

**ВЛИЯНИЕ L-ЛИЗИНА НА ТЕМПЕРАТУРУ ФАЗОВЫХ ПЕРЕХОДОВ
В ТРЕХКОМПОНЕНТНОЙ СИСТЕМЕ
ВОДА/БИС-2-ЭТИЛГЕКСИЛСУЛЬФОСУКЦИНАТ
НАТРИЯ/ИЗОПРОПИЛМИРИСТАТ**

© 2019 г. Н. В. Саутина^{а,*}, Ю. Г. Галяметдинов^а

^аКазанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия

*e-mail: n.sautina@mail.ru

Поступила в редакцию 19.07.2018 г.

После доработки 19.07.2018 г.

Принята к публикации 11.09.2018 г.

Получены новые потенциальные транспортные системы: лиотропные жидкие кристаллы (ЛЖК) вода/бис-2 этилгексилсульфосукцинат натрия (АОТ)/изопропилмиристал. Методами дифференциально-сканирующей калориметрии (ДСК), поляризационно-оптической микроскопии (ПОМ) и измерения краевого угла смачивания определены температурные границы фазовых переходов при различном содержании воды, а также в присутствии молекулы-гостя аминокислоты L-лизина и типы образуемых мезофаз. Показано, что при уменьшении содержания H₂O и введение L-лизина термостабильность системы и температура фазового перехода возрастают, потеря массы при нагревании уменьшается. Полученные концентрационные зависимости термодинамических свойств позволяют управлять температурами фазовых переходов, определяющими процессы контролируемого высвобождения биоактивных молекул из изученной ЛЖК-системы.

Ключевые слова: жидкие кристаллы, L-лизин, фазовые переходы, контролируемое высвобождение

DOI: 10.1134/S004445371905025X

Использование контролируемых систем доставки лекарственных и биологически активных веществ (БАВ) в последнее время является актуальным вопросом в сфере медицины, косметологии и фармакологии [1, 2]. В этом аспекте выгодное место занимают самоорганизующиеся структуры, такие как микроэмульсии, органогели, липосомы, лиотропные жидкие кристаллы, которые могут использоваться для преодоления многих ограничений, касающихся обычных лекарственных и физиологически активных препаратов [3–5]. Особый интерес вызывают лиотропные жидкие кристаллы (ЛЖК) с обратной кубической или гексагональной фазой, которые позволяют создать более высокую концентрацию препарата на определенном участке по сравнению с таковой в остальной части тела, и способны к высвобождению широкого диапазона биоактивных веществ, в том числе белков, пептидов и нуклеиновых кислот [6, 7].

Наиболее удобными среди ЛЖК систем в качестве наноразмерных носителей для иммобилизации БАВ являются системы ПАВ/вода/масло. Одна из причин этого – образование мультиламеллярной липидной структуры, имеющей

большое сродство к строению биомембран, что способствует проницаемости активных компонентов [8, 9]. Кроме того, они состоят из полярной (вода) и неполярной фаз (масло), что сказывается на замедленном высвобождении биоактивных молекул, подчиняющемся диффузии с контролируемой кинетикой. В настоящее время существует ряд работ, исследующих фазовое поведение таких систем [10, 11]. Авторами [10] исследовалась лиотропная жидкокристаллическая система Твин 80/лецитин/изопропилмиристал/вода для доставки аксорбилпальмитата, построена фазовая диаграмма, найдено оптимальное соотношение ПАВ/со-ПАВ. В работе [11] изучено влияние жирных и эфирных растительных масел на вязкость жидкокристаллической композиции лецитин/вазелиновое масло/вода. Показано, что изменяя состав или концентрацию неполярной фазы, можно получить композицию для трансдермальной доставки биологически активных веществ с нужной величиной вязкости.

Параметром состояния жидких кристаллов является температура фазового перехода, при котором происходит разрушение кристаллической ре-

шетки ЛЖК и переход системы в изотропную жидкость. Следовательно, нахождение способов управления данным фазовым переходом является первостепенным условием, позволяющим регулировать высвобождение (релизинг) лекарственных и биологически-активных веществ. Однако механизмы фазовых переходов в мультикомпонентных лиотропных жидких кристаллах вода/ПАВ/масло по сравнению с термотропными изучены недостаточно [12].

