

УДК 577.352.3

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ФОСФОЛИПИДНОЙ ТРАНСПОРТНОЙ НАНОСИСТЕМЫ МЕТОДОМ МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ

© 2024 г. В. А. Маслова^{а, *}, М. А. Киселев^{а, **}, П. В. Жучков^а,
Ю. А. Терешкина^б, Е. Г. Тихонова^б

^аОбъединенный институт ядерных исследований, Дубна, 141980 Россия

^бНаучно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, 119121 Россия

*e-mail: varvara@jinr.ru

**e-mail: kiselev@jinr.ru

Поступила в редакцию 11.11.2023 г.

После доработки 28.01.2024 г.

Принята к публикации 28.01.2024 г.

Методом малоуглового рассеяния рентгеновских лучей изучена структура водных дисперсий фосфолипидной транспортной наносистемы (ФТНС) на основе соевых фосфолипидов, разработанной в Институте биомедицинской химии (Москва, Россия). Концентрация ФТНС в воде составляла 20, 25, 31.25 и 37.5%. Определены структурные параметры везикул (внутренний радиус, толщины областей гидрофобных хвостов и полярных голов) в приближении модели “вложенных сфер” с вариацией плотности длины рассеяния в разных частях везикулы, а также раствора, который находится внутри и вне везикулы. Между объемом раствора и внутренней областью везикул обнаружена разница плотностей длин рассеяния фотонов, обусловленная неравномерным процессом растворения мальтозы, которая входит в состав ФТНС. При практически неизменной толщине липидного бислоя наблюдалось уменьшение радиуса везикул от ~150 до ~130 Å с увеличением концентрации системы вследствие возрастающего осмотического давления. Определен гидрофобный объем везикул: $7.45 \times 10^6 \text{ Å}^3$ при наименьшей концентрации 20% и $5.85 \times 10^6 \text{ Å}^3$ при наибольшей концентрации 37.5%.

Ключевые слова: малоугловое рентгеновское рассеяние, фосфолипиды, фосфолипидная транспортная наносистема, везикулярный транспорт лекарственных соединений, транспортные наносистемы.

DOI: 10.31857/S1028096024080089, EDN: ELJYQY

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени известен ряд способов доставки лекарственных соединений в организм человека, в частности в органы и определенные клетки-мишени [1, 2]. Исследуют различные транспортные системы на основе разнообразных природных и синтетических полимеров — носителей, имеющих как преимущества, так и недостатки. Наиболее перспективными представляются системы транспорта на основе растительных липидов [3–6]. В Институте биомедицинской химии (ИМБХ, Москва, Россия) разработана и получена фосфолипидная транспортная наносистема (ФТНС) [7, 8]. На основе

фосфолипидов сои методом микрофлюидизации получают гомогенную ультрадисперсную эмульсию с ее последующей лиофилизацией. Сухой лиофилизированный порошок при растворении образует тонкодисперсный раствор наночастиц (везикул) [9]. Преимуществами такой системы являются биodeградируемость, комплементарность по отношению к мембранам клеток, сверхмалый размер частиц в эмульсии ФТНС. Поверхность этих наночастиц легко модифицировать для придания тех или иных свойств, в том числе для повышения биодоступности лекарств. В ряде работ было продемонстрировано, что встраивание лекарственных соединений в ФТНС увеличивает

терапевтическую эффективность препаратов [10–13]. Поэтому для понимания закономерностей действия ФТНС необходимо выяснить механизмы ее формирования и особенности строения.

Методы малоуглового рассеяния нейтронов и рентгеновских лучей эффективны для исследования структуры ФТНС, что подтверждает ряд экспериментов [14–18], фокус внимания в которых был направлен на определение основных структурных характеристик и диверсификацию способов анализа данных. Ранее были изучены структурные параметры ФТНС при разных концентрациях [17]. Для анализа использовали модель разделенных формфакторов, которая позволила сделать вывод о гидратации липидного бислоя. Был рассчитан гидрофобный объем везикулярного переносчика лекарства, который может служить для размещения водонерастворимых лекарств. Максимальный гидрофобный объем одной везикулы составлял $14.55 \times 10^6 \text{ \AA}^3$ при концентрации ФТНС в воде 25% и уменьшался до $6.16 \times 10^6 \text{ \AA}^3$ при увеличении концентрации до 37.5%.

Также была замечена корреляция между концентрацией раствора и неравномерным растворением добавляемой мальтозы при гидратации липидов, поэтому необходимы дополнительные исследования с расширением экспериментальных возможностей в опытах на одном и том же образце на разных установках.

