

УДК 544.77:547.64

КОЛЛОИДНЫЕ РАСТВОРЫ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПАРА/МЕТА-ЦИКЛОФАНОВ С ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТАМИ: ПРИМЕРЫ, СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ

© 2022 г. Ю. Э. Морозова¹, *, А. М. Шуматбаева¹, И. С. Антипин²

¹ИОФХ им. А.Е. Арбузова — обособленное структурное подразделение
ФИЦ КазНЦ РАН, ул. Ак. Арбузова, 8, Казань, Республика Татарстан, 420088 Россия

²Химический институт им. А.М. Бутлерова,
ул. Кремлевская, 29/1, Казань, Республика Татарстан, 420008 Россия

*e-mail: moroz@iopc.ru

Поступила в редакцию 05.05.2022 г.

После доработки 16.06.2022 г.

Принята к публикации 16.06.2022 г.

Рассмотрено современное состояние исследований коллоидных растворов комплексов ряда супрамолекулярных макроциклов (каликс[*n*]арены, каликс[4]резорцины, пиллар[*n*]арены, каликс[4]пиридиний), несущих заряженные группы, с синтетическими и природными полиэлектролитами. Описаны примеры полученных полимерных комплексов, их характеристики (размеры, электрокинетический потенциал), свойства (стимул—чувствительность, инкапсуляция, цитотоксичность) и потенциал применения.

Ключевые слова: пара/мета-циклофаны, каликсарены, каликсрезорцины, пилларарены, каликспиридиний, полиэлектролиты

DOI: 10.31857/S0023291222600080

ВВЕДЕНИЕ

Супрамолекулярная стратегия получения функциональных материалов через обратимые нековалентные взаимодействия зарекомендовала себя как способ избежать сложного многостадийного синтеза и наделять полученные структуры способностью реагировать на внешние раздражители [1]. В последние годы этот метод успешно применяется для получения супрамолекулярных полимерных комплексов с участием синтетических пара/мета-циклофанов. Коллоидные растворы таких полимерных комплексов демонстрируют низкую полидисперсность частиц, возможность настройки размеров полимерных частиц путем выбора макроцикла, высокие инкапсулирующие свойства при связывании субстратов.

При образовании полимерного комплекса между противоположно заряженными полиэлектролитом и макроциклом взаимодействие, прежде всего, включает электростатические силы. Также формирование полимерного комплекса может осуществляться за счет образования комплекса включения фрагмента полимера в полость макроцикла и гидрофобного взаимодействия между мономерами/самоассоциатами макроцикла и фрагментами полимера. Последнее близко к поведению

мицелл ПАВ в коллоидных растворах полиэлектролитов противоположного знака. Взаимодействие полиэлектролит-ПАВ успешно исследуется с 1940-х годов прошлого столетия. Адсорбция мицелл ПАВ на поверхности полимера приводит к формированию комплексов, структура которых зависит от вклада основных движущих сил (электростатическое взаимодействие и гидрофобный эффект), а также от плотности заряда, рН и ионной силы раствора и т.д. [2].

С развитием химии циклофановых структур и признанием безусловного преимущества комплексобразующих свойств синтетических макроциклов исследователи направили свои усилия на получение их водорастворимых производных. Выяснилось, что в водных средах водорастворимые макроциклы образуют разнообразные супрамолекулярные комплексы с участием нековалентных взаимодействий (электростатические взаимодействия, гидрофобный эффект, водородные связи, донорно-акцепторные взаимодействия, силы Ван-дер-Ваальса и др.), а соответствующим образом декорированные макроциклы проявляют свойства ПАВ. При этом добавка к полиэлектролиту противоположнозаряженного гидрофильного макроцикла независимо от его амфифильности приводит к существенному изменению морфологии

полимерных частиц из-за многоточечного взаимодействия и (в некоторых случаях) образования комплексов включения с функциональными группами полимера. Как будет показано ниже, вследствие трехмерной структуры циклофанов, наличия гидрофобной полости и различных функциональных групп получены уникальные супрамолекулярные структуры, обладающие морфологическими особенностями, чувствительными к внешнему воздействию, а также интересными инклюзивными свойствами. Этот обзор посвящен современному состоянию исследований супрамолекулярных полимерных комплексов, образуемых заряженными молекулами *meta/para*-циклофанов (каликс[*n*]арены, каликс [4]резорцины, пиллар[*n*]арены, каликс [4]пиридиний) с природными и синтетическими полиэлектролитами.

КОМПЛЕКСЫ КАЛИКСАРЕН-ПОЛИМЕР

Каликсарены – синтетические циклические олигомеры, содержащие повторяющиеся фенольные кольца, соединенные метиленовыми мостиками в *орто*-положении (I, рис. 1). Они являются одними из широко исследуемых макроциклических соединений для дизайна сложных супрамолекулярных архитектур. Преимуществами каликсаренов являются не только легкость синтеза и функционализации, но и получение продуктов циклизации с разным количеством фенольных колец ($n = 4, 6, 8$) и в нескольких стереоизомерных формах. Исторически сложилось так, что наиболее изученными представителями водорастворимых каликсаренов являются 4-сульфонатокаликс[*n*]арены (I, $R = SO_3^-$, $R' = H$ или алкил, $n = 4, 6, 8$, рис. 1), обладающие яркими рецепторными свойствами и низкой токсичностью [3], что делает их привлекательными для использования в системах доставки лекарственных препаратов. Описаны комплексы сульфonatoкаликс[*n*]аренов с катионными полиэлектролитами: природными полимерами, а также синтетическими и природными полимерами, функционализированными комплементарными группами для эффективного взаимодействия с сульфonatoкаликсаренами [4–9].

Интерес к природным полимерам, например полисахаридам, обусловлен их биосовместимыми свойствами, что определяет их потенциал для использования в качестве компонентов систем доставки лекарственных средств. Такие полимерные частицы должны обладать низкой полидисперсностью и способностью к инкапсуляции лекарственных субстратов.

В работе [4] была продемонстрирована способность сульфonatoкаликс[*n*]аренов (I, $R = SO_3^-$, $R' = H$, $n = 4, 6, 8$, рис. 1) выступать в качестве нековалентных линкеров для создания стабильных

монодисперсных частиц из биосовместимого полимера хитозана (П-1, рис. 1) и, одновременно, в качестве рецепторных молекул для связывания субстратов. Образование полимерных комплексов осуществлялось в условиях протонирования амино-групп хитозана (0.1 М HCl). Показано, что размер частиц полимерных комплексов практически не зависит от молекулярной массы полимера. Например, средний гидродинамический диаметр частиц (d_h) с сульфonatoкаликс [8]ареном и хитозанами со средней молекулярной массой (M_w) 200 кДа, 60–120 кДа и низкой M_w (значение не указано) составляет 262–279 нм (метод динамического рассеяния света (ДРС)). Уменьшение размера полости макроцикла приводит к уменьшению размера частиц до d_h 150 нм ($n = 4$), однако разница в размерах между частицами с каликс [6]ареном и каликс [8]ареном практически отсутствует. Повышение pH раствора до 4 приводит к уменьшению размера частиц вследствие частичного депротонирования амино-групп хитозана (d_h 149–181 нм с сульфonatoкаликс [8]ареном), но дальнейшее повышение pH до 6 уже не оказывает влияния на размер.

Изучена инкапсуляция в полимерные частицы субстрата на примере алкалоида коралина (С-1, рис. 1), который образует с сульфonatoкаликс [8]ареном комплекс со стехиометрией 8 к 1. Коралин является алкалоидом группы протоберберинов и проявляет противольекемическую активность. Показано, что полимерный комплекс с сульфonatoкаликс [8]ареном инкапсулирует коралин с эффективностью 99% (эффективность инкапсуляции – процентное отношение массы инкапсулированного субстрата к его начальной массе). Отмечена высокая степень загрузки полимерных частиц субстратом – до 15% (степень загрузки полимерных частиц – процентное отношение массы инкапсулированного субстрата к общей массе субстрата и полимерного комплекса) [4].

Взаимодействие хитозана (П-1, рис. 1) с сульфonatoкаликс [4]ареном (I, $R = SO_3^-$, $R' = H$, $n = 4$, рис. 1) было также изучено в работе [5]. Были взяты два хитозана с разной степенью деацетилирования (0.6 и 0.95). Для получения коллоидных растворов образцы полимера растворяли в 1% уксусной кислоте, с помощью щелочи доводили pH до 5.3 и смешивали с раствором макроцикла. Снимки полимерных частиц, полученные методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), показали образование везикулярных структур. Предположительно, везикулярная структура формируется посредством адсорбции молекул каликсарена на поверхности полимера за счет электростатических взаимодействий, при этом гидроксогруппы макроцикла составляют внешнюю и внутреннюю поверхность мембраны везикулы. Показано, что степень деацетилирования полимера вли-

