

УДК 544.77:547.854.4

**САМООРГАНИЗАЦИЯ ОЛИГОМЕРНЫХ ПИРИМИДИНСОДЕРЖАЩИХ
АМФИФИЛОВ: РОЛЬ СТРУКТУРНОГО ФАКТОРА****Д.Р. Габдрахманов, Ф.Г. Валеева, А.Е. Николаев, Р.Х. Гиниятуллин, В.Э. Семенов,
В.С. Резник, Л.Я. Захарова***Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия*
E-mail: lucia@iopc.ru*Статья поступила 25 марта 2014 г.*

Изучены супрамолекулярные системы на основе тетракатионных пиримидинсодержащих ПАВ ациклического и макроциклического строения при варьировании природы спейсера. Определены критические концентрации мицеллообразования (ККМ), гидродинамический диаметр агрегатов, проанализирована упаковка молекул в поверхностном слое. Незначительные различия ККМ при варьировании природы спейсера и переходе от ациклических к макроциклическим ПАВ позволяют говорить о нивелировании структурного фактора в самоорганизации изученных соединений. Показано резкое изменение упаковки молекул при переходе от мономерного пиримидинофана к олигомерным тетракатионным амфифилам.

Ключевые слова: супрамолекулярная химия, самоорганизация, пиримидинсодержащие амфифилы, структурный фактор.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время супрамолекулярная химия представляет собой интенсивно развивающуюся междисциплинарную область знаний, объединяющую интересы исследователей в области органической и физической химии, биологии и наномедицины [1, 2]. Фундаментальные исследования в области супрамолекулярной химии создают основу для развития современных технологий. Одним из таких актуальных направлений является разработка новых наноразмерных систем-переносчиков, обеспечивающих адресную доставку лекарственных препаратов и генного материала в целевые клетки [3—6]. Для решения подобных задач широкое распространение получили катионные амфифильные соединения, обеспечивающие высокое сродство к отрицательно заряженным фосфатным остаткам ДНК [7—10]. Среди критериев, которые предъявляются к супрамолекулярным переносчикам на основе ПАВ, следует отметить биосовместимость, наномасштабный размер, низкую токсичность, улучшенную агрегационную и солюбилизационную активность. В связи с этим в значительной степени возрос интерес исследователей к мультикатионным амфифилам, содержащим в своем составе природные фрагменты, введение которых в молекулу способно значительно повысить их биологическую активность, а также понизить токсичность систем [11—13].

В современной литературе существует дефицит информации о влиянии супрамолекулярной организации наноконтейнеров на их функциональную активность. Знание закономерностей самоорганизации позволит осуществлять направленный дизайн амфифильных соединений на основе соотношений структура—свойство. Наши исследования направлены на изучение само-

