

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

*На правах рукописи*

**Портнов Иван Владимирович**

**Влияние электростатических взаимодействий на самосборку и  
адсорбцию линейных цепей и микрогелей**

Специальность 02.00.06 –  
«Высокомолекулярные соединения»

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Москва 2021

Работа выполнена на кафедре физики полимеров и кристаллов физического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

**Научный руководитель** доктор физико-математических наук, профессор  
РАН **Потемкин Игорь Иванович**

**Официальные  
оппоненты:** доктор физико-математических наук, профессор,  
главный научный сотрудник Института  
высокомолекулярных соединений РАН  
**Даринский Анатолий Анатольевич**

доктор физико-математических наук, доцент,  
ведущий научный сотрудник Института  
прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН  
**Криксин Юрий Анатольевич**

кандидат химических наук, доцент, доцент  
химического факультета МГУ имени М.В.  
Ломоносова

**Ефимова Анна Александровна**

Защита диссертации состоится « 9 » сентября 2021 г. в 17:00 часов на заседании диссертационного совета МГУ.01.01 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2, Физический факультет.

Email: [laptin@polly.phys.msu.ru](mailto:laptin@polly.phys.msu.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/377484937/>

Автореферат разослан 5 августа 2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат физ.-мат. наук

Т.В. Лаптинская

## **Общая Характеристика работы**

### **Актуальность исследования**

Полиэлектролиты - макромолекулы, содержащие группы, которые диссоциируют в полярных растворителях с образованием зарядов на цепи и противоположно заряженных ионов (противоионов), мобильность которых определяется их валентностью. Как следствие, наличие дальнедействующего отталкивания между одноименно заряженными группами, а также конкуренция этого отталкивания с короткодействующим притяжением (гидрофобной или Ван-дер-Ваальсовой природы, а также за счет водородных связей), ответственно за ряд эффектов, которые присущи исключительно полиэлектролитам. К ним можно отнести вытянутую конформацию и увеличенную («наведенную») персистентную длину макромолекул в разбавленных растворах, способность к самоорганизации с образованием агрегатов и нанодоменных структур в полуразбавленных и концентрированных растворах. Полиэлектролитные гели известны как суперабсорбенты воды. Наличие заряженных групп на цепи позволяет притягивать противоположно заряженные макромолекулы и формировать так называемые интерполиэлектролитные комплексы. Тот факт, что многие биологические макромолекулы (нуклеиновые кислоты, белки и полипептиды, некоторые полисахариды и др.) также являются полиэлектролитами, предопределяет широкий спектр их применений. Например, полиэлектролитные макромолекулы и макромолекулярные объекты активно тестируются в качестве носителей лекарственных средств для их адресной доставки. Примерами служат разветвленные макромолекулы и дендримеры, нано- и микрогели, полимерные мицеллы и др., которые могут образовывать комплексы с противоположно заряженными (макро)молекулами, доставлять их и высвобождать при локальном изменении кислотности. При этом заряд полиэлектролитного носителя обеспечивает наиболее эффективное взаимодействие с поверхностью клетки, что обеспечивает проникновение внутрь клетки лекарственного препарата. В этой связи важно понимать, как геометрия носителя, распределение заряженных групп и многие другие

аспекты влияют на степень связывания гостевых молекул и условия для их высвобождения.

Если говорить о конкретных веществах, то хорошими перспективами обладает хитозан. Биополимер хитозан – достаточно дешевый катионный полиэлектролит, который содержит как растворимые, так и нерастворимые в воде группы. Его получают из хитина панцирей ракообразных. Хитозан является нетоксичным и биосовместимым с тканями живых организмов, обладает антимикробной активностью, а также широко используется для модификации поверхностей путем адсорбции, что придает им желаемые свойства. При его осаждении возникает проблема равномерного распределения полимера по поверхности, которая зависит как от способа нанесения (центрифугирование, струйная печать и др.), так и от способности полимера к самоорганизации в растворах в разнообразные наноструктуры (кластеры и домены нанометрового масштаба). В этой связи важно понимать как конкуренция дальнедействующего кулоновского отталкивания (растворимых групп) и короткодействующих сил притяжения (между нерастворимыми группами), а также молекулярные параметры (степень полимеризации, доля заряженных групп) влияют на самоорганизацию в растворе, а значит и на структуру покрытия.

Более сложными по отношению к полиэлектролитам в плане организации заряженных групп являются полиамфолиты - макромолекулы, которые содержат в своей структуре катионные и анионные группы. Если в полиэлектролитах заряженные группы на цепях всегда отталкиваются друг от друга, то в полиамфолитах, в зависимости от соотношения и распределения зарядов разного знака, всегда конкурируют электростатические силы отталкивания и притяжения. Как следствие, линейные макромолекулы могут иметь компактную глобулярную конформацию (если доли зарядов разного знака близки друг к другу) или вытянутую (в противоположном случае). Если полиамфолиты являются рН-чувствительными и долю ионизованных групп можно варьировать путем изменения рН среды (например, одновременно «включать» катионные и «выключать» анионные группы), то

возможно управлять формированием комплексов с гостевыми молекулами. Например, если в качестве носителя рассматривать полиамфолитные нано- или микрогели, то можно эффективно абсорбировать гостевые макромолекулы в состоянии, когда микрогель имеет противоположный гостевым молекулам заряд, а высвобождать их - при одноименном заряде. При этом ожидается, что высвобождение будет происходить быстрее по отношению к полиэлектролитному микрогелю за счет дальнедействующего отталкивания. Однако, остается много вопросов, связанных с влиянием распределения катионных и анионных групп в микрогеле, состояния гостевых молекул (глобулярное или клубковое) и др. на структуру комплекса и его способность высвобождать гостевые молекулы.

В настоящей диссертационной работе предлагается решение задач, которые позволят приблизиться к пониманию свойств ряда полиэлектролитных и полиамфолитных систем.

### **Цели и задачи диссертационной работы**

Целью работы является изучение влияния электростатических взаимодействий на самосборку в растворах, адсорбцию на противоположно заряженную поверхность, а также комплексообразование с микрогелями линейных полиэлектролитных цепей.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучение влияния дальнедействующих электростатических сил отталкивания и короткодействующих сил притяжения на агрегацию полиэлектролитных цепей в разбавленном растворе в термодинамически плохом растворителе.
2. Изучение адсорбции и десорбции полиэлектролитной цепи на противоположно заряженную поверхность в присутствии низкомолекулярной соли в растворе.
3. Изучение влияния распределения катионных и анионных групп в полиамфолитных микрогелях на структуру комплекса, формирующегося при взаимодействии с заряженными наночастицами, моделирующими белки в глобулярном состоянии, а также на способность высвобождения белков при

изменении рН среды, вызывающей изменение степени заряженности микрогеля.

### **Научная новизна**

Методами компьютерного моделирования были изучены системы полиэлектролитных цепей в плохом растворителе в режиме разбавленного раствора. Впервые была показана зависимость размера и формы образовавшихся в системе полимерных агрегатов от степени заряженности полиэлектролитных цепей и качества растворителя. Найдено соответствие с экспериментальными данными.

Впервые методами компьютерного моделирования было исследовано влияние подвижности зарядов на плоской поверхности, моделирующей поверхность липосом с подвижными в плоскости заряженными липидами, на адсорбцию противоположно заряженной линейной цепи с образованием комплекса и его структуру в зависимости от молекулярных параметров. Изучена десорбция (диссоциация) цепи при добавлении низкомолекулярной соли и проведено сравнение с диссоциацией интерполиэлектролитного комплекса на основе двух противоположно заряженных эквивалентных цепей. Было показано, что для диссоциации полиэлектролита с поверхности необходима большая концентрация соли, чем в случае интерполиэлектролитного комплекса, и предложено объяснение эффекта. Проведено сравнение с экспериментальными данными и получено количественное соответствие.

