

УДК 541(49+64+183)

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КОМПЛЕКСОВ ИОНОГЕННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

© 2002 г. Е. Ф. Панарин, В. В. Копейкин

Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук
199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31

Проанализированы и обобщены литературные данные о механизмах формирования, физико-химических свойствах и структуре полиэлектролитных комплексов, образованных синтетическими полиэлектролитами и противоположно заряженными мицеллообразующими ПАВ. Определяющий вклад в образование этих полиэлектролитных комплексов вносят электростатические и гидрофобные взаимодействия макроионов и дифильных ионов, что приводит к изменению конформации и внутримолекулярной подвижности макромолекул, а также к формированию внутримолекулярных ассоциатов молекул ПАВ с различной стабильностью и структурной организацией. Конкурентные взаимодействия таких полиэлектролитных комплексов с биополимерами и биомембранами, сопровождающиеся переносом дифильных ионов от полиэлектролитных комплексов на биологические мишени, составляют основу их биологической активности на молекулярном и клеточном уровнях. Показана перспективность изучения связи между структурой, физико-химическими и фармакологическими свойствами этих полиэлектролитных комплексов с целью создания на их основе принципиально новых полимерных лекарственных препаратов.

ВВЕДЕНИЕ

Анализ работ в области изучения взаимодействий водорастворимых полимеров и ПАВ показал [1], что за последние 50 лет эти работы развиваются в нескольких направлениях: от исследования образования липопротеиновых ассоциатов, белок-дeterгентных комплексов, комплексов водорастворимых синтетических неионогенных полимеров с ионогенными ПАВ до изучения взаимодействий синтетических полиэлектролитов с противоположно заряженными ПАВ.

В последние годы полиэлектролитные комплексы ПАВ стали объектом повышенного внимания в связи с широким диапазоном их технического применения [2–5]. Кроме того, они исключительно интересны как модельные системы, изучение свойств и структуры которых позволяет глубже понять механизмы формирования и функционирования природных ПЭК, образуемых биополимерами и биологически активными веществами дифильного строения [6], а также как потенциальные лекарства и транспортные системы для лекарств [7].

E-mail: imc@macro.spb.su (Панарин Евгений Федорович),
silver@imc.macro.ru (Копейкин Виктор Васильевич).

Поскольку ионогенные ПАВ представляют собой дифильные молекулы с асимметрическим строением, которые включают в свою структуру атомы, несущие заряд и длинноцепные гидрофобные алкильные радикалы, при растворении в воде они сильно возмущают ее структуру и при определенных ККМ образуют ассоциаты молекул ПАВ с высоким числом агрегации. В зависимости от величины параметра упаковки $N_s = V/AL$ (V, A, L – объем неполярной части молекулы ПАВ, площадь полярной заряженной группы и длина неполярной цепи ПАВ соответственно) при увеличении концентрации ПАВ в воде возможно формирование высокоорганизованных структур различного типа [5]. При величинах $N_s < 1/3$ обычно формируются сферические мицеллы [8]; в интервале $N_s = 1/3–1/2$ образуются ассоциаты с гексагональной кубической упаковкой молекул ПАВ; при величинах N_s , близких к единице, реализуются ламелярные структуры.

Для молекул ПАВ с величинами $N_s > 1$ становится возможным формирование ассоциатов с гексагональной упаковкой цилиндров, в которых молекулы ПАВ своими алкильными цепями ори-

ентированы в объемную фазу раствора, а также обращенных мицелл сферической формы [5].

Когда углеводородные цепи молекул ПАВ окружены молекулами воды, происходит значительное понижение энтропии системы, что обусловлено включением гидрофобных групп внутрь полиэдров жидкой воды [9]. При этом кластеры воды стабилизируются за счет образования водородных связей (в случае анионных ПАВ) или координационных связей (в случае катионных ПАВ) с молекулами воды [10].

Как показали теоретические расчеты [9], единичный водный кластер может включать в себя клатраты алифатических цепей ПАВ с числом углеродных атомов не более шести. Молекулы воды, интегрированные в такие структуры, делают наиболее энергетически выгодными конформации парафиновых цепей, подобные открытым циклогексановым кольцам. Для ПАВ с числом углеродных атомов в алифатической цепи более шести эти цепи включаются в два и более кластеров воды с образованием компактных сандвичевых полиэдрических кратратных структур.

При переходе от таких относительно простых бинарных систем, как ПАВ–вода, к трехкомпонентным системам ПАВ–вода–водорастворимый карбоцепной полимер наблюдается существенное изменение состояния образующихся внутримолекулярных ансамблей молекул ПАВ. Существенную роль при этом играют гидрофобные взаимодействия молекул ПАВ с карбоцепным скелетом макромолекулы или с гидрофобными фрагментами в боковых цепях полимера.

Показано, что анионы додецилсульфата натрия (ДДС) $\text{CH}_3-(\text{CH}_2-)^{11}-\text{OCO}_3\text{Na}$ могут связываться за счет гидрофобных взаимодействий даже с некоторыми полианионами (сополимеры алкилвиниловых эфиров или замещенных α -олефинов с малеиновой кислотой), причем при переходе от концентраций ДДС ниже ККМ к концентрациям выше ККМ изменяется микроокружение полимера – значительно увеличивается полярность и микроравнозкость среды вблизи цепи макромолекулы [11].

При взаимодействии ДДС с неионогенным полимером поливинилпирролидоном (ПВП) этот полимер при концентрациях ДДС, равных 3–12 ммол/л, приобретает свойства типичного полиэлектролита [12]: его полимерные клубки увеличивают свои

размеры почти вдвое, а локальная подвижность цепей полимера уменьшается в 100 раз [13]. При этом величина ККМ додецилсульфата натрия при концентрациях ПВП 0.025–0.1% понижается с 8.2 до 2.2 ммол/л, а у внутримолекулярных мицеллоподобных кластеров дифильных ионов изменяется степень ионизации и уменьшается степень агрегации по сравнению с невозмущенными мицеллами ДДС [14].

При взаимодействии этого ПАВ с гидрофобным сополимером акриламида и N-децилакриламида в воде происходит даже ассоциативное фазовое разделение (гелеобразование) [15].

