

ОПТИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОЛИМЕРНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ЩЕТОК С ВАРЬИРУЕМОЙ ПЛОТНОСТЬЮ ПРИВИВКИ И БИНАРНЫХ БИОАКТИВНЫХ НАНОСИСТЕМ С РАДАХЛОРИНОМ НА ИХ ОСНОВЕ

© С. В. Валуева¹, М. Э. Вылегжанина¹, Т. К. Мелешко¹, И. В. Иванов¹,
Е. Р. Гасилова¹, М. Л. Гельфонд², А. В. Якиманский¹, Т. Е. Суханова^{1,3}

¹ Институт высокомолекулярных соединений РАН,
199004, г. Санкт-Петербург, Большой пр. В.О., д. 31

² Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Петрова,
Министерство здравоохранения РФ,
197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68

³ Научно-исследовательский институт синтетического каучука им. академика С. В. Лебедева,
198035, г. Санкт-Петербург, ул. Гапсальская, д. 1
E-mail: svalu67@mail.ru

Поступила в Редакцию 4 апреля 2019 г.

После доработки 21 октября 2019 г.

Принята к публикации 21 октября 2019 г.

Методами динамического/статического светорассеяния и атомно-силовой микроскопии изучены оптические и морфологические характеристики полимерных молекулярных щеток с полиимидной основной цепью и боковыми цепями полиметакриловой кислоты, а также бинарных наносистем на основе фотосенсибилизатора второго поколения — Радахлорина® и молекулярных щеток. Щетки имели одинаковую основную цепь и примерно одинаковую молекулярную массу боковых цепей, однако сильно различались по плотности прививки боковых цепей. Показано влияние плотности прививки боковых цепей на молекулярно-конформационные и морфологические параметры свободных молекулярных щеток и соответствующих бинарных наносистем.

Ключевые слова: полиимидные молекулярные щетки; фотосенсибилизатор; Радахлорин®; прививка боковых цепей

DOI: 10.31857/S0044461820010107

Полимерные молекулярные щетки (МЩ) — особый вид привитых сополимеров с регулярно привитыми узкодисперсными боковыми цепями — привлекают большой интерес из-за их уникальных химических и физических свойств [1]. Активное развитие этого направления стало возможным благодаря последним достижениям в области так называемой контролируемой/«живой» (псевдоживой) полимеризации. Среди методов псевдоживой полимеризации при получении молекулярных щеток наиболее часто используют метод контролируемой радикальной

полимеризации с переносом атома (Atom Transfer Radical Polymerization, ATRP), применяя стратегию «прививка от» [2]. Амфифильные молекулярные щетки эффективно используют в нанобиотехнологических разработках для создания на их основе наноконтейнеров в целях солюбилизации гидрофобных лекарственных препаратов или агентов и их адресной доставки [3–5]. Способность «загружать» такие щетки фотосенсибилизаторами (ФС), обладающими возможностью селективного накопления в опухолевой ткани, позволяет получать материалы со свето-

чувствительными свойствами, необходимыми для эффективного лечения онкологических заболеваний методом фотодинамической терапии (ФДТ).

Метод ФДТ основан на применении природных или синтетических фотосенсибилизаторов, обладающих способностью к избирательному накоплению (тропностью) в опухолевой ткани. При облучении светом определенной длины волны ФС переходит в активированное состояние, которое инициирует образование цитотоксических агентов — синглетного кислорода и свободных радикалов, вызывающих разрушение структурных элементов опухолевой ткани [6]. Одними из наиболее эффективных ФС являются хлорины (дигидропорфирины), они характеризуются значительным увеличением оптической плотности в длинноволновой области спектра ($\lambda > 600$ нм) и ее смещением в диапазоне длин волн 662 нм по сравнению с распространенными порфиринами (632 нм). Среди хлоринов как наиболее перспективные следует отметить водорастворимые моно-L-аспартилхлорин е6 и другие различные формы хлорина е6, в частности отечественные препараты нового поколения Фотодитазин® (ФД), Радахлорин® и Фоторан Е6® (Хлорин Е6) [7–10]. Радахлорин® является фотосенсибилизатором второго поколения, предназначенного для флуоресцентной диагностики и ФДТ злокачественных опухолей [11].

Радахлорин® — прозрачная жидкость темно-зеленого цвета со слабым характерным запахом, представляющая собой водный раствор (с концентрацией $c_{рх} = 0.35$ мас%) натриевых солей хлорина е6 (бис-N-метил-D-глюкаминовой соли растительного порфирина), хлорина р6, пурпурина 5, а также вспомогательного вещества — меглюмина. Метод фотодинамической терапии с использованием Радахлорина® основан на его способности избирательно накапливаться в опухоли при его внутривенном введении и генерировать синглетный кислород, оказывающий токсический эффект на опухолевые клетки и модифицирующее действие на их плазматические мембраны при воздействии света с длиной волны, соответствующей одному из пиков поглощения препарата [402, 502, 532, 608 или 662 нм (рис. 1)] [10].

Несомненный интерес для использования в ФДТ представляют амфифильные молекулярные щетки с гидрофобной полиимидной основной цепью и гидрофильными боковыми цепями полиметакриловой кислоты ПИ-прив-ПМАК [12]. При синтезе подобных амфифильных щеток методом ATRP введение блоков поли(мет)акриловой кислоты обычно осуществляют через промежуточное получение щетки с блоком поли-*трет*-бутил(мет)акрилата (ПТБМА) и его по-

следующий кислотный гидролиз [13]. Корректное проведение кислотного гидролиза позволяет сохранить степень полимеризации этого блока. Щетки ПИ-прив-ПМАК при высоких значениях степени полимеризации боковых цепей ПМАК и плотности их прививки обладают хорошей растворимостью в воде и проявляют способность инкорпорировать в гидрофобную часть лекарственных препараты за счет гидрофобных взаимодействий [12].

