

УДК 541.182

МОДИФИКАЦИЯ МУЛЬТИЛИПОСОМАЛЬНЫХ НАНОКОНТЕЙНЕРОВ АЛЬБУМИНОМ КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ИХ УСТОЙЧИВОСТИ К ФЕРМЕНТАТИВНОМУ ГИДРОЛИЗУ

© 2021 г. А. В. Сыбачин¹, *, Д. А. Степанова^{1,2}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Ленинские горы, 1–3, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет наук о материалах, Ленинские горы, 1–73, Москва, Россия

*e-mail: sybatchin@mail.ru

Поступила в редакцию 14.10.2020 г.

После доработки 07.11.2020 г.

Принята к публикации 10.11.2020 г.

Изучено влияние фермента — липазы поджелудочной железы на анионные липосомы, загруженные доксорубицином, на их комплексы со сферическими поликатионными щетками и на тройные комплексы со щетками и бычьим сывороточным альбумином. Методом флуоресцентной спектроскопии исследована двухступенчатая кинетика ферментативного нарушения целостности мембран липосом, заполненных доксорубицином. Для всех обработанных ферментом образцов обнаружен индукционный период, составляющий 120 мин: время, в течение которого нет какого-либо серьезного повреждения мембран липосом. Затем наблюдается быстрое высвобождение инкапсулированного доксорубицина. Также обнаружено, что ферментативный гидролиз липосом и гидролиз бинарных комплексов щетки/липосомы протекает с одинаковой скоростью, в то время как для тройных комплексов наблюдалась достаточно длительная сопротивляемость к нарушению целостности липосом. Высказано предположение о роли альбумина как стерически экранирующего агента, затрудняющего ферментативный гидролиз липосом в мультилипосомальных комплексах.

DOI: 10.31857/S0023291221020117

ВВЕДЕНИЕ

Инкапсулирование лекарств — один из самых популярных способов повышения их эффективности. Различные типы носителей — полимеры, мицеллы, циклодекстрины, эмульсии — могут использоваться для увеличения растворимости лекарств, увеличения времени циркуляции, защиты от гидролиза и т.д. [1–4]. Липосомы представляют собой класс биосовместимых наноконтейнеров, способных инкапсулировать гидрофильные вещества во внутренней водной полости двухслойной липидной везикулы [5]. Липосомы могут использоваться как в качестве индивидуальных наноносителей, так и в качестве составной части сложных мультилипосомальных систем [6, 7]. Поскольку липосомы состоят из липидов, они могут подвергаться ферментативному гидролизу липазами, присутствующими в организме [8]. В целом липазы представлены в пищеварительной системе человеческого организма [9], однако высокая концентрация липаз была также зарегистрирована в некоторых областях опухолевых воспалений — например, фосфолипаза А2 содей-

ствует развитию воспалительного процесса у млекопитающих, способствуя образованию жирных кислот, включая арахидоновую кислоту. Затем арахидоновая кислота перерабатывается с образованием продуктов, индуцирующих воспалительные процессы, а также тромбоз. Считается, что избыточный уровень фосфолипазы А2 способствует возникновению ряда воспалительных заболеваний, и было показано, что он способствует воспалению сосудов, коррелирующему с инфарктами при ишемической болезни сердца и острым коронарном синдроме [10]. Таким образом, липосомальные контейнеры, специально предназначенные для лечения рака, могут подвергаться нежелательному разрушающему действию этих ферментов, гидролизующих сложноэфирные связи в липидах и, как результат, нарушающих целостность липосомальной мембраны, что приводит к нежелательному высвобождению инкапсулированного вещества из наноконтейнера.

Комплексообразование липосом с полиэлектролитами — перспективная стратегия защиты липидов от действия липазы [11]. Считается, что полиэлектролиты образуют барьерный слой меж-

ду липидами и ферментами. Эффективность стерической изоляции липосомальной мембраны макромолекулами от гидролизующих ферментов была отмечена J. Nan и соавторами [12]. Однако авторы [13] продемонстрировали, что модификация липидного монослоя дидеканоилглицерина хитозаном не придает поверхности защитных свойств по отношению к липазе поджелудочной железы. Более того, комплексы полиэлектролит–липосомы имеют множество вариаций пространственного расположения макромолекул и везикул в зависимости от природы полимеров, их архитектуры, размера и т.д. [14–18]. Таким образом, для структурированных комплексов “ядро–оболочка”, в которых липосомы образуют внешний слой вокруг частиц полиэлектролит–ядро, можно ожидать ослабления или полной потери защитного действия полимера от ферментативного гидролиза.