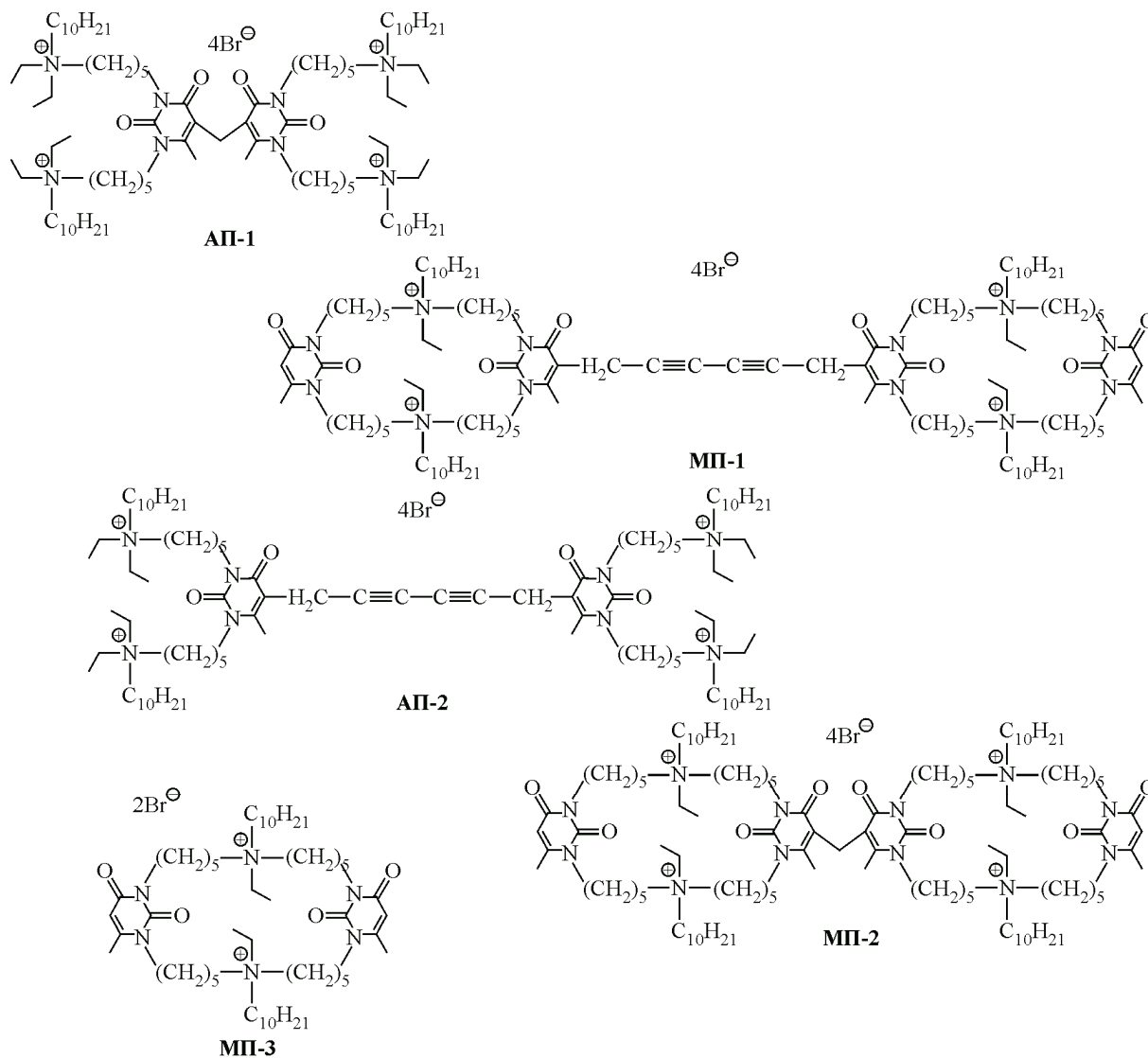


Рис. 1. Структурные формулы пиримидинсодержащих амфифилов

организации катионных ПАВ, содержащих биофрагменты, с целью создания наноконтейнеров с контролируемыми свойствами [14—18]. К наиболее привлекательным строительным блокам относятся катионные ПАВ, содержащие фрагменты, комплементарные нуклеотидным звеньям ДНК. Этим обусловлен выбор в качестве объектов исследования мультикатионных пиримидинсодержащих ПАВ.

В данной работе исследована самоорганизация новых пиримидинсодержащих амфифильных соединений ациклического (**АП-1**) и макроциклического (**МП-1**) строения (рис. 1) и проведена оценка роли структурного фактора путем сравнения агрегационных параметров, полученных для указанных соединений, с исследованными ранее аналогами **АП-2**, **МП-2** и **МП-3** [16—18]. Значительная роль геометрического фактора была показана в работе [16] на примере ряда макроциклических пиримидинсодержащих ПАВ (пиримидинофанов), включающих **МП-2** и **МП-3**. Настоящая работа является продолжением этого исследования. Данные о самоорганизации новых ациклических и макроциклических пиримидинсодержащих ПАВ позволят оценить влияние природы спейсерного фрагмента и молекулярной платформы (открытоцепной и макроциклической) на супрамолекулярную ассоциацию соединений.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Ациклические и макроциклические ПАВ были синтезированы в лаборатории Химии нуклеотидных оснований Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН с использованием опубликованных ранее синтетических процедур [17, 18]. Для приготовления растворов амфифилов использовали бидистиллированную кипяченую воду. Растворы готовили методом объемного смешения.

