



УДК 577.32

РОЛЬ ФОСФОЛИПИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ В ФОРМИРОВАНИИ СТАБИЛЬНЫХ ЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

© 2025 г. Е. Д. Белицкая*, **, #, В. А. Олейников*, ***, А. В. Залыгин*, ****

* ФГБУН ГНЦ “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН, Россия, 117997 Москва, улица Миклухо-Маклая, 16/10

** ФГАОУ ВО “Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)”, Россия, 141701 Долгопрудный, Институтский пер., 9

*** Национальный исследовательский ядерный университет “МИФИ”, Россия, 115409 Москва, Каширское шоссе, 31

**** ФГБУН “Физический институт им. П.Н. Лебедева” РАН, Троицкое обособленное подразделение, включающее “Троицкий Технопарк ФИАН”, Россия, 108840 Москва, Троицк, ул. Физическая, 11

Поступила в редакцию 18.12.2024 г.

После доработки 27.12.2024 г.

Принята к публикации 29.12.2024 г.

Рассмотрены физические методы исследования структурных характеристик комплексов включения супрамолекул фосфолипидных производных циклодекстринов. Эта модификация придает циклодекстину дополнительные структурные особенности, повышая его растворимость и стабильность в водных средах. Подобные новые соединения могут самособираться в водной среде в различные типы супрамолекулярных наноконструкций. Биомедицинские применения предусмотрены для наноинкапсулирования молекул лекарственных средств в гидрофобных межцепочечных объемах и нанополостях амфифильных циклодекстринов (служащих в качестве носителей лекарственных средств или фармацевтических вспомогательных веществ), противопухолевой фототерапии, доставки генов, а также для защиты нестабильных активных ингредиентов путем комплексообразования включений в наноструктурированных средах. Основное внимание уделяется изучению морфологии наночастиц, т.к. эффективные системы доставки должны соответствовать определенным требованиям. Классические физические методы не могут дать подробной информации о свойствах потенциальных структур для применения в биомедицине. Для этого необходим поиск новых неинвазивных подходов.

Ключевые слова: циклодекстрин, функциональные спейсерные липиды, адресная доставка лекарств, молекулярная динамика, малоугловое рентгеновское рассеяние

DOI: 10.31857/S0132342325030013, **EDN:** KPZLST

СОДЕРЖАНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ
2. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФОСФОЛИПИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ
3. МЕТОДЫ СИНТЕЗА И ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИИ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ

Сокращения: CD – циклодекстрин; CMG2 – карбоксиметилглицин (carboxymethylglycine); DOPE – диолеилфосфатидилэтанолламин (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine); АСМ – атомно-силовая микроскопия; ДРС – динамическое рассеяние света; ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия; крио-ПЭМ – криоэлектронная просвечивающая микроскопия; МУРР – малоугловое рентгеновское рассеяние; МД – молекулярная динамика.

Автор для связи: (эл. почта: belitskayakatya@yandex.ru).

4. ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФОСФОЛИПИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ
5. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ И МЕХАНИЗМЫ ДОСТАВКИ ПРЕПАРАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИПИДНЫХ ЧАСТИЦ
6. ПЕРСПЕКТИВЫ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ САМОСОБИРАЮЩИХСЯ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ
7. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ВВЕДЕНИЕ

Внедрение нанотехнологии в биомедицину привело к расширению применения наноматериалов для доставки и контролируемого высвобождения лекарственных веществ [1]. Биосовместимые наноматериалы, такие как липосомы, мицеллы, дендримеры, производные циклодекстрина, твердые липиды, наночастицы оксидов металлов и диоксида кремния, представляют собой перспективные инструменты для доставки лекарств [2]. Они обладают различными уникальными свойствами, такими как способность увеличивать время циркуляции лекарственных веществ в организме, улучшать биораспределение, а также для них характерна высокая растворимость и потенциальная возможность обеспечивать внутриклеточную доставку и проникновение через биологические мембраны [3]. Особое внимание уделяется полимерным наночастицам, которые обеспечивают контролируемую доставку лекарств к пораженным тканям [4].

На сегодняшний день разработано множество многофункциональных наноносителей, основанных на супрамолекулярной самосборке различных молекул, из которых наиболее широко представлены липиды (фосфолипиды и холестерин), служащие основными компонентами липосом, уже применяемых в лекарственных препаратах, таких как Ambisome, Doxil и Myocet. Одновременно циклодекстрины – важные компоненты липидных наночастиц [5]. Они представляют собой макроциклические олигосахариды, состоящие из гликозильных звеньев, соединенных $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями. Структура α -, β - и γ -циклодекстринов, содержащих 6, 7 и 8 гликозильных звеньев соответственно, показана на рис. 1. Они обладают способностью образовывать соединения включения с гидрофобными молекулами, увеличивая растворимость и стабильность лекарственных средств, а также их абсорбцию и проникновение

через биологические барьеры [6], их получают путем ферментативного превращения крахмала циклодекстрингликозилтрансферазой [7].

Модификацию циклодекстринов можно проводить путем химической функционализации, используя открытые первичные и вторичные гидроксильные спирты глюкозильных звеньев.

Амфифильные циклодекстрины представляют особый интерес и находятся в центре многочисленных исследований, в которых рассматриваются перспективы этих соединений в качестве наноносителей [8]. Производные циклодекстрина образуют коллоидные суспензии наноразмерных дисперсных частиц и комплексы с гидрофобными лекарственными средствами, что делает их ценными для инкапсуляции лекарственных препаратов [9]. Они также обладают низкой цитотоксичностью и негемолитическими свойствами, что важно для доставки лекарственных средств [10]. Комбинация производных циклодекстринов с модифицированными формами фосфолипидов создает наноструктуры, обладающие высокой аффильностью к биологическим мембранам [11].

Формирование наночастиц с определенными поверхностными свойствами – ключевой фактор, определяющий их поведение в биологической среде. Структура поверхности наночастиц играет важную роль в обеспечении эффективности лекарственного средства. Эффективные системы доставки должны соответствовать нескольким требованиям. Размер наночастиц должен быть больше 5 нм, но не превышать 100 нм, чтобы обеспечить низкую иммуногенность. Кроме того, форма наночастиц также влияет на их иммуногенность. Исследования показывают, что чем более отличается форма наночастиц от сферической, тем ниже иммуногенность [12]. Также важный аспект – стабильность наночастиц, особенно для мицеллярных структур. Она выражается через критическую концентрацию мицеллообра-