В данной работе анализируется поведение мультилипосомальных контейнеров в биологических жидкостях, действие гидролитического фермента – липазы – на липосомы в комплексе анионные липосомы–сферическая поликаатионная щетка (СПЩ) и перспективы их практического использования в качестве контейнеров.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

СПЩ были предоставлены проф. Баллауффом и представляли собой частицы полистирола размером 85 нм с привитыми катионными цепями гидрохлорида полиаминоэтилметакрилата со средней степенью полимеризации (n) 695 и средним расстоянием между цепями 5.8 нм [19]; среднее количество цепей на щетку (N) равно 675. Концентрация СПЩ определялась титрованием раствором полистиролсульфоната натрия и выражена в молях протонированных аминогрупп на литр, [СПЩ⁺].

Были использованы липиды производства Avanti Polar Lipids: электронейтральный диолеилфосфатидилхолин (ДОФХ) и анионный пальмитоилолеилфосфатидилсерин (ПОПС). Также использовались бычий сывороточный альбумин (БСА), Липаза II из поджелудочной железы свиньи (Seriva), доксорубицина гидрохлорид (Докс) (Teva).

Структура липидов, Докс и СПЩ показана на рис. 1.

Малые моноламеллярные липосомы получали с помощью ультразвуковой обработки [20]. Взвешенные количества ДОФХ и ПОПС растворяли в смеси метанол/хлороформ так, чтобы молярная доля анионного липида [ПОПС]/([ДОФХ] + [ПОПС]) составляла 0.3. Затем органический растворитель упаривали на вакуумном роторном испарителе

Laborota. Полученную тонкую липидную пленку диспергировали в 0.01 М буфере Трис/NaCl с pH 7.0 и концентрацией NaCl 0.15 М. Свежеприготовленную суспензию подвергали обработке ультразвуком на аппарате Cole-Parmer CP-750 в течение двух 5-минутных циклов. Пыль с титанового наконечника отделяли от приготовленных липосом центрифугированием на центрифуге Eppendorf Mini-spin со скоростью 10000 об./мин в течение 5 мин. Средний размер липосом находился в интервале 40–60 нм, их средняя электрофоретическая подвижность (ЭФП) составляла -3.2 ± 0.3 (мкм/с)/(В/см). Образцы использовались в течение суток после приготовления.

Малые моноламеллярные липосомы ПОПС/ДОФХ с молярной долей анионного липида $v = \frac{[\text{ПОПС}]}{([\text{ПОПС}] + [\text{ДОФХ}])} = 0.3$, содержащие флуоресцентный краситель Докс, получали по той же методике, за исключением того, что для диспергирования липидной пленки использовали ацетатный буфер с pH 4 [20]. Для замены внешнего раствора полученные липосомы пропускали через колонку с сефарозой CL4B, уравновешенную Трис-буфером (pH 7). Впоследствии к суспензии липосом добавляли раствор Докс, при этом происходила инкапсуляция красителя, вызванная градиентом pH. За процессом следили с помощью флуоресцентной спектроскопии. Эффективность загрузки составила 99%.

Во всех экспериментах использовался Трис-буфер с 0.15 М NaCl.

Методы исследования

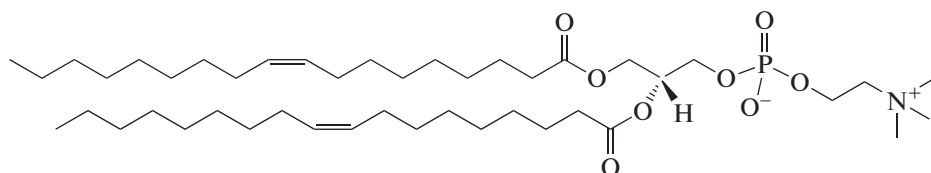
Гидродинамический диаметр частиц в суспензии определяли методом динамического рассеяния света на приборе Brookhaven Zeta Plus при фиксированном угле измерения (90°) в терморегулируемой ячейке.

ЭФП молекул в растворах и частиц в суспензиях определяли также при помощи анализатора Brookhaven Zeta Plus в термостатируемой ячейке.

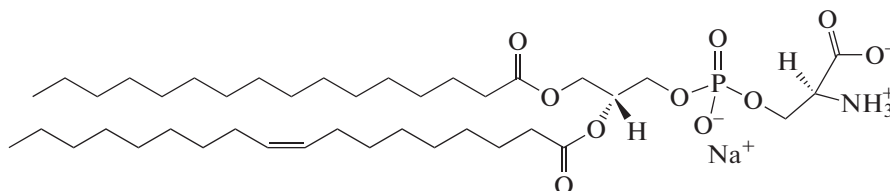
Интенсивность флуоресценции измеряли на флуориметре F-4000 (Hitachi) в суспензии флуоресцентно-меченных липосом при $\lambda_{\text{em}} = 591$ нм ($\lambda_{\text{ex}} = 530$ нм).

