

Morfološka karakterizacija katanionskih amfifila

Vlasta Tomašić*, Tea Mihelj

Institut "Ruđer Bošković", Zavod za fizičku kemiju,
Laboratorij za sintezu i procese samoorganizacije organskih molekula,
P.P. 180, HR – 10002, Zagreb, RH

*Autor za korespondenciju: Dr. sc. Vlasta Tomašić
Ruđer Bošković Institute, Bijenička c. 54, P.O.Box 180, HR-10002 Zagreb, Hrvatska
Tel.: +385-1-4571-211 / Fax: +385-1-4680-245 / E-mail address: vlasta.tomasic@irb.hr

Izvorni znanstveni članak

UDK 543.9

Prispjelo: kolovoz 2010.

Suvremeni život vrlo je kompleksan. Smatra se da je spontana transformacija nežive tvari u žive subjekte rezultat kontinuiranih evolucijskih predbioloških procesa, povezanih s porastom molekulske i supramolekulske organizacije. Područje supramolekulske kemije, u koje pripada i samoasociranje amfifilnih molekula, može pridonijeti razvoju istraživanja i različitim primjenama na području medicine, biologije i kemije, kao i znanstvenom razumijevanju života, zdravlja, dijagnostike i terapije.

Kruti katanionski amfifili nastaju međudjelovanjem amfifila ili sličnih amfifilnih biomolekulskih tvari, suprotnih elektrostatskih naboja u vodenim otopinama. Uređenje i preferirani oblik katanionskih supramolekulskih agregata posljedica su prvenstveno elektrostatskih međudjelovanja, te orijentacijskih hidrofilno-hidrofobnih svojstava dotične kombinacije molekula. Analiza morfoloških karakteristika niza različitih katanionskih liotropa i termotropa omogućuje povezivanje njihove kemijske strukture s mezostrukturom i odgovarajućim fizikalno-kemijskim svojstvima.

Ključne riječi: Površinski aktivne tvari – kemija, kemijska sinteza; Katanionske površinski aktivne tvari; Mezofaze; Membrane; Dvoslojevi; Vezikule

UVOD

Kada bi se povijest života na Zemlji sažela u dvadeset četiri sata, višestanični organizmi pojavili bi se u posljednjih dvanaest sati, dinosauri u posljednjih sat vremena, prvi ljudi prije četrdeset sekundi, a suvremeni čovjek prije manje od sekunde. Primitivnim stanicama trebale su dvije milijarde godina da bi dobile jezgru, koja je bila prvi korak prema kompleksnosti, no za samo dvjesto milijuna godina – desetinu tog vremena – razvile su se višestanične životinje. Za samo četiri milijuna godina, praktički od majmuna malenog mozga, razvio se suvremeni čovjek koji se bavi znanošću. Nije potpuno poznato kako je život započeo, ni da li prihvatiti kontroverznu teoriju o kozmičkom sjemenu, prema kojoj su kometi donijeli biološke tvari iz dubokoga svemira, ili se prikloniti isključivo teoriji evolucije? Pretpostavka je da su početci u samoreplicirajućim molekulama RNA, te u udruživanju i diferenciranju jednostavnih stanica. Samoorganiziranje je kompleksno, a pojam biokompleksnosti (slika 1.) označava složeno ponašanje, od kemijskih i fizikalnih, do bioloških i socijalnih međudjelovanja živih organizama s okruženjem.

Danas je općeprihvaćeno da kompleksni biokemijski procesi koji znače život, tj. omogućuju metabolizam i replikaciju, potječu iz jednostavnih kemijskih reakcija. Jedan od osnovnih uvjeta života kakvoga poznajemo jest prisutnost tekuće vode. Ona pokriva 71 % Zemljine površine, po težini je najzastupljen-

iji sastojak stanica i organizama (75-85 %), te izvanstanične okoline. Zbog polarosti, voda posjeduje izvrstan kapacitet otapanja različitih vrsta tvari, a nekovalentna fizikalno-kemijska svojstva (Lifshitz-van der Waalove privlačne sile i vodikove veze) rezultiraju stvaranjem najrazličitijih vrsta klastera potrebnih za život. Svojstva kohezije uvjetuju veliku površinsku napetost vode, kapilarnost, visoku točku vrelišta, specifičnu toplinu, toplinu isparavanja i specifična svojstva krutoga stanja (1). Znanost o životu proučava žive organizme, biljke i životinje, njihove molekularne, stanične i fiziološke mehanizme, te objašnjava njihov međusoban odnos (slika 2.). Pri tome važnu ulogu ima poznavanje mehanizama koji upravljaju ponašanjem velikih molekulskih sustava, a koji se po svojoj složenosti približavaju najjednostavnijim živim organizmima. Princip samoorganiziranja amfifilnih i bioamfifilnih molekula, odnosno mezogena i biomezogena (2) odvija se po obrascu tipičnih površinski aktivnih tvari (PAT), a temelji se na posebnostima njihove fizičke građe (3–5). Hidrofilan dio takvih molekula topljiv je u vodi, a hidrofoban se nastoji iz nje isključiti iz energetskih i termodinamičkih razloga, te tako dolazi do spontanog samoorganiziranja, a pri višim koncentracijama i do samoasociranja molekula, te stvaranja niza različitih supramolekulskih struktura (slika 3.) u vodenim otopinama i emulzijama (slika 3, manja kružnica). Pri tome mnoge navedene strukture pokazuju svojstva tekućih kristala, LC, (slika 3., veća kružnica), (2,6,7). Molekule čija je geometrijska struktura nalik štapiću, sklone su stvaranju tzv. la-



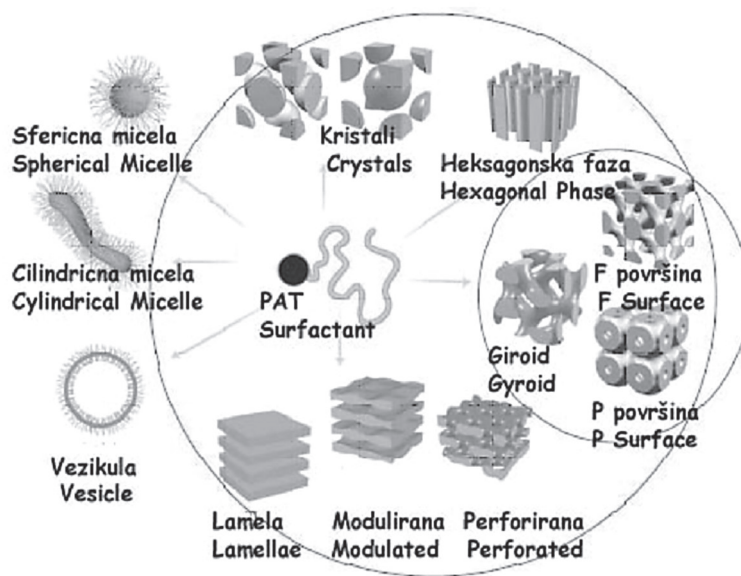
SLIKA 1.
 Spirala biokompleksnosti
 FIGURE 1.
 Biocomplexity spiral



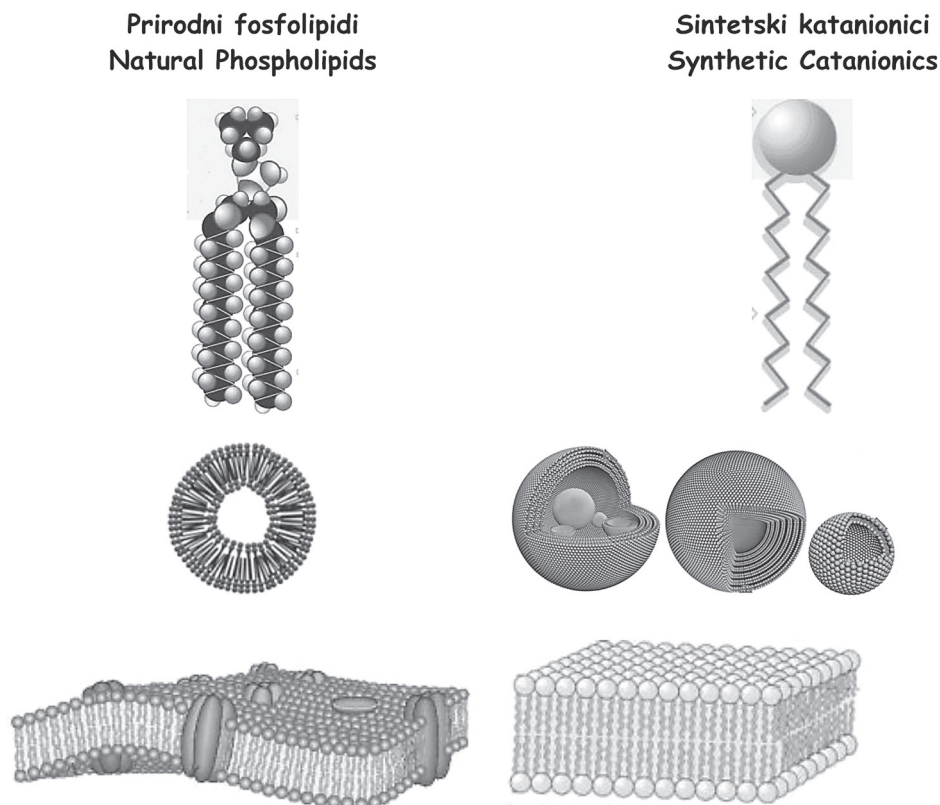
SLIKA 2.
 Znanost o životu
 FIGURE 2.
 Life science

melarnih smektičkih dvoslojnih slagalina, a one s diskolikom strukturom – stvaranju heksagonskih slagalina (8). Biološke ili biomembrane su građene također od amfilnih, konkretno lipidnih, odnosno fosfolipidnih slojeva. Oni predstavljaju prepreku između unutrašnjosti stanice s određenim kemijskim i biološkim svojstvima i okoline drugačijih svojstava. Modelno ponašanje bioloških membrana živih stanica može se direktno uspoređivati i ispitivati na primjeru lamelarnih planarnih slagalina katanionskih amfifila. Usporedbe građe pojedinačnih molekula prirodnih fosfolipida i sintetskih katanionskih amfifila (slika 4.) ukazuje na njihovu izrazitu sličnost, tj. postojanje hidrofilnih polarnih skupina i hidrofobnih lanaca. Ta

sličnost se također ogleda pri usporedbi njihovih liotropnih svojstava, tj. sposobnosti spontanoga nastajanja fleksibilnih zaokruženih struktura dvoslojeva (lipozoma kod fosfolipida, a oligovezikularnih, multilamelarnih i unilamelarnih katanionskih vezikula kod katanionika). U oba slučaja su hidrofilne skupine orijentirane prema vodi, dok je tendencija nepolarnih lanaca izdvajanje iz vode. Vezikularne dinamičke sustave karakterizira reverzibilna veza konstituenta zavisna o vanjskim stimulansima ili faktorima okoliša, poput transportnih procesa, provođenja signala i energije, selektivne permeabilnosti, adsorpcije, katalize, raznih kemijskih procesa koji rezultiraju promjenom njihove veličine i morfologije – uključujući fuziju



