

Курсовая работа
кафедра физики полимеров и кристаллов
физический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова

Половников Кирилл

**«Везикулярная структура в разбавленном растворе
гребнеобразных макромолекул гомополимера с
жесткими боковыми группами»**

*Vesicular structure in dilute solution of comblike macromolecules with stiff side
chain groups*

Научный руководитель:
д. ф.-м.н., профессор Потемкин И.И.

Москва
21.04.2014

Содержание

• Введение	2
• Применение везикул	2
• Способы получения везикул	4
• Актуальность гребнеобразных полимеров	9
• Модель: структура бислоя и свободная энергия	12
• Энергия скелета макромолекул в растворе	15
• Поверхностная энергия везикулы	19
• Объемная энергия бислоя	20
• Энтропия перескока цепей	21
• Полная свободная энергия на одну цепь	22
• Анализ и обсуждение полученных результатов	23
• Выводы	30
• Ссылки	31

Введение

Применение везикул

Везикула – супрамолекулярная структура, образованная из амфифильных молекул. Леофобные части молекул заключены в мембране, а леофильные образуют корону и ядро везикулы, контактируя с растворителем.

При первом взгляде на везикулярную структуру возникает вопрос о причинах сворачивания цепей – а не формирования более простого по геометрии плоского бислоя. Как правило, термодинамическая выгода от образования везикулярной структуры заключается в поверхностном натяжении леофобной мембраны с растворителем и набухании цепей в корональной части. С другой стороны, набухшие цепи в ядре оказываются на меньшем расстоянии друг к другу при искривлении, но этот отрицательный фактор компенсируется возможностью перескока цепей из ядра в корону.

Сегодня везикулярная структура находит применение в различных областях: от косметики до направленной доставки лекарств [1] и создания нанореакторов [2].

Самым известным примером формирования везикулы в природе является липидный бислой в фосфолипидной клеточной мембране, защищающей ДНК клетки и отвечающий за транспорт необходимых питательных веществ внутрь клетки [3].

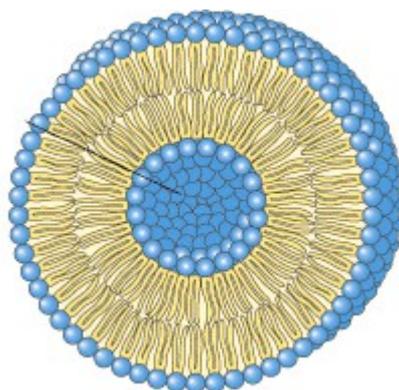


Рис. 1. Липосома

Вследствие сложности методов получения и дороговизны вирусных векторов, везикулярная структура активно изучается в качестве основы для невирусной доставки генов. Для организации подобной доставки генетического материала используют катионные липосомы. [4-5] Катионные липиды нейтрализуют отрицательно заряженную ДНК, в результате чего формируются очень компактные структуры с общим положительным зарядом, называемые липоплексами. На данный момент такой подход реализован для организации доставки генов в печень [6].

Одним из основных направлений применения синтезированных везикул является точечная доставка лекарств. Задача состоит в организации доставки везикулы к нужному месту в организме человека и последующем высвобождении лекарственного препарата. При транспорте к больному участку, лекарство не влияет на другие органы и минимизируются побочные действия препарата.

Одной из основных проблем для создания подобной технологии является приготовление везикулы, которая высвобождала бы свое содержимое в нужном сайте мишени и при этом была устойчива в других местах организма человека. В качестве одного из способов контроля за

полимерной структурой является локальное использование физических или химических стимулов, которые вызывают распад везикулы. Это, например, нагревание нужной части тела человека [7-8], воздействие ультрафиолетом (в случае наличия фотохромных липидов в везикуле, происходит фотоизомеризация в пространственную конформацию, не совместимую с организацией бислоя в мембране) [9] или создание липосом, чувствительных к изменению pH (подходит для лечения опухолей, pH в которых немного ниже, чем в нормальных тканях) [10-11]. Однако на сегодняшний день подбор необходимых ингредиентов для везикулярной формы и создание соответствующих условий все еще является нерешенной задачей.

Способы получения везикул

Известно, что организация амфифильных *линейных сополимеров* в водном растворе приводит к образованию разнообразных структур: ламелей, цилиндрических и сферических мицелл, а также везикул. [12, 13] В зависимости от характера взаимодействия полимеров каждого сорта с растворителем, внешних факторов, а также размеров каждого блока будут формироваться те или иные структуры. Во многих работах, описывающих получение везикул из амфифильных блок-сополимеров, авторы обращают внимание на широкую полидисперсность образуемых конгломератов.

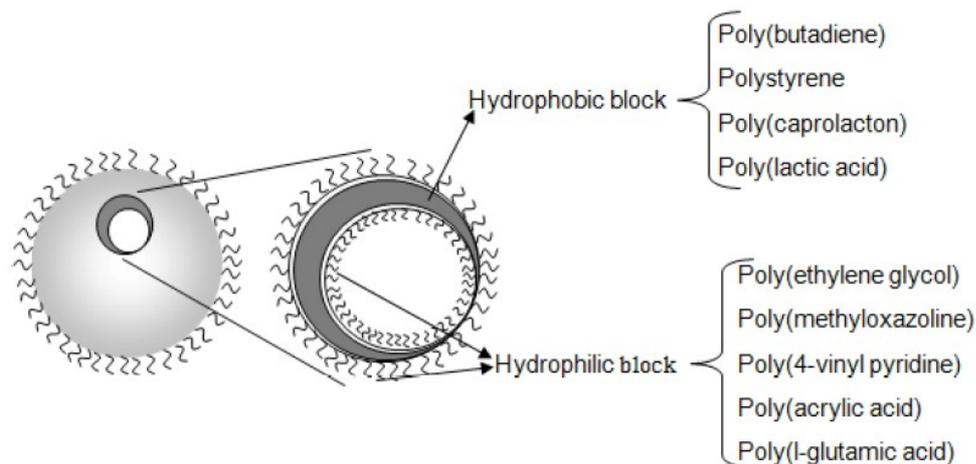


Рис. 2. Примеры блок-сополимеров, способных образовывать везикулы [1].

Другой перспективный способ получить везикулы в эксперименте – использование разветвленных полимеров. Были получены везикулы на основе *сильно разветвленных полимеров* [14], а также *дендримеров* [15]. Последний способ представляет существенный интерес с точки зрения получения слабо полидисперсных структур. В работе по организации дендримеров с гидрофобными и гидрофильными участками (янусовские дендримеры) [15] получены «гигантские» везикулы до 50 мкм с тонкой мембраной в несколько нанометров. Малая толщина бислоевой мембраны означает, что дендримерные везикулы можно успешно использовать для последующего внедрения в ядро протеинов, например мелитина – получаемого из пчелиного яда, который в небольших количествах может оказывать бактерицидное воздействие.

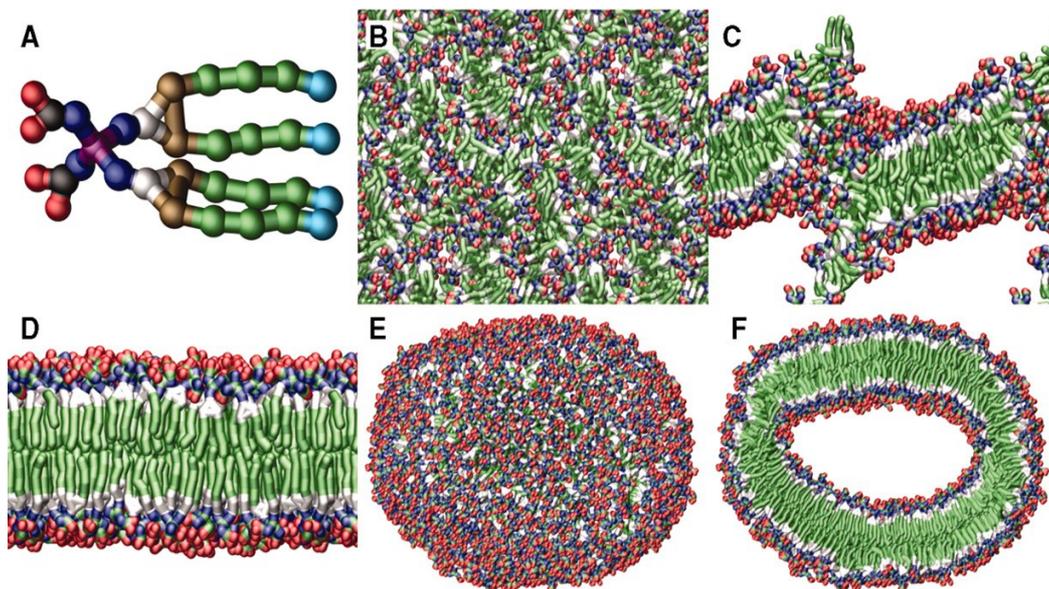


Рис. 3. Образование везикулярной структуры в янусовском дендримере. Снимки получены из моделирования методом молекулярной динамики [15]

На фоне проблем контроля за устойчивостью везикулы по мере ее продвижения по организму в задаче о точечной доставке, липосомы с жидкокристаллической мембраной предлагают новые возможности по управлению состоянием структуры и могут ускорить процесс генерации перспективных для фармацевтики наночастиц.

