

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-77

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ФОРМ ЛЕВОФЛОКСАЦИНА  
С ЛЕГОЧНЫМ СУРФАКТАНТОМ****INTERACTION OF LIPOSOMAL FORMS OF LEVOFLOXACIN WITH PULMONARY SURFACTANT**

И. М. Колмогоров, В. А. Тимошенко, И. В. Григорян, И. М. Ле-Дейген

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова*

I. M. Kolmogorov, V. A. Timoshenko, I. V. Grigoryan, I. M. Le-Deygen

*Lomonosov Moscow State University*

✉ kolmogorov2001@mail.com

**Аннотация**

Исследовано взаимодействие липосомального левофлоксацина с бычьим легочным сурфактантом. С помощью методов Ленгмюра — Вильгельми, АСМ, ИК- и флуоресцентной микроскопии доказано, что функционализация поверхности липосом маннозилированным хитозаном предотвращает преждевременное слияние везикул с сурфактантом, при этом способствует удержанию формуляции на границе раздела фаз сурфактант — воздух.

**Abstract**

The interaction between liposomal levofloxacin and bovine pulmonary surfactant was investigated. It has been demonstrated using Langmuir-Wilhelmy techniques, AFM, IR and fluorescence microscopy that functionalizing the surface of liposomes with mannosylated chitosan minimizes the initial fusion of vesicles with surfactant, while also assisting in the retention of the formulation at the surfactant-air interface.

На сегодняшний день как в России, так и в мире остро стоит задача разработки антибактериальных лекарственных препаратов, в том числе для ингаляционного введения. В данной работе предложен подход к исследованию взаимодействия функционализированных липосомальных форм одного из фторхинолонов — левофлоксацина с легочным сурфактантом (ЛС) на основе ИК-микроскопии, атомно-силовой и флуоресцентной микроскопии и исследования поверхностного баланса методом Ленгмюра — Вильгельми.

ЛС выделяли из бычьих легких. Содержание фосфолипидов определяли по качественной реакции с ферритиоцианатом аммония:  $78 \pm 2 \%$ , что хорошо соответствует литературным данным. Для определения числа ненасыщенных связей в липидной составляющей ЛС определили йодное число  $205 \pm 5$ .

Дополнительную информацию о пространственном распределении белков и липидов в ЛС получали методом ИК-микроскопии. За распределением компонент следили по характеристическим полосам поглощения

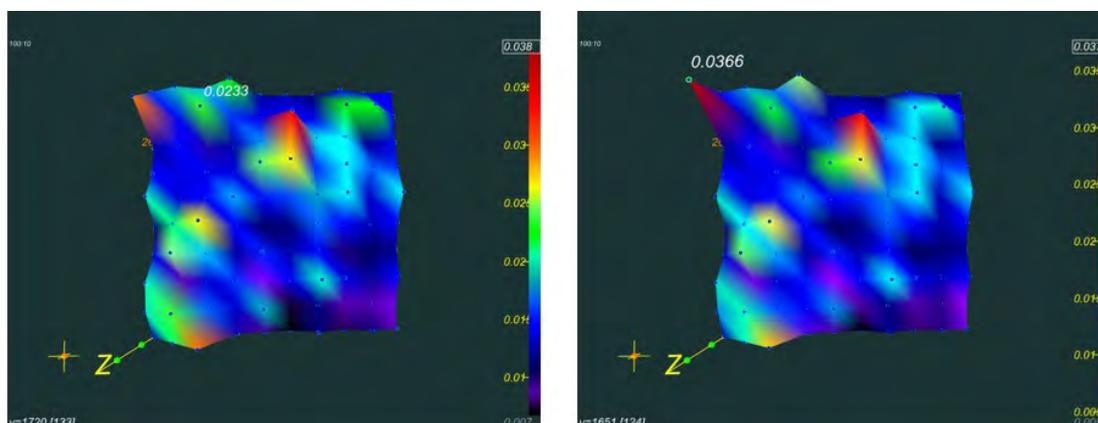


Рис. 1. Распределение сигнала полос поглощения липидов при  $1720 \text{ см}^{-1}$  (слева) и белков при  $1651 \text{ см}^{-1}$  (справа) легочного сурфактанта быка,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$

для липидов при  $1720\text{ см}^{-1}$ , соответствующей карбонильной связи, и для белков при  $1651\text{ см}^{-1}$ , соответствующей полосе поглощения Амид-I. Полученные карты распределения интенсивности сигнала представлены на рис. 1.

Обнаружено, что в ЛС липидная и белковая компоненты ко-локализованы, таким образом, при взаимодействии с ЛС взаимодействия с липидной и белковой фракцией стоит рассматривать в совокупности, а не по отдельности.

