

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

Перевязко Игорь Юрьевич

**СТРУКТУРА И СВОЙСТВА КАТИОННЫХ
ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ И КОМПЛЕКСОВ
НА ИХ ОСНОВЕ**

02.00.06 – Высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Санкт-Петербург

2018

Работа выполнена в Санкт-Петербургском государственном университете

Научный
руководитель: **Цветков Николай Викторович**, доктор физ.-мат. наук, профессор, профессор, заведующий кафедрой молекулярной биофизики и физики полимеров ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Официальные
оппоненты: **Галлямов Марат Олегович**, доктор физико-математических наук, доцент, доцент ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва

Амирова Алина Иршатовна, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Молекулярной физики полимеров», ФГБУН «Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук», г. Санкт-Петербург

Ведущая
организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Ленинградская обл., Гатчина

Защита состоится «__» _____ 2018 г. в _____ на заседании диссертационного совета Д 212.232.33 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук на базе Санкт-Петербургского государственного университета по адресу: 198504, Санкт-Петербург, Петродворец, Ульяновская ул., д. 1, малый конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. М. Горького Санкт-Петербургского государственного университета по адресу: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. Диссертация и автореферат диссертации размещены на сайте <https://disserspbu.ru>.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью, просьба направлять по адресу: 198504, Санкт-Петербург, Петродворец, Ульяновская ул., д. 1, ученому секретарю диссертационного совета Д 212.232.33 А.М. Поляничко.

Автореферат разослан «__» _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
к. ф.-м. наук, доцент

А.М. Поляничко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В последние десятилетия область макромолекулярной химии значительно продвинулась вперед, приводя к появлению широкого спектра полимерных систем, используемых для решения большого круга задач. Отдельное внимание было всегда уделено полиэлектролитам – макромолекулам, повторяющиеся звенья которых содержат заряженные фрагменты. С фундаментальной точки зрения, несмотря на огромное количество исследований в данной области, поведение и свойства полиэлектролитов все еще далеки от полного понимания. Для успешного решения проблем связанных с изучением заряженных полимеров необходимо проведение комплексных исследований, охватывающих различные топологии полиэлектролитов в максимально широком диапазоне молекулярных масс. Такие исследования должны представлять собой симбиоз различных аналитических методик, в особенности, таких как гидродинамические и оптические методы исследования растворов. Существенный прогресс в сфере производства и улучшения свойств искусственных материалов был достигнут после детального изучения их природных аналогов. Полимерная наука, в данном случае, не является исключением. Большинство природных полиэлектролитов, таких как гиалуроновая кислота, пектин, каррагинан или ксантановая камедь, представляют собой полисахаридную структуру (в большинстве случаев гидрофильную) с определенным статистическим распределением анионно-заряженных фрагментов. Конформационный анализ заряженных синтетических сополимеров, как упрощенной модели природных полиэлектролитов, может способствовать пониманию того, каким образом биополимеры эффективно функционируют в живой природе. Более того, в последние десятилетия особый интерес уделяется синтезу и последующим исследованиям биосовместимых катионных полиэлектролитов, вследствие их способности к образованию интерполиэлектролитных комплексов с биологическими активными макромолекулами (нуклеиновые кислоты, протеины, лекарственные препараты), которые используются для лечения различных врожденных и приобретенных заболеваний.

Степень разработанности темы исследования. Характерными представителями катионных полиэлектролитов являются поли (диаллил-диметил-аммоний-хлорид), поли-N, N-диметиламиноэтилметакрилат, поли-лизин, поливиниламин, катионные полиметакрилаты, полиэтиленимин и т. д. В то же время, ввиду большого практического потенциала данного класса макромолекул, синтезируется огромное количество новых полимерных структур. Исследование молекулярных и конформационных свойств катионных полиэлектролитов, а также комплексов на их основе, представляет одну из наиболее актуальных задач полимерной науки. В то же время, не смотря на объективную важность исследований в данной области, комплексные фундаментальные исследования, направленные на установление связи между структурой и свойствами полиэлектролитов, имеющих статистическое распределение зарядов, остаются недостаточными. Таким образом, разработка и исследование новых полиэлектролитных систем играют центральную роль при создании перспективных функциональных систем и нано-материалов, а также для дальнейшего развития теорий и моделей, описывающих поведение заряженных макромолекул.