Поверхностное натяжение измеряли методом отрыва кольца (Дю-Нуи) с помощью тензиометра Krüss K06 (Германия) при 25 °С.

Для расчета величины максимальной адсорбции Γ_{\max} использовали уравнение адсорбции Гиббса:

$$\Gamma_{\max} = \frac{1}{2,3nRT} \lim_{C \rightarrow \text{ККМ}} (d\pi / d \log C), \quad (1)$$

где π — поверхностное давление, равное разности поверхностного натяжения растворителя (γ_0) и раствора (γ) при заданной концентрации ПАВ; значение n принимали равным 3 для дикатионного ПАВ и 5 для тетракатионных ПАВ.

Расчет значений минимальной поверхности в расчете на молекулу ПАВ (A_{\min}) и свободной энергии мицеллообразования ΔG_M проводили согласно уравнениям:

$$A_{\min} = 10^{18} / N\Gamma_{\max}, \quad (2)$$

где N — число Авогадро;

$$\Delta G_M = (1 + \beta)RT \ln(\text{ККМ}), \quad (3)$$

где β — степень связывания противоионов.

Величину степени связывания β бромидного противоиона вычисляли согласно [19]:

$$\beta = 1 - \frac{(1 + \nu_1 / \nu_2) \times \text{tg}\alpha_2}{\text{tg}\alpha_1}, \quad (4)$$

где $\text{tg}\alpha_1$ и $\text{tg}\alpha_2$ — тангенсы углов наклона линейных участков изотермы поверхностного натяжения до и после ККМ соответственно; ν_1 — число поверхностно-активных ионов, образующихся при диссоциации ПАВ; ν_2 — число противоионов, образующихся при диссоциации ПАВ.

Удельную электропроводность измеряли на кондуктометре Cond 720 фирмы "Inolab" (Германия) с использованием электрода TetraCon 325.

Размер агрегатов определяли методом динамического рассеяния света на характеристизаторе наночастиц Malvern Zetasizer Nano фирмы Malvern (Великобритания). Измерения проводили при угле рассеяния 173°. Перед измерениями образцы фильтровали через мембранные фильтры Millipore с диаметром пор 0,45 мкм для удаления пыли. Автокорреляционные функции флуктуаций интенсивности рассеянного света анализировали с использованием метода кумулянтов и программы DTS (Nano), позволяющих оценить распределение агрегатов по размерам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из важнейших факторов, определяющих агрегационное поведение димерных амфифильных молекул в водных растворах, является природа спейсерного фрагмента. В рамках данной работы рассматривается изменение агрегационных и адсорбционных характеристик при переходе от олигомерного ациклического пиримидинсодержащего амфифила с метиленовым спейсером к его аналогу с более протяженным и жестким гексадиновым спейсером (см. рис. 1). Кроме того, проанализирована роль макроциклической платформы на примере тетракатионных макроциклических аналогов МП-1 и МП-2, а также дикатионного производного МП-3.