В моделях, которые используют для анализа ФТНС, обычно подразумевают одинаковые плотности длин рассеяния внутри везикулы и в окружающем растворе, что не очевидно. В экспериментах с ФТНС возможно неравномерное растворение мальтозы, и концентрация мальтозы снаружи и внутри везикулы может быть разной, что приведет к различию плотностей длин рассеяния в этих областях. Чтобы разрешить эти вопросы, в настоящей работе проведены серии экспериментов с подробным анализом кривых малоуглового рассеяния на везикулах ФТНС и представлены структурные параметры, полученные в ходе обработки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОД

Водные дисперсии ФТНС получали в ИМБХ согласно методике [9]. Липоид S100 (5.0 г) суспендировали в водном растворе мальтозы (20 г/100 мл) с получением первичной (грубой) эмульсии в соотношении фосфолипид: сахар 1:4. Грубую эмульсию заливали в приемную емкость микрофлюидизатора M110EH30K (Microfluidics, Westwood, MA, USA) и гомогенизировали в циклическом режиме (семь циклов, 1000 атм.,

температура эмульсии 45°C). Полученную ультратонкую эмульсию фильтровали с использованием фильтрующей установки YY30090 00 (Millipore Corporation, Burlington, MA, USA), пропуская через предварительный фильтр из стекловолокна с размером пор 1 мкм и мембранный фильтр с размером пор 0.22 нм.

Концентрации исследуемых растворов ФТНС составляли 20 и 25% (P12, PETRA III, DESY, Гамбург, Германия), а также 25, 31.25 и 37.5% (ДИКСИ, КИСИ, Москва, Россия). Буферный раствор — H_2O . Образцы растворов исследуемых концентраций заливали в разные капилляры (толщиной 2 мм), после чего помещали в специальные держатели. Температура образцов составляла 20°C.

Эксперименты проводили на двух установках. Первая — P12, немецкий электронный синхротрон PETRA III, DESY, Научный центр Гельмгольца, Гамбург, Германия (эксперимент № 1). Расстояние образец–детектор $L_{\text{sd}} = 300 \text{ см}$, данные были получены с помощью пиксельного детектора смешанного типа Pilatus, длина волны фотона $\lambda = 0.124405 \text{ нм}$, время экспозиции составляло 0.045 с. Калибровку проводили на воде автоматически. Вторая — экспериментальная станция ДИКСИ Курчатовского источника синхротронного излучения (КИСИ) в Национальном исследовательском центре “Курчатовский институт”, г. Москва (эксперимент № 2). Измерения были выполнены при расстояниях образец–детектор $L_{\text{sd}} = 30, 56 \text{ и } 241.5 \text{ см}$, данные были получены с использованием двумерного детектора MarCCD, длина волны $\lambda = 0.1625 \text{ нм}$, время экспозиции — 300 с. Данные были откалиброваны путем измерений капилляров с водой.

Экспериментальные данные обрабатывали с помощью программы SasView [19]. Расчеты проводили по модели вложенных сфер (core multi shell model), схематично изображенной на рис. 1, где R_0 — внутренний радиус, $(R_2 - R_1)$ — область гидрофобных хвостов D_{CH} , а $(R_1 - R_0)$ и $(R_3 - R_2)$ — размеры области полярных голов D_{PH1} и D_{PH2} соответственно, R_0 — внутренний радиус, R_1 — радиус первого слоя, R_2 — радиус второго слоя, R_3 — радиус третьего слоя. Макроскопическое сечение рассеяния в этой модели описывается выражением:

$$\begin{aligned} \frac{d\Sigma}{d\Omega}(q, R_0, R_1, R_2, R_3) = \\ = \frac{\text{Scale}}{V} F^2(q, R_0, R_1, R_2, R_3) + Bg, \end{aligned} \quad (1)$$

здесь $\text{Scale} = nV$, n — количество везикул в 1 см^3 , V — объем, приходящийся на одну везикулу,

B_g — уровень некогерентного фона, q — модуль вектора рассеяния:

$$q = \frac{4\pi \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)}{\lambda}, \quad (2)$$

где θ — угол рассеяния падающего пучка,

$$|\mathbf{q}| = |\mathbf{k} - \mathbf{k}_0|, \quad (3)$$

здесь $\mathbf{q}$ — вектор рассеяния, $\mathbf{k}$ и $\mathbf{k}_0$ — волновые векторы рассеянной и падающей волн соответственно:

$$k = \frac{2\pi}{\lambda}, \quad (4)$$

где λ — длина волны фотона.