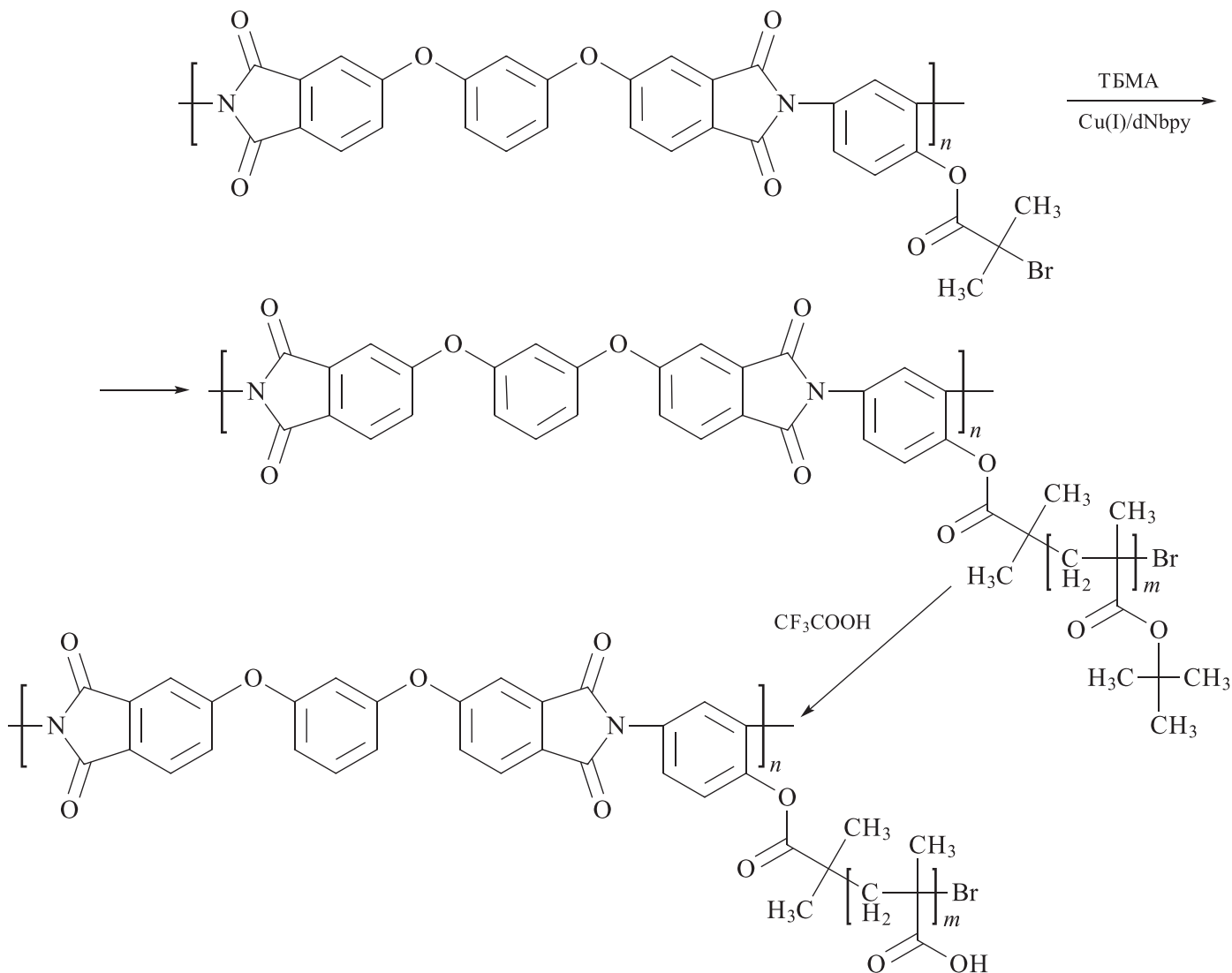
Целью настоящей работы являлось изучение оптических и морфологических характеристик новых бинарных биоактивных наносистем на основе водорастворимых молекулярных щеток ПИ-прив-ПМАК и фотосенсибилизатора Радахлорина® методами динамического/статического светорассеяния и атомно-силовой микроскопии (АСМ). В качестве молекулярных щеток в данной работе были использованы образцы ПИ-прив-ПМАК с одинаковыми параметрами основной полиимидной цепи, близкими степенью полимеризации и дисперсностью боковых цепей ПМАК, но с варьируемой плотностью их прививки Z .

Экспериментальная часть

Синтез образцов ПИ-прив-ПМАК осуществляли способом «прививка от» методом ATRP на полиимидном мультицентровом макроинициаторе через промежуточное образование молекулярной щетки с боковыми цепями ПТБМА (щетки прекурсора) ПИ-прив-ПТБМА. Далее путем кислотного гидролиза звеньев боковых цепей *трет*-бутилметакрилата получали молекулярные щетки с гидрофильными звеньями полиметакриловой кислоты в боковых цепях (см. схему).

Синтез образцов ПИ-прив-ПТБМА проводили с помощью методики AGET ATRP (Activators Generated by Electron Transfer ATRP) в среде N-метил-2-пирролидона при использовании для получения катализатора ATRP смеси CuCl_2 , 4,4'-динонил-2,2'-бипиридина и 2-этилгексаноата Sn(II) в качестве переходного металла в высшей степени окисления, лиганда и восстановителя соответственно. В работе был использован полностью функционализированный линейный мультицентровый полиимидный макроинициатор, содержащий, по данным ^1H ЯМР, инициирующую 2-бромизобутиратную группировку практически в каждом повторяющемся звене. Процедура синтеза и выделения сополимерного продукта описана в работе [14], конверсию мономера определяли гравиметрически. Для экспериментального определения средней степени полимеризации боковых цепей ПТБМА проводили их выделение из ПИ-прив-

Синтез ПИ-прив-ПМАК методом контролируемой радикальной полимеризации с переносом атома



ПТБМА методом селективного щелочного гидролиза. Процедуры щелочного и кислотного гидролиза описаны в работе [12]. На основе данных конверсии мономера и степеней полимеризации выделенных боковых цепей ПТБМА рассчитывали значения плотности прививки боковых цепей Z [15].

Бинарные наносистемы ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин[®] синтезировали по единой схеме с соотношением компонентов Радахлорин[®]:ПИ-прив-ПМАК = 1:10 ($v = c_{\text{РХ}}/c_{\text{МЩ}} = 0.1$).

Спектры ЯМР ¹H регистрировали на приборе Bruker AC-200 (200.1 МГц) относительно сигналов растворителя (DMSO-*d*₆ или CDCl₃).

Для определения молекулярных характеристик основной цепи ПИ-прив-ПТБМА проводили анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) образца полиимидного инициатора, используя хроматографический комплекс

Agilent-1260 Infinity, оборудованный двумя колонками с сорбентом PLgel MIXED-C (размеры колонок 7.5 × 300 мм, размер частиц 5 мкм). Режим элюирования изократический, элюент — N,N-диметилформамид, содержащий 0.1 моль·л⁻¹ LiBr, скорость потока элюента 1 мл·мин⁻¹, температура 50°C. Молекулярно-массовые характеристики образца (табл. 1) определяли по данным рефрактометрического и вискозиметрического детекторов в комбинации с детектором по светорассеянию. ВЭЖХ-анализ выделенных боковых цепей ПТБМА проводили на хроматографе Prominence (Shimadzu), оснащенный рефрактометрическим детектором, на колонке HR 4E (Waters) с сорбентом μ-styrogel (7.8 × 300 мм, 5 мкм). Режим элюирования изократический, элюент — тетрагидрофуран, скорость потока 0.5 мл·мин⁻¹, температура 40°C. Молекулярно-массовые характеристики образцов определяли по полистирольным стандартам.