Общепринятыми методами исследования агрегации ионных ПАВ являются тензиометрия и кондуктометрия. Переломы на концентрационных зависимостях поверхностного натяжения и удельной электропроводности для водных растворов АП-1 и АП-2 (рис. 2 и 3) свидетельст-

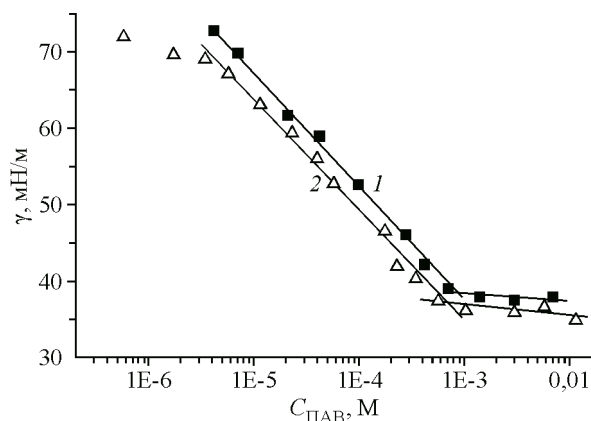


Рис. 2. Изотермы поверхностного натяжения для водных растворов АП-1 (1) и АП-2 (2); 25 °С

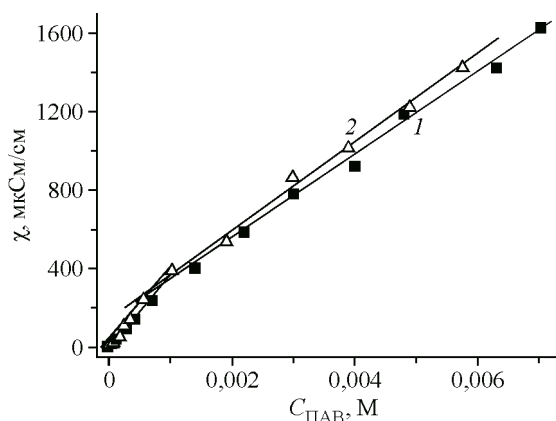


Рис. 3. Зависимость удельной электропроводности водных растворов АП-1 (1) и АП-2 (2) от концентрации ПАВ; 25 °С

вуют о начале процессов агрегации в данных системах и соответствуют величинам критической концентрации мицеллообразования (ККМ). Как видно из приведенных данных (см. таблицу), полученные значения ККМ различаются незначительно. Несколько более выраженная агрегирующая способность амфифила с гексадиновым спейсером по сравнению с его аналогом с метиленовым фрагментом обусловлена, вероятно, более высокой гидрофобностью первого. Кроме того, несмотря на присутствие тройной связи достаточно протяженный гексадиновый фрагмент способен выталкиваться в воздух в процессе адсорбции ПАВ на границе раздела вода/воздух или втягиваться внутрь агрегатов при их образовании, тем самым понижая свободную энергию системы. Подобные рассуждения подтверждаются количественными расчетами на основе тензиометрических данных, выполненными с помощью уравнений (1)–(4) (см. таблицу). В частности, получена более отрицательная величина стандартной свободной энергии мицеллообразования для АП-2 по сравнению с его аналогом с метиленовым спейсером АП-1.

Некоторые предположения об упаковке молекул могут быть сделаны на основании анализа величин A_{\min} . Приблизительно равные значения ККМ соединений АП-1 и АП-2 свидетельствуют об одинаковом вкладе энергетической составляющей в мицеллообразование этих амфифилов. Поэтому величины A_{\min} главным образом отражают специфику геометрии соединений и вполне достоверно характеризуют плотность упаковки и особенности морфологии ПАВ в поверхностном слое, а также могут быть экстраполированы для оценки конформации молекул

Величины ККМ, максимальной адсорбции Γ_{\max} , минимальной поверхности в расчете на молекулу ПАВ (A_{\min}), свободной энергии мицеллообразования ΔG_m для водных растворов тиримидинсодержащих ПАВ

ПАВ	ККМ _{тенз} (ККМ _{конд}), мМ	$10^6 \cdot \Gamma_{\max}$, моль · м ⁻²	A_{\min} , нм ²	$-\Delta G_m$, кДж · моль ⁻¹
АП-1	0,87 (0,85)	0,53	3,15	32,6
АП-2	0,72* (0,75)	0,49	3,38	33,9
МП-1	1,3 (2,1)	0,67	2,49	26,6
МП-2	1,0** (1,3**)	0,56	2,99	32,0
МП-3***	0,85 (1,0)	1,45	1,14	33,3

* Данные работы [17].

