

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И СОСТАВ ЛИПИДОВ ЛИПОСОМ ИЗ ЛЕЦИТИНА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ИХ ФОРМИРОВАНИЯ

© 2023 г. Л.Н. Шишкина*, Д.В. Парамонов**, М.А. Климович*, М.В. Козлов*

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина, 4, Москва, 119334, Россия

E-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

**Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения ФМБА РФ, Волоколамское шоссе, 75/1, Москва, 125424, Россия

Поступила в редакцию 13.09.2023 г.

После доработки 13.09.2023 г.

Принята к публикации 20.09.2023 г.

Изучено влияние состава и физико-химических свойств липидов лецитина, продолжительности воздействия ультразвука и центрифугирования на состав и физико-химические свойства сформированных из лецитина липосом. Выявлено, что интенсивность перекисного окисления липидов липосом взаимосвязана обратной корреляционной зависимостью с долей фосфолипидов в составе общих липидов лецитина и прямой корреляционной зависимостью с относительным содержанием кардиолипина в составе фосфолипидов лецитина. Показано, что продолжительность озвучивания и центрифугирование вызывают стадийные изменения состава и свойств липидов липосом. При центрифугировании наблюдается уменьшение pH среды и интенсивности перекисного окисления липидов липосом. Выявлено, что стадийные изменения способности липидов липосом к окислению в зависимости от продолжительности озвучивания и центрифугирования обусловлены относительным изменением суммарной доли кислых минорных фракций в составе их фосфолипидов.

Ключевые слова: лецитин, липосомы, ультразвук, центрифугирование, фосфолипиды, перекисное окисление липидов.

DOI: 10.31857/S000630292306008X, EDN: ROQFPU

Использование поверхностно-активных свойств синтетических и природных фосфолипидов (ФЛ) для формирования липосом и исследования возможностей их применения как средств адресной доставки лекарств в организм начались еще во второй половине прошлого века [1–3]. Для получения липосом, как правило, использовали воздействие ультразвуком и центрифугирование. Однако обработка ультразвуком водных дисперсий ФЛ в кавитационном режиме приводит не только к формированию липосом диаметром менее 100 нм [4], но и вызывает инициирование и интенсификацию физико-химических процессов в системе [5]. В процессе кавитации в жидкости происходит образование, рост, пульсация и схлопывание пузырьков. Это приводит к появлению локальных высоких концентраций энергии частиц среды и температуры, обу-

словливая протекание различных процессов: инициирование химических реакций, разрыв химических связей в молекулах, образование радикалов, эрозию поверхностей и др. [4–6]. Центрифугирование также оказывает влияние как на распределение липосом по размерам, так и на состав и физико-химические свойства содержащихся в водной среде липидов [2, 7].

Для приготовления липосом наиболее активно используются яичный или соевый лецитин, представляющие собой смесь природных липидов, среди которых не менее 50% ФЛ. Как и у любых природных объектов, состав липидов разных партий лецитина чрезвычайно вариабелен [8]. Это необходимо учитывать, поскольку набор синтетических липидов и состав липидов, выделенных из печени и головного мозга лабораторных мышей, оказывают существенное влияние на физико-химические свойства и состав сформированных из них липосом [9, 10].

Целью данной работы явилось изучить влияния состава липидов лецитина, продолжительности воздействия ультразвука и последующего центрифугирования на свойства водной среды,

Сокращения: ФЛ — фосфолипиды, ФИ — фосфатидилинозит, ФС — фосфатидилсерин, ФЭ — фосфатидилэтанол-амин, КЛ — кардиолипид, ФК — фосфатидная кислота, ЛФХ — лизоформы фосфолипидов, СМ — сфинголипиды, ФХ — фосфатидилхолин, ТБК — 2-тиобарбитуровая кислота, ТБК-АП — ТБК-активные продукты, ПОЛ — перекисное окисление липидов.