SLIKA 3.
 Uređenje supramolekulskih struktura
 FIGURE 3.
 The arrangement of supramolecular structures



SLIKA 4.
 Usporedba fosfolipidne i katanionske molekule, lipozoma i raznih vrsta katanionskih vezikula, membrane žive stanice i lamelarne katanionske slagaline
 FIGURE 4.
 The comparison of phospholipide and cationic molecule, liposome and different kinds of cationic vesicles, the membrane of living cell and cationic lamellar bilayer

i agregiranje (9,10), kao i izvjesna osjetljivost na procesiranje informacija (5–7). Sve ih to direktno povezuje s primitivnim staničnim organiziranjem, funkcioniranjem najjednostavnijih stanica i njihovom replikacijom (10–12). Iako je građa membrane žive stanice složenija od slagalina izduženih ploha dvoslojeva katanionskih amfifila, jer uključuje glikolipide, oligosaharidne postrane lance i globularne proteine, njihove su građe izrazito slične, a slična su im i liotropna i termotropna svojstva, tj. pokazuju LC mezofazne pojave izazvane dodatkom otapala i/ili promjenom temperature.

S druge strane, područje istraživanja amfifilnih tvari koji samoasociraju u supramolekulske sustave željenih fizikalno-kemijskih svojstava trenutačno je u vrhu znanstvenih interesa, s ciljem dizajniranja i sinteze novih funkcionalnih materijala prvenstveno za medicinsku upotrebu, kao dijagnostika i “pametnih” lijekova za prijenos i kontrolirano otpuštanje lijekova ili dijagnostika, jer omogućuju elegantan i efektan put izvrsne razine kontrole prirode i lokacije specifičnih reakcija (npr. s proteinima). Isto tako, ti materijali nalaze svoju primjenu u biologiji ili proizvodnji nanomaterija.

EKSPERIMENTALNI DIO

PRIPRAVA SUSTAVA

Kruti katanionski spojevi pripremljeni su miješanjem vodenih otopina odgovarajućih kationskih i anionskih PAT u ekvolumnom i ekvimolarnom odnosu, miješanjem u određenom vremenu pri povišenoj temperaturi. Reakcijska temperatura taloženja izabrana je tako da bude viša od Krafftove temperature (13) najslabije topljive komponente. Nakon tri dana starenja suspenzije talozi se odvajaju filtriranjem ili centrifugiranjem, suše u vakuum-sušioniku na sobnoj temperaturi tijekom 2-3 dana i čuvaju od vlage.

MJERNE METODE

U svrhu potvrde identifikacije, ispitivani se uzorci prvo podvrgavaju elementnoj analizi. Teksture vodenih otopina katanionskih uzoraka, kao i morfološke promjene njihovih krutina – uzrokovane povišenjem i sniženjem temperature, promatrane su optičkim polarizacijskim mikroskopom Leitz-Orthoplan, opremljenim grijaćim stolićem (Linkam THMS 600) i snimani digitalnim Olympus N547 fotoaparatom. Mezofaza (mezomorfno stanje, LC) fazno je stanje između krute i tekuće faze, a koje posjeduje i svojstva uređenosti kristalne rešetke i pokretljivost izotropne tekućine. Zahvaljujući činjenici da su LC optički anizotropni, moguće je njihovo promatranje i identifikacija njihovih faza optičkim polarizacijskim mikroskopom.

Kvantitativan uvid u tip mezofazne strukture omogućuje tehnika ogiba rendgenskih zraka. Suhi praškasti uzorci snimani su pri velikim kutevima (WAXD = wide-angle X-ray diffraction) na uređaju Philips MPD 1800 s monokromnim Cu K α zračenjem, goniometrom PW 3710 u kutnom području 2 θ /° = 3,5 do 55. SAXS-mjerenja (small-angle X-ray scattering) izvedena su na theta-theta difraktometru (Ultima III, Rigaku,

Japan) sa scintilacijskim brojačem kao detektorom, a podaci analizirani pomoću programa Jade 9 (MDI, Inc., CA). Zbog manjeg uređenja mezofaza u usporedbi s kristalnom fazom, do pojave izraženih ogibnih maksimuma dolazi već pri niskim Braggovim kutevima, što omogućuje identifikaciju i određivanje međuplošnih razmaka u lamelarnim strukturama. Postojanje oštrih difrakcijskih maksimuma u omjeru 1 : 1/2 : 1/3 : 1/4 ... na difraktogramima potvrđuje postojanje smektičkih slojeva (14), dok je omjer 1 : 3^{-1/2} : 4^{-1/2} : 7^{-1/2} : 9^{-1/2} : 12^{-1/2} (15) karakterističan za heksagonalne mezofaze. Osnovna debljina lamele računana je iz Braggove jednadžbe $d/\text{Å} = 1,5418 / 2 \sin\theta$, pri čemu je θ najniži kut s maksimalnim intenzitetom.

Kristalna struktura određivana je Enraf Nonius CAD4 X-ray difraktometrom s monokromnim Cu K α zračenjem ($\lambda = 1,5412 \text{ Å}$), pri sobnoj temperaturi. Strukture su rješavane i prikazivane računalnim paketima SHELXS97, PLATON98 i MERCURY.

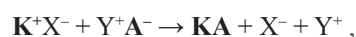
Diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom (DSC) na instrumentu Perkin Elmer DSC-7, u struji dušika, provodi se mjerenje promjene entalpije i entropije uzoraka, uzrokovanih njihovim fizikalnim ili kemijskim promjenama tijekom ciklusa grijanja i hlađenja.

REZULTATI I RASPRAVA

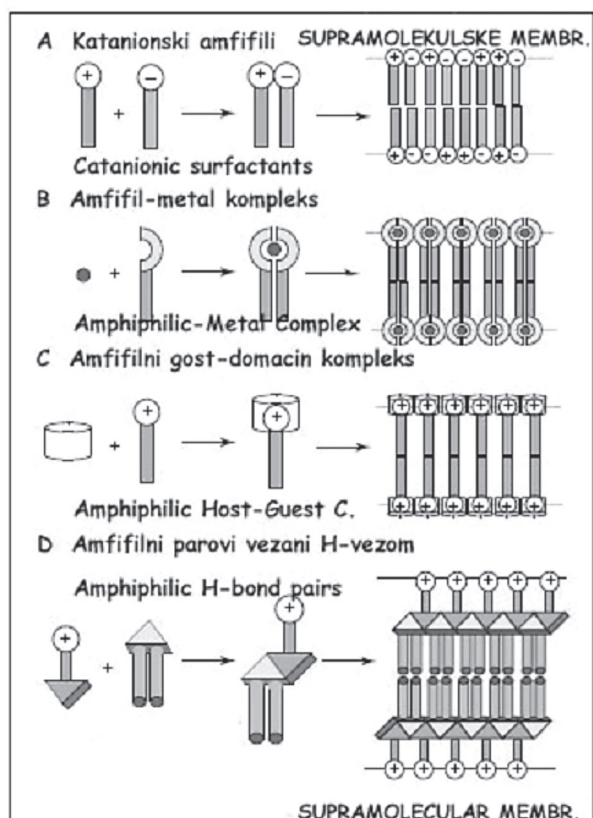
Nasluci 5. prikazana je shema različitih načina samoorganizacije tzv. hibridnih amfifila u supramolekulske membrane (16). Prvi slučaj odnosi se na nastajanje katanionskih amfifila (A), drugi na formiranje metalnoga amfifilnog kompleksa (B), treći predstavlja kompleksiranje tipa gost – domaćin (C) i četvrti se odnosi na kompleksiranje amfifilnih parova vodikovom vezom (D). U svim navedenim slučajevima nastali kompleksi podliježu spontanoj organizaciji u supramolekulske membrane, koje u pravilu karakteriziraju amfotropna svojstva, tj. pokazuju i liotropna i termotropna mezomorfna stanja.

U ovom radu bit će prikazane razne morfologije liotropnih i termotropnih katanionskih PAT nastale sintezom raznovrsnih organskih amfifila suprotnih elektrostatskih naboja, u cilju povezivanja njihovih makroskopskih svojstava s mikrostrukturnim različitostima u građi molekula pojedinih PAT, prvenstveno one arhitekturne, odnosno geometrijske prirode.

