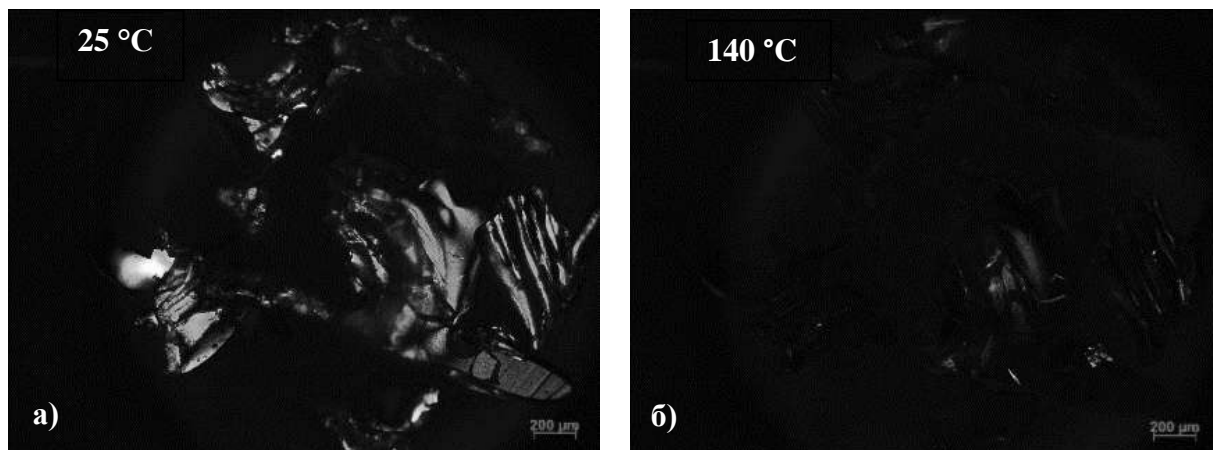


Рис. 3. Типичные фотографии ПОМ комплексов при комнатной температуре (а) и при температуре изотропизации (б)

Строение жидкокристаллической фазы исследовали методом SAXS (рис. 4а). На дифрактограмме ориентированных волокон комплексов наблюдается серия пиков, соответствующих смектической структуре. Сравнивая длину молекул лигандов (предполагая полностью вытянутую конформацию алкильных цепей) и толщину смектических слоев, можно предположить бислойную упаковку лигандов с частично перекрывающимися алкильными цепями, разделённые цепями полимера. Расстояние между слоями увеличивается с 4,9 нм в случае октильных цепей до 5,1 нм для додецильных цепей. В большеугловой области наблюдается широкий рефлекс на $\sim 4,5$ Å, характеризующий расстояние между частично упорядоченными алкильными цепями в бислое (рис. 4б) [9].

