

УДК 547.466

## СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ ФОСФОЛИПИДНЫЕ ДИСПЕРСИИ НА ОСНОВЕ ОРГАНО-КРЕМНИЕВЫХ АМФИФИЛОВ

Г.А. Сарычев, М.С. Миронова, У.А. Буданова, Ю.Л. Себякин\*

*(Московский технологический университет (Институт тонких химических технологий); \*e-mail: c-221@yandex.ru)*

**Разработана схема и осуществлен синтез керасообразующего амфифила на основе дигексадецилового эфира L-аспарагиновой кислоты, содержащего производное триэтоксисилана. Получены смешанные с фосфатидилхолином устойчивые при хранении липидные дисперсии и исследованы их свойства.**

**Ключевы слова:** липоаминокислоты, смешанные фосфолипидные липосомы, керасомы.

Липосомы являются наиболее известной и часто используемой системой, способной транспортировать лекарственные вещества к целевым клеткам с повышенной эффективностью и безопасностью. Они представляют собой искусственно созданные микроскопические сферические полые везикулы, в которые включают активные вещества. Их мембрана состоит из природных фосфолипидов, являющихся аналогами компонентов клеточных мембран. Это и обеспечивает взаимодействие липосом с клетками [1].

Водорастворимые (гидрофильные) лекарственные вещества могут быть заключены во внутреннее водное пространство везикул, а жирорастворимые (гидрофобные) включаются в бислойную липидную мембрану [2, 3]. Однако низкая устойчивость при хранении ограничивает полноценное использование липосом. Кроме того, липосомы подвержены агрегации в крови вследствие их взаимодействия с различными белками плазмы крови, а также они захватываются ретикулоэндотелиальной системой. Это приводит к быстрому выведению их из кровотока [4].

Для повышения стабильности липосомальных дисперсий разрабатываются самостоятельные системы доставки на основе гибридных органо-кремниевых конструкций, которые называются керасомами [5]. Данные транспортные системы уже протестированы как средства доставки противоопухолевых препаратов различных типов – доксорубинина (DOX) и паклитакселя (PTX).

В отличие от липосом, керасомы обладают значительной стабильностью, которая может регулироваться включением в смешанные агрегаты определенного количества фосфолипидов. Например, это позволяет увеличить срок хранения смешанных агрегатов, загруженных DOX и PTX, в 3

раза по сравнению с традиционными липосомами [6, 7].

Гибридные везикулы смешанного типа также нашли применение при создании систем доставки препаратов пролонгированного действия. Изменение соотношения керасообразующего компонента и фосфолипида позволяет контролировать скорость высвобождения переносимого препарата. Так, применение керасомального инсулина позволяет увеличить время действия гормона с 6 ч (при свободном инсулине) до 20 ч (в случае керасомальной системы) [8]. Таким образом, применение гибридных компонентов для создания транспортной системы предоставляет широкий выбор подходов для модификации уже существующих липосомальных систем доставки.

Цель данного исследования – получение нового керасообразующего производного диэфира L-аспарагиновой кислоты для создания комбинированных керасом, обладающих высокой стабильностью и биоразлагаемостью.

### Экспериментальная часть

**Дигексадециловый эфир L-аспарагиновой кислоты (2).** Смесь 6,00 г (56 ммоль) L-аспарагиновой кислоты и 29,00 г (123 ммоль) дигексадецилового спирта нагревали при 130 °С в течение 3 ч в присутствии 14,4 г (40 ммоль) *n*-толуолсульфокислоты. Полученную массу охлаждали до комнатной температуры, затем перекристаллизовали из ацетона с последующим горячим фильтрованием. Осадок растворяли в хлороформе и экстрагировали 5%-м раствором гидрокарбоната натрия. Органическую фракцию сушили над сульфатом натрия и упаривали под вакуумом. Получали 22,16 г соединения (2) (68%);  $R_f$  (хлороформ:метанол = 9:1) 0,64.

