

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Российский химико-технологический университет
имени Д.И. Менделеева»**



На правах рукописи

Широких Анастасия Дмитриевна

**Липидные наночастицы как средства доставки биологически
активных соединений**

2.6.6. Нанотехнологии и наноматериалы

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева».

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Королёва Марина Юрьевна,
РХТУ им. Д.И. Менделеева, профессор кафедры наноматериалов и нанотехнологии

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор РАН
Калинина Мария Александровна,
Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, главный научный сотрудник лаборатории биоэлектрохимии

доктор физико-математических наук, профессор
Малкин Александр Яковлевич,
Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук (ИНХС РАН), главный научный сотрудник лаборатории №11 Реологии полимеров

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН).

Защита состоится «30» сентября 2025 г. в 10:00 на заседании диссертационного совета РХТУ.2.6.03 федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (125047, г. Москва, Миусская пл., 9, ауд. 443, конференц-зал).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте https://muctr.ru/university/departments/ods/inhouse/inhouse_announcements федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева».

Автореферат разослан _____
дата

Ученый секретарь
диссертационного совета РХТУ.2.6.03
к.х.н., доцент



Мурадова А.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Проблемы повышения биодоступности липофильных лекарственных соединений, снижения их системной токсичности широко обсуждаются в научной литературе. Для их решения в качестве носителей активных соединений были предложены липидные наночастицы различного состава – наноэмульсии, включающие жидкие капли нанометрового размера, твердые липидные наночастицы (ТЛН) и наноструктурированные липидные частицы (НЛЧ), сочетающие твердые и жидкие липидные компоненты. Эти наночастицы имеют размер менее 100 нм, что позволяет обеспечить их эффективное проникновение через естественные барьеры организма. Для их получения используют различные методы, в том числе низкоэнергетические, например, метод температурной инверсии фаз (ТИФ).

Для эффективного применения в медицине и фармацевтической промышленности дисперсии липидных наночастиц должны обладать высокой кинетической устойчивостью. Для стабилизации липидных частиц, предназначенных для инкорпорирования биологически активных соединений, широкое распространение получили неионогенные поверхностно-активные вещества (ПАВ) благодаря их низкой токсичности. Некоторые из них, например, полисорбаты и сорбитаны, способны обеспечивать образование мелких капель и частиц при инверсии фаз, что позволяет эффективно применять их для получения липидных наночастиц. Однако требуется исследование влияния состава дисперсий липидных наночастиц и условий получения на их дисперсность, агрегативную и седиментационную устойчивость.

Состав дисперсной фазы оказывает существенное влияние на эффективность инкапсуляции и удержания инкорпорлируемых лекарственных или биологически активных соединений. ТЛН являются более стабильными к агрегации по сравнению с наноэмульсиями, однако способны инкапсулировать меньше активного вещества. Кроме того, твердые липиды, входящие в состав ТЛН, склонны к перекристаллизации, что может приводить к неконтролируемому высвобождению инкорпорированных соединений. Комбинирование твердых и жидких липидов в составе липидных наночастиц позволяет снизить степень кристалличности твердых компонентов, способствует разупорядочиванию их кристаллической решетки, что повышает эффективность инкапсуляции и удержания липофильных соединений. В качестве компонентов дисперсной фазы применяют глицериды жирных кислот, стеариновую, олеиновую и другие жирные кислоты, парафины и др., которые для удобства в литературе называют липидами.

Проблема долгосрочного хранения дисперсий липидных наночастиц остаётся актуальной. Применение традиционных способов для увеличения срока хранения – термической сушки и стерилизации автоклавированием – невозможно из-за разрушения липидных наночастиц. Перспективной является лиофилизация, однако в литературе практически не уделяется внимание хранению лиофилизатов, в то время как усло-

вия выдержки могут оказывать влияние на дисперсность систем после редиспергирования. Представляет интерес стерилизация при воздействии ионизирующего излучения, которая проводится при температуре окружающей среды. Однако требуется исследование влияния ионизирующего излучения на физико-химические свойства дисперсий, а также на жизнеспособность микроорганизмов в таких системах.

Таким образом, актуальной проблемой является исследование возможности получения агрегативно и седиментационно устойчивых дисперсий липидных частиц из биосовместимых и биоразлагаемых компонентов, последующей лиофилизации, позволяющей увеличить срок их хранения, а также стерилизации при воздействии ионизирующего излучения и ее влияния на физико-химические свойства систем. Полученные липидные наночастицы могут быть перспективными носителями, повышающими эффективность действия лекарственных и биологически активных соединений дерматологического, офтальмологического и другого действия.

Цели и задачи исследования

Целью исследования являлось получение устойчивых к агрегации и седиментации дисперсий липидных наночастиц методом ТИФ как носителей для доставки лекарственных и биологически активных соединений.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. выявление условий получения дисперсий липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином, стабилизированных неионогенными ПАВ – Tween 60 и Span 60;
2. исследование дисперсности липидных частиц с различным соотношением вышеуказанных компонентов в составе дисперсной фазы, агрегативной и седиментационной устойчивости их дисперсий;
3. изучение термических характеристик липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином;
4. исследование влияния лиофилизации на дисперсность липидных наночастиц и определение оптимальных условий их хранения;
5. изучение устойчивости дисперсий липидных наночастиц к воздействию ионизирующего излучения и исследование влияния поглощенной дозы различной мощности на эффективность стерилизации дисперсий липидных наночастиц;
6. оценка токсичности липидных наночастиц и влияния инкорпорирования в них биологически активных соединений на биологическую доступность на примере астаксантина и лютеина.

Научная новизна исследования

Установлены условия получения методом ТИФ дисперсий липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином размером менее 100 нм.

Показано, что увеличение концентрации углеводородного масла или парафина в составе липидных наночастиц со стеариновой кислотой приводит к укрупнению частиц, а также к снижению степени кристалличности компонентов. Увеличение доли углеводородного масла в составе липидных наночастиц с парафином, напротив, способствует уменьшению размеров наночастиц.

