

УДК 577. 352. 27

С. В. Яблонский¹, В. В. Боднарчук¹, В. В. Гребенев¹, С. И. Михайлов²

ФОТОПРОВОДИМОСТЬ НЕВОДНЫХ ЛИПОСОМ: НОВЫЙ МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ ТЕМПЕРАТУР СТРУКТУРНЫХ ФАЗОВЫХ ПЕРЕХОДОВ ФОСФОЛИПИДНЫХ МЕМБРАН

¹Институт кристаллографии им. А. В. Шубникова ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН,
Ленинский пр-т, д. 59, 119333 Москва, Россия. E-mail: yablonskii2005@yandex.ru

²Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН, Ленинский пр-т, д. 53, 119991, Москва, Россия

Разработан новый метод измерения температур структурных фазовых переходов в искусственных фосфолипидных мембранах. Метод основан на исследовании температурной зависимости эффекта фотопроводимости в симметричной ячейке с токопроводящими электродами из оксида индия-олова (ИТО). В ячейки типа – «сэндвич» помещали фосфолипиды, растворенные в сложных спиртах или в воде. В эксперименте исследовали лиотропные фазы дипальметоилфосфатидилхолина (ДПФХ) с этиленгликолем (ЭГ) и глицерином (Г). Фотоэлектрический ток в измерительной ячейке с постоянным смещением (1,6–31 В), возбуждали путем инъекции электронов из электрода (ИТО) в смесевые комбинации. Смесей ДПФХ + ЭГ (Г) были приготовлены в массовом соотношении 1:1. Для фотоэлектрического возбуждения применяли различные источники импульсного излучения, работающие как в ближнем ИК, так и в видимом диапазоне длин волн. В результате были получены температурные зависимости фотоэлектрического тока с особенностями в области главного фазового перехода. Положение особенностей на температурной шкале соответствовало температурам главного фазового перехода: $T = 45 \pm 1$ °С (ДПФХ + ЭГ, 1:1) и $T = 42,5 \pm 1$ °С (ДПФХ + Г, 1:1). В работе с помощью данного метода впервые обнаружен «позисторный» эффект в слабопроводящей жидкости. Примечательно, что для измерения температуры фазового перехода требовалось незначительное количество вещества порядка 0,1 мг. Предложенный метод позволяют детектировать фазовые переходы в лиотропных жидкокристаллических системах и, следовательно, могут быть использованы при создании биосовместимых носителей лекарств на базе термочувствительных липосом.

Ключевые слова: термочувствительные липосомы, фосфолипиды, лиотропные жидкие кристаллы, фотопроводимость, кондуктометрия, фазовые переходы.

DOI: 10.18083/LCAppl.2017.4.106

S. V. Yablonskii¹, V. V. Bodnarchuk¹, V. V. Grebenev¹, S. I. Mikhailov²

PHOTOCONDUCTIVITY OF NONAQUEOUS LIPOSOMES: A NEW METHOD OF MEASURING TEMPERATURES OF STRUCTURAL PHASE TRANSITIONS OF PHOSPHOLIPID MEMBRANES

¹Shubnikov Institute of Crystallography of Federal Scientific Research Centre «Crystallography and Photonics»
of RAS, 59 Leninsky Pr., Moscow, 119333, Russia. E-mail: yablonskii2005@yandex.ru

²Lebedev Physical Institute, Russian Academy of Sciences, 53 Leninsky Pr., Moscow, 119991, Russia

A new method for measuring the temperatures of structural phase transitions in artificial phospholipid membranes is developed. The method is based on the investigation of the temperature dependence of the photoconductivity effect in a symmetric cell with current-conducting indium-tin oxide (ITO) electrodes. Phospholipids dissolved in complex alcohols or in water were placed into cells of the «sandwich» type. In the experiment, lyotropic phases of dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) with ethylene glycol (EG) and glycerol (G) were studied. The photoelectric current in the measuring cell with a constant bias (1,6–31 V) was excited by

injecting electrons from the electrode (ITO) into the mixture combinations. Mixtures of DPPC + EG (G) were prepared in a weight ratio of 1:1. Various sources of pulsed radiation were used for photoelectric excitation, working both in the near IR and in the visible wavelength range. As a result, the temperature dependences of the photoelectric current with singularities in the region of the main phase transition were obtained. The position of the features on the temperature scale corresponded to the temperatures of the main phase transition: $T = 45 \pm 1$ °C (DPPC + EG, 1:1) and $T = 42.5 \pm 1$ °C (DPPC + G, 1:1). In this paper, for the first time, a «posistor» effect of a weakly conducting liquid was detected. It is noteworthy that a small amount of the substance of the order of 0.1 mg was required to measure the temperature of the phase transition. The proposed method makes it possible to detect phase transitions in lyotropic liquid-crystal systems and, consequently, can be used to create biocompatible carriers of drugs based on thermosensitive liposomes.