ИК-спектр ( $\nu_{\text{макс}}$ ,  $\text{см}^{-1}$ ): 2922 ( $\text{CH}_3$ ), 2851 ( $\text{CH}_2$ ), 1734 ( $\text{C}=\text{O}$  эфир), 1472 ( $\text{CH}_2$ ), 1378 ( $\text{CH}_3$ ), 1187 ( $\text{N}-\text{C}$ ), 863, 723 ( $\text{C}-\text{H}$ ).

***N*-(суццинил)-дигексадециловый эфир *L*-аспарагиновой кислоты (3)**. 2,32 г соединения (2) (4 ммоль) растворяли в ТГФ, к раствору добавляли 0,93 г (6 ммоль) янтарного ангидрида и каталитическое количество триэтиламина. Оставляли на мешалке на 3 ч, затем упаривали под вакуумом. Полученный осадок перекристаллизовывали в этилацетате. Сушили в вакууме, получали 1,92 г (71%) соединения (3);  $R_f$  (хлороформ:метанол = 9:1) 0,32.

$^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 0,83 (6H, т,  $\text{CH}_3$ ), 1,25 (52H, т,  $\text{CH}_2$ ), 1,57 (4H, м,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,55 (4H, т,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$  (Suc)), 2,98 (м, 3H,  $\text{CHCH}_2$  (Asp)), 4,15 (4H, м,  $\text{COOCH}_2$ ).

***N*-(триэтоксисилсуццинил-(3-пропиламино)-дигексадециловый эфир *L*-аспарагиновой кислоты (4)**. 1,5 г соединения (3) (2,2 ммоль) растворяли в хлороформе, добавляли 0,28 г (2,5 ммоль) *N*-гидроксисукцинамида, перемешивали в течение 15 мин при комнатной температуре, добавляли 0,52 г (2,5 ммоль) дициклогексилкарбодиимида и перемешивали в течение 1 ч. Осадок дициклогексилмочевины отфильтровывали, к реакционной массе добавляли 0,50 г (2,5 ммоль) (3-аминопропил)триэтоксисилана, оставляли реакцию на сутки. Реакционную массу упаривали на роторе, промывали гексаном. Получали 1,64 г (83%) соединения (4);  $R_f$  (хлороформ:метанол = 1:1) 0,33.

$^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\delta$ , м.д.): 0,61 (т, 2H,  $\text{SiCH}_2$ ), 0,87 (м, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 1,21 (м, 52H,  $\text{CH}_2$ ), 1,36 (м, 9H,  $\text{CH}_3$ ), 1,65 (м, 4H,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_2$ ), 2,57 (м, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$  (Suc)), 2,94 (м, 6H,  $\text{CH}_2\text{COO}$  (Asp)) 3,82 (м, 6H,  $\text{OCH}_2$ ), 4,09 (м, 2H,  $\text{COOCH}_2$ ). Масс-спектр (MALDI),  $m/z$ : 885.69 [ $\text{M}+\text{H}^+$ ].

**Приготовление керасомальных дисперсий.** Смесь соединения 4 и фосфатидилхолина (Lipoid s100) (1:1) в количестве, достаточном для создания концентрации 2 мг/мл, растворяли в 2 мл хлороформа и упаривали на роторе при температуре 25 °С до образования тонкой пленки. Пленку сушили в вакууме в течение 2 ч, затем гидратировали 3%-м раствором уксусной кислоты в течение 30 мин. Дисперсию обрабатывали ультразвуком (20 мин, 40 °С).