Показано, что при воздействии ионизирующего излучения с дозой до 25 кГр на липидные наночастицы не происходит изменений молекулярной структуры компонентов и дисперсности, снижения агрегативной и седиментационной устойчивости их дисперсий. Доза, необходимая для стерилизации, составляла не менее 15 кГр по отношению к грамположительным бактериям *Staphylococcus aureus* и не менее 5 кГр по отношению к грамотрицательным бактериям *Escherichia Coli*.

На основании результатов ультразвуковой доплерографии сосудов хориоаллантоисной оболочки куриных эмбрионов показано, что дисперсии липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином проявляют низкую токсичность по отношению к живым организмам, а инкорпорирование в них астаксантина и лютеина ускоряет процесс восстановления после моделирования гемической гипоксии по сравнению с растворами данных биологически активных соединений. Причем наибольшую эффективность восстановления скорости кровотока демонстрировали системы на основе наноэмульсии с углеводородным маслом.

Теоретическая и практическая значимость работы

Показано, что водные дисперсии липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином, стабилизированные Span 60 и Tween 60, сохраняют агрегативную и седиментационную устойчивость более 30 сут.

Показана возможность лиофилизации липидных наночастиц со стеариновой кислотой и углеводородным маслом без снижения их дисперсности при последующем редиспергировании. Хранение лиофилизированных липидных наночастиц с парафином и со смесью стеариновой кислоты и парафина не рекомендуется из-за их агрегации.

Показано, что стерилизация липидных наночастиц может проводиться при воздействии ионизирующего излучения с дозой, не превышающей 15 кГр. Это позволяет предположить, что липидные наночастицы могут быть использованы в качестве носителей радиофармацевтических препаратов, в присутствии которых будет происходить пролонгированное поддержание стерильности медицинских препаратов, содержащих наноэмульсии, НЛЧ и ТЛН.

Методология и методы исследования

Для определения среднего диаметра липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином использовали методы динамического светорассеяния и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). ζ -потенциал наночастиц определяли с помощью лазерной доплеровской вельосиметрии. Для определения температуры инверсии фаз использовали кондуктометрический метод. Агрегативную и седиментационную устойчивость дисперсий липидных наночастиц исследовали

оптическими методами, основанными на анализе распределения интенсивности светопропускания и обратного светорассеяния монохромного света по высоте образца. Термическое поведение, температуры и энтальпии фазовых переходов липидных наночастиц и их компонентов определяли методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Молекулярная структура компонентов дисперсий была исследована методом инфракрасной (ИК) спектроскопии на оборудовании Центра коллективного пользования РХТУ им. Д.И. Менделеева.

Лиофилизацию проводили путем замораживания дисперсий липидных наночастиц и последующей сублимационной сушки при пониженной температуре и давлении. Облучение дисперсий липидных наночастиц осуществляли с помощью рентгеновской трубки на кафедре химии высоких энергий и радиоэкологии РХТУ им. Д.И. Менделеева. Влияние поглощенной дозы различной мощности на эффективность стерилизации дисперсий липидных наночастиц исследовали микропланшетным методом на грамположительных бактериях *Staphylococcus aureus* или грамотрицательных *Escherichia Coli* на кафедре биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева.

Оценку биологического действия дисперсий липидных наночастиц осуществляли методом ультразвуковой доплерографии на сосудах хориоаллантоисной оболочки куриных эмбрионов в лаборатории ПАО «Диод».

Результаты исследования были интерпретированы с учётом современных знаний о физико-химических свойствах дисперсий липидных наночастиц. Полученные данные соответствуют результатам, полученным другими учёными при изучении свойств аналогичных систем.

Положения, выносимые на защиту:

1. закономерности влияния состава липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином на дисперсность, агрегативную и седиментационную устойчивость их дисперсий;
2. условия хранения лиофилизатов липидных наночастиц, при которых они сохраняют средний размер не более 100 нм при последующем редиспергировании;
3. возможность стерилизации ионизирующим излучением дисперсий липидных наночастиц при сохранении молекулярной структуры их компонентов, их дисперсности, агрегативной, седиментационной устойчивости и необходимая мощность поглощенной дозы по отношению к грамположительным бактериям *Staphylococcus aureus* или грамотрицательным *Escherichia Coli*;
4. повышение биодоступности биологически активных веществ: астаксантина и лютеина – при инкорпорировании в липидные наночастицы со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином.

Степень достоверности результатов

Достоверность полученных данных обусловлена применением комплекса взаимодополняющих современных и верифицированных методов исследования, включая методы динамического светорассеяния, лазерной доплеровской велосиметрии, ПЭМ,

ДСК, кондуктометрический метод, исследование распределения интенсивности светопропускания и обратного светорассеяния монохромного света по высоте образца. Результаты экспериментов были хорошо воспроизводимыми.

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на XI и XII ежегодных конференциях Нанотехнологического общества России (г. Москва, 2020 и 2021 гг.); Международных конференциях молодых ученых по химии и химической технологии «МКХТ-2020», «МКХТ-2021», «МКХТ 2022», «МКХТ-2023», «МКХТ-2024» (г. Москва, 2020-2024 гг.); конференции «Актуальные аспекты химической технологии биологически активных веществ» (г. Москва, 2020 г.); VI междисциплинарном научном форуме с международным участием «Новые материалы и перспективные технологии» (г. Москва, 2020 г.); I и III конференциях Школы молодых ученых «Химия и технология биологически активных веществ для медицины и фармации» (г. Москва, 2021 и 2023 гг.); XV Всероссийской научно-технической конференции молодых ученых, специалистов и студентов вузов «Научно-практические проблемы в области химии и химических технологий» (г. Апатиты, 2021 г.); XVIII международной научной конференции «Физико-химические процессы в атомных системах» (г. Москва, 2022 г.); Международных научных конференциях студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2023», «Ломоносов-2024» (г. Москва, 2023 и 2024 гг.); VI Международной конференции по коллоидной химии и физико-химической механике (IC CCRSM), посвященной 125-летию со дня рождения П.А. Ребиндера (г. Казань, 2023 г.); VII Съезде биофизиков России (г. Краснодар, 2023 г.); Форуме молодых исследователей ХимБиоSeasons 2024 (г. Калининград, 2024 г.).