** Данные работы [16].

*** Данные работы [18].

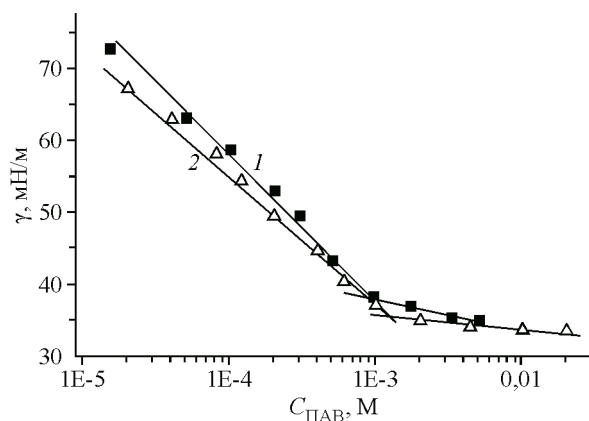


Рис. 4. Изотермы поверхностного натяжения водных растворов МП-1 (1) и МП-2 (2); 25 °С

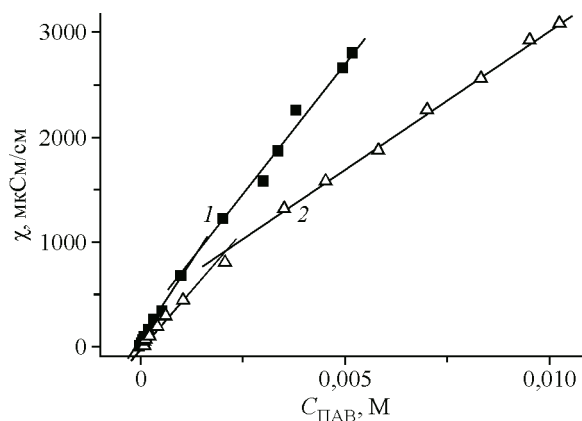


Рис. 5. Зависимость удельной электропроводности водных растворов МП-1 (1) и МП-2 (2) от концентрации ПАВ; 25 °С

в составе агрегатов. Рассчитанные значения A_{\min} намного превышают параметр $A_{\min} \sim 0,4 \text{ нм}^2$, наблюдаемый для обычных монокатионных ПАВ триметиламмониевого ряда [20], что, безусловно, определяется геометрией исследуемых амфифилов и позволяет предположить развернутую конфигурацию молекул при упаковке в поверхностном слое.

На рис. 4 и 5 представлены концентрационные зависимости поверхностного натяжения и удельной электропроводности для макроциклов МП-1 и МП-2. В этом случае несколько более низкие значения ККМ наблюдаются для пиримидинофана с метиленовым спейсером МП-2, что подтверждается более отрицательным значением свободной энергии мицеллообразования (см. таблицу). Следует отметить отсутствие четкого перелома на кондуктометрической зависимости для МП-1 и более высокие абсолютные значения удельной электропроводности. Вероятно, это обусловлено незначительным изменением концентрации ионов в растворе выше ККМ и может являться результатом низкой степени связывания противоионов. Расчет, проведенный в соответствии с [19] по изотермам поверхностного натяжения (уравнение 4), подтвердил сделанное предположение (степень связывания противоионов $\beta \leq 0,5$). В свою очередь низкая степень связывания противоионов косвенно свидетельствует о низких числах агрегации.

Сравнение олигомерных пиримидинофанов с модельным соединением МП-3 показывает, что межмолекулярная сшивка двух макроциклов, несмотря на увеличение гидрофобности в 2 раза, не только не улучшает агрегационные свойства, но приводит даже к небольшому ухудшению агрегационной способности.