Для характеристики жидких кристаллов в основном используются традиционные методы, такие как поляризационно-оптическая микроскопия, дифференциально-сканирующая калориметрия, рентгеновская дифракция порошка (методы SAXS и WAXS), спектроскопия ЯМР [13, 14]. Еще одним перспективным методом для исследования именно лиотропных ЖК является метод измерения краевого угла смачивания. Величина контактного угла определяет межмолекулярное взаимодействие частиц поверхности твердых тел с жидкостями. Ранее, в наших работах [15, 16] впервые предложено использовать этот метод, как дополнительный, для более информативного определения фазовых переходов в ЛЖК-системах, а также для идентификации ЖК-фаз.

Целью данной работы было установление концентрационных факторов определяющих температуру и типы фазовых переходов в сложных жидкокристаллических системах вода/бис-2 этилгексилсульфосукцинат натрия (АОТ)/изопротилмирилат на основе комплексного применения различных методов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В экспериментах использовали анионный ПАВ бис-2 этилгексилсульфосукцинат натрия (АОТ) (SigmaAldrich), изопротилмирилат (ИПМ), L-лизин гидрохлорид (AlfaAesar) и бидистиллированную воду, электропроводностью не более 0.056 мкСм/см.

Многокомпонентные системы вода/АОТ/ИПМ получали согласно методике [15]. Идентификация образующихся лиомезофаз проводилась с помощью метода поляризационной оптической микроскопии (ПОМ) на микроскопе Olympus BX51 (Olympus Optical Co., Япония) с видеокамерой и высокоточной терморегулирующей системой Linkam.

Краевой угол смачивания ЖК-системами определяли на приборе Easy Drop DSA 20E (Kruss, Германия) с системой автодозирования методом сидящей капли. В качестве подложки использовался политетрафторэтилен (ПТФЭ) в виде листов из фторпласта-4 марки П, являющегося эталоном низкоэнергетической поверхности (полярная составляющая свободной поверхностной энергии

$\gamma_s^p = 0.1$ мДж/м²) [17]. В работе использовали только свежеччищенные поверхности. Каплю системы наносили на поверхность ПТФЭ в термостатируемой ячейке при температуре 25°C, затем температуру увеличивали до 90°C. Точность определения угла смачивания $\pm 0.1^\circ$.

Для определения термодинамических характеристик фазовых переходов использовался метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Измерения проводились в динамическом режиме при программируемом изменении температуры оболочки калориметре DSC1 STAR System фирмы Mettler Toledo (США).

Термогравиметрический анализ, совмещенный с дифференциально-термическим анализом осуществлялся на синхронном термогравиметрическом/дифференциально-термическом анализаторе STA 6000 марки Perkin Elmer.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Несмотря на широкое применение АОТ для синтеза различных самоорганизующихся систем [18] в литературе отсутствуют данные о фазовой диаграмме системы АОТ/вода/ИПМ, хотя в зависимости от растворителя или со-ПАВ могут образовываться весьма различные типы мезофаз. Бинарная смесь АОТ/глицерин образует ламеллярную ЖК-фазу [19], а при добавлении дидодецилдиметиламмоний бромид в качестве со-ПАВ образуется гексагональная мезофаза [20]. В исследованиях [21] показано, что АОТ сам по себе имеет жидкокристаллическую природу. В связи с этим, нами проведено исследование фазовой диаграммы АОТ/Н₂О/ИПМ. Область жидких кристаллов наблюдается при концентрациях АОТ выше 70 мас. % и содержании воды ниже 40%. Подобный тип мезофазы и область ее нахождения на диаграмме согласуются с данными [22] для таких трехкомпонентных систем как Н₂О/АОТ/деканол и Н₂О/АОТ/каприловая кислота.

Для нахождения концентрационных зависимостей температур фазовых переходов были получены девять ЛЖК-систем (табл. 1) с варьируемым процентным содержанием воды и изопротилмирилата. Методом поляризационно-оптической микроскопии показано, что все исследуемые системы проявляют термотропный и лиотропный мезоморфизм и образуют гексагональную мезофазу (рис. 1).

Температурные пределы существования системы в зависимости от содержания воды представлены на рис. 2. Отображены область упорядоченного состояния, которая характеризуется гексагональной структурой (Hex); изотропная область (I) и область сосуществования изотропной жидкости и лиотропной мезофазы (Hex + I). Области формирования лиотропной ЖК-фазы

ограничены концентрационными пределами 0–20 мас. % воды. При увеличении концентрации H_2O и, соответственно, уменьшении концентрации ИПМ, наблюдается монотонное уменьшение температуры фазового перехода, что связано с большей температурой кипения ИПМ (167°C) по сравнению с водой.