Katanionske PAT nastaju međudjelovanjem kationske i anionske amfifilne komponente u ekvimolarnim uvjetima u vodenim otopinama (slika 6.) prema jednadžbi:



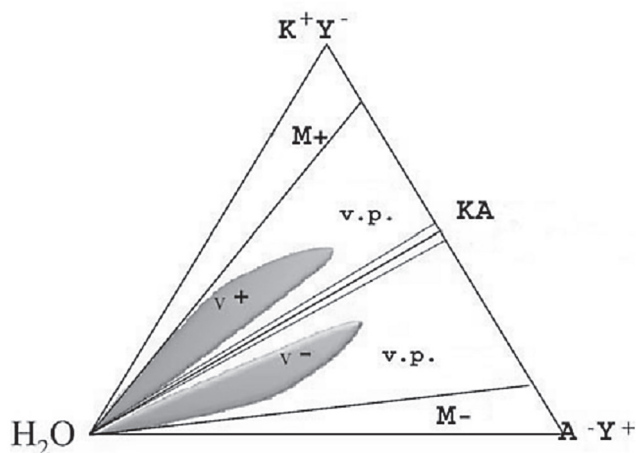
gdje su \mathbf{K}^+ i \mathbf{A}^- razni organski amfifili kationske, odnosno anionske prirode, a \mathbf{X}^- i \mathbf{Y}^+ označavaju pripadne protuione. Katanionske PAT, kao ionski amfifilni parovi ili Coulombovi kompleksi, nastaju odvajanjem faza oko linije ekvivalencije, te se detektiraju i izdvajaju najčešće kao kruti talog. Govoreći o njima kao *liotropima*, osim važnosti totalne koncentracije



SLIKA 5.

Shematski prikaz hibridnih amfifila (16) i njihova samoorganizacija u supramolekulske membrane
 FIGURE 5.

Schematic illustration of hybrid amphiphiles (16) and their selforganization in supramolecular membranes

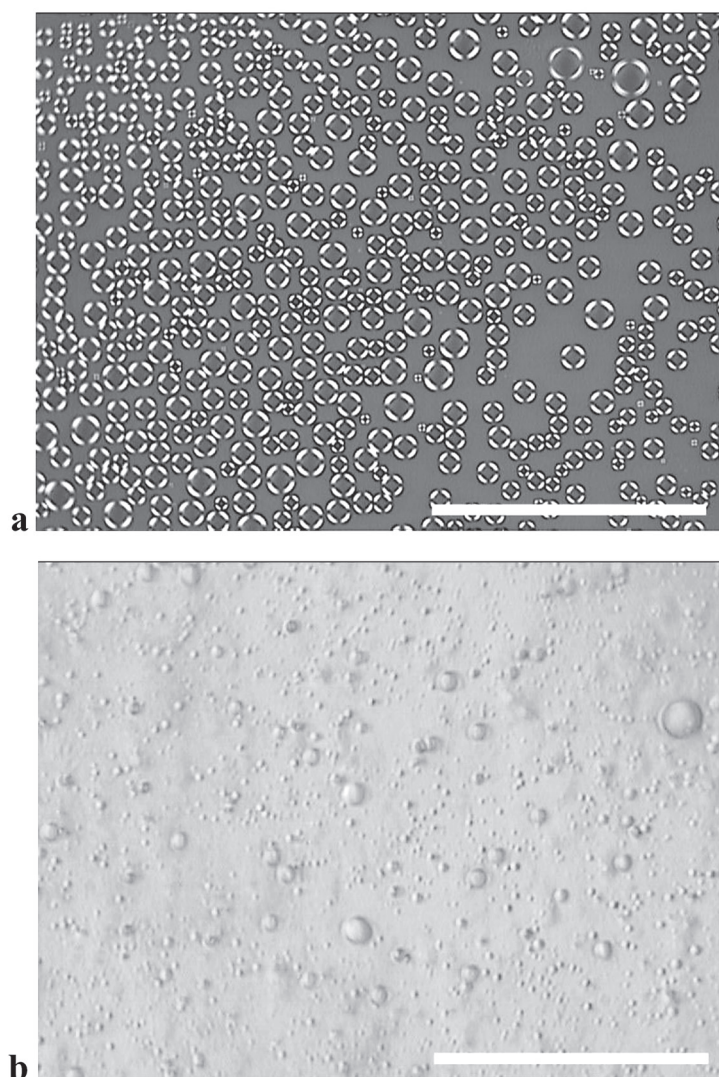


SLIKA 6.

Shematski trojni fazni dijagram smjese vodenih otopina PAT suprotnih naboja (K^+ i A^-). M označava micelle, V – vezikule, a v.p. višefazno područje.

FIGURE 6.

Schematic ternary phase diagram for aqueous solution of oppositely charged surfactants (K^+ and A^-). M indicates micelles, V – vesicles and v.p. multiphase regions.



SLIKA 7. a:

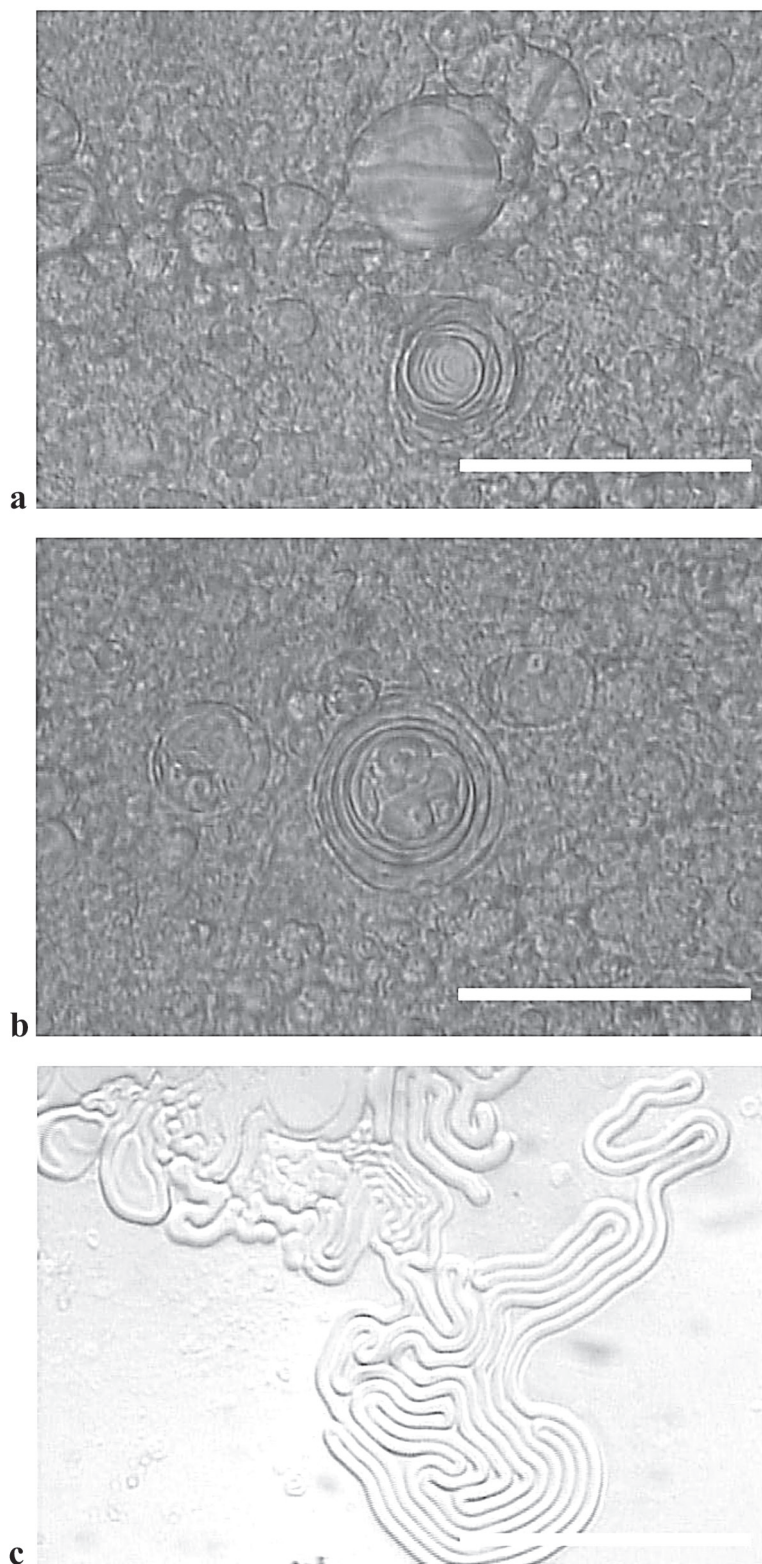
Monodisperzni katansomi u smjesi vodenih otopina heksadeciltrimetilamonijevoga bromida ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 25$) i natrijevoga dodecil sulfata ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 20$), sobna temperatura, vrijeme starenja 1 tjedan, polarizirano svjetlo. b: Polidisperzni katansomi u smjesi vodenih otopina heksadeciltrimetilamonijevoga bromida ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 25$) i natrijevoga dodecil sulfata ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 15$), sobna temperatura, vrijeme starenja 1 tjedan, fazni kontrast. Skala odgovara $250 \mu\text{m}$ (a) i $50 \mu\text{m}$ (b).

