

Липосомы - фосфолипидные наносистемы для доставки лекарственных соединений и вакцин*

(школьники, нанобиотехнологии)

Многие лекарственные средства нового поколения снабжены системами доставки, обеспечивающими постепенное поступление лекарственных веществ в определенные органы и клетки-мишени, а также улучшение фармакологических свойств препарата. Много внимания уделяется **фосфолипидным наночастицам – липосомам** – как переносчикам лекарственных средств, **эффективность** действия которых обеспечивается не только их биологическими свойствами, но и **наноразмерами**.

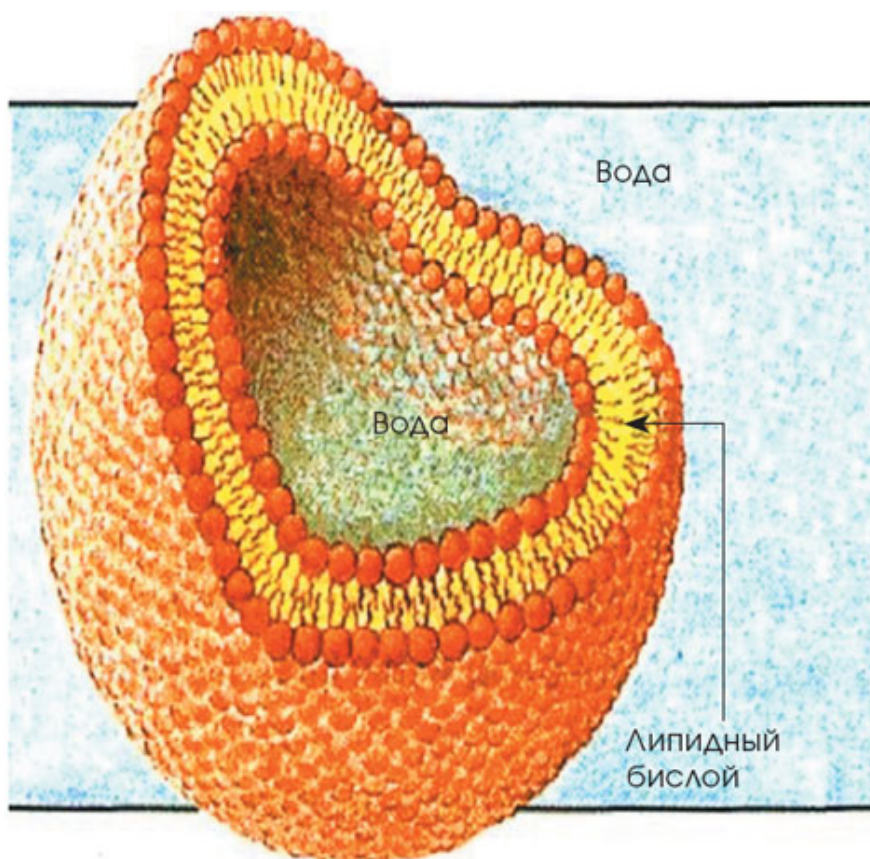


Рис. 1. Строение фосфолипидной липосомы.

Липосому можно представить себе как сферу с толстой стенкой (рис. 1), внутри и снаружи которой находится водный раствор. Диаметр «одностенных» липосом составляет обычно от 20 до нескольких сотен нанометров. Стенка липосомы представляет собой так называемый **липидный бислой**, состоящий чаще всего из фосфолипидов (сложных эфиров глицерина или сфингозина, фосфорной кислоты и жирных кислот). Глицерофосфолипиды являются обязательным

компонентом большинства мембран животных, растительных и бактериальных клеток. В молекуле фосфолипида можно выделить две большие части – растворимую в воде гидрофильную «голову» и нерастворимый в воде гидрофобный «хвост» (на рис. 2 выделены красным и синим цветом соответственно). Мембраны, состоящие только из фосфолипидов, будут сильно неполярными и гидрофобными внутри «стенки» и полярными на внешней и внутренней сторонах «стенки».

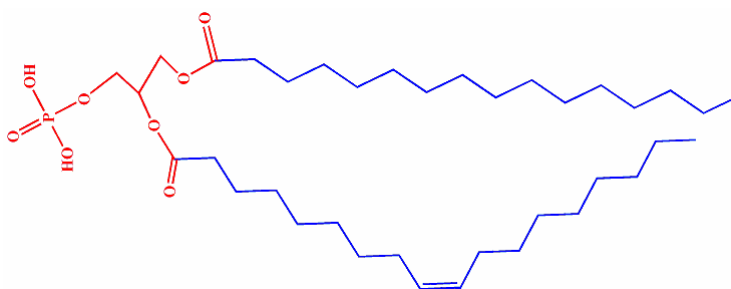


Рис. 2. Строение одного из глицерофосфолипидов – фосфатидовой кислоты.