Впервые методами компьютерного моделирования изучено образование комплексов на основе полиамфолитных микрогелей и заряженных наночастиц, моделирующих белки в глобулярном состоянии. Изучено два типа распределения анионных и катионных групп – случайное и распределение типа ядро-оболочка. Рассматривались рН-чувствительные микрогели, у которых доли катионных и анионных групп менялись с изменением рН, а состояние микрогелей варьировалось от полностью анионного до полностью катионного. Захват поликатионов белка осуществлялся полностью анионным микрогелем, а высвобождение изучалось при «переключении» микрогеля в катионное состояние (при других значениях рН). Нами

впервые было показано, что распределение анионных и катионных групп существенно влияет на кинетику высвобождения. Очень быстрое (по сравнению с эквивалентным полиэлектролитным микрогелем) высвобождение «гостевых» белков наблюдается при случайном распределении групп за счет дополнительного отталкивания молекул белка от катионов микрогеля. Однако, если только оболочка является катионной, то было впервые показано, что одноименно заряженные молекулы белка могут быть блокированы внутри нейтрального ядра, и микрогель служит кулоновской ловушкой, удерживая молекулы белка в ядре в метастабильном состоянии.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Впервые выявлена роль электростатических взаимодействий на агрегацию линейных макромолекул в кластеры оптимального размера как сферической, так и несферической формы. Впервые изучено влияние низкомолекулярной соли на диссоциацию разнообразных комплексов на основе противоположно заряженных объектов (полимер-полимер, полимер-поверхность). Впервые объяснён механизм захвата и высвобождения гостевых заряженных макромолекул, моделирующих белок цитохром-с, полиамфолитными микрогелями с различным распределением катионных и анионных групп (случайное и распределение типа ядро-оболочка).

Полученные результаты позволили объяснить ряд экспериментальных результатов по модификации поверхностей макромолекулами хитозана, что перспективно для получения новых материалов и их использования в медицине. Результаты по диссоциации комплексов позволили объяснить экспериментальные результаты по адсорбции и десорбции заряженных линейных макромолекул на поверхность липосом с кардиолипидами, что поможет оптимизировать дальнейшие исследования по созданию нано-контейнеров для доставки лекарств. Эту же проблему можно решить при помощи использования полиамфолитных микрогелей. В частности, впервые удалось продемонстрировать, что высвобождение гостевых молекул цитохрома-с может быть вызвано адсорбцией микрогеля на твердой поверхности.

## Методология и методы исследования

Все молекулярные объекты в исследуемых системах моделировались при помощи метода молекулярной динамики с использованием открытого программного пакета LAMMPS. Анализ и обработка данных производились с использованием оригинальных алгоритмов, которые были написаны на языках программирования Java, Python, C++. Расчёты производились с использованием суперкомпьютеров «Ломоносов» и «Ломоносов-2» суперкомпьютерного комплекса МГУ имени М.В. Ломоносова.

### Основные положения, выносимые на защиту:

1. Конкуренция короткодействующего притяжения между мономерными звеньями и дальнедействующего кулоновского отталкивания заряженных групп цепей ведет к образованию агрегатов оптимального размера сферической и цилиндрической формы в растворах линейных цепей полиэлектролитов в термодинамически плохом растворителе.
2. Образование цилиндрических агрегатов полиэлектролитных цепей в разбавленном растворе зависит от степени заряженности цепей и качества растворителя. При ухудшении качества растворителя и увеличении степени заряженности цепей агрегационное число цилиндрических агрегатов уменьшается.
3. Поперечный размер цилиндрических агрегатов полиэлектролитных цепей не зависит от длины полимера, но становится тем меньше, чем больше доля заряженных групп в полимере.
4. Для десорбции полиэлектролитной цепи с противоположно заряженной поверхности необходима большая концентрация соли, чем в случае диссоциации полиэлектролитного комплекса. Причем диссоциация полиэлектролитного комплекса выражается более резкой зависимостью степени заряженности от концентрации низкомолекулярной соли в сравнении с десорбцией полиэлектролитной цепи с заряженной поверхностью.

5. Электростатическая сила притяжения между заряженной поверхностью и противоположно заряженной полиэлектролитной цепью не зависит от расстояния между ними и является постоянной. Для экранирования электростатического поля в такой системе требуется большая концентрация соли, чем для экранировки поля, создаваемым двумя линейными полиэлектролитными цепями.
6. Полиамфолитные микрогели эффективно захватывают заряженные гостевые молекулы белка цитохром-с при  $pH = 8$  за счет электростатического притяжения между противоположными зарядами микрогеля и белка.
7. Полиамфолитные микрогели со случайным распределением заряженных групп демонстрируют полное высвобождение заряженных молекул белка цитохрома-с при уменьшении  $pH$  раствора ( $pH = 3; 6$ ). Для микрогелей с распределением заряженных групп по типу ядро-оболочка, напротив, наблюдается частичное удержание в ядре молекул цитохрома-с одноименно заряженными группами оболочки микрогеля. Заряженные молекулы цитохрома-с удерживаются внутри микрогеля с нейтральным ядром и заряженной оболочкой ( $pH = 3$ ) за счет эффекта электростатической потенциальной ловушки, создаваемой одноименно заряженной с белками оболочкой микрогеля.

### **Публикации и апробация работы.**

Основные результаты диссертационной работы докладывались на следующих международных и всероссийских научных конференциях: Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов–2015» (г. Москва, 2015), международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов–2017» (г. Москва, 2017), 9-м Международном симпозиуме «Молекулярная подвижность и порядок в полимерных системах» (г. Санкт-Петербург, Петергоф, 2017), 2-м Международном семинаре «Биомакромолекулярные ионные системы» (г. Прага, Чехия, 2017), 25-м Всемирном форуме по перспективным материалам POLYCHAR 2017 (г. Куала Лумпур,

Малайзия, 2017), 255-м Симпозиуме Американского химического общества (Новый Орлеан, США, 2018), Международном конгрессе по фундаментальной и прикладной химии (Сием Рип, Камбоджа, 2018), всемирном полимерном конгрессе MACRO 2018 (Кэрнс, Австралия, 2018), 2-ой Летней школе «Функциональные микрогели и микрогелевые системы» (Моншау, Германия, 2018).

### **Личный вклад.**

Результаты, изложенные в диссертации, получены соискателем лично. Постановка целей и задач исследования, методов их решения и интерпретация результатов были выполнены совместно с научным руководителем при непосредственном участии соискателя.

### **Объем и структура диссертации.**

Диссертация включает введение, четыре главы, основные выводы, благодарности, список опубликованных работ и библиографический список использованной литературы, состоящий из 112 наименований.

Работа изложена на 112 страницах, содержит 4 таблицы и 36 рисунков.

### **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Во **Введении** обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы цели и задачи, аргументирована научная новизна исследований, показана теоретическая и практическая значимость полученных результатов.

**Первая глава** посвящена литературному обзору научных работ по теме исследований. Она состоит из трех разделов. *Первый раздел* включает в себя описание полиэлектролитных цепей, их значимость и применимость. Представлено теоретическое описание разнообразных структур одиночных полиэлектролитных цепей в растворах (предел бесконечно разбавленного раствора), таких как вытянутые (червеобразные) глобулы и ожерелье-подобные (бусинки на нити). Также описаны эксперименты и компьютерное моделирование, которые хорошо согласуются как с теорией, так и между собой. *Второй раздел* предлагает ознакомиться с проблемами и задачами по адсорбции заряженных полимерных цепей на противоположно

заряженные поверхности. Изложены теоретические и экспериментальные результаты, посвященные комплексообразованию противоположно заряженных полиэлектролитных цепей. Также представлены результаты по адсорбции полиэлектролитов на противоположно заряженные поверхности. *Третий раздел* посвящен полиамфолитным микрогелям. Описаны текущие проблемы, с которыми сталкиваются исследователи. Приведено теоретическое описание поведения заряженных полимерных сеток в растворах. В данном разделе предлагается углубиться в рассмотрение заряженных микрогелей в качестве носителей для адресной доставки лекарств.