Концентрацию БСА измеряли на спектрофотометре Hitachi UV-mini 1240 при длине волны 280 нм, принимая коэффициент экстинкции равным 40700 моль/(см л), определенным по калибровочной кривой.

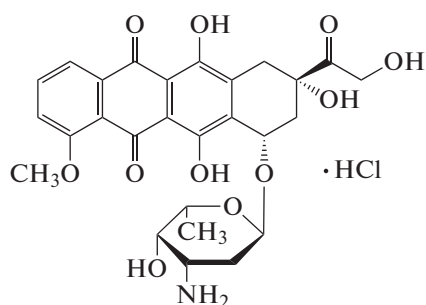
Отделение несвязанного БСА от комплексов производили с помощью центрифуги Eppendorf 5430 (15000 об./мин, 10 мин) с использованием центрифужных пробирок с фильтрующим дном с порами 100 нм.



Диолеилфосфатидилхолин (ДОФХ)



Пальмитоилолеилфосфатидилсерин (ПОПС)



Доксорубицина гидрохлорид (Докс)

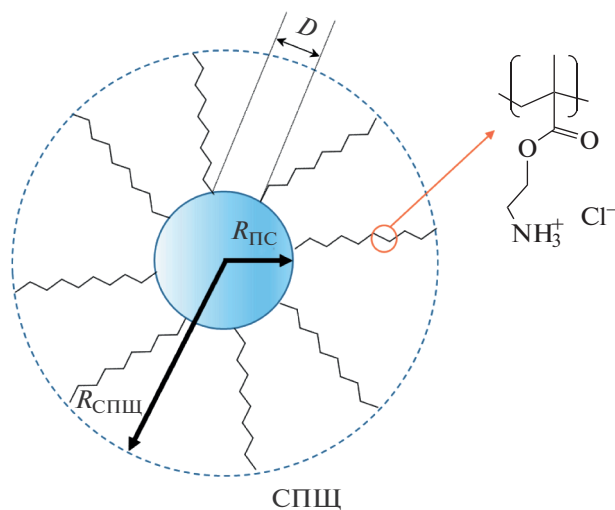


Рис. 1. Структура использованных реагентов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Насыщенные бинарные комплексы СПЩ–липосомы получали прямым смешиванием суспензий СПЩ и липосом в буфере Трис/NaCl с рН 7, как описано ранее [21]. Для суспензии шток с $[СПЩ^+] = 0.00014$ осново-моль/л концентрация липосом составила 0.65 мг/мл.

Влияние фермента на целостность липосом исследовали методом флуоресцентной спектроскопии. Сначала гидролиз, индуцированный липазой, был изучен для отдельных липосом. Зависимости относительной флуоресценции липосом с включенным флуоресцентным красителем Докс от времени инкубации представлены на рис. 2.

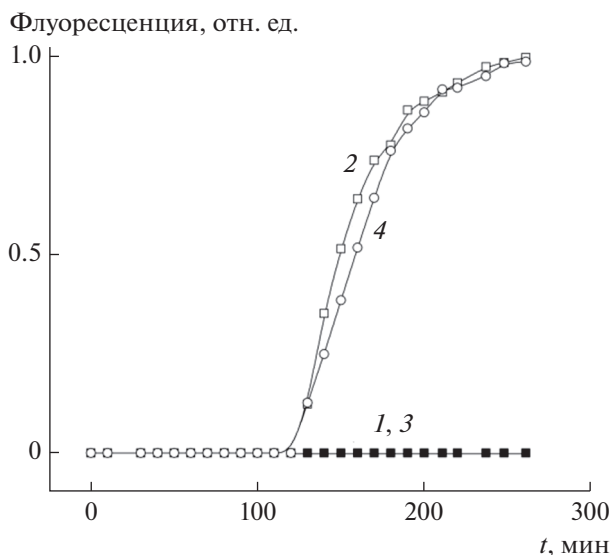


Рис. 2. Зависимости интенсивности флуоресценции Докс от времени в суспензиях липосом (1, 2) и в бинарных системах СПЩ–липосом (3, 4) без фермента (1, 3) и в присутствии липазы (2, 4). Концентрация поликатиона $[СПЩ^+] = 1.4 \times 10^{-4}$ осново-моль/л, концентрация липосом 0.65 мг/мл, концентрация липазы 0.1 мг/мл.

