

Langmuir, 2007, vol. 23, pp. 5014-5021.

8. Pletikapić G., Berquand A., Radić T.M., Svetličić V. Quantitative nanomechanical mapping of marine Diatom in seawater using peak force tapping Atomic Force Microscopy. *J. Phycol.*, 2012, vol. 48, pp. 174-185.

9. Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. *The Diatoms. Biology and morphology of the genera*. Cambridge, 1990, 747 p.

10. Sarno D., Kooistra W.H.C.F., Medlin L.K., Percopo I., Zingone A. Diversity in the genus *Skeletonema* (Bacillariophyceae): II. An assessment of the taxonomy of *S. costatum*-like species with the description of four new species. *J. Phycol.*, 2005, vol. 41, pp. 151-176.

11. Захаров В.П., Ларин К., Братченко И.А. Повышение информативности оптической когерентной томографии при диагностировании кожных патологий. *Вестник Самарского государственного аэрокосмического университета*, 2011, т. 2, с. 232-239. [Zaharov V.P., Larin K., Bratchenko I.A. Increasing the information content of optical coherence tomography skin pathology detection. *Vestnik STAU*, 2011, vol. 2, pp. 232-239. (In Rus.)]

АКТИВАЦИЯ НАНОКОМПОЗИТНЫХ ЛИПОСОМ ИМПУЛЬСНЫМ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМ ПОЛЕМ

Потапенков К.В.¹, Ким В.П.¹, Ярославов А.А.¹, Сыбачин А.В.¹,
Таранов И.В.², Черепенин В.А.², Гуляев Ю.В.², Хомутов Г.Б.¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Ленинские горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119991, РФ

²Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН
ул. Моховая, 11, стр.7, г. Москва, 125009, РФ
e-mail: metalsonic@inbox.ru

Аннотация. В настоящей статье представлены результаты работ по созданию и характеристике новых нанокomпозитных биомиметических биосовместимых мембранных везикул, образованных молекулами фосфолипидов, полимеров и включающих в свой состав функциональные неорганические наночастицы золота или магнетита. Также представлены результаты экспериментов по воздействию на суспензию таких везикул импульсного электрического поля напряженностью от 5×10^5 до 15×10^6 В/м. Установлено, что такое воздействие приводило к активации везикул, при которой происходили структурные изменения мембран и выход содержимого везикул наружу. Полученные результаты указывают на возможности использования таких везикул для создания эффективных средств капсулирования, адресной доставки и управляемого высвобождения лекарственных и биологически активных веществ.

Ключевые слова: липосомы, наночастицы, капсулирование, активация, импульсное электрическое поле.

ACTIVATION OF NANOCOMPOSITE LIPOSOMES BY PULSED ELECTRIC FIELD

Potapenkov K.V.¹, Kim V.P.¹, Yaroslavov A.A.¹, Sybachin A.V.¹,
Taranov I.V.², Cherepenin V.A.², Gulyaev Y.V.², Khomutov G.B.¹

¹Moscow State University

Leninskie gory, 1, build. 2, Moscow, 119991, Russia

²Kotel'nikov Institute of Radio Engineering and Electronics, Russian Academy of Sciences
Mokhovaya str., 11, build. 7, Moscow, 125009, Russia
e-mail: metalsonic@inbox.ru

Abstract. In this article we present results of the work for creating and characterization of novel nanocomposite biomimetic and biocompatible vesicles based on phospholipids, polymers and functional inorganic gold or magnetite nanoparticles. The effect of pulsed electric field with magnitude from 5×10^5 to 15×10^6 Volts per meter on the aqueous suspension of vesicles have been studied. It was shown that such electric pulses caused activation of the vesicles accompanied by structural changes of membranes and resulted in release of the vesicle contents out. The data obtained point to the possibility for use of such nanocomposite vesicles for development of new effective means for capsulating, targeted delivery and controlled release of medical and bio-active compounds.

Key words: liposomes, nanoparticles, capsulation, activation, pulsed electric field.