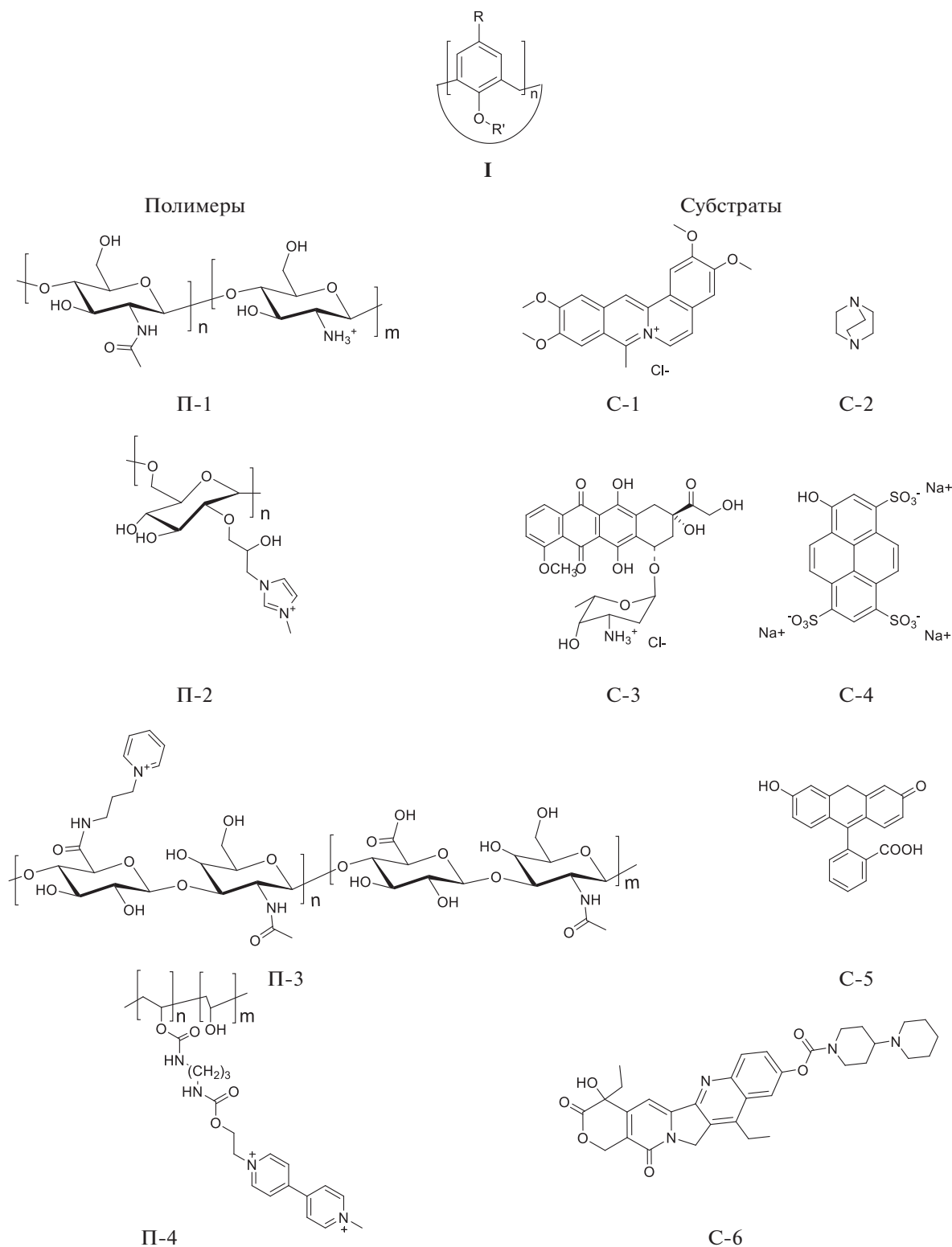


Рис. 1. Химическая структура каликс[*n*]аренов **I**, химические структуры полимеров (П-1 – хитозан, П-2 – декстран с метилимидазолиевыми фрагментами, П-3 – гиалуроновая кислота, несущая пиридиновые группы, П-4 – поливиниловый спирт, модифицированный метилвиологеновыми фрагментами) и инкапсулированных субстратов (С-1 – коралин, С-2 – 1,4-диазабicyclo[2.2.2]октан, С-3 – доксорубина гидрохлорид, С-4 – тринатриевая соль 8-гидрокси-пирен-1,3,6-трисульфоновой кислоты, С-5 – флуоресцеин, С-6 – иринотекан) в изученных полимерных комплексах с каликс[*n*]аренами.

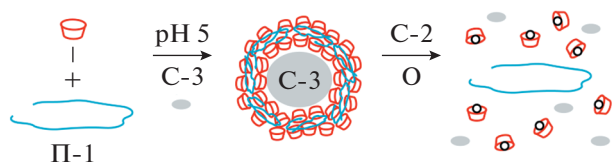


Рис. 2. Схема инкапсулирования доксорубина (Ср3) в везикулы, образованные каликс [4]ареном I (R = SO₃⁻, R' = H) и хитозаном П-1, и его высвобождения в результате добавления конкурентного гостя Ср2. Рисунок создан авторами на основании работы [5].

яет на размер и стабильность частиц. Частицы с полимером со степенью диацетилирования 0.95 (дзета-потенциал +35 мВ, d_h 173–224 нм) стабильны при комнатной температуре и при добавлении 0.1 моль/л NaCl. В этих же условиях частицы с полимером со степенью диацетилирования 0.60 малостабильны из-за более высокой компенсации заряда (дзета-потенциал –1 мВ, d_h 165–262 нм). Найдено, что полученные везикулы являются стимул-чувствительными и реагируют на изменение pH и температуры раствора, а также на добавление конкурентного гостя. Так, нагревание коллоидного раствора приводит к усилению ассоциации и укрупнению частиц комплексов, что авторы связали с усилением эффекта десольватации. Везикулы чувствительны к pH раствора: при pH 10.3 из-за депротонирования amino-групп хитозана наблюдается обратимое разрушение везикулярных структур. Также разрушение везикул наблюдается при добавлении избытка конкурентного гостя 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана (С-2, рис. 1), который препятствует эффективному взаимодействию аммонийных групп полимеров с молекулами макроцикла. Этот эффект был использован для стимул-чувствительного высвобождения инкапсулированного в везикулы катионного противоракового субстрата доксорубина (С-3, рис. 1). При добавлении С-2 к растворам полимерных частиц наблюдалось усиление флуоресценции свободного доксорубина [5]. Схема процесса представлена на рис. 2.

Декстраны, природные полимеры глюкозы, также привлекают интерес в качестве биосовместимых полимеров для доставки и контролируемого высвобождения лекарственных средств. Для этого в работе [6] декстраны различного молекулярного веса функционализировали метилимидазолевыми фрагментами (П-2, рис. 1), способными образовывать комплексы включения с сульфатокаликсаренами (I, R = SO₃⁻, R' = H, $n = 4, 6, 8$, рис. 1). Изображения образов полимерных частиц, полученных методом криогенной просвечивающей электронной микроскопии (крио-ПЭМ), показывают образование сферических структур со сред-

ним диаметром около 112 ± 25 нм (по данным ДРС d_h 151 ± 55 нм). Коллоидные растворы полученных полимерных частиц устойчивы при pH 7. Авторы предполагают, что комплексы образуются из-за включения фрагментов полимера в полость молекул макроцилов, при этом полианионный характер макроциклов приводит к уплотнению цепей модифицированного декстрана за счет электростатических взаимодействий, а водородные связи между полимерными цепями способствуют стабильности полимерных частиц. Изучение инкапсулирующей способности полимерных комплексов модифицированных декстранов (M_w 70 и 500 кДа) с каликс [8]ареном в отношении коралина (С-1, рис. 1) показало, что большое количество инкапсулированного субстрата вызывает дестабилизацию частиц, однако при оптимальном молярном соотношении субстрат/макроцикл 1/2 полимерные частицы достаточно устойчивы [6].

С целью получения биосовместимой системы доставки лекарств было осуществлено взаимодействие сульфатокаликс [4]арена (I, R = SO₃⁻, R' = H, $n = 4$, рис. 1) с белком протамином, который в эксперименте выступал в качестве катионного полиэлектролита [7]. Исследование включило в себя также *in vitro* и *in vivo* эксперименты. Показано, что добавление макроцикла к раствору протамин приводит к спонтанному образованию везикул. При оптимальном соотношении компонентов в растворе (50 мкг/мл белка и 0.02 ммоль/л каликсарена) в растворе образуются частицы с d_h 395 нм (метод ДРС), имеющие сферическую морфологию (данные метода сканирующей электронной микроскопии (СЭМ)). Метод крио-ПЭМ показал, что полученные частицы представляют собой везикулярные образования с толщиной мембраны около 3.5 нм. По мнению авторов, мембрана везикул представляет собой полимерный комплекс, в котором молекулы макроцикла адсорбируются на поверхности протамин за счет электростатического взаимодействия сульфатных групп с аммонийными группами белка, и располагаются таким образом, что гидроксо-группы молекул макроцикла создают внешнюю и внутреннюю поверхность мембраны везикулы, обеспечивая тем самым ее стабильность в растворе. Протамин является белком, чувствительным к ферменту трипсину. В присутствии трипсина протамин деградирует до amino-кислот и пептидов, и эта энзиматическая реакция может быть использована для доставки лекарства протамин-содержащей системой в места гиперэкспрессии трипсина. Показано, что добавление трипсина к коллоидному раствору полимерного комплекса приводит к разрушению везикул в течение 5 ч [7].

Фермент-чувствительная супрамолекулярная система была проверена далее на способность к высвобождению инкапсулированного вещества в

отсутствии и присутствии фермента. Для этого флуоресцентную пробу – тринатриевую соль 8-гидроксипирен-1,3,6-трисульфоновой кислоты (С-4, рис. 1) добавляли к раствору протамина, а затем добавляли раствор макроцикла. Последующий диализ полученной смеси через мембрану с размером пор 3500 Да позволил очистить супрамолекулярные везикулы от неинкапсулированного субстрата. Далее было показано, что за 5 ч процесса в присутствии трипсина наблюдалось 80%-ое высвобождение С-4, тогда как в отсутствие фермента высвобождения субстрата практически не наблюдалось. *In vitro* исследования цитотоксичности везикул на клетках NIT-1 (бета-клетки островков поджелудочной железы у мышей) не вызвали изменения жизнеспособности и морфологии клеток. Далее везикулы были загружены противораковым препаратом доксорубицином (С-3, рис. 1), и было исследовано их воздействие на клетки НерG-2 (клетки карциномы печени человека) и PANC-1 (клетки карциномы поджелудочной железы человека). Оказалось, что в случае клеток НерG-2 доксорубин, инкапсулированный в везикулы, действует медленнее, чем свободный субстрат, а в случае клеток PANC-1 разницы в действии нет. Это объясняется присутствием фермента трипсина в клетках карциномы поджелудочной железы (клетки PANC-1), что приводит к разрушению везикул и высвобождению загруженного лекарственного субстрата. Также было показано улучшение *in vivo* биораспределения флуоресцеина (С-5, рис. 1), солюбилизованного в везикулы, в сравнении со свободным красителем, – на микрофотографиях образцов наблюдалось усиление флуоресценции красителя, инкапсулированного в везикулы, вокруг ткани поджелудочной железы мышей [7].