Для суспензии липосом, содержащих Докс в концентрации самотушения, интенсивность относительной флуоресценции не изменялась, по крайней мере, в течение 4 ч (кривая 1 на рис. 2). Это свидетельствует о сохранении целостности липидной мембраны [22]. Добавление липазы типа II из поджелудочной железы свиньи к суспензии липосом приводит к двухэтапному процессу, представленному на рис. 2 кривой 2. В течение 120 мин после добавления липазы никакого изменения флуоресценции не было обнаружено. Затем наблюдалось быстрое увеличение флуоресценции, указывающее на повреждение липосом и выход флуоресцентного красителя во внешний раствор. Полное высвобождение Докс было обнаружено спустя 260 мин инкубации. Индукционный период на кривых 2 и 4 можно приписать времени, которое необходимо ферменту для взаимодействия с липидной мембраной и образования эффективного для гидролиза комплекса фермент–субстрат с липидами. Особенно ярко этот процесс выражен для липосом, поверхность которых в значительной степени модифицирована наночастицами кремния [23]. Однако в ряде работ отмечено, что хотя накопление продуктов гидролиза липидов — жирных кислот начинается практически сразу же после добавления фермента, частичный гидролиз не приводил к образованию дефектов мембраны, достаточных для вытекания красителя. При этом индукционный период мог составлять от нескольких секунд до несколь-

ких часов [24]. Продолжительность индукционного периода, предшествующего формированию дефектов в липосомальной мембране, способствующих выходу инкапсулированного соединения, определяется в первую очередь природой липидов — длиной “хвостов”, формой и плотностью упаковки их молекул, наличием липидных доменов, а также дефектных областей в монослое липидов [25]. В то же время авторы [23] наблюдали для липосом с модифицированной поверхностью индукционный период ферментативного гидролиза, который не сопровождался накоплением продуктов гидролиза. О длительном неразрушающем бислой гидролизе липосом сообщают Т. Rades с коллегами [26]. В течение 60 мин липосомы, состоящие из соевого лецитина или гидратированного яичного лецитина, сохраняли размер, в то время как накопление продуктов гидролиза начиналось сразу после начала липолиза. Также Mouritsen и соавт. [24] предполагают, что в присутствии фермента повышение скорости высвобождения инкапсулированных в липосомы гидрофильных веществ после индукционного периода вызвано накоплением продуктов гидролиза и образованием в мембранах дефектов вследствие первоначального действия фермента. На сегодняшний день в литературе нет подробного обзора гидролиза малых моноламеллярных липосом смешанного состава, вызываемого действием липазы. Обычно отмечают, что дестабилизация бислоя происходит с момента начала взаимодействия липаза–липосомы [27, 28], вызывая в дальнейшем взрывной рост формирующихся дефектов в бислой. Однако сообщалось о случаях, когда гидролиз происходил во внешнем монослое липосом, не нарушая целостности липосом [29].

Образец липазы имел общее отрицательное значение ЭФП, равное -1.1 ± 0.1 (мкм/с)/(В/см) в Трис-буфере с pH 7 без NaCl. Таким образом, можно было ожидать конкурентного связывания липазы и липосом с катионными цепями СПЩ. Средний гидродинамический диаметр липазы составил 65 нм. Поэтому, с учетом несферической формы молекул фермента, он мог проникать в верхний слой поликатионных цепей щеток.

Бинарные насыщенные комплексы СПЩ–липосомы продемонстрировали сохранение целостности в отсутствие липазы, по крайней мере, в течение 260 мин (рис. 2, кривая 3). При добавлении фермента к суспензии бинарных комплексов наблюдалась временная зависимость высвобождения Докс аналогичная временной зависимости высвобождения этого флуорофора для смеси свободных липосом/липаза (рис. 2, кривая 4). Установлено, что индукционный период составлял 120 мин, а полное высвобождение красителя имело место за 260 мин инкубации. Таким образом, кулоновского взаимодействия между СПЩ и липазой в буфере Трис/NaCl недостаточно, и

взаимодействие липаза–липидная мембрана оказывается для системы предпочтительнее. Бинарный комплекс имеет структуру ядро–оболочка, где “ядро” представлено СПЩ, а “оболочка” образована слоем липосом. Таким образом, только “нижняя” часть липосом несет липиды, которые могут напрямую взаимодействовать с поликатионными цепями СПЩ. В свою очередь, привитые поликатионные цепи не могут покрывать большую площадь липосом и образуют только нерегулярные солевые связи. Это приводит к тому, что большая часть поверхности липосом оказывается доступной для атаки фермента. Таким образом, один и тот же профиль кинетических кривых гидролиза свободных липосом и липосом в бинарных комплексах отражает тот факт, что комплексообразование с СПЩ не придает дополнительной стабильности липосомам по отношению к ферментам. Схожий эффект наблюдали авторы [14], исследуя скорость гидролиза монослоев диацилглицерина и их комплексов с хитозаном.