## Результаты и их обсуждение

**Синтез керасообразующего компонента и приготовление керасом комбинированного типа.** Для получения керасообразующего компонен-

та разработана схема синтеза (схема). В качестве основы для формирования гидрофобного домена выбрана *L*-аспарагиновая кислота, которую сплавляли с гексадециловым спиртом в присутствии *n*-толуолсульфокислоты, выделение продукта проводили перекристаллизацией реакционной массы в ацетоне, затем осадок растворяли в хлороформе, экстрагировали 5%-м раствором гидрокарбоната натрия, органический слой сушили над сульфатом натрия и упаривали. Выход соединения 2 составил 68%. Использование аминокислоты как основы для формирования гидрофобного блока позволяет снизить возможную токсичность целевого продукта [9]. Полученный диэфир 2 обрабатывали янтарным ангидридом, затем присоединяли (3-аминопропил)триэтоксисилан методом активированных эфиров в присутствии DCC. Линкер на основе янтарной кислоты участвует в образовании двух амидных связей, которые увеличивают стабильность липоаминокислоты за счет образования внутримолекулярных водородных связей.

Для приготовления комбинированной керасомальной дисперсии полученное соединение 4 смешивали с раствором фосфатидилхолина в хлороформе в соотношении 1:1. Смесь упаривали в вакууме до образования тонкой пленки, затем гидролизовали 3%-м раствором уксусной кислоты и обрабатывали ультразвуком.

**Физико-химические свойства полученных дисперсий.** Методом фотонно-корреляционной спектроскопии определен гидродинамический размер полученных частиц. Средний диаметр агрегатов составил 232 нм при показателе полидисперсности 0,38. С помощью электронной микроскопии изучена морфология исследуемых дисперсий – везикулы сферической формы с диаметром 150–330 нм, соответствующим ранее определенному значению размера частиц (рис. 1).

Для определения стабильности разрабатываемых транспортных систем исследовалось изменение оптической плотности приготовленной дисперсии при хранении и при воздействии детергента Tween 80 (рис. 2).

Показано, что комбинированные липидные дисперсии на основе керасообразующего производного липоаминокислоты 4 и фосфатидилхолина сохраняли стабильность при хранении при комнатной температуре в течение 30 дней, что значительно превышает срок хранения липосом на основе фосфолипидов. При этом комбинированные системы были также устойчивы к действию детергента Tween 80.