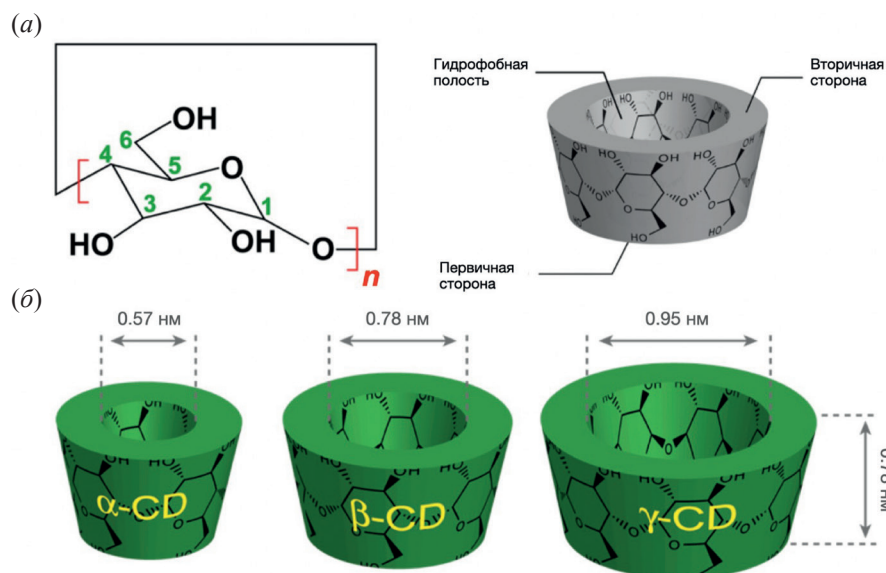


Рис. 1. (а) – Функциональная структурная схема α -CD ($n = 6$), β -CD ($n = 7$) и γ -CD ($n = 8$); (б) – геометрические размеры циклодекстринов [6].

зования, которая должна быть как можно ниже (обычно $\sim 3\text{--}5$ мМ). Кроме того, структура поверхности наночастиц должна быть гидрофильной и подвижной, чтобы обеспечить продолжительное время циркуляции в кровотоке [13]. Вследствие всех перечисленных факторов характеристика структуры поверхности наночастиц становится значимой задачей для повышения эффективности доставки лекарств. Однако из-за небольших размеров циклодекстринов и их производных сложно проводить характеристику с использованием стандартных экспериментальных методов. Поэтому необходимо более детальное рассмотрение новых подходов к характеристике свойств наночастиц.

В данной обзорной статье рассмотрена роль фосфолипидных производных циклодекстринов в формировании стабильных липидных наночастиц для доставки лекарственных препаратов, изучены их молекулярные структуры, методы синтеза и функционализации, а также способность увеличивать эффективность доставки и стабильность лекарственных средств. Особое внимание уделено физическим методам исследования фосфолипидных производных циклодекстринов, преимуществам и перспективам их использования в наномедицине.

2. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФОСФОЛИПИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ

Фосфолипидные производные циклодекстринов состоят из макроцикла циклодекстрина с присоединенными к нему гидрофобными и гидрофильными фрагментами. Гидрофобные фрагменты могут включать холестерин, алкильные цепи различной длины, фторированные цепи или более сложные синтетические пептидолипидные и фосфолипидные заместители. Гидрофильные фрагменты могут включать олиго- (этиленгликолевые) цепи. Эти производные имеют амфифильный характер, поскольку имеют в своем строении как гидрофобные, так и гидрофильные участки [14].

В зависимости от модификаций молекул можно выделить три основных класса амфифильных циклодекстринов (некоторые конкретные модификации показаны на рис. 2): 1) циклодекстрины с гидрофобными закрепителями на первичной поверхности; 2) циклодекстрины с гидрофобными закрепителями на вторичной поверхности; 3) циклодекстрины с гидрофобными или гидрофильными закрепителями на обеих сторонах [15].

Фосфолипидные производные циклодекстринов имеют модифицированные грани, причем вторичные грани часто замещаются метильными групп-

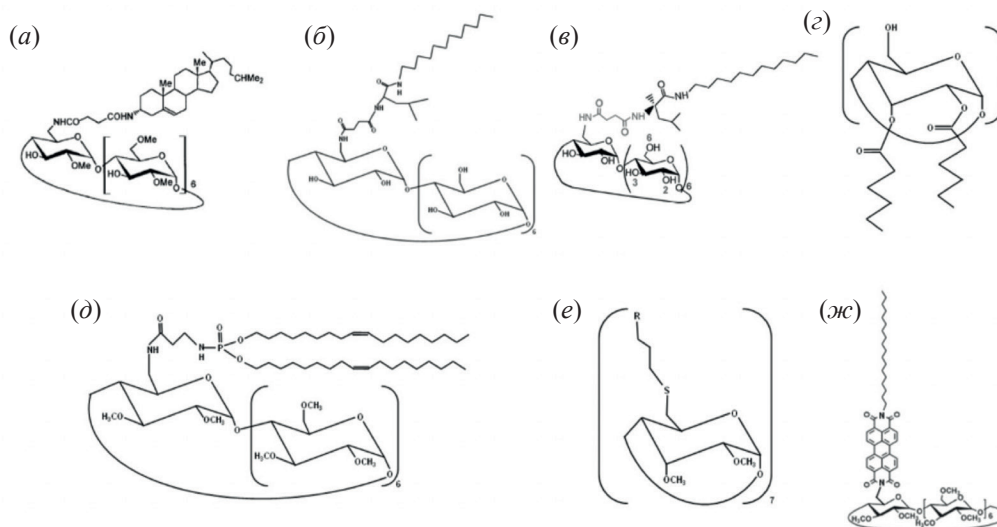


Рис. 2. Амфифильные циклодекстрины, полученные модификациями макроцикла: холестерин-циклодекстрин (а), пептидолипидил-циклодекстрин (б); монолаурил-циклодекстрин (в), гексаноил-циклодекстрин (г), фосфолипидил-циклодекстрин (д); фторированный циклодекстрин (BC6F13: R=C6F13) (е) и октадецилперилен-циклодекстрин (ж) [15].

пами. Первичные поверхности могут быть модифицированы различными гидрофобными и гидрофильными заместителями. В зависимости от баланса между гидрофобными и гидрофильными связующими, эти производные могут образовывать супрамолекулярные агрегаты в водной среде. Введение гидрофильных олиго- (этиленгликолевых) цепей на вторичную поверхность повышает растворимость производных в воде и улучшает их свойства при длительной циркуляции [9]. Существуют исследования, в которых была успешно осуществлена прививка холестеринных фрагментов через спейсеры различной длины к первичным гидроксильным группам молекулы β -циклодекстрина (которая была перметилирована на своей вторичной поверхности) [16].

3. МЕТОДЫ СИНТЕЗА И ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИИ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ

Амфифильные циклодекстрины получают путем прививки гидрофобных заместителей на первичную или вторичную поверхность или на обе одновременно. Они могут быть спроектированы таким образом, чтобы реагировать на внешние раздражители [17], встраиваться в двухслойные мембраны [18] или образовывать агрегаты, подобные изображенным на рис. 3, для инкапсуляции и

переноса лекарственных препаратов к конкретным мишеням [19]. Амфифильные циклодекстрины могут самоорганизовываться в различные супрамолекулярные сборки в зависимости от химической природы привитых цепей, их расположения и степени замещения [20].