Можно предположить, что плотность привитых цепей в местах контакта с липосомами очень мала, поэтому они не “защищают” липосомы от атаки липазы. Учитывая гидродинамический диаметр щетки, равный примерно 200 нм в комплексе с липосомами в Трис/NaCl буфере, можно показать, что расстояние между концами привитых цепей СПЩ в 5–7 раз больше, чем расстояние между их основаниями. С другой стороны, площадь поверхности липосом, контактирующих с поликатионными цепями, составляет почти половину общей поверхности везикул, как было показано ранее [30]. Таким образом, заполнение исключенного объема привитых цепей СПЩ плотными частицами могло бы частично “защитить” липосомы от действия липазы. Следовательно, стерические затруднения достижения липазой поверхности липосом в комплексе могут быть индуцированы модификацией бинарного комплекса СПЩ–липосомы плотными белковыми молекулами, например альбумином.

Изоэлектрическая точка БСА $pI = 4.6$ [31]. В Трис-буфере с $pH 7.0$ ЭФП белковых глобул составляет 1.2 ± 0.6 (мкм/с)/(В/см), что позволяет им адсорбироваться на поверхности катионных щеток. Молекула БСА представляет собой вытянутый эллипсоид с размерами $140 \times 40 \times 40 \text{ \AA}$ [32], поэтому она может проникать глубоко внутрь короны щеток. Для количественной оценки связывания БСА с СПЩ использовали следующую процедуру. Был приготовлен ряд смесей с постоянной концентрацией СПЩ, но с различной концентрацией БСА. Через 30 мин суспензии центрифугировали в пробирках с фильтрами 100 нм в течение 10 мин со скоростью 15000 об./мин на центрифуге Eppendorf 5430, что было достаточно для отделения всего несвязанного БСА от комплексов. Далее измеряли УФ-спектры прозрачных

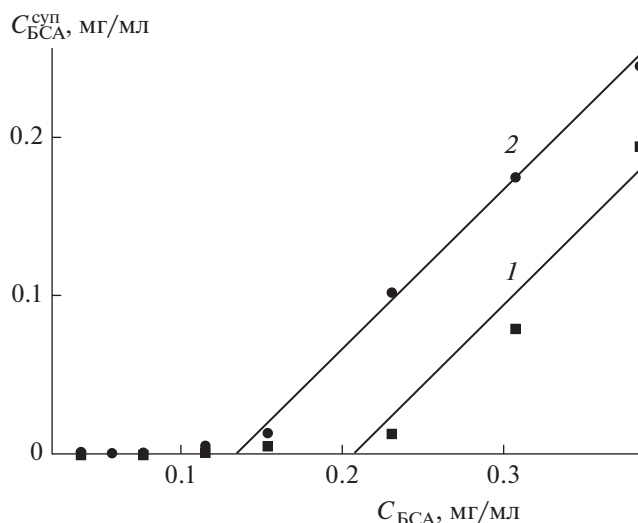


Рис. 3. Зависимости концентрации БСА в супернатантах комплексов СПЩ–альбумин (1) и комплексов СПЩ–липосомы–альбумин (2) в зависимости от концентрации добавленного БСА в системе. Концентрация поликатиона $[SPЩ^+] = 1.4 \times 10^{-4}$ основно-моль/л (1, 2), концентрация липосом 0.65 мг/мл (2).

супернатантов, а затем пересчитывали значения оптической плотности в значения концентрации БСА (рис. 3) с использованием калибровочного графика.

Как следует из кривой 1 на рис. 3, присутствие БСА в супернатантах не обнаруживалось до его концентрации в системе 0.22 мг/мл. Затем наблюдалось линейное увеличение концентрации БСА в супернатанте с увеличением содержания БСА в смеси с СПЩ. Измеренный гидродинамический диаметр насыщенного комплекса БСА–СПБ составил 220 ± 10 нм. Для анализа объема короны, занятой БСА, проделаем следующие вычисления. В буфере Трис/NaCl поликатионные цепи растянуты, их взаимного перекрытия не происходит [33]. Воздействием противоионов можно пренебречь, поскольку взаимодействие поликатиона с макромолекулой БСА сопровождается выходом противоионов во внешний раствор [34, 35]. Исключенный объем щеток ($V_{\text{и}}$), т.е. объем частицы, не занятый мономерными звеньями аминоэтилметакрилата, рассчитывали как

$$V_{\text{и}} = V_{\text{к}} - V_{\text{м}}nN, \quad (1)$$

где $V_{\text{м}}$ – объем мономерного звена полиаминоэтилметакрилата [36], n – степень полимеризации, N – количество цепей в составе одной СПЩ и $V_{\text{к}}$ – объем короны СПЩ, рассчитываемый как

$$V_{\text{к}} = (4/3)\pi R_{\text{СПЩ}}^3 - (4/3)\pi R_{\text{ПС}}^3, \quad (2)$$

где $R_{\text{СПЩ}}$ – радиус СПЩ и $R_{\text{ПС}}$ – радиус полистирольного ядра СПЩ.