В связи с применением ЖК-систем в процессах доставки лекарственных и биологически-активных веществ, представляло интерес исследовать влияние аминокислоты L-лизина на стабильность и температуру фазового перехода ЖК системы. В предыдущих работах для этих целей был использован метод краевого угла смачивания, как более информативный способ наблюдения за характером фазового перехода в лиотропных системах [15, 16].

Для исследования смачивания поверхности ПТФЭ использовалась ЛЖК система 5, как имеющая оптимальные температуры фазовых переходов, с добавлением аминокислоты и без нее. На полученных зависимостях краевого угла смачивания жидкокристаллических систем (рис. 3) от температуры наблюдается скачкообразное увеличение краевого угла смачивания в области фазового перехода, а затем, с дальнейшим повышением температуры, его резкое уменьшение. Ширина пика соответствует температурному интервалу фазового перехода лиотропный жидкий кристалл–изотропная жидкость.

Известно, что жидкие кристаллы относятся к системам, в которых тепловые флуктуации очень велики. При переходе жидкого кристалла из упорядоченного в неупорядоченное состояние, на ориентационное плавление требуются затраты очень небольшого количества тепла, то есть эти состояния энергетически близки друг другу. Таким образом, вследствие теплового движения,

Таблица 1. Состав ЖК-систем вода/АОТ/ИПМ

№ образца	Состав системы		
	АОТ, мас. %	Изопропилмиририлат, мас. %	H_2O , мас. %
1	80	0	20
2	80	2.5	17.5
3	80	5	15
4	80	7.5	12.5
5	80	10	10
6	80	12.5	7.5
7	80	15	5
8	80	17.5	2.5
9	80	20	0

могут возникать значительные изменения в упорядоченности системы [23]. Кроме того, при фазовом переходе наблюдается увеличение поверхностного натяжения системы [24] и вязкости [25, 26]. Смачивание является чувствительным методом исследования природы, структуры, микрорельефа и других свойств поверхности твердых тел. Во многих работах было показано, что при смачивании низкоэнергетических поверхностей чистыми жидкостями величина угла смачивания практически полностью определяется поверхностным натяжением на границе жидкость–газ [27–29]. Вероятно, все перечисленное выше и оказывает влияние на увеличение краевого угла смачивания при фазовом переходе.

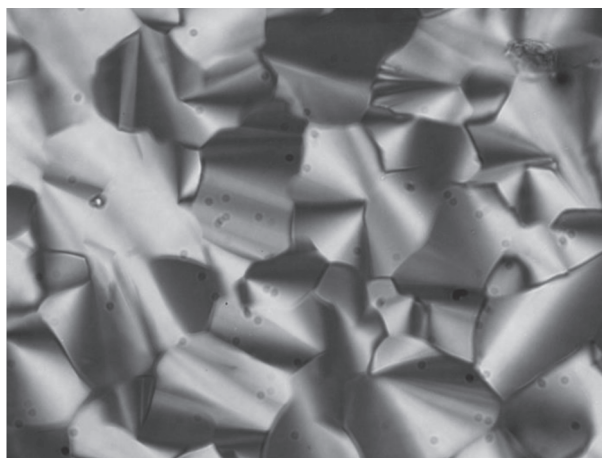


Рис. 1. Микрофотография текстуры системы 5, увеличение $\times 500$.

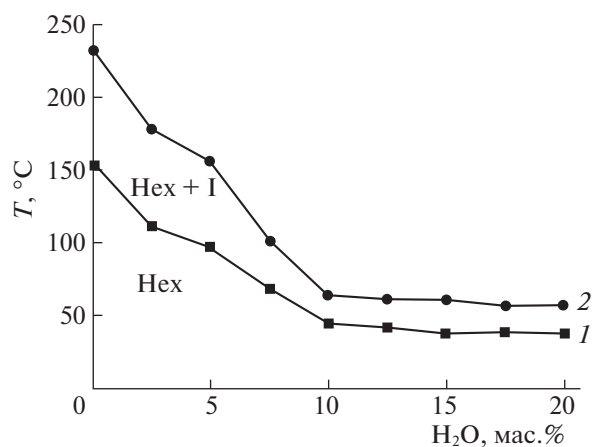


Рис. 2. Зависимости начала (1) и конца (2) фазового перехода системы АОТ/изопропилмиририлат/ H_2O от содержания H_2O .