Интересно, что характер межмолекулярной сшивки (монометиленовый или гексадиинный фрагменты) не оказывает значительного влияния на величину ККМ. Вероятно, это связано с тем, что положительный вклад в агрегирующую способность увеличения гидрофобности молекулы при переходе от монометиленового фрагмента к гексадиинному полностью компенсируется увеличением общей жесткости молекулы. Это снижает ее лабильность и приводит к ухудшению агрегационных характеристик. В результате действия двух противоположных факторов величина ККМ при варьировании протяженности спейсерного фрагмента изменяется незначительно. Этот результат является наглядным свидетельством увеличения роли геометрического фактора при переходе от обычных ПАВ к олигомерным амфифилам.

Анализ расчетных параметров показывает, что в целом для макроциклов наблюдаются несколько меньшие значения A_{\min} по сравнению с ациклическими аналогами. В работе [18] на примере соединения сравнения МП-3 установлено, что для пиримидинофанов может реализоваться как "вытянутая" (схема 1, а), так и "согнутая" конформация молекул, в которой макроцикл складывается по линии, соединяющей заряженные атомы азота (см. схема 1, б). Это обеспечивает гидратацию обоих катионных центров и изолирует гидрофобную часть молекул от контакта с водой. Величины A_{\min} для олигомерных макроциклов МП-1 и МП-2 гораздо выше,

чем для модельного мономера **МП-3**, что говорит о реализации некоторой промежуточной "полуоткнутой" или полностью развернутой конформации молекул при упаковке.

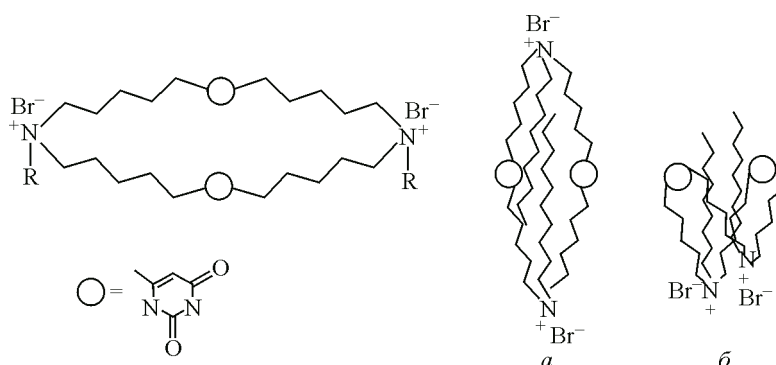


Схема 1. Схематическое изображение предполагаемой упаковки амфифильных молекул на примере макроциклического дикатионного ПАВ **МП-3**

Большие значения A_{\min} , полученные для всех исследованных ПАВ, намного превышающие этот параметр для обычных монокатионных ПАВ ($A_{\min} \sim 0,4 \text{ нм}^2$ [20]), указывают на образование агрегатов немиецеллярного типа. Действительно, данные динамического светорассеяния (рис. 6—8) свидетельствуют о мономодальном распределении частиц по размеру с преимущественной заселенностью в области, близкой к 100 нм. Для **АП-1** наблюдали образование агрегатов со средним гидродинамическим диаметром (D_H) 100—120 нм (см. рис. 6). При переходе от ПАВ с метиленовым спейсером к **АП-2** (гексадиновый спейсер) происходит некоторое снижение размеров агрегатов ($D_H \sim 40$ —60 нм) (см. рис. 7). В случае **МП-1** выше ККМ наблюдали формирование агрегатов размером ~ 100 —125 нм. Образование подобных структур в водных растворах пиримидинсодержащих ПАВ позволяет предположить, что ассоциация протекает по открытой модели. Вероятно, в отличие от классических ПАВ, ассоциирующих по так называемой закрытой модели, приводящей к образованию небольших мицеллярных агрегатов, пиримидинофаны ассоциируют по открытой модели, приводящей к крупным агрегатам (моно-, бислои, везикулы и пр.) [21]. Определяющим фактором, инициирующим изменение модели упаковки, вероятно, является геометрия амфифильных молекул и вклад стэкинговых взаимодействий гетероароматических фрагментов.