Публикации. По материалам исследований, обобщенных автором в диссертации, опубликовано 29 научных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных изданиях и индексируемых в международных базах данных, 26 работ в материалах всероссийских и международных конференций, форумов, конгрессов.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, списка работ, опубликованных автором. Общий объем работы 236 страниц, включая 71 рисунок, 26 таблиц, библиографию из 341 наименования.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность работы, определены цели и задачи исследования, описаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

В первой главе представлен обзор литературы, содержащий общую характеристику липидных наночастиц: наноэмульсий, НЛЧ и ТЛН. Рассмотрено влияние их состава, в том числе ПАВ, методов получения на физико-химические свойства дисперсий. Рассмотрены варианты стерилизации и лиофилизации липидных наночастиц, потенциальные области их применения.

Во второй главе приведены реактивы, используемые в работе, методы получения и исследования водных дисперсий липидных наночастиц.

В третьей главе представлены результаты исследований, которые посвящены условиям получения липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином, влиянию состава на их дисперсность, агрегативную и седиментационную устойчивость дисперсий, фазовые превращения, протекающие в липидных наночастицах, и их структуру, а также возможности их лиофилизации, выявлению оптимальных условий хранения лиофилизатов, возможности стерилизации при воздействии ионизирующего излучения. Рассмотрены потенциальные области применения исследованных липидных наночастиц как носителей биологически активных и лекарственных соединений.

Температура инверсии фаз в системах с липидными наночастицами со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином

Для получения дисперсий липидных наночастиц методом ТИФ необходимо знание температурных диапазонов инверсии фаз в системах различного состава. Сначала получали дисперсии липидных наночастиц, содержащие 25 мас.% стеариновой кислоты, углеводородного масла, парафина или их смеси в 0,15 М растворе NaCl. Для стабилизации использовали 12,5 об.% смеси ПАВ Span 60 и Tween 60 в мольном соотношении 1:0,76. Температуру инверсии фаз определяли кондуктометрическим методом, измеряя электропроводность дисперсий липидных наночастиц, при их нагревании. Было показано, что инверсия фаз происходит в диапазоне температур до 85-95 °С.

Дисперсность и устойчивость дисперсий липидных наночастиц

Дисперсность липидных наночастиц исследовали методом динамического светорассеяния и ПЭМ, агрегативную и седиментационную устойчивость их дисперсий – оптическими методами.

Размер липидных наночастиц со стеариновой кислотой и углеводородным маслом, а также НЛЧ со стеариновой кислотой и парафином не превышал 40 нм (рис. 1а, б), причем с увеличением концентрации углеводородного масла и парафина, соответственно, наблюдалось их незначительное укрупнение с 24 ± 4 нм до 40-41 нм. Липидные наночастицы имели сферическую форму, пример ПЭМ-микрофотографии представлен на рисунке 1в. ТЛН с парафином имели размер 68 ± 6 нм при концентрации ПАВ 15,0 об.%. Включение углеводородного масла в состав липидных наночастиц с парафином способствовало уменьшению размеров частиц до 28-35 нм.

Распределения интенсивности отраженного монохроматического света практически не изменялись по высоте столба дисперсий липидных наночастиц в течение 30 сут (рис. 1г), что свидетельствовало об их агрегативной и седиментационной устойчивости.

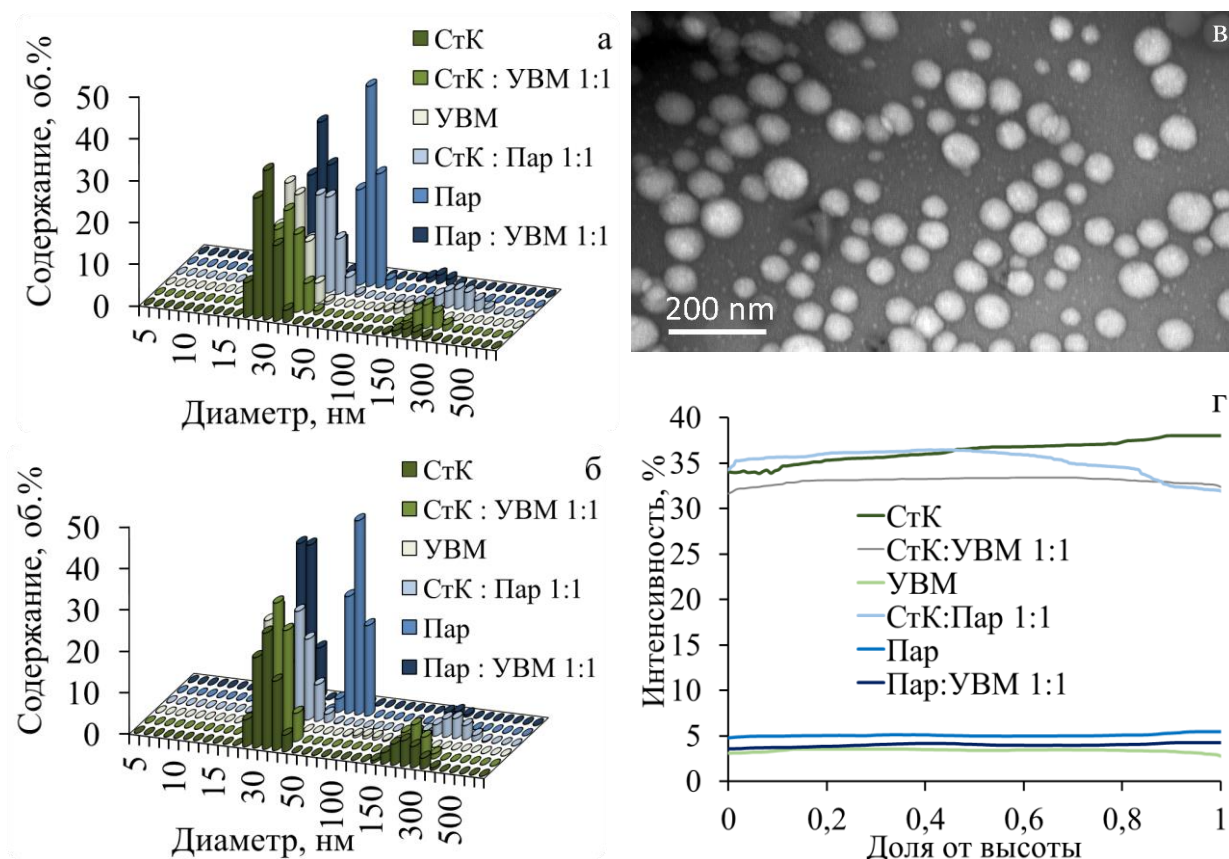


Рисунок 1 – Распределения по размерам липидных наночастиц из стеариновой кислоты (СтК), углеводородного масла (УВМ) и парафина (Пар) после получения (а) и через 30 сут (б); ПЭМ-микрофотография наноземульсии из УВМ (в); распределения интенсивности отраженного монохроматического света по высоте дисперсий липидных наночастиц через 30 сут (г). Концентрация ПАВ – 15,0 об.%.