Key words: liposomes, phospholipids, lyotropic liquid crystals, photoconductivity, conductometry, phase transitions.

Хорошо известно, что вблизи фазового перехода I рода скачкообразно изменяются все материальные параметры вещества, хотя и в разной степени. В настоящее время применяют различные методы для определения температур фазовых переходов в липидных мембранах, в основе которых лежит наблюдение за температурным поведением различных параметров, таких как теплоемкость, показатель преломления, пьезоэлектрические модули, диэлектрические характеристики и т. д. В предлагаемой работе исследуется температурное поведение фотопроводимости, индуцируемой импульсом света в тонком слое неводного дипальметоилфосфатидилхолина (ДПФХ) в окрестности главного фазового перехода. Здесь использовали широко известный липид ДПФХ (1,2-Dipalmitoyl-rac-glycero-3-phosphocholine) фирмы Sigma без предварительной очистки. В качестве неводного растворителя были выбраны этиленгликоль (ЭГ), категории «Ч» согласно ГОСТ 10164-75, и аптечный глицерин (Г). Оба растворителя – это известные проникающие криопротекторы, т. е. вещества, предотвращающие кристаллизацию мембранной жидкости в области отрицательных температур. Таким способом удается значительно увеличить сроки хранения носителей лекарств на основе липосом без нарушения их биологических функций [1]. Конечное соотношение липида и растворителя могло немного отличаться от первоначального соотношения из-за частичного испарения растворителей, хотя и незначительно, вследствие их высокой температуры кипения T_k (T_k этиленгликоля равна 196 °C, а глицерина – 290 °C).

В эксперименте измерялся фотоэлектрический ток, индуцируемый в ячейке при поглощении в электродах (ИТО) импульсов света

различной формы и различной длительности. Основным источником импульсного тока в данном случае являлась внутренняя фотоэлектронная эмиссия из электродов в липидный слой толщиной $d = 10$ мкм, находящийся под постоянным электрическим смещением.

Типичные фотоэлектрические отклики на импульсы инфракрасного YAG-лазера и световые импульсы прямоугольной формы арсенид-галиевого светодиода (GaAs светодиод, 940 нм) показаны на рис. 1 и 2 соответственно.

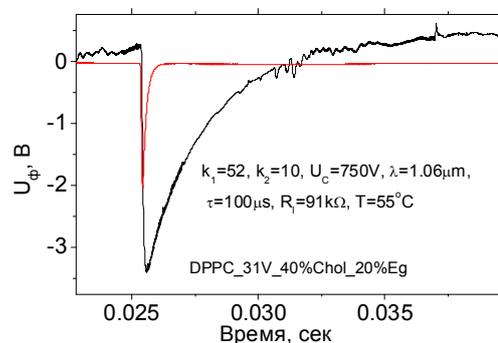


Рис. 1. Фотоэлектрический отклик смеси 40 % ДПФХ + 20 % холестерин + 40 % ЭГ: Лазер ЛТИ-ПЧ (YAG), $\lambda = 1,06$ мкм, длительность импульса $\tau = 100$ мкс, коэффициенты усиления усилителя и предусилителя $k_1 = 52$, $k_2 = 10$, напряжение на накопителе $U_n = 750$ В, сопротивление нагрузки $R_n = 91$ к Ω , напряжение смещения $U_{см} = 31$ В, температура образца $T = 55$ °C. Красным цветом показана форма лазерного импульса

Fig. 1. Photoelectric response of the mixture 40 % DPPC + 20 % cholesterol + 40 % EG. YAG laser, $\lambda = 1.06$ μm , pulse duration $\tau = 100$ μs , amplification factors of amplifier and preamplifier $k_1 = 52$, $k_2 = 10$, voltage on storage ring $U_s = 750$ V, load resistance $R_l = 91$ k Ω , bias voltage $U_b = 31$ V, sample temperature $T = 55$ °C. Red color shows the shape of the laser pulse

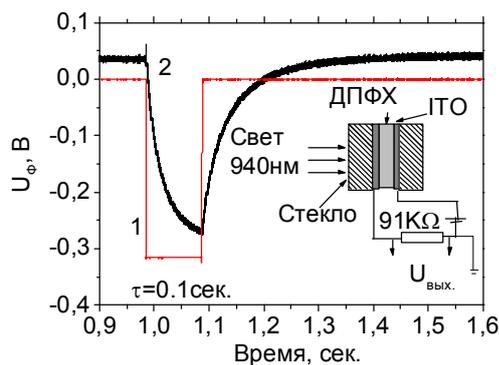


Рис. 2. Фотоэлектрический отклик смеси 40 % ДПФХ + 20 % холестерин + 40 % ЭГ.

Светодиод GaAs, $\lambda = 940$ нм, длительность импульса $\tau = 0,1$ с, сопротивление нагрузки $R_n = 91$ к Ω , напряжение смещения $U_{см} = 31$ В, температура образца $T = 45$ °С. Красным цветом показана форма импульса светодиода

Fig. 2. Photoelectric response of the mixture 40 % DPPC + 20 % cholesterol + 40 % EG.