Еще более прочные комплексы ионогенные ПАВ образуют с противоположно заряженными макромолекулами. В случае ионогенных гомополимеров их взаимодействие с противоположно заряженными ПАВ при весьма низких концентрациях последних приводит к образованию не растворимых в воде комплексов, что делает их неудобными для исследования различными физико-химическими методами.

Наибольший интерес представляют ПЭК, образуемые ионогенными ПАВ и сополимерами, несущими в боковых цепях заряженные функциональные группы и неионогенные гидрофильные группы. Такие ПЭК хорошо растворимы в воде в широком диапазоне концентраций ПАВ при любых соотношениях полимеров и ПАВ.

В связи с этим в настоящем обзоре систематизированы результаты исследований ПЭК именно этого типа как в отношении механизмов их формирования и физико-химических свойств, так и в отношении их биологической активности.

К настоящему времени установлено, что механизм формирования полиэлектролитных комплексов ПАВ, их структура, гидродинамические свойства, размеры и стабильность в воде зависят от природы полиона и ПАВ, концентраций ПАВ и полимера в растворе и их соотношений, а также от величины pH и ионной силы раствора. Процесс связывания дифильных ионов с противоположно заряженными макромолекулами имеет кооперативный характер [16]. Даже при очень низких концентрациях ионогенных ПАВ в растворе они связываются с малогидрофобными полионами в виде димеров, привнося на поверхность полимерного клубка заряды противоположного знака и

превращая их в полиамфолиты [17]. При увеличении концентрации ПАВ его молекулы при концентрации гораздо ниже ККМ (при так называемой критической концентрации ассоциации [1, 5]) формируют мицеллоподобные кластеры, электростатически связанные с заряженной полимерной цепью [17]. Это сопровождается подстройкой полимерных цепей к внутримолекулярным мицеллярным агрегатам с изменением конформации (компактизацией) макромолекулы и уменьшением ее внутримолекулярной подвижности [17], а также с изменением степени ионизации внутримолекулярных мицелл [18].

В отличие от ПЭК, образованных поликатионами с высокой и низкой основностью связывающих центров для молекул анионных ПАВ, катионные полимыла, содержащие высшие алкильные цепи в боковых цепях с числом углеродных атомов от 12 до 16, образуют в водных растворах катионные полимерные мицеллы [17].

Являясь структурными аналогами природных ПЭК, образованных ионогенными биополимерами и биологически активными ионами дифильного строения, синтетические ПЭК могут вступать с ними в конкурентные взаимодействия и участвовать в перераспределении дифильных ионов в многокомпонентных биосистемах, а также выступать в качестве транспортных систем для переноса дифильных ионов на их биологические мишени. Помимо связывания анионов ПАВ со свободными природными поликатионами, возможна их конкуренция и с полианионами, связанными с поликатионами в нестехиометрические интерполимерные комплексы. Как показано на модельных системах, анионы ПАВ могут замещать полианион (например, полиметакрилат-ион) и связываться с поликатионом (поли-N-этил-4-винилпиридиний бромидом) [19].

В связи с этим описанные выше синтетические ПЭК являются потенциальными биологически активными веществами, мишениями действия которых могут быть ионогенные биополимеры, мембранные структуры клеток, липопротеидные комплексы, а также природные интерполимерные комплексы.

ПЭК НА ОСНОВЕ АНИОННЫХ ПАВ И КАТИОННЫХ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ

Хорошо известно, что низкомолекулярные синтетические ПАВ сами по себе являются мембранотропными агентами и модуляторами активности ряда биополимеров, прежде всего ферментов. В основе мембранный активности анионных ПАВ лежат гидрофобные взаимодействия их алкильных цепей с ЖК-матриксом биомембран [20], причем характер взаимодействия ПАВ с клеточными мембранами сильно зависит от природы ПАВ и его концентрации. При низких концентрациях анионных ПАВ возможна стабилизация мембран (за счет упорядочения упаковки гидрофобных цепей в липидном бислое), а при высоких концентрациях – резкое увеличение проницаемости липидного бислоя для других веществ и разрушение фосфолипидных мембран [21].

Анионные ПАВ усиливают действие антибиотиков и ингибируют ферменты, инактивирующие антибиотики [22], однако обладают менее выраженной антимикробной активностью по сравнению с катионными ПАВ и действуют только на грамположительную микрофлору. Поскольку анионные ПАВ менее токсичны, тем катионные, они представляют наибольший интерес как компоненты физиологически активных веществ, оказывающих влияние на протекание физико-химических и биологических процессов на границах раздела фаз клеточных структур и жидких дисперсных систем организма [23].

Катионные полиэлектролиты как потенциальные компоненты физиологически активных ПЭК также обладают собственной биологической активностью на молекулярном и клеточном уровнях, обусловленной их взаимодействиями с противоположно заряженными биополимерами и мембранными структурами клеток [24]. Катионные полиэлектролиты, взаимодействуя электростатически с ферментами, могут как ингибировать [25–27], так и активировать их действие [26, 28, 29], что обусловлено стабилизацией конформации белковых глобул, сдвигом рН-оптимума ферментов, повышением стабильности ферментов к тепловой денатурации, автопротолизу и химической инактивации.

В результате кооперативного многоточечного связывания катионных полиэлектролитов с отрицательно заряженными фрагментами биомембран происходит нейтрализация отрицательных зарядов

на поверхности клеток, что может сопровождаться либо стабилизацией мембран [30], либо их дезорганизацией, вплоть до разрушения [31], а также резким изменением проницаемости липидных бислоев в отношении низкомолекулярных веществ [31–33]. Кроме того, катионные полиэлектролиты могут вызывать структурные перестройки липидного бислоя биомембран и по другому механизму – за счет вытеснения катионов бивалентных металлов, структурирующих липидный бислой, следствием чего является его дестабилизация [34].

Таким образом, катионные полиэлектролиты, являясь полимерными эффекторами ферментов и мембраноактивными агентами, весьма перспективны как вещества с потенциальной физиологической активностью.

Еще более интересны полиэлектролитные комплексы ПАВ, так как они сочетают в своем составе два типа поверхностно-активных веществ с различными механизмами биологического действия. Перспективность таких ПЭК как потенциальных биологически активных и лекарственных веществ обусловлена еще и тем, что при комплексообразовании полационов с противоположно заряженными ПАВ токсичность последних существенно понижается [35].