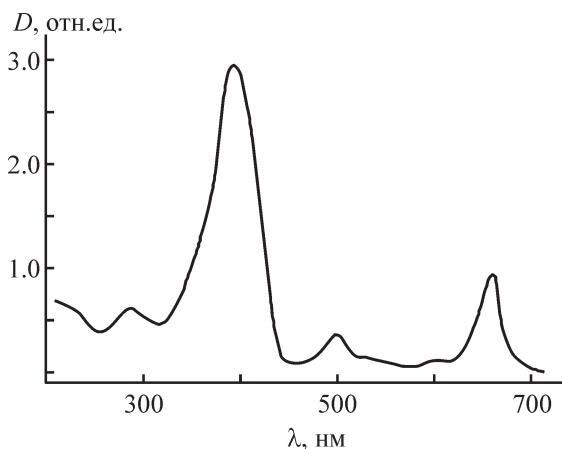


Рис. 1. Оптический спектр поглощения Радахлорина® ($c_{рх} = 0.01 \text{ мас\%}$).

Измерения оптической плотности (D) водных растворов Радахлорина® (рис. 1) и молекулярных щеток (рис. 2) проводили на спектрофотометре Specord M-40 (Карл Цейс Йена, Германия) в диапазоне длин волн 185–900 нм в термостатируемом режиме с толщиной фотометрического слоя 1 см. Величины D при $\lambda = 244 \text{ нм}$ для молекулярных щеток представлены в табл. 2.

Гидродинамические радиусы молекулярных щеток (R_h) и соответствующих бинарных наносистем ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин® (R_h^*) определяли методом динамического светорассеяния (ДСР) на корреляционном спектрометре PhotoCorComplex (источник света — гелий-неоновый лазер фирмы Coherent

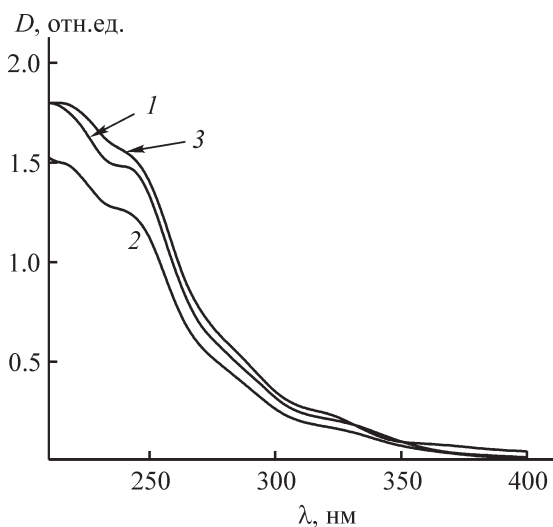


Рис. 2. Оптические спектры поглощения молекулярных щеток ПИ-прив-ПМАК с варьируемой плотностью прививки.
 Z (%): 1 — 50, 2 — 80, 3 — 100.

мощностью 20 мВт с длиной волны $\lambda = 632.8 \text{ нм}$) с программируемым коррелятором Photocor-FC (число каналов 288, ООО «Фотокор», Россия). На рис. 3 в качестве иллюстративного материала приведены распределения $I(R_h^{app})$ для молекулярных щеток ПИ-прив-ПМАК при разных Z , измеренные под углом рассеяния $\theta = 90^\circ$.

Анализ корреляционной функции осуществляли с помощью программы обработки данных динамического светорассеяния Dynals. Величины гидродинамических радиусов R_h , R_h^* (табл. 2 и 3 соответственно) рассчитывали из значений коэффициентов диффузии (D^*) по уравнению Эйнштейна–Стокса $R_h = kT/6\pi\eta_0 D^*$ (η_0 — вязкость растворителя, k — константа Больцмана, T — температура). Растворы очищали центрифугированием в течение 15 мин при $16000 \text{ об}\cdot\text{мин}^{-1}$.

Методом статического светорассеяния (ССР) определяли средневесовые молекулярные массы молекулярных щеток и их среднеквадратичные радиусы инерции R_g , а по величинам второго вириального коэффициента A_2 — их сродство к растворителю (табл. 2). Статическое светорассеяние для молекулярных щеток анализировали в двойных координатах Зимма при $\lambda = 632.8 \text{ нм}$ (при этой длине волны для молекулярных щеток величина оптической плотности $D \rightarrow 0$, рис. 2). Инкременты показателей преломления определяли измерением показателей преломления растворов (n) и растворителя (вода) (n_s) на рефрактометре марки RA-620, использующем лазер с длиной волны $\lambda = 589 \text{ нм}$, при нескольких концентрациях, затем проводили линейную экстраполяцию $\Delta n(c) = n - n_s$ методом наименьших квадратов. Для молекулярных

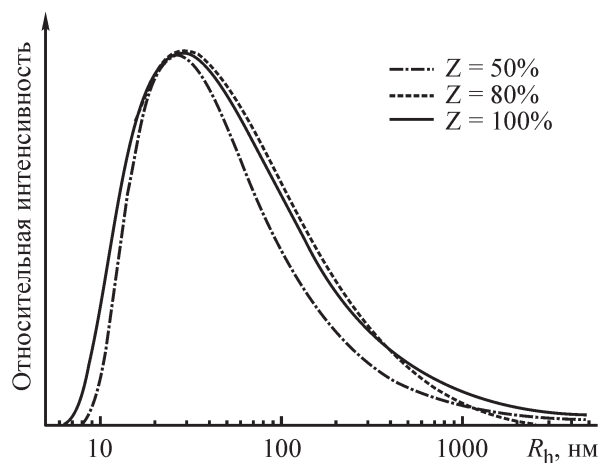


Рис. 3. Распределение $I(R_h^{app})$ для разбавленных водных растворов молекулярных щеток ПИ-прив-ПМАК, измеренное под углом рассеяния $\theta = 90^\circ$. Степени прививки Z указаны на рисунке.

щеток величина dn/dc колебалась от 0.150 до 0.156 мл/г в зависимости от состава молекулярных щеток. Для ПМАК $dn/dc = 0.15$.