Проблема создания безопасных и эффективных средств капсулирования, адресной доставки и управляемого высвобождения биологически активных и лекарственных веществ является одной из важнейших среди проблем, в настоящее время стоящих перед биофизикой и смежными областями науки. Решение этой проблемы обеспечит прорыв в методах лекарственной терапии и дальнейший прогресс в биомедицинских, косметологических и сельскохозяйственных технологиях. В настоящее время разрабатываются и исследуются различные подходы к капсулированию и управляемому высвобождению веществ. В качестве средств капсулирования используются различные органические, композитные и неорганические структуры, в том числе, полимерные гели и капсулы, дендримеры, мицеллы, липосомы и конструкции на их основе [1-4]. В качестве внешних воздействий на капсулы используют химические и физические воздействия, как то: температурная активация [5,6], ферментативное разрушение носителей [7,8], ультразвуковое воздействие [9],

воздействие лазерным излучением [10,11] и другие. В основе разрабатываемого нами подхода к решению данной проблемы лежит идея создания нанокомпозитных везикул на основе липосом, мембраны которых содержат функциональные неорганические наночастицы, чувствительные к внешним физическим воздействиям. В качестве основы для создания липосомальных мембран использовался фосфатидилхолин, один из наиболее часто встречающихся в естественных клеточных мембранах фосфолипидов. В работе использовался фосфатидилхолин фирмы Sigma, его содержание в липосомальных мембранах достигало 70 %. Другим компонентом липосомальных мембран является синтезированный нами амфифильный полиамин стеароилспермин. Стеароилспермин обеспечивает способность липосомальных мембран сорбировать неорганические наночастицы, обеспечивающие чувствительность нанокомпозитных липосом к внешним полям, а так же молекулы полианионов, способные повысить стабильность нанокомпозитных везикул. В работе были использованы наночастицы золота (чувствительны к импульсному электрическому полю) и магнетита (чувствительны к импульсному электрическому и магнитному полям) диаметром 4-5 нм. Такой состав везикул обеспечивает их биосовместимость – фосфатидилхолин является одним из основных структурных липидов в биологических мембранах, стеароилспермин состоит из остатка стеариновой кислоты и природного полиамина спермина, а наночастицы магнетита встречаются во многих живых системах. Золотые наночастицы не являются токсичными. Инъекции суспензии нанокомпозитных везикул мышам подтвердили их биосовместимость и нетоксичность.

Получаемые в нашей работе везикулы были охарактеризованы при помощи методов атомно-силовой микроскопии, просвечивающей электронной микроскопии. Для характеристики получаемых везикул и наночастиц использовались методы электронного магнитного резонанса, электрофореза и динамического светорассеяния.

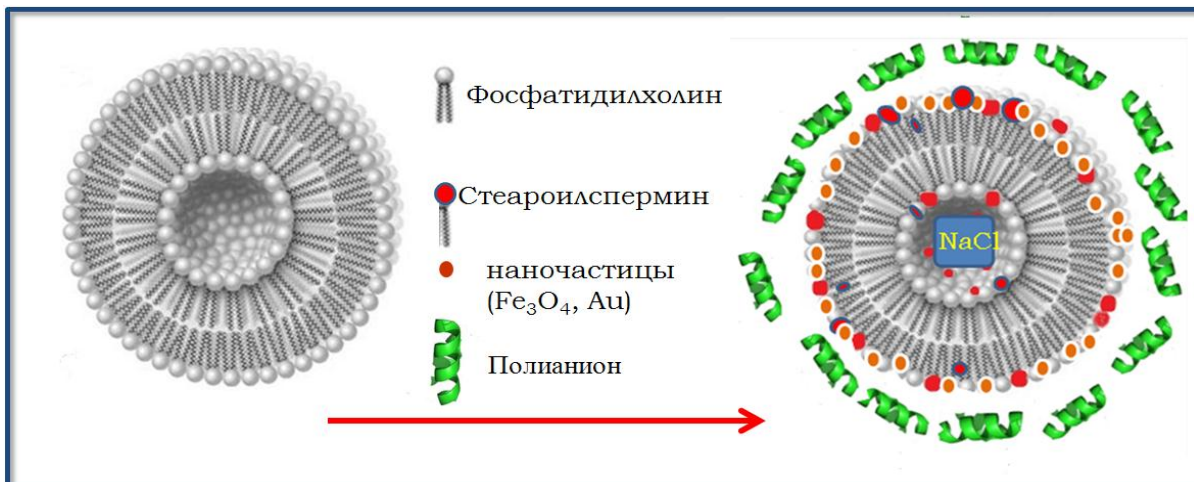


Рисунок 1 – Схематическое изображение получаемых в работе нанокомпозитных везикул



Рисунок 2 – Схема эксперимента по воздействию импульсного электрического поля на суспензию нанокомпозитных липосом

Схематическое изображение получаемых в работе нанокомпозитных везикул-носителей приводится на рисунке 1. Эксперимент по активации нанокомпозитных везикул заключался в следующем. Синтез везикул производился в солевом растворе (1М раствор NaCl), после чего методом диализа солевой раствор удалялся из

внешнего, по отношению к везикулам, пространства. Таким образом, факт разрушения везикул можно установить путем измерения изменений проводимости растворов. Схема эксперимента приведена на рисунке 2. Кроме того, образцы, подвергшиеся воздействию импульсов электрического поля, были исследованы при помощи просвечивающей электронной микроскопии.