В работе [8] представлены полимерные частицы, в которых каликсарен связывается в виде самоассоциатов. Сульфonatoкаликсарен с гексильными группами по нижнему ободу (I, $R = SO_3^-$, $R' = C_6H_{13}$, $n = 4$, рис. 1) был использован первоначально для образования смешанных ассоциатов с противоопухолевым средством иринотеканом (С-6, рис. 1), а затем было проведено образование полимерного комплекса с гиалуроновой кислотой (П-3, рис. 1) в качестве целевого лиганда для доставки лекарств к раковым тканям. Макроцикл имеет амфифильную природу и в водном растворе при концентрации 0.5 ммоль/л образует самоассоциаты. Его со-ассоциация с 4-кратным избытком С-6 приводит к образованию смешанных ассоциатов, в которых, согласно данным метода ядерной магнитно-резонансной спектроскопии с эффектом Оверхаузера (ЯМР ROESY), молекулы субстрата располагаются между соседними молекулами макроцикла. Смешанные ассоциаты макроцикл-субстрат существуют в виде сфериче-

ских частиц диаметром от 50 до 100 нм (ПЭМ), по данным ДРС величина d_h частиц 173 нм и дзета-потенциал –20 мВ. В результате связывания субстрата между соседними молекулами макроцикла ароматическая полость макроцикла остается свободной для взаимодействия с подходящими молекулами. В качестве лиганда-мишени для терапии рака была выбрана гиалуроновая кислота (П-3), молекулы которой были функционализированы пиридиниевыми фрагментами, комплементарными для образования комплекса включения с полостью макроцикла. Образование полимерных комплексов привело к уменьшению дзета-потенциала частиц до –30 мВ, что объясняется анионной природой полимера. Далее была проведена оценка противораковой активности полимерных комплексов на клеточной линии MCF-7 (клетки рака молочной железы человека), которые сверхэкспрессируют на клеточной поверхности рецепторы гиалуроновой кислоты. Результаты эксперимента продемонстрировали снижение жизнеспособности раковых клеток с 40 до 15% для свободного иринотекана и связанного в комплекс, соответственно [8].

Еще один полимерный комплекс с самоассоциатами каликсарена был описан в работе [9]. При взаимодействии сульфонатного амфифильного каликсарена (I, $R = SO_3^-$, $R' = C_{12}H_{25}$, $n = 4$, рис. 1) с модифицированным виологеновыми фрагментами поливиниловым спиртом П-4 наблюдалось формирование гидрогеля. В водном растворе каликсарен образует самоассоциаты при критической концентрации ассоциации (ККА) 0.02 ммоль/л. Авторы предполагают, что в присутствии полимера самоассоциаты макроцикла сохраняются, и образование трехмерной сетки гидрогеля происходит за счет включения виологеновых фрагментов полимера в самоассоциаты каликсарена. Изображения СЭМ высушенного гидрогеля демонстрируют трехмерную пористую структуру с размерами пор около 5 мкм. Гидрогель обладает чувствительностью к температуре, ионной силе раствора, а также меняет свойства при восстановлении редокс-чувствительных метилвиологеновых фрагментов частиц. Показано, что при повышении температуры до 75°C наблюдается дезинтеграция геля, но при охлаждении до 25°C вновь наблюдается гелеобразование. Добавление соли (0.1 моль/л NaCl) вызывает выпадение осадка из-за роста самоассоциации полимерных частиц. Также восстановление метилвиологенового фрагмента в присутствии гидразингидрата приводит к переходу “гель–золь” в результате снижения эффективности связывания молекулами каликсарена виологеновых катион-радикалов [9]. Схема образования геля из самоассоциатов амфифильного каликсарена и П-4 и его дезинтеграции приведена на рис. 3.

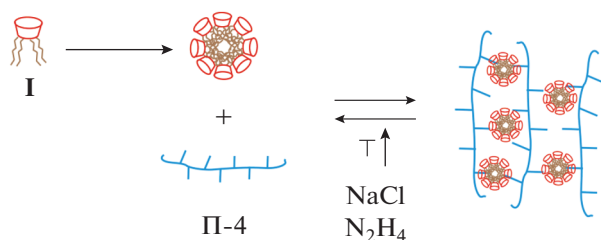


Рис. 3. Схема образования геля из самоассоциатов каликс[4]арена **I** ($R = SO_3^-$, $R' = C_{12}H_{25}$) и полимера П-4 и его дезинтегрирования. Рисунок создан авторами на основании работы [9].

Таким образом, данные по исследованиям полимерных комплексов с каликсаренами демонстрируют возможности использования макроциклов в качестве нековалентных линкеров полимерных фрагментов, причем стабильность комплексов может быть изменена за счет подходящей модификации полимерных молекул, а инкапсулирующая способность — за счет выбора размера полости макроцикла. Потенциальное практическое применение во всех описанных полимерных системах — это доставка лекарственных субстратов, и представленные результаты демонстрируют получение низкотоксичных систем, обладающих высокой степенью инкапсуляции, проявляющих чувствительность к внешним стимулам и способных к улучшению биораспределения лекарств в организме. Любопытен факт, что, несмотря на большое количество водорастворимых каликс[*n*]аренов с различными функциональными группами, их потенциал, так же как и возможность использования интересной топологии систем на основе различных конформационных изомеров каликс[4]аренов, не используется в получении новых полимерных комплексов.

КОМПЛЕКСЫ КАЛИКСРЕЗОРЦИН-ПОЛИМЕР

Каликс[4]резорцины традиционно считаются аналогами каликс[4]аренов, состоящими из резорцинольных колец, соединенных метиновыми мостиками, несущими заместители нижнего обода (структура **II**, рис. 4). Являясь продуктами олигомеризации резорцина и альдегидов, гомологи каликс[4]резорцинов могут быть получены за счет варьирования длины гидрофобного радикала взятого в реакцию альдегида, а последующая функционализация по гидроксильным группам либо в *орто*-положение ароматических колец приводит к разнообразию макроциклических структур, в том числе водорастворимых. Так же как и каликс[4]арены, каликсрезорцины могут быть получены в различных конформациях [10]. Кроме того, на основе каликс[4]метилрезорцинов получают кавитанды (**III**, рис. 4) — структуры,

в которых гидроксогруппы сшиты “мостиками” (на рис. 4 представлены метиленовые), а метильная группа может быть подвержена дальнейшей функционализации.

Первый пример полимерного комплекса водорастворимого каликс [4]резорцина, полученного взаимодействием метилсульфонатного тетрапентилкаликс [4]резорцина (**II**, $R_1 = CH_2SO_3^-Na^+$, $R_2 = H$, $R' = C_5H_{11}$, рис. 4) и разветвленного полиэтиленimina (П-5, рис. 4), являющегося слабым катионным полиэлектролитом, был описан в 2009 году [11]. Было обнаружено усиление каталитического эффекта полиэтиленimina (ПЭИ) в реакции гидролиза диметил-4-нитрофенил-фосфата (С-7, рис. 4) в присутствии макроцикла. В реакционной смеси ПЭИ играет роль нанореактора, обеспечивающего концентрирование реагентов и создание микроокружения, приводящего к изменению скорости гидролиза. Несмотря на то, что сам макроцикл не влияет на скорость гидролиза фосфата, в растворе с ПЭИ достигается 10-кратное ускорение реакции, что свидетельствует об образовании смешанной каталитической системы в коллоидном растворе полимер-макроцикл. Методом тензиометрии было показано, что ККА макроцикла в присутствии ПЭИ снижается с 0.012 до 0.0065 моль/л. На основании данных методов ¹H ЯМР и ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля (ЯМР ИГМП) были предложены возможные модели комплексообразования с включением фрагментов ПЭИ в полость молекул макроцикла [11].

В работе [12] был изучен каликс [4]резорцин, функционализированный по нижнему ободу чередующимися метил(трипиперидин)фосфониевыми и этильными группами (**II**, $R_1 = CH_3$, $R_2 = H$, $R' = CH_2P(NC_5H_{10})_3^+Br^-$ и CH_2CH_3 , рис. 4). Несмотря на отсутствие четко выраженного гидрофобного фрагмента, макроцикл снижает поверхностное натяжение воды на границе раздела вода-воздух до 64 мН/м при концентрации выше 0.15 ммоль/л. Было показано, что в присутствии ПЭИ (П-5, рис. 4) при концентрации полимера 0.05 моль/л, величина ККА макроцикла снижается в два раза и составляет 0.071 ммоль/л. Продемонстрировано, что в растворах макроцикла в присутствии ПЭИ наблюдается бимодальное распределение агрегатов по размеру (метод ДРС). Авторы делают предположение о преобладании гидрофобного характера взаимодействия в системе. Однако можно предположить и электростатическое взаимодействие. Водный раствор ПЭИ имеет рН 10.1–10.6 [12], при котором гидроксигруппы макроцикла способны депротонироваться [13]. Это может приводить к образованию комплекса за счет взаимодействия ионных групп противоположного заряда.