FIGURE 7. a:

Monodispersic catansomes in the mixture of hexadecyltrimethylammonium bromide ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 25$) and sodium dodecyl sulfate ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 20$), room temperature, the aging time is 1 week, crossed polarizers. b: Polydispersic catansomes in the mixture of hexadecyltrimethylammonium bromide ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 25$) and sodium dodecyl sulfate ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 15$), room temperature, the aging time is 1 week, phase contrast. Bar represents $250 \mu\text{m}$ (a) and $50 \mu\text{m}$ (b).

komponenta, treba istaknuti i zavisnost o molnim udjelima njihovih komponenata, te zavisnost o vremenu starenja sustava. U taložnom, odnosno faznom dijagramu razlikuju se i druga područja: područje spontanoga stvaranja katanionskih vezikula, tzv. katansoma (17) prostire se pri nižim totalnim koncentracijama PAT oko linije ekvivalencije, pri čemu vezikule nose naboj PAT u blagom suvišku (na slici 6. V^- ili V^+). Smjese vodenih otopina PAT suprotnih elektrostatskih naboja posebno su efikasne u stvaranju katansoma jer su faktori pakiranja (8) katanionskih PAT veći od onih pojedinačnih molekula, a rijetki nesporeni unimeri PAT u suvišku pridonose gustoći površinskoga naboja dvoslojeva, izazivajući

njihovo dodatno elektrostatsko odbijanje i favorizirajući transformaciju planarnih u zakrivljene lamelarne agregate. Udaljavajući se od linije ekvivalencije prema suvišku jedne od PAT prolazi se kroz šire višefazno područje (v. p. na slici 6.) s koegzistirajućim vrstama katanionskih vezikula i katanionskoga kompleksa, te domena koegzistirajućih katanionskih vezikula i miješanih micela, sve do micelnoga područja (M^- ili M^+), (18). Takve miješane otopine PAT jedinstvenih i sinergijskih su svojstava, osobito obzirom na površinske i molekulske interakcijske parametre, slobodnu energiju miješanja, te površinsku napetost, ukazujući na jaka privlačna međudjelovanja i visoku kooperativnost katanionskoga



SLIKA 8. a, b, c

FIGURE 8. a, b, c

OPIS SLIKE 8. / Stranica 7.

a: Velika multilamelarna vezikula okružena polidisperznim katansomima u smjesi vodenih otopina dodeciltrimetilamonijevoga bromida ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 130$) i natrijevoga dodecilbenzen sulfonata ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 125$). b: Velika oligovezikularna vezikula okružena polidisperznim katansomima u smjesi vodenih otopina dodeciltrimetilamonijevoga bromida ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 130$) i natrijevoga dodecilbenzen sulfonata ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 120$). c: Cjevasti katansomi mijelinskoga karaktera, u smjesi vodenih otopina dodeciltrimetilamonijevoga bromida ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 350$) i natrijevoga dodecilbenzen sulfonata ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 345$).
Uvjeti za a – c : sobna temperatura, vrijeme starenja 3 dana, fazni kontrast, skala odgovara 50 μm .

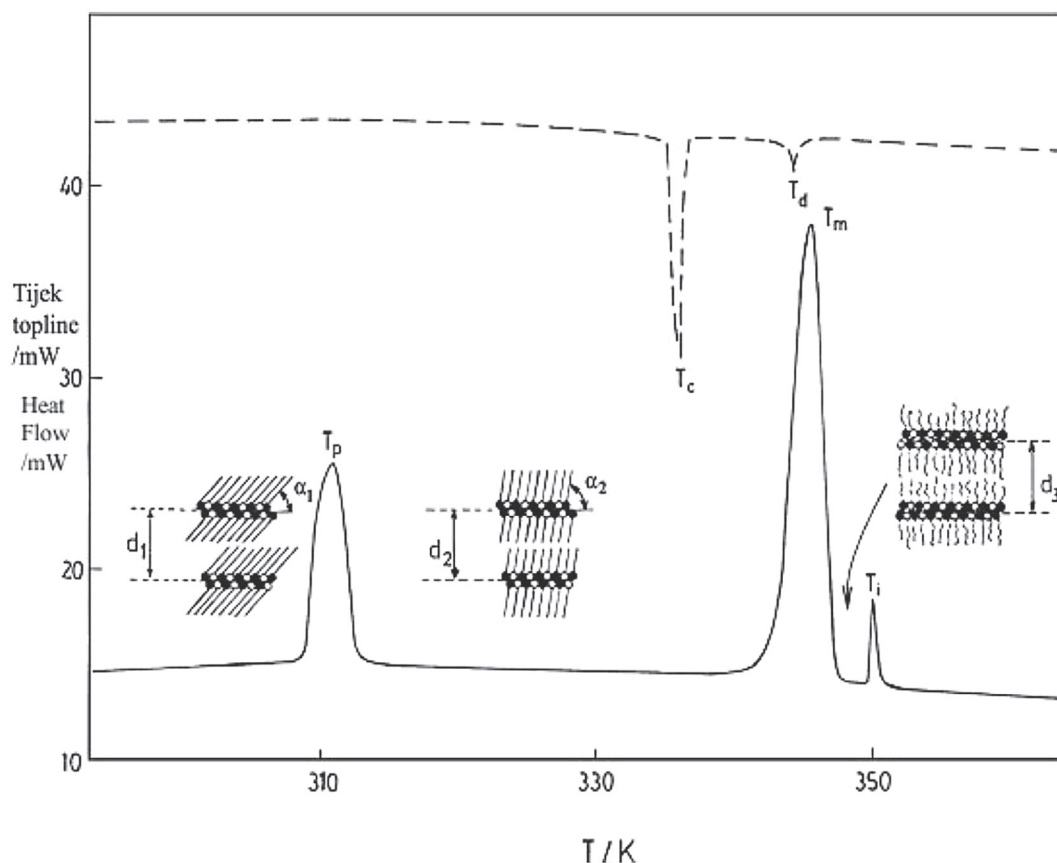
DESCRIPTION OF FIGURE 8. / Page 7.

a: Giant multilamellar vesicle surrounded with polydispersic catansomes in the mixture of dodecyltrimethylammonium bromide ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 130$) and sodium dodecylbenzen sulfonate ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 125$). b: Giant oligovesicular vesicle surrounded with polydispersic catansomes in the mixture of dodecyltrimethylammonium bromide ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 130$) and sodium dodecylbenzen sulfonate ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 120$). c: Tubular myelin-like catansomes in the mixture of dodecyltrimethylammonium bromide ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 350$) and sodium dodecylbenzen sulfonate ($c/\text{mmol dm}^{-3} = 345$).
Conditions for a – c: room temperature, the aging time is 3 days, phase contrast, bar represents 50 μm .

i anionskoga amfifila (18). Pri tome treba imati na umu da se zapravo radi o peterokomponentnom sustavu (dvije različite ionske PAT, rezultatni katanionski ionski par, površinski neaktivna sol i voda), te da iako elektrolit nije dodan, on jest prisutan u koncentraciji jednakoj totalnoj koncentraciji prisutnih PAT. Mikroskopske slike 7. a i b prikazuju morfologiju katansoma, tj. katanionskih vezikula sustava heksadeciltrimetilamonijevoga bromida i natrijevoga dodecil sulfata, pri sobnoj temperaturi, starih tjedan dana. Sustav se pokazao monodisperznim kad je koncentracijski manje udaljen od linije ekvivalencije, odnosno polidisperznim u slučaju jačega odstupanja od ekvivalencije. Slike 8. a i b prikaz su multilamelarne (sl. 8. a), odnosno oligovezikularne (sl. 8. b) vezikule u smjesi vodenih otopina dodeciltrimetilamonijevoga bromida i natrijevoga dodecilbenzen sulfonata, iz kojih se može zaključiti kako je za nastajanje prvih preferirano manje, a za nastajanje drugih veće odstupanje od ekvivalencije. Multilamelarne vezikule karakterizira građa nalik glavici luka, tj. grade ih koncentrični kružni lamelarni slojevi sve većega promjera, dok oligovezikularne sadrže u sebi različit broj manjih vezikula. Stvaranje takvih vezikula karakteristično je za dvovalčane PAT s 10 ili više alkilnih C-atoma (19). Iako su vezikule najčešće sferične i stabilne tjednima – osobito male unilamelarne, pojavljuju se i drugačijih oblika (facetirane, cjevaste, nalik morskoj zvijezdi, elipsoidnoga tipa – oblika diska-*oblate*, ili cilindara-*prolate*, itd.). Cjevasti katansomi također spontano nastaju u navedenim sustavima, pri znatno višim koncentracijama (slika 8. c), a i znatno su kraće vrijeme stabilni. Lamelarnu fazu takvih katansoma karakterizira visoka neuređenost alkilnih lanaca (19).

Govoreći o *termotropnim* svojstvima katanionskih PAT, najznačajnija je činjenica da dovođenjem topline 3-D uređena kristalna rešetka ne prelazi taljenjem jednostavno u kaotičnu izotropnu tekućinu, nego pri točno definiranim temperaturama pokazuje prijelazne strukture LC. U slučaju reverzibilnih promjena pri hlađenju govori se o enantiotropima, dok se u slučaju pojavljivanja LC faze u samo jednom smjeru ciklusa, govori o monotropima. Favorizirani oblici organskih molekula koje pokazuju svojstva LC najčešće su oblik štapića, ploče

ili diska, a njihovim nagomilavanjem i slaganjem nastaju stupci. Iako se prije mislilo da je LC struktura katanionskih spojeva redovito i isključivo lamelarna, tj. smektička (20), to se ubrzo pokazalo prejednostavnom pretpostavkom, iako najzastupljenijim rješenjem. Termička svojstva katanionskih PAT zavise velikim dijelom o karakteristikama njihovoga molekuskog pakiranja, posebno o simetriji ili asimetriji molekula (obzirom na duljine alkilnih lanaca), (21,22). Broj polimorfni prijelaza veći je kod asimetričnih katanionika (22), produljenjem alkilnoga lanca rastu temperature faznih prijelaza i međuplošni razmaci, smanjuje se temperaturno područje pojavljivanja smektičkih LC i sporija je kinetika faznih prijelaza pri hlađenju (21-23). Slika 9. prikazuje tipičan termogram katanionske PAT decilamonijevoga decil sulfata tijekom grijanja i hlađenja, s pripadnim karakteristikama (23). Na slici 10. prikazana je morfologija tipičnoga simetričnog *smektika* dodecilamonijevoga dodecil sulfata. Tijekom zagrijavanja pod mikroskopom se vidi početak procesa taljenja uzorka, uz stvaranje karakterističnih smektičkih niti (sl. 10. a i b). Uzevši u obzir da je na mikroskopskoj sl. 10. a izmjerena najšira vidljiva debljina lamele od 52 μm , a RTG analizom je ustanovljen međuplošni razmak od 34.5 Å, ispada da je lamelarna slagalina sastavljena od oko 15070 dvoslojeva. Uzorak nakon taljenja i ohlađen na sobnu temperaturu (sl. 10. c) pokazuje nastajanje šarene sferulitne strukture. Na slici 11. prikazana je također smektička lamelarna tekstura dodeciltrimetilamonijevoga dodecil sulfata. Očito, zamjena triju H-atoma s tri metilne grupe rezultira talištem višim za 101°C i temperaturom izotropizacije višom za 105°C. Tijekom zagrijavanja uočava se tekstura smektičkih LC, tzv. "malteških križeva" vidljivih na vanjskom rubu, dok je unutrašnjost ispunjena tipičnim sferulitima (sl. 11. a). Hlađenjem kristalizacija materijala postupno napreduje (sl. 11. b), sve do stvaranja tipičnih kaskadnih struktura na sobnoj temperaturi (sl. 11. c). Morfologiju tipičnih lamelarnih faza pokazuju dodecilamonijev dodecilbenzen sulfonat (slika 12. a–c), dodeciltrimetilamonijev dodecilbenzen sulfonat (sl. 13. a) i didodecildimetilamonijev dodecilbenzen sulfonat (sl. 13. b). Nakon hlađenja na sobnu temperaturu vide se karakteristične stožaste teksture. Iz SAXS difraktograma (sl.