Цели и задачи. Целью данной работы является исследование гидродинамических, молекулярных и конформационных характеристик линейных катионных полиэлектролитов, а также изучение процесса формирования и свойств интерполиэлектролитных комплексов на их основе. Для выполнения поставленной цели работы решались следующие задачи:

- изучение молекулярных (молярная масса, дисперсность и т.д.) и конформационных свойств (равновесная жесткость и диаметр полимерной цепи) катионных метилметакрилатов, содержащих различные ионогенные группы (первичные, вторичные и третичные аминогруппы): поли(2-аминоэтил-метакрилат) и поли ((2-аминоэтил)-метакрилат-*co*-N-метил-(2-аминоэтил)-метакрилат-*co*-N,N-диметил-(2-аминоэтил)-метакрилат), методами молекулярной гидродинамики: аналитическое ультрацентрифугирование, характеристическая вязкость, изотермическая диффузия;

- исследование молекулярных и конформационных свойств линейного полиэтиленimina (ПЭИ);
- изучение процесса формирования и конечных свойств полиэлектролитных комплексов на основе линейного полиэтиленimina и плазмидной ДНК при различных начальных условиях. Установление оптимальных условий для формирования стабильных комплексов, а также оценка их молекулярных (масса, размер, дисперсность) и биологических (токсичность, уровень трансфекции) характеристик.

Научная новизна

1. Были впервые изучены гидродинамические и конформационные свойства поли(2-аминоэтил-метакрилат) и поли((2-аминоэтил)-метакрилат-*co*-N-метил-(2-аминоэтил)-метакрилат-*co*-N,N-диметил-(2-аминоэтил)-метакрилат).
2. Впервые получены конформационные характеристики для линейного полиэтиленimina. Было обнаружено существенное несоответствие между планируемой (заявленной производителем) и фактической молярными массами линейного полиэтиленimina.
3. Детально изучено комплексообразование ДНК с ПЭИ в водных, физиологических средах при различных соотношениях азото- и фосфорсодержащих групп (соотношение N/P). Проведена количественная оценка состава комплексов при различных условиях их формирования.

Теоретическая и практическая значимость работы. В работе детально изучены молекулярные и конформационные характеристики фармацевтически релевантных катионных полиэлектролитов. Полученные данные могут быть использованы как при практическом применении исследованных полимерных систем, так и для развития общих, фундаментальных знаний о поведении и свойствах полиэлектролитов в растворах. Проведенные исследования полиэлектролитных комплексов дают важную информацию о структуре и свойствах комплексов, которая может быть непосредственно использована для улучшения применимости и эффективности генных комплексов.

Методология и методы исследования. Полимерные системы и комплексы на их основе изучались, используя комплексный подход, заключающийся в применении как стандартных аналитических методик (эксклюзионная хроматография, ЯМР, УФ-спектроскопия), так и фундаментальных методов молекулярной гидродинамики, в частности, аналитического ультрацентрифугирования, изучения поступательной диффузии макромолекул. При необходимости, морфология исследуемых объектов дополнительно изучалась с помощью сканирующей силовой микроскопии.

Положения, выносимые на защиту

- Гидродинамический и структурный анализ гомологических рядов катионных метакрилатов, содержащих первичные, вторичные и третичные аминогруппы в боковых цепях, не выявил существенного влияния типа и количества аминогрупп на конформационные характеристики полимеров. В то же время было обнаружено влияние α -концевой группы полимерной цепи на термодинамику взаимодействий полимерных макромолекул с растворителем. Установлено влияние некомпенсированных зарядов на цепи, на значение термодинамической жесткости.
- Результаты комплексного гидродинамического анализа позволили определить абсолютные значения молярных масс линейных полиэтилениминов. Установлено существенное отличие полученных величин от теоретически прогнозируемых, а также от значений молярных масс, определенных стандартными, но не абсолютными методиками. Показано, что конформация макромолекул в растворе соответствует поведению статистического клубка в отсутствие объемных эффектов.
- Установлены оптимальные условия для формирования стабильных комплексов ДНК/ПЭИ при физиологических условиях. Проведенный анализ показал наличие большого количества не связанного ПЭИ в дисперсиях полиплексов при различных соотношениях азото- и фосфоросодержащих групп. Обнаружено и исследовано влияние свободного полиэтиленимина на состав, размер и эффективность трансфекции комплексов ДНК/ПЭИ.