Среднеквадратичные радиусы инерции (R_g^*) бинарных наносистем ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин[®] измеряли на фотогониодиффузомере Fica при длине волны падающего вертикально поляризованного света $\lambda = 546.1$ нм (длина волны, при которой величина оптической плотности D практически минимальна, рис. 1). Очистку растворов проводили через мембранный фильтр (Millex-NV) диаметром 0.45 мкм. Обработку результатов измерений светорассеяния для определения R_g^* (для наносистем ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин[®]) проводили методом Дебая: на основании данных по значениям асимметрии рассеяния $[z] = \lim(R_{45^\circ}/R_{135^\circ})$ при $c \rightarrow 0$ (R_{45° и R_{135° — отношение Релея при углах рассеяния $\theta = 45$ и 135°) определяли табулированное соотношение D^*/λ , где D^* — диаметр частицы, и соответственно величину R_g^* . По соотношению экспериментальных величин $R_g(R_g^*)$ и $R_h(R_h^*)$ находили значение структурно-конформационного параметра $\rho = R_g/R_h$ ($\rho^* = R_g^*/R_h^*$) [16].

Морфологические исследования молекулярных щеток и соответствующих бинарных биоактивных наносистем проводили на атомно-силовом микроскопе Nanotop NT-206 (ОДО «Микротестмашины», Беларусь). Измерения выполняли в контактном режиме в атмосферных условиях с использованием кремниевых кантилеверов NSC11/AIBS с коэффициентом жесткости $k = 3.0$ Н·м⁻¹ и радиусом кри-

визны кончика острия 10 нм. Экспериментальные данные обрабатывали с помощью программы Surface Explorer. Растворы молекулярных щеток и бинарных наносистем ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин[®] наносили на слюду.

Обсуждение результатов

Для синтеза образцов щеток-прекурсоров ПИ-прив-ПТБМА использована методика AGET ATRP [2]. Как показано ранее [14], использование этой методики помимо существенного упрощения процедуры проведения полимеризации позволяет достигать высокой плотности прививки боковых цепей вплоть до максимальной, когда к каждому повторяющемуся звену основной цепи привита боковая цепь. Изменяя концентрацию восстановителя в реакционной среде, варьировали плотность прививки боковых цепей ПТБМА в образцах ПИ-прив-ПТБМА от 50 до 100% согласно [14]. Продолжительность полимеризации подбирали таким образом, чтобы получить боковые цепи примерно одинаковой длины. Протекание полимеризации ТБМА и полноту прохождения кислотного гидролиза *tert*-бутилметакрилатных групп ПИ-прив-ПТБМА подтверждали методом ¹H ЯМР-спектроскопии (рис. 4). В спектре ПИ-прив-ПТБМА (рис. 4, б) помимо характерных для полиимидного макроинициатора (рис. 4, а) сигналов ароматических протонов основной цепи (7–8 м. д.) имеется сигнал при 1.4 м. д., соответствующий протонам

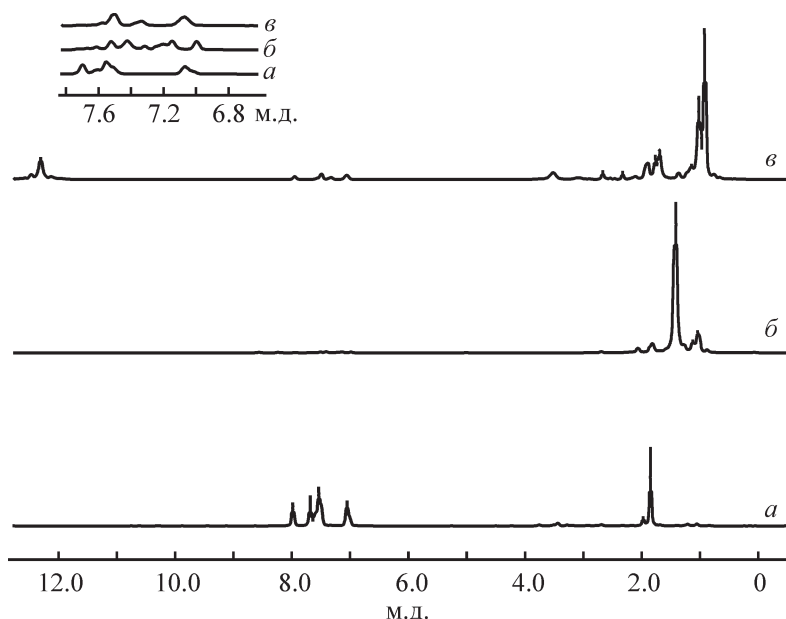


Рис. 4. ¹H ЯМР-спектры полиимидного макроинициатора (а), привитых сополимеров ПИ-прив-ПТБМА (б) и ПИ-прив-ПМАК (в).

трет-бутильных групп. В спектре продукта кислотного гидролиза (рис. 4, в) при сохранении сигналов ароматических протонов основной полиимидной цепи привитого сополимера практически отсутствуют сигналы протонов *трет*-бутильных групп, но появляются сигналы протонов карбоксильных групп при 12.1–12.7 м. д. Сигнал протонов воды в этом спектре уширен из-за обмена с карбоксильными группами полимера.

Молекулярно-массовые характеристики основной и боковых цепей образцов ПИ-прив-ПМАК и плотности прививки боковых цепей приведены в табл. 1. Характеристики основной цепи определяли в результате ВЭЖХ-анализа исходного мультицентрового полиимидного инициатора. Ввиду того что для синтеза всех образцов молекулярных щеток использовали одну партию макроинициатора, полученные щетки имели одинаковую основную цепь с $M_n = 35$ кДа ($M_w/M_n = 2.1$). Это соответствует наличию в цепи 55 повторяющихся имидных звеньев. С помощью ВЭЖХ-анализа определяли молекулярно-массовые характеристики выделенных из щетки-прекурсора боковых цепей ПТБМА и, используя соотношение молекулярных масс (ММ) звеньев ТБМА и МАК, рассчитывали ММ боковых цепей ПМАК. Молекулярные массы боковых цепей ПМАК составляли $M_n = 18–22$ кДа ($M_w/M_n = 1.4–1.5$), что соответствует 120–150 мономерных звеньев метакриловой кислоты (табл. 1). Видно, что основная цепь щеток имела практически предельно низкий для поликонденсационных полимеров индекс полидисперсности ~ 2 . Боковые цепи образцов имели примерно одинаковую и превышающую 100 среднюю степень полимеризации, что обуславливало растворимость щеток в воде. Низкий индекс полидисперсности боковых цепей ≤ 1.5 свидетельствовал о контролируемости процессов АТРР.