**Вторая глава** посвящена моделированию системы линейных полиэлектролитов в условиях термодинамически плохого растворителя. Глава состоит из четырех разделов. *В первом разделе* представлено описание метода компьютерного моделирования и используемой модели разбавленного раствора полиэлектролитных цепей. Каждая полимерная цепь состояла из  $N$  звеньев. Степень заряженности задавалась параметром  $f = N_{charged}/N$  – отношением числа заряженных звеньев к полному числу звеньев в цепи. Рассматривался случай одновалентных групп на каждое заряженное звено,  $q = +1$ . Электронейтральность системы достигалась за счет добавления противоионов с зарядом  $q = -1$  в количестве, равном общему числу зарядов полиэлектролита. Все структурные единицы линейных полимерных цепей (заряженные и нейтральные звенья) и противоионы моделировались как частицы одинакового радиуса  $\sigma = 1$  и массы  $m = 1$ . Объемные взаимодействия между всеми частицами задаются при помощи потенциала Леннарда-Джонса, а сила взаимодействия частиц регулируется параметром потенциала  $\epsilon$ , который определяется в единицах  $k_b T$ . Ковалентные связи между частицами полимера задавались при помощи потенциала FENE (Finite Extensible Nonlinear Elastic – конечно растяжимая нелинейная пружинка). Электростатические взаимодействия рассчитывались при помощи метода PPPM (particle–particle/particle–mesh). Обоснована и представлена стартовая конформация системы в виде распределенных полиэлектролитов в массиве вытянутых листов.

Моделирование проводилось с использованием программного обеспечения с открытым исходным кодом LAMMPS. *Второй раздел* главы представляет собой калибровочное моделирование образования полиэлектролитных кластеров конечного размера. Была выбрана одиночная полиэлектролитная цепь, которая состоит из  $N = 300$  частиц. Степень заряженности цепи постоянна  $f = 30\%$ . Значение длины Бьеррума  $l_B$  варьировалось от  $l_B = 1\sigma$  до  $l_B = 15\sigma$ . Величина  $\epsilon$  варьировалась между значениями  $\epsilon = 0.1k_B T$  и  $\epsilon = 1.5k_B T$ .

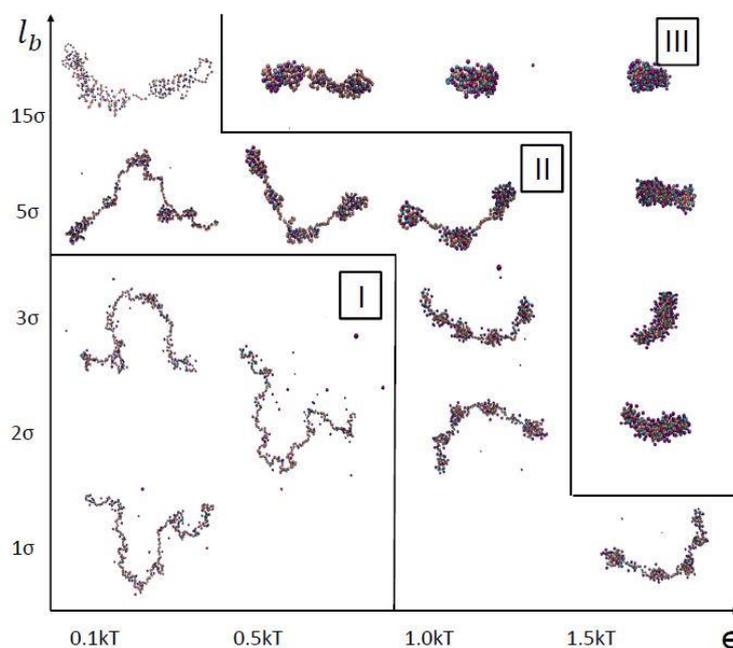


Рисунок 1. – Конформации одиночной полиэлектролитной цепи в зависимости от качества растворителя  $\epsilon$  и длины Бьеррума  $l_b$ .

В результате были выделены три области (Рисунок 1). Область I – вытянутые полиэлектролитные цепи. Область II – ожерельеподобная конформация. Область III – конформация вытянутой глобулы. Данные результаты многократно подтверждаются как теорией, так и при помощи компьютерного моделирования, что говорит нам о корректности выбранных параметров системы для дальнейшего исследования. В *третьем разделе* изучено образование кластеров полиэлектролитных цепей конечного размера в плохом растворителе. Каждая полиэлектролитная цепь состояла из  $N = 30$  частиц. Количество цепей в ячейке было

постоянным и равнялось 50 (фиксированная концентрация раствора). Степень заряженности цепи  $f$  варьируется от 10% до 80%. Заряды цепи распределены случайным образом. Значению длины Бьеррума  $l_B = 7\sigma$  соответствуют водные растворы. Величина  $\epsilon$  варьировалась между значениями  $\epsilon = 1k_B T$  и  $\epsilon = 3k_B T$ , что соответствует режиму плохого растворителя, т.е. реализует внутри- и межмолекулярное притяжение мономерных звеньев (частиц).

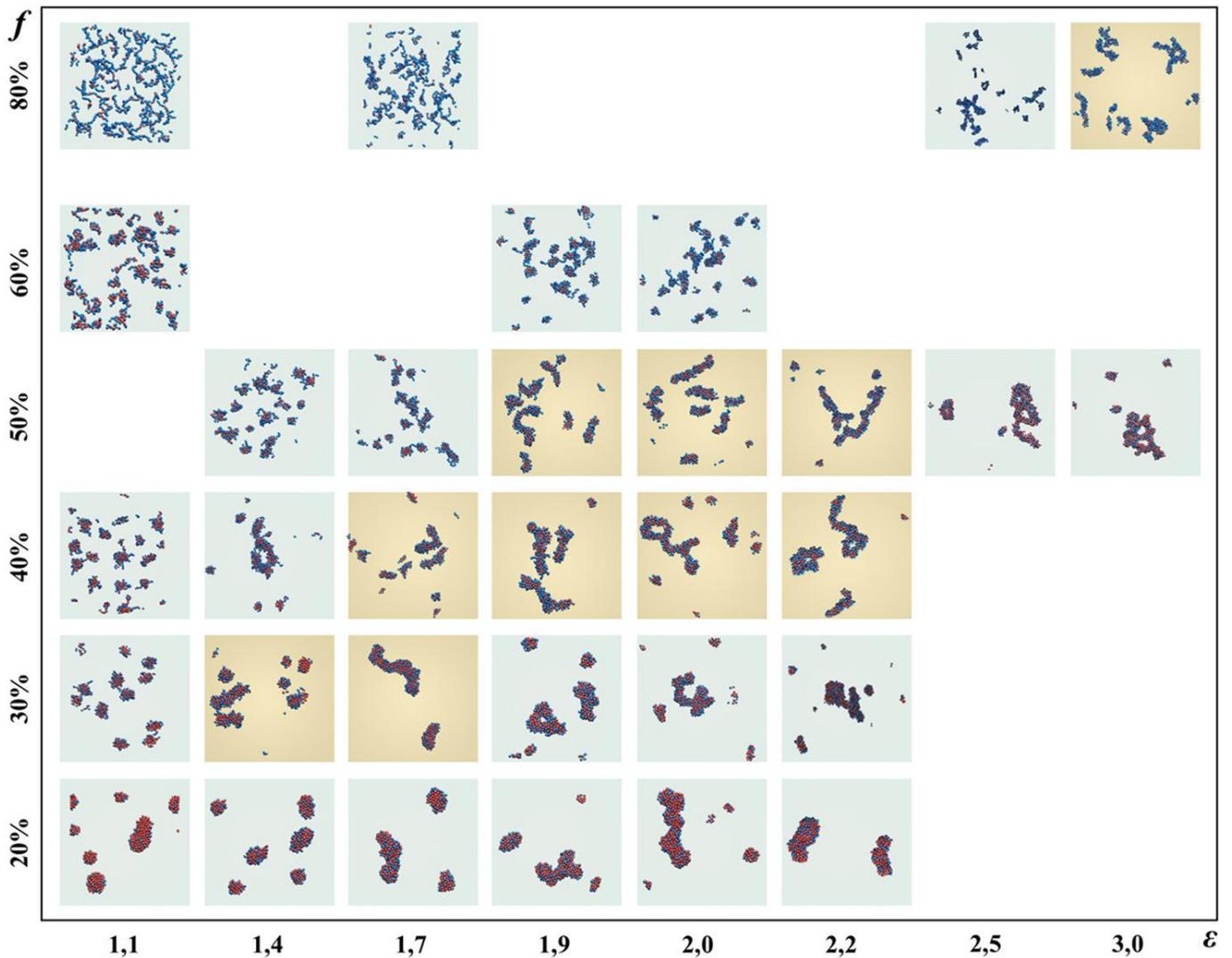


Рисунок 2 – Результаты моделирования полиэлектролитных цепей в плохом растворителе для различных значений степени заряженности цепей  $f$  и параметра взаимодействия между мономерными звеньями  $\epsilon$ . Выделенные желтым области показывают системы, где большинство кластеров имеют цилиндрическую форму.