GaAs LED, $\lambda = 940$ nm, pulse duration $\tau = 0.1$ s, load resistance $R_l = 91$ k Ω , bias voltage $U_b = 31$ V, sample temperature $T = 45$ °C. Red color shows the shape of the LED pulse

На рисунках 3 и 4 показаны температурные зависимости фотоэлектрического напряжения U_{ph} для систем ДПФХ + ЭГ (1:1) и ДПФХ + Г (1:1), соответственно. Температуры фазовых переходов липосом с приемлемой точностью совпали с температурами фазовых переходов измеренных независимыми способами с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и кондуктометрии. Интересной особенностью кривых рис. 3 и 4 являлось наличие ниспадающих ветвей ионной фотопроводимости при увеличении температуры, т. е. так называемый «позисторный» эффект [2], наличие которого согласно [2] раскрывает природу главного фазового перехода неводных липосом, определяя его как сегнетоэлектрический переход в параэлектрическую фазу. Этот факт, по нашему мнению, заслуживает более пристального внимания и глубокого исследования.

Метод оказался достаточно прост и при соответствующей оптимизации параметров эксперимента, таких как смещающее напряжение на электродах, толщина липидного слоя, скорость нагрева образца и мощность возбуждающего света, может быть вполне конкурентоспособен рутинному методу дифференциального температурного анализа (ДТА).

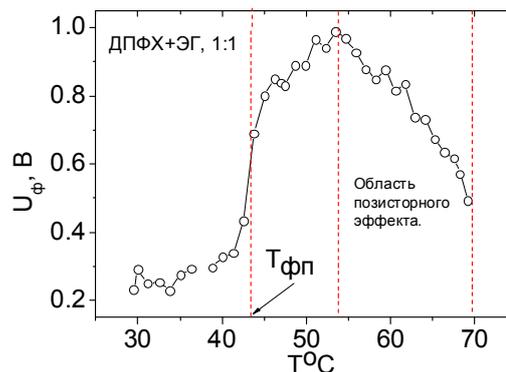


Рис. 3. Фотоэлектрическое напряжение U_{ph} на нагрузочном сопротивлении $R_n = 91$ к Ω в зависимости от температуры:

ДПФХ + ЭГ (1:1); толщина слоя липосом $d = 10$ мкм. Свет $\lambda = 940$ нм, $U_{см} = 29$ В, фазовый переход $T_{фп} = 45 \pm 1$ °С

Fig. 3. The photoelectric voltage U_{ph} at the load resistance $R_l = 91$ k Ω vs. temperature:

DPPC + EG (1:1); the thickness of the layer of liposomes is $d = 10$ μ m. Light $\lambda = 940$ nm, $U_b = 29$ V, phase transition $T_p = 45 \pm 1$ °C

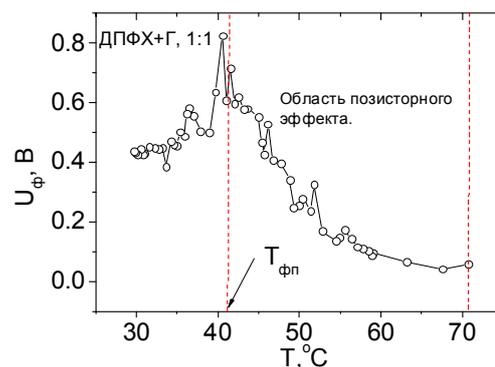


Рис. 4. $U_{ph}(T)$: ДПФХ + Г (1:1); $d = 10$ мкм. Свет $\lambda = 940$ нм, $U_{см} = 20$ В, фазовый переход $T_{фп} = 42.5 \pm 1$ °С

Fig. 4. $U_{ph}(T)$: DPPC + G (1:1); $d = 10$ μ m. Light $\lambda = 940$ nm, $U_b = 20$ V, phase transition $T_p = 42.5 \pm 1$ °C

В дальнейшем предполагается модифицировать данный метод путем исследования импульсного диффузионного тока. В этом случае смещающее напряжение не понадобится и, следовательно, будут устранены артефакты, связанные с электрогидродинамической неустойчивостью в смектической фазе А липидных мембран и деградацией электродов вследствие катодных электрохимических процессов.

Работа была выполнена в рамках
Государственного задания № 007-ГЗ/Ч3363/26.

Список литературы / References

1. Кен Малдрю. Краткий курс криобиологии. Канада: Университет Калгари, 1999. [Ken Muldrew. Cryobiology: A Short Course. Canada: University of Calgary, 1999].

2. Heywang W. Bariumtitanat als Sperrschichtbleiter. *Solid State Electronics: An International Journal*. Pergamon Press Ltd., 1961, **3** (1), 51–58.
DOI: 10.1016/0038-1101(61)90080-6.

*Поступила в редакцию 13.11.2017 г.
Received 13 November 2017*