Таблица 1 – Результаты измерений проводимости суспензии нанокomпозитных липосом

Проводимость измерена в мкСм/см	Липосомы	Липосомы+наночастицы магнетита	Липосомы+наночастицы магнетита+ПСС	Липосомы+наночастицы золота
Контрольное измерение	30	35	60	115
Импульсы электрического поля	50	95	115	136
Тритон X-100	90	98	140	155

В таблице 1 приведены результаты воздействия импульсов электрического поля напряженностью 150 кВ/см и длительностью порядка 1 нс на суспензию нанокomпозитных везикул. Воздействие детергента (тритона X-100) разрушает липосомальные мембраны, полностью высвобождая содержимое липосом. Это позволяет оценивать процент везикул, оказавшихся неразрушенными после воздействия импульсного электрического поля. На рисунке 3 приведено сравнение микрофотографий липосомальных везикул до и после воздействия импульсов электрического поля. Из рисунка 3 видно, что в результате импульсного электрического воздействия происходит разрушение мембран нанокomпозитных везикул.

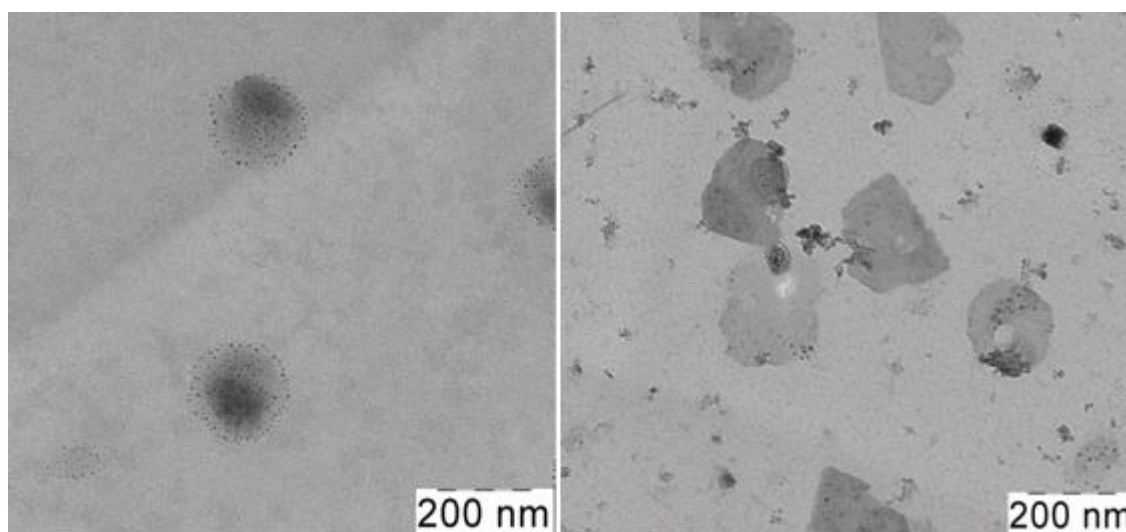


Рисунок 3 – Слева: полученное методом ПЭМ изображение синтезированных нанокomпозитных липосом, мембраны которых содержат наночастицы магнетита, справа: ПЭМ-изображение таких липосом после воздействия импульсов электрического поля

Физические механизмы процессов, происходящих с нанокomпозитными везикулами под действием внешнего импульсного электрического поля и приводящих к их активации и разрушению, могут включать ряд взаимодействий и эффектов. Во-первых, под действием внешнего поля происходит быстрая поляризация электропроводящих наночастиц и возникновение соответствующих электрических дипольных моментов на наночастицах. Взаимодействия этих дипольных моментов друг с другом и с локальными электрическими полями везикулярных мембран приводят к структурным изменениям нанокomпозитных мембран. В зависимости от длительности импульсов электрического поля возможна также поляризация внутреннего объема липосом и создание трансмембранного потенциала в приближении квазистационарности внешнего электрического поля, аналогично процессу электропорации. При этом с математической точки зрения, задача сводится к классической задаче Рэлея о поляризации эллипсоидальной проводящей среды во внешнем однородном электрическом поле. Возможно также, что в разрушение липосомальных везикул вносит вклад механизм локального усиления напряженности электрического поля вблизи поверхности электропроводящих наночастиц (описание подобного механизма имеется в литературе) [12].