SLIKA 9.

Termogram decilamonijevoga decil sulfata tijekom grijanja (puna linija) i hlađenja (crtkana linija). T označava temperaturu DSC maksimuma, donji indeksi: p – polimorfni prijelaz, m – taljenje, i – izotropizacija, d – deizotropizacija, c – kristalizacija. Shematski prikazi lamelarnih struktura odgovaraju krutim 1, 2 i LC fazama, d označava međuplošni razmak, a α kut nagiba ugljikovodičnih lanaca.

FIGURE 9.

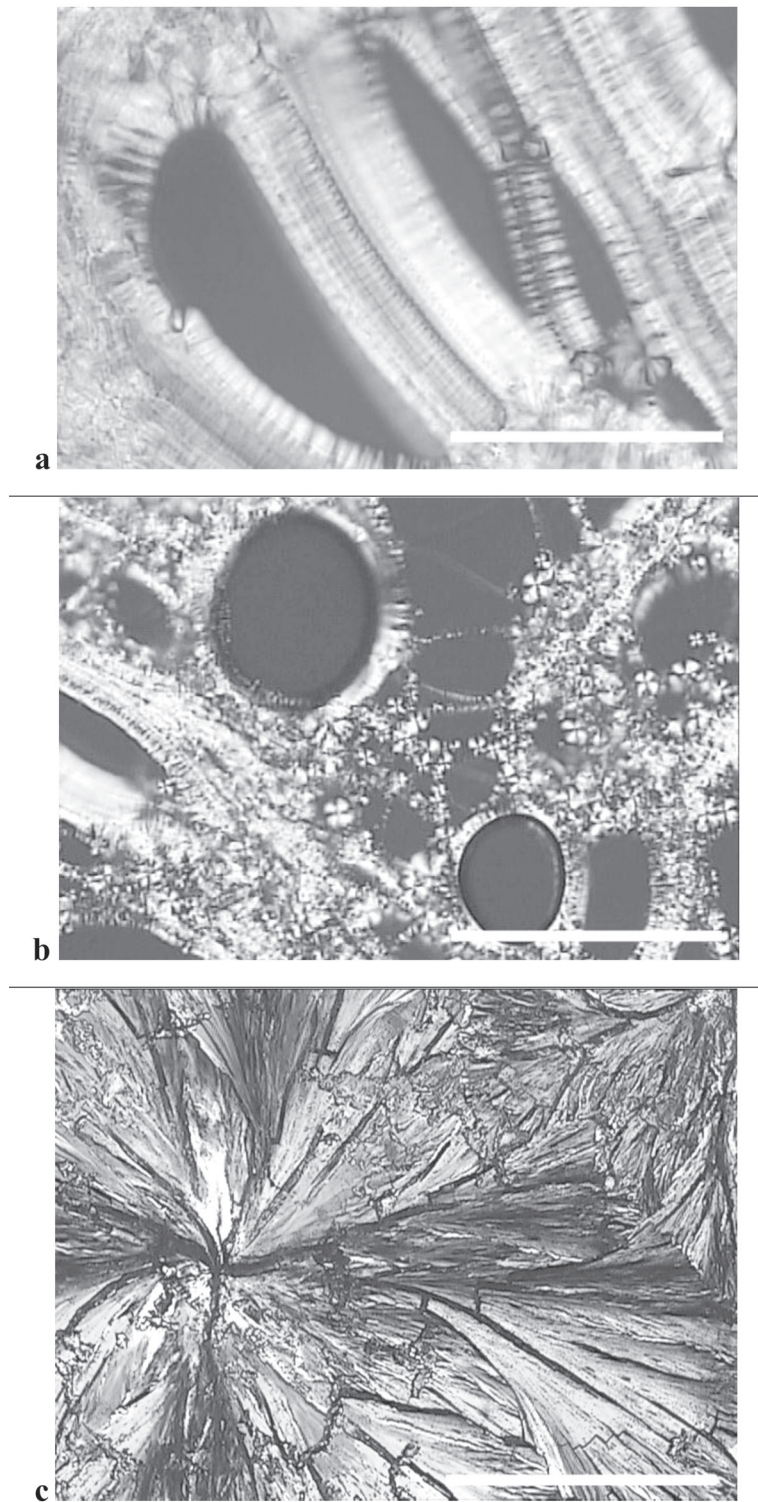
Thermogram of decylammonium decyl sulfate obtained by a differential scanning calorimeter (DSC) during heating (full line) and cooling (dashed line) scans. T corresponds to the DSC maximum, and subscripts denote: p – polymorphic transition, m – melting, i – isotropization, d – deisotropization, and c – crystallization. Schematic lamellar structures, corresponding to solid 1, 2, and LC phases, are shown, d denotes long spacing, and α angle of tilt.

13. c) izračunata je debljina lamele didodecildimetilamonijev dodecilbenzen sulfonata u iznosu od 31.0 Å, dok postojanje oštih difrakcijskih maksimuma u omjeru 28.48 : 14.34 : 7.20 tj. 1 : 1/2 : 1/3 na difraktogramima potvrđuje postojanje lamelarnih slojeva.

U novije vrijeme pokazano je kako neke katanionske molekule ne posjeduju nužno lamelarnu dvoslojnu, nego mogu graditi *heksagonalnu stupčastu mezofazu* (slika 14. a), kao npr. alkilamonijevi bis(2-etilheksil)sulfosukcinati (24), čija je morfologija prikazana na slici 14. b. Unatoč štapičaste geometrije alkilamonijevih molekula, prevladavaju svojstva sulfosukcinatne molekule u obliku diska. Molekulskom simulacijom i podacima elektronske gustoće, utvrđeno je da alkilamonijeve soli bis(2-etilheksil)sulfosukcinata u svakoj ravnini okomitoj na os stupca sadrže po dva ionska para (sl. 14. c), tako da je struktura lokalno trokutasta, a dalekometno heksagonalna (24). Promjene molarnih entalpija faznih prijelaza mezofaza – izotropna otopina, neočekivano,

opadaju porastom duljine alkilamonijevoga lanca radi konformacijskoga nereda radijalnih lanaca.

Kolna kiselina, s $pK_a = 5.1$, tipičan je steroidni bioamfil. Soli kolne kiseline, pretežno derivati glicina i taurina, sastojci su žučnih soli, aktivne u probavnim procesima, diktiraju sadržaj kolesterola u organizmu, a odgovorne su za patofiziološke procese ateroskleroze i stvaranje žučnih kamenaca. Žučne kiseline su važne u biologiji, fiziologiji, medicini, biomimetičkoj i prebiotičkoj kemiji, ne miceliraju konvencionalno nego stvaraju multimolekularne agregate (hidrofobnim međudjelovanjem tzv. primarne micela s 2 do 10 jedinica, a sekundarne micela s 10 do 100 jedinica povezanih H-vezama). Hidrofilnom karakteru pridonose hidroksilne grupe i terminalna karboksilna, a hidrofobnom karakteru – heteroplanarna površina krutoga steroidnog prstena, pa ih karakterizira tzv. facijalna (plošna) amfilnost. Modifikacija kristalne strukture kolne kiseline (25) nastupa uključenjem organskog gosta, što izaziva drastična promjena kristalne strukture, rearanžiranje mreže intermolekulskih