В эксперименте группы Мёллера [16] исследовалась самоорганизация специфических гребнеобразных макромолекул с растворимым поливинилпиридиновым скелетом (P2VP) с жесткими боковыми группами из азобензоевой сульфокислоты. Азобензол не растворим в воде и при не очень высоких температурах принимает кристаллическую фазу. С другой стороны, азобензол восприимчив к ультрафиолету: меняет транс-конформацию на цис- (не совместимую с геометрией мембраны), и везикула распадается. Это обстоятельство предлагает способ управления устойчивостью везикулярной структуры.

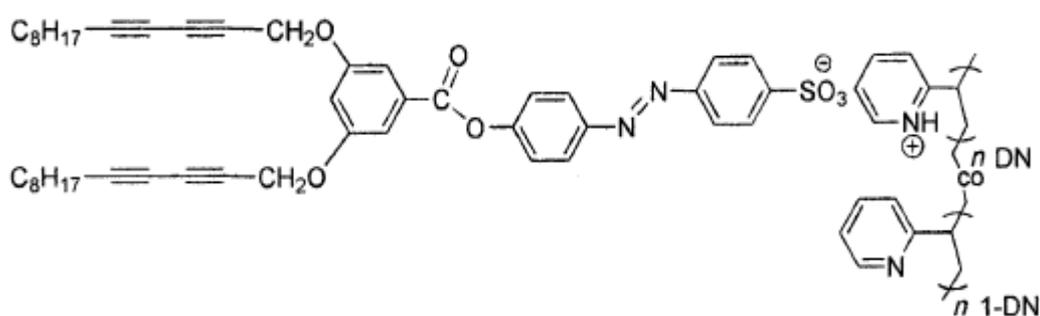


Рис. 4. Химическая структура P2VP и азобензоиловой сульфокислоты [16]

Полученные в работе [16] везикулы имеют разный размер, и некоторые видны в оптический микроскоп, что означает, что, среди прочих, имеются достаточно большие равновесные структуры, порядка нескольких микрометров. Наблюдались униламелярные везикулы и луковидные везикулы, имеющие мультиламелярные бислои, как показано на рис. 5. Получено изображение везикулы с характерным луковым строением с помощью крио-ПЭМ микроскопии, рис. 6.

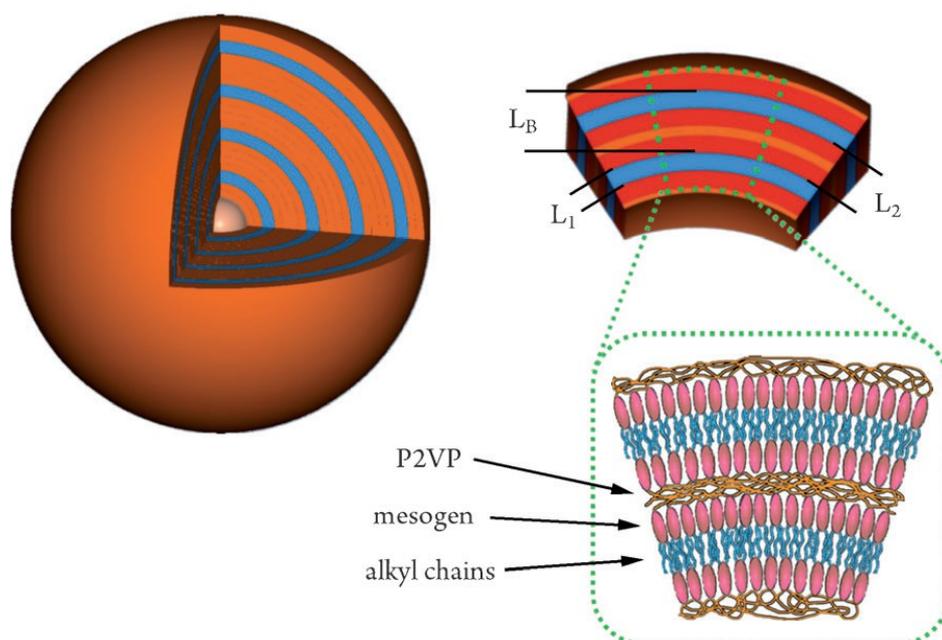


Рис. 5. Модель мультиламелярной везикулы, наблюдаемой в [16]

Также было отмечено, что образование везикул происходило при не очень больших степенях полимеризации винила, то есть, при не очень малой плотности пришивки боковых жидкокристаллических групп. Другими словами, существовала верхняя граница для размера «спейсеров» между двумя пришивками, при которой еще формировались везикулы. С одной стороны, это обстоятельство можно объяснить гидрофильностью пиридина, который и отвечает за растворимость скелета макромолекул. С другой, как будет показано в этой работе, это связано с термодинамической неустойчивостью везикул из полимеров со слишком малой плотностью пришивки.

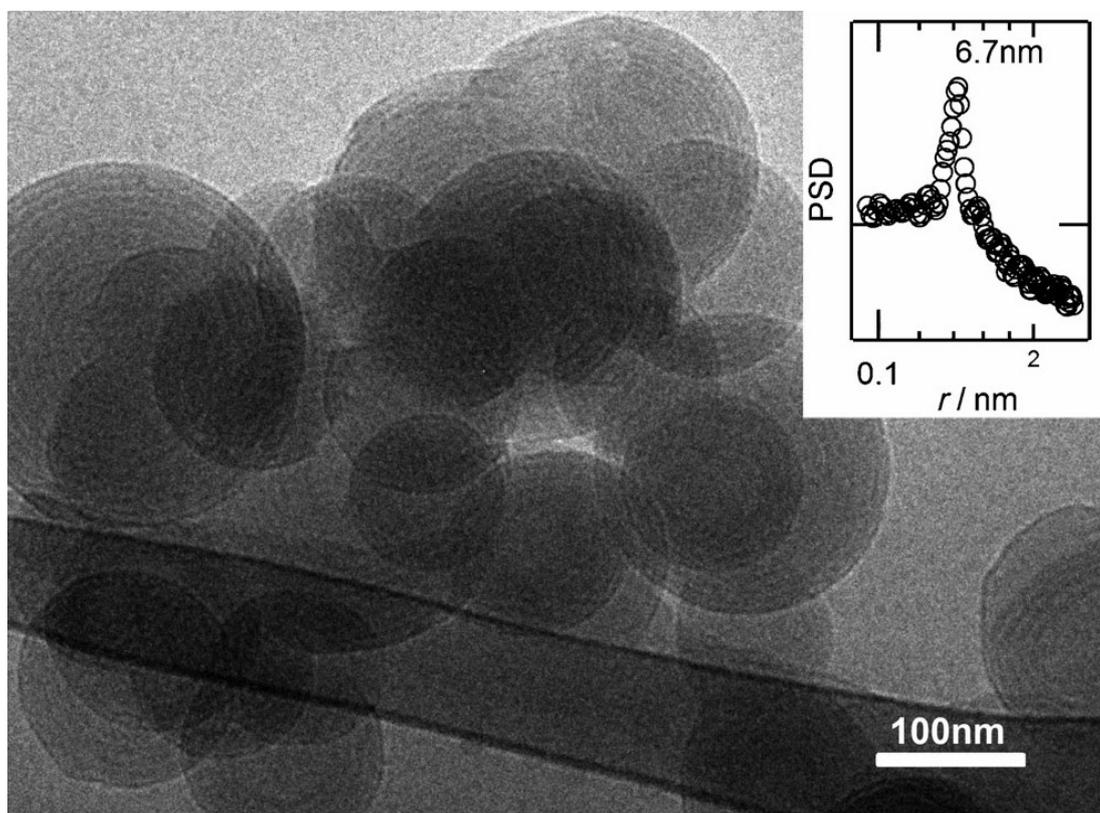


Рис. 6. Изображение луковидных везикул, полученное с помощью крио-ПЭМ микроскопии [16].

Актуальность гребнеобразных полимеров

Полимерные щетки широко известны своими полезными равновесными конформациями и вытекающими из них физическими свойствами. Будучи еще не до конца изученной системой, щетки на протяжении многих десятилетий привлекали внимание исследователей своей известной способностью к жидкокристаллическому упорядочению. Такая самоорганизация предлагает новые возможности по созданию функциональных материалов и молекулярных моторов [17, 18]. Более того является моделью биологических структур, таких как протеогликанов [19-21], участвующих в клеточных процессах.

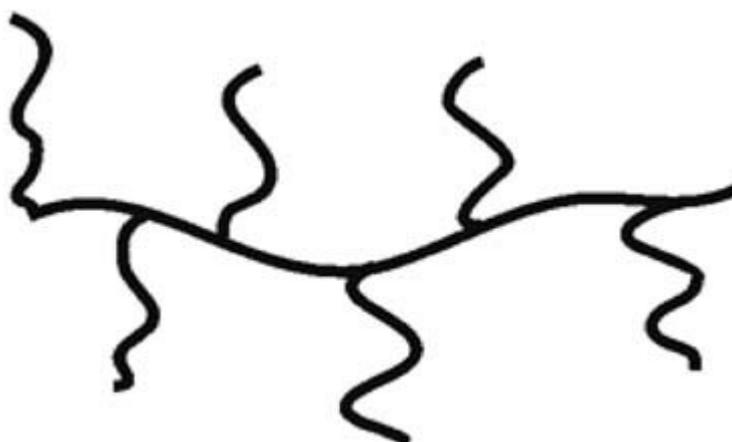


Рис. 6. Архитектура гребнеобразной макромолекулы с гибкими боковыми группами [40]

Рассмотрение подобных систем, в том числе, связано с возможным получением везикулярных структур при самоорганизации гребнеобразных макромолекул. В данной работе показана стабильность везикулярной структуры с жидкокристаллическим бислоем в случае жестких боковых групп при малой плотности пришивки на макромолекуле.