В работе [21] фосфолипидциклодекстрины были синтезированы посредством образования амидной связи между моно-6I-амино-6I-дезоксигептакис-2,3-*O*-метил-гексакис-6-*O*-метилцикломальтогептаозой и фосфолипидом, в частности 1,2-ди-миристоил-*sn*-глицеро-3-фосфоэтанол-амином (DMPE). Этот синтез позволяет прививать фосфолипид к молекуле циклодекстрина, создавая новые гликоконъюгаты с интересными для биомедицины свойствами. Цель этого синтеза — имитация природных мембран путем замены гидрофобной части циклодекстрина фосфолипидом. Полученные соединения проявляют свойства самоорганизации, сходные с фосфолипидами, и сохраняют способность циклодекстриновой части включать гостевые молекулы.

Определенный тип амфифильных циклодекстринов был получен путем прививки жирных кислот с различной длиной цепи к гидроксильным группам вторичной поверхности циклодекстрина либо следуя химическому пути [22], либо используя термолизин в качестве биокатализатора

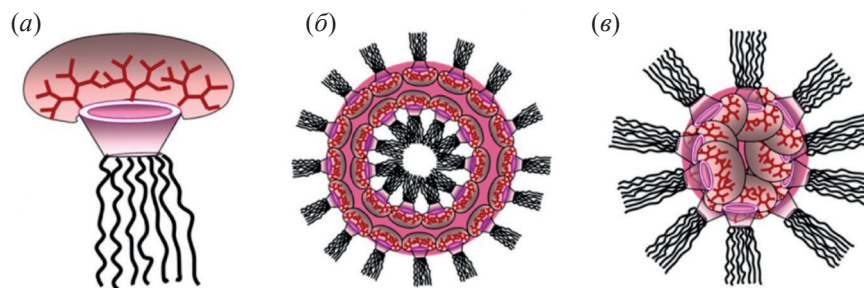


Рис. 3. Схематическое изображение амфифильных дендримеров (а) и предлагаемых агрегатных структур, самостоятельно собираемых из этих дендримеров (б, в) [18].

перезтерификации донором винилового эфира жирных кислот [23]. Показано, что полученные производные самоэтерифицируются, организуются с помощью процедуры нанопреципитации в наносферы или системы наноресурсов, в зависимости от рецептуры [24].

Модификации циклодекстринов могут быть осуществлены ферментативными путями или реакциями химического конъюгирования с использованием amino-, amido-, thio-, сложно-эфирных, эфирных или фторводородных связей. Универсальность этого подхода привела к синтезу огромного числа амфифильных циклодекстриновых систем.

4. ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФОСФОЛИПИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ

Для характеристики супрамеров производных циклодекстринов и их комплексов с лекарственными веществами применяют множество экспериментальных физических методов.

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) позволяет определить морфологию образующихся супрамеров и структуру производных фосфолипидов на наноуровне. АСМ также можно использовать для измерения механических свойств производных фосфолипидов, таких как эластичность и силы адгезии. Эта информация может дать представление о поведении самосборки и стабильности производных фосфолипидов. Но в этом подходе требуется зонд с наименьшим радиусом кривизны и адсорбция исследуемых наночастиц на плоской подложке, которые,

возможно, могут изменять исследуемые свойства [25].

Динамическое рассеяние света (ДРС) позволяет получить статистические данные о распределении размеров образующихся наночастиц [26]. Размер наночастиц играет ключевую роль в их поведении и взаимодействии с окружающей средой. Изучение размерных характеристик наночастиц, формируемых амфифильными производными циклодекстринов, позволяет определить их размеры, форму и распределение в пространстве — это ключевые параметры для оценки структуры и стабильности наночастиц.

В исследованиях с применением дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) изучали термотропные свойства гидратированных фосфолипидов в присутствии амфифильных циклодекстринов. Результаты показали значительное расширение эндотермий и снижение температуры плавления цепей фосфолипидов, что позволяет предположить влияние включения циклодекстрина на организацию липидной мембраны [27].

ЯМР дейтерия был использован для исследования внедрения производных монолаурил- и дилаурил-β-циклодекстрина в фосфолипидные бислои [14]. Авторами исследования было обнаружено боковое разделение фаз между фазой, богатой циклодекстрином, и чистой липидной фазой, стабилизированной межмолекулярными водородными связями на границе раздела мембран.

Изотермы поверхностного давления/площади были использованы для изучения поведения монослоев амфифильных циклодекстринов и

фосфолипидов в динамических условиях сжатия [28]. Результаты показали смешиваемость этих компонентов, что позволяет предположить их потенциальное включение в липидные бислои.

Метод электронной микроскопии (ЭМ) широко используется в исследованиях наноматериалов [29]. В работе [30] приводятся результаты детального ультраструктурного исследования методом криоэлектронной просвечивающей микроскопии (крио-ПЭМ) коллоидных наночастиц, приготовленных из серии производных β -циклодекстринов. Изображения крио-ПЭМ (рис. 4) показывают сферическую форму наночастиц циклодекстринов, модифицированных алкильными цепями различной длины: β CD-C10 и β CD-C14. Частицы имеют луковичкообразную структуру с плотно упакованными концентрическими бислоями, хотя β CD-C14 обладает менее упорядоченной структурой и редко имеет мультисамеллярное строение. Производные с низкой степенью замещения формировали наносферы, а с высокой степенью замещения образовывали более сложные структуры.

Масс-спектрометрия – мощный метод, используемый для исследования производных циклодекстрина. В работе [31] для характеристики сложных амфифильных смесей циклодекстрина использовали масс-спектрометрию с положительным и отрицательным электрораспылением

ионизационного типа с высоким разрешением. Этот метод позволил идентифицировать и охарактеризовать различные изомеры производных циклодекстрина на основе отношения их массы к заряду. Относительные интенсивности фрагментарных ионов были использованы для образования региоизомерных групп, что дало ценную информацию о структуре и составе производных.

Малоугловое рентгеновское рассеяние (МУРР) – точный метод определения структурных характеристик [32], предоставляющий ценные данные о неупорядоченных системах, включая растворы наночастиц. Общие структурные параметры частицы и ее строение при низком разрешении легко доступны по кривой МУРР из монодисперсного раствора. Этот метод позволяет непосредственно получить важную информацию о морфологии липидных частиц, такую как радиус вращения, максимальный размер, масса, исключенный объем и функция распределения по расстоянию. МУРР – неинвазивный метод, подходящий для периодического определения характеристик липидных частиц в физиологических условиях. Его успешно использовали для изучения различных биологически значимых липидных частиц, включая липосомы, мицеллы и дендримеры. МУРР применяли для исследования включения монозамещенных холестерилциклодекстринов (Chol- β -CD) в модельные фосфолипидные мембраны.