Фазовые переходы в дисперсиях липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином

Липидные наночастицы анализировали методом ДСК при нагревании от 20 до 95 °С со скоростью 1 °С/мин. Степень кристалличности смешанных систем рассчитывали с учетом массовой доли компонентов.

Было выявлено, что с увеличением концентрации углеводородного масла в составе дисперсной фазы липидных наночастиц со стеариновой кислотой до массового соотношения 1:1 на термограммах (рис. 2) наблюдалось снижение температуры максимума пика плавления с $67,7 \pm 2,0$ до $59,2 \pm 1,8$ °С, что сопровождалось снижением степени кристалличности с $71,3 \pm 6,4$ до $33,6 \pm 3,0$ %. Это позволило сделать предположение о том, что происходило формирование структуры, обогащенной стеариновой кислотой, разупорядоченной из-за встраивания углеводородного масла, ближе к поверхности липидных наночастиц, так как молекулы стеариновой кислоты обладают амфифильными свойствами, и центральной частью, обогащенной углеводородным маслом.

Комбинирование стеариновой кислоты и парафина также способствовало существенному разупорядочиванию кристаллической решетки стеариновой кислоты, температура максимума пика плавления снижалась с $67,7 \pm 2,0$ до $59,4 \pm 1,8$ °C и степень кристалличности – с $71,3 \pm 6,4$ до $19,6 \pm 1,8\%$. При этом пики плавления парафина практически не смещались, а степень кристалличности изменялась менее значительно. Это свидетельствовало о формировании структуры с неполярным липидным ядром. При этом между твердой оболочкой из ПАВ и неполярным ядром находилась фаза, обогащенная стеариновой кислотой, с низкой степенью кристалличности, что является предпочтительным для инкапсулирования лекарственных соединений.

При комбинировании углеводородного масла и парафина наблюдалось снижение температуры плавления липидных наночастиц вследствие частичной взаимной растворимости липидов ввиду близкого химического строения. При этом наблюдалась сегрегация на фазу, обогащенную парафином, и фазу с повышенной концентрацией углеводородного масла, что подтверждалось ПЭМ-микрофотографиями (рис. 3). Степень

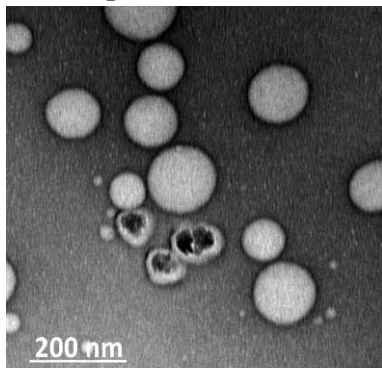


Рисунок 3 – ПЭМ-микрофотография наночастиц с парафином и углеводородным маслом в массовом соотношении 1:1

температуре -25 °C и высушивали в лиофильной сушилке до постоянной массы (в течение 6-8 ч). Системы редиспергировали в бидистиллированной воде сразу после лиофилизации или после хранения в течение 2-6 мес. при температуре 20 °C и в морозильной камере при -25 °C. Пример внешнего вида полученных лиофилизатов представлен на рисунке 4.

кристалличности фазы, обогащенной парафином, снижалась со 100 до $74,3 \pm 6,7\%$.

Ллиофилизация липидных наночастиц является перспективным способом удаления дисперсионной среды для увеличения их срока хранения. Однако в процессе лиофильной сушки может происходить необратимая агрегация наночастиц, а также разрушение их структуры.

Для исследования влияния лиофилизации на дисперсность липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином дисперсии замораживали при

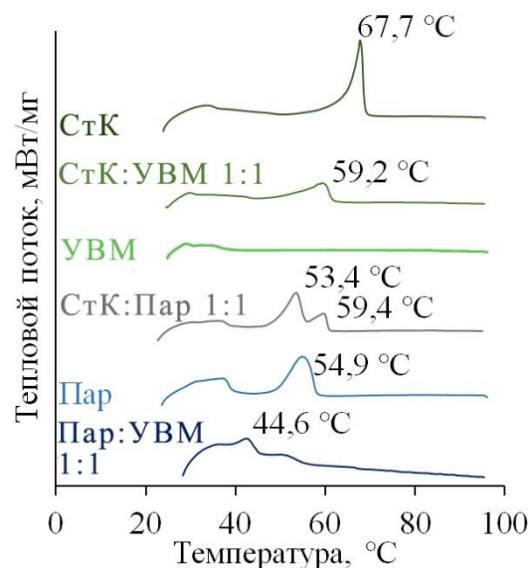


Рисунок 2 – Термограммы дисперсий липидных наночастиц из стеариновой кислоты (СтК), углеводородного масла (УВМ) и парафина (Пар)



Рисунок 4 – Фотография лиофилизированных липидных наночастиц со стеариновой кислотой

ТЛН со стеариновой кислотой, а также НЛЧ со стеариновой кислотой и углеводородным маслом сохраняли свою дисперсность при лиофилизации и последующем редиспергировании – диаметр не превышал 34 нм (табл. 1). Включение в состав дисперсной фазы углеводородного масла способствовало тому, что НЛЧ сохраняли свою дисперсность на протяжении 6 мес. при хранении при 20 °С, но агрегировали до 225-280 нм в морозильной камере. Наноэмульсии с углеводородным маслом, напротив, демонстрировали высокую агрегативную устойчивость лиофилизата при хранении.