1) Сколько энергии требуется для поддержания структуры липидного бислоя, состоящего из фосфатидовой кислоты? Объясните свое предположение (3 балла).

Все молекулы липидов, у которых есть гидрофильная голова и гидрофобный хвост, могут образовать в водной среде два различных типа структур – липосомы (рис. 1) или мицеллы (рис. 3). Тип получающейся структуры зависит от соотношения размеров «головы» и «хвоста» – если «голова» по диаметру больше, чем «хвост», то образуются мицеллы, а если «голова» и «хвост» сравнимы, или даже «хвост» толще «головы», то формируются липосомы.

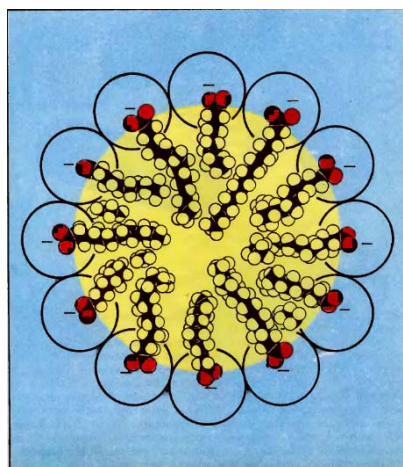


Рис. 3. Строение мицеллы

2) Какие структуры (мицеллы или липосомы) будут формировать в водном окружении (2 балла):

а) поверхностно активное вещество додецилсульфат натрия $C_{12}H_{25}SO_3Na$

б) фосфолипид кардиолипин (рис. 4)?

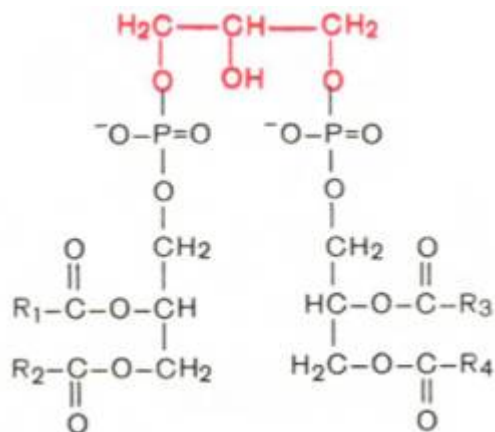


Рис. 4. Структура кардиолипина

3) Оцените с точностью ± 0.3 нм толщину липидного бислоя, состоящего из фосфатидилхолина (1,2-дипальмитоил-*sn*-глицерофосфохолина) (рис. 5) с учетом длины связи CH_2-CH_2 1.53 \AA и валентного угла 110° (линейный размер «головы» можно принять равным 8 \AA). Приведите свои расчеты (2 балла).

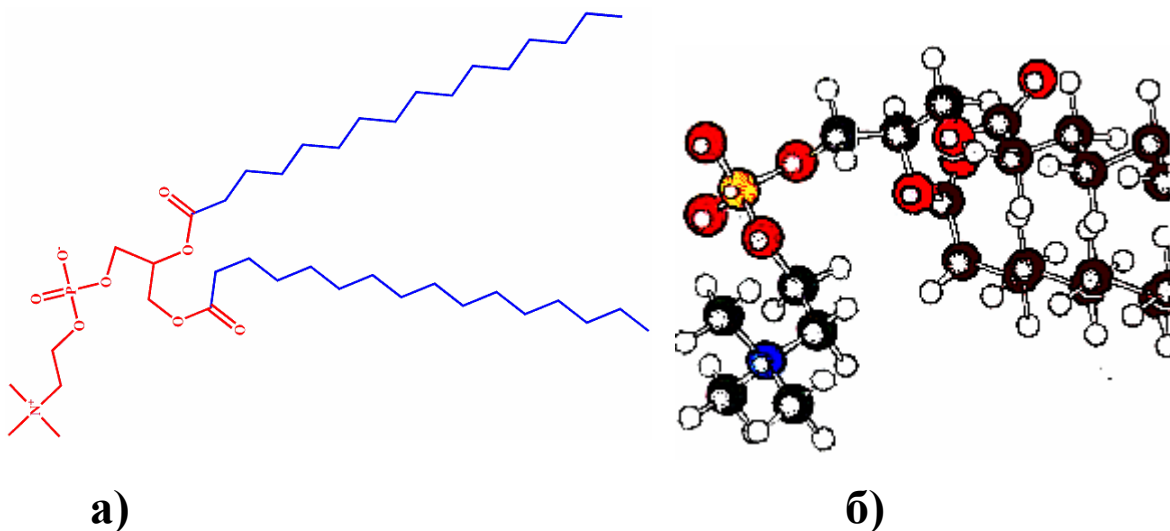


Рис. 5. (а) Химическая структура фосфатидилхолина и (б) пространственная структура его «головы»

Известно, что липидный бислой – это подвижная текучая структура, в которой происходит броуновское движение молекул липидов. Современные методы исследования позволяют следить за движением единичных молекул липидов в бислое.