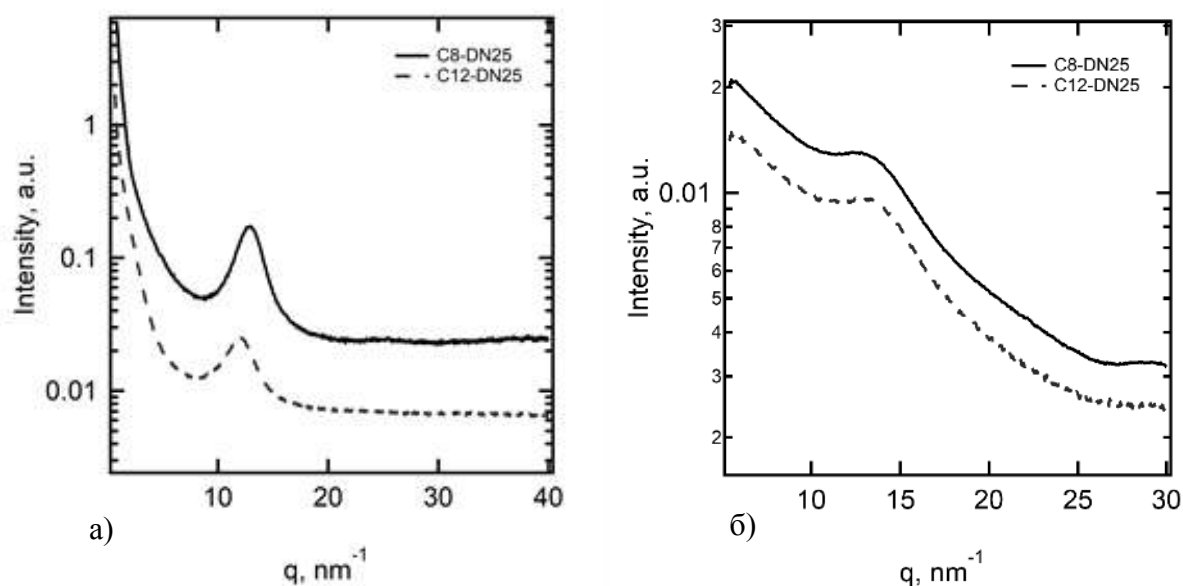


Рис. 4. SAXS (а) и WAXS (б) кривые исследуемых комплексов

Влияние набухания тонких пленок в парах воды на их текстуру изучалось методом АСМ. На рис. 5а показано изображение тонкой пленки C8-DN25 после выдержки в водных парах в течение 12 часов. На пленке отчетливо видно образование единичных круглых доменов диаметром 100–200 нм с высотами, кратными толщине смектического слоя. Ранее сообщалось об образовании многослойных наноразмерных везикул луковичного типа, полученных при введении растворов комплексов P2VP и 4'-[3,5-ди(тридека-2,4-диинилоксил)]азобензол-4-сульфокислоты в ТГФ в большое количество воды [10]. Таким образом, можно предположить, что сформированный комплекс имеет тенденцию к самопроизвольному искривлению смектических слоев под действием паров воды с последующим образованием везикул диаметром 100–200 нм. При увеличении длины алкильных цепей в составе лиганда также можно наблюдать искривление смектических слоев (рис. 5б), однако, оно приводит к образованию деформированных доменов, указывающих на начало процесса формирования везикул. Меньшая тенденция к набуханию в парах воды для комплексов, содержащих додецильные цепи, вероятно, связано с большей кристалличностью, которая повышает жесткость пленки и затрудняет диффузию воды в гидрофильные слои [9].