Формфактор F задается следующим уравнением:

$$\begin{aligned} F(q) = & \frac{3}{V_b} [V_0(\rho_0 - \rho_1)] P(q, R_0) + V_1(\rho_1 - \rho_2) \times \\ & \times [V_1 P(q, R_1) - V_0 P(q, R_0)] + V_2(\rho_2 - \rho_3) \times \\ & \times [V_2 P(q, R_2) - V_1 P(q, R_1)] + V_3(\rho_3 - \rho_p) \times \\ & \times [V_3 P(q, R_3) - V_2 P(q, R_2)], \end{aligned} \quad (5)$$

где V_b — объем везикулы, V_0 , V_1 , V_2 и V_3 — объемы ядра, первого, второго и третьего слоев соответственно, P — формфактор для сферы:

$$P(q, R_i) = \frac{[\sin(qR_i) - qR_i \cos(qR_i)]}{(qR_i)^3}. \quad (6)$$

Среднеквадратичное отклонение σ от среднего радиуса $\langle R \rangle$ везикул рассчитывали при помощи распределения Шульца:

$$\begin{aligned} f(R) = & \frac{1}{\text{Norm}} (z+1)^{z+1} \times \\ & \times (R/\langle R \rangle)^z \frac{\exp[-(z+1)R/\langle R \rangle]}{\langle R \rangle (z+1)}, \end{aligned} \quad (7)$$

Norm — нормировочный коэффициент, который находят при численном расчете, а z — мера ширины распределения:

$$z = (1 - p^2)/p^2, \quad (8)$$

где p — полидисперсность в программе SasView, заданная выражением:

$$PD = p = \sigma/\langle R \rangle. \quad (9)$$

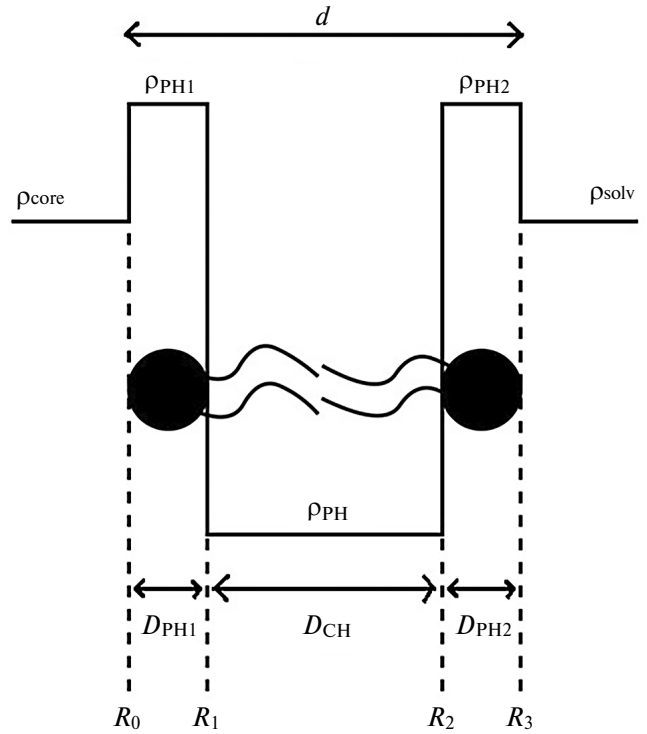


Рис. 1. Профиль плотности длины рассеяния липидного бислоя в модели “вложенных сфер”: ρ_{core} и ρ_{solv} — плотности длин рассеяния растворов внутри везикулы и снаружи; ρ_{PH1} , ρ_{PH2} и ρ_{CH} — плотности длин рассеяния областей полярных голов и углеводородных хвостов соответственно; D_{PH1} и D_{PH2} — толщины областей полярных голов; D_{CH} и d — толщины области углеводородных цепей и бислоя соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбранные для изучения везикулярных частиц наиболее подходящие методы малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН) и рентгеновских лучей (МУРР) [20–22] позволяют получить точные данные о структуре, прежде всего благодаря изотопному замещению с целью вариации контраста между элементами структуры, когда используют рассеяние нейтронов. Также при частичном дейтерировании есть возможность “подсветить” определенные части образцов. Однако в случае изучения ФТНС у этого метода есть ограничения. Так как в образцах присутствует мальтоза в большом количестве, рассеяние на ней значительно повышает некогерентный фон, следовательно, при использовании МУРН есть ограничения по концентрациям (до 25%).

Рассеяние рентгеновских лучей, в свою очередь, также имеет ряд преимуществ и недостатков. Эксперимент дает возможность более детально определить структуру липидного бислоя, таким

образом, можно различить области полярных голов и углеводородных хвостов. К недостаткам же можно отнести те же ограничения по концентрациям, но в данном случае ситуация прямо противоположная. При низких концентрациях образца плотности длин рассеяния ФТНС и воды практически совпадают. Повышение концентрации образца приводит, соответственно, к повышению концентрации мальтозы, которая в свою очередь начинает играть роль “контраста” в данной системе. Концентрации ФТНС, подходящие для изучения этим методом, начинаются с 25% и выше. Таким образом, используя оба этих метода, можно получить структурные параметры транспортных наночастиц при всех концентрациях. Но чаще всего рассматривают фармацевтические концентрации (20–25%), так что остановимся именно на них.