На основе охарактеризованных образцов ПИ-прив-ПМАК получены бинарные наносистемы ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин®. Методами статического (ССР)/динамического (ДСР) светорассеяния и УФ-спектроскопии показано влияние параметра плотности прививки Z на размерные и спектральные характе-

ристики молекулярных щеток, их форму в свободном состоянии и в комплексе с Радахлорином®. В частности, показано влияние плотности прививки на характеристическую величину оптической плотности D_{244} (при $\lambda = 244$ нм) молекулярных щеток, а также бинарных наносистем ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин® (R_g^* и R_h^*) (табл. 2 и 3). Размерные характеристики (R_g и R_h) молекулярных щеток с плотностями прививки $Z = 80$ и 100% (МЩ-80 и МЩ-100) практически одинаковы ($R_g = 66$ и 72 нм и $R_h = 41$ и 42 нм), одинаковы также величины структурно-конформационного параметра $\rho = R_g/R_h = 1.6–1.7$. Известно, что значение параметра ρ , близкое к величине $\rho = 1.5$, наблюдается для полимерных клубков в Θ -растворителе [16]. Однако положительная величина второго вириального коэффициента $A_2 = (1.0–1.6) \cdot 10^{-4}$ см³·моль⁻¹·г⁻² для МЩ-100 и МЩ-80 свидетельствует о хорошем качестве растворителя, поэтому величина параметра $\rho = 1.6–1.7$ для данных щеток указывает на их асимметричную форму [16]. При уменьшении степени прививки до 50% (МЩ-50) качество растворителя ухудшается: $A_2 = 0$ (тэта-растворитель). Это свидетельствует о том, что гидрофобные участки основной цепи при $Z = 50\%$ перестают быть экранированы боковыми цепями ПМАК. Уменьшение величины структурно-конформационного параметра ($\rho = 1.1$) говорит о том, что форма рассеивающего объекта становится более симметричной.

В табл. 2 представлено сравнение средневесовых молекулярных масс молекулярных щеток, определенных методом светорассеяния (M_w), со среднечисленными молекулярными массами $M_{n\Sigma}$, рассчитанными из данных ГПХ (табл. 1) по формуле

$$M_{n\Sigma} = M_1 + M_{\text{МАК}}Zmn, \quad (1)$$

где M_1 — среднечисленная молекулярная масса основной цепи, $M_{\text{МАК}} = 87$ Да — молекулярная масса повторяющегося звена МАК.

Для МЩ-100 и МЩ-80 $M_w/M_{n\Sigma} = 2.5–2.6$, что свидетельствует о достаточно узком молекулярно-массовом распределении. Известно, что величина M_w сополимеров, компоненты которых сильно различа-

Таблица 1
Молекулярно-массовые характеристики ПИ-прив-ПТБМА*

ПИ-прив-ПТБМА, Z, %	Основная цепь	Боковые цепи
50	$M_n = 35000; M_w/M_n = 2.1; n = 55$	$M_n = 22000; m = 150; M_w/M_n = 1.4$
80		$M_n = 19000; m = 125; M_w/M_n = 1.5$
100		$M_n = 17700; m = 120; M_w/M_n = 1.5$

* n и m — средняя степень полимеризации основной цепи ПИ и боковых цепей ПТБМА соответственно.

Таблица 2

Размерные, молекулярно-массовые, термодинамические и спектральные характеристики ПИ-прив-ПМАК при варьировании параметра плотности прививки Z

Z , %	Средне-квадратичный радиус инерции молекулярной щетки R_g , нм	Гидродинамический радиус молекулярной щетки R_h , нм	Структурно-конформационный параметр молекулярной щетки $\rho = R_g/R_h$	Среднечисленная молекулярная масса сополимера ПИ-прив-ПМАК $M_{n\Sigma} \cdot 10^{-3}$, г·моль ⁻¹	$M_w \cdot 10^{-3}$, г·моль ⁻¹	$M_w/M_{n\Sigma}$	Второй вириальный коэффициент $A_2 \cdot 10^4$, см ³ ·моль ⁻¹ ·г ⁻²	Плотность макромолекул φ , г·см ⁻³	Характеристическая величина оптической плотности при длине волны $\lambda = 244$ нм D_{244}
50	47	41	1.1	221	910	4.1	1.6	0.003	1.48
80	66	41	1.6	348	860	2.5	1.6	0.001	1.24
100	72	42	1.7	432	1100	2.6	1.0	0.001	1.54

ются показателями преломления, может превышать истинное значение M_w за счет композиционной неоднородности [17]. Однако в нашем случае роль этого фактора незначительна. Действительно, влияние композиционной неоднородности на величину M_w определяется параметром

$$\gamma = \frac{dn/dc(\text{ПИ}) - dn/dc(\text{ПМАК})}{dn/dc(\text{МЦ})}, \quad (2)$$

где $dn/dc(\text{ПМАК}) = 0.15 \text{ см}^3 \cdot \text{г}^{-1}$, $dn/dc(\text{ПИ}) = 0.25 \text{ см}^3 \cdot \text{г}^{-1}$, $dn/dc(\text{МЦ}) = w_{\text{ПИ}} dn/dc(\text{ПИ}) + w_{\text{ПМАК}} dn/dc(\text{ПМАК})$ ($w_{\text{ПИ}}$ и $w_{\text{ПМАК}}$ — весовые доли компонентов сополимера).

В итоге получаем значение $\gamma = (0.25 - 0.15)/0.146 = 0.69$. Таким образом, за счет композиционной неоднородности M_w данных сополимеров может превышать истинное значение M_w лишь на 10%. Понятно, что при $Z = 100\%$ композиционной неоднородности сополимера не должно быть, т. е. вклад оптического фактора в M_w и соответственно в $M_w/M_{n\Sigma}$ для МЦ-100 полностью исключен. Однако и при уменьшении плотности прививки до 80% $M_w/M_{n\Sigma}$ остается тем же самым, свидетельствуя об однородности прививки в МЦ-80. При уменьшении плотности прививки до 50% отношение $M_w/M_{n\Sigma}$ повышается до 4.1. По-видимому, в данном случае мы наблюдаем не индивидуальные макромолекулы, а их агрегаты, возникающие из-за взаимодействия «оголенных» гидрофобных участков основной цепи.

Плотности молекулярных щеток рассчитаны исходя из результатов ССР по формуле

$$\varphi = \frac{M_w}{4\pi N_A R_g^3}, \quad (3)$$

где N_A — число Авогадро.

Из данных табл. 2 видно, что для МЦ-50 плотность в 3 раза выше, чем для МЦ-100 и МЦ-80. Это может быть следствием гидрофобных взаимодействий «оголенных» участков основных полиимидных цепей.

Ситуация кардинально изменяется при переходе к бинарным наносистемам ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин® (табл. 3). Видно, что для всех наносистем величина структурно-конформационного параметра $\rho^* = R_g^*/R_h^*$ одинакова и составляет $\rho^* = 1.1$, что свидетельствует о сферической форме этих наноструктур. Размерные характеристики наносистем (R_g^* и R_h^*) на основе ПИ-прив-ПМАК с относительно плотно привитыми цепями ($Z \geq 80\%$) по сравнению с размерами соответствующих молекулярных щеток уменьшаются (табл. 3). Таким образом, для МЦ-100 и МЦ-80 изменяются и форма, и размеры. По-видимому, внесение в водную среду гидрофобного препарата Радахлорин®, обуславливающее ухудшение термодинамического качества растворителя относительно молекулярных щеток, приводит к «поджатию» макромолекул щеток в составе бинарных систем ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин®. В случае относительно редкой прививки боковых цепей форма бинарной системы по сравнению со «свободной» молекулярной щеткой остается сферической, а размеры ее уменьшаются незначительно. Это, по-видимому, обусловлено загрузкой препарата в этом случае в мицеллы, «скрепленные» взаимодействием «оголенных» гидрофобных участков основной цепи. Достижение минимальных размеров в случае бинарной НС ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин® с $Z = 80\%$ указывает на наиболее активный «захват» молекул Радахлорина® МЦ-80.