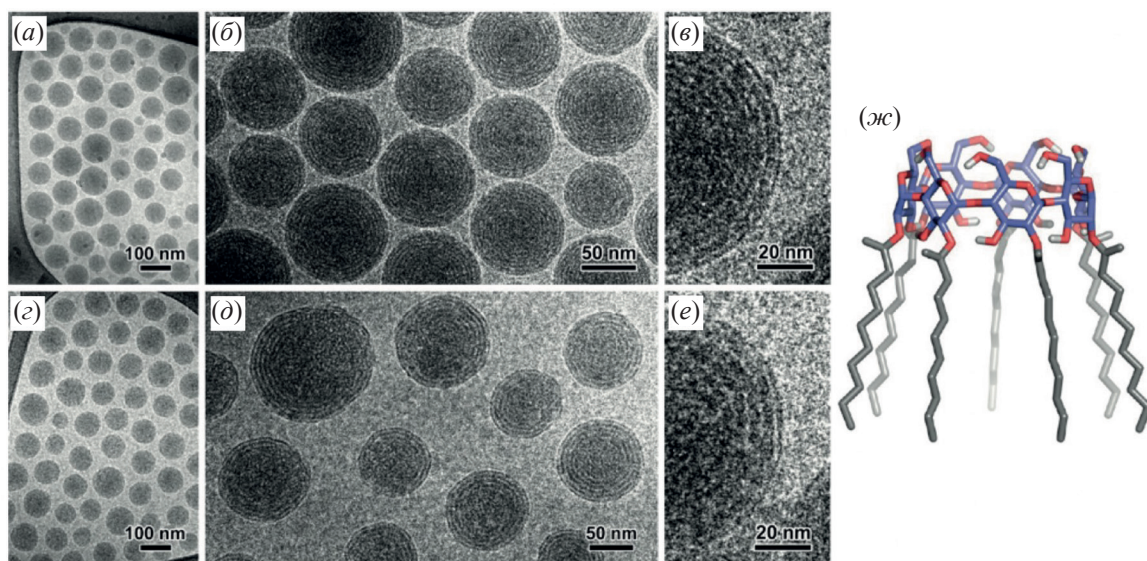


Рис. 4. Крио-ПЭМ-изображения мультисамеллярных наночастиц β CD-C10 с общей степенью замещения (TDS) = 4.3 (a–b) и β CD-C14 с TDS = 2.6 (c–d); (ж) – схематическая модель перэтерифицированного производного β CD-C10 (TDS = 7). Привитые алкильные цепи выделены серым цветом. Атомы водорода для наглядности опущены [30].

Результаты показали сосуществование двух пластинчатых фаз в смешанных фосфолипидных/амфифильно-циклодекстриновых соединениях, причем богатая циклодекстрином пластинчатая фаза проявляла большее набухание [33].

5. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ И МЕХАНИЗМЫ ДОСТАВКИ ПРЕПАРАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИПИДНЫХ ЧАСТИЦ

Одной из целей получения амфифильных производных была разработка наноносителей, обладающих сродством для введения в модельные липидные бислои и естественные биологические мембраны. Другой целью было образование коллоидных супрамолекулярных агрегатов, в которых полости циклодекстрина могут служить транспортерами лекарственных средств.

Было обнаружено, что фосфолипидные производные циклодекстринов обладают тензиоактивными свойствами, позволяющими им самоорганизоваться в воде и образовывать наночастицы, которые могут служить наноносителями лекарственных средств. Производные также могут образовывать комплексы включения с гидрофобными лекарственными средствами и использоваться для их инкапсуляции. Кроме того, эти производные считаются негемолитическими и нецитотоксичными и, соответственно, пригодными для биомедицинского применения.

Фосфолипидные производные циклодекстринов были тщательно изучены на предмет их взаимодействия с лекарственными средствами. Высокая гидрофобность производных циклодекстрина может представлять проблему для их включения в липидные двухслойные мембраны, но исследования показали, что они могут быть включены в модельные и биологические мембраны [34].

Проводили эксперименты *in vitro* по внутриклеточной доставке нанок комплексов циклодекстрин/порфирина (SC6OH/(Bu₃Sn)₄PPS) в клетки меланомы человека A375. Размер частиц анализировали с использованием динамического рассеяния света. Для оценки загрузки препарата (Bu₃Sn)₄TPPS в SC6OH и эффективности его инкапсуляции 1 мг сублимированных наночастиц SC6OH растворяли в 2 мл тетрагидрофурана, затем измеряли поглощение раствора в УФ-диапазоне. Клеточную гибель оценивали с использованием

пробы с 0.5%-ным триметиловым синим (*m/v*, EuroClone), наиболее распространенного красителя, применяемого для различения живых и неживых клеток. Эффекты лечения оценивали количественно как процент гибели клеток по сравнению с необработанными клетками в качестве контроля. Результаты приведены на рис. 5. Исследования показали, что наноносители SC6OH способны транспортировать порфирины в ядро клеток меланомы A375 и концентрировать их в ядрышках, что приводило к изменению морфологии клеток меланомы и блокированию клеточной пролиферации при низких концентрациях наноэлементов. Высокие концентрации наноасемблеров индуцировали апоптоз клеток меланомы A375 [9].

Особенность работы Aranda et al. заключалась в том, что они применили циклодекстриновые сборки для доставки невирусных генов и изучили транспорт данных комплексов [10]. Размер частиц обычных и нанок комплексов для таргетной доставки измеряли методом ДРС. Для изучения доставки ДНК в организм мыши были введены комплексы циклодекстринов с фолиевой кислотой (Fol-CDplexes) и проведено сравнение их активности с контрольной группой и незащищенной ДНК. Для визуализации в живом организме в течение времени использовали плазмиды pCMV-Luc и d-Luciferin. Краткие ключевые результаты приведены на рис. 6. Изображения получали с помощью системы IVIS CCD-камеры (Xenogen) и анализировали с использованием программного обеспечения Living Image 2.6 (Xenogen). Мышей анестезировали смесью ксилаина и кетамина (в дозе 8 и 60 мг/кг соответственно) и внутрибрюшинно вводили 150 мг/кг D-люцефирина. Через 10 мин животных помещали в темную камеру для получения сигнала свечения. Отмечено увеличение экспрессии гена в легких и печени при использовании Fol-CDplexes с увеличением количества лиганда фолиевой кислоты. Максимальная активность трансфекции наблюдалась в печени. В легких зафиксировано 4–6-кратное увеличение активности с Fol-CDplexes по сравнению с ненаправленными комплексами. Никакой активности трансфекции не было обнаружено при введении незащищенной ДНК или контрольного раствора фосфатно-солевого буфера. Успешное проникновение плазмидной ДНК в живые клетки требовало образования комплексов