В связи с этим для целенаправленного синтеза ПЭК анионных ПАВ с заданными фармакологическими и физико-химическими характеристиками исключительный интерес представляет изучение механизмов их формирования в водной среде.

Методом поляризованной люминесценции установлено [36], что в зависимости от длины алкильного радикала ПАВ при мольных соотношениях ПАВ и противоположно заряженных звеньев полимера $\beta = 0.25\text{--}1.0$, даже при концентрациях ПАВ ниже ККМ, происходит максимальное уменьшение внутримолекулярной подвижности цепи полимера и алкильных радикалов ПАВ в случае комплексообразования анионных и катионных ПАВ. Это обусловлено тем, что у дифильных ионов ПАВ, электростатически связанных с полимером, возникают гидрофобные контакты алкильных цепей между собой и с карбоцепным скелетом макромолекулы, что приводит к ее компактизации.

При увеличении β выше стехиометрических величин или при концентрациях ПАВ, близких к ККМ, электростатически связанные с полимером

пары дифильных ионов трансформируются в мицеллоподобные кластеры. Это приводит к тому, что алкильные цепи дифильных ионов, ориентированные в ядро мицелл, экранируются от гидрофобных контактов с макромолекулой, и подвижность полимерной цепи возрастает. При этом внутримолекулярные псевдомицеллы, несущие высокий локальный поверхностный заряд, отталкиваются друг от друга и от свободных мицелл в растворе, препятствуя их включению в структуру ПЭК.

В результате эффективность использования заряженных групп слабых полиоснований для связывания анионных ПАВ не превышает 25% [37], и при достижении определенного насыщения ПЭК ионами ПАВ может даже наблюдаться “выброс” внутримолекулярных мицелл в объемную фазу раствора, сопровождающийся уменьшением размера полимерного клубка [38].

Определение констант диссоциации ПЭК катионных сopolимеров винилпирролидона (сополимер ВП с виниламином и сopolимеры ВП с кватернизованным N,N-диэтиламиноэтилметакрилатом) и ДДС показало [36], что более стабильные ПЭК образуют сopolимеры, несущие в боковых цепях первичные аминогруппы, а не четвертичные аммониевые группы. У всех изученных ПЭК стабильность комплексов зависит линейно от степени заполнения ПЭК ионами ПАВ и возрастает при ее увеличении.

Интересно, что введение минеральных солей в растворы ПЭК при малых степенях заполнения дифильными ионами приводит к двукратному увеличению стабильности ПЭК, а при высоких степенях заполнения ионами ПАВ – к четырех-девятикратному уменьшению констант диссоциации ПЭК, причем наиболее сильное стабилизирующее действие на ПЭК оказывают бивалентные ионы магния при высоких ионных силах раствора [39]. Такое поведение ПЭК, образованных поликатионами и противоположно заряженными ионами ПАВ, указывает на то, что низкомолекулярные электролиты слабо экранируют электростатические взаимодействия в ПЭК. Очевидно, что наиболее существенный вклад в формирование этих комплексов вносят гидрофобные взаимодействия алкильных цепей молекул ПАВ между собой и с карбоцепным скелетом макромолекул.

При исследовании комплексообразования сополимера винилпирролидона (**ВП**) и йодэтата N,N -диэтиламиноэтилметакрилата (**КС**) с алкилсульфатами натрия с различной длиной алкильной цепи методом спектрального сдвига красителя (метилоранж) установлено [40, 41], что в зависимости от мольного соотношения β у ПЭК при фиксированной величине pH (3.56) существенно изменяется степень гидрофобности сорбционных центров для этого красителя, оцениваемая по величине коротковолнового сдвига δ максимума поглощения метилоранжа. При увеличении числа углеродных атомов в алкильной цепи ПАВ от 10 до 16 в диапазоне $\beta = 1\text{--}0.25$ наблюдаются максимальные величины δ [41]. Эти данные полностью согласуются с максимальным уменьшением внутримолекулярной подвижности как цепи сополимеров подобного строения, так и подвижности алкильных радикалов ПАВ в указанных интервалах β [39], что обусловлено образованием внутримолекулярной мицеллярной фазы в ПЭК.

При увеличении β сверх стехиометрических величин от 1 до 6 на зависимостях $\delta\text{--}\beta$ для ДДС и гексадецилсульфата натрия при $\beta = 4.0$ наблюдалось формирование другого дискретного состояния ПЭК с повышенной степенью гидрофобности сорбционных центров для метилоранжа, а не плавное понижение степени гидрофобности их микромикроокружения, как в случае ПЭК, образуемых другими алкилсульфатами [40].

При исследовании зависимости величин спектральных сдвигов метилоранжа в растворах полиэлектролитных комплексов ДДС от величины pH и ионной силы раствора обнаружено [41], что максимальные спектральные изменения метилоранжа наблюдаются при величине pH, близкой к величине pK_a азокрасителя. Данный факт обусловлен тем, что в этих условиях метилоранж полностью протонирован, и его сорбции ПЭК не препятствует электростатическое отталкивание одноименно заряженных внутримолекулярных ассоциатов дифильных ионов. Любопытно, что при величинах $\beta = 0.5$ и 4.0 наблюдается диаметрально противоположное спектральное поведение метилоранжа в растворах ПЭК: при $\beta = 0.5$ полоса поглощения метилоранжа претерпевает мощный коротковолновый сдвиг на 40 нм, а при $\beta = 4.0$ наблюдается длинноволновый сдвиг полосы поглощения метилоранжа на 20 нм с одновременным двукратным увеличением ее интенсивности.

Хорошо известно [42], что такое спектральное поведение молекул метилоранжа в первом случае соответствует попаданию его молекул в гидрофобное микромикроокружение, а во втором случае – в специфическое водное окружение с возмущенной структурой воды, молекулы которой сильно поляризованы. Следствием этого является повышение степени гидратации молекул метилоранжа за счет образования водородных связей и ион-дипольных взаимодействий диполей воды с атомами азота азогруппы красителя.

Изменение структуры воды в микромикроокружении полиэлектролитных комплексов ДДС в зависимости от величины β подтверждается и изменением степени связывания молекул воды с ПЭК различного состава. По данным ядерной магнитной релаксации, полиэлектролитные комплексы ДДС с величинами $\beta = 0.5, 1.0$ и 4.0 связывают соответственно $0.25, 0.11$ и 0.21 г воды на 1 г комплекса [43], т.е. дискретным состояниям ПЭК с аномальными свойствами соответствуют и максимальные степени связывания молекул воды.