Полученные результаты представлены на рисунке 2. Рассмотрим область, где  $\epsilon = 1.1k_B T$ , а  $f$  принимает значения от 20% до 80%. Здесь можно наблюдать как

стабильные сферические агрегаты ( $\epsilon = 1.1$ ,  $f = 20\% - 40\%$ ), так и неагрегированные (одиночные) цепи ( $\epsilon = 1.1$ ,  $f = 80\%$ ). Другой особенностью является наличие области, в которой присутствуют цилиндрические кластеры. При увеличении взаимодействия между звеньями цепи (увеличении  $\epsilon$ ) сферические кластеры агрегируют друг с другом, образуя при этом цилиндрические структуры. Увеличение степени заряженности ведет к уменьшению диаметра  $D_{cyl}$  цилиндрических кластеров, например, в системе  $\epsilon = 2$ ,  $f = 40\%$  —  $D_{cyl} = 3.8\sigma$ , в то время как при  $\epsilon = 2$ ,  $f = 50\%$  —  $D_{cyl} = 2.2\sigma$ . Также с увеличением  $\epsilon$  растет и средняя длина цилиндрических кластеров ( $f = 50\%$  Рисунок 2). Проводится сравнение полученных результатов с экспериментальной работой по адсорбции биополиэлектролита хитозана на поверхность бычьего перикарда для предотвращения последующей кальцификации искусственного сердечного клапана в организме человека на его основе. В результате экспериментов утверждается, что при различных молекулярных массах и степенях деацетилирования образцов хитозана длина  $l$ (нм) и высота  $h$ (нм) полученных стержнеобразных агрегатов, адсорбированных на поверхность в растворе карбоксильной кислоты, не зависит от молекулярной массы образца. Эти выводы подтверждаются нашими результатами компьютерного моделирования. В том числе приводится подтверждение данного вывода теоретически при помощи минимизации свободной энергии полиэлектролитного агрегата.

**Третья глава** посвящена адсорбции полиэлектролитной цепи на противоположно заряженной поверхности и ее десорбция в присутствии соли. **В первом разделе** представлено описание метода компьютерного моделирования и используемой модели. Для исследования формирования полиэлектролитного комплекса были рассмотрены как анионные, так и катионные линейные цепи одинаковой длины  $N = 100$  частиц. Доля заряженных групп  $f = N_{charged}/N$  в них менялась в диапазоне от 5% до 20%. Заряд звеньев  $q = +1$ . В качестве модели для задачи по адсорбции полиэлектролита на противоположно заряженную поверхность использовалась поверхность, которая представляет собой плоский двойной слой жестко фиксированных частиц одинакового радиуса. Заряженные группы на

поверхности фиксированы вдоль оси  $z$ , однако могут свободно перемещаться вдоль плоскости  $xу$ . Доля заряженных групп поверхности задается параметром  $\nu$ . Электронейтральность системы достигалась за счет добавления противоионов с зарядом  $q = -1$  в количестве, равном общему числу зарядов полиэлектролитов.

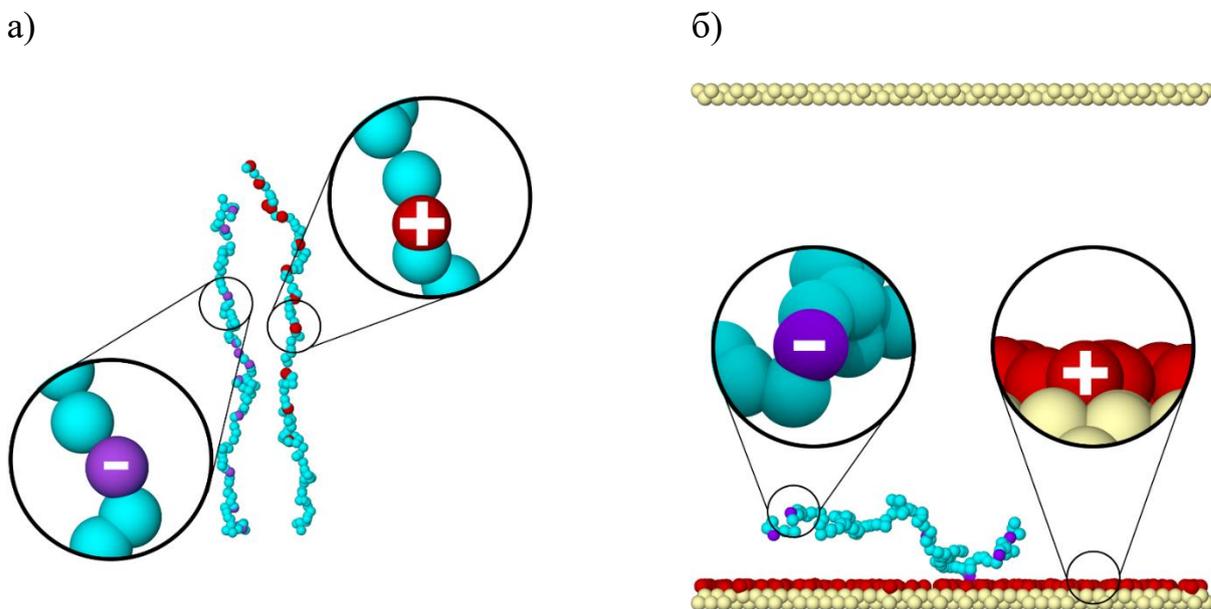


Рисунок 3 – а) стартовая конформация для исследования образования полиэлектролитного комплекса; б) стартовая конформация для моделирования адсорбции полиэлектролитной цепи на противоположно заряженную поверхность.

Для диссоциации или десорбции комплексов в раствор добавляется низкомолекулярная соль с концентрацией  $c_{salt}$ . Все структурные единицы линейных полимерных цепей (заряженные и нейтральные звенья), противоионы и ионы соли моделировались как частицы с одинаковым радиусом  $\sigma = 1$  и массой  $m = 1$ . Объемные взаимодействия между всеми частицами задаются при помощи потенциала Леннарда-Джонса, а сила взаимодействия частиц регулируется параметром потенциала  $\epsilon$ , который выражается в единицах  $k_b T$ . Ковалентные связи между частицами полимера задавались при помощи потенциала FENE (Finite Extensible Nonlinear Elastic–конечно растяжимая нелинейная пружинка). Электростатические взаимодействия рассчитывались при помощи метода PPPM (particle–particle/particle–mesh). Обоснована и представлена стартовая конформация

системы в виде распределенных полиэлектролитов в массиве вытянутых листов. Моделирование проводилось с использованием программного обеспечения с открытым исходным кодом LAMMPS. *Второй раздел* настоящей главы начинается с обсуждения результатов комплексообразования и диссоциации полиэлектролитных комплексов в зависимости от концентрации соли в растворе. Для определения критической концентрации соли, при которой наблюдается диссоциация, предлагается анализировать расстояние между центрами масс цепей  $\Delta R$  в зависимости от времени  $t$ .