## Схема

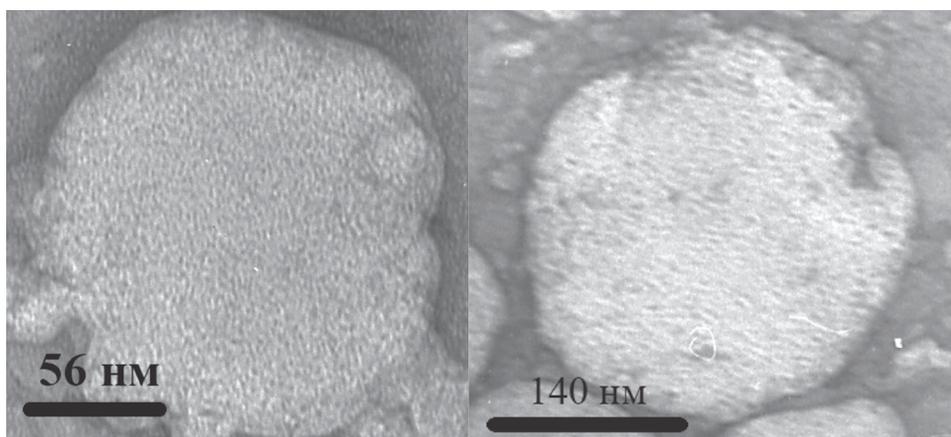
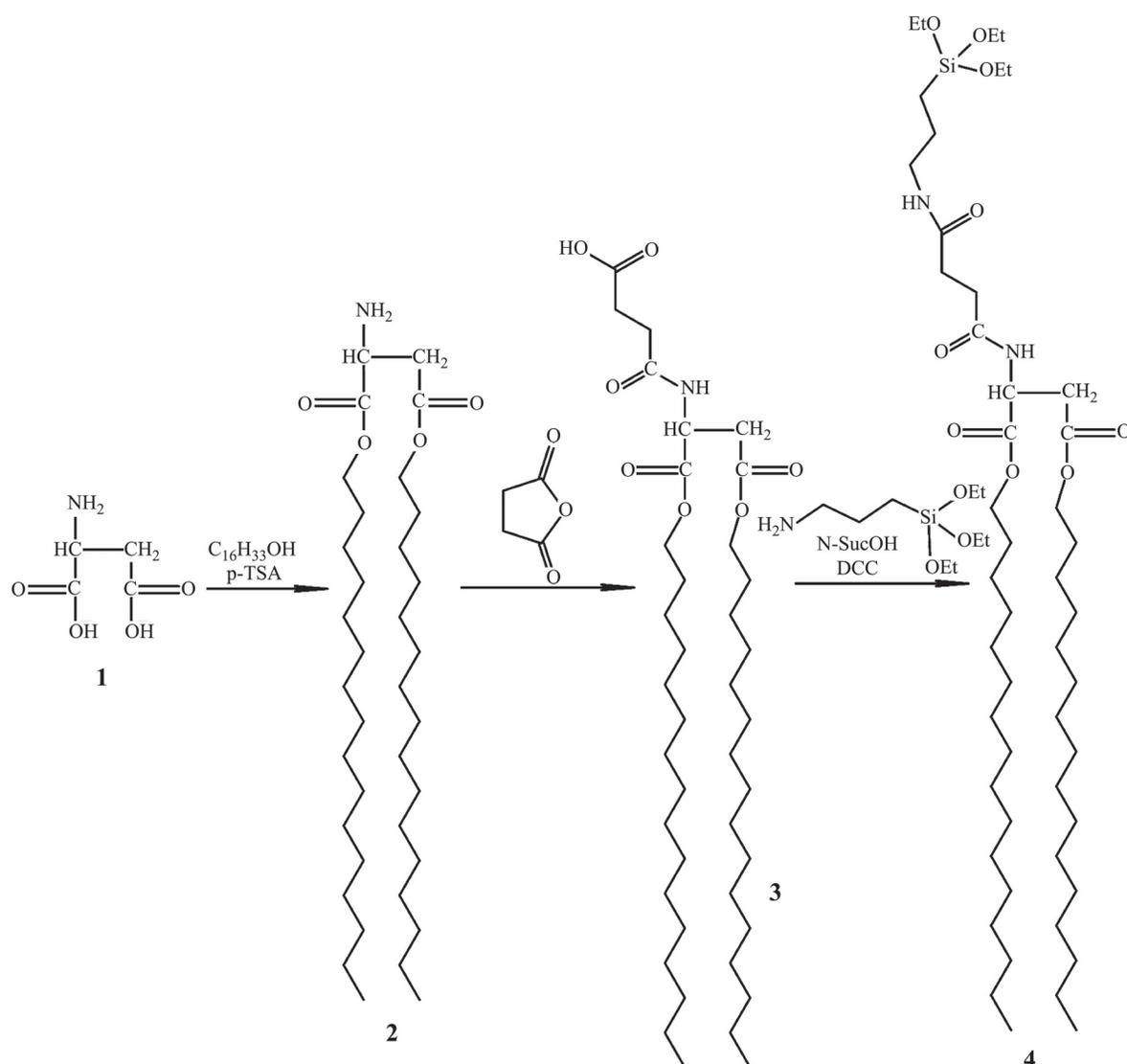


Рис. 1. Микрофотографии комбинированных керасомальных дисперсий, полученные с помощью трансмиссионной электронной микроскопии с контрастированием уранилацетатом