состав и физико-химические свойства сформированных из лецитина липосом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для приготовления липосом использовали соевый лецитин-стандарт («БИОЛЕК», Харьков), выпускаемый в виде 10%-го раствора в этаноле в запаянных стеклянных ампулах, которые хранили в морозильной камере холодильника при -18°C . После вскрытия ампулы и удаления исходного растворителя на роторном испарителе взвешенное количество лецитина ресуспендировали в бидистиллированной воде (54.0 ± 0.5 мг/мл), аликвоту объемом 20 мл переносили в ячейку ультразвукового дезинтегратора УЗДН-2Т и подвергали ультразвуковому воздействию в кавитационном режиме (частота ультразвука 22.00 ± 1.65 кГц, рабочая поверхность ультразвукового излучателя 3.3 см²). В процессе ультразвуковой обработки температуру в ячейке контролировали с помощью прибора BAT 100 thermometer (Physitempo Inc, США) с медь-константановой термопарой и поддерживали в пределах $22 \pm 5^{\circ}\text{C}$, охлаждая ячейку водой со льдом. Удаление механических примесей, возникающих в результате эрозии ультразвукового излучателя, и липосом большого диаметра осуществляли центрифугированием дисперсии липосом на центрифугах ОПН-8 (ООО «Дастан», Киргизстан) и MPV-210 (MPV Med. Instruments, Польша) при 5000–8000 об/мин.

Качественный и количественный состав ФЛ лецитина и липосом определяли методом тонкослойной хроматографии с использованием стеклянных пластинок размером 120×90 мм и силикагеля типа Н (Sigma, США) [11]. В качестве подвижной фазы использовали смесь хлороформ–метанол–ледяная уксусная кислота–дистиллированная вода в соотношении 50:30:8:4. Проявление хроматограмм проводили в парах йода. Количественный анализ отдельных фракций ФЛ проводили на фотометре КФК-3 (ПО «ЗОМЗ», Россия) при длине волны 800 нм по образованию фосфорно-молибденового комплекса в присутствии аскорбиновой кислоты. Помимо определения количественного соотношения отдельных фракций ФЛ анализировали и обобщенные показатели состава липидов: процентное содержание ФЛ (%ФЛ) в составе общих липидов и соотношение сумм более легкоокисляемых и более трудноокисляемых фракций ФЛ ($\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$), характеризующее способность липидов к окислению [12]. Последнее соотношение вычисляли по формуле: $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ} = (\text{ФИ} + \text{ФС} + \text{ФЭ} + \text{КЛ} + \text{ФК})/(\text{ЛФХ} + \text{СМ} + \text{ФХ})$, где ФИ – фосфатидилинозит, ФС – фосфатидилсерин, ФЭ – фосфатидилэтаноламин, КЛ – кардиолипин, ФК – фосфатидная кислота, ЛФХ – лизоформы фосфолипидов, СМ – сфинголипиды, ФХ – фос-

фатидилхолин. При определении состава ФЛ для каждой пробы на пластинку наносили не менее четырех параллельных дорожек.

Содержание диеновых конъюгатов и кетодиенов определяли из соотношения оптической плотности ультрафиолетовых спектров растворов лецитина в гексане в областях 228–232 нм (полоса поглощения, характерная для соединений с сопряженными двойными связями) и 268–272 нм (полоса поглощения, характерная для С=О-содержащих соединений) к 202–205 нм (полоса поглощения, используемая для определения общего содержания липидов в растворе) [8]. Ультрафиолетовые спектры регистрировали на спектрофотометре UV-3101 PC (Shimadzu, Япония). Содержание вторичных продуктов окисления в водных дисперсиях лецитина, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты, ТБК-АП), определяли спектрофотометрически при 532 нм (КФЕ-3, Россия) по методу, описанному в работе [13], и относили к 1 мг липидов.

Для определения рН использовали прибор «Экотест-120» (Россия). Содержание механических примесей после воздействия ультразвука (бидистиллированная вода, объем 20 мл) анализировали гравиметрически.