Степень достоверности результатов. Достоверность полученных результатов и выводов, сделанных на их основе, подтверждается корректностью поставленных задач, хорошей согласованностью первичных экспериментальных данных, использованием современных аналитических подходов к анализу этих данных, а также применением современных теоретических представлений при описании характеристик макромолекул в растворах.

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы были представлены на всероссийских и международных конференциях: 20th International Analytical Ultracentrifugation Conference, San Antonio, USA, March 25-30, 2012; IUPAC-PSK40: IUPAC International Symposium on Advanced Polymeric Materials, Jeju, South Korea, October 4-7 2016; Фундаментальные химические исследования XXI-го века, Москва, Россия, Ноябрь 20-24, 2016; 23rd International Analytical Ultracentrifugation Workshop and Symposium, Glasgow, Scotland, United Kingdom, July 23-28, 2017. Также, по результатам проведенных исследований было опубликовано четыре научных статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в библиографические базы данных РИНЦ, Web of Science и Scopus.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 94 страницах и содержит 42 рисунка и 13 таблиц. Рукопись состоит из введения, литературного обзора (глава 1), экспериментальных методов и материалов (глава 2), результатов и обсуждения (глава 3), заключения и списка литературы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **Введении** сформулированы цели и задачи работы, положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая значимость исследований, а также их актуальность.

В **Главе 1** приводится литературный обзор по исследуемой в работе тематике, а также рассматриваются основные теоретические аспекты используемых методов и подходов к анализу экспериментальных данных.

Глава 2 посвящена описанию экспериментальных методов, применяемых в работе, и условий постановки экспериментов, а также общей информации об исследуемых объектах и способах их получения.

Глава 3 включает в себя основные экспериментальные и теоретические результаты диссертации и подразделена на два основных раздела. Первый раздел посвящен молекулярному и структурному анализу катионных полиэлектролитов и в первой части данного раздела рассматривается поли(2-аминоэтил-метакрилат) и поли ((2-аминоэтил)-метакрилат-со-N-метил-(2-аминоэтил)-метакрилат-со-N,N-диметил-(2-аминоэтил)-метакрилат).

Полимеры были синтезированы методом RAFT полимеризации. Исходный анализ полимеров осуществлялся посредством стандартной эксклюзионной хроматографии. Для детального изучения молекулярных и конформационных свойств катионных гомо- и терполимеров на основе метакрилатов применялись классические методы молекулярной гидродинамики: вискозиметрия, скоростная седиментация, а также изотермическая диффузия. Соответственно, были определены характеристическая вязкость $[\eta]$, коэффициент седиментации s и коэффициент поступательной диффузии D . Вискометрические параметры Хаггинса (k_H) и Кремера, определяемые из измерений характеристической вязкости, были использованы для качественной оценки растворимости (термодинамики взаимодействий типа полимер-растворитель) макромолекул в растворе. В обоих случаях (гомо- и терполимера), наблюдается явная зависимость значений k_H от молярной массы полимера. При минимальных исследованных значениях молярных масс константы Хаггинса составляют 0.83 и 1.37 для гомо и терполимера соответственно. С увеличением молярной массы полимера значения k_H постепенно уменьшаются, достигая средних значений 0.3 – 0.4, отражая, тем самым, изменение (улучшение) термодинамического качества растворителя. Абсолютные молярные массы изучаемых полимеров определяли классическим седиментационно-диффузионным анализом. Поступательную диффузию изучали методом изотермической диффузии. Также значение коэффициента поступательной диффузии было определено из анализа седиментационных данных, используя специализированное программное обеспечение, *SedFit* – модель $c(s)$. Согласованность экспериментальных данных, полученных из независимых экспериментов, была установлена путем расчета гидродинамического инварианта A_0 , а также седиментационного параметра β_s , значения которых разумно коррелируют со средними

экспериментальными и теоретическими значениями, соответствующими гибкоцепным полимерам.