Спектры малоуглового рассеяния рентгеновских лучей были описаны моделью “вложенных сфер”. В табл. 1 представлено содержание мальтозы в ФТНС при различных концентрациях. Учет полидисперсности везикулярной системы с помощью распределения Гаусса показал, что полидисперсность толщины бислоя пренебрежимо мала (сходится к нулю), поэтому в дальнейшем полидисперсность задавали только для внутреннего радиуса везикулы с помощью распределения Шульца.

Таблица 1. Содержание мальтозы в ФТНС

Концентрация ФТНС, %	Концентрация мальтозы, %
20	16
25	20
31.25	25
37.5	30

Эксперимент на установке P12, DESY

На рис. 2 представлены экспериментальные спектры (точки) и расчетные кривые (линия), полученные в эксперименте № 1. Показано, что выбранная модель может описать экспериментальный спектр, но не идеально: пик в конце кривой плохо поддается обработке ($q > 0.3 \text{ \AA}^{-1}$). В табл. 2 и 3 представлены структурные характеристики ФТНС. Радиус везикул ФТНС уменьшается с увеличением концентрации, в то время как толщина липидного бислоя и его составляющих практически не изменяется. Полидисперсность системы также не увеличивается с изменением концентрации (табл. 2).

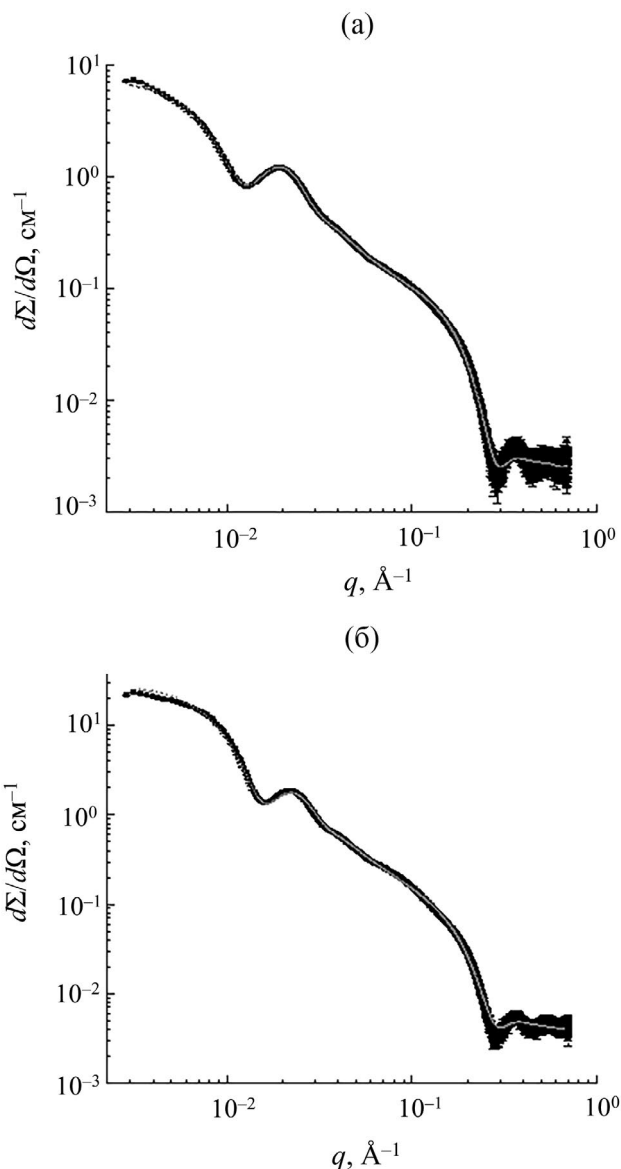


Рис. 2. Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния (установка P12, PETRA III) везикул ФТНС при концентрации 20 (а) и 25% (б). Точки — эксперимент, сплошная линия — расчетная кривая.

Завышенное значение параметра χ^2 можно объяснить тем, что используемая модель не учитывает межвезикулярные взаимодействия и поэтому не может хорошо описать начальную часть экспериментальных данных, однако это не влияет существенным образом на характер зависимостей структурных параметров везикул от концентрации ФТНС.

Эксперимент на установке ДИКСИ, КИСИ

Рис. 3 демонстрирует кривые малоуглового рассеяния, полученные в ходе эксперимента № 2. Параметры, полученные в результате анализа,

Таблица 2. Результаты расчетов малоугловых спектров везикул ФТНС, полученных на станции P12, PETRA III

ФТНС, %	$R, \text{\AA}$	$D_{\text{PH1}}, \text{\AA}$	$D_{\text{PH2}}, \text{\AA}$	$D_{\text{CH}}, \text{\AA}$	$d, \text{\AA}$	$V, 10^6 \text{\AA}^3$	PD	χ^2
20	151.01 ± 0.02	13.76 ± 0.01	13.34 ± 0.01	19.46 ± 0.01	46.56 ± 0.03	7.45	0.24 ± 0.01	7.63
25	135.70 ± 0.02	13.28 ± 0.01	13.00 ± 0.01	19.86 ± 0.01	46.14 ± 0.03	6.31	0.24 ± 0.01	112.92

Примечание. R — внутренний радиус, d — общая толщина липидного бислоя, V — гидрофобный объем везикулы, PD — полидисперсность радиуса.