Результаты обрабатывали стандартными методами вариационной статистики и с помощью компьютерного пакета программ KINS [14]. Для оценки результатов использовали стандартные методы статистического анализа: критерий корреляции Пирсона, тест ранговой корреляции Спирмена, к рассмотрению принимали корреляции с уровнем достоверности p менее 0.02. В таблицах и на рисунках результаты представлены в виде среднеарифметических значений с указанием их среднеквадратичных ошибок ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первым этапом работы явилось изучение влияния физико-химических свойств и состава липидов лецитина на показатели сформированных из него липосом. Продолжительность озвучивания в этих экспериментах составляла 20 мин, после чего проводили центрифугирование. Были использованы четыре партии лецитина, которые различались как количественным соотношением фракций ФЛ, так и величинами обобщенных показателей состава липидов и степени их окисленности. Это следует из данных, представленных в табл. 1 и 2.

Лецитин партии 4 специально подвергали окислению, для чего вскрытую ампулу выдерживали несколько дней в холодильнике. Поскольку именно ФЛ являются основным субстратом окисления в любых биологических объектах, то доля ФЛ в составе общих липидов лецитина этой

Таблица 1. Количественное соотношение фракций фосфолипидов в использованных в работе партиях лецитина

Фракции фосфолипидов	Относительное содержание фракции (%P)			
	Партия 1 (<i>n</i> = 5)	Партия 2 (<i>n</i> = 5)	Партия 3 (<i>n</i> = 5)	Партия 4 (<i>n</i> = 4)
ЛФХ	4.07 ± 0.38	3.47 ± 0.22	3.93 ± 0.11	10.95 ± 0.65
СМ	3.80 ± 0.30	3.17 ± 0.08	3.78 ± 0.37	10.7 ± 0.9
ФХ	87.7 ± 1.1	90.0 ± 0.2	86.0 ± 1.0	69.7 ± 1.7
ФИ + ФС	0.23 ± 0.05	0.55 ± 0.03	0.55 ± 0.08	2.40 ± 0.70
ФЭ	2.84 ± 0.51	2.10 ± 0.18	3.40 ± 0.53	2.73 ± 0.29
КЛ + ФК	1.35 ± 0.25	0.71 ± 0.05	2.31 ± 0.23	3.60 ± 0.80

Примечание. *n* – Количество хроматографических дорожек.

Таблица 2. Доля фосфолипидов в составе общих липидов (%ФЛ), способность липидов к окислению (ΣЛОФЛ/ΣТОФЛ), содержание продуктов окисления в партиях лецитина, использованных для формирования липосом

Показатель	Партия 1	Партия 2	Партия 3	Партия 4
%ФЛ	57.8 ± 3.6 (<i>n</i> = 7)	79.3 ± 1.7 (<i>n</i> = 7)	52.5 ± 4.5 (<i>n</i> = 6)	25.8 ± 1.6 (<i>n</i> = 7)
ΣЛОФЛ/ΣТОФЛ, отн. ед.	0.0462 ± 0.0044 (<i>n</i> = 5)	0.0348 ± 0.0013 (<i>n</i> = 5)	0.067 ± 0.0045 (<i>n</i> = 5)	0.0307 ± 0.0023 (<i>n</i> = 5)
Содержание диеновых конъюгатов, отн. ед.	0.0219	0.061	0.113	0.527
Содержание кетодиенов, отн. ед.	0.0084	0.020	0.045	0.161
[ТБК-АП], нмоль/мг	–	0.209 ± 0.005 (<i>n</i> = 3)	0.197 ± 0.006 (<i>n</i> = 3)	6.20 ± 0.11 (<i>n</i> = 3)

Примечание. *n* – Число измерений.

партии существенно уменьшилась, а содержание продуктов окисления резко возросло по сравнению с аналогичными показателями в партиях нативного лецитина (табл. 2).

Количественное соотношение фракций ФЛ, обобщенные показатели состава и содержание продуктов окисления в липидах липосом, сформированных из этих четырех партий лецитина, представлены в табл. 3 и 4. Сравнительный анализ данных, представленных в табл. 1–4, свидетельствует как о различиях, так и сложном характере взаимосвязей между физико-химическими характеристиками и составом липидов лецитина и аналогичными показателями сформированных из него липосом. Однако применение разработанных ранее программных модулей для многофакторного анализа экспериментальных данных [15] позволило выявить определенные закономерности.