Таким образом, изучены супрамолекулярные системы на основе новых пиримидинсодержащих ПАВ ациклического и макроциклического строения и проведен анализ вклада структур-

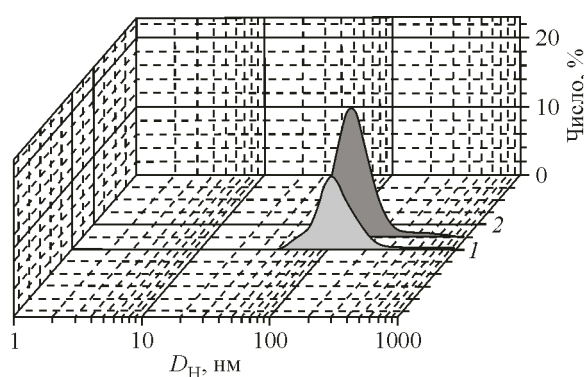


Рис. 6. Распределение агрегатов по размерам, усредненное по числу частиц, для водных растворов **АП-1** 1,4 мМ (1), 2,7 мМ (2); 25 °С

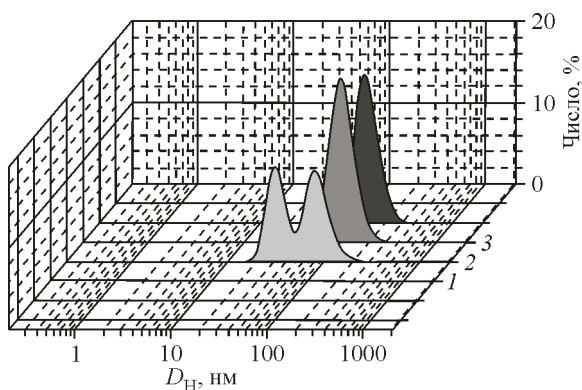


Рис. 7. Распределение агрегатов по размерам, усредненное по числу частиц, для водных растворов **АП-2** 1,0 мМ (1), 3,0 мМ (2), 5,8 мМ (3); 25 °С

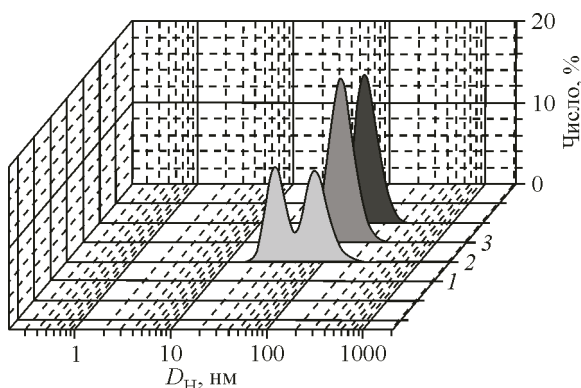


Рис. 8. Распределение агрегатов по размерам, усредненное по числу частиц, для водных растворов МП-1 1,6 мМ (1), 3,1 мМ (2), 5,2 мМ (3); 25 °С