Таблица 3. Плотности длин рассеяния, полученные при анализе данных на станции P12, PETRA III

ФТНС, %	$\rho_{\text{soln}}, 10^{-6} \text{\AA}^{-2}$	$\rho_{\text{core}}, 10^{-6} \text{\AA}^{-2}$	$\rho_{\text{PH1}}, 10^{-6} \text{\AA}^{-2}$	$\rho_{\text{PH2}}, 10^{-6} \text{\AA}^{-2}$
20	9.96 ± 0.01	10.16 ± 0.01	10.95 ± 0.01	10.60 ± 0.01
25	10.08 ± 0.01	10.20 ± 0.01	11.2 ± 0.01	10.3 ± 0.01

Примечание. Плотность длины рассеяния углеводородных хвостов была фиксирована: $\rho_{\text{CH}} = 7.8 \times 10^{-6} \text{\AA}^{-2}$.

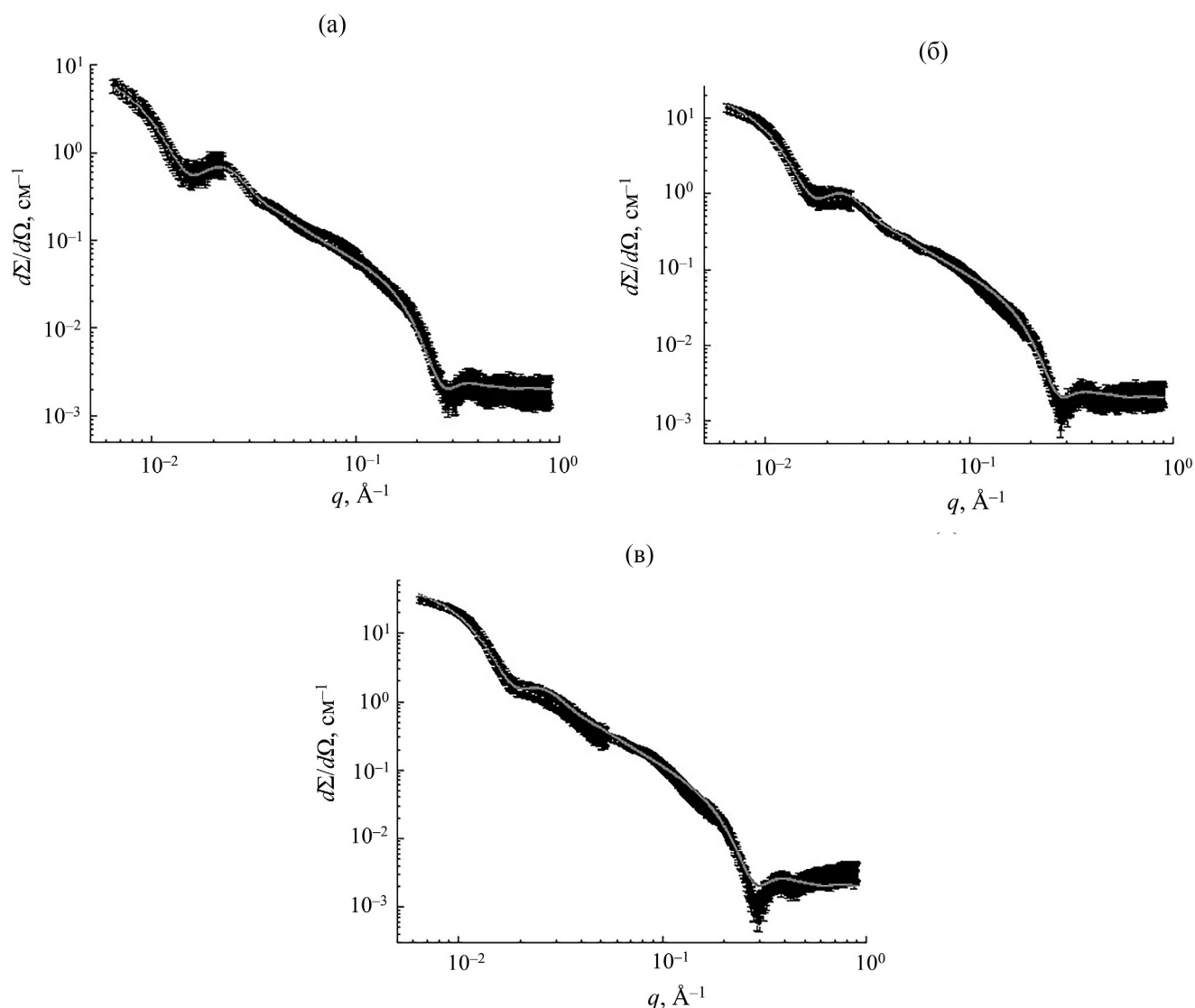


Рис. 3. Экспериментальные кривые малоуглового рассеяния (установка ДИКСИ) везикул ФТНС при концентрации 25% (а), 31.25% (б) и 37.5% (в). Точки — эксперимент, сплошная линия — расчетная кривая.