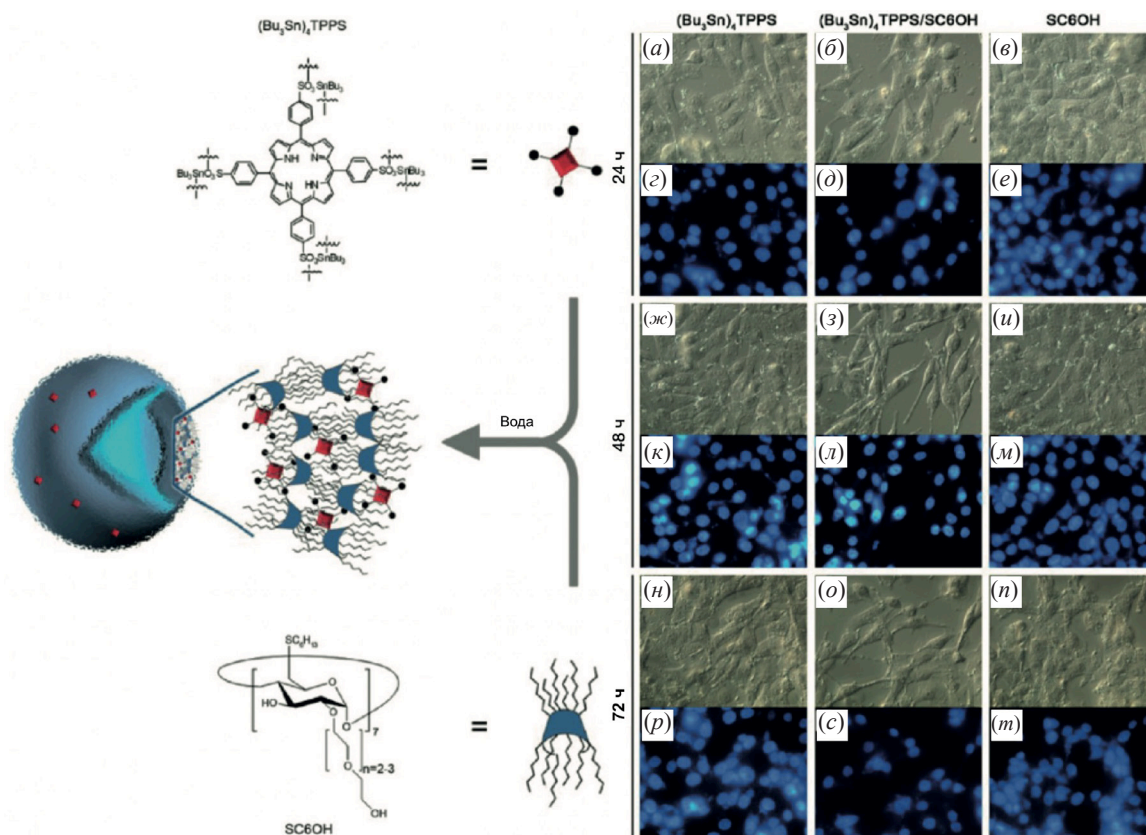


Рис. 5. Слева: схематичный вид формирования наноасемблеров в водном растворе из SC6OH и $(\text{Bu}_3\text{Sn})_4\text{TPPSa}$ [9] Справа: ядерная морфология клеток меланомы A375, обработанных $(\text{Bu}_3\text{Sn})_4\text{TPPS/SC6OH}$. Изображения Номарского (*a–в, ж–и, н–п*); флуоресцентные изображения с помощью окрашивания Hoechst 33342 (*г–е, к–м, р–т*). Клетки обрабатывали свободными $(\text{Bu}_3\text{Sn})_4\text{TPPS}$ ($[(\text{Bu}_3\text{Sn})_4\text{TPPS}] = 0.25 \text{ мкМ}$ (*а, г, ж, к, н, р*), наноасемблерами $(\text{Bu}_3\text{Sn})_4\text{TPPS/SC6OH}$ в молярном соотношении 1 : 5 ($[(\text{Bu}_3\text{Sn})_4\text{TPPS}] = 0.25 \text{ мкМ}$, $[\text{SC6OH}] = 1.25 \text{ мкМ}$) (*б, д, з, л, о, с*) или SC6OH ($[\text{SC6OH}] = 1.25 \text{ мкМ}$) (*в, е, и, м, п, т*) и наблюдали ядра после окрашивания флуоресцентным красителем Hoechst 33342 через 24, 48 и 72 ч.

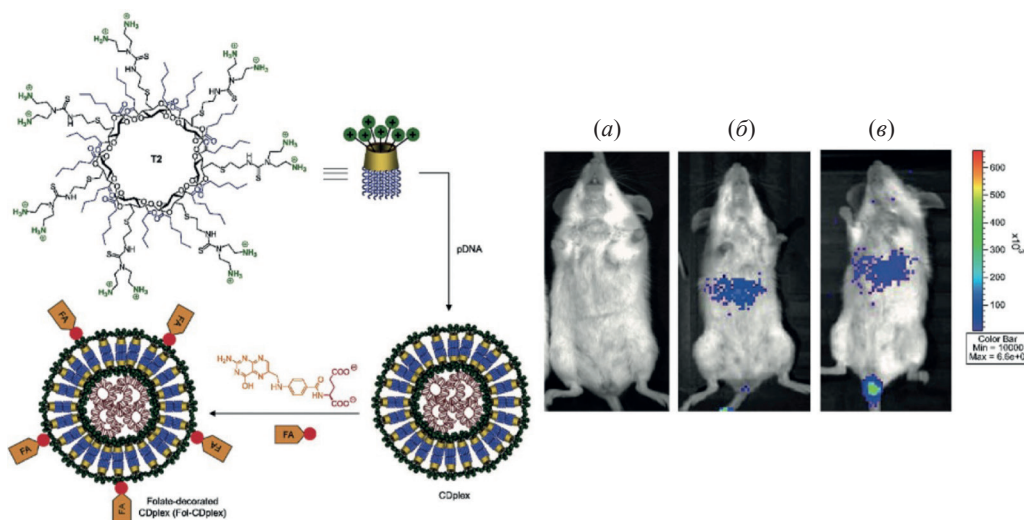


Рис. 6. Слева – схематическое изображение для получения украшенных фолатом нанокомплексов (Fol-CDplexes) из раCD T2, плазмидной ДНК и фолиевой кислоты (FA). Справа – визуализация люциферазы мышей Balb-с через 24 ч после внутривенного введения фосфатно-буферного физиологического раствора/обнаженной ДНК (*а*) и фолат-CDплексов, содержащих 0.5 мкг FA/мкг ДНК (*б*) или 1 мкг FA/мкг ДНК (*в*) [10].