пиридинофана к олигомерным тетракаationным амфифилам.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 13-03-00709.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Студ Дж.В., Этвуд Дж.Л. Супрамолекулярная химия. – М.: Академкнига, 2007.
2. Лен Ж.-М. Супрамолекулярная химия. Концепции и перспективы. – Новосибирск: Наука, 1998.
3. Castro M.J.L., Kovensky J., Fernandez C.A. // *Langmuir*. – 2002. – **18**. – P. 2477 – 2482.
4. Jaeger D.A., Yapin W., Pennington R.L. // *Langmuir*. – 2002. – **18**. – P. 9259 – 9266.
5. Mingqi A., Guiying X., Jinyu P., Taotao Z. // *Langmuir*. – 2009. – **25**, N 17. – P. 9721 – 9727.
6. Ménard N., Tsapis N., Poirier C., Arnauld T., Moine L., Lefoulon F., Péan J.-M., Fattal E. // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2011. – **44**, N 5. – P. 595 – 601.
7. Feng W., Luo R., Xiao J., Ji P., Zheng Zh. // *Chem. Eng. Sci.* – 2011. – **66**. – P. 4807 – 4813.
8. Григорьев И.В., Коробейников В.А., Чересиз С.В., Покровский А.Г., Захарова Л.Я., Воронин М.А., Лукашенко С.С., Коновалов А.И., Зув Ю.Ф. // *Докл. АН*. – 2012. – **445**, № 3. – С. 349 – 352.
9. Rosa M., Graça Miguel M., Lindman B. // *J. Coll. Int. Sci.* – 2007. – **312**. – P. 87 – 97.
10. Brito R.O., Silva S.G., Fernandes R.M.F., Marques E.F., Enrique-Borges J., do Vale M.L.C. // *Colloids Surf., B*. – 2011. – **86**, N 1. – P. 65 – 70.
11. Arjun G., Joykrishna D. // *Langmuir*. – 2009. – **25**, N 15. – P. 8466 – 8472.
12. Ménard N., Tsapis N., Poirier C., Arnauld T., Moine L., Lefoulon F., Péan J.-M., Fattal E. // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2011. – **44**. – P. 595 – 601.
13. Sabitha M., Rejinold N.S., Lakshmanan A.N.V.-K., Shantikumar V.N., Jayakumar R. // *Carbohydrate Polymers*. – 2013. – **91**. – P. 48 – 57.
14. Zakharova L.Ya., Voronin M.A., Gabdrakhmanov D.R., Semenov V.E., Giniyatullin R.Kh., Syakaev V.V., Latypov Sh.K., Reznik V.S., Konovalov A.I., Zuev Yu.F. // *ChemPhysChem*. – 2012. – **13**. – P. 788 – 796.
15. Kharlamov S.V., Voronin M.A., Semenov V.E., Gabdrakhmanov D.R., Nikolaev A.E., Reznik V.S., Zakharova L.Ya., Konovalov A.I. // *Colloids Surf., B*. – 2013. – **111**. – P. 218 – 223.
16. Zakharova L.Ya., Semenov V.E., Syakaev V.V., Voronin M.A., Gabdrakhmanov D.R., Valeeva F.G., Mikhailov A.S., Voloshina A.D., Reznik V.S., Latypov Sh.K., Konovalov A.I. // *Mater. Sci. Eng., C*. – 2014. – **38**. – P. 143 – 150.
17. Габдрахманов Д.Р., Воронин М.А., Семенов В.Э., Валеева Ф.Г., Гиниятуллин Р.Х., Николаев А.Е., Захарова Л.Я., Резник В.С. // *Вестн. Казан. технол. ун-та*. – 2011. – **18**. – С. 27 – 30.
18. Zakharova L.Ya., Semenov V.E., Voronin M.A., Valeeva F.G., Ibragimova A.R., Giniyatullin R.Kh., Chernova A.V., Kharlamov S.V., Kudryavtseva L.A., Latypov Sh.K., Reznik V.S., Konovalov A.I. // *J. Phys. Chem. B*. – 2007. – **111**. – P. 14152 – 14162.
19. Русанов А.И., Файнерман В.Б. // *Докл. АН СССР*. – 1989. – **308**. – С. 651 – 654.
20. Okuda H., Imae T., Ikeda S. // *Colloids Surf.* – 1987. – **27**. – P. 187 – 200.
21. Attwood D. // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 1995. – **55**. – P. 271 – 303.