Таблица 1 – Средний диаметр редиспергированных липидных наночастиц со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином, хранившихся при температуре 20 и -25 °С

Массовое соотношение липидов			Средний диаметр наночастиц, нм							
Стеариновая кислота	Углеводородное масло	Парафин	До лиофилизации	0 мес.	20 °С			-25 °С		
					2 мес.	4 мес.	6 мес.	2 мес.	4 мес.	6 мес.
1	0	0	27±4	30±3	27±4	20±4	150±20	28±5	32±7 / 250±30	180±30
1	1	0	33±3	31±3	25±5	25±4	20±3	20±3	35±9 / 400±70	225±40
0	1	0	30±4	33±3	17±3	17±3	20±4	30±3	25±4	33±7
1	0	1	39±5	25±2	90±10	190±30	150±60	20±4 / 240±50	230±50	190±40
0	0	1	68±6	80±9	180±50	250±90	340±90	140±60	140±60	190±50
0	1	1	28±4	25±3	47±5	46±9	68±5	34±4	41±5	66±8

*Зелёный – рекомендуется для хранения, красный – не рекомендуется для хранения

При лиофилизации и последующем редиспергировании НЛЧ со стеариновой кислотой и парафином наблюдалось уменьшение их размеров с 36-39 до 20-25 нм, что, вероятно, связано с перекристаллизацией парафина и стеариновой кислоты, приводящей к уменьшению объема кристаллической структуры и, как следствие, размеров наночастиц. Спустя 2 мес. хранения при 20 °С наблюдалось укрупнение таких частиц до 90-220 нм, в то время как в морозильной камере липидные наночастицы со стеариновой кислотой и парафином сохраняли бимодальное распределение по размерам, однако происходило увеличение объемной доли агрегатов (табл. 1).

Липидные наночастицы с парафином незначительно укрупнялись в процессе лиофильной сушки с 68±6 до 80±9 нм (табл. 1). При хранении при 20 и -25 °С наблюдалась постепенная агрегация до 190-340 нм. Это свидетельствовало о непригодности лиофилизации ТЛН с парафином для долгосрочного хранения.

В лиофилизированных дисперсиях с парафином и углеводородным маслом, хранившихся при 20 °С в течение 2-6 мес., происходило постепенное укрупнение наночастиц, интенсивность которого снижалась с увеличением доли углеводородного масла в составе дисперсной фазы липидных наночастиц, при этом понижение температуры хранения до -25 °С способствовало снижению интенсивности агрегации в них.

На основании полученных данных было сделано заключение, что не рекомендуется хранение лиофилизированных ТЛН с парафином, а также парафином и стеариновой кислотой в связи с их агрегацией. Лиофилизированные липидные наночастицы со стеариновой кислотой, а также стеариновой кислотой и углеводородным маслом сохраняют дисперсность не менее 4 мес. при 20 °С и не более 2 мес. при -25 °С. Хранение лиофилизированных липидных наночастиц с углеводородным маслом и парафином возможно более 6 мес., при этом более предпочтительна температура -25 °С.

Влияние мощности поглощенной дозы на дисперсность и эффективность стерилизации липидных наночастиц

Для оценки возможности стерилизации ионизирующим излучением была исследована устойчивость дисперсий липидных наночастиц с углеводородным маслом и стеариновой кислотой при воздействии ионизирующего излучения с мощностью поглощенной дозы до 25 кГр. При этом по данным ИК-спектроскопии не происходило изменений молекулярной структуры компонентов, дисперсность сохранялась практически неизменной. При обработке наноэмульсии с углеводородным маслом с поглощенной дозой более 20 кГр наблюдалась незначительная агрегация при хранении облученных дисперсий из-за возможного локального разогрева при воздействии ионизирующего излучения.

В соответствии с ГОСТ 11137-2-1011 при неизвестной биологической нагрузке в качестве стерилизующей дозы выбирают 15-25 кГр. В работе была проведена оценка эффективности стерилизации дисперсий липидных наночастиц ионизирующим излучением на примере наноэмульсий с углеводородным маслом с внесенными в них культурами грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* и грамотрицательных *Escherichia Coli*. Начальные концентрации микроорганизмов составляли $4,6 \cdot 10^4$ и $6,0 \cdot 10^4$ КОЕ/мл, соответственно. Высокая эффективность снижения микробиологической активности наблюдалась при облучении с дозой не менее 15 кГр по отношению к грамположительным бактериям *Staphylococcus aureus* и не менее 5 кГр по отношению к грамотрицательным бактериям *Escherichia Coli* (рис. 5).

Стоит отметить, что для исследования была выбрана очень большая концентрация бактерий, соответствующая концентрациям микроорганизмов при протекании инфекционных процессов. Естественно, что при обычной стерилизации медицинских препаратов концентрация микроорганизмов существенно меньше. Полученные результаты позволяют предположить, что липидные наночастицы могут быть использованы в том числе и в качестве носителей радиофармацевтических препаратов, в присутствии

которых будет происходить пролонгированное поддержание стерильности медицинских препаратов, содержащих наноземульсии, НЛЧ и ТЛН.

Оценка биодоступности атаксантина и лютеина, инкапсулированных в липидные наночастицы со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином, при моделировании гемической гипоксии

Оценку биодоступности инкапсулированных атаксантина и лютеина проводили с помощью метода, основанного на модели-