между ДНК и катионными носителями (CDplexes). Это позволило уплотнить ДНК и облегчило адсорбцию CDplex на отрицательно заряженных биомембранах для интернализации клеток и адресной доставки.

Фосфолипидные производные циклодекстринов показали себя многообещающими структурами для доставки лекарственных средств. Они могут быть использованы для инкапсуляции лекарственных средств, таких как фотосенсибилизаторы, в частности циклодекстрина, которые могут эффективно индуцировать фотодинамическое повреждение раковых клеток. Также имеются достаточные доказательства того, что амфифильные производные циклодекстринов, содержащие липофильные группы, могут проявлять свойства самоорганизации и образования комплексов с внешними молекулами, что улучшает их направленную доставку [35]. Кроме того, были разработаны новые наноносители на основе циклодекстрина для доставки таких лекарств, как доцетаксел и паклитаксел, с высокой эффективностью инкапсуляции и замедленным высвобождением. Эти наноносители продемонстрировали меньшую токсичность и отсутствие гемолиза, что делает их потенциально полезными для лечения солидных опухолей [36].

6. ПЕРСПЕКТИВЫ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ САМОСОБИРАЮЩИХСЯ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ

Поскольку современные методы микроскопии не позволяют изучить структуру наночастиц с атомарной точностью, что зачастую представляет собой принципиальный вопрос в исследованиях поверхностных свойств для применения в биомедицине, молекулярное моделирование методом молекулярной динамики (МД) дает возможность исследовать процесс самосборки изучаемых молекул с атомарной точностью и анализировать структурные аспекты комплексообразования наночастиц с различными лекарственными препаратами. Использование подхода МУРР-направленной молекулярной динамики (SAXS-driven MD) позволяет получать модели, хорошо соответствующие экспериментальным данным МУРР [37]. Моделирование процесса самосборки циклодекстриновых производных фосфолипидов производили методом молекуляр-

ной динамики в программном пакете GROMACS-2021. Начальные условия подбирали на основе данных МУРР и АСМ. Результаты комбинирования методов показали, что МД, основанный на МУРР, способен уточнять структуры по данным МУРР без предварительного знания возможных путей взаимодействий. В свою очередь, данные МУРР ускоряют конформационные переходы в МД и уменьшают погрешность силового поля.

Группа исследователей разработала подход в разностороннем изучении структуры поверхности наночастиц “ядро–оболочка”, образованных амфифильными молекулами biotin-CMG₂-DOPE [38, 39], который может быть эффективно применен для исследования наночастиц на основе циклодекстринов. Была использована комбинация методов МУРР, АСМ, ДРС, электронной микроскопии и МД. Структура поверхности этих наночастиц была охарактеризована применением нестандартной для данного класса объектов методики мультифазного моделирования на основе кривых МУРР, полученных при измерениях наночастиц в растворах с разной концентрацией глюкозы, с использованием программы MONSA из программного пакета ATSAS, а затем с опорой на полученные данные было проведено моделирование методом МД. Результаты (рис. 7) показали, что наночастицы характеризуются неоднородным поверхностным слоем переменной толщины, а спейсеры CMG₂ имеют тенденцию образовывать “островки” на поверхности с участками примерно одинаковой толщины. Эта неоднородность структуры поверхности влияет на адгезию белков и указывает на необходимость разработки стратегий для повышения однородности поверхности, чему может способствовать использование циклодекстринов в качестве функциональных головных групп подобных конструкторов.

Флуоресцентная спектроскопия может применяться для определения констант связывания циклодекстринов с лекарственными веществами. В работе [40] в качестве индуцируемого флуорофора использовали Alizarin Red S (ARS). Взаимодействие между β-циклодекстрином и ARS приводит к образованию флуоресцентного комплекса включения, что сопровождается увеличением интенсивности флуоресценции. Измеряя снижение интенсивности флуоресценции, когда гостевые молекулы конкурируют с ARS за связывание с β-циклодекстрином, можно рассчитать константы