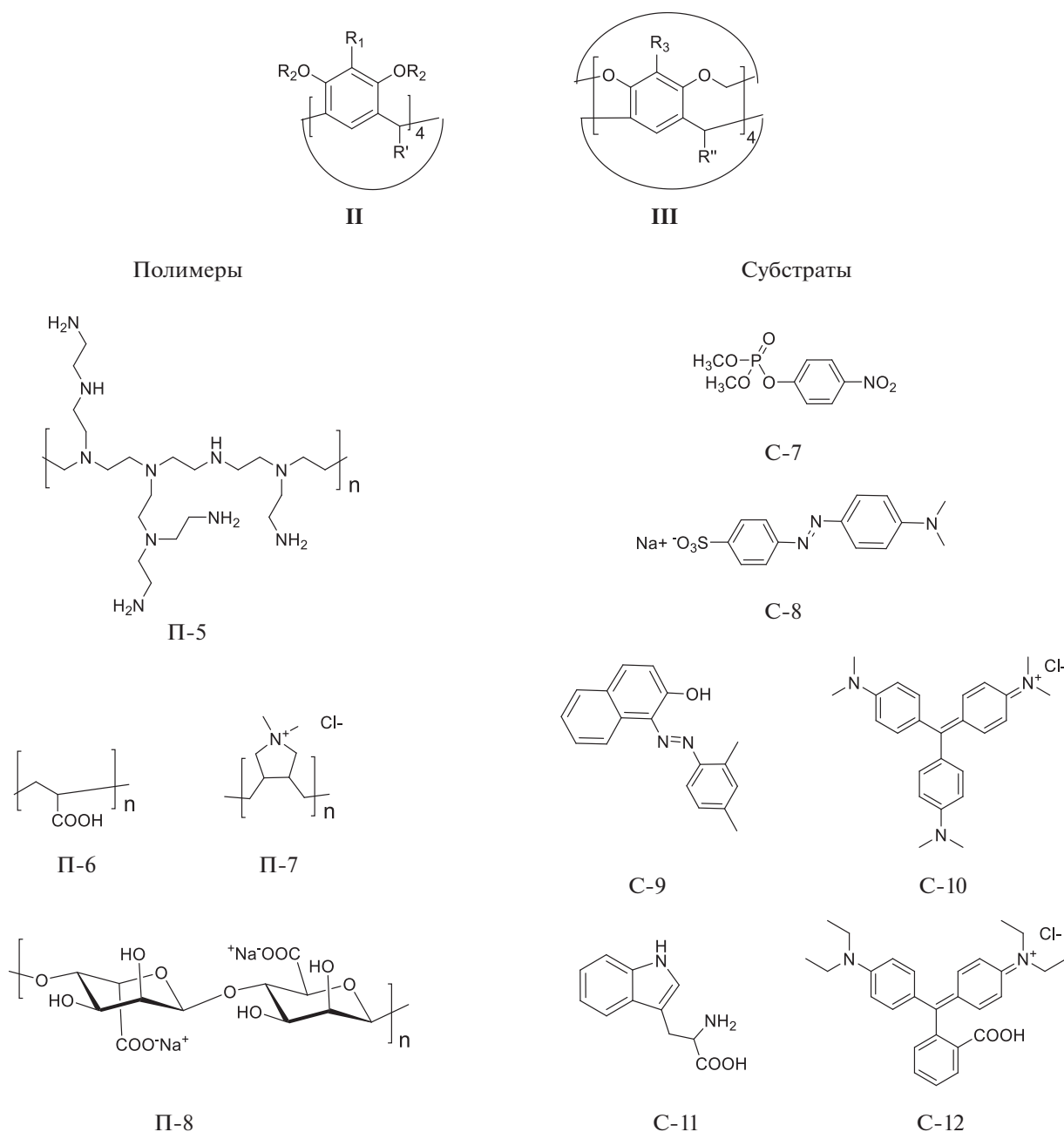


Рис. 4. Химическая структура каликрезорцин[4]арена II и кавитанда III, химические структуры полимеров (PI-5 – разветвленный полиэтиленимин, PI-6 – полиакриловая кислота, PI-7 – хлорид поли(диаллилдиметиламмония), PI-8 – альгинат натрия) и инкапсулированных субстратов (C-7 – диметил-4-нитрофенил-фосфат, C-8 – метиленовый оранжевый, C-9 – Оранже OT, C-10 – кристаллический фиолетовый, C-11 – триптофан, C-12 – Родамин В) в изученных полимерных комплексах.

Характер взаимодействия между разноименно заряженными каликс[4]резорцинами и полимером был исследован в работе [14]. Были изучены комплексы полиакриловой кислоты (ПАК, PI-6, рис. 4) с пятью аммонийными каликрезорцинами с разными гидрофобными заместителями (II, R₁ = H, R₂ = CH₂C(O)NH(CH₂)N⁺(CH₃)₃I⁻, R' = CH₃, C₃H₁₁, C₈H₁₇, C₁₁H₂₃, -C₆H₄-O-C₁₂OPh,

рис. 4). Методом ЯМР ИГМП было показано, что тетраметилкаликрезорцин (R' = CH₃) существует в растворе в виде мономеров, тогда как остальные макроциклы образуют самоассоциаты, средние числа агрегации которых увеличиваются с ростом гидрофобности заместителей R'. Было показано, что величины d_h полимерных комплексов зависят от выбора макроцикла. Самые малые ча-

стицы с d_h 59 нм получены в присутствии тетрапентильного макроцикла ($R' = C_5H_{11}$), а самые крупные с d_h 255 нм – в присутствии тетрафениленоксидодецильного макроцикла ($R' = -C_6H_4-O-C_{12}OPh$) (метод ДРС). Краситель метиловый оранжевый (МО, С-8, рис. 4) был взят в качестве оптической пробы, смещение максимума поглощения которой в абсорбционном спектре в присутствии макроцикла/полимера/полимерного комплекса позволяет сделать вывод о строении полимерного комплекса и возможности инкапсуляции субстратов.

Ранее было показано, что анионный МО с тетраметилкаликсрезорцином образует комплекс включения, а с остальными макроциклами – совместные ассоциаты, в которых он встраивается между соседними молекулами макроциклов [15]. Добавление ПАК к растворам макроцикл + МО вызывает высвобождение МО из комплекса с тетраметилкаликсрезорцином, но приводит к сохранению красителя в совместных ассоциатах с более гидрофобными макроциклами [14]. Таким образом, полимер связывает макроциклы за счет взаимодействия с их гидрофильными группами и инкапсуляция субстрата может осуществляться только при использовании самоассоциатов каликсрезорцинов.

В работе [16] было показано, что инкапсуляция субстратов в полимерных комплексах с каликсрезорцинаренами может осуществляться также за счет образования общих гидрофобных доменов между фрагментами полимера и молекулами макроциклов. Исследовалось взаимодействие между разветвленным ПЭИ (П-5, рис. 4) и серии карбокси-каликсрезорцинов с различными гидрофобными группами на нижнем ободе (II, $R_1 = H$, $R_2 = CH_2COO^-Na^+$, $R' = -C_6H_4-O-CH_3$, $-C_6H_4-O-C_5H_{11}$, C_5H_{11} , C_8H_{17} , $C_{11}H_{23}$, рис. 4). Добавление макроциклов к растворам ПЭИ приводит к перезарядке поверхности его молекул с положительной на отрицательную, свидетельствуя об образовании комплексов за счет электростатического взаимодействия (дзета-потенциал +20 мВ для свободного ПЭИ и в комплексах от –30 до –10 мВ в зависимости от макроцикла, концентрация ПЭИ 5 ммоль/л). При низкой концентрации ПЭИ в растворе (0.5 и 1 ммоль/л) варьирование макроцикла приводит к существенным изменениям в размерах частиц полимерных комплексов. Макроцикл с фениленоксиметильными группами ($R' = -C_6H_4-O-CH_3$), существующий в растворах в виде мономеров, образует достаточно крупные частицы с d_h 220 и 295 нм при 0.5 и 1 ммоль/л ПЭИ, соответственно (метод ДРС), что объясняется конформацией молекул макроцикла – кресло – при которой макроцикл максимально эффективно может взаимодействовать с поверхностью полимера. Это приводит к компенсации заряда полимера и усилению гидрофобности и со-

ассоциации частиц полимера. Остальные макроциклы существуют в растворах в виде самоассоциатов, число агрегации которых растет с ростом гидрофобности заместителей R' . Поэтому в их присутствии d_h полимерных частиц меньше и варьируется от 37 до 68 нм в зависимости от размера самоассоциатов макроциклов. Снимки ПЭМ подтверждают разницу в размерах частиц ПЭИ в зависимости от макроцикла (300 и 50 нм для комплексов с макроциклом с $R' = -C_6H_4-O-CH_3$ и $-C_6H_4-O-C_5H_{11}$, соответственно). При использовании пирена в качестве флуоресцентного зонда показано, что в полимерных комплексах наблюдается значительное уменьшение величин ККА амфифильных макроциклов, но рост концентрации ПЭИ приводит к их увеличению. Например, для тетраоктилкаликсрезорцина ($R' = C_8H_{17}$) величины ККА составили 1.25, 0.101 и 0.043 ммоль/л в индивидуальном растворе и в присутствии 20 и 5 мМ ПЭИ, соответственно. Также в полимерных комплексах наблюдается усиление гидрофобности микроокружения пирена в сравнении с индивидуальными растворами макроциклов, что свидетельствует об образовании совместных гидрофобных доменов в системе ПЭИ + макроцикл. Согласно методу двухмерной ядерной магнитно-резонансной спектроскопии с эффектом Оверхаузера (2D NOESY ЯМР) в спектрах наблюдаются кросс-пики между протонами ПЭИ и протонами гидрофильных и гидрофобных групп и ароматических протонов молекул макроциклов, что свидетельствует о возможном включении фрагментов ПЭИ в полость макроциклов, а также о сближении с его гидрофобными группами и включении в самоассоциаты макроциклов. Доказательство образования совместных гидрофобных доменов также было проведено с помощью гидрофобной и гидрофильной оптических проб. Было показано, что солибилизация гидрофобного красителя Оранжевый (С-9, рис. 4) растворами ПЭИ усиливается при добавлении макроциклов. Гидрофильный краситель Кристаллический фиолетовый (КФ, С-10, рис. 4), как известно, слабо флуоресцирует в свободном виде, но при связывании в комплексы наблюдается усиление его эмиссии из-за торможения ротации его фенильных заместителей. Показано синергетическое усиление эмиссии КФ в полимерных комплексах, например, в случае макроцикла с $R' = -C_6H_4-O-C_5H_{11}$ эмиссия КФ при добавлении ПЭИ повышается в 11 раз. Согласно данным ЯМР ИГМП доля связывания макроцикла в комплексе ПЭИ + макроцикл + КФ растет от 0.52 до 0.74 в сравнении с комплексом ПЭИ + макроцикл ($R' = C_5H_{11}$), что свидетельствует об эффективности образования тройных комплексов с формированием гидрофобных доменов, связывающих молекулы субстратов [16]. Схема образования тройных комплексов в изученных системах показана на рис. 5.

В работе [17] было изучено влияние на образование полимерного комплекса склонности макроцикла образовывать самоассоциаты, а также состава среды. Было исследовано взаимодействие метилсульфонатных тетраметил- и тетрапентилкаликсрезорцинов (II, $R_1 = \text{CH}_2\text{SO}_3^-\text{Na}^+$, $R_2 = \text{H}$, $R' = \text{CH}_3$, C_5H_{11} , рис. 4) с катионным полимером хлоридом поли(диаллилдиметиламмония) (ПДДА, П-7, рис. 4) при спонтанном pH раствора (pH 3.80 и 4.78 для комплекса с тетраметил- и тетрапентилкаликсрезорцином, соответственно) и в фосфатном буфере (pH 7). Увеличение концентрации макроцикла в растворе при постоянной концентрации ПДДА показало уменьшение величины d_h частиц от 396 до 255 нм в случае тетраметилкаликсрезорцина ($R' = \text{CH}_3$) согласно методу ДРС. В случае пентильного макроцикла ($R' = \text{C}_5\text{H}_{11}$) в растворе наблюдали бимодальное распределение частиц, размер которых возрастал с ростом концентрации калликсрезорцина, что связано с усилением самоассоциации макроцикла при взаимодействии с ПДДА. С использованием флуоресцентного зонда (пирена) было показано, что в присутствии ПДДА наблюдается рост гидрофобности микроокружения пирена и значение ККА тетрапентилкаликсрезорцина снижается с 0.292 до 0.0158 ммоль/л. Возможность образования тройного комплекса полимер + макроцикл + субстрат была изучена с помощью триптофана (С-11, рис. 4) по изменению интенсивности его флуоресценции. В присутствии макроциклов тушение эмиссии триптофана достигало 99%. Было показано, что добавление ПДДА приводит к высвобождению триптофана из комплекса с тетраметилкаликсрезорцином как при pH 7 (фосфатный буфер, рост интенсивности флуоресценции достигает 60%), так и при pH 3.8 (рост интенсивности составил 40%) из-за конкурентного взаимодействия катионных групп полимера с полостью макроцикла. В то же время в случае тетрапентилкаликсрезорцина в фосфатном буфере наблюдается высвобождение части молекул субстрата (увеличение флуоресценции составило 30%), но при pH 4.78 его связывание в тройном комплексе усиливается. Различия в связывании триптофана в случае полимерных комплексов с тетрапентилкаликсрезорцином объясняется связыванием триптофана в самоассоциатах макроцикла, которые, согласно данным ЯМР ИГМП, имеют разную упаковку – “голова-к-хвосту” и “хвост-к-хвосту” в отсутствие и в присутствии фосфатного буфера, соответственно. Таким образом, выбор макроцикла и состав раствора влияют на связывание субстрата в полимерном комплексе [17].