Известно, что в полуразбавленных растворах нематическое упорядочение достигается при достаточной жесткости макромолекулы, а именно, если

отношение персистентной длины к диаметру щетки превышает определенное значение, $\lambda/D \geq 10$ [22, 23]. Именно поэтому исследование свойств щеток зачастую сопровождалось теоретическим анализом характера зависимости персистентной длины от молекулярной массы пришитых групп и числа мономеров основной цепи («скелета») между соседними пришивками. Вычисления проводились как для гибких боковых цепей, так и в случае стержневых пришивков.

Несмотря на то, что начиная уже с первых компьютерных симуляций [24, 25] и экспериментальных наблюдений [26] и заканчивая скейлинговыми методами [27] показано, что с повышением плотности пришивки растет жесткость макромолекулы, а с ней и персистентная длина – более подробная информация о характере зависимости персистентной длины от параметров щетки в случае гибких боковых групп остается чрезвычайно противоречивой [28-35]. В некоторых экспериментальных работах, в которых был обнаружен нематический порядок, соотношение $\lambda/D \geq 10$ не выполнялось [36], поэтому, возможно, это и не является строгим критерием для формирования жидкокристаллического порядка. Так или иначе, получение жидкокристаллической фазы в системе гребнеобразных полимеров с гибкими боковыми группами, как минимум, трудноосуществимо.

В связи с этим вполне закономерно повышение внимание научных групп к макромолекулам с жесткими, стержневыми боковыми группами [37, 38]. Такие системы изначально содержат мезогенные группы, способные образовывать жидкокристаллические фазы. В данной работе мы исследуем равновесную организацию цепей макромолекул с жесткими боковыми группами и гибким скелетом, характеризующихся малой плотностью пришивки, в разбавленном растворе. Растворитель предполагается

хорошим для скелета, звенья которого набухают и формируют «корону» и «ядро» в конечной равновесной структуре. Мезогенные группы, в свою очередь, имеют большой параметр несовместимости с растворителем и стремятся уменьшить число энергетически невыгодных контактов.

Малая плотность пришивки, соответствующая случаю $m > d$, где m – число мономеров основной цепи между соседними мезогенными группами, а d – длина боковых групп, выбрана для более свободной самоорганизации макромолекул в растворителе и для более податливого искривления макромолекул. Вместе с тем, обратный случай, $m \ll d$, отвечающий высокой плотности пришивки, соответствует формированию так называемых жестких цилиндрических гребнеобразных макромолекул [39]. В этом случае, персистентная длина оказывается порядка контурной длины молекулы и не оставляет шансов термодинамической самоорганизации цепей в равновесные структуры.

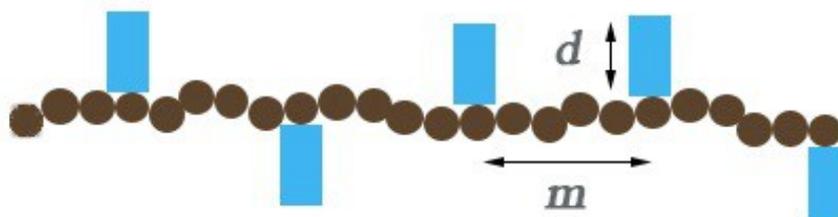


Рис. 7. Архитектура гребнеобразной макромолекулы с жесткими боковыми группами и гибким скелетом

Модель: структура бислоя и свободная энергия

Свободная энергия везикулы определяется энергией цепей скелета в растворе F_{bb} (в «короне» и в «ядре»), поверхностной энергией F_{surf} верхней и нижней границ контакта бислоя с растворителем, энергией взаимодействия боковых групп с раствором в объеме бислоя F_{bil} , а также энтропийным членом $F_{flip-flop}$, связанным с возможностью свободного перескока мезогенных групп из нижнего слоя в верхний, а также .

$$F = F_{bb} + F_{surf} + F_{f-h} + F_{flip-flop} \quad (1)$$

Стоит отметить, что главным противоборствующим образованию устойчивой везикулы фактором является F_{bil} , связанный с неизбежным затеканием растворителя внутрь бислоя. Этот фактор стремится уменьшить свободный от мезогенных групп объем сферического бислоя, а значит, уменьшить кривизну везикулы. Предельным случаем является плоская ламель, внутри которой нет растворителя. С другой стороны, единственный член в свободной энергии, стремящийся изогнуть поверхность плоского бислоя — это энергия скелета в растворителе при эффекте исключенного объема: чем больше кривизна везикулы, тем больше среднее расстояние между мономерами скелета. По сути, подбор параметров, входящих в эти два вклада, и будет главным образом определять устойчивость структуры.

Пространственное распределение мезогенных групп должно быть оптимизировано таким образом, чтобы их доля в бислое была максимальной. В этом случае контакт групп с плохим для них растворителем будет минимальным вместе с энергией бислоя, и возможно

искривление макромолекул и агрегация в везикулы. В данной работе получены оптимальные размеры везикулы, и, по подсчетам, доля боковых групп в бислое составила 98-99% – можно сделать вывод об адекватности рассматриваемой модели.

Очевидно, что это распределение должно быть сферически-симметричным и одинаковым в верхней и нижней частях бислоя, поскольку эти части независимы. Поэтому задача об оптимальном распределении внутри бислоя сводится к поиску оптимального распределения в одном слое толщины d . Чтобы минимизировать контакт групп с плохим растворителем в слое, мы должны расположить боковые группы максимально плотно, тем самым, уместив в сферическом слое заданной толщины максимальное число боковых групп.

Рассмотрим нижнюю поверхность слоя с меньшим радиусом кривизны. Эффективная проекция одной стержневой группы, моделируемой цилиндром, на сферическую поверхность будет минимальной в случае расположения оси цилиндрической группы вдоль радиуса везикулы. Уместив все группы таким образом, мы получим, что вся нижняя поверхность слоя покрыта цилиндрическими мезогенами, и их число будет максимально. Аналогично будут распределены группы в верхнем слое, образуя структуру бислоя, показанную на рис. 8. Конечно, на верхней поверхности бислоя расстояние между центрами групп уже не будет равно диаметру цилиндра одной группы, что и приведет к затеканию растворителя внутрь бислоя. Однако рассматриваемая жидкокристаллическая структура минимизирует долю растворителя, а значит, вклад энергии бислоя в полную свободную энергию.

В данной работе мы докажем стабильность везикулы с

жидкокристаллическим бислоем и получим ее оптимальные размеры.

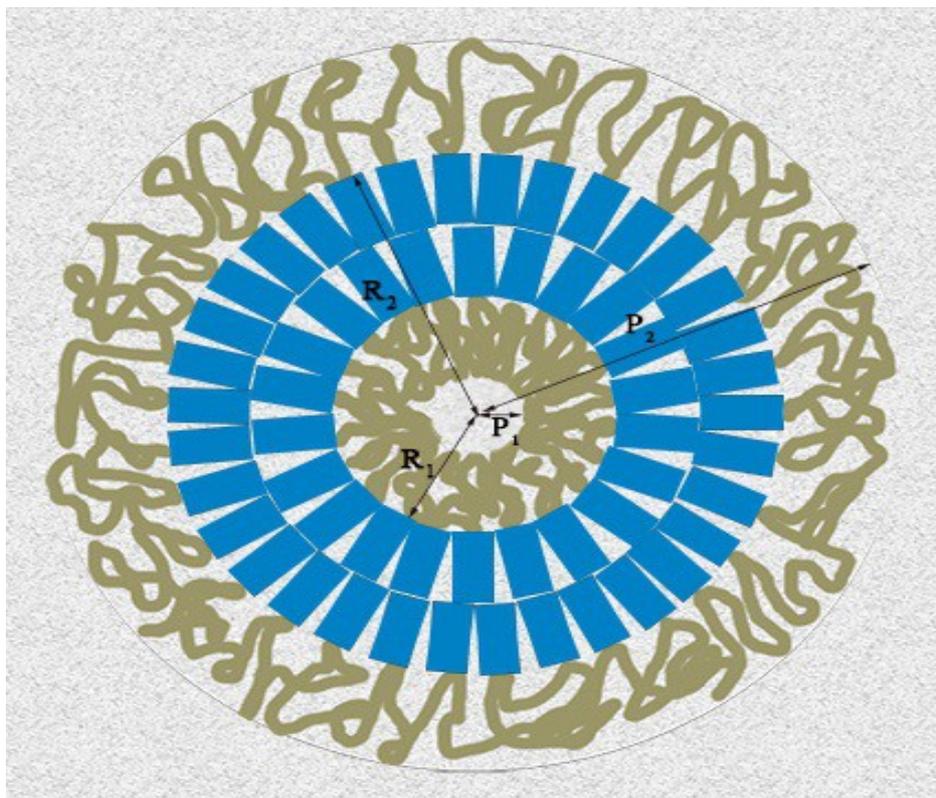


Рис. 8. Везикулярная структура, обсуждаемая в работе

Пусть m число мономеров скелета между двумя соседними боковыми группами; d – длина мезогенных групп; N – степень полимеризации скелета; σ – площадь цилиндрического стержня, пришитого к основной цепи; φ – доля макромолекул в везикуле, формирующая ядро и нижний LC-слой, Q – агрегационное число везикулы; R_1 , R_2 , ρ_1, ρ_2 – характерные радиусы, показанные на рис. 8.