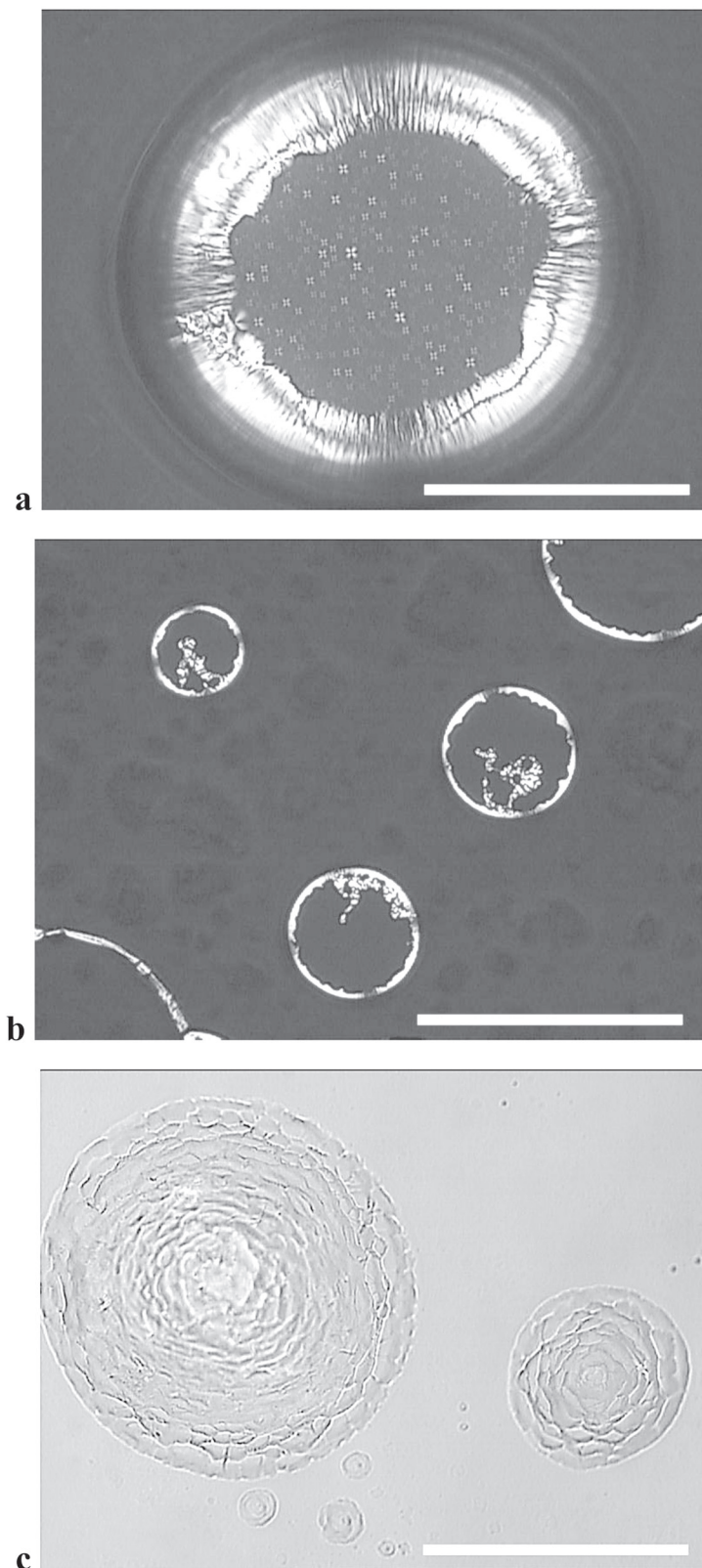


SLIKA 10.

Smektičke teksture dodecylamonijevoga dodecyl sulfata tijekom zagrijavanja: a ($t/^{\circ}\text{C} = 65$), b ($t/^{\circ}\text{C} = 82$) i c: uzorak ohlađen na sobnu temperaturu. Skala odgovara 100 μm (a), 250 μm (b) i 500 μm (c).

FIGURE 10.

Smectic textures of dodecylammonium dodecyl sulfate during heating: a ($t/^{\circ}\text{C} = 65$), b ($t/^{\circ}\text{C} = 82$), and c: example upon cooling to room temperature. Bar represents 100 μm (a), 250 μm (b), and 500 μm (c).

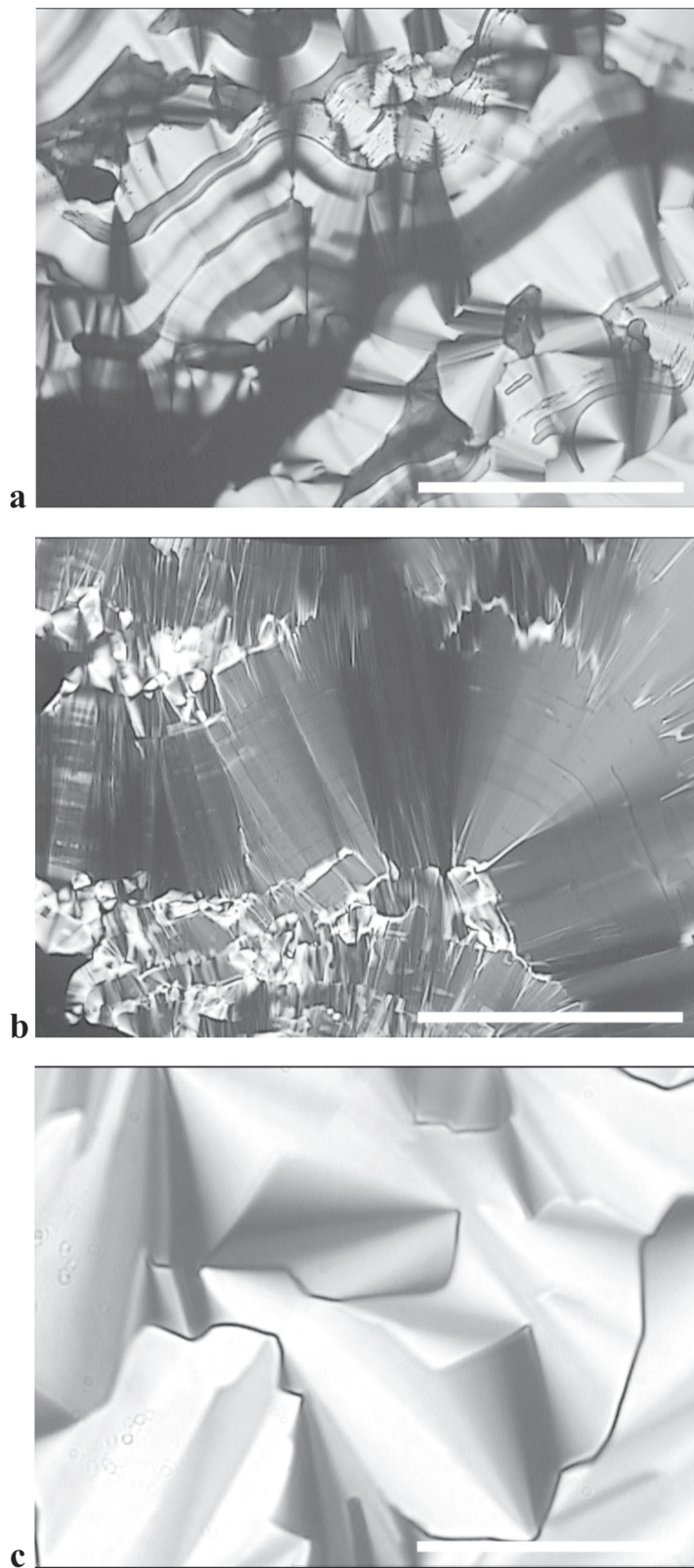


SLIKA 11.

Smektičke teksture dodecyltrimetilamonijevoga dodecyl sulfata, a: tijekom zagrijavanja ($t/^{\circ}\text{C} = 196$), te tijekom hlađenja b ($t/^{\circ}\text{C} = 167$) i c ($t/^{\circ}\text{C} = 23$, fazni kontrast). Skala odgovara 250 μm (a), 500 μm (b) i 250 μm (c).

FIGURE 11.

Smectic textures of dodecyltrimethylammonium dodecyl sulfate, a: during heating ($t/^{\circ}\text{C} = 196$), and upon cooling: b ($t/^{\circ}\text{C} = 167$), and c ($t/^{\circ}\text{C} = 23$, phase contrast). Bar represents 250 μm (a), 500 μm (b), and 250 μm (c).

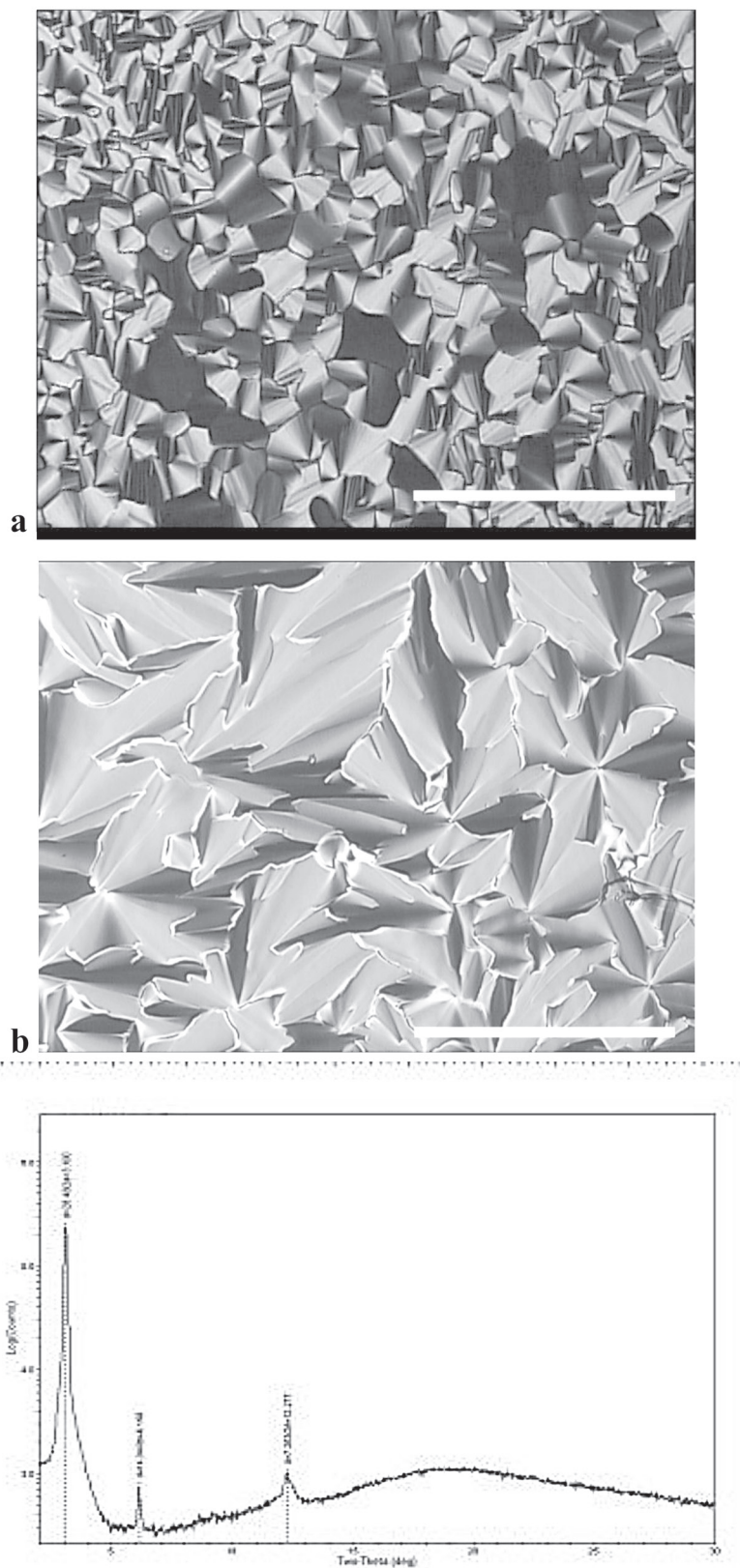


SLIKA 12.