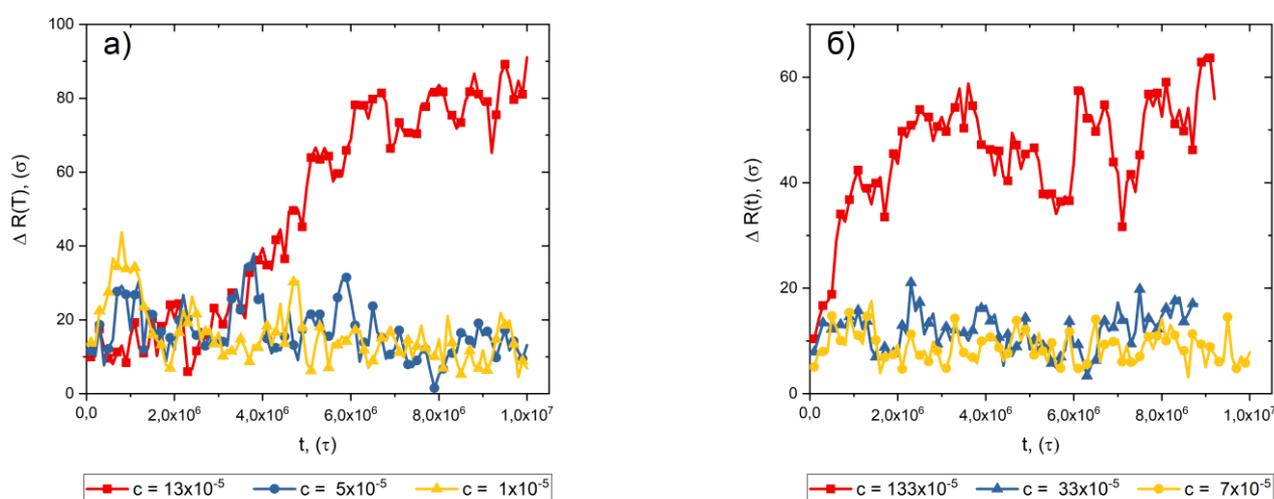


Рисунок 4 – Зависимость расстояния между центрами масс двух цепей  $\Delta R(t)$  от времени  $t$  при различных концентрациях соли. Доля заряженных групп на цепях (а)  $f = 5\%$  и (б)  $f = 10\%$ .

Таким образом мы имеем количественную характеристику, которая указывает нам на степень связанности полиэлектролитных цепей. Если среднее значение этого параметра имеет постоянное значение, то можно говорить о связанном (конденсированном) состоянии. Если же  $\Delta R$  увеличивается со временем при добавлении низкомолекулярной соли, то наблюдается диссоциация комплекса. Физическая причина диссоциации заключается в экранировке кулоновского притяжения между зарядами звеньев цепей ионами низкомолекулярной соли (так как увеличение концентрации соли ведет к уменьшению радиуса Дебая). Наряду с энтропией трансляционного движения цепей, отталкивание между цепями за счет

объемных взаимодействий звеньев способствует диссоциации. Далее была рассмотрена диаграмма состояний полиэлектролитных комплексов (Рисунок 5). Повышение концентрации соли в растворе приводит к переходу от связанного состояния к диссоциированному. При этом, чем выше степень заряженности цепей  $f$ , тем больше концентрации соли  $c$  необходимо для диссоциации полиэлектролитного комплекса. Зависимость  $f(c)$  для точек перехода системы из связанного состояния к диссоциированному нелинейна. Данные результаты хорошо коррелируют с теоретическими и экспериментальными данными, и позволяют нам надеяться на хорошую предсказательную силу модели при изучении более сложных систем, а именно, комплексов линейного полиэлектролита с противоположно заряженной поверхностью.

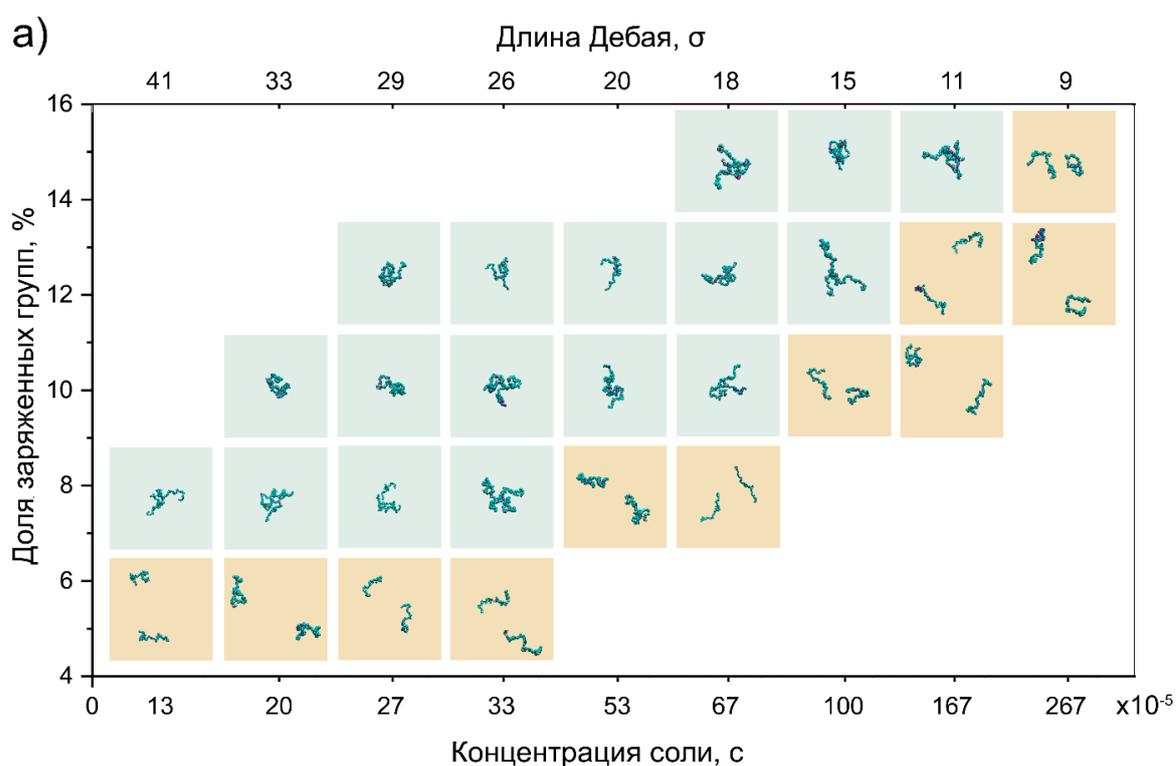


Рисунок 5 – Схематичная (а) диаграмма состояний двух противоположно заряженных цепей в координатах степени заряженности цепей  $f$  и концентрации ионов соли  $c$ . Голубым цветом выделена область, в которой наблюдается комплексообразование, бежевым показана область, где происходит диссоциация полиэлектролитного комплекса.

Электростатическая адсорбция заряженных полимерных цепей на противоположно заряженные поверхности проводилась для цепи со степенью заряженности  $f$  в диапазоне от 5% до 20%. Количественной мерой десорбции цепи с поверхности при добавлении в раствор ионов соли служила функция изменения расстояния от центра масс цепи до поверхности вдоль нормали  $Z(t)$  от времени  $t$  (аналогично  $\Delta R(t)$  в случае образования полиэлектролитного комплекса на Рисунке 4). Если среднее значение этой функции постоянно, то цепь рассматривается как адсорбированная на поверхности. Увеличение среднего значения  $Z(t)$  со временем означает десорбцию цепи.