указаны в табл. 4 и 5. На графиках видно, что выбранная модель хорошо описывает экспериментальные спектры. В случае концентраций 25 и 31.25% данные хорошо согласуются. Толщина липидного бислоя изменяется лишь незначительно. В случае концентрации 37.5% наблюдается увеличение толщины области полярных голов D_{PH2} на 1.4 Å. Можно предположить, что с ростом концентрации (37.5%) становится существенным взаимодействие везикул, при котором необходимо учитывать структурный фактор (рис. 3в). Также в случае самой высокой концентрации повышается полидисперсность до 0.27, а плотности длин рассеяния везикулы внутри ρ_{core} и снаружи ρ_{solv} одинаковые.

Из анализа расчета плотности длины рассеяния внутри везикулы можно сделать вывод, что при гидратации системы мальтоза растворяется неравномерно. Разница плотностей длин рассеяния снаружи и внутри везикулы $\Delta\rho$ сокращается при увеличении концентрации от 0.20×10^{-6} до $0.12 \times 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$ (P12) и от $0.15 \times 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$ до нуля (ДИКСИ). Грубый расчет показал, что в эксперименте № 1 внутреннее содержание мальтозы составляет 66 и 50% (при концентрациях ФТНС 20 и 25% соответственно), в эксперименте № 2—58, 43 и 30% (при концентрациях ФТНС 25, 31.25 и 37.5% соответственно). В обоих экспериментах наблюдалось стремление системы к равновесию при увеличении концентрации: разница $\Delta\rho = \rho_{\text{core}} - \rho_{\text{solv}}$ уменьшалась. Это скорее всего

связано с возрастающим осмотическим давлением.

Получены большие размеры области полярных голов ($D_{\text{PH}} \approx 13\text{--}14 \text{ Å}$), которые превосходят область полярной головы одного чистого фосфолипид ($D_{\text{PH}} \approx 9 \text{ Å}$) примерно в 1.4–1.6 раза [23]. Для уточнения конфигураций и точного расположения молекул требуются дополнительные исследования.

Если сравнивать данные эксперимента № 2 с результатами [17], то можно отметить существенное различие полученных оценок средних размеров везикул (например, для ФТНС 25% в [17] $R = 207 \pm 2 \text{ Å}$, а для ФТНС 25% в настоящей работе $R = 140.7 \pm 1.3 \text{ Å}$). Это различие связано с тем, что при анализе данных МУРР были использованы разные модели и разные алгоритмы поиска (анализ проводили с использованием разных программ). Модель, представленная в настоящей работе, позволяет учитывать различие плотностей длин рассеяния раствора внутри и вне везикулы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе исследована структура везикул ФТНС в области фармацевтических концентраций методом малоуглового рассеяния рентгеновских лучей. Кривые рассеяния обрабатывали с использованием программы SasView в приближении модели “вложенных сфер”. Установлено, что оно

Таблица 4. Результаты расчетов малоугловых спектров везикул ФТНС, полученных на станции ДИКСИ

ФТНС, %	$R, \text{ Å}$	$D_{\text{PH1}}, \text{ Å}$	$D_{\text{PH2}}, \text{ Å}$	$D_{\text{CH}}, \text{ Å}$	$d, \text{ Å}$	$V, 10^6 \text{ Å}^3$	PD	χ^2
25	140.7 ± 1.3	14.0 ± 0.4	14.0 ± 0.2	20.95 ± 0.07	48.95 ± 0.13	7.19	0.24 ± 0.01	0.27
31.25	134.9 ± 1.1	14.0 ± 0.9	14.0 ± 0.5	20.53 ± 0.06	48.53 ± 0.20	6.54	0.26 ± 0.01	0.41
37.5	127.9 ± 1.1	14.0 ± 1.1	15.4 ± 0.5	20.13 ± 0.06	49.53 ± 1.66	5.85	0.26 ± 0.01	1.36

Примечание. R — внутренний радиус, d — общая толщина липидного бислоя, V — гидрофобный объем везикулы, PD — полидисперсность радиуса.

Таблица 5. Плотности длин рассеяния, полученные при анализе данных на станции ДИКСИ

ФТНС, %	$\rho_{\text{solv}}, 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$	$\rho_{\text{core}}, 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$	$\rho_{\text{PH1}}, 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$	$\rho_{\text{PH2}}, 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$
25	10.08	10.23 ± 0.05	10.80 ± 0.10	10.70 ± 0.10
31.25	10.27	10.34 ± 0.05	10.84 ± 0.01	10.82 ± 0.01
37.5	10.46	10.46 ± 0.01	10.85 ± 0.16	15.40 ± 0.50

Примечание. Плотности длин рассеяния для раствора и области углеводородных хвостов рассчитаны вручную и были зафиксированы: $\rho_{\text{CH}} = 7.8 \times 10^{-6} \text{ Å}^{-2}$.