Можно заметить, что объемная доля мезогенов в бислое зависит от радиуса структуры, и поэтому невозможно записать условие на плотную упаковку внутри объема бислоя. Однако вслед за найденным оптимальным распределением мы получили два условия на плотное расположение

боковых групп на нижней поверхности бислоя и в его середине:

$$\begin{aligned} 4 \pi R_1^2 &= \frac{N}{m} \varphi Q \sigma \\ 4 \pi (R_1 + d)^2 &= \frac{N}{m} (1 - \varphi) Q \sigma \end{aligned} \quad (2)$$

Мы записали два уравнения из трех переменных: R_1 , Q и φ , откуда можно получить зависимости доли цепей в нижнем слое φ и агрегационного числа Q от радиуса R_1 , тем самым, выразив все параметры везикулы через одну переменную:

$$\begin{aligned} \varphi &= \frac{1}{1 + \left(1 + \frac{d}{R_1}\right)^2} \\ Q &= 4 \pi \left(\frac{N}{m} \sigma\right)^{-1} R_1^2 \left[1 + \left(1 + \frac{d}{R_1}\right)^2\right] \end{aligned} \quad (3)$$

Энергия скелета макромолекул в растворе

Вследствие того, что мы работаем с гребнеобразными макромолекулами с малой плотностью пришивки, число мономеров скелета между соседними пришивками достаточно велико и данные «спейсеры», образующие «корону», сильно переплетены. Набухший в растворителе скелет можно считать однородным полуразбавленным раствором [39]. Объемная плотность энергии полимера в хорошем растворителе в приближении второго вириального коэффициента запишется:

$$F_{bb}^v = B n^2 \quad (4)$$

где B – второй вириальный коэффициент, n – средняя концентрация

ЗВЕНЬЕВ.

Для подсчета энергии взаимодействия цепей скелета с растворителем, воспользуемся представлением блобов: каждый блоб имеет размер ξ и состоит из g мономеров. Внутри блоба цепи ведут себя как набухшие [40, 41], поэтому $\xi \sim g^{3/5} a^{2/5} B^{1/5}$. На расстояниях, больших ξ , корреляции между мономерными звеньями слабы, а каждый блоб можно считать гауссовой цепью, проведя перенормировку: $\hat{a} = \xi / g^{1/2}$, с новым коэффициентом \hat{B} . Каждый блоб, являясь гауссовой цепочкой, имеет энергию порядка кТ. Поэтому $\hat{B} n g \approx 1$, где концентрация $n = g / \xi^3$ и $\xi = \hat{a} g^{1/2}$. Тогда объемная свободная энергия цепей запишется как:

$$F_{bb}^v = \hat{B} n^2 = \frac{1}{n g} \frac{g^2}{\xi^6} = \frac{1}{\xi^3} \quad (5)$$

Полная свободная энергия получается интегрированием объемной по двум сферическим слоям, представляющим корону и ядро:

$$F_{bb} = F_{crown} + F_{core} = \int_{V_1+V_2} \frac{dV}{\xi^3} \quad (6)$$

Условие на плотную упаковку блобов дает следующие уравнения связи для короны и ядра соответственно:

$$\begin{aligned} \frac{2N}{m} (1-\varphi) Q \xi^2 &= 4\pi r^2 \\ \frac{2N}{m} \varphi Q \xi^2 &= 4\pi r^2 \end{aligned} \quad (7)$$

Используя эти условия и интегрируя по соответствующим объемам, получим вид свободной энергии короны и ядра:

$$F_{crown} = \int_{R_2}^{\rho_2} 4\pi r^2 dr \left[\frac{2N(1-\varphi)Q}{4\pi m} \right]^{3/2} \frac{1}{r^3} = \frac{1}{\sqrt{4\pi}} \left[\frac{2N(1-\varphi)Q}{m} \right]^{3/2} \ln\left(\frac{\rho_2}{R_2}\right) \quad (8)$$

$$F_{core} = \int_{\rho_1}^{R_1} 4\pi r^2 dr \left[\frac{2N\varphi Q}{4\pi m} \right]^{3/2} \frac{1}{r^3} = \frac{1}{\sqrt{4\pi}} \left[\frac{2N\varphi Q}{m} \right]^{3/2} \ln\left(\frac{R_1}{\rho_1}\right) \quad (9)$$

$$F_{bb} = F_{crown} + F_{core} = \frac{1}{\sqrt{4\pi}} \left[\frac{2NQ}{m} \right]^{3/2} \left[(1-\varphi)^{3/2} \ln\left(\frac{\rho_2}{R_2}\right) + \varphi^{3/2} \ln\left(\frac{R_1}{\rho_1}\right) \right] \quad (10)$$

Также мы должны учесть условие на объемную долю в короне и в ядре:

$$\begin{aligned} \int_{V_2} \phi dV &= a^3 N(1-\varphi)Q \\ \int_{V_1} \phi dV &= a^3 N\varphi Q \end{aligned} \quad (11)$$

где V_1, V_2 – объемы ядра и короны соответственно; ϕ – объемная доля, которая может быть выражена через размер блоба:

$$\phi = n a^3 = \frac{g a^3}{\xi^3} = \frac{a^{4/3}}{\xi^{4/3} \tau^{4/3}} \quad (12)$$

где τ – безразмерный второй вириальный коэффициент, $B = \tau a^3$.

Условия плотной упаковки на объемную долю дают информацию о связи внутреннего радиуса с внешним для короны и ядра:

$$\begin{aligned} \rho_2^{5/3} &= R_2^{5/3} + \frac{5}{3} \left[\frac{a^5 N(1-\varphi)Q\tau m^2}{16\pi} \right]^{1/3} \\ R_1^{5/3} &= \rho_1^{5/3} + \frac{5}{3} \left[\frac{a^5 N\varphi Q\tau m^2}{16\pi} \right]^{1/3} \end{aligned} \quad (13)$$

Используя эту связь, получим выражение для свободной энергии цепей скелета, отнесенной к одной цепи:

$$\frac{F_{bb}}{Q} = A' Q^{1/2} \left[(1-\varphi)^{3/2} \ln \left(1 + \frac{C' (1-\varphi)^{1/3} Q^{1/3}}{R_2^{5/3}} \right) - \varphi^{3/2} \ln \left(1 - \frac{C' \varphi^{1/3} Q^{1/3}}{R_1^{5/3}} \right) \right] \quad (14)$$

где A' и C' – константы: $A' = \frac{3}{5} \sqrt{\frac{2}{\pi}} \left(\frac{N}{m} \right)^{3/2}$, $C' = \frac{5}{3} \left[\frac{a^5 m^2 N \tau}{16 \pi} \right]^{1/3}$.

Дополнительное условие для минимизации, вообще говоря следующее из условия на объемную долю в ядре, можно получить также из области определения логарифма:

$$R_1^5 > C'^3 \varphi Q \quad (15)$$

что физически означает, что меньший радиус везикулы должен быть достаточно большим, чтобы в ядре в набухшем состоянии находилось соответствующее число цепей.

Теперь учтем условия на плотную упаковку мезогенных групп на поверхностях везикулы (3) и подставим зависимости φ и Q от R_1 в найденное выражение для свободной энергии. После преобразований получим:

$$\frac{F_{bb}}{Q} = A R_1 \left[\frac{\alpha^3}{1+\alpha^2} \ln \left(1 + \frac{C}{R_1 \alpha^{8/3}} \right) - \frac{1}{1+\alpha^2} \ln \left(1 - \frac{C}{R_1} \right) \right] \quad (16)$$

где $\alpha = 1 + \frac{d}{R_1}$; $A = \frac{6N}{5m} \sqrt{\frac{2}{\sigma}}$, $C = \frac{5}{3} \left[\frac{a^5 m^3 \tau}{4\sigma} \right]^{1/3}$ – постоянные коэффициенты.

Условие на минимальное значение радиуса примет простой вид:

$$R_1 > C \quad (17)$$

Поверхностная энергия везикулы

Из рис. 8 видно, что нижняя поверхность везикулы полностью покрыта мезогенными группами и контактирует с растворителем. Однако верхняя поверхность, в силу геометрии, не полностью замощена боковыми группами:

$$F_{surf}^1 = \gamma_0 4 \pi R_1^2 \quad (18)$$

$$F_{surf}^2 = \gamma_0 Q (1 - \varphi) \frac{N}{m} \sigma \quad (19)$$

С учетом выражений для φ и Q (3), получим выражение для суммарной поверхностной энергии, отнесенной к одной цепи:

$$\begin{aligned} \frac{F_{surf}}{Q} &= \gamma_0 \frac{(4 \pi R_1^2 + Q (1 - \varphi) \frac{N}{m} \sigma)}{Q} = \gamma_0 \left(4 \pi \frac{R_1^2}{Q} + (1 - \varphi) \frac{N}{m} \sigma \right) = \gamma_0 \frac{N}{m} \sigma \left(\frac{1}{1 + \alpha^2} + \frac{\alpha^2}{1 + \alpha^2} \right) \\ &= \gamma_0 \frac{N}{m} \sigma \end{aligned} \quad (20)$$

Таким образом, вклад поверхностной энергии на одну цепь постоянен и не зависит от размеров везикулы.