В недавних работах полимерные комплексы калликсрезорцинов исследуются в качестве потенциальных систем доставки лекарств. Описаны полимерные комплексы между тетраэтилсульфонатным калликсрезорцином (II, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{H}$, $R' =$

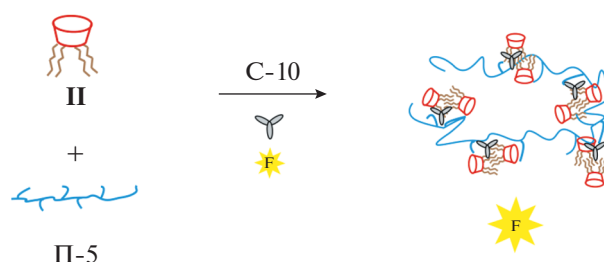


Рис. 5. Схема образования общих гидрофобных доменов между димерами калликсрезорцина II ($R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{CH}_2\text{COO}^-\text{Na}^+$, $R' = -\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-\text{C}_5\text{H}_{11}$) и разветвленным полиэтиленимином (П-5) с инкапсуляцией флуоресцентного красителя С-10. Рисунок создан авторами на основании работы [16].

$= \text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-\text{Na}^+$, рис. 4) и метилсульфонатным калликсрезорцином (II, $R_1 = \text{CH}_2\text{SO}_3^-\text{Na}^+$, $R_2 = \text{H}$, $R' = (\text{CH}_2)_3\text{OH}$, рис. 4) и хитозаном (П-1, рис. 1) [18]. Показано образование комплексов с $d_h \sim 170$ нм (pH 5.5) с электрокинетическим потенциалом частиц +26—+28 мВ. Движущими силами взаимодействия являются электростатические силы, что подтверждается данными ИК спектроскопии полимерных комплексов и ^1H ЯМР спектров смесей полимер + макроцикл. Была осуществлена инкапсуляция субстратов (Родамин В (С-12, рис. 4) и доксорубин (С-3, рис. 1)) в полимерные комплексы; для этого субстраты добавляли непосредственно к растворам полимерных комплексов, а затем очищали комплексы от несвязанных молекул субстратов методом диализа. Эффективность инкапсуляции Родамина В составила 100 и 29%, а доксорубина – 98 и 51% для полимерных частиц с тетраэтилсульфонатным (II, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{H}$, $R' = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-\text{Na}^+$, рис. 4) и метилсульфонатным (II, $R_1 = \text{CH}_2\text{SO}_3^-\text{Na}^+$, $R_2 = \text{H}$, $R' = (\text{CH}_2)_3\text{OH}$, рис. 4) макроциклами, соответственно. Установлено, что частицы способны к высвобождению доксорубина при понижении pH раствора (pH 5.5, ацетатный буфер, метод диализа); за 16 часов процесса высвободилось около 40 и 60% инкапсулированного доксорубина из частиц с метилсульфонатным и тетраэтилсульфонатным макроциклами, соответственно. Методами проточной цитометрии и флуоресцентной микроскопии было показано, что полимерные частицы с инкапсулированным доксорубином интернализируются М-HeLa клетками (клетки рака шейки матки человека). Отмечено уменьшение IC_{50} доксорубина, загруженного в полимерные частицы, по сравнению со свободным препаратом в отношении раковых клеток [18].

В работе [19] были исследованы полимерные частицы, образованные кавитандами калликсрезорцинов, несущих липофильные катионные группы –

пиридиниевые (III, $R_1 = \text{CH}_2\text{Pyg}^+\text{Br}^-$, $R' = \text{C}_5\text{H}_{11}$, $\text{C}_{11}\text{H}_{23}$, рис. 4) и триэтиламмонийные (III, $R_1 = \text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$, $R' = \text{C}_5\text{H}_{11}$, $\text{C}_{11}\text{H}_{23}$, рис. 4) и альгинатом натрия (П-8, рис. 4). Кавитанды были адсорбированы на полимерные молекулы для получения частиц оптимальных размеров. Отмечается, что самоассоциаты каликсрезорцинов показывают высокую полидисперсность в растворах, однако частицы их полимерных комплексов часто имеют очень узкое распределение по размерам (индекс полидисперсности менее 0.1). Целью работы также являлось получение низкотоксичных частиц, декорированных лигандами и нацеленных на митохондрии раковых клеток, поэтому в качестве полимера был выбран биосовместимый полисахарид альгинат натрия П-8. Было показано, что взаимодействие с полимером приводит к понижению величин ККА кавитандов (метод флуоресценции пирена). Величины d_h полимерных частиц составили 142 и 615 нм для пиридиниевых кавитандов с $R' = \text{C}_5\text{H}_{11}$ и $\text{C}_{11}\text{H}_{23}$, соответственно, и 122 нм для частиц с триэтилпиридиниевыми кавитандами, электрокинетический потенциал частиц отрицательный (от -38 до -51 мВ). Низкий индекс полидисперсности (0.1) отмечается для полимерных комплексов для обоих кавитандов с $R' = \text{C}_5\text{H}_{11}$. Участие гидрофильных групп полимера в образовании комплекса было подтверждено методом ИК-спектроскопии. Исследование цитотоксичности кавитандов в отношении нормальных (Chang liver, клетки печени человека) и раковых клеток М-HeLa показало, что пентильные макроциклы обладают большей цитотоксичностью. С помощью метода проточной цитометрии было найдено, что триэтиламмонийный кавитанд с $R' = \text{C}_5\text{H}_{11}$ проявляет способность к понижению мембранного потенциала раковых клеток. Тем не менее, исследование способности к понижению мембранного потенциала полимерных частиц кавитанда с альгинатом натрия не привело к положительному результату. Предположительно, это было вызвано отрицательным зарядом полимерных частиц, который способен затруднять взаимодействие липофильных групп кавитандов с мембраной митохондрий клеток [19].

Рассмотренные данные по полимерным комплексам с каликсрезорцинами демонстрируют их потенциал в качестве мицеллярных катализаторов и систем доставки лекарственных средств. Следует отметить любопытный факт образования общих гидрофобных доменов между фрагментами молекул полимера и макроцикла, в которых связывание субстратов усиливается; подобный синергизм в связывании может быть использован, например, как в создании новых мицеллярных катализаторов, так и в дизайне биосенсоров.

КОМПЛЕКСЫ ПИЛЛАРАРЕН-ПОЛИМЕР

Пиллар[n]арены новый класс молекул-хозяев (впервые синтезированы в 2008 г.), представляющих собой циклические олигомеры, состоящие из гидрохиноновых остатков, соединенных метиленовыми мостиками в *para*-положениях бензольных колец (IV, рис. 6). Наиболее популярны у исследователей карбокси-пиллар[n]арены ($R = \text{CH}_2\text{COO}^-$), которые благодаря анионным группам и богатой π -электронами гидрофобной полости являются превосходными рецепторными молекулами для органических катионов [20]. Кроме того, изменением pH раствора можно управлять связывающими свойствами карбокси-пиллар[n]аренов путем протонирования их ацетатных групп.

Так, в работе [21] демонстрируется образование pH-чувствительной супрамолекулярной системы – комплекса между карбоксильными пиллар[n]аренами (IV, $R = \text{CH}_2\text{COO}^- \text{Na}^+$, $n = 5, 6$, рис. 6) и блок-сополимером N-изопропилакриламида и стирола, декорированного виологеновыми фрагментами (П-9, рис. 6). Взаимодействие осуществляется за счет включения виологенового фрагмента полимера в полость макроцикла (образование псевдоротаганов). Благодаря наличию N-изопропиламино-групп сополимер демонстрирует термочувствительные свойства: его нижняя критическая температура растворения (НКТР) составляет 40.5°C . Добавление пиллар[5]арена и пиллар[6]арена приводит к росту НКТР сополимера до 50.5 и 53.4°C , соответственно, что является результатом увеличения растворимости молекул полимера из-за присутствия гидрофильных групп макроциклов, стерических затруднений и электростатического отталкивания одноименно заряженных фрагментов комплекса. Совокупность этих процессов препятствует внутри- и межмолекулярной ассоциации фрагментов полимера. При этом более высокий отрицательный заряд пиллар[6]арена и больший объем его молекулы приводит к более сильному влиянию на свойства полимера. Установлено, что при добавлении соляной кислоты за счет протонирования ацетатных групп макроциклов происходит уменьшение их растворимости и восстановление свойств системы (понижение НКТР) [21].

В работе [22] обратимость свойств термочувствительного полимера была достигнута при добавлении к его комплексу с карбокси-пиллар[10]ареном (IV, $R = \text{CH}_2\text{COO}^- \text{NH}_4^+$, $n = 10$, рис. 6) конкурентной молекулы-гостя. Сополимер П-9 (рис. 6) образует комплекс с макроциклом с формированием частиц с $d_h \sim 55$ нм (метод ДРС, 30°C). В присутствии макроцикла наблюдается рост НКТР сополимера от 40.7°C до 45.9 – 50.8°C в зависимости от количества добавленного пилларарена. Однако добавка конкурентной молекулы-гостя – производного 1,10-фенантролина (С-13, рис. 6) – приводит к

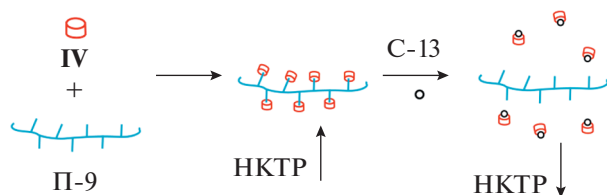


Рис. 7. Схема образования полимерного комплекса карбокси-пиллар[10]арена IV с сополимером П-9 и его дезинтеграция при добавлении конкурентного гостя С-13 с обратимым изменением НКТР полимера. Рисунок создан авторами на основании работы [22].