По данным статического светорассеяния [44], молекулярные характеристики исходного сополимера КС состава $83 : 17$ мол. % ($M_w = 8.5 \times 10^4$, среднеквадратичный радиус инерции полимерных клубков 60 нм) также претерпевают существенные изменения при образовании ПЭК различного состава. При введении ДДС в раствор КС при $\beta = 0.5$ происходит наиболее сильное сжатие полимерного клубка и уменьшение его размера до 21.5 нм, хотя при этом M_w образующегося ПЭК и возрастает до 11.7×10^4 . При величине $\beta = 4.0$ наблюдается максимальное увеличение размеров полиэлектролитного комплекса ДДС до 77.1 нм, и его M_w достигает 38.5×10^4 , что соответствует увеличению степени заполнения полимерных клубков дифильными ионами в 10 раз, по сравнению с ПЭК ($\beta = 0.5$).

Совокупность приведенных данных позволяет утверждать, что по своей топологии ПЭК в $\beta = 0.5$ представляет собой электростатически связанные с полимерной цепью сферические мицеллы молекул ДДС с числом агрегации дифильных ионов меньшим, чем в случае свободных мицелл ДДС. При переходе к ПЭК с $\beta = 4.0$ происходит полиморфное превращение внутримолекулярных мицелл в псевдоламелярные ассоциаты дифильных ионов с высоким числом агрегации молекул ДДС.

При этом ПЭК включает в свой состав около 1000 дифильных ионов, в микроокружении которых происходит сильное возмущение структуры воды, подобно тому, как это имеет место в случае обращенных мицелл.

Существенное различие в структурной организации этих ПЭК подтверждается их поведением в водно-солевых растворах. При повышении ионной силы раствора у ПЭК с $\beta = 0.5$ наблюдается незначительное увеличение гидрофобности сорбционных центров для метилоранжа. В случае ПЭК с $\beta = 4.0$ переход от растворов ПЭК с низкой ионной силой к растворам с высокой ионной силой сопровождается трансформацией длинноволнового сдвига полосы поглощения метилоранжа в коротковолновый [41], что свидетельствует о стабилизации комплекса. Наиболее сильное структурирующее влияние на ПЭК с $\beta = 4.0$ оказывают бивалентные ионы магния, которые образуют солевые мостики между парами ионов ДДС, превращая их в двухцепочечные молекулы ПАВ.

Таким образом, изменяя природу поликатиона и мицеллообразующих ПАВ, их соотношение, величину pH и ионную силу раствора можно получать ПЭК с различной структурной организацией и стабильностью в водных растворах, что может приводить не только к изменению макроскопических свойств таких полимер-мицеллярных систем [45–47], но и к изменению профиля их биологической активности.

Впервые на молекулярно-клеточном уровне это было продемонстрировано на полиэлектролитных комплексах ДДС с величинами $\beta = 0.5$ и 4.0, характеризующихся аномальными физико-химическими и структурными характеристиками. При исследовании триптического гидролиза *n*-нитрофенилацетата в присутствии указанных ПЭК было обнаружено [30], что ПЭК с $\beta = 0.5$ является сильным конкурентным ингибитором трипсина, тогда как ПЭК с $\beta = 4.0$ выступает в роли неконкурентного активатора этого фермента. В первом случае происходит кооперативный перенос ионов ДДС от поликатиона на активный центр фермента, а во втором – образуется фермент-эффекторный комплекс, который обеспечивает стабилизацию макромолекулы белка и его защиту от тепловой денатурации и автопротолиза.

Оценка мембранный активности этих ПЭК была проведена с использованием модельных

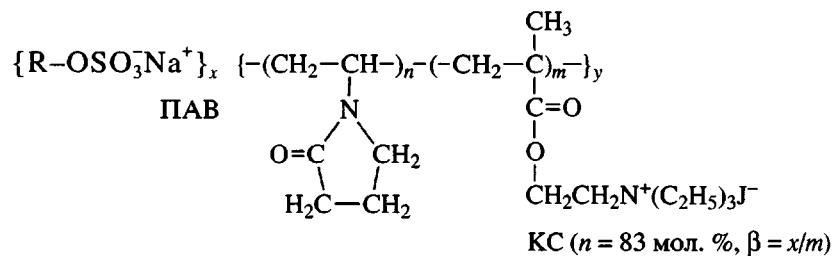
униламеллярных фосфолипидных везикул, содержащих в интерナルной водной фазе инкапсулированный флуоресцентный маркер – хлортетрациклинов, а в экстернальной водной фазе хлорид кальция [33]. При этом фиксировалось увеличение проницаемости липидного бислоя в отношении катионов кальция, которые при хелатообразовании с хлортетрациклином резко повышали квантовый выход флуоресценции последнего.

В случае везикул, сформированных из дипальмитоиллецитина или дипальмитоилметилкефалина, происходило резкое нарушение барьерной функции липидного бислоя под действием ПЭК с $\beta = 0.5$ уже при концентрациях ДДС в растворе, равных 5 мкмоль/л. В присутствии ПЭК с $\beta = 4.0$ аналогичный эффект для везикул дипальмитоиллецитина наблюдался при концентрации ДДС 1100 мкмоль/л, а для везикул дипальмитоилметилкефалина, несущих на поверхности более высокий отрицательный заряд, при концентрации ДДС 10 мкмоль/л. Таким образом, в случае ПЭК с $\beta = 4.0$ проявляется высокая селективность его действия на липидный бислой в зависимости от природы мембранообразующего липида.

При фармакологическом исследовании ПЭК различного состава на основе высших алкилсульфатов натрия и сopolимера КС установлено, что эти ПЭК могут как ингибировать, так и активировать скорость весового C_m и линейного роста C_d лабораторных животных. В табл. 1 приведены данные по влиянию ПЭК разного состава на основе ПАВ различного химического строения на процессы роста крысят молочного периода жизни (возраст до 1 месяца) при введении их животным с питьем в течение последующего возрастного периода.