Проведенные эксперименты показывают возможность активации биосовместимых нанокomпозитных везикул нетермическими дистанционными физическими воздействиями - сверхкороткими импульсами электрического поля. Полученные результаты указывают на возможность использования таких везикул для

создания эффективных средств капсулирования, адресной доставки и управляемого высвобождения лекарственных и биологически активных веществ.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (проект 14-12-01379).

Список литературы / References:

1. Freeman A.I., Mayhew E. Targeted drug delivery. *Cancer*, 1986, vol. 58, pp. 573-583.
2. Svenson S., Robert K. Multifunctional Nanoparticles for Drug Delivery Applications: Imaging, Targeting, and Delivery Series. *Nanostructure Science and Technology*, Springer, 2012, 373 p.
3. Parveen S., Misra R., Sahoo S.K. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2012, vol. 8, no. 2, pp. 147-166.
4. Kataoka K., Harada A., Nagasaki Y. Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, vol.47, no. 1, pp. 113-131.
5. Landon C.D., Park J.-Y., Needham D., Dewhirst M.W. Nanoscale drug delivery and hyperthermia: The materials design and preclinical and clinical testing of low temperature-sensitive liposomes used in combination with mild hyperthermia in the treatment of local cancer. *Open Nanomedicine Journal*, 2011, vol. 3, pp. 38-64.
6. Cammas S. [et. al.] Thermo-responsive polymer nanoparticles with a core-shell micelle structure as site-specific drug carriers. *J. Control. Rel.*, 1997, vol. 48, pp. 157-164.
7. Tran N.T.D., Truong N.P. [et al.] Timed-Release Polymer Nanoparticles. *Biomacromolecules*, 2013, vol. 14, pp. 495-502.
8. Tran N.T.D., Truong N.P. [et al.] Fine Tuning the Disassembly Time of Thermoresponsive Polymer Nanoparticles. *Biomacromolecules*, 2013, vol. 14, pp. 3463-3471.
9. Kooiman K., Böhmer M.R., Emmer M. [et al.] Oil-filled polymer microcapsules for ultrasound-mediated delivery of lipophilic drugs. *Journal of Controlled Release*, 2009, vol. 133, pp. 109-118.
10. Misawa H., Kitamura N., Masuhara H. Laser Manipulation and Ablation of a Single Microcapsule in Water. *J. Am. Chem. SOC*, 1991, vol. 113, pp. 7859-7863.
11. Sriprya J., Anandhakumara S., Achiraman S. [et al.] Laser receptive polyelectrolyte thin films doped with biosynthesized silver nanoparticles for antibacterial coatings and drug delivery applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013, vol 457, pp. 206-213.
12. DePrince E.A., Hinde R.J. Accurate Computation of Electric Field Enhancement Factors for Metallic Nanoparticles Using the Discrete Dipole Approximation. *Nanoscale Res Lett.*, 2010, vol. 5, pp. 592-596.

БИОМИМЕТИЧЕСКИЕ МОНОСЛОИ, ПЛЕНКИ И МЕМБРАННЫЕ ВЕЗИКУЛЫ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСОВ АМФИФИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ, ПОЛИМЕРОВ И НАНОЧАСТИЦ

Ким В.П.¹, Потапенков К.В.¹, Ярославов А.А.¹, Сыбачин А.В.¹,
Таранов И.В.², Черепенин В.А.², Гуляев Ю.В.², Хомутов Г.Б.¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Ленинские горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119991, РФ

² Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН
ул. Моховая, 11, стр.7, г. Москва, 125009, РФ
e-mail: vp.kim@physics.msu.ru

Аннотация. Создание новых функциональных биосовместимых и биоактивных материалов и эффективных систем для капсулирования, адресной доставки и управляемого высвобождения различных веществ в водных средах, в том числе в живых системах, является в настоящее время актуальной задачей биологической физики и химии, а также ряда смежных областей, решение которой важно для практических биомедицинских применений. В данной работе нами получены и охарактеризованы новые нанокompозитные биомиметические функциональные наносистемы на основе пленок Ленгмюра-Блоджетт, а также везикулы и капсулы на основе мембранных комплексов, включающих липиды, функциональные аминокислотосодержащие амфифильные соединения, полимеры (в том числе биополимеры) и функциональные неорганические наночастицы (Fe₃O₄ и Au). Исследования проводились методами просвечивающей электронной микроскопии, атомно-силовой микроскопии, электронного парамагнитного резонанса.

Ключевые слова: биомиметические наноструктуры, липосомы, ДНК, наночастицы магнетита.