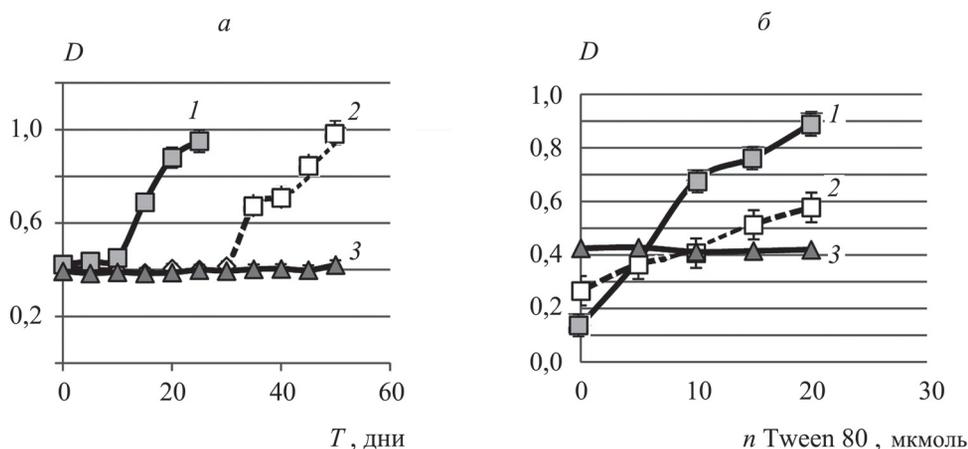


Рис. 2. Стабильность комбинированных керасом: *a* – хранение, *б* – действие детергента Tween 80 (1 – ФХ, 2 – ФХ-(4) 1:1, 3 – (4))

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 16-04-01010).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Al-Jamal W., Kostarelos K. // *Nanomedicine*. 2007. Vol. 2. P. 85.
2. Бажутин Н.Б., Золин В.В., Колокольцов А.А., Таргонский С.Н. // *Terra medica*. 2003. Vol. 31. С. 3.
3. Колоскова О.О., Бородин Ю.Г., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. // *Биофарм. журн.* 2010. Т. 2. С. 16.
4. Klibanov A.L., Maruyama K., Torchilin V.P., Huang L. // *FEBS Lett.* 1990. Vol. 268. P. 235.
5. Dai Z.F., Tian W.J., Yue X.L., Zheng Z.Z., Qi J.J., Tamai N., Kikuchi J. // *Chem. Commun.* 2009. P. 2032.
6. Jin Y., Yue X., Zhang Q., Wud X., Cao Z., Dai Z. // *Acta Biomaterialia*. 2012. Vol. 8. P. 3372.
7. Yasuhara K., Kawataki T., Okuda S., Oshima S., Kikuchi J. // *Chem. Commun.* 2013. P. 665.
8. Jin Y., Li Y., Pan H., Dai Z. // *RSC Adv.* 2014. Vol. 4. P. 42808.
9. Koloskova O.O., Nikonova A.A., Budanova U.A., Shilovskiy I.P., Kofradi I.A., Ivanov A.V., Smirnova O.A., Zverev V.V., Sebyakin Yu.L., Andreev S.M., Khaitov M.R. // *Eur. J. Pharm. and Biopharm.* 2016. Vol. 102. P. 159.

Поступила в редакцию 19.07.16

#### STABILIZED PHOSPHOLIPID DISPERSIONS BASED ON ORGANO-SILICON AMPHIPHILES

G.A. Sarychev, M.S. Mironova, U.A. Budanova, Yu.L. Sebyakin\*

(Moscow Technological University (Institute of Fine Chemical Technologies),  
\*e-mail: c-221@yandex.ru)

**Cerasome-forming amphiphile based on dihexadecyl ester of L-aspartic acid derivative containing (3-aminopropyl)triethoxysilane was synthesized. Mixed with phosphatidylcholine storage-stable lipid dispersions were formed and their properties were studied.**

**Key words:** lipoaminoacids, mixed phospholipid liposomes, cerasomes.

**Сведения об авторах:** Сарычев Григорий Александрович – студент Московского технологического университета (Институт тонких химических технологий) (sarychevgregor@gmail.com); Миронова Мария Сергеевна – студент Московского технологического университета (Институт тонких химических технологий) (astarovchanka@mail.ru); Буданова Ульяна Александровна – ст. науч. сотр. факультета биотехнологии Московского технологического университета (Институт тонких химических технологий) (ullianka@list.ru); Себякин Юрий Львович – профессор факультета биотехнологии Московского технологического университета (Институт тонких химических технологий) (c-221@yandex.ru).