практически полному высвобождению молекул макроцикла из комплекса с сополимером, что снижает его НКТР до 41.3°C [22]. Схема обратимого образования комплекса IV+П-9 приведена на рис. 7.

В работе [23] Р. Wei с соавторами было проведено исследование комплекса карбокси-пиллар [5]арена (IV, $R = \text{CH}_2\text{COO}^-\text{Na}^+$, $n = 5$, рис. 6) и термочувствительного полимера поли(N-[2,2-диметил-1,3-диоксолан]метил)акриламида (П-10, рис. 6), который из-за наличия диоксоланового фрагмента является неустойчивым в кислых условиях. Для усиления электростатических взаимодействий с макроциклом была проведена функционализация полимера пиридиниевыми фрагментами. НКТР полимера П-10 составляет 25°C , а добавка пилларарена приводит к смещению этой величины до 31.1°C из-за увеличения растворимости полимера. Кроме того, в присутствии макроцикла наблюдается ускорение гидролиза полимера в условиях кислой среды (pH 5.2, ацетатный буфер, 37°C), что объясняется повышением гидрофильности комплекса за счет взаимодействия с макроциклом и увеличением количества молекул воды вблизи диоксоланового фрагмента [23].

Еще одна любопытная работа посвящена исследованию гидрогеля на основе модифицированного алкилтриметиламмонийными группами полиакриламида П-11 (рис. 6), процесс набухания и сжатия которого контролируется добавкой карбоксильного пиллар [5]арена (IV, $R = \text{CH}_2\text{COO}^-\text{Na}^+$, $n = 5$, рис. 6) [24]. Метод СЭМ показал, что до добавления макроцикла полимерный гидрогель имеет рыхлую пленкообразную структуру, а после образования комплекса за счет взаимодействия катионных фрагментов полимера и анионных групп пилларарена наблюдается компактная пластинчатая структура. Сжатие гидрогеля в присутствии макроцикла достигает 85.9–89.2 вес. % в зависимости от концентрации пилларарена (опыт проводили в течение 36 ч). Было показано, что добавление макроцикла к гидрогелю, предварительно загруженному анионным красителем кальцеином (С-14, рис. 6), приводит к высвобождению 97.4% инкапсулированного красителя в течение 12 ч [24].

В следующих работах авторами были получены полимерные комплексы с участием пиллараренов для их потенциального применения в качестве стимул-чувствительных низкотоксичных систем доставки лекарств.

Г. Yu с соавторами [25] использовали для этого карбокси-пиллар [6]арен (IV, $R = \text{CH}_2\text{COO}^-\text{Na}^+$, $n = 6$, рис. 6). В системе за счет электростатических сил макроцикл связывается с сополимером метоксиполиэтиленгликоль-поли(L-лизин гидрохлоридом) (П-12, рис. 6) и служит в качестве молекулы-хозяина для включения молекулы субстрата — пирена, конъюгированного посредством фоторазлагаемой химической связи с противоопухолевым препаратом хлорамбуцилом (С-15, рис. 6). По данным ПЭМ полимерный комплекс представляет собой округлые частицы диаметром от 80 до 160 нм, в растворе d_h частиц составляет 127 нм (метод ДРС). Полимерные частицы демонстрируют успешную интернализацию мембраной клеток A549 (клетки рака легких человека) с их равномерным распределением в цитоплазме после 24-часовой инкубации. Связывание субстрата С-15 в полимерные частицы снижает его цитотоксичность: при концентрации хлорамбуцила 50 мкмоль/л жизнеспособность клеток A549 составила 90 и 28% для солюбилизованного и свободного препарата, соответственно. Фоторазлагаемая бензилацето-группа в конъюгате пирен-хлорамбуцил разрушается путем УФ-облучения, что позволяет высвобождать хлорамбуцил из супрамолекулярного комплекса. По данным метода флуоресцентной микроскопии облучение клеток, обработанных полимерными частицами, УФ-светом с длиной волны 365 нм в течение 10 мин приводит к изменению их окрашивания за счет высвобождения хлорамбуцила [25].

В работе [26] описан pH- и фоточувствительный низкотоксичный полимерный комплекс для эффективного связывания и высвобождения противоракового препарата доксорубина (С-3, рис. 1). Модифицированный азо-группами блок-сополимер поликапролактон-поли(2-диметиламино)этилметакрилат (PCL170-*b*-PDM72, П-13, рис. 6) и карбокси-пиллар [6]арен (IV, $R = \text{CH}_2\text{COO}^-\text{NH}_4^+$, $n = 6$, рис. 6) взаимодействуют с образованием комплекса включения между молекулами пилларарена и азо-фрагментами, находящимися в транс-форме (константа связывания $(1.0 \pm 0.6) \times 10^6 \text{ M}^{-1}$, pH 7.4, PBS). По данным ПЭМ частицы комплекса представляют собой везикулярные структуры диаметром от 40 до 180 нм, разделенные на множество более мелких “вакуолей” неправильной формы, отделенных друг от друга мембраной. Морфологические изменения в структуре комплекса достигаются изменением pH среды (за счет протонирования/депротонирования карбокси-групп макроцикла) и при фотооблучении (за счет фотоизомеризации азо-фрагмента). Так, при pH 7.4 d_h

частиц составляет 68 нм (метод ДРС), и снижение рН раствора до 5 приводит к укрупнению частиц комплекса до 3000 нм (ДРС, ПЭМ), однако эти изменения обратимы, и при подщелачивании раствора до рН 7.4 размеры везикул вновь уменьшаются до ~70 нм.

Облучение раствора полимерного комплекса светом с длиной волны 365 нм в течение 30 мин приводит к батохромному сдвигу максимума поглощения азо-групп полимера в УФ-спектре вследствие появления цис-формы. При этом размер частиц комплекса уменьшается до 44–45 нм (ДРС, ПЭМ). Обратная трансформация размеров частиц наблюдается при облучении раствора светом с длиной волны 435 нм. Полимерные частицы способны инкапсулировать доксорубин (С-3, рис. 1) с эффективностью инкапсуляции 91.5% и емкостью 47.8%. Был изучен профиль высвобождения лекарственного препарата и показано, что выход препарата за 10 часов процесса составляет 20, 65 и 90% при рН 7.4, рН 5 и при облучении светом с длиной волны 365 нм, соответственно. Также была изучена цитотоксичность полимерных частиц. В диапазоне концентраций полимерных частиц от 100 до 500 мкг/л жизнеспособность клеток аденокарциномы молочной железы человека (МСF-7) была близка к 100%. Токсичность инкапсулированного доксорубина также снизилась в сравнении с исходным препаратом. Методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ) показана успешная интернализация частиц полимерного комплекса клетками МСF-7: после 1 ч инкубации загруженные доксорубином везикулы выявляются в цитоплазме клеток, а усиление интенсивности флуоресценции через 3–6 ч свидетельствует о повышении концентрации препарата. Авторы связывают это с усилением высвобождения доксорубина из полимерных везикул из-за их возможного слияния с лизосомами (рН 5–6), кислая среда которых приводит к высвобождению препарата с его последующей диффузией в ядра клеток [26].

В работе [27] сообщается о конструировании полимерсом (искусственных везикул) при добавлении карбоксильного пиллар [5]арена (IV, R = $\text{CH}_2\text{COO}^-\text{Na}^+$, $n = 5$, рис. 6) к катионному поли(глутамиду) и его производному, модифицированному биотином через олигоПЭГ группу (П-14 и П-15, соответственно, рис. 6). Взаимодействие осуществляется за счет включения в полость макроцикла бутиламмонийной группы полимеров. Метод ДРС показал, что размер частиц с полимером П-15 составляет 219 нм (234 нм с полимером П-14), метод ПЭМ продемонстрировал образование полых сферических частиц диаметром от 180 до 240 нм с шириной везикулярной мембраны около 12.5 нм. Авторы предполагают, что связывание макроцикла с заряженными группами полимеров

приводит к уменьшению электростатического отталкивания фрагментов полимерных молекул и увеличивает их компактизацию с образованием структур, которые далее собираются в везикулярные структуры. Везикулярная структура полимером имеет рН-чувствительность: при рН 5 карбокси-группы макроцикла протонируются, что приводит к ослаблению взаимодействия с полимером и диссоциации частиц. Была изучена инкапсуляция гидрофильного противоракового лекарства митоксантрона (С-16, рис. 6) во внутреннюю гидрофильную часть полимерсом. Для этого растворы макроцикла и полимера П-15 были смешаны непосредственно в растворе препарата и несвязанный митоксантрон удаляли методом диализа, инкапсуляцию лекарства подтверждали методом абсорбционной спектроскопии по поглощению в видимой области спектра. Эффективность инкапсуляции составила 45%, размер частиц, загруженных лекарством, составил 301 нм (d_h , метод ДРС). Был показан рост количества высвобожденного лекарства при переходе от нейтральной к более кислым средам. После 12 ч процесса высвободилось менее 10, 40 и 79% при рН 7.4, 6 и 5, соответственно.

Полимерсомы обладают также низкой цитотоксичностью, что было показано на клетках N1H3T3 (нормальная клеточная линия эмбриональных фиброластов мыши) и M-HeLa. Также было показано, что цитотоксичность митоксантрона С-16, загруженного в полимерсомы, снижается в отношении клеток N1H3T3 (жизнеспособность клеток составляет около 65 и 95% для свободного и солибилизованного препарата, соответственно). Также авторы продемонстрировали более высокую интернализацию полимерсом, декорированных биотиновыми фрагментами, в клетки M-HeLa (доказано методом проточной цитометрии и методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии). В частности, было показано усиление интенсивности флуоресценции внутри ядер клеток, вызванной увеличением концентрации митоксантрона. Таким образом, авторами создан низкотоксичный рН-чувствительный супрамолекулярный полимерный комплекс с лигандами, нацеленными на раковые клетки [27].