ПЭК с $\beta = 0.5$ при введении с питьем крысам в дозах в сотни раз ниже токсических наиболее сильно угнетает весовой и линейный рост животных [49], тогда как ПЭК с $\beta = 4.0$ максимально повышает темпы прироста живой массы крыс [49]. В присутствии сульфата магния стимулирующее рост действие этого ПЭК на крыс усиливается еще на 15–20% [49], т.е. стабилизирующее действие ионов магния на ПЭК с $\beta = 4.0$, которое было обнаружено при физико-химическом изучении, повышает эффективность его физиологического действия как промотора роста животных.

Таблица 1. Влияние ПЭК на процессы роста животных



R в ПАВ	β	Оптимальная суточная доза; мг/кг	$C_m, \%$	$C_d, \%$
$\text{C}_{12}\text{H}_{25}$	0.24	3.7	-9	-12
	0.5	22	-28	-28
	2.0	11	-8	-13
	2.5	3.7–22	0	0
	3.6	7.4	+26	+35
	4.0	7.4	+49	+65
	5.0	7.4	+6	+4
$\text{C}_{14}\text{H}_{29}$	4.0	7.4–22	0	0
	3.8	11	-11	-15
	4.2	22	-10	-14
$\text{C}_{16}\text{H}_{33}$	1.0	11	-13	-18
	2.0	22	-9	-13
	4.0	7.4	+24	+34
	5.0	2.2–22	0	0

Высокая эффективность этого ПЭК, который получил торговое название ДОКСАН, подтверждена существенным повышением продуктивности сельскохозяйственных животных [50, 51]. Установлено, что его действие, стимулирующее рост, обусловлено активацией пищеварительных процессов у животных [51], усилением секреции эндогенных анаболиков, в частности тестостерона [50], и ускорением процессов белкового, жирового, липидного и минерального обмена у животных.

При исследовании нейромодулирующих свойств доксана в НИИ экспериментальной медицины РАМН обнаружено, что при внутрижелудочном введении крысам и мышам он выступает в роли орального адаптогена рефлекторного действия [49]. В концентрациях 0.001, 0.01 и 0.1% до-

ксан в 2, 12 и 23 раза потенцирует кардиопульмональный рефлекс [52], индуцируемый внутривенным введением серотонина. Следствием этого является мощное антигипоксическое, противошоковое и анальгезирующее действие доксана, сравнимое по эффективности с действием предельно допустимой терапевтической дозы аденоzinтрифосфата (табл. 2).

Кроме того, доксан усиливает секрецию эндогенных нейромодуляторов и повышает их активность, а также потенцирует действие подпороговых доз экзогенных биологически активных веществ, действующих на центральную и периферическую нервную системы (табл. 3).

Любопытно, что потенцирующее действие доксана на физиологическое действие нейромедиато-

Таблица 2. Адаптогенные эффекты доксана при внутрижелудочном введении животным в сравнении с АТФ

Вводимый препарат	Доза, мг/кг	Продолжительность жизни мышей при баночной гипоксии, мин	Выживаемость крыс через 24 ч при гемической гипоксии после инъекции нитрита натрия, %	Выживаемость крыс при гипогликемическом шоке после инъекции двойной смертельной дозы инсулина, %	Продолжительность латентного периода рефлекса отдергивания хвоста у крыс при погружении его в горячую воду, с
Доксан	10	17.5 ± 1.6	52.6 ± 6.6	53.1 ± 5.9	Более 40
АТФ (внутрибрюшинно)	10	14.9 ± 1.7	19.7 ± 2.2	—	10.8 ± 0.8
	50	19.1 ± 4.0	64.0 ± 7.0	55.7 ± 6.5	Более 40
Вода (контроль)	—	11.3 ± 1.6	10.0 ± 0.1	0	3.5 ± 0.4

Таблица 3. Физиологические эффекты подпороговых и субнаркотических доз снотворных и анальгетических средств (внутрибрюшинное введение) и потенцирование их действия после внутрижелудочного введения доксана

Вводимый препарат	Фармакологический эффект
Гексенал, 50 мг/кг	Слабый седативный эффект у 60% мышей; кратковременный (5.9 ± 0.5 мин) поверхностный сон у 40% мышей
Доксан, 100 мг/кг + гексенал, 50 мг/кг	Глубокий сон длительностью 23.2 ± 3.2 мин у 80% мышей
30%-ный этанол, 3 г/кг	Шаткость походки и нарушение ориентации у 40% крыс; кратковременный (14.8 ± 1.8 мин) поверхностный сон у 60% крыс
Доксан, 100 мг/кг + 30%-ный этанол, 3 г/кг	Глубокий сон длительностью 38.4 ± 4.5 мин у 90% крыс
Морфин, 0.4 мг/кг	Отсутствует
Доксан, 1.5 мг/кг + морфин, 0.4 мг/кг	Сильный (латентный период рефлекса отдергивания хвоста более 40 с) и длительный (3–8 ч) анальгезирующий эффект
Анальгин, 0.3 мг/кг	Отсутствует
Доксан, 1.5 мг/кг + анальгин, 0.3 мг/кг	Сильный и длительный анальгезирующий эффект

ров при внутрижелудочном введении проявляется независимо от способов их введения в организм животных. Так при внутрижелудочном введении АТФ белым крысам в дозах до 50 мг/кг его анальгезирующий эффект не обнаруживается (латентный период рефлекса отдергивания хвоста 3.35 ± 0.40 с). Однако внутрижелудочное введение доксана животным за 30 мин до внутрибрюшинного или внутрижелудочного введения в дозе лишь 1.5 мг/кг полностью угнетает рефлекс отдергивания хвоста при его перегревании. Таким образом, эффекты потенцирования действия нейротропных веществ в присутствии доксана позволяют существенно понижать эффективные терапевтические

дозы этих веществ и тем самым устранивать побочные эффекты их действия на организм.