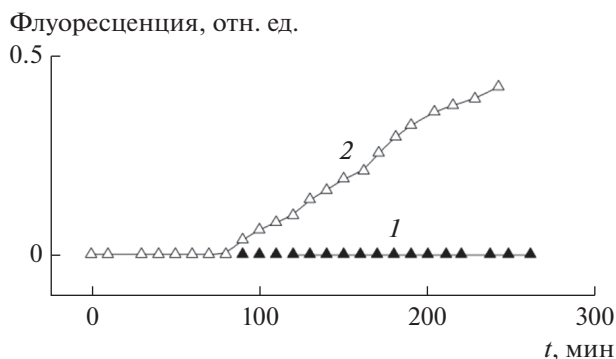


Рис. 4. Зависимости флуоресценции Докс от времени в суспензии тройного комплекса СПЩ–липосомы–альбумин без фермента (1) и в присутствии липазы (2). Концентрация поликатиона $[\text{СПЩ}^+] = 1.4 \times 10^{-4}$ осново-моль/л, концентрация липосом 0.65 мг/мл, концентрация липазы 0.1 мг/мл.

Проведенные расчеты позволяют сделать вывод, что менее 2% объема короны занято аминоктилметакрилатом.

Доля объема короны, занятая БСА (S), рассчитывалась как

$$S_{\text{БСА}} = C_{\text{БСА}}^* / (M_{\text{БСА}} N_A) / ([\text{СПЩ}^+] / (n N N_A)), \quad (3)$$

где $C_{\text{БСА}}^*$ — концентрация альбумина в насыщенном комплексе, N_A — число Авогадро. Было обнаружено, что $S = 65\%$. Как было установлено Guo с соавторами, БСА в смеси с катионными СПЩ не образует мостиковых солевых связей между парой щеток и заполняет объем короны до тех пор, пока не будет достигнуто насыщение [37]. Авторами работы [37] высказано предположение, что молекулы БСА распределены внутри короны неравномерно и их содержание выше ближе к полистирольному ядру. С увеличением расстояния от ядра плотность заселения короны СПЩ молекулами БСА уменьшается.

Насыщенные тройные комплексы СПЩ–липосомы–альбумин получали прямым смешением суспензий насыщенных бинарных комплексов СПЩ–липосомы и БСА в буфере Трис/NaCl с pH 7, как описано ранее [21]. Количественную оценку связывания БСА с комплексом СПЩ–липосомы проводили с помощью процедуры, описанной выше. Был приготовлен ряд смесей с постоянной концентрацией комплекса СПЩ–липосомы, но с различной концентрацией БСА. Через 30 мин суспензии центрифугировали в пробирках с фильтрующим дном с диаметром пор 100 нм в течение 10 мин со скоростью 15000 об./мин на центрифуге Eppendorf 5430, что было достаточно для отделения всего несвязанного БСА от комплексов. Далее измеряли УФ-спектры прозрачных супернатантов, а затем пересчитывали

значения оптической плотности в концентрации БСА (рис. 3) с использованием калибровочного графика.

Как следует из кривой 2 на рис. 3, присутствие БСА в супернатантах не обнаруживалось вплоть до концентрации белка 0.11 мг/мл. Затем наблюдалось линейное увеличение концентрации БСА в супернатанте с увеличением его содержания в смеси с СПЩ. Измеренный гидродинамический диаметр насыщенного тройного комплекса СПЩ–липосомы–альбумин составил 240 ± 10 нм.

Физико-химические аспекты образования тройных насыщенных комплексов СПЩ–липосомы–альбумин были описаны ранее [21]. Вкратце, в тройных комплексах БСА находится в короне привитых цепей СПЩ, при этом молекулы БСА не разрушают солевых связей между анионными липидами и катионными цепями СПЩ. С использованием уравнения (3) была рассчитана доля исключенного объема, занимаемая БСА в тройном комплексе; она составила 33%. Разумно предположить, что БСА относительно равномерно распределен в поликатионной короне СПЩ, за исключением объема, занимаемого липосомами. Рассмотрим влияние стерического экранирования на ферментативный гидролиз липосом в комплексе с СПЩ, “декорированными” БСА.