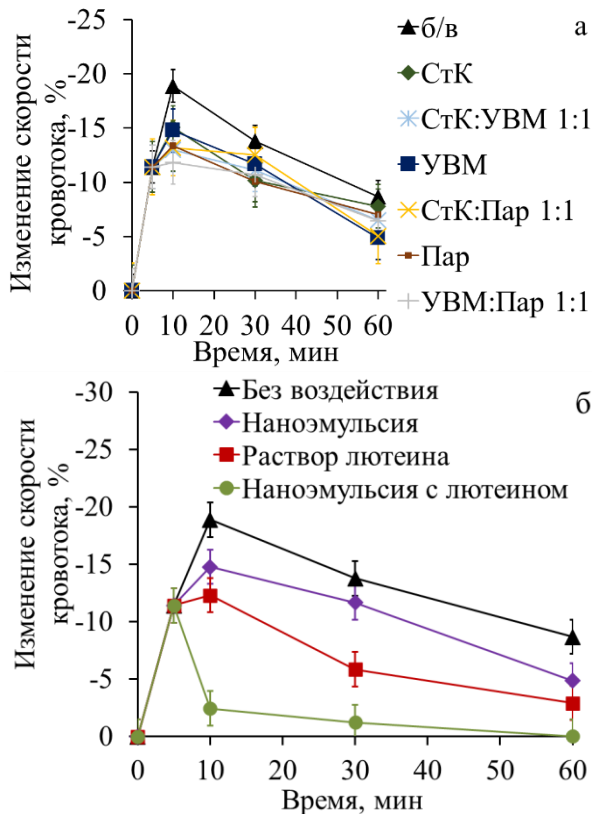


Рисунок 6 – Изменение скорости венозного кровотока куриных эмбрионов при моделировании гемической гипоксии: а) без воздействия (б/в) и после нанесения дисперсий липидных наночастиц со стеариновой кислотой (СтК), углеводородным маслом (УВМ) и парафином (Пар); б) после введения наноземульсии с углеводородным маслом с инкапсулированным лютеином

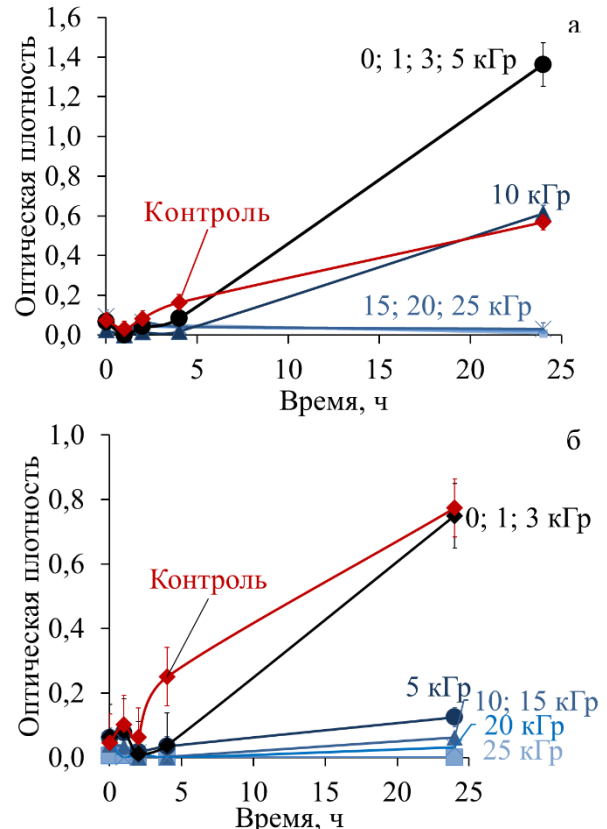


Рисунок 5 – Изменение оптической плотности наноземульсии с углеводородным маслом и бактериями *Staphylococcus aureus* (а) или *Escherichia Coli* (б) после облучения с дозой 0-25 кГр. Контрольный образец – бактерии в питательной среде.

ровании гемической гипоксии девятидневных куриных эмбрионов и последующей ультразвуковой доплерографии для определения скорости венозного кровотока в наиболее крупном сосуде на хориоаллантоисной оболочке.

При нанесении дисперсий липидных наночастиц восстановление кровотока происходило быстрее, и спустя 60 мин после начала исследования изменение его скорости не превышало 5-7%, что было ниже, чем при естественном восстановлении (рис. 6а). Инкапсулирование атаксантина или лютеина в липидные наночастицы со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином способствовало повышению их

биодоступности и ускорению восстановления скорости кровотока девятидневных куриных эмбрионов при моделировании гемической гипоксии (рис. 6б). При нанесении спиртового раствора астаксантина или лютеина кровоток продолжал замедляться, а интенсивное восстановление наблюдалось лишь спустя 30-60 мин. В то время как при инкапсулировании их в липидные наночастицы практически сразу после нанесения снижение скорости кровотока прекращалось и через 5-10 мин наблюдалась тенденция к его восстановлению. Наибольшая эффективность наблюдалась при применении наноэмульсии с углеводородным маслом. Это показывает перспективность использования липидных наночастиц для доставки липофильных лекарственных соединений.

Благодарности

Автор выражает глубокую признательность и благодарность:

- к.ф.-м.н., в.н.с каф. биоинженерии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова Багрову Д.В. и м.н.с. Внуковой А.А. за проведение исследований методом ПЭМ;
- ген. директору ПАО «Диод» Тихонову В.П. и нач. лаборатории Белянкиной Е.Ю. за проведение совместных исследований раздражающего и гипер- / гипотензивного действия дисперсий липидных наночастиц методом ультразвуковой доплерографии;
- м.н.с. ФГБУН «ИТЭБ РАН» (г. Пущино) Аникиной В.А. и Замятиной Е.А. и к.б.н., зав. лабораторией, в.н.с. Поповой Н.Р. за проведение совместных исследований применения наноэмульсий для повышения биодоступности куркумина и наночастиц CeO_2 и проведение исследований *in vitro* и *in vivo*;
- ст. преподавателю каф. химии высоких энергий и радиоэкологии РХТУ им. Д.И. Менделеева Фенину А.А. за обработку дисперсий липидных наночастиц ионизирующим излучением;
- инженеру каф. биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева Ванюшенко-вой А.А. и д.т.н., проф. Белову А.А. за проведение микробиологических исследований;
- Центру коллективного пользования РХТУ им. Д.И. Менделеева.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Определены температурные диапазоны инверсии фаз в системах с липидными наночастицами из стеариновой кислоты, парафина и углеводородного масла, стабилизированными Tween 60 и Span 60, установлены условия получения их дисперсий методом ТИФ.
2. Показано, что инкорпорирование углеводородного масла или парафина в состав липидных наночастиц со стеариновой кислотой, стабилизированных Span 60 и Tween 60 и, приводит к их незначительному укрупнению, в то время как включение

углеводородного масла в состав липидных наночастиц с парафином, напротив, способствует уменьшению их размеров. Полученные дисперсии липидных наночастиц сохраняют агрегативную и седиментационную устойчивость более 30 сут.