Таким образом, в представленных работах карбокси-пилларарены выступают в качестве модификаторов гидрофильности термочувствительных полимеров, что приводит к изменению их НКТР и способности к поглощению молекул воды (в случае гидрогеля [24]). Для осуществления взаимодействия полимеры модифицируют фрагментами, способными образовывать комплексы включения с макроциклами (пиридиниевый, виологеновый, алкиламмонийный, азо-фрагмент). Для образования низкотоксичных полимерных комплексов используют полилизин, полиэтиленгликоль (ПЭГ), а для создания целевых систем до-

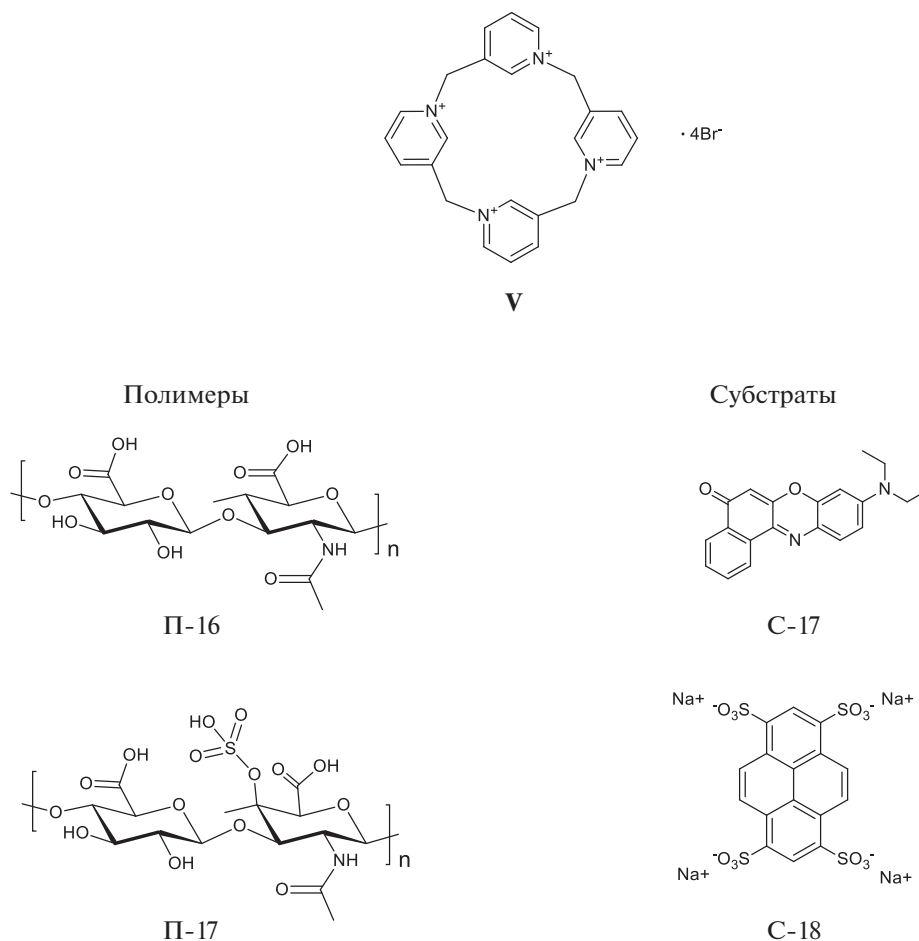


Рис. 8. Химическая структура тетрабромид каликс[4]пиридиния (V), полимеров (П-16 – гиалуроновая кислота, П-17 – хондроитин 4-сульфат) и субстратов (С-17 – Нильский красный, С-18 – тетранатриевая соль пирентетрасульфоновой кислоты) в изученных полимерных комплексах.

ставки лекарств в работе [27] полимер модифицировали целевым лигандом биотином.

КОМПЛЕКСЫ КАЛИКСПИРИДИНИЙ-ПОЛИМЕР

Каликс [4]пиридиний тетрабромид, получаемый методом олигомеризации 3-бромометилпиридина, является катионным макроциклом (V, рис. 8), проявляющим высокие комплексообразующие свойства в отношении анионных соединений. В цикле работ Kui Wang и соавторов описаны супрамолекулярные комплексы каликс[4]пиридиния с природными анионными полимерами – альгинатом натрия (П-8, рис. 4), гиалуроновой кислотой и хондроитин 4-сульфатом (П-16 и П-17, соответственно, рис. 8) [28–30]. Целью исследований было создание систем доставки лекарств, обладающих стимул-чувствительными свойствами, в том числе, способных к специфическим ферментативным реакциям в областях сверхэкспрессии ферментов.

Полимерный комплекс макроцикла V с гиалуроновой кислотой (П-16, рис. 8) представляет собой сферические мультислойные структуры [28]. П-16 имеет тенденцию к самоассоциации, которая усиливается в присутствии каликсспиридиния. Электростатическое взаимодействие полиэлектролита и макроцикла приводит к спонтанному образованию полимерного комплекса, стабильного при рН 6. Показано, что супрамолекулярные комплексы представляют собой сферические мультислойные структуры с d_p 69.5 нм (метод ДРС), снимки СЭМ содержат частицы со средним диаметром 40 нм (55 нм согласно ПЭМ). Исследована диссоциация полимерного комплекса при использовании энзиматической реакции с гиалуронидазой, являющейся природным ферментом, расщепляющим гиалуроновую кислоту в организме. На примере гидрофобного красителя Нильского красного (С-17, рис. 8) показано, что дезинтеграция комплекса при воздействии фермента приводит к высвобождению красителя. Продемонстрировано усиление стабильности комплекса V + П-16 при росте

температуры раствора до 60°C, при этом морфология его частиц изменяется из сферической в мультислойную (ПЭМ, СЭМ) [28]. Схема образования частиц V + П-16 и их дезинтеграции под действием энзима приведена на рис. 9.

Хондроитин 4-сульфат (П-17, рис. 8) также как и П-16 представляет собой гликозаминогликановую полимерную цепь, отрицательный заряд которой усилен присутствием сульфо-групп. Добавление макроцикла приводит к формированию в растворе полимера сферических частиц с d_h 151.3 нм, согласно методу ДРС (177 нм – метод ПЭМ), стабильных при pH 6 и не изменяющих свою морфологию в диапазоне температур до 85°C [29]. Полимерный комплекс V + П-17 демонстрирует pH-зависимое изменение морфологии частиц: при pH 2 полимерные частицы формируют наностержни, а при pH 9 наблюдается дезинтеграция частиц. Также диссоциация полимерного комплекса вызывается добавлением конкурентного гостя – тетранатриевой соли пирентетрасульфоновой кислоты (С-2, рис. 8). Неожиданным для авторов стала реакция на добавление к полимерному комплексу энзима гиалуронидазы, так как продукт деградации хондроитинсульфата при взаимодействии с каликс-пиридинием привел к формированию крупных червеобразных структур [29].

В работе [30] для исследования взаимодействия с V были взяты два образца альгината натрия низкой и средней вязкости (П-8, рис. 4). Было показано, что в зависимости от вязкости альгината можно получить полимерные комплексы с

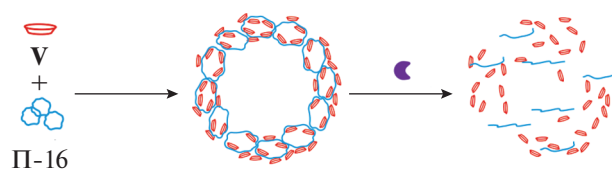


Рис. 9. Схема образования полимерного комплекса при взаимодействии каликс [4]пиридиния V с гиалуроновой кислотой (П-16) и его дезинтеграции при добавлении энзима гиалуронидазы. Рисунок создан авторами на основании работы [28].

ламеллярной (полимер с низкой вязкостью) либо сферической структурой (полимер со средней вязкостью, d_h 221.2 нм, метод ДРС). При этом ламеллярные частицы в отличие от сферических демонстрируют более высокую стабильность при увеличении как температуры, так и ионной силы раствора, что объясняется более высоким отрицательным зарядом поверхности частиц П-8 средней вязкости. Показано, что конкурентное взаимодействие с молекулой-гостем тетранатриевой соли пирентетрасульфоновой кислоты (С-18, рис. 8) приводит к разрушению полимерных комплексов ламеллярной структуры при меньшей концентрации гостя, чем в опыте со сферическими частицами. Полимерные комплексы обладают pH-чувствительностью: при снижении pH от 6 до 4 происходит разрушение сферических ассоциатов; повышение pH приводит к разрушению ламеллярных

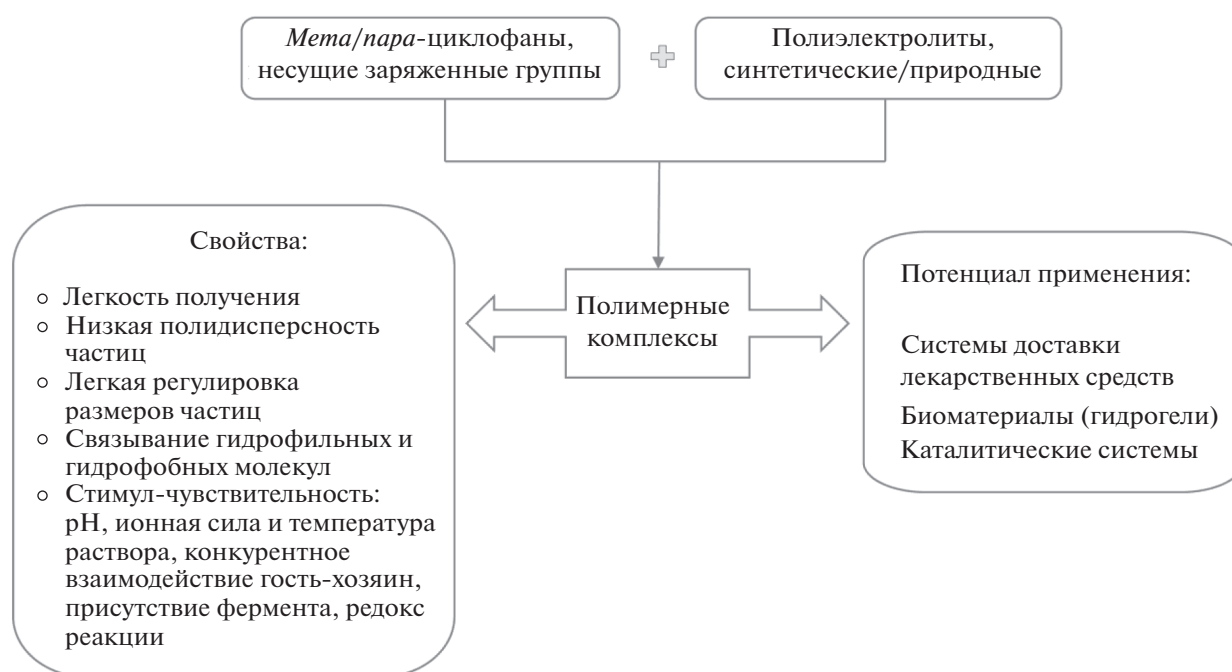


Рис. 10. Свойства и области потенциального применения полимерных комплексов мета/пара-циклофанов.

структур уже при pH 7, тогда как сферических — только при pH 9 [30].