Взаимодействие липосомальных форм левофлоксацина с ЛС исследовали методом Ленгмюра — Вильгельми. В типичном эксперименте образец исследуемого вещества наносится на ванну большой площади, далее сближают подвижные барьеры и следят за изменением двумерного давления. Сравнивали ход изотерм сжатия для образцов ЛС, ЛС с добавлением липосом из дипальмитоилхолинфосфатидилхолина и кардиолипина в массовом соотношении 80 : 20 (ДПФХ : КЛ) и ЛС с добавлением липосом ДПФХ : КЛ, покрытых Хитозан-маннозой (Хитман).

При сравнении систем ЛС/ЛС с липосомами наблюдали изменение хода изотермы сжатия (рис. 2, А), свидетельствующее о появлении рафтов слияния. Для покрытых полимером липосом (рис. 2, Б) введение полимера приводило к уменьшению роста двумерного давления при наложении нагрузки. Это свидетельствует об отсутствии слияния липосомальной мембраны с монослоем ЛС, при этом покрытие липосом Хитманом позволяет системе быть стабильной при уменьшении межмолекулярного расстояния.

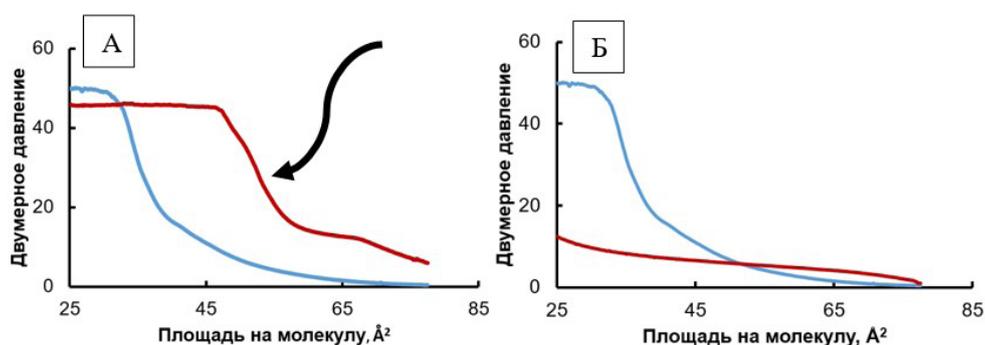


Рис. 2. Изотерма сжатия для образца ЛС (голубой) и при добавлении ДПФХ : КЛ липосом (красный) без полимера (А) и с полимером (Б),  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Стрелкой указан участок, характерный для процесса слияния мембраны липосом с ЛС

Полученный образец монослоя на слюде помещали на атомно-силовой микроскоп (АСМ) и получали различные изображения монослоя. На рис. 3, А представлены отдельные островки, которые соответствуют ЛС и совпадают по природе с данными из литературы (рис. 3, Б) [1].

При исследовании образца с липосомами обнаружены яркие глобулы большой высоты, которые соответствуют липосомам (рис. 4, А). Они интернализировались в монослой, «достраивая» его, при этом липосомы были связаны с поверхностью ЛС. Иная картина наблюдалась для покрытых полимером липосом (рис. 4, Б). Липосомы также наблюдались в монослое ЛС, однако вместо интернализации они занимали положение исключительно на границе раздела фаз слюда — сурфактант.

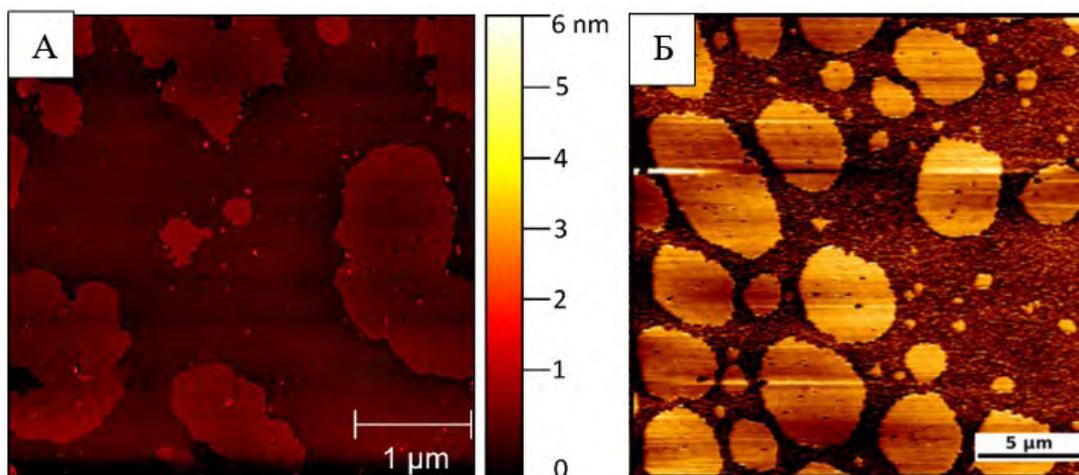


Рис. 3. Изображение, полученное на АСМ при исследовании ЛС в нашей работе (А) и в литературе (Б)