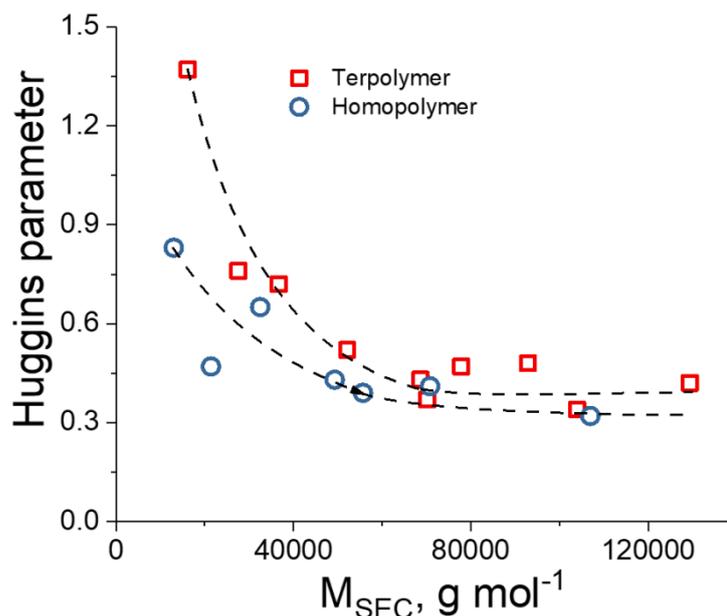


Рисунок 1. Вискометрический параметр Хаггинса для гомо- и терполимера, как функция от молярной массы полимера, в 0.2 M NaCl, вода, T = 25 °C.

Наиболее вероятная конформация изученных макромолекул в растворе определялась через канонические скейлинговые соотношения, величина найденных скейлинговых индексов для гомо- и терполимера предполагает конформацию набухшего статистического клубка. На основе полученных гидродинамических данных были рассчитаны значения термодинамической жёсткости и диаметра полимерной цепи, используя теорию Грея-Блумфильда-Хирста, в 0.2 M NaCl, вода, которые составляют $A = 5.3 \pm 1.5$ нм, и $d = 0.6 \pm 0.3$ нм для гомополимера и $A = 4.3 \pm 1.5$ нм и $d = 0.6 \pm 0.3$ нм для терполимера соответственно. Полученные значения, несмотря на относительно низкую погрешность, являются завышенными для данного типа линейных полимеров, что может быть связано с остаточными зарядовыми эффектами. Исходя из этого, были проведены измерения характеристической вязкости в присутствии сильного основания – 0.2 M NaOH. Такие условия должны практически нивелировать ионизацию макромолекул в растворе, приводя к уменьшению значения характеристической вязкости. Действительно, измеренные значения вязкостей в 0.2 M NaOH, в воде для обеих полимерных

систем были найдены существенно меньшими, в сравнении с 0.2 M NaCl , приводя к следующим скейлинговым соотношениям: $[\eta] = 0.012M^{0.59 \pm 0.04}$ и $[\eta] = 0.022 M^{0.50}$ для гомо- и терполимеров соответственно. Для оценки равновесной жесткости макромолекул гомополимеров была также использована теория Грея-Блумфильда-Хирста, приводящая к значению $A = 1.5 \text{ нм}$. В случае терполимеров значение скейлингового индекса было найдено равным 0.5, что соответствует Гауссовой конформации макромолекулы, когда объемные взаимодействия не проявляются. Поэтому жёсткость полимерной цепи терполимеров была оценена, используя теорию Хирста-Штокмайера для модели персистентного ожерелья, которая дает значение равновесной жесткости $A = 1.1 \text{ нм}$. Найденные значения жесткостей в 0.2 M NaOH являются более реалистичными величинами для данного типа полимеров.