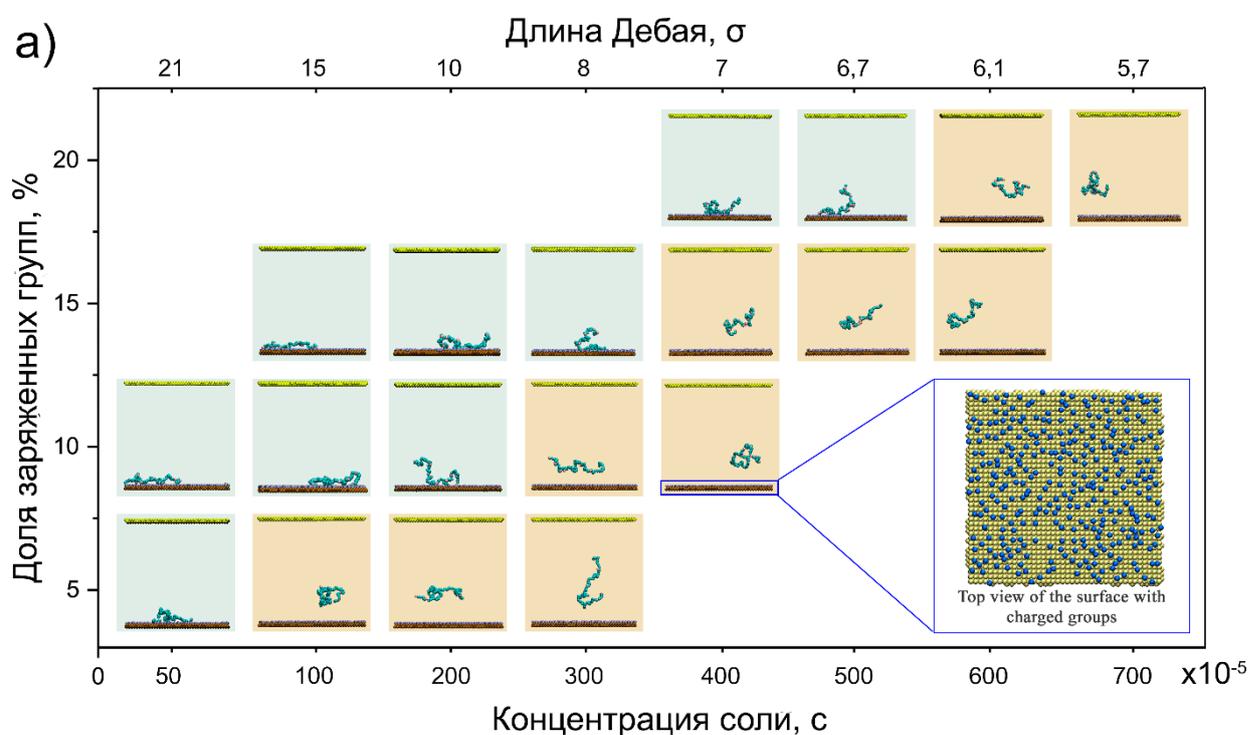


Рисунок 6 – Схематичная (а) диаграмма состояний заряженной полимерной цепи вблизи противоположно заряженной поверхности. Доля заряженных групп цепи  $f$ , концентрация соли  $c$ . Голубым цветом выделена область, в которой наблюдается адсорбция цепи на поверхность, бежевым показана область, где происходит десорбция цепи. Увеличенное изображение поверхности (а) показывает подвижные заряженные группы на поверхности (изображены синим цветом). Доля заряженных групп на поверхности  $\nu=5\%$ .

Для десорбции цепи с поверхности требуется значительно больше концентрации соли в растворе по сравнению с диссоциацией интерполиэлектродного комплекса при одинаковой степени заряженности цепей (Рисунок 5 и Рисунок 6). Зависимости доли заряженных групп от концентрации соли, при которой происходит диссоциация (десорбция), представлены на рисунке 7. Увеличение абсолютного значения концентрации соли для десорбции цепи с поверхности связано с изменением симметрии электрического поля поверхностных зарядов в сравнении с зарядами интерполиэлектродного комплекса.

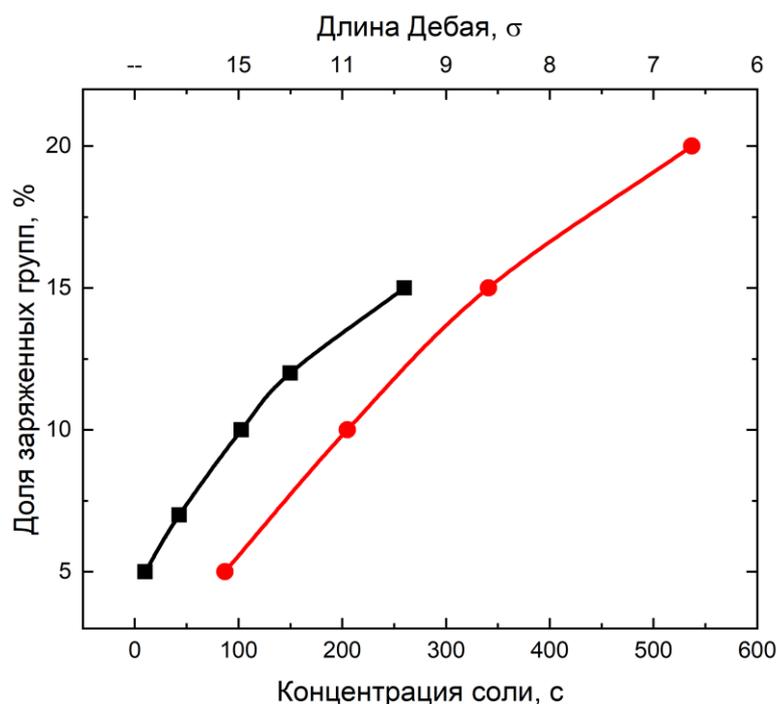


Рисунок 7 – Граница перехода между связанным состоянием и диссоциацией для двух противоположно заряженных цепей (черная кривая с квадратными маркерами) и заряженной цепи вблизи противоположно заряженной поверхностью (красная кривая с круглыми маркерами) для различных степеней заряженности цепей  $f$  и концентрации соли  $c$ .

Результаты компьютерного моделирования качественно коррелируют с экспериментальными данными, полученными в группе проф. А. А. Ярославова [3].

Заключительная **четвертая глава** диссертационной работы посвящена исследованию полиамфолитных микрогелей и их взаимодействию с заряженными молекулами белков. Глава состоит из четырех разделов. **В первом разделе**

описываются *метод* компьютерного моделирования и используемые модели микрогелей и молекул белка цитохром-с. Объемные взаимодействия между частицами задаются при помощи потенциала Леннарда-Джонса, а сила взаимодействия частиц регулируется параметром потенциала  $\epsilon$ , который измеряется в единицах  $k_b T$ . Радиус мономерной частицы  $\sigma = 1$ , а масса  $m = 1$ . Ковалентные связи между частицами полимера задавались при помощи потенциала FENE (Finite Extensible Nonlinear Elastic—конечно растяжимая нелинейная пружинка). Электростатические взаимодействия рассчитывались при помощи метода PPPM (particle–particle/particle–mesh). Модель сферических микрогелей основана на идеальной алмазоподобной решетке. Концентрические сферы разделяют области ядра и оболочки. Радиусы сфер определяются массовым соотношением частиц в ядре (V) и оболочке (N). В результате мы имеем серию микрогелей:  $V = (3500:0)$  - однородный микрогель, состоящий из 3500 частиц,  $V^-N^+ = (3500:3500)$  - симметричный микрогель типа ядро оболочка,  $V^-3N^+ = (3500:10500)$  и  $V^-7N^+ = (3500:24500)$  ассиметричные микрогели с массой оболочки большей массы ядра в три и семь раз соответственно. Так как микрогели полиамфолитные, то при  $pH = 3$  «включаются» только катионные (имеющие положительный заряд) группы, а анионные (имеющие отрицательный заряд) при  $pH = 8$ . В промежуточных состояниях, между  $pH = 3$  и  $pH = 8$ , в микрогеле присутствуют как положительно, так и отрицательно заряженные группы. Микрогель со случайным распределением заряженных групп обозначается как  $V^\pm$ .

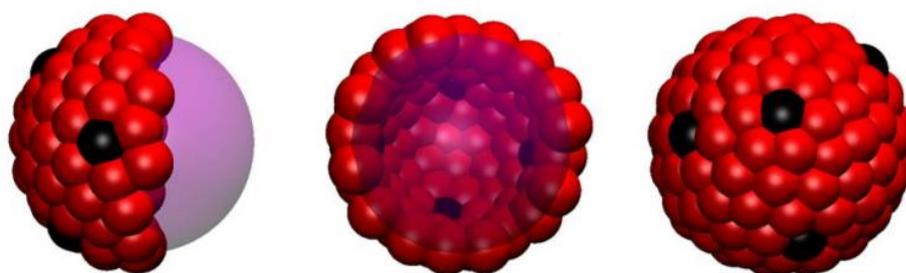


Рисунок 8 – Разработанная модель белка цитохрома-с в глобулярном состоянии. Черные частицы соответствуют заряженным группам на поверхности белка. На рисунке представлены снимки как модели белка целиком, так и изображения внутренней части объекта.