3. На основании данных термического анализа и ПЭМ предложено строение липидных наночастиц, при котором слабополярная стеариновая кислота с разупорядоченной кристаллической структурой концентрируется вблизи адсорбционного слоя ПАВ вокруг неполярного ядра. При комбинировании неполярных липидов происходит сегрегация на фазу, обогащенную парафином, вблизи поверхности липидных наночастиц и фазу с повышенной концентрацией углеводородного масла.

4. Определены условия лиофилизации и последующего хранения липидных наночастиц. Липидные наночастицы с углеводородным маслом и парафином рекомендуется хранить при $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, срок хранения – более 6 мес., наночастицы со стеариновой кислотой, а также со стеариновой кислотой и углеводородным маслом – более 4 мес. при $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, но не более 2 мес. при $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Наночастицы с парафином, а также с парафином и стеариновой кислотой лиофилизировать не рекомендуется из-за их агрегации при последующем редиспергировании.

5. Выявлено, что липидные наночастицы со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином обладают высокой устойчивостью при воздействии ионизирующего излучения. Увеличение поглощенной дозы до 25 кГр не приводит к изменению молекулярной структуры, при этом наблюдается лишь незначительное укрупнение липидных наночастиц.

6. Продемонстрирована возможность стерилизации ионизирующим излучением липидных наночастиц на примере наноэмульсий с углеводородным маслом. Высокая эффективность снижения микробиологической активности наблюдается при облучении с дозой не менее 15 кГр по отношению к грамположительным бактериям *Staphylococcus aureus* и не менее 5 кГр по отношению к грамотрицательным бактериям *Escherichia Coli*.

7. Показано, что инкорпорирование астаксантина и лютеина в липидные наночастицы со стеариновой кислотой, углеводородным маслом и парафином способствует повышению биодоступности и ускоряет восстановление скорости кровотока девятидневных куриных эмбрионов при моделировании гемической гипоксии. Наибольшая эффективность наблюдается при применении наноэмульсии с углеводородным маслом.

Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы

Перспективным является дальнейшее исследование структуры липидных наночастиц, состоящих из липидов различного химического строения, изучение агрегации при редиспергировании лиофилизированных липидных наночастиц, а также разработка способов её предотвращения. Представляет интерес применение липидных наночастиц

в качестве носителей широкого спектра лекарственных и биологически активных соединений, а также исследование их на различных биологических объектах.

К технологическим перспективам дальнейшей разработки темы можно отнести разработку радиофармацевтических препаратов на основе полученных липидных наночастиц для противоопухолевой терапии и тераностики, а также фармацевтических препаратов для адресной доставки лекарственных и биологически активных соединений.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ

В научных изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science:

1. Shirokikh A.D. Bioavailability of nanoemulsions modified with curcumin and cerium dioxide nanoparticles / A.D. Shirokikh, V.A. Anikina, E.A. Zamyatina, E.V. Mishchenko, M.Y. Koroleva, V.K. Ivanov, N.R. Popova // *Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics*. – 2023. – V. 14(1). – P. 89-97. DOI: 10.17586/2220-8054-2023-14-1-89-97 (Scopus, Web of Science).
2. Shirokikh A.D. Lipid nanoparticles for lutein encapsulation and delivery / A.D. Shirokikh, Yu.A. Guruleva, E.A. Marinets, M.Yu. Koroleva // *Colloid Journal*. – 2023. – V. 85(5). – P. 817-826. DOI:10.1134/S1061933X2360063X (Scopus, Web of Science).
3. Shirokikh A.D. Lipid Particles as Promising Carriers of Radioactive Pharmaceuticals / A.D. Shirokikh, A.A. Fenin, M.Yu. Koroleva // *Russian Journal of Physical Chemistry A*. – 2024. – V. 98(12). – P. 2842-2848. DOI: 10.1134/S0036024424702108 (Scopus, Web of Science).

В статьях, в сборниках научных трудов и в тезисах докладов на международных и всероссийских конференциях:

4. Широких А.Д. Радиационная стойкость твёрдых липидных наночастиц как перспективных носителей радиоактивных лекарственных препаратов / А.Д. Широких, А.А. Фенин, Э.П. Магомедбеков, М.Ю. Королёва, Е.В. Юртов // *Актуальные аспекты химической технологии биологически активных веществ: сборник научных трудов*. Выпуск 191 / Под общ. ред. А.Е. Коваленко. – М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2020. – С. 81-82.
5. Широких А.Д. Влияние стеарата алюминия на устойчивость наноэмульсий на основе углеводородного масла / А.Д. Широких, М.Ю. Королёва, Е.В. Юртов // *Новые материалы и перспективные технологии: Сборник материалов Шестого междисциплинарного научного форума с международным участием, Москва, 23 – 27 ноября 2020 года. Том I*. – Москва: Автономная некоммерческая организация содействия развитию инновационной деятельности «Центр научно-технических решений», 2020. – С. 823-825.
6. Широких А.Д. Влияние стеарата алюминия на стабильность твердых липидных наночастиц на основе стеариновой кислоты / А.Д. Широких, М.Ю. Королёва, Е.В. Юртов // *Сборник тезисов XI ежегодной конференции Нанотехнологического общества России* / Ответственный редактор к.б.н. Андреюк Д.С.; научный редактор д.т.н. Быков В.А. – Москва, 2020. – С. 57-58.