Следующий раздел Главы 3 посвящен исследованию линейных полиэтилениминов (ПЭИ). Были исследованы шесть образцов ПЭИ, синтезированных из соответствующих поли (2-этил-2-оксазолин)ов кислотным гидролизом, и три коммерчески доступных образца линейных ПЭИ (Polyscience, обозначенные как: 2.5 kDa, 25 kDa, 250 kDa). Чтобы избежать возможных электростатических взаимодействий в растворе, все гидродинамические исследования проводились в 0.2 M NaBr метаноле. Полимеры исследовались методами молекулярной гидродинамики: характеристическая вязкость, поступательная диффузия и скоростная седиментация.

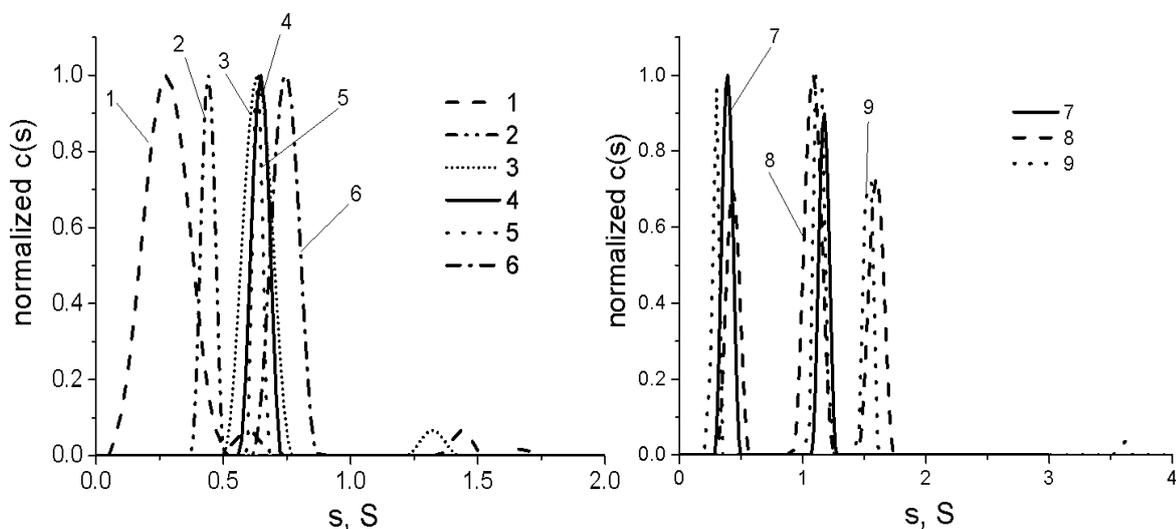


Рисунок 2. Нормализованные дифференциальные распределения коэффициентов седиментации образцов линейного полиэтиленимина