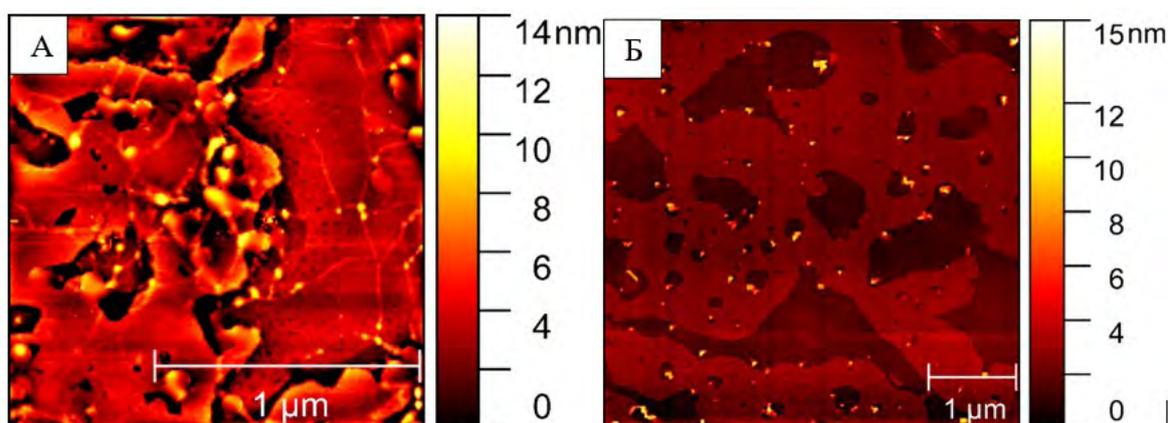


Рис. 4. Изображение, полученное на АСМ при добавлении ДПФХ : КЛ липосом без полимера (А) и с полимером (Б) на ЛС

Для исследования характера массопереноса при слиянии липосом с ЛС был применен метод флуоресцентной микроскопии. На слой ЛС на водной субфазе наносили флуоресцентно-меченные липосомы. Для образца липосом, не покрытых Хитманом, наблюдается равномерное распределение сигнала (рис. 5, А), что свидетельствует о быстром распределении меченого липида в монослое. Иная картина наблюдается для липосом, покрытых Хитманом (рис. 5, Б). На снимке видны очаги флуоресценции, которые отличаются по размеру и интенсивности, что говорит о неравномерности и низкой скорости массопереноса.

Полученные данные могут лечь в основу разработки ингаляционного антибактериального препарата для борьбы с тяжелыми инфекциями с улучшенными биофармацевтическими свойствами.

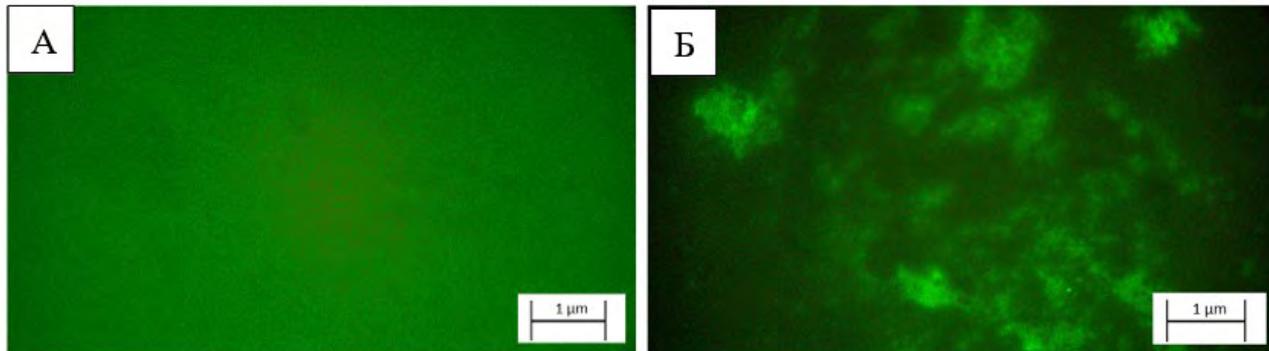


Рис. 5. Распределение флуоресценции для липосом ДПФХ : КЛ без полимера (А) и с полимером (Б), нанесенных на монослой ЛС

### Литература

1. Liekkinen J. et al. Surfactant Proteins SP-B and SP-C in Pulmonary Surfactant Monolayers: Physical Properties Controlled by Specific Protein-Lipid Interactions // *Langmuir*. 2023. Vol. 39, No. 12. P. 4338–4350.