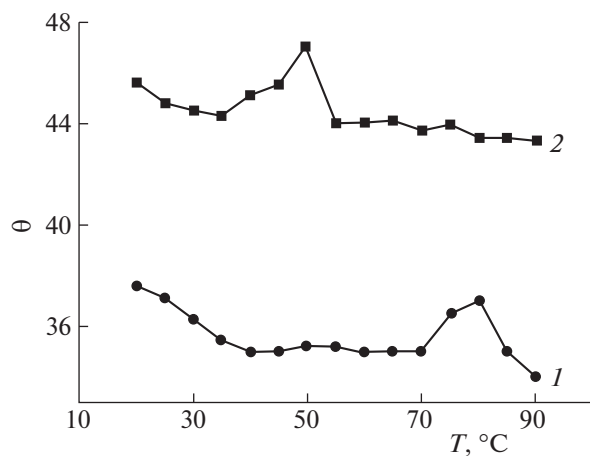


Рис. 3. Температурные зависимости краевого угла смачивания поверхности ПТФЭ ЛЖК системой 5: 1 – с инкорпорированной аминокислотой; 2 – без аминокислоты.

Для сравнения полученных результатов мы воспользовались классическим методом исследования мезогенных соединений – методом поляризационной оптической микроскопии (ПОМ). Результаты коррелируют между собой. Температура фазового перехода для системы 5 составляет 45–55°C, а для системы 5 с лизином – смещается в высокотемпературную область 70–85°C.

Возможно, введение аминокислоты в ЖК-систему приводит к изменению характера межмолекулярных взаимодействий и смещению равновесия между молекулами и ионами АОТ вследствие изменения степени гидратации. Несмотря на то, что аминокислоты являются слабыми ПАВ, они могут влиять на поверхностное натяжение системы и на размер ее агрегатов. Так в присутствии аспаргиновой кислоты поверхностное натяжение системы оксиэтилированный спирт – вода – поверхностное натяжение снижается [30]. Нами также наблюдалось небольшое уменьшение поверхностного натяжения при добавлении L-лизина в водный раствор АОТ. Это может быть объяснено с точки зрения повышения плотности упаковки молекул на границе раздела фаз, а также взаимодействием аминных и карбоксильных групп лизина с анионом АОТ. Вероятно, такое

Таблица 2. Термодинамические характеристики фазовых переходов

Система	$T_{\text{ф-п LLC-I}}$, °C	ΔH , кДж/моль	ΔS , Дж/(моль К)
АОТ/ИПМ/Н ₂ O	45.75	0.436	1.36
АОТ/ИПМ/Н ₂ O/L-лизин	75.43	1.312	3.77

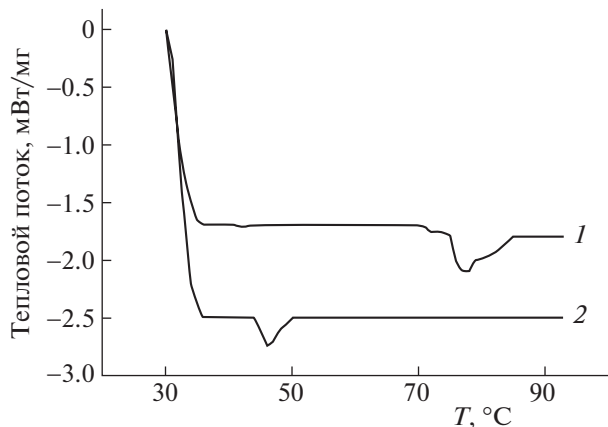


Рис. 4. Термограммы ДСК системы LC 5: 1 – с инкорпорированной аминокислотой, 2 – без аминокислоты.

взаимодействие приводит к большей устойчивости системы, что сказывается на смещении температуры фазового перехода в высокотемпературную область.

Для оценки термодинамических параметров фазовых переходов ЛЖК-систем проводились исследования методом ДСК. Измерения проводили в интервале температур от 30 до 95°C, со скоростью 10 К/мин. Следует отметить, что данные о термических свойствах лиотропных систем, найденные методом ДСК, в отличие от таковых для термотропных жидких кристаллов, в литературе ограничены. Это связано со сложностью проведения эксперимента, а именно ввиду наличия в системе воды. На термограммах, представленных на рис. 4, наблюдается один эндотермический пик, который соответствует процессам фазового перехода из гексагональной фазы в изотропную жидкость, интервал фазового перехода составляет 45–51°C без аминокислоты и 75–85°C при ее введении.