Белок цитохром-с имеет глобулярную конформацию. Для моделирования такого белка была взята простая модель сферической частицы – 122 частицы формируют оболочку белка радиуса  $2.5\sigma$ , из которых 8 частиц заряжены, т.е. заряд белка  $+8q$  (Рисунок 8). В исследовании мы ограничились моделированием системы в условиях термодинамически хорошего растворителя, поэтому параметры взаимодействия частиц микрогеля равны  $\epsilon_V = \epsilon_N = \epsilon_{VN} = 0.01\epsilon$ . Основываясь на результатах эксперимента, мы считаем, что в случае отсутствия зарядов в системе между ядром микрогеля и частицами белка будет присутствовать небольшое отталкивание  $\epsilon_{V-cyt} = 0.1\epsilon$ . Полное число частиц белка в ячейке моделирования (линейный размер ячейки -  $150\sigma$ ) равно 150. **Во втором разделе** рассматриваются основные свойства полиамфолитных микрогелей. Полиамфолитный микрогель находится в набухшем состоянии как при больших значениях рН, так и при маленьких, так как в обоих случаях в микрогеле «активируются» заряженные группы одного знака. Набухание микрогеля достигается как за счет электростатического отталкивания одноименно заряженных групп, так и за счет существенного осмотического давления противоионов, большинство из которых локализовано внутри микрогеля. При промежуточных значениях рН, когда «активируются» как катионные, так и анионные заряженные группы, размеры микрогеля уменьшаются. В случае симметричной доли катионных и анионных групп в микрогеле кривая набухания полиамфолитного микрогеля в зависимости от кислотности раствора будет иметь V-образную форму [7]. Если рассматривать аналогичное поведение микрогеля типа ядро-оболочка  $V^-N^+$ , то при изменении рН будет наблюдаться асимметрия кривой набухания относительно изоэлектрической точки. Асимметрия будет тем больше, чем больше отношения массы оболочки к массе ядра. **В третьем разделе** рассматриваются результаты по захвату белков полиамфолитными микрогелями.

	Количество цитохрома- <i>c</i> в ядре			Общее количество цитохрома- <i>c</i> в геле		
	$\epsilon_{N-cyt}$			$\epsilon_{N-cyt}$		
Микрогель	0.1	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5
$V^{\pm}$	-	-	-	43±1	-	-
$V^{-}N^{+}$	32±2	21±2	17±3	43±1	52±1	52±1
$V^{-}3N^{+}$	33±2	18±1	0	42±1	66±1	70±0
$V^{-}7N^{+}$	34±2	20±1	0	40±1	75±1	82±0

Таблица 1 – Количество молекул белка цитохрома-*c* захваченного микрогелями различной композиции в зависимости от параметра  $\epsilon_{N-cyt}$

Было показано, что нейтральные микрогели аналогичной массы не способны к захвату и абсорбции частиц белка. С течением времени все предварительно помещенные в микрогели частицы белка диффундировали в растворитель. Таким образом захват белков полиамфолитными микрогелями строго обуславливается наличием электростатического притяжения между противоположно заряженными группами ядра микрогеля и заряда на поверхности белка. Для полиамфолитных микрогелей различной композиции были получены значения количества захваченных молекул белков (Таблица 1). В случае микрогеля с однородным (случайным) распределением заряженных групп, белки распространяются равномерно по всему объему полимерной сетки, в то время как в микрогеле типа ядро-оболочка, белки при захвате устремляются к противоположно заряженному ядру, либо располагаются в непосредственной близости к нему (Рисунок 9).

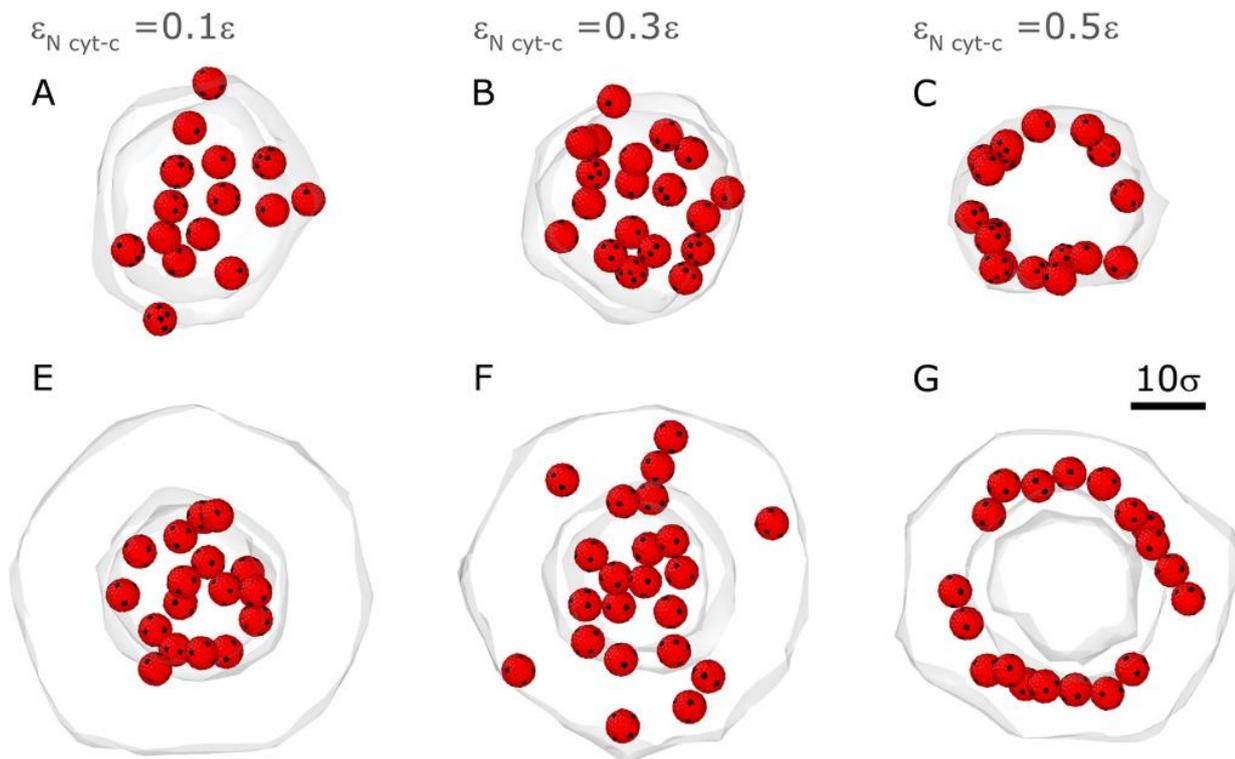


Рисунок 9 – Результаты компьютерного моделирования для микрогелей типа ядро-оболочка с композицией  $V^+N^-$  (A-C) и  $V^+7N^-$  (E-G) при  $pH = 8$ . В зависимости от коэффициента взаимодействия оболочки и ядра  $\epsilon_{N-cyt}$ : (A, E)  $\epsilon_{N-cyt} = 0.1\epsilon$  небольшое отталкивание белка от оболочки (B, F)  $\epsilon_{N-cyt} = 0.3\epsilon$  небольшое притяжение белка к оболочке (C, G)  $\epsilon_{N-cyt} = 0.5\epsilon$  сильное притяжение белка к оболочке. Границы ядра и оболочки микрогели выделены серым цветом.

Был сделан вывод, что увеличение размера оболочки микрогеля ведет к уменьшению числа связанных с ядром белков (Рисунок 9) из-за наличия стерического барьера, создаваемого оболочкой. **В четвертом разделе** изучается высвобождение захваченных микрогелями белков. При понижении  $pH$  раствора в системе «деактивируется» анионные группы микрогеля и «активируются» катионные группы. Так как заряженные группы белка цитохрома-с имеют положительный заряд, резко возрастает электростатическое отталкивание между зарядами оболочки микрогеля и белков. Было показано, что в случае микрогеля со статистическим распределением заряженных групп, переключение  $pH$  ведет к полному высвобождению захваченных белков в раствор. Доказано, что в полиамфолитном микрогеле с равномерным

(случайным) распределением заряженных групп высвобождение белка цитохрома-*c* происходит за счет изменения уровня кислотности среды (Рисунок 10).

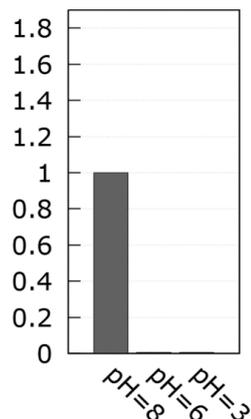


Рисунок 10 – Относительное количество молекул цитохрома-*c* в микрогелях с равномерным распределением заряженных групп  $V^\pm$  при различном значении рН.