Таким образом, приведенные данные по полимерным комплексам каликсспиридиния с природными анионными полиэлектролитами демонстрируют способность к различным видам стимул-чувствительности: pH, температура, ионная сила раствора, конкурентное взаимодействие гостя и отклик на добавление энзима.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение полимерных комплексов синтетических супрамолекулярных макроциклов, несущих заряженные группы, и полиэлектролитов противоположного знака — одно из направлений разработки современных супрамолекулярных материалов, обладающих стимул-чувствительностью (термо-, pH-, свето-, редокс-, ион-, фермент-чувствительность). В обзоре представлен потенциал использования каликс[*n*]аренов, каликс [4]резорцинов, пиллар[*n*]аренов и каликс [4]пиридиния в создании полимерных систем, в которых добавка макроциклов позволяет контролировать размеры частиц, обеспечивает инкапсулирующую способность системы и чувствительность к внешним стимулам (рис. 10). Дальнейшее развитие исследований в этой области приведет к получению супрамолекулярных материалов для контролируемой доставки лекарств, создания биоматериалов и эффективных каталитических систем.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанского научного центра РАН, № 122011800132-5, и за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, № 0671-2020-0063.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антипин И.С., Алфимов М.В., Арсланов В.В., Бурилов В.А., Вацадзе С.З. и др. Функциональные супрамолекулярные системы: дизайн и области применения // Успехи химии. 2021. Т. 90. № 8. С. 895–1107.
2. Khan N., Brettman B. Intermolecular interactions in polyelectrolyte and surfactant complexes in solution // *Polymers*. 2019. V. 11. № 1. P. 51.
3. Coleman A.W., Jebors S., Cecillon S., Perret P., Garin D., Marti-Battle D., Moulin M. Toxicity and biodistribution of *para*-sulfonato-calix[4]arene in mice. // *New Journal of Chemistry*. 2008. V. 32. № 5. P. 780–782.
4. Harangozo J.G., Wintgens V., Miskolczy Z., Amiel C., Biczok L. Nanoparticle formation of chitosan induced by 4-sulfonatocalixarenes: utilization for alkaloid encapsulation // *Colloid and Polymer Science*. 2016. V. 294. № 11. P. 1807–1814.
5. Peng S., Wang K., Guo D.-S., Liu Y. Supramolecular polymeric vesicles formed by *p*-sulfonatocalix[4]arene and chitosan with multistimuli responses // *Soft Matter*. 2015. V. 11. № 2. P. 290–296.
6. Wintgens V., Guigner J.-M., Miskolczy Z., Amiel C., Biczok L. 4-Sulfonatocalixarene-induced nanoparticle formation of methylimidazolium-conjugated dextrans: utilization for drug encapsulation // *Carbohydrate Polymers*. 2019. V. 223. P. 115071.
7. Wang K., Guo D.-S., Zhao M.-Y., Liu Y. A Supramolecular vesicle based on the complexation of *p*-sulfonatocalixarene with protamine and its trypsin-triggered controllable-release properties // *Chemistry – A European Journal*. 2016. V. 22. № 4. P. 1475–1483.
8. Wang Y.-X., Guo D.-S., Duan Y.-C., Wang Y.-J., Liu Y. Amphiphilic *p*-sulfonatocalix[4]arene as “drug chaperone” for escorting anticancer drugs // *Scientific Reports*. 2015. V. 5. P. 9019.
9. Wang K.-P., Chen Y., Liu Y. A Polycation-induced secondary assembly of amphiphilic calixarene and its multi-stimuli responsive gelation behavior // *Chemical Communications*. 2015. V. 51. № 9. P. 1647–1649.
10. Джайн В.К., Канайя П.Х. Химия каликс[4]резорцинарен. // Успехи химии. 2011. Т. 80. № 1. С. 77–106. Jain V.K., Kanaiya P.H. Chemistry of calix[4]resorcinarenes // *Russian Chemical Reviews*. 2011. V. 80. № 1. P. 75–102.
11. Zakharaeva L.Ya., Syakaev V.V., Voronin M.A., Valeeva F.V., Ibragimova A.R., Ablakova Y.R., Kazakova E.Kh., Latypov Sh.K., Konovalov A.I. NMR and spectrophotometry study of the supramolecular catalytic system based on polyethyleneimine and amphiphilic sulfonatocalix[4]resorcinarene // *The Journal of Physical Chemistry C*. 2009. V. 113. № 15. P. 6182–6190.
12. Гайнанова Г.А., Ваганова Г.И., Князева И.Р., Матвеева В.И., Бурилов А.Р., Захарова Л.Я. Агрегация в бинарной системе на основе каликс[4]резорцина, функционализированного фосфониевыми группами, и гидрофильных полимеров // *Макрогетероциклы*. 2016. Т. 9. № 1. С. 23–28.
13. Morozova Y.E., Kuznetzova L.S., Mustafina A.R., Kazakova E.Kh., Morozov V.I., Ziganshina A.Yu., Konovalov A.I. Aminoalkylated calix[4]resorcinarenes as pH-sensitive “hosts” for the charged metal complexes // *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. 1999. V. 35. № 1–2. P. 397–407.
14. Morozova Ju.e., syakaev v.v., ermakova a.m., shalaeva ya.v., kazakova e.kh., konovalov a.i. supramolecular systems based on amidoammonium and amidoaminocalix[4]resorcinarenes and polyacrylic acid // *colloids and surfaces a: physicochemical and engineering aspects*. 2015. V. 481. P. 400–406.
15. Kazakova E., Morozova Ju., Mironova D., Syakaev V., Muslinkina L., Konovalov A.I. Influence of amidoammonium calix[4]resorcinarenes on methyl orange pro-

- tolytic equilibrium: supramolecular indicator systems // *Supramolecular Chemistry*. 2013. V. 25. № 12. P. 831–841.
16. *Morozova Ju.E., Syakaev V.V., Shalaeva Ya.V., Ermakova A.M., Nizameev I.R., Kadirov M.K., Kazakova E.Kh., Kononov A.I.* The supramolecular polymer complexes with oppositely charged calixresorcinarene: hydrophobic domain formation and synergistic binding modes // *Soft Matter*. 2018. V. 14. № 10. P. 1799–1810.
 17. *Shalaeva Ya.V., Morozova Ju.E., Syakaev V.V., Kazakova E.Kh., Ermakova A.M., Nizameev I.R., Kadirov M.K., Kononov A.I.* Supramolecular nanoscale systems based on amphiphilic tetramethylsulfonatocalix[4]resorcinarenes and cationic polyelectrolyte with controlled guest molecule binding // *Supramolecular Chemistry*. 2017. V. 29. № 4. P. 278–289.
 18. *Kashapov R., Razuvayeva Yu., Ziganshina A., Sergeeva T., Kashapova N., Sapunova A., Voloshina A., Nizameev I., Salnikov V., Zakharova L.* Supramolecular assembly of calix[4]resorcinarenes and chitosan for the design of drug nanocontainers with selective effects on diseased cells // *New Journal of Chemistry*. 2020. V. 44. № 41. P. 17854–17863.
 19. *Morozova Ju.E., Myaldzina C.R., Voloshina A.D., Lyubina A.P., Amerhanova S.K., Syakaev V.V., Ziganshina A.Yu., Antipin I.S.* Calixresorcine cavitands bearing lipophilic cationic fragments in the construction of mitochondrial-targeting supramolecular nanoparticles // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2022. V. 642. P. 128622.
 20. *Dasgupta S., Mukherjee P.S.* Carboxylatopillar[*n*]arenes: a versatile class of water soluble synthetic receptors // *Organic and Biomolecular Chemistry*. 2017. V. 15. № 4. P. 762–772.
 21. *Ji X., Chen J., Chi X., Huang F.* pH-Responsive supramolecular control of polymer thermoresponsive behavior by pillararene-based host-guest interactions // *ACS Macro Letters*. 2014. V. 3. № 1. P. 110–113.
 22. *Yu G., Zhou J., Chi X.* Pillar[10]arene-based size-selective host-guest complexation and its application in tuning the LCST behavior of a thermoresponsive polymer // *Macromolecular Rapid Communications*. 2015. V. 36. № 1. P. 23–30.
 23. *Wei P., Gotz S., Schubert S., Brendel J.C., Schubert U.S.* Accelerating the acidic degradation of a novel thermoresponsive polymer by host-guest interaction // *Polymer Chemistry*. 2018. V. 9. № 19. P. 2634–2642.
 24. *Wang S., Xu Z., Wang T., Liu X., Lin Y., Shen Y.-Z., Lin C., Wang L.* Dramatically shrinking of hydrogels controlled by pillar[5]arene-based synergetic effect of host-guest recognition and electrostatic effect // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2018. V. 355. P. 60–66.
 25. *Yu G., Yu W., Mao Z., Gao C., Huang F.* A Pillararene-Based ternary drug-delivery system with photocontrolled anticancer drug release // *Small*. 2015. V. 11. № 8. P. 919–925.
 26. *Zhou J., Xu H., Tong Z., Yang Y., Jiang G.* Photo/pH-controlled host-guest interaction between an azobenzene-containing block copolymer and water-soluble pillar[6]arene as a strategy to construct the “Compound Vesicles” for controlled drug delivery // *Materials Science and Engineering C*. 2018. V. 89. P. 237–244.
 27. *Guo S., Liang T., Song Y., Cheng M., Hu X.-Y., Zhu J.-J., Wang L.* Supramolecular polymersomes constructed from water-soluble pillar[5]arene and cationic poly(glutamamide)s and their applications in targeted anticancer drug delivery // *Polymer Chemistry*. 2017. V. 8. № 37. P. 5718–5725.
 28. *Wang K., Cui J.-H., Xing S.-Y., Ren X.-W.* A Hyaluronidase/temperature dual-responsive supramolecular assembly based on the anionic recognition of calixpyridinium // *Chemical Communications*. 2017. V. 53. № 54. P. 7517–7520.
 29. *Wang K., Ren X.-W., Cui J.-H., Guo J.-S., Xing S.-Y., Dou H.-X., Wang M.-M.* Multistimuli responsive supramolecular polymeric nanoparticles formed by calixpyridinium and chondroitin 4-sulfate // *Chemistry Select*. 2018. V. 3. № 10. P. 2789–2794.
 30. *Wang K., Wang M.-M., Dou H.-X., Xing S.-Y., Zhu L., Cui J.-H.* Comparative study on the supramolecular assemblies formed by calixpyridinium and two alginates with different viscosities // *ACS Omega*. 2018. V. 3. № 8. P. 10033–10041.