Объемная энергия бислоя

Энергия бислоя является определяющим вкладом в свободную энергию везикулы, поскольку учитывает сильно нежелательное взаимодействие мезогенных групп с растворителем. Затекание растворителя внутрь бислоя неизбежно, однако, предложенная оптимальная структура бислоя обеспечивает минимум невыгодных контактов.

Объемную свободную энергию взаимодействия групп друг с другом и с растворителем можно записать в рамках решеточной модели Флори-Хаггинса [42, 43]:

$$F_{f-h}^v = -\chi \phi^2 + (1-\phi) \ln(1-\phi) \quad (21)$$

где χ – параметр Флори-Хаггинса, а ϕ – объемная доля групп в бислое:

$$\phi = \frac{\frac{N}{m} Q \sigma d}{\frac{4}{3} \pi (R_2^3 - R_1^3)} \quad (22)$$

Здесь опущено слагаемое, линейное по ϕ , поскольку в конечном счете, этот вклад будет пропорционален агрегационному числу и даст постоянный член в итоговом выражении. Первое слагаемое представляет несовместимость мезогенных групп и растворителя, второе учитывает взаимодействия типа исключенного объема самих мезогенов. Вклад трансляционной энтропии цепей опущен в виду его малости по сравнению с остальными членами.

Итак, полная свободная энергия бислоя, отнесенная к одной цепи, равна:

$$\frac{F_{f-h}}{Q} = -\chi \left(\frac{N}{m} \sigma d \right)^2 \frac{Q}{R_2^3 - R_1^3} + \left(1 - \frac{\frac{N}{m} \sigma d Q}{R_2^3 - R_1^3} \right) \ln \left(1 - \frac{\frac{N}{m} \sigma d Q}{R_2^3 - R_1^3} \right) \quad (23)$$

Перепишем это выражение с использованием уравнений (3):

$$\frac{F_{f-h}}{Q} = -H * u(R_1) + 2 \frac{N}{m} \sigma d \left(1 - \frac{u(R_1)}{2} \right) \ln \left(1 - \frac{u(R_1)}{2} \right) \frac{1}{u(R_1)} \quad (24)$$

$$\text{где } u(R_1) = \frac{1 + \alpha^2}{\alpha^2 + \frac{d^2}{3R_1^2}} \text{ и } \alpha = 1 + \frac{d}{R_1} .$$

Параметр Флори-Хаггинса может быть выражен через коэффициент поверхностного натяжения, как $\chi \sim \gamma_0^2$ [42]

$$H = \chi \frac{N}{m} \sigma d \sim \gamma_0^2 \frac{N}{m} \sigma d \quad (25)$$

Энтропия перескока цепей

Энтропийный член перескока играет существенную роль в стабилизации везикулы. Его максимум, конечно, достигается при симметричном распределении макромолекул в слоях, однако, возможность перескока цепей с нижней поверхности на верхнюю позволяет искривлять поверхность плоской ламели и, в конечном счете, выигрывать за счет энергии вытяжки звеньев в верхнем слое.

$$\frac{F_{flip-flop}}{Q} = \varphi \ln \varphi + (1 - \varphi) \ln (1 - \varphi) \quad (26)$$

В одной переменной R_1 , с учетом уравнений (3), слагаемое запишется:

$$\frac{F_{flip-flop}}{Q} = \frac{1}{1 + \alpha^2} \ln \frac{1}{1 + \alpha^2} + \frac{\alpha^2}{1 + \alpha^2} \ln \frac{\alpha^2}{1 + \alpha^2} \quad (27)$$

Полная свободная энергия на одну цепь

$$\begin{aligned} \frac{F}{Q} = A R_1 \left[\frac{\alpha^3}{1 + \alpha^2} \ln \left(1 + \frac{C}{R_1 \alpha^{8/3}} \right) - \frac{1}{1 + \alpha^2} \ln \left(1 - \frac{C}{R_1} \right) \right] - \frac{1}{1 + \alpha^2} \ln \frac{1}{1 + \alpha^2} + \frac{\alpha^2}{1 + \alpha^2} \ln \frac{\alpha^2}{1 + \alpha^2} \\ - H * u(R_1) + 2 \frac{N}{m} \sigma d \left(1 - \frac{u(R_1)}{2} \right) \ln \left(1 - \frac{u(R_1)}{2} \right) \frac{1}{u(R_1)} \end{aligned} \quad (28)$$

$$A, C, H - \text{константы, } u(R_1) = \frac{1 + \alpha^2}{\alpha^2 + \frac{d^2}{3R_1^2}}, \quad \alpha = 1 + \frac{d}{R_1} .$$

Для ответа на вопрос о стабильности рассматриваемой везикулярной структуры и нахождении оптимальных значений радиусов, агрегационного числа и доли звеньев в нижнем слое, необходимо решить задачу на минимум свободной энергии, отнесенной к одной макромолекуле, при дополнительном условии: $R_1 > C$.

Анализ и обсуждение полученных результатов

Свободная энергия везикулы, отнесенная к одной макромолекуле, при некоторых параметрах принимает вид, показанный на рис. 9. Видно, что имеется минимум, значит, при этих параметрах везикулярная структура является устойчивой. Соответствующий равновесный радиус везикулы порядка 10^4 , то есть порядка десятков микрометров (единица длины составляла нанометр). Меняя параметры, можно как увеличивать, так и уменьшать равновесное значение радиуса. Агрегационное число одной везикулы и доли макромолекул в верхнем и нижнем слоях можно оценить, зная радиус, используя условия на плотное размещение на поверхностях (3). В результате, $Q \approx 10^6, \varphi \approx 0.49$, что соответствует данным, полученным в эксперименте. Если подсчитать долю кристаллической фазы в бислое из этих данных, то мы получим 99%, то есть практически весь объем бислоя заполнен боковыми группами — действительно можно пользоваться решеточной моделью Флори-Хаггинса для описания энергии бислоя.

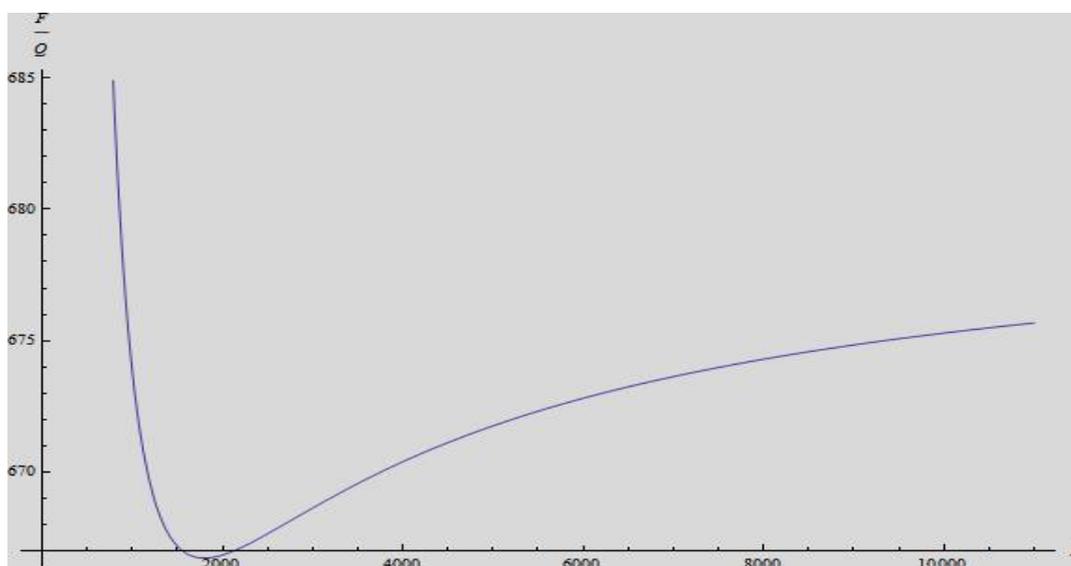


Рис. 9. Характерная зависимость свободной энергии везикулы, приходящейся на одну макромолекулу, от ее радиуса

Интересно влияние параметров синтеза макромолекул на оптимальный радиус везикулы. Вначале заметим, что от числа боковых групп на одной макромолекуле оптимальный радиус зависеть не будет – этот параметр сказывается только на равновесном агрегационном числе везикулы. Основными факторами, определяющими устойчивость и размер везикулы, являются поверхностное натяжение γ_0 (или коэффициент Флори-Хаггинса, $\chi \sim \gamma_0^2$), длина боковых стержней d и плотность пришивки m . Из физических соображений ясно, что с увеличением параметра Флори-Хаггинса (с увеличением несовместимости боковых групп и растворителя), следует ожидать уменьшение кривизны, так как тогда уменьшается объем растворителя в бислое. Действительно, было получено, что везикула чрезвычайно чувствительна к данному фактору: при изменении коэффициента поверхностного натяжения всего на несколько кТ, структура теряет устойчивость, превращаясь в плоскую ламель.