достаточно хорошо описывает экспериментальный спектр. Радиус везикул R составил 151 ± 0.02 и 135.70 ± 0.02 Å в эксперименте № 1 (концентрация ФТНС 20 и 25% соответственно) и 140.7 ± 1.3 , 134.9 ± 1.1 и 127.9 ± 1.1 Å в эксперименте № 2 (концентрация 25, 31.25 и 37.5% соответственно). При увеличении концентрации ФТНС радиус везикулы уменьшается: 151.01 ± 0.02 Å при концентрации 20% и 127.9 ± 1.1 Å при концентрации 37.5%. Увеличение концентрации ФТНС не сопровождается увеличением толщины липидного бислоя. Важным выводом является, то, что разница плотностей длин рассеяния снаружи и внутри везикулы $\Delta\rho$ (и в процентном содержании мальтозы) сокращается при увеличении концентрации ФТНС. Наблюдаемое уменьшение радиуса и разницы плотностей длин рассеяния можно объяснить возрастающим осмотическим давлением в системе.

Был оценен максимальный гидрофобный объем везикулы, в котором могут размещаться водонерастворимые лекарства. В первом эксперименте он уменьшился от 7.45×10^6 до 6.31×10^6 Å³ при увеличении концентрации. Максимальный гидрофобный объем одной везикулы в эксперименте № 2 составил 7.19×10^6 Å³ при концентрации ФТНС в воде 25% и уменьшился до 5.85×10^6 Å³ при увеличении концентрации до 37.5%.

Следующим шагом усложнения модели может быть учет гидратирования бислоя, т.е. молекулы воды проникают внутрь бислоя.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Авторский коллектив выражает благодарность А.Ю. Грузинову за большой вклад в проведение экспериментов. Нарботка образцов для анализа выполнена в ИБМХ в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг.) (№ 122030100170-5).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mainardes R., Silva L. // Curr. Drug Targets. 2004. V. 5. № 5. P. 449. <http://doi.org/10.2174/1389450043345407>
2. Crintea A., Dutu A.G., Sovrea A., Constantin A.-M., Samasca G., Masalar A.L., Ifju B., Linga E., Neamti L., Tranca R.A., Fekete Z., Silaghi C.N., Craciun A.M. // Nanomaterials. 2022. V. 12. № 8. P. 1376. <http://doi.org/10.3390/nano12081376>
3. Барышников А.Ю. // Вестн. РАМН. 2012. Т. 67. № 3. С. 23. <http://doi.org/10.15690/vramn.v67i3.181>
4. Joshi S.A., Ramteke K.H. // IOSR J. Pharm. 2012. V. 2. № 6. P. 34. <http://doi.org/10.9790/3013-26103444>
5. Mehnert W., Mäder K. // Adv. Drug Deliv. Rev. 2012. V. 64. P. 83. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.021>
6. Cevc G. // Adv. Drug Deliv. Rev. 2004. V. 56. № 5. P. 675. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.028>
7. Патент 2406537 (РФ). Способ получения эмульсии на основе растительных фосфолипидов / ИБМХ. Арчаков А.И., Ипатова О.М., Лисица А.В., Медведева Н.В., Тихонова Е.Г., Стрекалова О.С., Широнин А.В. // опубл. 20.12.2011. Бюл. № 35. 7 с.
8. Патент 2391966 (РФ). Наносистема на основе растительных фосфолипидов для включения биологически активных соединений и способ ее получения (варианты) / ООО “ЭкоБиоФарм”. Арчаков А.И., Гусева М.К., Учайкин В.Ф., Ипатова О.М., Тихонова Е.Г., Медведева Н.В., Лисица А.В., Прозоровский В.Н., Стрекалова О.С., Широнин А.В. // опубл. 20.06.2010. Бюл. № 17. 14 с.
9. Tikhonova E.G., Sanzhakov M.A., Tereshkina Y.A., Kostryukova L.V., Khudoklinova Y.Y., Orlova N.A., Bobrova D.V., Ipatova O.M. // Pharmaceutics. 2022. V. 14. № 11. P. 2522. <http://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112522>
10. Медведева Н.В., Прозоровский В.Н., Игнатов Д.В., Дружиловская О.С., Кудинов В.А., Касаткина Е.О., Тихонова Е.Г., Ипатова О.М. // Биомедицинская химия. 2015. Т. 61. № 2. С. 219. <http://doi.org/10.18097/PBMC20156102219>
11. Широнин А.В., Фосфолипидные наночастицы в качестве транспортной системы для индометацина: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04. М.: ИБМХ РАМН, 2010. 118 с.
12. Медведева Н.В., Торховская Т.И., Кострюкова Л.В., Захарова Т.С., Кудинов В.А., Касаткина Е.О., Прозоровский В.Н., Ипатова О.М. // Биомедицинская химия. 2017. Т. 63. № 1. С. 56. <http://doi.org/10.18097/PBMC20176301056>
13. Санжаков М.А., Прозоровский В.Н., Ипатова О.М., Тихонова Е.Г., Медведева Н.В., Торховская Т.И. // Биомедицинская химия. 2013. Т. 59. № 5. С. 585. <http://doi.org/10.18097/pbmc20135905585>
14. Kiselev M.A., Zemlyanaya E.V., Ipatova O.M., Gruzinov A.Y., Ermakova E.V., Zabelin A.V., Zhabitskaya E.I., Druzhilovskaya O.S., Aksenov V.L. // J. Pharm. Biomed. Anal. 2015. V. 114. P. 288. <http://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.05.034>
15. Zemlyanaya E.V., Kiselev M.A., Zhabitskaya E.I., Gruzinov A.Y., Aksenov V.L., Ipatova O.M., Druzhilovskaya O.S. // J. Phys.: Conf. Ser. 2016. V. 724. № 1. P. 012056. <http://doi.org/10.1088/1742-6596/724/1/012056>
16. Zemlyanaya E.V., Kiselev M.A., Zhabitskaya E.I., Aksenov V.L., Ipatova O.M., Ivankov O.I. // J. Phys.: Conf. Ser. 2018. V. 1023. № 1. P. 012017. <http://doi.org/10.1088/1742-6596/1023/1/012017>