4) Допустим, вам удалось «пометить» одну молекулу липида и вы следите за ней с помощью специального микроскопа. Какое перемещение этой молекулы липида в липидном бислое будет происходить часто, а какое редко?

- а) вдоль одного из монослоев
- б) из одного монослоя в другой?

Объясните, почему (2 балла).

Липиды обладают разнообразным строением, и глицерофосфолипиды – лишь один из примеров. В состав гидрофильной головы могут входить другие спирты (не только глицерин), остаток фосфорной кислоты может быть этерифицирован различными соединениями, в некоторых липидах вообще нет фосфорной кислоты. Поэтому в зависимости от строения гидрофильная голова липида может быть заряжена положительно или отрицательно, а также незаряжена.

5) Из каких липидов (положительно заряженных, отрицательно заряженных или неионных) должна состоять липосома, чтобы лучше связывать во внутренней области

- а) ДНК
- б) небольшой белок инсулин, растворенный в буфере: (i) с рН 4.5 или (ii) рН 7.0.

Изоэлектрическая точка инсулина (значение рН раствора, при котором общий заряд молекулы равен нулю) равна 5.4 (2 балла).

6) Зачем нужны липосомы при доставке в клетку таких веществ, как ДНК и белки, а также лекарств, например доксорубина (противораковый препарат, рис. 6)?

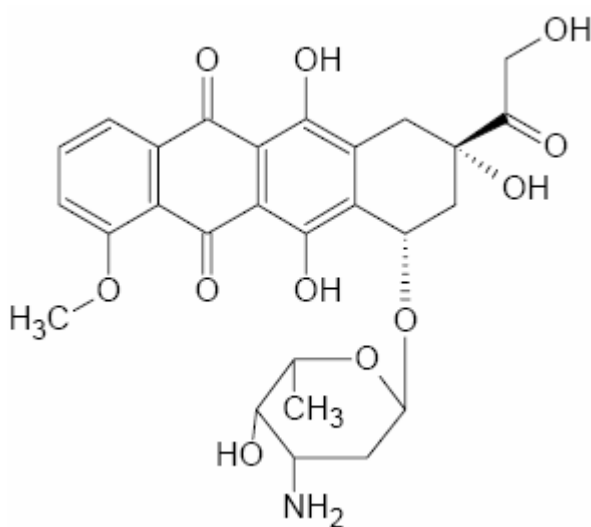


Рис. 6. Химическая структура доксорубина

Варианты ответов:

- а) токсичное вещество

- б) легко разрушается в организме ферментами
- в) узнается системой выведения и быстро выводится из организма
- г) вызывает иммунный ответ
- д) вызывает аллергию
- е) не проникает в клетки из-за большого размера
- ж) не проникает в клетки, потому что имеет заряд
- з) не растворяется в воде

Для каждого вещества приведите подходящие варианты ответов (их может быть больше одного) **(2 балла)**.

7) Предложите 2 метода изучения размеров липосомных частиц **(2 балла)**.

Время пребывания обычных липосом в кровотоке невелико (от нескольких минут до нескольких часов). На липосомах легко сорбируются белки плазмы крови, после чего липосомы "заглатываются" макрофагами, которые их разрушают и выводят из организма. Решение проблемы преодоления естественных барьеров для липосом в организме оказалось довольно неожиданным и достаточно простым. Известно, что в состав липосомы могут входить разные липиды. Выяснилось, что клетки, вылавливающие липосомы из крови, можно обмануть, сделав поверхность липосом сильно гидрофильной и как бы недоступной, можно даже сказать невидимой, с помощью добавки липидов, к «голове» которых присоединен гидрофильный полимер (массой от 1000 до 6000 а.е.м.) довольно простого состава. В результате время жизни липосом в кровотоке превысило вдвое суток. Необычные свойства таких липосом и их высокая терапевтическая эффективность настолько поразили исследователей, что эти липосомы получили образное название "липосомы-невидимки" (stealth liposomes) аналогично известному самолету-невидимке "стелс", который не удается обнаружить с помощью радарных устройств.

8) Какие молекулы должны входить в состав липидного бислоя лекарственных липосом **(1 балл)**, чтобы

- а) их не замечала система выведения
- б) они направлялись в определенный тип клеток
- в) они сливались с клеточной мембраной?

Что у них должно быть внутри **(1 балл)**?