ПЭК КАТИОННЫХ ПАВ И АНИОННЫХ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ

В отличие от анионных ПАВ, основной движущей силой взаимодействия катионных ПАВ с биомембранами являются не гидрофобные, а электростатические взаимодействия [20] с компонентами клеточных мембран. Как показано в опытах на бактериальных клетках [20, 35], которые при физиологических условиях заряжены отрицательно, их взаимодействие с катионными ПАВ

приводит сначала к уменьшению отрицательного заряда на поверхности клеток, затем к их перезарядке в результате образования смешанных дегрент-липидных ассоциатов, а при высоких концентрациях ПАВ – к дезинтеграции мембран. Помимо прямого антимикробного действия катионные ПАВ в небактерицидных концентрациях усиливают действие антибиотиков за счет повышения проницаемости плазматических мембран бактерий; ингибируют ферменты, инактивирующие антибиотики; элиминируют плазмиды, определяющие антибиотикорезистентность бактерий, а также ингибируют передачу R-плазмид в процессах трансдукции и конъюгации микробных клеток [22]. В связи с этим катионные ПАВ представляют особый интерес как полифункциональные антимикробные агенты.

Однако применение катионных ПАВ в медицине ограничено из-за их высокой токсичности. Поскольку комплексообразование таких ПАВ с анионными полиэлектролитами приводит к существенному снижению их токсичности, ПЭК могут найти применение как лекарственные средства.

Вместе с тем известно [24], что при парентеральном введении в организм полианионы более токсичны, чем поликатионы, хотя и обладают широким спектром физиологического действия – противовирусной, иммуномодулирующей, интерфероногенной, противоопухолевой и антикоагулянтной активностью.

Наиболее детально изученными ПЭК этого типа являются комплексы, образованные катионными ПАВ из ряда солей четвертичного аммония и карбоксилатами сополимерами ВП. Методами потенциометрического титрования, турбодиметрии, вискозиметрии и поляризованной люминесценции исследовано взаимодействие индивидуальных диметилбензилалкиламмоний хлоридов с различной длиной алкильной цепи и смеси их гомологов с сополимерами ВП с акриловой, метакриловой и кротоновой кислотами [53].

Установлено, что добавление диметилбензилалкиламмоний хлоридов в водные растворы полностью ионизованных сополимеров приводит к заметному снижению pH растворов, к компактизации макромолекул и к резкому уменьшению их внутримолекулярной подвижности, которая тем

ниже, чем больше длина алкильного радикала ПАВ.

С ростом величины $\beta = [\text{ПАВ}] : [\text{СООН}]$ в интервале 1–6 для всех изученных ПЭК наблюдается уменьшение внутримолекулярной подвижности цепей макромолекул, оцениваемой в параметрах поляризованной люминесценции.

При фиксированном значении β степень электростатического связывания молекул ПАВ с сополимерами возрастает с повышением количества ионогенных групп в сополимерах, причем доля молекул ПАВ, связанных с сополимером зависит от природы сополимера и его микроструктуры. Эффективность связывания катионных ПАВ с сополимерами возрастает в ряду ВП-кротоновая кислота, ВП-акриловая кислота, ВП-метакриловая кислота.

В отличие от сополимера ВП-кротоновая кислота, сополимеры ВП-акриловая кислота и ВП-метакриловая кислота характеризуются более высокой степенью микроблочности карбоксилатодержащих звеньев и соответственно более высокой локальной плотностью заряженных групп на цепи полимера, что способствует их более эффективному кулоновскому взаимодействию с ПАВ.

В случае гомополимера полиакриловая кислота с высокой плотностью заряда при взаимодействии с цетилпиридиний хлоридом [45] или со смешанными мицеллами гексадецилтриметиламмоний хлорида и моноэфира додецилгексаоксиэтilenгликоля [48] также наблюдается возрастание эффективности связывания ПАВ при увеличении степени ионизации поликислоты.

Существенное влияние на стабильность ПЭК, образованных катионными ПАВ и полационами, оказывает степень заполнения полимерного клубка ионами ПАВ и величина ионной силы раствора. При увеличении степени заполнения макроиона ионами ПАВ происходит стабилизация ПЭК.

В отличие от ПЭК, образованных анионными ПАВ и поликатионами, увеличение ионной силы растворов приводит к дестабилизации ПЭК [36], что указывает на определяющий вклад кулоновских взаимодействий в формирование таких комплексов.

При исследовании взаимодействия такого катионного ПАВ как 4,4-триэтиламмоний-*n*-терфенил дихлорид (миорелаксант теркуроний) с сополимером ВП-кротоновая кислота, а также с сополимерами ВА-*n*-метакрилоилфеноксикусусная кислота, 9-ундекиленовая кислота или олеиновая кислота методом поляризованной люминесценции установлено [54], что эффективность связывания этого ПАВ сополимерами возрастает в ряду ВП-кротоновая кислота, ВП-метакрилоилфеноксикусусная кислота, ВА-олеиновая кислота, ВА-9-ундекиленовая кислота. Таким образом, увеличивая гидрофобность полианиона, можно усиливать вклад гидрофобных взаимодействий в формирование ПЭК указанного типа.

Определенное влияние на прочность связывания катионных ПАВ оказывает гибкость цепи полииона. Так, при переходе от натриевой соли карбоксиметилцеллюзы к натриевой соли полистиролсульфоната константа связывания алкилтриметиламмоний бромидов возрастает в 100 раз. Это обусловлено тем, что в последнем случае более гибкая цепь полиэлектролита лучше подстраивается к мицеллоподобным кластерам ПАВ.

При взаимодействии катионных ПАВ различной природы (четвертичные аммониевые основания с гидрофобным алкильным радикалом и бисаммониевые основания с концевыми гидрофобными алкильными радикалами у заряженного атома азота) с сополимерами динатрий малеата и метил- или бутилвинилового эфира обнаружено [55], что эти ПАВ связываются с полианионом менее кооперативно, когда полианион более гидрофобен, причем димерные ПАВ образуют с полимерами более прочные комплексы, чем обычные катионные ПАВ.

Таким образом, механизм формирования ПЭК в водной среде анионными и катионными ПАВ с противоположно заряженными макроионами имеет как существенные различия (определяющий вклад гидрофобных взаимодействий в связывание анионных ПАВ с полимерной матрицей в первом случае, и определяющий вклад кулоновских взаимодействий катионных ПАВ во втором случае), так и общие закономерности (эффект коопера-

тивного связывания дифильных ионов полионами и формирование внутримолекулярной мицеллярной фазы с физико-химическими характеристиками, отличающимися от свойств невозмущенных мицелл).