Tekstura lamelarne faza dodecylamonijevoga dodecylbenzen sulfonata pri zagrijavanju: a ($t/^{\circ}\text{C} = 117$) i b ($t/^{\circ}\text{C} = 133$), te c: uzorka ohlađenoga na sobnu temperaturu. Skala odgovara $250\ \mu\text{m}$ (a i b) i $100\ \mu\text{m}$ (c).

FIGURE 12.

The texture lamellar phase of dodecylammonium dodecylbenzene sulfonate during heating: a ($t/^{\circ}\text{C} = 117$) and b ($t/^{\circ}\text{C} = 133$), and c: after cooling to room temperature. Bar represents $250\ \mu\text{m}$ (a and b) and $100\ \mu\text{m}$ (c).

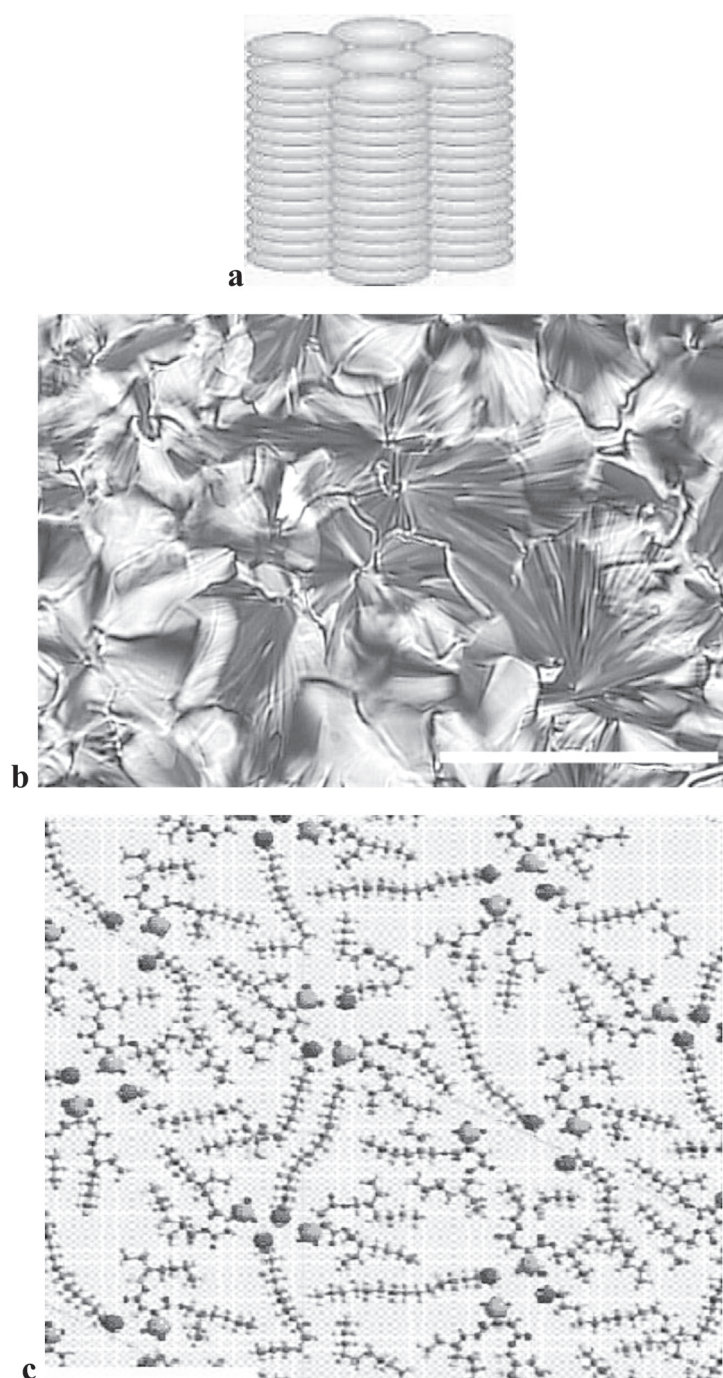


SLIKA 13.

Tekstura lamelarnih faza: a – dodeciltrimetilamonijev dodecilbenzen sulfonat i b – didodecildimetilamonijev dodecilbenzen sulfonat nakon hlađenja na sobnu temperaturu. Skala odgovara 250 μm (a i b). c – SAXS difraktogram didodecildimetilamonijevoga dodecilbenzen sulfonata.

FIGURE 13.

The texture of lamellar phase of : a – dodecyltrimethylammonium dodecylbenzene sulfonate and b – didodecyltrimethylammonium dodecylbenzene sulfonate upon cooling to room temperature. Bar represents 250 μm (a and b). c – SAXS diffractograms of didodecyltrimethylammonium dodecylbenzene sulfonate.

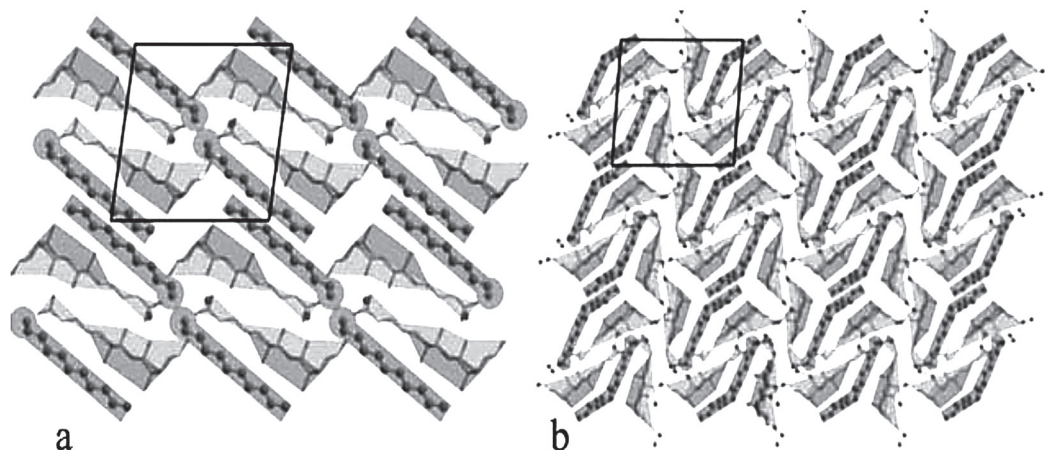


SLIKA 14.

a: Shema heksagonalne stupčaste mezofaze; b: tekstura heksagonalne stupčaste mezofaze decilamonijevoga bis(2-etilheksil) sulfosukcinata nakon hlađenja iz izotropnoga stanja na 27°C, te c: molekulska simulacija presjeka heksagonalnoga stošca s po dva ionska para. Skala na slici b odgovara 100 μm.

FIGURE 14.

a: The schema of columnar mesophase; b: the texture of decylammonium bis(2-ethylhexyl)-sulfosuccinate upon cooling from isotropic state to 27°C, and c: molecular simulation of hexagonal column cross-section with two ion pairs. Bar represents 100 μm (b).



SLIKA 15.

Usporedba dvoslojnih struktura kristalnih alkilamonijevih kolata: a – tip sendviča (1:1) i b – ukršteni dvoslojevi (1:2). Hidrofilne strane molekule kolne kiseline prikazane su crveno, NH_3^+ alkilamonijeve skupine plavo, a hidrofobna područja sivo.

FIGURE 15.

Comparison of bilayer arrangements of alkylammonium cholate molecules in the crystal structures: a – sandwich-type structure (1:1) and b – crossing-bilayers structure. The hydrophilic sides of cholic acid molecules are shown in red, the NH_3^+ groups of alkylammonia in blue and hydrophobic regions in grey.

H-veza, nastajanje šupljina/kanala s otapalom ili gostom, te dovodi do anizotropnih promjena dimenzija jedinične ćelije (26). U vodenim otopinama alkilamonijevi kolati prolaze kroz niz morfoloških transformacija, zavisnih o pH vrijednosti otopine (27). Na temelju elementne analize, IR i NMR spektara izračunata je raspodjela pojedinih vrsta u talogu alkilamonijevoga kolata. Porastom kiselosti opada udio 1:1 vrste, uz paralelan porast 1:2 vrste (dolazi do kokristalizacije s kolnom kiselinom), dok kod pH oko 2.5 počinje rasti zastupljenost same kolne kiseline (27). Kod 1:1 alkilamonijevih kolata stvaraju se karakteristični dvoslojevi (“bilayer-like”, “sandwich type”), dok kod 1:2 alkilamonijevih kolata nastupa transformacija pakiranja u vidu stvaranja ukrštenih dvoslojnih struktura (“crossing-bilayer type”) (26), kako je prikazano na slikama 15. a i b. Duljina osi b jedinične ćelije iznosi $b = 7.9 \text{ \AA}$, karakteristika je svih alkilamonijevih kolata neovisno o tipu kristalne rešetke. Alkilamonijevi kolati kao katanionska arhitektonska komponenta, važni su u molekulskom prepoznavanju/biomimetici kao pH- i “gost”-senzitivne tvari. Molekula kolne kiseline, kao “domaćin”, odražava molekulske informacije preko svojstava sklopa, a ne kao pojedinačna molekula, prepoznaje “gosta” po veličini, obliku i polarnosti, veće molekule “gosta” induciraju izomerizaciju molekule “domaćina” (26). Sve to otvara mogućnost daljnjeg istraživanja kontrole i finoga podešavanja molekulskih šupljina, ciljanim popunjavanjem molekulskih kanalića.