Целостность липосом в тройном насыщенном комплексе СПЩ–липосомы–альбумин контролировали с помощью флуоресцентной спектроскопии. Никакого выхода красителя Докс из заполненных им липосом в тройном комплексе не было обнаружено в течение 260 мин после начала инкубации (рис. 4, кривая 1). Профиль высвобождения красителя из тройного комплекса в присутствии липазы представлен на рис. 4 кривой 2. В течение первых 120 мин инкубации выхода Докс в окружающую среду обнаружено не было. Затем наблюдалось увеличение флуоресценции, отражающее нарушение целостности мембраны. Однако скорость выхода флуорофора была меньше, чем в суспензии бинарных комплексов СПЩ–липосомы. После 260 мин инкубации высвободилось менее 45% Докс. Таким образом, модификация мультилипосомального комплекса альбумином привела к увеличению его устойчивости к действию липазы. Частичное стерическое экранирование липосом значительно продлевает “время жизни” мультилипосомального наноконтейнера.

Следует обсудить дополнительный возможный сценарий стабилизации целостности липосом в тройных комплексах, обусловленный присутствием БСА. Как уже упоминалось выше, резкое (взрывное) высвобождение Докс из липосом после индукционного периода при добавлении фермента можно объяснить критическим изменением состава мембраны из-за накопления про-

дуктов гидролиза [24]. Продуктами гидролиза, катализируемого липазой, являются жирные кислоты, которые, как известно, дестабилизируют липосомный бислой в комплексах с поликатионом, даже присутствуя в мембране в небольшом количестве, из-за изменения кривизны мембраны [38]. В свою очередь, известно, что молекула БСА имеет области с высоким сродством к жирным кислотам и способна связываться с ними [39]. Таким образом, взаимодействие белок–жирная кислота в бислое могло иметь место и стабилизировать липосомальную мембрану. Однако это предположение требует дополнительных исследований.

Действие липаз – один из важнейших процессов, определяющих время жизни липосомальных наноконтейнеров, включая мультилипосомальные комплексы, в организме человека. Ферментативный гидролиз нарушает целостность липосом, снижая эффективность функционирования наноконтейнеров. Образование комплекса СПЩ с анионными липосомами не влияет на индуцированный липазой гидролиз липосом по сравнению со свободными липосомами. Общий суммарный отрицательный заряд фермента не обеспечивает электростатической иммобилизации (которая может дезактивировать фермент) липазы на щетках. Также, несмотря на относительно большой диаметр молекулы липазы, частичное стерическое экранирование липосом короной СПЩ не препятствует ферментативному гидролизу, который осуществляется со скоростью, сопоставимой со скоростью гидролиза свободных липосом. В свою очередь, модификация мультилипосомальных комплексов альбумином позволяет замедлить гидролиз и тем самым защитить наноконтейнеры от разрушающего действия липазы поджелудочной железы. Этот эффект может быть объяснен возникновением значительных стерических затруднений для молекул липазы при подходе к поверхности липосом, которая, в свою очередь, оказывается незащищенной в случае свободных везикул и везикул, входящих в бинарные комплексы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-03-00314).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Izumrudov V.A., Mussabayeva B.Kh., Kassymova Zh.S., Klivenko A.N., Orazzhanova L.K.* // Russ. Chem. Rev. 2019. V. 88. P. 1046.
2. *Torchilin V.P.* // Curr. Drug Deliv. 2005. V. 2. P. 319.
3. *Spiridonov V.V., Panova I.G., Topchieva I.N., Zakharov A.N.* // RSC Adv. 2016. V. 6, P. 44113.
4. *Singh Y., Meher J.G., Raval K., Khan F.A., Chaurasia M., Jain N.K., Chourasia M.K.* // J. Control. Release. 2017. V. 252. P. 28.
5. *Zakharova L.Ya., Kashapov R.R., Pashirova T.N., Mirgorodskaya A.B., Sinyashin O.G.* // Mendeleev Commun. 2016. V. 26. P. 457.
6. *Tretiakova D.S., Khaidukov S.V., Babayants A.A., Frolova I.S., Shcheglovitova O.N., Onishchenko N. R., Vodovozova E.L.* // Acta Naturae. 2020. V. 12. P. 99.
7. *Yaroslavov A.A., Efimova A.A., Sybachin A.V., Chvalun S.N., Kulebyakina A.I., Kozlova E.V.* // RSC Adv. 2015. V. 5. P. 31460.
8. *Lasic D.D.* // Trends Biotechnol. 1998. V. 16. P. 307.
9. *Armand M.* // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. 2007. V. 10. P. 156.
10. *Mallat Z., Lambeau G., Tedgui A.* // Circulation. 2010. V. 122. P. 2183.
11. *Jain P., Jain S., Prasad K.N., Jain S.K., Vyas S.P.* // Mol. Pharm. 2009. P. 6. V. 593.
12. *Liu W., Ye A., Han F., Han J.* // Adv. Colloid Interface Sci. 2019. V. 263. P. 52.
13. *Souza A.L., Pavinatto F.J., Caseli L., Volpati D., Miranda P.B., Oliveira O.N.* // Colloids Surf. B. 2014. V. 123. P. 870.
14. *Ivashkov O.V., Sybachin A.V., Efimova A.A., Pergushov D.V., Orlov V.N., Schmalz H., Yaroslavov A.A.* // ChemPhysChem. 2015. V. 16. P. 2849.
15. *Wang W.X., Gao J.Q., Liang W.Q.* // Drug Deliv. 2011. V. 18. P. 208.
16. *Billard A., Pourchet L., Malaise S., Alcouffe P., Montembault A., Ladavière C.* // Carbohydr. Polym. 2015. V. 115. P. 651.
17. *Yaroslavov A.A., Sybachin A.V., Zaborova O.V., Pergushov D.V., Zezin A.B., Melik-Nubarov N.S., Plamper F.A., Müller A.H.E., Menger F.M.* // Macromol. Biosci. 2014. V. 14. P. 491.
18. *Efimova A.A., Sybachin A.V., Yaroslavov A.A.* // Polym. Sci. Ser. C. 2011. V. 53. P. 18.
19. *Guo X., Zhao K.* // J. Phys. Condens. Matter. 2017. V. 29. P. 295101.
20. *Yaroslavov A.A., Panova I.G., Sybachin A.V., Spiridonov V.V., Zezin A.B., Mergel O., Gelissen A., Tiwari R., Plamper F.A., Richtering W., Menger F.M.* // Nanomedicine. 2017. V. 13. P. 1491.
21. *Sybachin A.V., Stepanova D.A., Melik-Nubarov N.S., Yaroslavov A.A.* // Polym. Sci. Ser. A. 2020. V. 62. P. 32.
22. *Le-Deygen I.M., Kudryashova E.V.* // Moscow Univ. Chem. Bull. 2018. V. 73. P. 69.
23. *Mohanraj V.J., Barnes T.J., Prestidge C.A.* // Int. J. Pharm. 2010. V. 392. P.285.
24. *Arouri A., Hansen A.H., Rasmussen T.E., Mouritsen O.G.* // Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 2013. V. 18. P. 419.