Рассчитанные термодинамические характеристики фазовых переходов (энтальпии и энтропии) для ЛЖК систем приведены в табл. 2.

Значения изменения энтальпий фазовых превращений в жидких кристаллах, согласно литературным источникам [31, 32], могут изменяться в широких пределах (от 100 Дж/моль до 80 кДж/моль), зависящих от строения и характера упорядоченности в ЖК-состоянии. Введение аминокислоты увеличивает энтальпию и энтропию фазового перехода. Следует отметить, что полученные температуры фазовых переходов достаточно хорошо (в пределах 5–6°C) коррелируют с визуальным наблюдением переходов методом оптической поляризационной микроскопии.

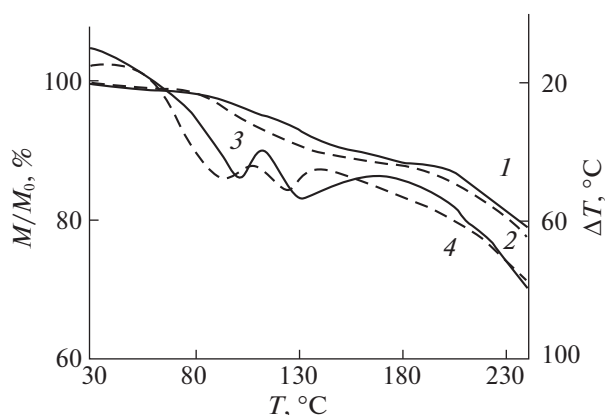


Рис. 5. Кривые ТГА/ДТА (1–4) системы LC 5: 1, 3 – с инкорпорированной аминокислотой; 2, 4 – без аминокислоты.

Дифференциально-термический анализ (ДТА) для исследуемой системы 5 показал чувствительность только в области высоких температур. Для образца 5 без аминокислоты (рис. 5, кривая 4) на термограммах наблюдаются два небольших эндотермических пика. Первый находится в области температур 90–120°C, что соответствует процессу испарения воды. Максимум второго пика приходится на 140°C и соответствует разрушению системы. При введении L-лизин гидрохлорида в систему на термограмме (кривая 3) также появляется двойной эндотермический эффект: при 100–120°C, соответствующий удалению молекул воды из композиции и при 180°C, связанный с деструкцией ЛЖК системы.

Данные термогравиметрического анализа (ТГА) выявили, что при температуре фазового перехода изменение массы образцов не происходит, что подтверждает наличие фазового перехода жидкий кристалл – изотропная жидкость. Потеря массы начинается при $T > 90^\circ\text{C}$, что возможно вызвано испарением воды и согласуется с данными анализа термограмм ДТА, составляет 20.3% в системе с аминокислотой и 22% в исходной системе. Полученные результаты еще раз подтверждают, что молекула-гость L-лизина существенно влияет на термостабильность системы и температуру фазового перехода.

Найденные концентрационные зависимости температур фазовых переходов мезофаза-изотропная жидкость можно использовать для управления процессами контролируемого высвобождения биоактивных молекул из ЛЖК-систем.

Таким образом, получена тройная система $\text{H}_2\text{O}/\text{АОТ}/\text{изопропилмиристалат}$. Показана область нахождения ЛЖК фазы этой композиции на фазовой диаграмме. Выявлено, что данная система при высоком содержании АОТ характеризуется гексагональной упаковкой молекул мезо-