На рис. 5 представлены 3D-изображения фрагментов поверхности тонких пленок, полученных из водных растворов молекулярных щеток с различ-

Таблица 3

Размерные характеристики бинарных наносистем ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин® при варьировании параметра прививки Z

$Z, \%$	Среднеквадратичный радиус инерции R_g^* , нм	Гидродинамический радиус R_h^* , нм	Структурно-конформационный параметр ρ^*
50	43	38	1.1
80	35	33	1.1
100	47	44	1.1

ной плотностью прививки (a – $в$), а также пленки, полученной из водного раствора Радахлорина® ($г$) на поверхности слюды. Следует отметить, что среднеарифметическая (R_a) и среднеквадратичная (R_q) шероховатости поверхности пленок для всех образцов, представленных на рис. 5, практически одинаковы, в то время как характер морфологии поверхности су-

щественно различается. Так, на поверхности пленки молекулярной щетки с плотностью прививки $Z = 50\%$ (рис. 5, a) наблюдается сетчатая надмолекулярная структура. На поверхности обнаружены мелкие зерна, связанные между собой перетяжками толщиной ~ 100 нм и длиной до 500 нм. Размер зерен составляет 70–150 нм, а высота зерен над поверхностью не пре-

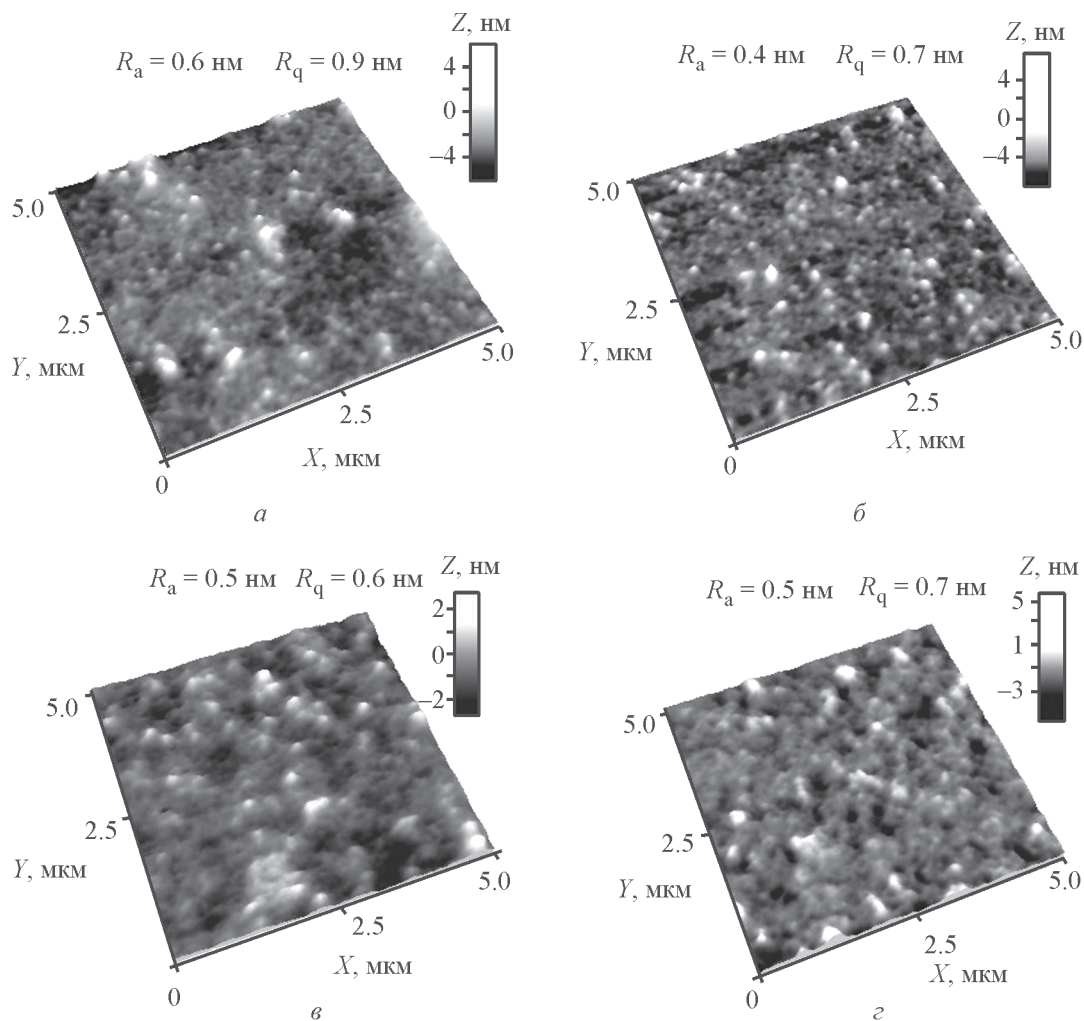


Рис. 5. 3D-Изображения фрагментов поверхности тонких пленок, полученных из водных растворов молекулярных щеток на слюде.

a — ПИ-прив-ПМАК ($Z = 50\%$), $б$ — ПИ-прив-ПМАК ($Z = 80\%$), $в$ — ПИ-прив-ПМАК ($Z = 100\%$), $г$ — из водного раствора Радахлорина® ($c_{рх} = 0.02$ мас%).