Результаты моделирования микрогелей типа ядро-оболочка с композицией  $V^+N^-$ ,  $V^+3N^-$  и  $V^+7N^-$  представлены на рисунке 11. При изменении рН до 6, заряд ядра уменьшается, и появляются противоположно заряженные группы в оболочке. В результате, ослабления электростатического притяжения со стороны ядра во всех микрогелях высвободилось большая часть молекул белков.

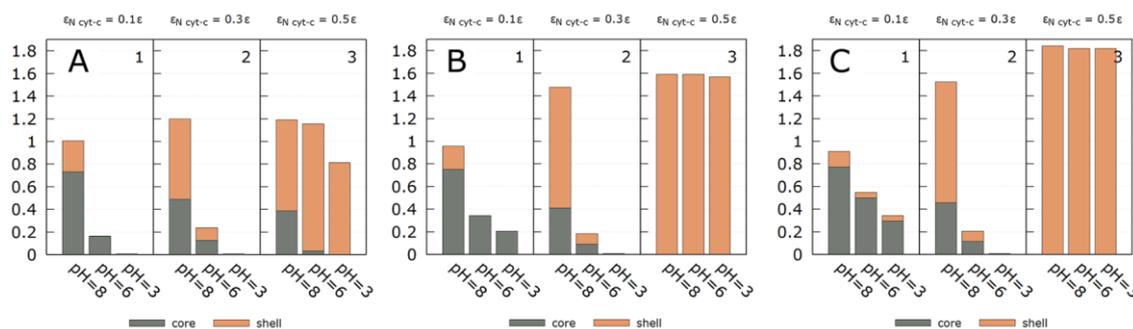


Рисунок 11 – Относительное количество молекул цитохрома-*c* в микрогелях типа ядро-оболочка с композицией  $V^+N^-$  (А),  $V^+3N^-$  (В),  $V^+7N^-$  (С) при различном значении рН. Номер 1, 2 и 3 соответствуют разным коэффициентам взаимодействия оболочки и ядра  $\epsilon_{N-cyt}$ : (1)  $\epsilon_{N-cyt} = 0.1\epsilon$  небольшое отталкивание белка от оболочки, (2)  $\epsilon_{N-cyt} = 0.3\epsilon$  небольшое притяжение белка к оболочке, (3)  $\epsilon_{N-cyt} = 0.5\epsilon$  сильное притяжение белка к оболочке.

При распределении ионизирующихся групп в микрогеле по типу ядро-оболочка, при  $pH = 3$ , ядро микрогеля полностью нейтрализуется, в то время как оболочка будет заряжена (заряды оболочки и захваченных частиц имеют один знак). Показано, что для микрогелей  $V^+3N^-$  и  $V^+7N^-$  21% и 32% белков соответственно остались внутри ядра. Такой эффект связан с образованием «запирающего» электростатического поля: энергии теплового движения молекул белка внутри ядра недостаточно для преодоления потенциального барьера, формируемого одноименно заряженной оболочкой.

## ВЫВОДЫ

1. При исследовании влияния термодинамического качества растворителя и степени заряженности линейных полиэлектролитных цепей в растворе была построена диаграмма состояний системы. Было показано, что в отличие от нейтральных макромолекул, конкуренция короткодействующего притяжения между нейтральными группами и дальнедействующего отталкивания между заряженными группами ответственна за формирование агрегатов конечного размера сферической и цилиндрической (червеобразной) формы. Найдены условия (доля заряженных групп и качество растворителя) термодинамической стабильности агрегатов.
2. Проведен сравнительный анализ диссоциации интерполиэлектролитного комплекса на основе двух противоположно заряженных цепей и десорбции полимерной цепи с противоположно заряженной поверхности при добавлении низкомолекулярной соли. Показано, что интерполиэлектролитный комплекс диссоциирует при меньшей концентрации соли, чем десорбирует эквивалентная полимерная цепь с плоской поверхности. Предложено объяснение наблюдаемого эффекта и проведено сравнение с экспериментальными данными.
3. Изучалось взаимодействие pH-чувствительных полиамфолитных микрогелей с белком цитохром-с. Моделировался захват, удержание и высвобождение молекул белка цитохрома-с полиамфолитными микрогелями за счет

электростатического взаимодействия. Захват осуществлялся в условиях (уровень pH), когда заряженные группы микрогеля имели противоположный белку заряд. Высвобождение изучалось при условиях одноименного заряда. Рассматривалось два типа распределения ионизирующихся групп в микрогеле – случайное и типа «ядро-оболочка». В случае случайного распределения молекулы белка равномерно заполняли объем микрогеля и их высвобождение происходило быстрее по отношению к эквивалентному полиэлектролитному микрогелю за счет электростатического отталкивания между одноименными зарядами. Напротив, в случае распределения типа «ядро-оболочка», молекулы белка локализовались при захвате в противоположно заряженном ядре, а «включение» одноименного заряда в оболочке и «выключение» заряда ядра не способствовало выходу белка из ядра. Определенная его доля была блокирована в микрогеле за счет формирования потенциального барьера (эффект кулоновской ловушки). Полученные результаты компьютерного моделирования хорошо согласуются с экспериментальными данными.

#### **Основные результаты диссертации изложены в следующих публикациях:**

Статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus и RSCI:

1. Pigaleva M.A., **Portnov I.V.**, Rudov A.A., Blagodatskikh I.V., Grigoriev T.E., Gallyamov M.O., Potemkin I.I. Stabilization of Chitosan Aggregates at the Nanoscale in Solutions in Carbonic Acid // *Macromolecules*. 2014. Vol. 47, № 16. P. 5749–5758. Импакт-фактор 5.918 (Web of Science, RSCI). Вклад 0,6.
2. **Portnov I. V.**, Möller M., Richtering W., Potemkin I. I. Microgel in a Pore: Intraparticle Segregation or Snail-like Behavior Caused by Collapse and Swelling // *Macromolecules*. 2018. Vol. 51, № 20. P. 8147–8155. Импакт-фактор 5.918 (Web of Science, RSCI). Вклад 0,7.
3. Xu W., Rudov A.A., Schroeder R., **Portnov I.V.**, Richtering W., Potemkin I.I. Pich A. Distribution of ionizable groups in polyampholyte microgels controls interactions with captured proteins: from blockade and “levitation” to accelerated release:

research-article // *Biomacromolecules*. 2019. Vol. 20. P. 1578–1591. Импакт-фактор 6.092 (Web of Science, RSCI). Вклад 0,4.

4. **Portnov I.V.**, Potemkin I.I. Interpolyelectrolyte Complex Dissociation vs Polyelectrolyte Desorption from Oppositely Charged Surface upon Salt Addition // *J. Phys. Chem. B*. 2020. Vol. 124, № 5. Импакт-фактор 2.991 (Web of Science, RSCI). Вклад 0,6.

### Список цитируемой литературы

1. Dobrynin A. V. Polyelectrolytes: On the doorsteps of the second century // *Polymer (Guildf)*. Elsevier Ltd, 2020. Vol. 202. P. 122714.
2. Thünemann A.F. et al. Polyelectrolyte Complexes. 2004. Vol. 166. P. 113–171.
3. Yaroslavov A.A., Sybachin A. V., Efimova A.A. Stabilization of electrostatic polymer-colloid complexes // *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2018. Vol. 558, № June. P. 1–7.
4. Müller M. Polyelectrolyte Complexes in the Dispersed and Solid State I / ed. Müller M. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014. Vol. 255. 229 p.
5. Morin-Crini N. et al. Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry // *Environ. Chem. Lett.* 2019. Vol. 17, № 4. P. 1667–1692.
6. Jeon J., Dobrynin A. V. Molecular Dynamics Simulations of Polyelectrolyte–Polyampholyte Complexes. Effect of Solvent Quality and Salt Concentration // *J. Phys. Chem. B*. 2006. Vol. 110, № 48. P. 24652–24665.
7. Ogawa K., Nakayama A., Kokufuta E. Preparation and Characterization of Thermosensitive Polyampholyte Nanogels // *Langmuir*. 2003. Vol. 19, № 8. P. 3178–3184.