17. Киселев М.А., Земляная Е.В., Грузинов А.Ю., Жабницкая Е.И., Ипатова О.М., Аксенов В.Л. // Поверхность. Рентген., синхротр. и нейтрон. исслед. 2019. № 2. С. 49.
<http://doi.org/10.1134/S0207352819020057>
18. Киселев М.А., Селяков Д.Н., Гапон И.В., Иванов А.И., Ипатова О.М., Аксенов В.Л., Авдеев М.В. // Кристаллография. 2019. Т. 64. № 4. С. 632.
<http://doi.org/10.1134/S002347611904012X>
<https://www.sasview.org/>
19. Сверхгун Д.И., Фейгин Л.А. Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние. М.: Наука, 1986. 280 с.
20. Kiselev M.A., Zemlyanaya E.V., Aswal V.K., Neubert R.H.H. // Eur. Biophys. J. 2006. V. 35. № 6. P. 477.
<http://doi.org/10.1007/s00249-006-0055-9>
21. Kučerka N., Nieh M.-P., Katsaras J. // Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes. Elsevier, 2010. V. 12. P. 201.
<http://doi.org/10.1016/B978-0-12-381266-7.00008-0>
22. Nagle J.F., Tristram-Nagle S. // Biochim. Biophys. Acta — Rev. Biomembr. 2000. V. 1469. № 3. P. 159.
[http://doi.org/10.1016/S0304-4157\(00\)00016-2](http://doi.org/10.1016/S0304-4157(00)00016-2)

Analysis of the Phospholipid Transport Nanosystem Structure using Small Angle X-Ray Scattering

V. A. Maslova^{1,*}, M. A. Kiselev^{1,**}, P. V. Zhuchkov¹, Yu. A. Tereshkina², E. G. Tikhonova²

¹Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, 141980 Russia

²Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, 119121 Russia

*e-mail: varvara@jinr.ru

**e-mail: kiselev@jinr.ru

The structure of aqueous dispersions of phospholipid transport nanosystem (PhTNS) based on soybean phospholipids, developed at the Institute of Biomedical Chemistry (Moscow, Russia), was studied by the method of small-angle X-ray scattering. The PhTNS concentrations in water were 20, 25, 31.25, and 37.5%. The structural parameters of vesicles (inner radius, thicknesses of the regions of hydrophobic tails and polar heads) were determined in the “core multi shell model” approximation with variations in the scattering length densities of vesicle different parts, as well as the solution that was inside and outside the vesicle. A difference in the photon scattering length densities was detected between the solution volume and the inner region of the vesicle, due to the uneven maltose dissolution, which is part of PhTNS. With an almost constant thickness of the lipid bilayer, a decrease in the vesicle radius from ~150 to ~130 Å was observed with increasing concentration of the system which due to increasing osmotic pressure. The hydrophobic volume of vesicles was determined to be $7.45 \times 10^6 \text{ Å}^3$ at the lowest concentrations of 20% and $5.85 \times 10^6 \text{ Å}^3$ at the highest concentration of 37.5%.

Keywords: small-angle X-ray scattering, phospholipids, phospholipid transport nanosystem, vesicular drug transport, transport nanosystems.