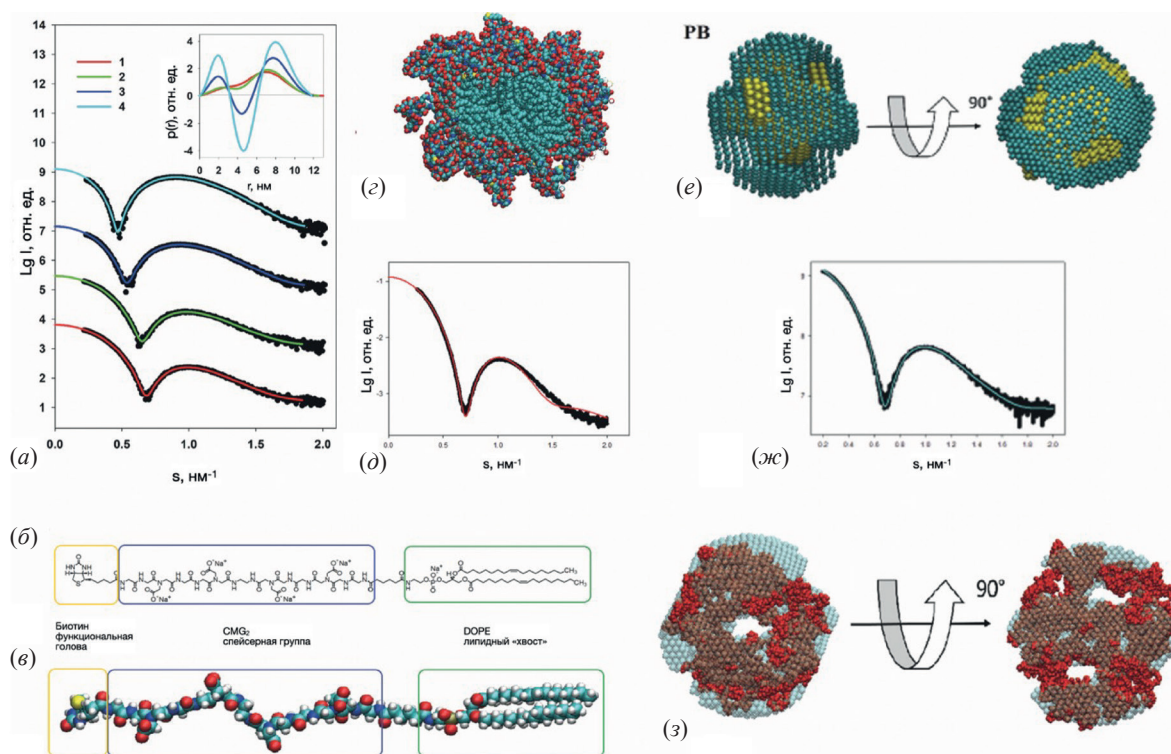


Рис. 7. (а) – Экспериментальные кривые МУРР, измеренные по наночастицам biotin-CMG₂-DOPE (черные точки), и смоделированные интенсивности рассеяния, преобразованные обратно в нулевой угол из функций распределения расстояний $p(r)$ при различных концентрациях глюкозы: 1.0, 2.9, 3.17 и 4.23 мас.%; (б) – химическая структура биотин-CMG₂-DOPE; (в) – 3D-модель: атомы водорода выделены белым цветом, углерода – голубым, кислорода – красным, азота – синим, серы – желтым, фосфора – коричневым; (г) – полностью атомарная структура наночастицы в поперечном сечении, полученная в результате моделирования молекулярной динамики; (д) – соответствие теоретической кривой, вычисленной CRYSOLE по структуре МД (красная линия); (е) – многофазное восстановление структуры *ab initio*: восстановленная плотность электронов (цветовая схема: желтый соответствует DOPE, голубой – спейсеру CMG₂ с биотином) и экспериментальные данные (черные точки) и соответствие по MONSA (голубая линия); (ж) – экспериментальные данные (черные точки) и соответствие по MONSA (голубая линия); (з) – суперпозиция моделей DAMMIN и МД (прозрачно-голубая представляет модель DAMMIN в фосфатном буфере, а модель МД CMG₂ показана красным цветом).

связывания гостевых молекул. Этот метод флуоресцентной спектроскопии надежный, воспроизводимый и обеспечивает простой и точный способ измерения констант связывания циклодекстринов с лекарственными веществами.

7. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования показывают, что модификация циклодекстринов открывает новые возможности для создания стабильных липидных наночастиц, которые могут использоваться для доставки лекарственных препаратов за счет увеличения размера образующихся в структуре наночастиц гидрофобных полостей. Это влияет на их взаимодействие с живыми клетками и тканями, а также

на способность инкапсулировать и доставлять активные ингредиенты (фотосенсибилизаторы, противоопухолевые препараты и др.). Помимо высокой эффективности загрузки лекарственных веществ, они демонстрируют устойчивое высвобождение препарата и низкую токсичность, что делает такие наночастицы перспективными для коммерчески доступных противораковых препаратов. На сегодняшний день важная задача – разработка соединений циклодекстринов с новыми амфифильными молекулами и исследование производных циклодекстринов с помощью различных физических методов с целью характеристики липидных наночастиц для биомедицинских применений.

Фосфолипидные производные циклодекстринов могут представить интересные возможности для разработки стабильных липидных наночастиц. Дальнейшие исследования в этой области могут способствовать развитию новых стратегий доставки лекарственных препаратов и увеличению терапевтической эффективности.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-24-10046).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований, выполненных кем-либо из авторов данной работы, с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концептуализация – АВЗ, ЕДБ; написание статьи – АВЗ, ЕДБ; анализ данных – ЕДБ; администрирование проекта – АВЗ, ВАО

Все авторы дали одобрение на окончательный вариант рукописи.

ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Spencer D.S., Puranik A.S., Peppas N.A.* // *Curr. Opin. Chem. Eng.* 2015. V. 7. P. 84–92.
<https://doi.org/10.1016/j.coche.2014.12.003>
2. *Hassan S., Prakash G., Ozturk A., Saghazadeh S., Sohail M.F., Seo J., Dokmeci M., Zhang Y.S., Khademhosseini A.* // *Nano Today*. 2017. V. 15. P. 91–106.
<https://doi.org/10.1016/j.nantod.2017.06.008>
3. *Singh R., Lillard J.W.* // *Exp. Mol. Pathol.* 2009. V. 86. P. 215–223.
<https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2008.12.004>
4. *Hu C.M.J., Fang R.H., Luk B.T., Zhang L.* // *Nanoscale*. 2014. V. 6. P. 65–75.
<https://doi.org/10.1039/C3NR05444F>
5. *Lakkakula J.R., Krause R.W.M.* // *Nanomedicine*. 2014. V. 9. P. 877–894.
<https://doi.org/10.2217/nnm.14.41>
6. *Crini G.* // *Chem. Rev.* 2014. V. 114. P. 10940–10975.
<https://doi.org/10.1021/cr500081p>
7. *Biwer A., Antranikian G., Heinzle E.* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002. V. 59. P. 609–617.
<https://doi.org/10.1007/s00253-002-1057-x>
8. *Bonnet V., Gervaise C., Djedaini-Pilard F., Furlan A., Sarazin C.* // *Drug Discov. Today*. 2015. V. 20. P. 1120–1126.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.05.008>
9. *Mazzaglia A., Bondi M.L., Scala A., Zito F., Barbieri G., Crea F., Vianelli G., Mineo P., Fiore T., Pellerito C., Pellerito L., Costa M.A.* // *Biomacromolecules*. 2013. V. 14. P. 3820–3829.
<https://doi.org/10.1021/bm400849n>
10. *Aranda C., Urbola K., Méndez Ardoy A., García Fernández J.M., Ortiz Mellet C., de Ilarduya C.T.* // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2013. V. 85. P. 390–397.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.06.011>
11. *Roux M., Sternin E., Bonnet V., Fajolles C., Djedaini-Pilard F.* // *Langmuir*. 2013. V. 29. P. 3677–3687.
<https://doi.org/10.1021/la304524a>
12. *Niikura K., Matsunaga T., Suzuki T., Kobayashi S., Yamaguchi H., Orba Y., Kawaguchi A., Hasegawa H., Kajino K., Ninomiya T., Ijio K., Sawa H.* // *ACS Nano*. 2013. V. 7. P. 3926–3938.
<https://doi.org/10.1021/nn3057005>
13. *Docter D., Westmeier D., Markiewicz M., Stolte S., Knauer S.K., Stauber R.H.* // *Chem. Soc. Rev.* 2015. V. 44. P. 6094–6121.
<https://doi.org/10.1039/c5cs00217f>
14. *Gervaise C., Bonnet V., Wattraint O., Aubry F., Sarazin C., Jaffrès P.A., Djedaini-Pilard F.* // *Biochimie*. 2015. V. 94. P. 66–74.
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.09.005>
15. *Zerkoune L., Angelova A., Lesieur S.* // *Nanomaterials (Basel)*. 2014. V. 4. P. 741–765.
<https://doi.org/10.3390/nano4030741>
16. *Auzély-Vélty R., Djedaini-Pilard F., Désert S., Perly B., Zemb T.H.* // *Langmuir*. 2000. V. 16. P. 3727–3734.
<https://doi.org/10.1021/la991361z>
17. *Nozaki T., Maeda Y., Ito K., Kitano H.* // *Macromolecules*. 1995. V. 28. P. 522–524.
<https://doi.org/10.1021/ma00106a016>
18. *Kauscher U., Stuart M.C.A., Drücker P., Galla H.-J., Ravoo B.J.* // *Langmuir*. 2013. V. 29. P. 7377–7383.
<https://doi.org/10.1021/la3045434>
19. *Erdog r N., Esendag lı G., Nielsen T.T.,  en M.,  ner L., Bilensoy E.* // *Int. J. Pharm.* 2016. V. 509. P. 375–390.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.05.040>
20. *Shao S., Si J., Tang J., Sui M., Shen Y.* // *Macromolecules*. 2014. V. 47. P. 916–921.
<https://doi.org/10.1021/ma4025619>