В сложных биологических системах интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) обычно оценивают по содержанию ТБК-активных продуктов. Необходимо отметить, что в липидах липосом интенсивность ПОЛ выше, чем в липидах исходного лецитина. Только при формировании липосом из окисленного лецитина интенсивность ПОЛ немного ниже, чем в исходном лецитине (табл. 2 и 4). При этом, несмотря на то что ФЛ являются основными субстратами ПОЛ, обнаружена обратная корреляция между содержанием ТБК-активных продуктов в липидах липосом и долей ФЛ в партии лецитина, которую использовали для их формирования (рис. 1). Однако оказалось, что интенсивность ПОЛ в дисперсии липосом обусловлена относительным содержанием КЛ в составе ФЛ соответствующей партии лецитина (рис. 2). Очевидно, это связано с тем, что КЛ является не только одной из наиболее легкоокисляемых фракций ФЛ, но и обладает

Таблица 3. Количественное соотношение фракций фосфолипидов в липидах липосом, сформированных из разных партий лецитина

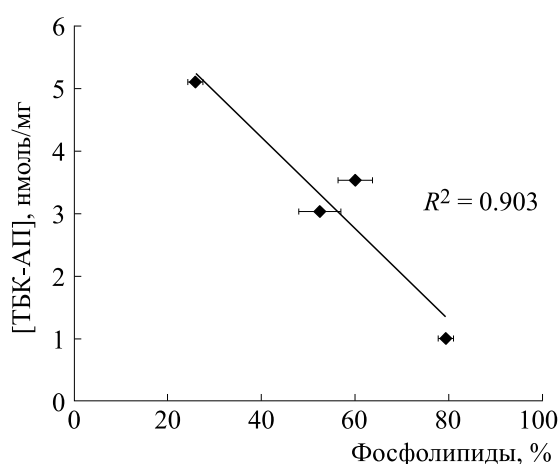
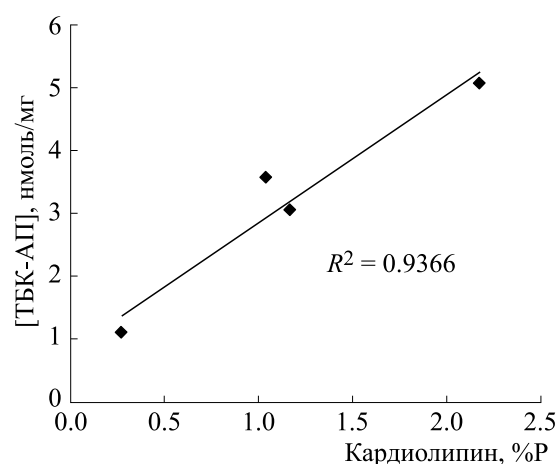
Фракции фосфолипидов	Относительное содержание фракции (%Р) из партии лецитина			
	Партия 1 (n = 4)	Партия 2 (n = 4)	Партия 3 (n = 7)	Партия 4 (n = 4)
ЛФХ	3.74 ± 0.21	5.75 ± 0.30	0.93 ± 0.30	3.62 ± 0.14
СМ	3.59 ± 0.67	2.62 ± 0.42	2.95 ± 0.75	5.65 ± 0.55
ФХ	83.8 ± 0.65	86.75 ± 1.20	93.15 ± 1.20	86.1 ± 1.1
ФИ+ФС	2.00 ± 0.12	1.43 ± 0.10	2.11 ± 0.20	0.50 ± 0.02
ФЭ	2.59 ± 0.25	2.67 ± 0.10	—	0.58 ± 0.29
КЛ+ФК	5.90 ± 0.60	0.80 ± 0.46	0.87 ± 0.22	3.55 ± 0.70

Примечание. *n – Количество хроматографических дорожек.

Таблица 4. Доля фосфолипидов в составе общих липидов (%ФЛ), способность липидов к окислению (ΣЛОФЛ/ΣТОФЛ), содержание продуктов окисления в липосомах, сформированных из разных партий лецитина

Показатель	Партия 1	Партия 2	Партия 3	Партия 4
%ФЛ	43.4 ± 3.4 (n = 4)	85.5 ± 4.1 (n = 5)	40.9 ± 2.9 (n = 9)	62.6 ± 8.7 (n = 4)
ΣЛОФЛ/ΣТОФЛ, отн. ед.	0.0856 ± 0.0051 (n = 5)	0.0515 ± 0.0036 (n = 5)	0.0307 ± 0.0023 (n = 5)	0.0488 ± 0.0061 (n = 5)
[ТБК-АП], нмоль/мг	3.54 ± 0.11 (n = 3)	1.09 ± 0.03 (n = 3)	3.025 ± 0.09 (n = 3)	5.10 ± 0.11 (n = 3)

Примечание. n – Количество хроматографических дорожек.