С учетом современных представлений [56] о стабилизации мицеллярных ассоциатов в полимерных растворах полиэлектролитные комплексы ПАВ можно рассматривать как самоорганизующиеся многокомпонентные системы, в которых имеет место взаимное "узнавание" макромолекулы и ассоциатов дифильных ионов, что обеспечивает формирование наиболее энергетически выгодных состояний ПЭК.

Таким образом, изменения природу полиэлектролитов и ПАВ, можно осуществлять молекулярный дизайн полиэлектролитных комплексов ПАВ с заданным комплексом физико-химических и фармакологических свойств. Такой подход к синтезу лекарственных веществ на основе катионного ПАВ и анионного полиэлектролита впервые был с успехом реализован при создании нового полимерного антисептика катапол (ПЭК сополимера ВП и кротоновой кислоты с диметилбензилалкиламмоний хлоридами).

В результате выбора оптимальной структуры и состава карбоксилсодержащего сополимера ВП-кротоновая кислота, ионной силы раствора, а также соотношения $\beta = [\text{ПАВ}] : [\text{COOH}] = 1.0$ был выявлен ПЭК, обладающий улучшенными фармакологическими характеристиками по сравнению с антисептиком катамином АБ, применение которого в медицине ограничено из-за его высокой токсичности и кожно-раздражающего действия. Установлено [57], что включение диметилбензилалкиламмоний хлоридов в состав катапола приводит к снижению их острой токсичности в 4 раза, к уменьшению кожно-раздражающего действия более чем в 100 раз и к повышению эффективности лечебного действия при лечении ран в 2–3 раза [58]. При этом широкий спектр antimикробного действия катамина АБ в составе катапола полностью сохраняется [59].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование ПЭК ионогенных мицеллобразующих ПАВ с различными мольными соотношениями взаимодействующих заряженных субъединиц, включающих в свой состав полиэлектролиты и ионы ПАВ различной природы, позволяет идентифицировать дискретные состояния этих комплексов с аномальными физико-химическими свойствами, обусловленными различной стабильностью и структурной организацией внутримолекулярных ассоциатов молекул ПАВ. Такие полимер-дeterгентные комплексы, образующиеся в водной среде, могут вступать в конкурентные взаимодействия с биополимерами и биологическими мембранами, что и определяет их биологическую активность на молекулярно-клеточном уровне. При этом возможно получение полимерных производных ПАВ с физиологической активностью, которая отсутствует у индивидуальных компонентов полиэлектролитных комплексов ПАВ, что открывает перспективу создания малотоксичных высокоеффективных полимерных лекарственных препаратов нового поколения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Barany S. // Macromol. Symp. 2001. № 166. P. 71
2. Philipp B., Dauthzwnberg H., Linow K.-J., J.Kotz J., Dawyoff W. // Progr. Polym. Sci. 1988. V. 13. № 5. P. 461.
3. Antonietti M., Thunemann A. // Cur. Opinion in Colloid Interface Sci. 1996. V. 1. № 1. P. 667.
4. Diamant H., Andelman D. // Macromolecules. 2000. V. 3. № 21. P. 8050.
5. Piculell L., Thuresson K., Lindman B. // Polym. Adv. Technol. 2001. V. 12. P. 44.
6. Londman B., Thalberg K. // Interaction of Surfactants with Polymer and Proteins / Ed. by Goddard D.E., Ananthapadmanabhan K.P. Boca Raton: CRC Press, 1993. P. 203.
7. Thunemann A. // Langmuir. 1997. V. 13. P. 6040.
8. Fischer L.G., Oakenfull D.G. // Chem. Rev. 1977. V. 6. № 1. P. 25.
9. Dominguez J.C., Parra J.L., Infante M.R., Pelejero C.M., Dalaguer F., Sastre T. // J. Soc. Cosmet. Chem. 1977. V. 28. № 4. P. 165.
10. Hydratation and Intermolecular Interaction / Ed. by Zundel G. New York: Acad. Press, 1969.
11. McGlade M.J., Randall F.J., Tcheurekdjian T.M. // Macromolecules. 1987. V. 20. № 8. P. 1782.
12. Rudd R.J., Jennings B.R. // J. Colloid Interface Sci. 1974. V. 48. № 2. P. 302.
13. Chari K., Antalek B., Lin M.Y., Sinha S.K. // J. Phys. Chem. 1994. V. 100. № 7. P. 5294.
14. Zana R., Lang J., Lianos P. // Microdomains in Polymer Solution. Polym. Sci. and Techn. / Ed. by Dubin P.L. New York; London: Plenum Press, 1985. V. 30. P. 357.
15. Effing J.J., McLennan L.J., Kwak J.C.T. // J. Phys. Chem. 1994. V. 98. № 10. P. 2499.
16. Satake I., Hayakawa K., Komaki M., Maeda T. // Bull. Chem. Soc. Jpn. 1984. V. 57. № 10. P. 2995.
17. Ануфриева Е.В., Панарин Е.Ф., Паутов В.Д., Семистнов Г.В., Соловский М.В. // Высокомолек. соед. А. 1977. Т. 19. № 6. С. 1329.
18. Shirahama K., Kohdo M., Marahashi M. // J. Colloid Interface Sci. 1982. V. 86. № 1. P. 282.
19. Zezin A.B., Izumrudov V.A., Kabanov V.A. // Macromol. Symp. 1996. V. 106. P. 397.
20. Helenius A., Simons K. // Biochim. Biophys. Acta. 1975. V. 415. P. 29.
21. Seufert W.D. // Biophysik. 1973. V. 10. № 4. P. 281.
22. Афиногенов Г.Е. // Дис. ... д-ра мед. наук. Л.: Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена, 1979.
23. Ганиктевич Я.В. // Тр. VII Междунар. конгр. по ПАВ. М., 1987. Т. 4. С. 206.
24. Платэ Н.А., Васильев А.Е. // Физиологически активные полимеры. М.: Химия, 1986.
25. Lawton J.B., Mekras C.J. // Makronol. Chem. 1985. B. 186. № 11. S. 2397.
26. Dipommer A., Merle-Autry L., Merle Y., Selegny A. // Makromol. Chem. 1986. B. 187. № 1. S. 211.
27. Стрельцова З.А., Швядас В.К., Максименко А.В., Клесов А.А., Браудо Е.Е., Толстогузов В.Б., Березин И.В. // Биоорган. химия. 1975. Т. 1. № 10. С. 1464.
28. Цыганков А.Ю., Моторин Ю.А., Добрушкин А.Е., Вольфсон А.Д., Орловский А.Ф., Гладилин К.Л. // Биохимия. 1986. Т. 51. № 4. С. 590.
29. Кольцова С.В., Илларионова Н.Г., Панарин Е.Ф., Рудковская Г.Д., Самсонов Г.В. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1975. № 3. С. 643.
30. Копейкин В.В., Афанакина Н.А. // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 6. С. 802.
31. Tirrel D.A. // Microdomains in Polymer Solution. Polym. Sci. and Techn. New York; London: Pergamon Press, 1987. V. 30. P. 343.
32. Panarin E.F., Solovskii M.V., Zaikina N.A., Afinogenov G.E. // Makromol. Chem. Suppl. 1985. V. 9. P. 25.
33. Копейкин В.В. // Биологич. мембранны. 1988. Т. 5. № 7. С. 728.
34. Takigawa D.Y., Tirrel D.A. // Makromol. Chem., Rapid Commun. 1985. V. 6. P. 653.
35. Соловский М.В., Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф., Заикина Н.А., Ковтун Г.И., Рубахина Т.Д. // Хим.-фармацевт. журн. 1980. № 11. С. 51.