фазы. Комплексом методов определены типы мезофаз и термодинамических параметров фазовых переходов при различной степени гидратации молекул, а также в присутствии молекул – гостя аминокислоты L-лизина. Полученные данные позволяют, целенаправленно регулируя устойчивость системы, контролировать высвобождения из нее биологически активных добавок.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ в рамках научного проекта № 18-13-00112.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhang Z., Shi L., Wu C. et al. // Appl. Mater. Interfaces. 2017. V. 35. № 9. P. 29505.
2. Irby D., Du C., Li F. // Mol. Pharmaceutics. 2017. V. 14. № 5. P. 1325.
3. Nguyen T.L., Nguyen T.H., Nguyen D.H. // Int. J. Biomater. 2017. №. 1. P. 1.
4. Callender S.P., Mathews J.A., Kobernyk K. et al. // Int. J. Pharm. 2017. V. 526. № 1–2. P. 425.
5. Lee D.R., Park J.S., Bae I.H. et al. // Int. J. Nanomedicine. 2016. V. 11. P. 853.
6. Rajabalaya R., Musa M.N., Nurolaini K., David S.R. // Drug Des. Devel. Ther. 2017. № 11. P. 393.
7. Guo C., Wang J., Cao F. et al. // Drug Discovery Today. 2010. V. 15. № 23–24. P. 1032.
8. Suhaimi H., RoL. C. // Orient. J. Chem. 2016. V. 32. № 4. P. 2073.
9. Tadwee I., Shahi S., Ramteke V., Syed I. // Int. J. of Pharm. Res. & Allied Sci. 2012. V. 1. № 2. P. 6.
10. Gosenca M., Bešter-Rogac M., Gašperlin M. // Eur. J. of Pharm. Sci. 2013. V. 50. P. 114.
11. Костюченко М.Б., Юсупова Р.Н., Мурашова Н.М. // Успехи в химии и хим. технологии. 2016. Т. 30. № 12. С. 34.
12. Badalyan D.A., Stepanyan M.A., Badalyan H.G. // J. of Contemp. Phys. 2016. V. 51. № 4. P. 371.
13. Selivanova N.M., Galeeva A.I., Galyametdinov Y.G. et al. // J. of Phys. Chem. B: Biophys. Chem., Biomater. Liquids and Soft Matter. 2012. V. 2. P. 735.
14. Кадкин О.Н., Галяметдинов Ю.Г. // Успехи химии. 2012. Т. 81. № 8. С. 675.
15. Sautina N.V., Gubaidullin A.T., Galyametdinov Yu.G. // Russ. J. Appl. Chem. 2017. V. 90. № 11. P. 1789.
16. Sautina N.V., Sitdikova K.I., Galyametdinov Yu.G. // Ibid. 2014. V. 87. № 4. P. 419.
17. Callow J.A., Callow M.E., Ista L.K. et al. // J. R. Soc. Interface. 2005. V. 2. P. 319.
18. Шапаренко Н.О., Бекетова Д.И., Демидова М.Г., Булавченко А.И. // Журн. физ. химии. 2018. Т. 92. № 5. С. 775.
19. Petrov P.G., Ahir S.V., Terentjev E.M. // Langmuir 2002. V. 18. P. 9133.
20. Caria A., Khan A. // Ibid. 1996. V. 12. P. 6282.

21. *Ungar G., Toma V., Xie F., Zeng X.* // *Ibid.* 2009. V. 25. № 18. P. 11067.
22. *Fontell K.J.* // *Colloid Interface Sci.* 1973. V. 43. P. 156.
23. *Матвеевко В.Н., Кирсанов Е.А.* // *Успехи химии.* 1986. № 8. С. 1340.
24. *Матвеевко В.Н., Дровецкий Б.Ю., Кирсанов Е.А.* // *Коллоидн. журн.* 1993. № 6. С. 60.
25. *Esteban E. Ureña-Benavides, Geyou A.O. et al.* // *Macromolecules.* 2011. V. 44. № 22. P. 8990.
26. *Luo Z., Hongzan S., Xiaorui F. et al.* // *Langmuir.* 2013. V. 29. № 40. P. 12358.
27. *Zhang J., Dong B., Zheng L. et al.* // *J. Colloid Interface Sci.* 2008. № 321. P. 159.
28. *Van Giessen A.E., Dirk J.B., Widom B.* // *J. Colloid Interface Sci.* 1997. V. 192. № 1. P. 257.
29. *Богданова Ю.Г., Должикова В.Д., Сумм Б.Д.* // *Коллоидн. журн.* 1995. Т. 36. № 2. С. 262.
30. *Арутюнян Н.Г., Арутюнян Л.Р., Григорян В.В., Арутюнян Р.С.* // Там же. 2008. Т. 70. № 5. С. 715.
31. *Капустин А.Н.* Экспериментальные исследования жидких кристаллов. М.: Наука, 1978. 368 с.
32. *Li C.* // *J. Colloid Interface Sci.* 2010. V. 342. № 2. P. 354.