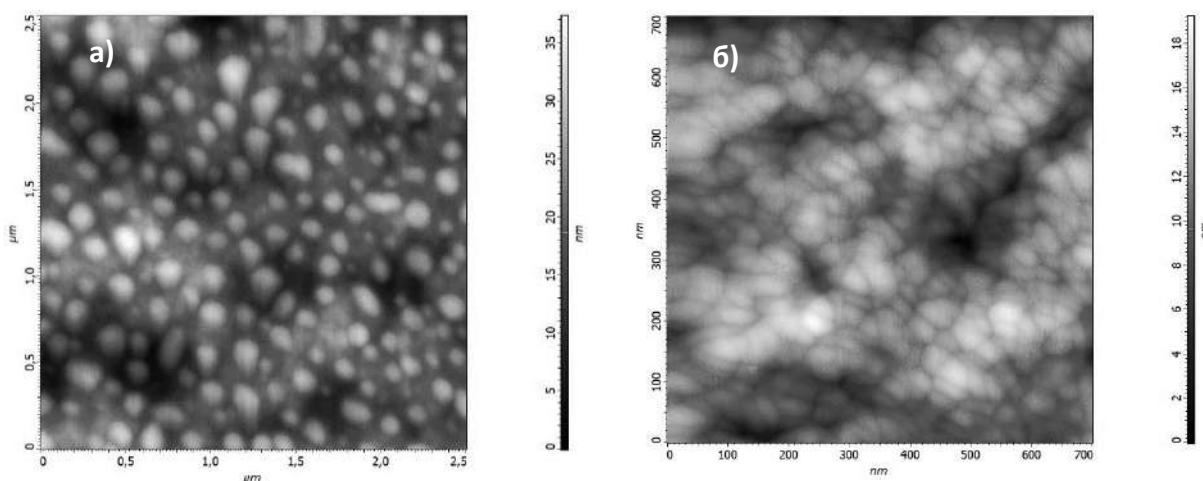


Рис. 5. АСМ изображения пленок C8-DN25 (а) и C12-DN25 (б) после выдержки в парах воды при комнатной температуре

Выводы

В данной работе были изучены строение и фазовое поведение комплексов амфифильных клиновидных сульфонов и полимерных оснований. Было продемонстрировано образование смектической фазы и предложена модель упаковки комплексов в бислой, демонстрирующую самопроизвольное искривление при выдержке в парах воды и образование круглых доменов на поверхности тонких пленок,

свидетельствующих о начале процесса формирования везикул. Варьируя длину алкильных цепей лигандов, можно влиять на жесткость, а следовательно, и на стабильность везикул на их основе.

Благодарности

Работа выполнена по теме Государственного задания № 124020800013-7.

Библиография

1. Pelton R., Poly (N-isopropylacrylamide)(PNIPAM) is never hydrophobic // *J. Colloid Interface Sci.* 2010. V. 348. P. 673–674.
2. Halperin A., Kröger M., Winnik F.M., Poly (N-isopropylacrylamide) phase diagrams: fifty years of research // *Angew. Chem., Int. Ed.* 2015. V. 54. P. 15342–15367.
3. Liao X., Walden G., Falcon N.D. A direct comparison of linear and star-shaped poly (dimethylaminoethyl acrylate) polymers for polyplexation with DNA and cytotoxicity in cultured cell lines // *Eur. Polym. J.* 2017. V. 87. P. 458-467.
4. Agarwal S., Zhang Y., Maji S., Greiner A., PDMAEMA based gene delivery materials // *Materials Today.* 2012. V. 15. P. 388–393
5. Giaouzi D., Pispas S. PNIPAM-b-PDMAEA double stimuli responsive copolymers: Effects of composition, end groups and chemical modification on solution self-assembly // *European Polymer Journal.* 2020. V. 135. P. 109867.
6. Faul C.F.J., Antonietti M. Ionic self-assembly: Facile synthesis of supramolecular materials // *Advanced Materials.* 2003. V. 15, N 9. P. 175.
7. Zhu X., Beginn U., Möller M., Gearba R., Anokhin D., Ivanov D. Self-Organization of Polybases Neutralized with Mesogenic Wedge-Shaped Sulfonic Acid Molecules: An Approach toward Supramolecular Cylinders // *J. Am. Chem. Soc.* 2006. V. 128, N 51. P. 16928–16937
8. Zhu X., Tartsch B., Beginn U., Möller M. Wedge-shaped molecules with a sulfonate group at the tip-a new class of self-assembling amphiphiles // *Chemistry.* 2004. V. 10, N 16. P. 3871–3878.
9. Anokhin D.V., Lejnieks J., Mourran A., Zhu X., Möller M., Kononov O., Ivanov D. Interplay between H-bonding and alkyl-chain ordering in self-assembly of monodendritic L-alanine derivatives // *Chemphyschem.* 2012. V. 23, N 13(6). P. 1470–1478.
10. Li L., Rosenthal M., Zhang H., Hernandez J., Drechsler M., Phan K., Rütten S., Zhu X., Ivanov D., Möller M. Light-Switchable Vesicles from Liquid-Crystalline Homopolymer-Surfactant Complexes // *Angewandte Chemie.* 2012. V. 124, N 46. P. 11784–11787.