U najnovije vrijeme vrše se intenzivna ispitivanja međudjelovanja DNA i kationskih amfifila (28,29), koja se temelje na opisanim principima asocijacije dviju suprotno nabijenih amfifilnih molekula. Takva su istraživanja od velike važnosti u području biomedicinskih znanosti i farmaceutske primjene, za ekstrakciju i pročišćavanje DNA, transfer gena i

gensku terapiju (30). Općenito, značaj proučavanja svojstava katanionskih amfifila očituje se u znanosti u smislu temeljnih istraživanja njihovoga modelnog ponašanja, te u budućoj primjeni, daleko su od opsega i ograničenja sadašnjih zamisli.

ZAKLJUČCI

Važnost liotropnih svojstava katanionskih amfifila ogleda se u znanosti o životu radi njihove sklonosti da grade strukture koje omogućuju biokemijsko funkcioniranje živih stanica, povezujući anorgansku i organsku kemiju i fiziku s biologijom membrane, staničnim transportnim procesima, provođenjem signala i energije, agregiranjem, fuzijom i replikacijom. Katanionski amfifili i njihovi kompleksi obećavajući su kandidati za biomedicinsku upotrebu, kao dijagnostici i lijekovi. Još moraju biti istražene i objašnjene mnoge tajne povezane sa samoorganiziranjem i samoasociranjem njihovih jednostavnih i kompleksnih molekula, kako bi takva vrsta organskih tvari mogla poslužiti u razumijevanju života, njegovih početaka, te pri unaprjeđenju zdravlja čovječanstva.

Prikazana je morfologija različitih vrsta katanosoma (monodisperzni, polidisperzni, multilamelarne, oligovezikularne i cjevaste vezikule), te uvjeta pri kojima je favorizirano njihovo nastajanje. Također, prikazane su i morfologije različitih vrsta termotropnih katanionika: njihove karakteristične smektičke i heksagonalno stupčaste teksture, kao i kristalne strukture alkilamonijevih kolata. Svojstva alkilamonijevih kolata upućuju na njihovu važnost u molekulskom prepoznavanju tj. biomimetici, kao pH- i «gost»-senzitivnih tvari.

Zahvala

Rad je financijski potpomognut sredstvima Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske (Projekt br. 098-0982915-2949).

Acknowledgement

This work was supported by the Ministry of Education, Science and Sports of the Republic of Croatia (Project No. 098-0982915-2949).

LITERATURA

1. Van Oss CJ, Giese RF. Role of the properties and structure of liquid water in colloidal and interfacial systems. *J Dispersion Sci Technol.* 2004;25:631-55.
2. Demus D, Goodby J, Gray GW, Spiess HW, Vil V. Handbook of liquid crystals. U: Hoffmann S, urednik. Living systems. Weinheim: Wiley-VCH; 1998. str. 393-452.
3. Pelesko JA. Self assembly: the science of things that put themselves together. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC Taylor & Francis Group; 2007.
4. Rosen MJ. Surfactants and interfacial phenomena. Hoboken: John Wiley & Sons; 2004.
5. Pashley RM, Karaman ME. Applied colloid and surface chemistry. Canberra: John Wiley & Sons; 2004.
6. Lehn JM. Supramolecular chemistry and self-assembly special feature: Toward complex matter: supramolecular chemistry and self-organization. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:4763-8.
7. Hoffmann S. Liquid crystals in biological systems. *Angew Makromol Chem.* 2003;166:81-108.
8. Israelachvili JN, Mitchell DJ, Ninham BW. Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers. *J Chem Soc Faraday Trans.* 1976;72:1525-68.
9. Lasic DD. Liposomes: From physics to applications. Amsterdam - London - New York - Tokyo: Elsevier; 1993.
10. Zepik HH, Walde P. Achievements and challenges in generating protocell models. *Chem Bio Chem.* 2008;9:2771-2.
11. Walde P. Surfactant assemblies and their various possible roles for the origin(s) of life. *Orig Life Evol Biosph.* 2006;36(2):109-50.
12. Fyles TM. Bilayer membranes and transporter models. *Curr Opin Chem Biol.* 1997; 1:497-505.
13. Shinoda K, Yamguchi N, Carlsson A. Physical meaning of the krafft point: observation of melting phenomenon of hydrated solid surfactant at the krafft point. *J Phys Chem.* 1989;93:7216-8.
14. Skoulios A, Luzzati V. Structure of anhydrous sodium soaps at high temperatures. *Nature.* 1959;183:1310-2.
15. Luzzati V, Mustacchi H, Skoulios A, Husson F. La structure des colloïdes d'association. I. Les phases liquide-cristallines des systèmes amphiphile-eau. *Acta Cryst.* 1960;13:660-7.
16. Kimizuka N. Self-assembly in mesoscopic dimension and artificial supramolecular membranes. *Curr Opin Chem Biol.* 2003;7:702-9.
17. Kuo-Chang Wu KC, Huang ZL, Yang YM, Chang CH, Chou TH. Enhancement of catansome formation by means of cosolvent effect: semi-spontaneous preparation method. *Colloid Surface A.* 2007;302:599-607.
18. Tomašić V, Štefanić I, Filipović-Vinceković N. Adsorption, association and precipitation in hexadecyltrimethylammonium bromide/sodium dodecyl sulfate mixtures. *Colloid Polym Sci.* 1999;277:153-63.
19. Zana R. Dynamics of surfactant self-assemblies: micelles, microemulsions, vesicles and lyotropic phases. Boca Raton - London - New York - Singapore: Taylor&Francis; 2005.
20. Barker CA, Saul D, Tiddy JT, Wheeler BA, Willis E. Phase structure, nuclear magnetic resonance and rheological properties of viscoelastic sodium dodecyl sulphate and trimethylammonium bromide mixtures. *J Chem Soc Faraday Trans.* 1974;70:154-62.
21. Filipović-Vinceković N, Pucić I, Popović S, Tomašić V, Težak Đ. Solid-phase transitions of catanionic surfactants. *J Colloid Interface Sci.* 1997;188:396-403.
22. Tomašić V, Popović S, Filipović-Vinceković N. Solid state transitions of asymmetric catanionic surfactants. *J Colloid Interface Sci.* 1999;215:280-9.
23. Filipović-Vinceković N, Tomašić V. Solid phase transitions of ionic surfactants. U: Hubbard AT, urednik. Encyclopedia of surface and colloid science. Santa Barbara: Marcel Dekker Inc; 2002. str. 4718-36.
24. Ungar G, Tomašić V, Xie F, Zeng X. Structure of liquid crystalline aerosol-OT and its alkylammonium salts. *Langmuir.* 2009;25:11067-72.
25. Nakano K, Sada K, Kurozumi Y, Miyata M. Importance of packing coefficients of host cavities in the isomerization of open host frameworks: guest-size-dependent isomerization in cholic acid inclusion crystals with monosubstituted benzenes. *Chem Eur J.* 2001;7:209-20.
26. Tomašić V, Štefanić Z. Cholic acid as host for long linear molecules: a series of co-crystals with n-alkylammonia. *Cryst Eng Comm.* 2007;9:1124-8.
27. Tomašić V, Tušek-Božić Lj, Preočanin T, Kallay N. Influence of the pH on the formation of the catanionic n-tetradecylammonium cholate surfactant salt. *J Disper Sci Tech.* 2009;30:38-47.
28. Miguel GM, Pais ACCA, Dias SR, Leal C, Rosa M, Lindman B. DNA - cationic amphiphile interactions. *Colloid Surface A.* 2003;228:43-55.
29. Gorelov A, Kudryashov E, Jacquier JC, McLoughlin D, Dawson K. Complex formation between DNA and cationic surfactant. *Physica A.* 1998;249:216-25.
30. Pinnaduwege P, Schmitt L, Huang L. Use of a quaternary ammonium detergent in liposome mediated DNA transfection of mouse L-cells. *Biochim Biophys Acta.* 1989;985:33-7.

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE CATIONIC AMPHIPHILES

Vlasta Tomašić*, Tea Mihelj

“Rudjer Bošković” Institute, Department of Physical Chemistry
Laboratory for synthesis and processes of selfassembling of organic molecules
P. O. Box. 180, HR – 10002, Zagreb, Croatia

*Corresponding author: Dr. sc.Vlasta Tomašić

Ruder Bošković Institute, Bijenička c. 54, P.O.Box 180, HR-10002 Zagreb, Croatia
Tel.: +385-1-4571-211 / Fax: +385-1-4680-245 / E-mail address: vlasta.tomasic@irb.hr

Original scientific paper

ABSTRACT

Contemporary life is very complex. The spontaneous transformation of non-living matter to living entities is considered to be a result of a continuous evolutionary and prebiological process during which the molecular and supramolecular complexity increased. The field of supramolecular chemistry, to which the self-association of amphiphilic molecules belongs, may contribute to the development of research and different applications in the fields of biology, medicine and chemistry, and to the scientific understanding of life, health, diagnostic and therapy.

Solid cationic amphiphils can be synthesized by interaction between amphiphils or similar amphiphilic biomolecular compounds of the opposite electrostatic charge in aqueous solutions. Arrangement and preferred shape of cationic supramolecular aggregates are consequence of primarily electrostatic interactions and preferred hydrophilic and hydrophobic orientation of the abovementioned combination of molecules. Analysis of the morphological characteristics of many different cationic lyotropic and thermotropic liquid crystals allows association of their chemical structures with related mesostructures and corresponding physicochemical properties.

Key words: Surface-Active Agents – chemistry, chemical synthesis; Cationic surfactants; Mesophases; Membranes; Bilayers; Vesicles