вышает 5 нм. Можно предположить, что перетяжки представляют собой жгутики из нескольких распрямленных и переплетенных макромолекул этой молекулярной щетки. Величины шероховатости составляют: $R_a = 0.6$ нм и $R_q = 0.9$ нм. Поверхность образца имеет развитую пористость, средний размер пор составляет ~100 нм. Образец с плотностью прививки $Z = 80\%$ (рис. 5, б) имеет такой же характер морфологии, как у пленки с $Z = 50\%$, однако на его поверхности наблюдается значительно большее количество зерен овальной формы размером от 50 до 200 нм. Поверхность высокопористая, величина пор изменяется в более широких пределах — от 50 до 300 нм. Шероховатость поверхности составляет $R_a = 0.4$ нм и $R_q = 0.7$ нм (для матрицы сканирования 5×5 мкм). Совершенно другая картина наблюдается для пленки молекулярной щетки с плотностью прививки $Z = 100\%$. На рис. 5, в видно, что поверхность пленки практически гомогенная, зерна значительно крупнее, их размеры изменяются в пределах 150–250 нм, при этом высота над поверхностью подложки не превышает 3 нм. Величина среднеарифметической шероховатости равна $R_a = 0.5$ нм, среднеквадратичной — $R_q = 0.6$ нм. На поверхности пленки, полученной из водного раствора Радахлорина® (рис. 5, г), хорошо различимы «стопки», размер которых достигает 300 нм, высота над поверхностью пленки ~5 нм. По-видимому, они образованы молекулами Радахлорина®, которые благодаря сильным межмолекулярным взаимодействиям тетрапиррольных колец формируют протяженные агрегаты. Поверхность очень пористая, размер пор равен 150–300 нм, глубина пор небольшая — до

5 нм. Величины шероховатостей равны $R_a = 0.5$ нм и $R_q = 0.7$ нм.

Бинарные наносистемы ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин® (рис. 6) значительно отличаются по морфологическим характеристикам от исходных систем, представленных на рис. 5. Сравнение 3D-изображений фрагментов поверхности тонких пленок, полученных из водных растворов бинарных систем на основе щеток с разной плотностью прививки Z (рис. 6), показывает существенную разницу в морфологии. Так, для молекулярных щеток с плотностью прививки $Z = 50\%$ (рис. 6, а) бинарная система представляет собой достаточно крупные домены неправильной формы, размер доменов изменяется от 300 нм до нескольких микрометров. Высота над поверхностью подложки достигает 120 нм. Поверхность очень неровная, шероховатость поверхности примерно на два порядка выше, чем у исходных систем, и составляет $R_a = 29.5$ нм и $R_q = 36.8$ нм (для матрицы сканирования 5×5 мкм). Морфология поверхности пленки кардинально меняется при увеличении плотности прививки до 80% (рис. 6, б). Поверхность образца становится более гладкой, значения шероховатости поверхности уменьшаются практически в 25 раз ($R_a = 1.2$ нм и $R_q = 1.7$ нм). Поверхность образца имеет зернистую морфологию, размеры зерен составляют 100–200 нм. При увеличении плотности прививки Z до 100% (рис. 6, в) на поверхности пленки наблюдается большое количество крупных зерен сферической формы диаметром 200–400 нм, высота которых над поверхностью подложки достигает 14 нм. Значения шероховатости поверхности незначительно возраста-

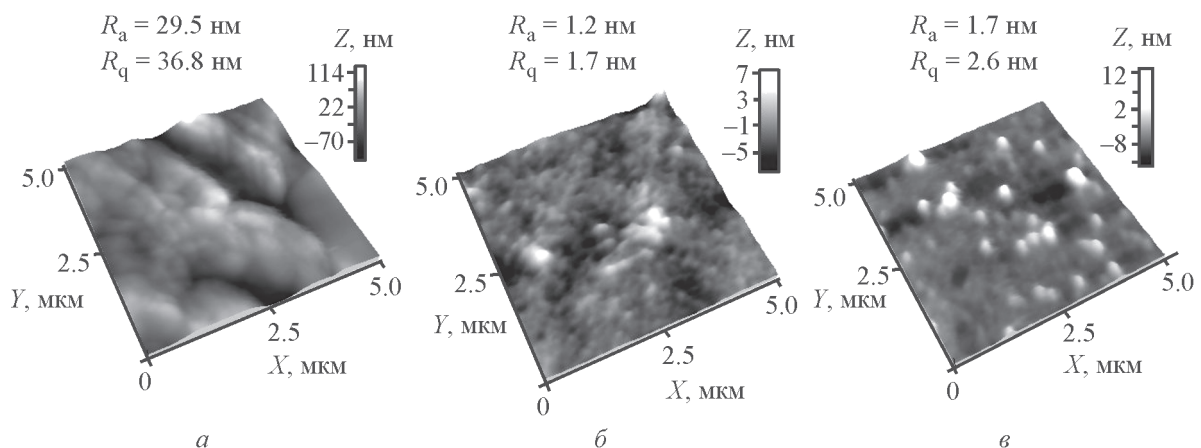


Рис. 6. 3D-Изображения фрагментов поверхности тонких пленок, полученных из водных растворов бинарных систем на слюде.

а — ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин® ($Z = 50\%$), б — ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин® ($Z = 80\%$), в — ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин® ($Z = 100\%$).

ют по сравнению с предыдущим образцом и составляют $R_a = 1.7$ нм и $R_q = 2.6$ нм.

Выводы

В результате данного исследования показано, что путем контролируемого варьирования плотности прививки боковых цепей (Z) молекулярных полимерных щеток ПИ-прив-ПМАК можно целенаправленно управлять размерами и формой как свободных молекулярных щеток, так и загруженных лекарственным препаратом. В частности, установлено, что с уменьшением плотности прививки боковых цепей Z молекулярных щеток наблюдается приближение формы рассеивающего объекта к сферической и увеличение его плотности. В бинарных наносистемах ПИ-прив-ПМАК/Радахлорин® независимо от плотности прививки формируются сферические наноструктуры, а их размеры меньше размеров соответствующих молекулярных щеток, что обусловлено ухудшением термодинамического качества растворов.

Финансирование работы

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант 17-53-61026 Египет_a.

Конфликт интересов

А. В. Якиманский является членом редколлегии Журнала прикладной химии, остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Информация об авторах

Валуева Светлана Валерьевна, к.ф.-м.н., с.н.с. ИВС РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9446-4233>; Researcher ID (WoS): I-3412-2017

Вылегжанина Милана Эрнестовна, н.с. ИВС РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4334-7595>

Мелешко Тамара Константиновна, к.х.н., с.н.с. ИВС РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8219-7403>

Иванов Иван Владимирович, к.х.н., н.с. ИВС РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8367-3280>

Гасилова Екатерина Рэмовна, к.ф.-м.н., с.н.с. ИВС РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4753-8484>

Гельфонд Марк Львович, д.мед.н., с.н.с. НМИЦ онкологии имени Н. Н. Петрова, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8697-6175>;

Якиманский Александр Вадимович, д.х.н., зам. директора по научной работе ИВС РАН, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8770-1453>;

Researcher ID (WoS): A-9280-2014

Суханова Татьяна Евгеньевна, д.ф.-м.н., зам. директора по научной работе ФГУП «НИИСК», ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2128-8360>; Researcher ID (WoS): I-4030-2017