синтезированных в лаборатории (*слева*) и коммерчески приобретенных (*справа*), 0.2 M NaBr метанол, $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Образцы полиэтиленimina, синтезированные в лаборатории, преимущественно имеют унимодальный характер распределения, в то время как коммерческие образцы, во всех случаях, представлены мультимодальными распределениями (Рисунок 2). Такие мультимодальные распределения могут быть связаны с более высокой дисперсностью и/или неоднородностью исследуемых образцов. Значения коэффициентов поступательной диффузии определялись тремя способами: изотермической диффузией, ЯМР-спектроскопией и методом численного решения уравнения Ламма на основе седиментационного анализа. При дальнейших расчетах соответствующих параметрических характеристик макромолекул ПЭИ использовали средние значения коэффициентов диффузии из определенных тремя методами. Усреднение проводилось с использованием характеристических коэффициентов диффузии. Молярные массы полимеров рассчитывались, используя уравнение Сведберга. Экспериментально установленные значения молярных масс намного ниже, чем теоретически предсказанные и/или предоставленные поставщиком (Polyscience). Предполагалось, что молярная масса образцов из Polyscience должна увеличиваться десятикратно для каждого последующего образца (2.5 kDa – 25 kDa – 250 kDa), в то время как на основе седиментационно-диффузионного анализа, она увеличивается только в 2 раза (3.8 kDa – 7.3 kDa – 13.9 kDa). Соответственно, самая высокая молярная масса 13,900 г моль⁻¹ была получена для коммерческого образца полиэтиленimina, промаркированного молярной массой 250 kDa (образец 9, Polyscience). Такая же ситуация наблюдалась и для образцов, синтезированных в лаборатории: фактические значения молярных масс намного ниже теоретически прогнозируемых. Сравнение гидродинамических характеристик с молярной массой позволило получить информацию о конформации макромолекул ПЭИ в 0.2 M NaBr метаноле при 20 °C в изученном диапазоне молярных масс: $1.1\text{ kDa} \leq M \leq 13.9\text{ kDa}$: $[\eta] = 0.255 \times M^{0.56}$; $s_0 = 0.015 \times M^{0.48}$; $D_0 = 994 \times M^{-0.52}$. Диапазон низкой молярной массы полимеров, а также значения показателей степенных соотношений, близкие к 0.5, указывают на

отсутствие объемных эффектов. Для оценки длины статистического сегмента и диаметра полимерных цепей используем теории Хирста-Штокмайера и Ямакава-Фуджи, построенные на моделях червеобразного ожерелья или цилиндра без учета эффектов исключенного объема. Для оценки термодинамической жёсткости и диаметра полимерной цепи использовали ($M_L = 1.14 \times 10^9$ г моль⁻¹см⁻¹) и $\lambda = 37.8$ нм. Были найдены следующие значения A и d : $A_f = 2.3 \pm 0.3$ нм, $d_f = 0.5 \pm 0.2$ нм и $A_\eta = 1.5 \pm 0.3$ нм, $d_\eta = 0.3 \pm 0.2$ нм для данных на основе поступательного (A_f) и вращательного трения (A_η) соответственно.

Заключительный раздел **Главы 3** посвящен изучению комплексообразования плазмидной ДНК ($M_w = 2.1 \times 10^6$ г моль⁻¹) и линейного ПЭИ с молярной массой: $M_w = 13.4 \times 10^3$ г моль⁻¹. Формирование и свойства полиэлектролитных комплексов ДНК/ПЭИ были исследованы при различных соотношениях азото- и фосфоросодержащих групп (соотношение N/P).

Результаты анализа комплексов методом гель-электрофореза показывают, что вся ДНК оказывается связанной с ПЭИ при $N/P \approx 2$. Исследования методом скоростной седиментации показали, что добавление небольшого количества ПЭИ к раствору ДНК ($N/P < 1$) приводит к увеличению среднего значения коэффициента седиментации, а также уширению общего распределения. Дальнейшее увеличение концентрации ПЭИ в растворе ДНК ($1 \leq N/P \leq 4$) приводит к слиянию первоначально сформировавшихся полиплексов и образованию частиц с гораздо большими размерами. При содержании ПЭИ соответствующего $N/P > 4$, приводит к уменьшению среднего коэффициента седиментации и стабилизации комплекса в растворе. Асимметрию конечного комплекса оценивали по установленному значению фрикционного отношения – f/f_{sph} (Рисунок 3 А). Как можно видеть из представленной зависимости, существует явная тенденция уменьшения f/f_{sph} с увеличением отношения N/P , связанная с образованием более компактных и однородных комплексов ДНК/ПЭИ.

При относительно низких соотношениях N/P (≤ 1) гидродинамический размер объектов уменьшается в результате компактизации молекулы ДНК.

Минимальное значение ≈ 29 нм достигается при $N/P \approx 0.5$. Увеличение отношения N/P до 1 приводит к небольшому увеличению размера полиплексов, достигающего, примерно, 33 нм. Образование крупных агрегатов с размерами порядка 1,000 нм происходит при $N/P \approx 2$. Дальнейшее увеличение концентраций ПЭИ в растворе приводит к плавному уменьшению средних размеров частиц. При $N/P \geq 10$ полиплексы имеют средний размер около 170 ± 60 нм.