Рис. 1. Взаимосвязь между содержанием ТБК-активных продуктов в липидах липосом и долей фосфолипидов в составе общих липидов в партиях лецитина, из которых их формировали.

Рис. 2. Взаимосвязь между содержанием ТБК-активных продуктов в липидах липосом и относительным содержанием кардиолипина в фосфолипидах разных партий лецитина.

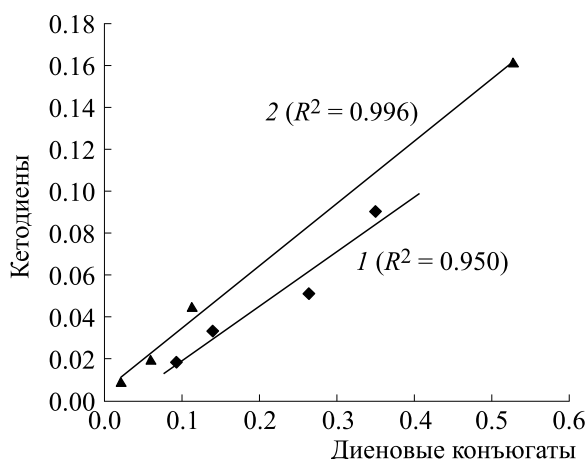


Рис. 3. Зависимость между содержанием кетодиенов и диеновых конъюгатов в липидах разных партий лецитина (1) и сформированных из них липосом (2).

сигнальными функциями, что обуславливает участие этой минорной фракции ФЛ в регуляции метаболизма в различных биологических системах [16, 17].

Ранее было показано [18], что одной из наиболее устойчивых взаимосвязей в физико-химической системе регуляции ПОЛ в биологических объектах к норме и при облучении является прямая корреляция между содержанием кетодиенов и диеновых конъюгатов. Выявлено, что и в исходных партиях лецитина, и в липидах сформированных из них липосом такая закономерность сохраняется, однако график взаимосвязи между содержанием кетодиенов и диеновых конъюгатов в липидах липосом сдвигается вправо по оси абсцисс, а коэффициент линейной регрессии b этой взаимосвязи на 15.5% меньше, чем в липидах лецитина (рис. 3). Это свидетельствует об уменьшении способности липидов к окислению на мембранном уровне, что соответствует данным, представленным в табл. 2 и 4.

Вторым этапом работы явилось изучение продолжительности воздействия ультразвука и последующего центрифугирования на состав и физико-химические свойства липидов липосом. Эти эксперименты проводили на партии 1 лецитина. Точкам $t = 0$ мин соответствуют результаты анализа показателей липидов, выделенных после отгонки исходного растворителя и ресуспендирования липидов лецитина в бидистиллированной воде до и после центрифугирования раствора. Поскольку при работе ультразвукового дезинтегратора в режиме кавитации происходит образование механических примесей, то определяли динамику их содержания при работе УЗДН-2Т в бидистиллированной воде в зависимости от времени озвучивания. Выявлен линейный рост содержания примесей спустя 2.6 мин озвучива-

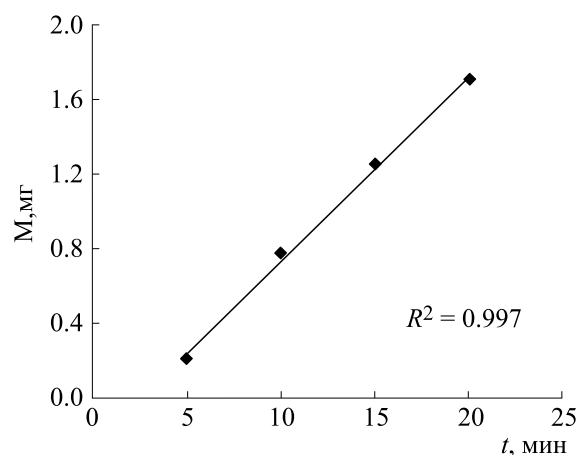


Рис. 4. Влияние времени озвучивания на содержание механических примесей в воде.