36. Паутов В.Д., Ануфриева Е.В., Кирпач А.Б., Панарин Е.Ф., Гавrilова И.И., Кочеткова И.С., Луцик В.Б., Соловский М.В., Ушакова В.Н. // Высокомолек. соед. А. 1988. Т. 30. № 10. С. 2219.
37. Фельдштейн М.М., Зезин А.Б. // Молек. биология. 1974. Т. 8. № 1. С. 142.
38. Балилов А.В., Манюров И.Р., Третьякова А.Я., Барабанов В.П. // Высокомолек. соед. А. 1996. Т. 38. № 1. С. 94.
39. Паутов В.Д., Кирпач А.Б., Ануфриева Е.В., Панарин Е.Ф. // Высокомолек. соед. Б. 1990. Т. 32. № 2. С. 133.
40. Копейкин В.В., Гавrilova И.И. // Высокомолек. соед. А. 1987. Т. 29. № 2. С. 377.
41. Копейкин В.В., Афанаскина Н.А., Фазиль Г.И., Сантурян Ю.Г. // Высокомолек. соед. А. 1987. Т. 29. № 2. С. 370.
42. Reeves R.L., Kaiser R.S., Maggio M.S., Silveste E.A., Lawton V.H. // Canad. J. Chem. 1973. V. 51. № 4. Р. 623.
43. Копейкин В.В., Шевелёв В.В. // Высокомолек. соед. А. 1990. Т. 32. № 5. С. 933.
44. Копейкин В.В., Кипнер А.И. // Высокомолек. соед. Б. 2001. Т. 43. № 7. С. 1245.
45. Kogej K., Skerjanc J. // Acta Chim. Slov. 1999. V. 46. № 2. Р. 269.
46. Yoshida K., Dubin P. // Colloids Surfaces. 1999. V. 147. Р. 161.
47. Tirrell M., Ananthapadmanabhan K.P., Mao G.-Z., Goddard E.D. // Colloids and Surfaces. 1991. V. 61. Р. 167.
48. Bystryak S.M., Winnik M.A., Siddiqui J. // Langmuir. 1999. V. 15. № 11. Р. 3748.
49. Копейкин В.В. // Дис. ... д-ра хим. наук. Санкт-Петербург: ИВС РАН, 1999.
50. Панарин Е.Ф., Копейкин В.В., Конюхов В.Н., Токметов Т.М., Савченко О.Н. // Вестн. сельскохоз. науки. 1991. № 1. С. 136.
51. Панарин Е.Ф., Копейкин В.В., Конюхов В.Н., Токметов Т.М. // Вестн. сельскохоз. науки. 1991. № 6. С. 108.
52. Сердюк С.Е., Гмиро В.Е. // Физиологич. журн. им. И.М. Сеченова. 1995. Т. 81. С. 40.
53. Соловский М.В. // Дис. ... д-ра хим. наук. Санкт-Петербург: ИВС РАН, 1996.
54. Ануфриева Е.В., Панарин Е.Ф., Паутов В.Д., Соловский М.В. // Высокомолек. соед. А. 1981. Т. 23. № 6. С. 1222.
55. Zana R., Benraou M. // J. Colloid Interface Sci. 2000. V. 226. № 2. Р. 286.
56. Литманович А.А., Паписов И.М. // Высокомолек. соед. Б. 1997. Т. 39. № 2. С. 323.
57. Соловский М.В., Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф., Заикина Н.А., Ковтун Г.И., Рубахина Т.Д. // Хим.-фармацевт. журн. 1980. № 11. С. 51.
58. Соловский М.В., Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф., Епанчинцева Е.В., Петухова Н.А. // Хим.-фармацевт. журн. 1991. № 4. С. 40.
59. Заикина Н.А., Ягодкина М.В., Соловский М.В. // Антибиотики и химиотерапия. 1994. Т. 39. № 4. С. 48.

Biological Activity of Synthetic Polyelectrolyte Complexes of Ionogenic Surfactants

E. F. Panarin and V. V. Kopeikin

*Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences,
Bol'shoi pr. 31, St. Petersburg, 199004 Russia*

Abstract—Published data on the mechanisms of formation, physicochemical properties, and structure of polyelectrolyte complexes formed by synthetic polyelectrolytes and oppositely charged micelle-forming surfactants are analyzed and summarized. The electrostatic and hydrophobic interactions of macroions and amphiphilic ions make a substantial contribution to the formation of these polyelectrolyte complexes. This leads to changes in the conformational and intramolecular mobility of macromolecules and to the formation of intramolecular associates of surfactant molecules with different stability and structural organization. Competitive reactions of these polyelectrolyte complexes with biopolymers and biomembranes accompanied by the transfer of amphiphilic ions from polyelectrolyte complexes to biological targets form the basis of their biological activity at the molecular and cellular level. The studies of relationships between the structure and the physicochemical and pharmacological properties of these polyelectrolyte complexes are promising for the development of fundamentally new polymeric drugs on this basis.