Список литературы

- [1] Sheiko S. S., Sumerlin B. S., Matyjaszewski K. Cylindrical molecular brushes: Synthesis, characterization, and properties // Prog. Polym. Sci. 2008. V. 33. P. 759–785. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.05.001>
- [2] Ильгач Д. М., Мелешко Т. К., Якиманский А. В. Использование методов контролируемой радикальной полимеризации для синтеза полимерных щеток // Высокомолекуляр. соединения. 2015. Т. 57С. № 1. С. 6–24. <https://doi.org/10.7868/82308114715010045> [Ilgach D. M., Meleshko T. K., Yakimansky A. V. Methods of controlled radical polymerization for the synthesis of polymer brushes // Polym. Sci. Ser. C. 2015. V. 57. N 1. P. 3–19. <https://doi.org/10.1134/S181123821501004X>].
- [3] Tran T.-H., Nguyen C. T., Gonzalez-Fajardo L., Hargrove D., Song D., Deshmukh P., Mahajan L., Ndaya D., Lai L., Kasi R. M., Lu X. Long circulating self-assembled nanoparticles from cholesterol-containing brush-like block copolymers for improved drug delivery to tumors // Biomacromolecules. 2014. V. 15. P. 4363–4375. <https://doi.org/10.1021/bm5013822>
- [4] Xie G., Martinez M. R., Olszewski M., Sheiko S. S., Matyjaszewski K. Molecular bottlebrushes as novel materials // Biomacromolecules. 2019. V. 20. P. 27–54. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b01171>
- [5] Pelras T., Mahon C. S., Müllner M. Synthesis and applications of compartmentalized molecular polymer brushes // Angew. Chemie Int. Ed. 2018. V. 57. P. 6982–6994. <https://doi.org/10.1002/anie.201711878>
- [6] Sukhanova T. E., Gelfond M. L., Bershtein V. A., Valueva S. V., Vylegzhanina M. E., Volkov A. Ya., Kutin A. A., Matveeva G. N. Ch. 9 // Photodynamic therapy: Fundamentals, applications and health outcomes / Ed. A. G. Hugo. Nova Sci. Publ., Inc., New York, USA, 2015. P. 207–224.
- [7] Суханова Т. Е., Валуева С. В., Иванов И. В., Мелешко Т. К., Вылегжанина М. Э., Гельфонд М. Л., Якиманский А. В. Исследование морфологии и оптических свойств биоактивных гибридных наносистем на основе наночастиц ZnSe, стабилизированных полиимидными щетками, полиметакриловой кислотой и фотосенсибилизатором // Нанотехнологии: наука и производство. 2017. № 4. С. 3–11.
- [8] Суханова Т. Е., Вылегжанина М. Э., Валуева С. В., Мелешко Т. К., Иванов И. В., Гасило-

- ва Е. Р., Филиппов А. П., Якиманский А. В., Гельфонд М. Л. АСМ исследование биоразлагаемых полимерных наноконтейнеров и наночастиц, загруженных фотосенсибилизаторами // Тр. XXII Междунар. симп. «Нанофизика и нанoeлектроника». Нижний Новгород, 2018. Т. 1. С. 363–364.
- [9] Валуева С. В., Боровикова Л. Н., Суханова Т. Е. Исследование комплексообразования фотодитазина с наночастицами селена и селенида цинка // Тез. докл. XII Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы сольватации и комплексообразования в растворах. От эффектов в растворах к новым материалам». Иваново, 2015. С. 182–183.
- [10] Пат. РФ 2523380 (опубл. 2006). Фотосенсибилизатор и способ его получения.
- [11] *Wainwright M.* Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) // *J. Antimicrob. Chemother.* 1998. V. 42. P. 13–28. <https://doi.org/10.1093/jac/42.1.13>
- [12] *Yakimansky A. V., Meleshko T. K., Ilgach D. M., Bauman M. A., Anan'eva T. D., Klapshina L. G., Lermontova S. A., Balalaeva I. V., Douglas W. E.* Novel regular polyimide-graft-(polymethacrylic acid) brushes: Synthesis and possible applications as nanocontainers of cyanoporphyrazine agents for photodynamic therapy // *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 2013. V. 51. N 20. P. 4267–4281. <https://doi.org/10.1002/pola.26846>
- [13] *Zhang M., Breiner T., Mori H., Müller A. H. E.* Amphiphilic cylindrical brushes with poly (acrylic acid) core and poly (n-butyl acrylate) shell and narrow length distribution // *Polymer.* 2003. V. 44. P. 1449–1458. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(02\)00774-7](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(02)00774-7)
- [14] Мелешко Т. К., Иванов И. В., Кашина А. В., Богорад Н. Н., Симонова М. А., Захарова Н. В., Филиппов А. П., Якиманский А. В. Дифильные макромолекулярные щетки с полиимидной основной цепью и блоками полиметакриловой кислоты в боковых цепях // *Высокомолекуляр. соединения.* 2018. Т. 60Б. № 1. С. 16–33. <https://doi.org/10.7868/S2308113918010035> [*Meleshko T. K., Ivanov I. V., Kashina A. V., Bogorad N. N., Simonova M. A., Zakharova N. V., Filippov A. P., Yakimansky A. V.* Diphilic macromolecular brushes with a polyimide backbone and poly(methacrylic acid) blocks in side chains // *Polym. Sci. Ser. B.* 2018. V. 60. N 1. P. 35–50. <https://doi.org/10.1134/S1560090418010098>].
- [15] Мелешко Т. К., Ильгач Д. М., Богорад Н. Н., Кукаркина Н. В., Якиманский А. В. Синтез привитых сополиимидов контролируемой радикальной полимеризацией метакрилатов на полиимидном макроинициаторе // *Высокомолекуляр. соединения.* 2014. Т. 56Б. № 2. С. 128–137. <https://doi.org/10.7868/82308113914020119> [*Meleshko T. K., Il'gach D. M., Bogorad N. N., Kukarkina N. V., Yakimansky A. V.* Synthesis of graft copolyimides via controlled radical polymerization of methacrylates with a polyimide macroinitiator // *Polym. Sci. Ser. B.* 2014. V. 56. N 2. P. 118–126. <https://doi.org/10.1134/S1560090414020110>].
- [16] *Burchard B. W.* Static and dynamic light scattering approaches to structure determination of biopolymers. // *Laser light scattering in biochemistry* / Eds S. E. Harding, D. B. Satelle, V. A. Bloomfield Cambridge: Royal Soc. Chem., 1992. Information Services. P. 3–21.
- [17] *Gasilova E. R., Solomin I. V., Kulikov E. E., Zotova O. S., Zaitsev S. D., Semchikov Yu. D.* Conformations of alternating partially fluorinated copolymers in dilute ethanol solutions // *Int. J. Polym. Anal. Charact.* 2013. V. 18. P. 510–519. <https://doi.org/10.1080/1023666X.2013.815531>