25. *Honger T., Jorgensen K., Biltonen R.L., Mouritsen O.G.* // *Biochemistry*. 1996. V. 35. P. 9003.
26. *Parmentier J., Thomas N., Mullertz A., Fricker G., Rades T.* // *Int. J. Pharm.* 2012. V. 437. P. 253.
27. *Cheong I., Zhou S.* // *Methods Enzymol.* 2009. V. 465. P. 251.
28. *Müller R.H., Rühl D., Runge S.A.* // *Int. J. Pharm.* 1996. V. 144. P. 115.
29. *Davies D.E., Critchlow M., Grainger D.W., Reichert A., Ringsdorf H., Lloyd J.B.* // *Biochim. Biophys. Acta*. 1991. V. 1084. P. 29.
30. *Yaroslavov A.A., Sybachin A.V., Zaborova O.V., Orlov V.N., Ballauff M., Talmon Y., Menger F.M.* // *Chem. Eur. J.* 2013. V. 19. P. 13674.
31. *Generalova A.N., Zubov V.P.* // *Polym. Sci. Ser. B.* 2016. V. 58. P. 385.
32. *Wright A.K., Thompson M.R.* // *Biophys. J.* 1975. V. 15. P. 137.
33. *Zhulina E.B., Borisov O.V.* // *Langmuir*. 2011. V. 27. P. 10615.
34. *Zezin A.B., Mikheikin S.V., Rogacheva V.B., Zansokhova M.F., Sybachin A.V., Yaroslavov A.A.* // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2015. V. 226. P. 17.
35. *Kayitmazer A.B., Seeman D., Minsky B.B., Dubin P.L., Xu Y.* // *Soft Matter*. 2013. V. 9. V. 2553.
36. <http://www.polymerdatabase.com/polymers/Poly2-hydroxypropylmethacrylate.html>
37. *Wang W., Li L., Henzler K., Lu Y., Wang J., Han H., Tian Y., Wang Y., Zhou Z., Lotze G., Narayanan T., Ballauff M., Guo X.* // *Biomacromolecules*. 2017. V. 18. P. 1574.
38. *Efimova A.A., Sybachin A.V., Yaroslavov A.A.* // *Polym. Sci. Ser. C.* 2011. V. 53. P. 18.
39. *Gew L.T., Misran M.* // *Nanoscale Res. Lett.* 2014. V. 9. P. 218.