ния (рис. 4). Возможно, это тоже оказывает влияние на свойства среды и параметры липидов.

Обнаружено, что влияние времени озвучивания и последующего центрифугирования имеет сложный стадийный характер, что следует из данных, представленных в табл. 5. Так, минимальные значения рН среды выявлены при времени озвучивания 5 мин, а максимальные — при озвучивании в течение 15 мин. При этом центрифугирование вызывает увеличение кислотности среды при всех сроках воздействия ультразвука по сравнению с аналогичными значениями до центрифугирования. Центрифугирование после воздействия ультразвука в течение 5 и 10 мин вызывает резкий рост доли ФЛ в составе общих липидов липосом, однако увеличение времени озвучивания приводит к существенному уменьшению %ФЛ по сравнению с их содержанием в липидах как лецитина (табл. 2), так и после их ресуспендирования в водной среде в обоих вариантах экспериментов (табл. 5). Интенсивность ПОЛ также стадийно изменяется в зависимости от времени озвучивания, однако более активно процессы ПОЛ протекают в нецентрифугированной среде (табл. 5).

При воздействии ультразвука в течение 5 и 10 мин способность липидов липосом к окислению существенно выше до центрифугирования, а при увеличении времени воздействия ультразвука после центрифугирования. Это соответствует изменениям в количественном соотношении фракций ФЛ в составе общих липидов сформированных липосом. Так, доля основной фракции ФЛ в составе липидов липосом ФХ, являющегося одной из наиболее трудноокисляемых фракций, уменьшается после центрифугирования и растет в нецентрифугированных образцах при увеличении времени воздействия ультразвука (рис. 5). Необходимо отметить также, что изменения

Таблица 5. Влияние времени озвучивания и центрифугирования на величины pH среды, содержание ТБК-активных продуктов, долю фосфолипидов (%ФЛ) в составе общих липидов липосом и их способность к окислению ($\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$)

Показатель	0 мин	5 мин	10 мин	15 мин	20 мин
До центрифугирования					
pH	6.15	6.10	6.15	6.38	6.15
[ТБК-АП], нмоль/мг	1.77 ± 0.05 (n = 3)	4.78 ± 0.14 (n = 3)	5.04 ± 0.15 (n = 3)	3.015 ± 0.09 (n = 3)	5.635 ± 0.17 (n = 3)
%ФЛ	70.7 ± 2.4 (n = 5)	66.75 ± 6.0 (n = 5)	58.0 ± 3.5 (n = 6)	31.5 ± 2.0 (n = 6)	42.65 ± 2.3 (n = 4)
$\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$, отн. ед.	0.090 ± 0.006 (n = 5)	0.1163 ± 0.0069 (n = 5)	0.0686 ± 0.0060 (n = 5)	0.0267 ± 0.0037 (n = 5)	0.0363 ± 0.0034 (n = 5)
После центрифугирования					
pH	5.94	5.67	5.95	6.07	5.91
[ТБК-АП], нмоль/мг	2.22 ± 0.07 (n = 3)	3.32 ± 0.1 (n = 3)	2.85 ± 0.08 (n = 3)	1.86 ± 0.06 (n = 3)	3.54 ± 0.11 (n = 3)
%ФЛ	57.6 ± 3.9 (n = 6)	100	93.75 ± 7.70 (n = 4)	34.7 ± 1.6 (n = 7)	43.4 ± 3.4 (n = 5)
$\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$, отн. Ед	0.0584 ± 0.0025 (n = 5)	0.0478 ± 0.0028 (n = 5)	0.0623 ± 0.0035 (n = 5)	0.1269 ± 0.0132 (n = 5)	0.0856 ± 0.0051 (n = 5)

суммарной доли минорных фракций ФЛ (ФИ + ФС + КЛ + ФК), выполняющих сигнальные функции в биологических системах [16, 17, 19] и являющихся более легкоокисляемыми

фракциями ФЛ, наоборот увеличивается после центрифугирования и уменьшается до центрифугирования с увеличением времени воздействия ультразвука (рис. 6).