21. Moutard S., Perly B., Godé P., Demailly G., Djedaini-Pilard F. // *J. Incl. Phenom.* 2002. V. 44. P. 317–322.
22. Gèze A., Choisnard L., Putaux J.L., Wouessidjewe D. // *Mater. Sci. Eng.* 2009. V. 29. P. 458–462.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.08.027>
23. Pedersen N.R., Kristensen J.B., Bauw G., Ravoo B.J., Darcy R., Larsena K.L., Pedersen L.H. // *Tetrahedron Asymmetry*. 2005. V. 16. P. 615–622.
<https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2004.12.009>
24. Yaméogo J.B., Gèze A., Choisnard L., Putaux J.L., Gansané A., Sirima S.B., Semdé R., Wouessidjewe D. // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2012. V. 80. P. 508–517.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.12.007>
25. Essa S., Rabanel J.M., Hildgen P. // *Int. J. Pharm.* 2010. V. 388. P. 263–273.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.12.059>
26. Bhattacharjee S. // *J. Control. Release*. 2016. V. 235. P. 337–351.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>
27. Lesieur S., Charon D., Lesieur P., Ringard-Lefebvre C., Muguet V., Duchêne D., Wouessidjewe D. // *Chem. Phys. Lipids*. 2000. V. 106. P. 127–144.
[https://doi.org/10.1016/S0009-3084\(00\)00149-3](https://doi.org/10.1016/S0009-3084(00)00149-3)
28. Kasselouri A., Coleman A.W., Baszkin A. // *J. Colloid Interface Sci.* 1996. V. 180. P. 384–397.
<https://doi.org/10.1006/jcis.1996.0317>
29. LoPresti C., Massignani M., Fernyhough C., Blanz A., Ryan A.J., Madsen J., Warren N.J., Armes S.P., Lewis A.L., Chirasatitsin S., Engler A.J., Battaglia G. // *ACS Nano*. 2011. V. 5. P. 1775–1784.
<https://doi.org/10.1021/nn102455z>
30. Putaux J.L., Lancelon-Pin C., Legrand F.X., Pastrello M., Choisnard L., Gèze A., Rochas C., Wouessidjewe D. // *Langmuir*. 2017. V. 33. P. 7917–7928.
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b01136>
31. Oliva E., Mathiron D., Rigaud S., Monflier E., Sevin E., Bricout H., Tilloy S., Gosselet F., Fenart L., Bonnet V., Pilard S., Diedaini-Pilard F. // *Biomolecules*. 2020. V. 10. P. 339.
<https://doi.org/10.3390/biom10020339>
32. Feigin L.A., Svergun D.I. // *Structure Analysis by Small-Angle X-Ray and Neutron Scattering*. New York: Plenum Press, 1987. V. 1. P. 14–15.
<https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4757-6624-0>
33. Auzély-Velty R., Perly B., Taché O., Zemb T., Jéhan P., Guenot P., Dalbiez J.-P., Djedaini-Pilard F. // *Carbohydr. Res.* 1999. V. 318. P. 82–90.
[https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(99\)00086-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(99)00086-5)
34. Roling O., Wendeln C., Kauscher U., Seelheim P., Galla H.-J., Ravoo B.J. // *Langmuir*. 2013. V. 29. P. 10174–10182.
<https://doi.org/10.1021/la4011218>
35. Choisnard L., Gèze A., Putaux J.L., Wong Y.S., Wouessidjewe D. // *Biomacromolecules*. 2006. V. 7. P. 515–520.
<https://doi.org/10.1021/bm0507655>
36. Godinho B.M.D.C., Ogier J.R., Darcy R., O'Driscoll C.M., Cryan J.F. // *Mol. Pharm.* 2013. V. 10. P. 640–649.
<https://doi.org/10.1021/mp3003946>
37. Chen P., Hub J.S. // *Biophys. J.* 2015. V. 108. P. 2573–2584.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2015.03.062>
38. Vaskan I.S., Prikhodko A.T., Petoukhov M.V., Shtykova E.V., Bovin N.V., Tuzikov A.B., Oleinikov V.A., Zalygin A.V. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2023. V. 224. P. 113183.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2023.113183>
39. Zalygin A., Solovyeva D., Vaskan I., Henry S., Schaefer M., Volynsky P., Tuzikov A., Korchagina E., Ryzhov I., Nizovtsev A., Mochalov K., Efremov R., Shtykova E., Oleinikov V., Bovin N. // *ChemistryOpen*. 2020. V. 9. P. 641–648.
<https://doi.org/10.1002/open.201900276>
40. Zhou X., Liang J.F. // *J. Photochem. Photobiol. A Chemistry*. 2017. V. 349. P. 124–128.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2017.09.032>

The Role of Phospholipid Derivatives of Cyclodextrins in the Formation of Stable Lipid Nanoparticles for Drug Delivery

E. D. Belitskaya*, **, #, V. A. Oleinokov*, ***, and A. V. Zalygin*, ****

E-mail: belitskayakatya@yandex.ru

* Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

** Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University),
Institutskii per. 9, Dolgoprudny, 141701 Russia

*** National Research Nuclear University “MEPhI”, Kashirskoe shosse 31, Moscow, 115409 Russia

**** Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Troitsk Branch,
ul. Fizicheskaya 11, Moscow, Troitsk, 108840 Russia

This review article deals with physical methods for investigating the structural characteristics of inclusion complexes of supramers of phospholipid derivatives of cyclodextrins. Phospholipid derivatives of cyclodextrins are formed by attaching a phospholipid moiety to the cyclodextrin molecule. This modification imparts additional structural features to the cyclodextrin, increasing its solubility and stability in aqueous media. These new compounds can self-assemble in aqueous media into different types of supramolecular nanocomplexes. Biomedical applications are envisaged for nanoencapsulation of drug molecules in hydrophobic interchain volumes and nanocavities of amphiphilic cyclodextrins (serving as drug carriers or pharmaceutical excipients), antitumour phototherapy, gene delivery, and protection of unstable active ingredients by complexation of inclusions in nanostructured media. The focus is on the study of nanoparticle morphology, as efficient delivery systems must fulfil certain requirements. Classical physical methods cannot provide detailed information on the properties of potential structures for biomedical applications. For this purpose, the search for new non-invasive approaches is necessary.

Keywords: cyclodextrin, functional spacer lipids, targeted drug delivery, molecular dynamics, small-angle X-ray scattering