Физическая природа вклада энергии цепей скелета в «короне» и «ядре» везикулы связана с эффектом исключенного объема макромолекул в хорошем растворителе. В отличие от мицеллярных структур, у везикулы есть ядро, в котором цепи также набухают и, тем самым, создают ограничение на выпуклое искривление внешней поверхности. Цепям в ядре не выгодно такое искривление, их свободная энергия имеет минимум при бесконечном радиусе везикулы. Отсюда возникает неравенство на минимальное значение радиуса везикулы, использовавшееся в условной минимизации свободной энергии, $R_1 > C$. Цепи в короне наоборот стремятся искривить поверхность, поскольку при этом находятся на более дальнем расстоянии друг от друга и набухают. Сравнение зависимостей двух энергий от радиуса показано на рис. 10.

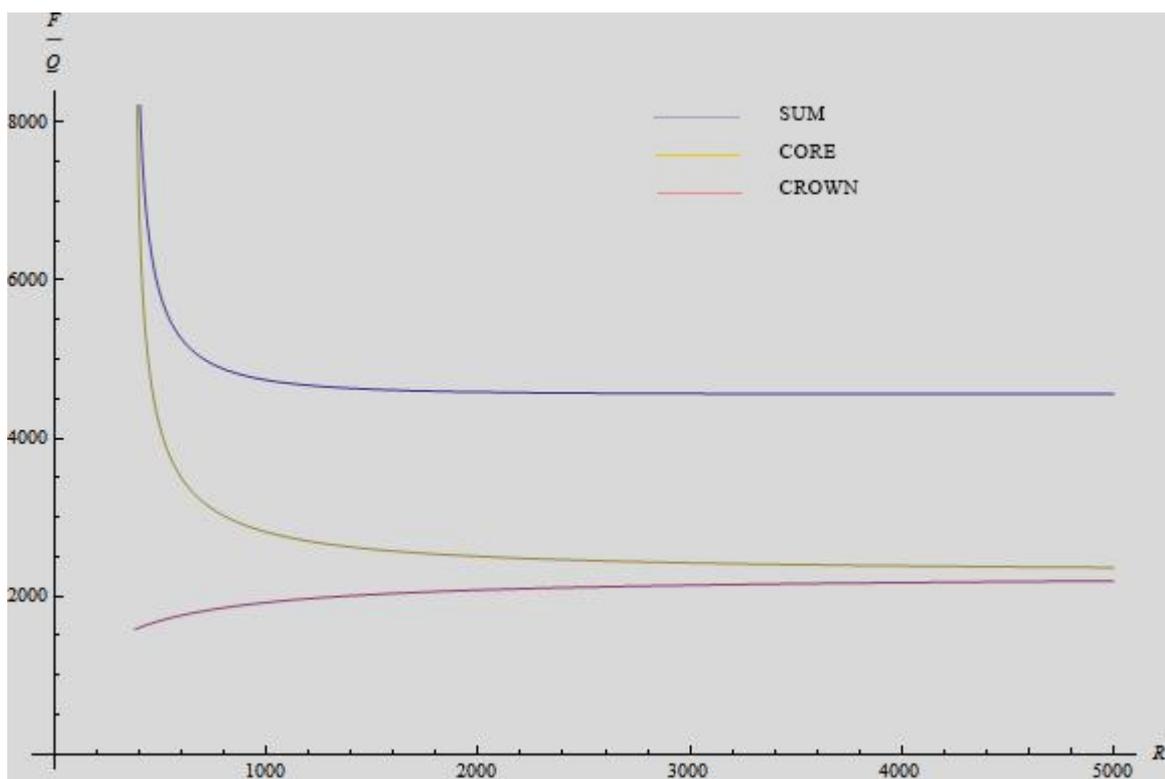


Рис. 10. Зависимости энергий «короны», «ядра» и суммарной энергии скелета, приходящихся на одну цепь. Левая граница на оси абсцисс соответствует минимальному радиусу, при котором цепи в ядре еще могут вести себя как набухшие

Почему в итоге везикула имеет устойчивую структуру? За счет перескока цепей из нижнего слоя в верхний, $\phi < 0.5$. Именно изменение доли цепей в нижнем и верхнем слоях определяет, как будет вести себя оптимальный радиус для энергии скелета в растворителе при изменении параметров. А доля цепей, в свою очередь, зависит от толщины бислоя по формулам (3).

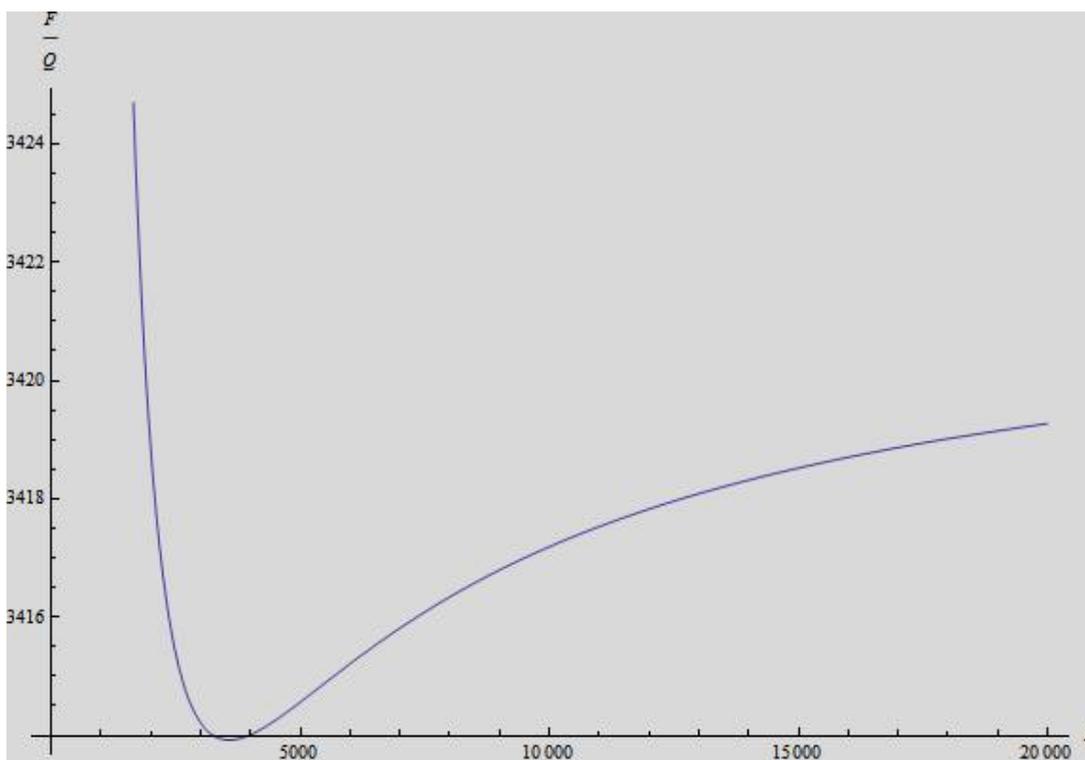


Рис. 11. Зависимость энергии скелета в растворителе от радиуса

Длина пришитых боковых групп составляет обычно 10-50 нанометров. Однако зависимость равновесного радиуса везикулы от этого параметра довольно сложна и определяется режимом: либо параметры задачи обеспечивают превалирование энергии скелета, либо энергии бислоя. Дело в том, что с увеличением толщины бислоя, геометрия будет диктовать более асимметричную упаковку цепей, ϕ будет уменьшаться, и цепи в короне смогут сильнее искривить поверхность. Равновесный радиус уменьшается – что и происходит в «режиме энергии скелета». Но с дальнейшим ростом d следует учитывать вклад энергии бислоя. Так как с увеличением толщины бислоя при том же радиусе уменьшается объемная доля боковых групп в бислое, выгоднее более плоская геометрия с точки зрения затекания внутрь растворителя. То есть в некоторый момент мы перейдем в «режим энергии бислоя» и радиус будет расти вплоть до бесконечности. Таким образом, для везикулы, увеличение d при некотором

достаточно большом γ ведет к нестабильности и образованию ламелей.

Зависимость от плотности пришивки боковых групп существенна и очень важна. Единственным слагаемым в свободной энергии, зависящим от m , является энергия растворимого скелета (28). Более того, с увеличением m , растет вклад этой энергии, поскольку больше мономеров создают эффект исключенного объема. Таким образом, коэффициент поверхностного натяжения и плотность пришивки определяют равновесие и нестабильность везикулярной структуры.

С увеличением m (которое в эксперименте обычно составляет несколько сотен нанометров), то есть с уменьшением плотности пришивки боковых групп, имеет место постепенное разрастание везикулы и в пределе образование плоских ламелей. Именно нестабильность везикулярной структуры с увеличением полимеризации винила и наблюдалась в экспериментальной работе [16], описанной выше.

Из рис. 11 видно, что слева от минимума энергии скелета, находится очень высокий барьер, представляющий ядро везикулы. Это означает, что корона максимально искривляет поверхность, насколько ей позволяет ядро. В такой ситуации увеличение m критично для ядра, что и показывает резкое увеличение свободной энергии слева от точки равновесия. Для того, чтобы цепи ядра по-прежнему находились в набухшем состоянии, с увеличением m растет размер везикулы, (рис. 12).