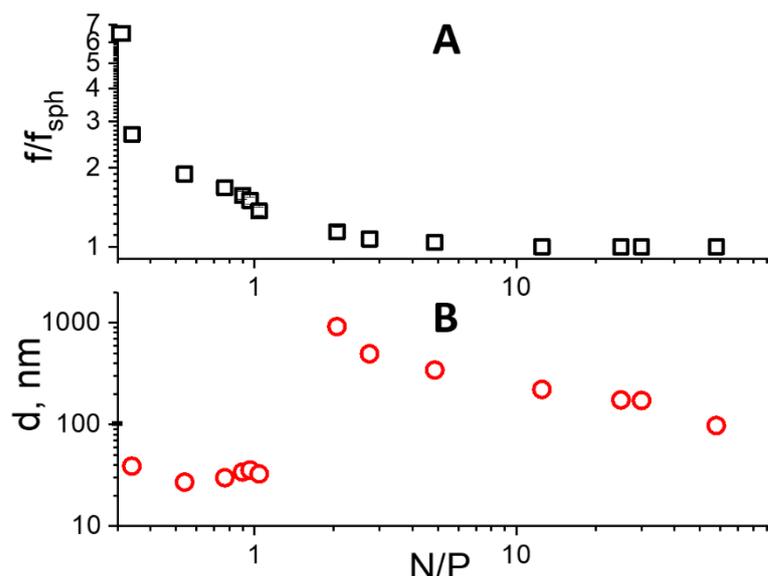


Рисунок 3. *A* – Зависимость фрикционного отношения f/f_{sph} от отношения N/P для комплексов ДНК/ПЭИ. *B* – Зависимость гидродинамического размера комплексов ДНК/ПЭИ от отношения N/P .

Морфология полученных комплексов была изучена сканирующей силовой микроскопией. Полученные результаты хорошо коррелируют с данными из седиментации и гель-электрофореза. Далее, используя комбинацию аналитического и препаративного ультрацентрифугирования, было определено содержание свободного ПЭИ в растворе, при различных отношениях N/P (6.2, 11.6, 28.6, 57.8). Определение свободного полиэтиленимина проводилось путем анализа надосадочной части раствора, после удаления сформированных комплексов препаративным центрифугированием. Согласно собранным данным, количество свободного ПЭИ увеличивается с 60.5 % при $N/P = 6.2$ до 90.5 % при $N/P = 57.8$. Следует отметить, что согласно полученным данным, фактически, весь ПЭИ связан с ДНК только при $N/P \leq 2.5$ (концентрация C_{PEI} (свободный) = 0 при $N/P \leq 2.5$).

Найденное соотношение связанного/свободного ПЭИ, а также количественные данные о молярных массах комплексов ДНК/ПЭИ позволили оценить состав комплексов. Так, при $N/P = 28.6$, полиплексы с размерами 170 нм состоят в среднем из 180 ДНК-плазмид и 88 молекул ПЭИ, тогда как 320 нм полиплекс при $N/P = 6.2$ состоит из 3,600 плазмид и 50 молекул ПЭИ. В то же время, при больших N/P наблюдались единичные полиплексы размером 50 ± 10 нм, которые состоят из 8 – 33 конденсированных молекул ДНК и 70 – 25 молекул ПЭИ. В дополнение к изучению физико-химических свойств, была исследована эффективность трансфекции полиплексов при различных соотношениях N/P : адекватные уровни трансфекции достигаются только при соотношениях $N/P \geq 10$, что хорошо согласуется с литературными данными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

В представленной работе были изучены гомологические ряды линейных, катионных полиэлектролитов, содержащих ионогенные группы различного характера: первичные, вторичные и третичные амины в основной или боковых цепях. Были исследованы интерполиэлектrolитные комплексы на основе линейного полиэтиленimina и плазмидной ДНК. Анализ полученных экспериментальных результатов позволяет сделать следующие выводы:

- Проведены комплексные гидродинамические исследования и конформационный анализ для макромолекул катионных гомо- и терполимеров на основе метакрилатов. Определены значения равновесной жёсткости и диаметра полимерных цепей.
- Обнаружено и экспериментально исключено влияние некомпенсированных зарядов на конформационные характеристики макромолекул катионных гомо- и терполимеров на основе метакрилатов в растворе. Установлено и исследовано влияние α -концевых групп на термодинамику взаимодействий полимер-растворитель.
- Для линейных полиэтиленiminiнов обнаружено существенное несоответствие между номинальной и фактической молярными массами. Впервые был получен полный набор скейлинговых соотношений для этих полимеров в растворах и количественно определены конформационные характеристики макромолекул линейных полиэтиленiminiнов.

- Определена степень связывания ДНК/ПЭИ, а также содержание свободного полиэтиленimina и его влияние на комплексообразование и уровень трансфекции комплексов в клетки. На основе проведенного анализа была получена количественная информация о структуре и составе комплексов при различных соотношениях азото- и фосфоросодержащих групп N/P .

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. *Perevyazko I., Trützschler A.-K., Gubarev A., Lebedeva E., Traeger A., Tsvetkov N., Schubert U. S.* Absolute characteristics and conformation of cationic polymers by hydrodynamic approaches: Poly(AEMA-co-MAEMA-co-DMAEMA) stat copolymers. // *European Polymer Journal*. – 2017. – V. 97. – p. 347-355.
2. *Perevyazko I., Trützschler A.-K., Gubarev A., Lebedeva E., Traeger A., Schubert U. S., Tsvetkov N.* Molecular and structural analysis via hydrodynamic methods: Cationic poly(2-aminoethyl-methacrylate)s. // *Polymer*. – 2017. – V. 131. – p. 252-262.
3. *Perevyazko I., Gubarev A. S., Tauhardt L., Dobrodumov A., Pavlov G. M., Schubert U. S.* Linear poly(ethylene imine)s: true molar masses, solution properties and conformation. // *Polymer Chemistry*. – 2017. – V. 8. – No. 46. – p. 7169-7179.
4. *Perevyazko I. Y., Bauer M., Pavlov G. M., Hoepfener S., Schubert S., Fischer D., Schubert U. S.* Polyelectrolyte Complexes of DNA and Linear PEI: Formation, Composition and Properties. // *Langmuir*. – 2012. – V. 28. – No. 46. – p. 16167-16176.
5. *Perevyazko I., Trützschler A.-K., Gubarev A., Lebedeva E., Traeger A., Schubert U.S., Tsvetkov N.* Molecular and Structural Analysis of Cationic Methacrylates via Hydrodynamic Methods. // In Programme Booklet 23rd International Analytical Ultracentrifugation Workshop and Symposium, Glasgow, Scotland, United Kingdom, July 23-28, 2017, p. 57.
6. *Perevyazko I., Trützschler A.-K., Lebedeva E., Schubert U. S. and Tsvetkov N.* Hydrodynamic Analysis of Novel Linear Cationic Polymers for Gene Delivery Applications. // In Book of abstract IUPAC-PSK40: IUPAC International Symposium on Advanced Polymeric Materials, Jeju, South Korea, October 4-7, 2016, p.47.
7. *Перевязко И., Трюшлер А., Губарев А.С., Лебедева Е.В., Шуберт У., Цветков Н.В.* Гидродинамический Анализ Инновационных, Катионных Полимеров для Применения в Генной Терапии // В Сборнике докладов Научной конференции грантодержателей РФ «Фундаментальные химические исследования XXI-го века», Москва, Россия, Ноябрь 20-24, 2016, с. 491
8. *Perevyazko I., Bauer M., Pavlov G.M., Hoepfener S., Schubert S., Fisher D., Schubert U.S.* Hydrodynamic study of formation and properties of PEI based polyplexes. // In Book of abstract 20th International Analytical Ultracentrifugation Conference, San Antonio, USA, March 25-30, 2012.