7. Широких А.Д. Влияние стеарата алюминия на стабильность наноэмульсий на основе углеводородного масла с Tween 60 и Span 60 / А.Д. Широких, М.Ю. Королёва, Е.В. Юртов // Успехи в химии и химической технологии. – 2020. – Т. 34, № 8 (231). – С. 115-117.
8. Глебова О.В. Изучение дисперсий твердых липидных наночастиц с добавкой стеарата алюминия / О.В. Глебова, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Химия и технология биологически активных веществ для медицины и фармации: Тезисы докладов I Школы молодых ученых. – 2021. – С. 54-55.
9. Широких А.Д. Твердые липидные наночастицы со стеариновой кислотой, стабилизированные стеаратом иттрия / А.Д. Широких, М.Ю. Королёва, Е.В. Юртов // Труды Кольского научного центра РАН. – 2021. – Т. 12. – №2 (5). – С. 282-284.
10. Кочетков А.А. Влияние состава наноструктурированных липидных наночастиц со стеариновой кислотой и углеводородным маслом на их дисперсность и реологические свойства / А.А. Кочетков, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Успехи в химии и химической технологии. – 2021. – Т. 35, № 9 (244). – С. 32-34.
11. Глебова О.В. Влияние состава твердых липидных наночастиц на их размер и стабильность / О.В. Глебова, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Успехи в химии и химической технологии. – 2021. – Т. 35, № 9 (244). – С. 17-19.
12. Широких А.Д. Устойчивость наноэмульсий на основе углеводородного масла со стеаратом алюминия / А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Сборник тезисов XII ежегодной конференции Нанотехнологического общества России / Ответственный редактор к.б.н. Андреюк Д.С; научный редактор д.т.н. Быков В.А. – Москва, 2021. – С. 88-89.
13. Горелков О.П. Влияние стеаратов алюминия и иттрия на средний размер капель наноэмульсий на основе углеводородного масла / О.П. Горелков, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Сборник тезисов XII ежегодной конференции Нанотехнологического общества России / Ответственный редактор к.б.н. Андреюк Д.С; научный редактор д.т.н. Быков В.А. – Москва, 2021. – С. 66-67.
14. Горелков О.П. Влияние стеарата иттрия на стабильность наноэмульсий с углеводородным маслом / О.П. Горелков, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Успехи в химии и химической технологии. – 2022. – Т. 36, № 9 (258). – С. 116-118.
15. Казьмина В.А. Влияние стеарата цинка на устойчивость наноэмульсий, стабилизированных Tween 80 и Span 80 / В.А. Казьмина, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Успехи в химии и химической технологии. – 2022. – Т. 36, № 9 (258). – С. 126-128.
16. Широких А.Д. Липидные частицы как перспективные носители радиоактивных фармацевтических препаратов / А.Д. Широких, А.А. Фенин, Э.П. Магомедбеков, М.Ю. Королёва // Сборник трудов XVIII международной научной конференции «Физико-химические процессы в атомных системах». – Москва, 2023. – С. 64.
17. Лебедева А.Н. Устойчивость дисперсий наноструктурированных и твердых липидных наночастиц с углеводородным маслом, стеариновой кислотой и парафином / А.Н. Лебедева, А.С. Караськов, А.Д. Широких // Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2023» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов,

Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова [Электронный ресурс]. – М.: МАКС Пресс, 2023. ISBN 978-5-317-06952-0.

18. Караськов А.С. Влияние состава дисперсий наноструктурированных липидных носителей с углеводородным маслом и парафином на температуру инверсии фаз / А.С. Караськов, А.Н. Лебедева, А.Д. Широких // Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2023» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова [Электронный ресурс]. – М.: МАКС Пресс, 2023. ISBN 978-5-317-06952-0.

19. Маринец Е.А. Дисперсии наноструктурированных липидных наночастиц, полученные из лиофилизата / Е.А. Маринец, Ю.И. Гурулёва, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Химия и технология биологически активных веществ для медицины и фармации: Тезисы докладов III Школы молодых ученых. – 2023. – С. 52.

20. Гурулева Ю.И. Агрегативная устойчивость наноразмерных липидных систем с углеводородным маслом и стеариновой кислотой / Ю.И. Гурулёва, Е.А. Маринец, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Химия и технология биологически активных веществ для медицины и фармации: Тезисы докладов III Школы молодых ученых, Москва, 15 – 19 мая 2023 года. – Москва: Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 2023. – С. 54.

21. Гурулева Ю.И. Агрегативная устойчивость наноразмерных липидных частиц с углеводородным маслом и стеариновой кислотой / Ю.И. Гурулёва, Е.А. Маринец, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Успехи в химии и химической технологии. – 2023. – Т. 37, № 13 (275). – С. 28-30.

22. Караськов А.С. Влияние состава дисперсий наноструктурированных липидных частиц с углеводородным маслом и парафином на их физико-химические свойства / А.С. Караськов, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Успехи в химии и химической технологии. – 2023. – Т. 37, № 13 (275). – С. 37-39.

23. Маринец Е.А. Влияние лиофилизации на дисперсность наноструктурированных липидных частиц / Е.А. Маринец, Ю.И. Гурулёва, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Успехи в химии и химической технологии. – 2023. – Т. 37, № 13 (275). – С. 40-42.

24. Широких А.Д. Влияние состава липидных наночастиц на биодоступность астаксантина / А.Д. Широких, А.Н. Лебедева, А.С. Караськов, М.Ю. Королёва // VI Международная конференция по коллоидной химии и физико-химической механике (IC CCRSM), посвященная 125-летию со дня рождения П.А. Ребиндера (Казань, 2023): тезисы докладов. – Казань: ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, 2023. – С. 87.

25. Лебедева А.Н. Влияние лютеина на устойчивость дисперсий твёрдых липидных наночастиц со стеариновой кислотой и парафином / А.Н. Лебедева, А.А. Калинин, А.Д. Широких // Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2024» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова [Электронный ресурс]. – М.: МОО СИПНН Н.Д. Кондратьева, 2024. ISBN 978-5-901-64042-5.

26. Горелков О.П. Влияние стеарата иттрия на агрегативную устойчивость наноструктурированных липидных частиц со стеариновой кислотой и углеводородным маслом / О.П. Горелков, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // ХимБиоSeasons 2024: Сборник тезисов докладов X юбилейного всероссийского форума молодых исследователей. – Калининград: БФУ им. И. Канта, 2024. – С. 218.

27. Лебедева А.Н. Устойчивость дисперсий твёрдых липидных наночастиц со стеариновой кислотой и парафином / А.Н. Лебедева, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // ХимБиоSeasons 2024: Сборник тезисов докладов X юбилейного всероссийского форума молодых исследователей. – Калининград: БФУ им. И. Канта, 2024. – С. 238.

28. Казьмина В.А. Лиофилизация наноструктурированных липидных частиц с олеиновой кислотой и парафином / В.А. Казьмина, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Успехи в химии и химической технологии. – 2024. – Т. 38, №6 (285). – С. 123-125.

29. Лебедева А.Н. Твердые липидные наночастицы со стеариновой кислотой, парафином и астаксантином / А.Н. Лебедева, А.А. Калиниченко, А.Д. Широких, М.Ю. Королёва // Успехи в химии и химической технологии. – 2024. – Т. 38, №6 (285). – С. 133-135.