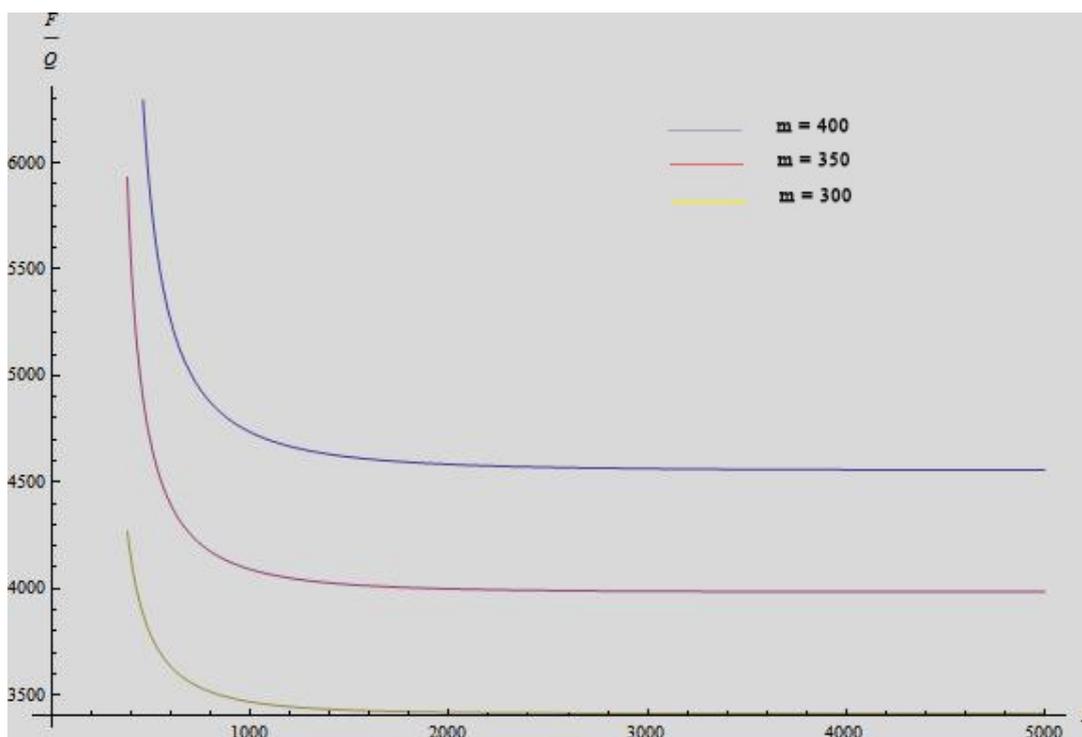


Рис. 12. Зависимость энергии скелета от числа мономеров между двумя мезогенами

Наша модель изначально основывалась на том, что при фиксированных параметрах задачи, энергия бислоя уменьшается с увеличением радиуса. Другими словами, оптимальной структурой, с точки зрения энергии взаимодействия боковых групп с растворителем, должен быть плоский бислой. Однако добавка к энергии бислоя, отвечающая за отталкивание боковых групп друг с другом в решеточной модели Флори, приводит к наличию минимума, рис. 14. Увеличивая параметр Флори-Хаггинса, можно добиться превалирования отталкивания боковых групп с растворителем и получить нужную асимптотику, показанную на рис. 13. Таким образом, важно отметить, что наша модель работает при достаточно большой несовместимости боковых групп с растворителем, когда энергия бислоя не имеет «оптимального радиуса». Именно это предположение и позволило нам ввести определенную структуру бислоя.

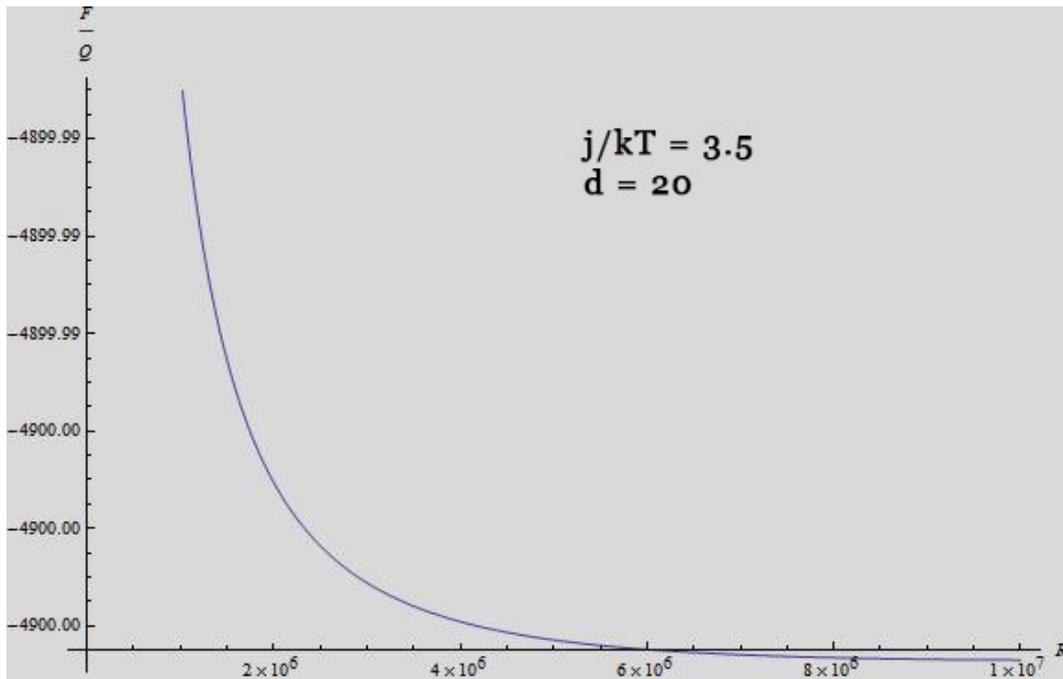


Рис. 13. Зависимость энергии бислоя от радиуса. Имеет место при достаточной несовместимости боковых групп с растворителем

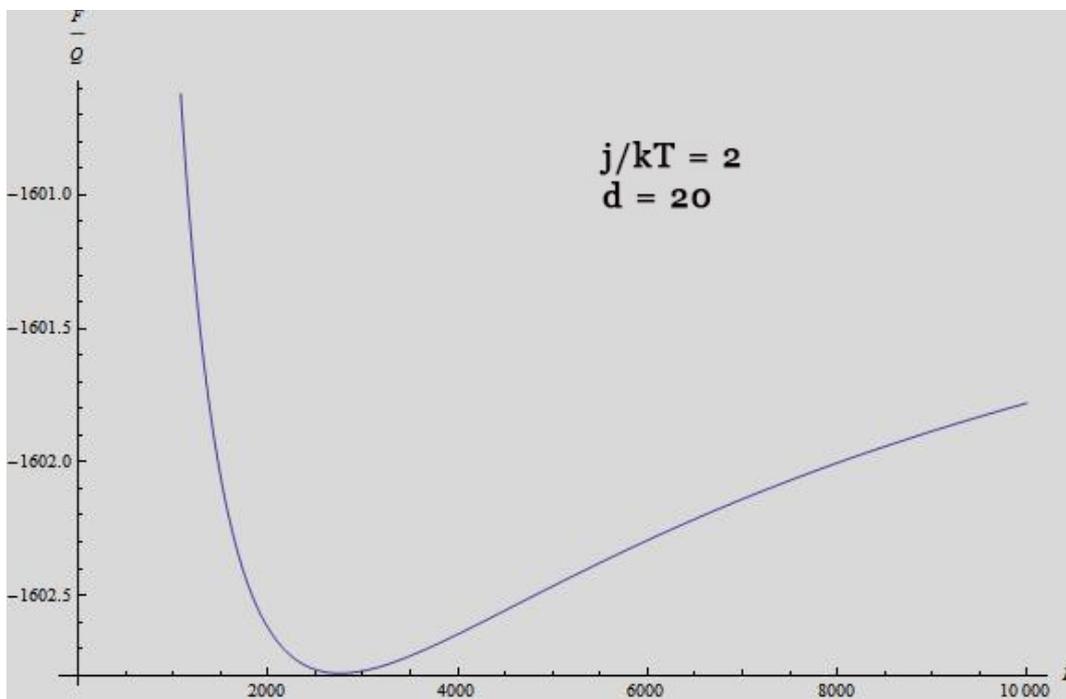


Рис. 14. Зависимость энергии бислоя от радиуса при не очень больших χ

Выводы

Показана принципиальная возможность искривления равновесных структур в везикулы в системе гребнеобразных макромолекул с мезогенными боковыми группами. При определенных параметрах системы термодинамически устойчивы везикулярные структуры с размерами десятки микрон, которые и наблюдались в оптический микроскоп в экспериментальной работе группы Мёллера [16]. Кроме того, объяснен тот факт, что с увеличением степени полимеризации винила, везикулы пропадали. Показано, что ядро везикулы способствует разрастанию структуры при увеличении числа молекул винила и образованию плоских ламелей.

В данной работе используется приближение сильной несовместимости боковых кристаллических стержней гребнеобразных макромолекул с растворителем (большие χ). В этом режиме формируется определенная структура бислоя везикулы, отвечающая принципу минимального затекания растворителя внутрь.

Кроме того, изначально ставилось предположение, что пришивка боковых групп является достаточно редкой – для того, чтобы жесткость итоговой гребнеобразной макромолекулы не ограничивала искривление равновесных структур. Для реализации нужного искривления достаточно потребовать, чтобы $m \gg d$, то есть число мономеров между пришивками было бы много больше, чем длина самих мезогенов. В рамках этого предположения было получено, что при малых m и больших d , то есть при увеличении плотности пришивки, везикула теряет устойчивость: энергия взаимодействия боковых групп с растворителем начинает превалировать над всеми остальными вкладами в свободной энергии, образуются плоские

ламели. Таким образом, можно заключить, то везикулярная структура является стабильной при чрезвычайно редкой пришивке боковых групп, а условие $m \gg d$ является необходимым для того, чтобы цепи сворачивались.

Тем не менее, для того, чтобы уверенно говорить о формировании везикул в растворе при некоторых условиях, требуется анализ других возможных структур, таких как сферические и цилиндрические мицеллы. В ближайшем будущем планируется проделать и эту работу, в том числе, для различных концентраций макромолекул в растворе с построением фазовой диаграммы. Также планируется провести компьютерное моделирование с целью подтвердить предсказания аналитических расчетов.

Ссылки

1. J.P. Jain *et al.*, Self Assembling Polymers as Polymersomes for Drug Delivery. *Current Pharmaceutical Design*, 2011; *pp.* 1381-6128.
2. M. Sauer and Wolfgang Meier, Responsive nanocapsules. *Chem. Comm.*, 2001; *pp.* 55-56.
3. D. D. Lasic, Liposomes: Synthetic lipid microspheres serve as multipurpose vesicles for the delivery of drugs, genetic materials and cosmetics. *Am. Scientist*, 1992; *pp.* 250-257.
4. Lasic D.D., Templeton N.S., Liposomes in gene therapy. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 1996; 20: *pp.* 221–266.
5. Ropert C., Liposomes as a gene delivery system. *Braz. J. Med. Biol.*

Res. 1999; 32 (2): *pp.* 163–169.

6. Vasir J.K., Reddy M.K., Labhasetwar V.D., Nanosystems in drug targeting: opportunities and challenges. *Current Nanoscience*. 2005; *pp.* 47–64.

7. Ponce A.M. *et al.*, Targeted bioavailability of drugs by triggered release from liposomes. *Future Lipidol*. 2006; *pp.* 25–34.

8. Kong G., Dewhirst M.W., Hyperthermia and liposomes. *Int. J. Hypertherm.*, 15, 1999; *pp.* 345–370.

9. Bisby R.H., Mead C., Morgan C.G., Active uptake of drugs into photosensitive liposomes and rapid release on UV photolysis. *Photochemistry and Photobiology*, 72, 2000; *pp.* 57–61.

10. Duzgunes N. *et al.*, Intracellular delivery of therapeutic oligonucleotides in pH sensitive and cationic liposomes. In: G. Gregoriadis eds. *Liposome technology*. 3rd ed. Vol. III. Interactions of liposomes with the biological milieu. New York: Informa Healthcare USA, *Inc.* 2007. *pp.* 253–275.

11. А.Ю. Барышников, Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов. «Актуальные вопросы онкологии», ВЕСТНИК РАМН, 2012 /№3; *сс.* 23-30.

12. Meng, F. *et al.*, Biodegradable Polymersomes. *Macromolecules*, 2003, 36 (9); *pp.* 3004-3006.

13. Wolfgang M. *et al.*, Block copolymer vesicles—using concepts from

- polymer chemistry to mimic biomembranes. *Polymer*, 46, 2005; *pp.* 3540–3563.
14. Y. Zhou *et al.*, Self-Assembly of Hyperbranched Polymers and Its Biomedical Applications. *Advanced Matter*, 22, 2010; *pp.* 4567 – 4590.
 15. V. Percec *et al.*, Self-Assembly of Janus Dendrimers into Uniform Dendrimersomes and Other Complex Architectures. *Science*, 2010; *pp.* 1009 – 1014.
 16. M. Moller *et al.*, Light-Switchable Vesicles from Liquid-Crystalline Homopolymer–Surfactant Complexes *Angewandte. Chem. Int. Ed.*, 51, 2012; *pp.* 11616 –11619.
 17. M. Moller *et al.*, Single Molecule Rod–Globule Phase Transition for Brush Molecules at a Flat Interface. *Macromolecules*, 34, 2001; *pp.* 8354–8360.
 18. I.Potemkin *et al.*, Block Copolymer Based Molecular Motor. *Macromol. Rapid Commun.*, 28, 2007; *pp.* 977-980.
 19. Iozzo RV, Series Introduction: Heparan sulfate proteoglycans: intricate molecules with intriguing functions. *J Clin Invest.*, 108(2), 2001; *pp.* 165–167.
 20. Varki A *et al.*, Naturally occurring disorders of glycosylation. In *Essentials of Glycobiology*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999; *pp.* 479-498.
 21. Muir H. *et al.*, The influence of link protein stabilization on the viscometric properties of proteoglycan aggregate solutions. *Biochem Soc Trans*, 11, 1983; *pp.* 613–622.

22. L. Onsager, THE EFFECTS OF SHAPE ON THE INTERACTION OF COLLOIDAL PARTICLES. *Annals of the New York Academy of Science*, 51, 1949; *pp.* 627-659.
23. A. Khokhlov and A. N. Semenov, Liquid-crystalline ordering in the solution of partially flexible macromolecules. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 108, 1981; *pp.* 605-614.
24. L. V. Gallacher and S. Windwer, Monte Carlo Study of Flexible Branched Macromolecules. *J. Chem. Phys.* 44, 1966; *p.* 1139.
25. S. Ya. Magarik, G. M. Pavlov, and G. A. Fomin, Hydrodynamic and Optical Properties of Homologous Series of Styrene-Methyl Methacrylate Graft Copolymers. *Macromolecules*, 11, 1978; *pp.* 294-300.
26. F. L. McCrackin and J. Mazur, Configuration properties of comb-branched polymers. *Macromolecules* 14, 1981; *pp.* 1214-1220.
27. P. G. De Gennes, *Scaling Concepts in Polymer Physics*. Cornell Univ. Press, Ithaca, 1979; Mir, Moscow, 1982.
28. T. M. Birshtein, O. V. Borisov, E. B. Zhulina, et al., Modern Problems of Physical Chemistry of Solutions. *Vysokomol. Soedin., Ser. A* 29, 1987; *p.* 1169.
29. E. B. Zhulina, Theory of steric stabilization of colloid dispersions by grafted polymers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1990; *pp.* 495-511.
30. G. H. Fredrickson, Surfactant-induced lyotropic behavior of flexible

polymer solutions. *Macromolecules* 26, 1993; *pp.* 2825-2831.

31. Z.Huang et al., Inverse Bicontinuous Cubic Phases in 2:1 Fatty Acid/Phosphatidylcholine Mixtures. The Effects of Chain Length, Hydration, and Temperature, *J. Phys. Chem. B*, 102 (37), 1998; *pp.* 7251–7261.

32. J. E. G. Lipson, A Monte Carlo simulation study on long-chain combs. *Macromolecules*, 24, 1991; *pp.* 1327-1333.

33. J. E. G. Lipson, Statistical and metric properties of long-chain combs. *Macromolecules*, 26, 1993; *pp.* 203-207.

34. A. Gauger and T. Pakula, Static Properties of Noninteracting Comb Polymers in Dense and Dilute Media. A Monte Carlo Study. *Macromolecules*, 28, 1995; *pp.* 190-196.

35. Y. Rouault and O. V. Borisov, Comb-Branched Polymers: Monte Carlo Simulation and Scaling. *Macromolecules*, 29, 1996; *pp.* 2605-2611.

36. M. Saariaho, I. Szleifer, O. Ikkala, and G. Ten Brinke, Extended conformations of isolated molecular bottle-brushes: Influence of side-chain topology. *Macromol. Theory Simul.* 7, 1998; *pp.* 211-216;

37. Saariaho M, Subbotin A, Effect of Side Chain Rigidity on the Elasticity of Comb Copolymer Cylindrical Brushes: A Monte Carlo Simulation Study. *Macromolecules*, 32, 1999; *pp.* 4439–4443.

38. Subbotin A, Saariaho M, O. Ikkala and G. Ten Brinke, Elasticity of Comb Copolymer Cylindrical Brushes. *Macromolecules*, 33, 2000; *pp.* 6168–6173.

39. Vladimir V. Palyulin and Igor I. Potemkin, Mixed versus Ordinary Micelles in the Dilute Solution of AB and BC Diblock Copolymers. *Macromolecules*, 41, 2008; *pp.* 4459-4463.
40. De Gennes, P. G., *Scaling Concepts in Polymer Physics*; Cornell University Press: Ithaca, NY, 1979.
41. Grosberg, A. Yu.; Khokhlov, A. R. *Statistical Physics of Macromolecules*; AIP Press: New York, 1994.
42. A. N. Semenov and S. V. Vasilenko, *Sov. Phys. JETP* 63 (I), 1986; *pp.* 124-140.
43. P. J. Flory, *Principles of Polymer Chemistry*. Cornell University Press, Ithaca, New York, 1971.