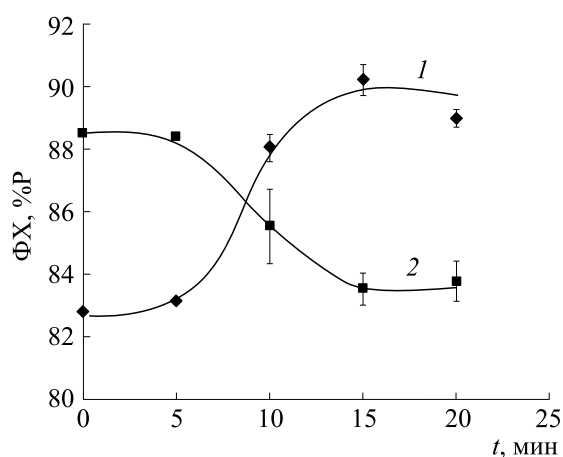


Рис. 5. Динамика относительного содержания фосфатидилохолина в составе фосфолипидов липосом до (1) и после (2) центрифугирования в зависимости от продолжительности воздействия ультразвука.

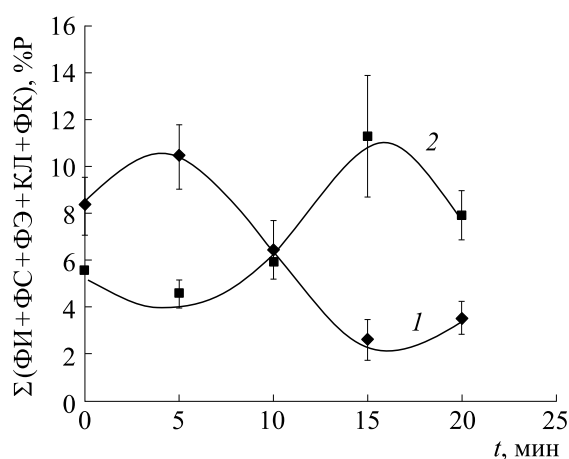


Рис. 6. Динамика суммарной доли минорных фракций (ФИ + ФС + КЛ + ФУ) в составе фосфолипидов липосом до (1) и после (2) центрифугирования в зависимости от продолжительности воздействия ультразвука.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что состав и физико-химические свойства липидов лецитина, а также продолжительность воздействия ультразвука и центрифугирование обуславливают состав и физико-химические свойства сформированных из него липосом. Интенсивность процессов ПОЛ, т.е. содержание ТБК-активных продуктов, в липосомах выше, чем в исходном лецитине, и находится в обратной корреляции от доли ФЛ в составе общих липидов и в прямой корреляционной зависимости от относительного содержания кардиолипина в ФЛ партии лецитина, использованной для приготовления липосом. Продолжительность озвучивания и центрифугирование вызывают существенные изменения как в соотношении фракций ФЛ, содержания ТБК-активных продуктов и способности липидов липосом к окислению, так и pH водной дисперсии липосом. Это соответствует и данным литературы о влиянии центрифугирования на состав и физико-химические свойства липидсодержащих сред [7]. Выявлено, что центрифугирование уменьшает величины pH и интенсивность ПОЛ в липосомах, что связано с изменениями состава липидов. Показано, что стадийные изменения способности липидов липосом к окислению в зависимости от продолжительности озвучивания и центрифугирования обусловлены изменениями суммарной доли таких минорных фракций в составе их ФЛ, как ФИ + ФС + КЛ + ФК.

Следовательно, при анализе биологической активности липосом из лецитина необходимо учитывать, что даже незначительные колебания в содержании минорных фракций в составе ФЛ, обладающих сигнальными функциями и активно участвующих в регуляции процессов в биологических системах, в липидах лецитина оказывают существенное влияние на состав и физико-химические свойства сформированных из него липосом.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Государственного задания Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (№ 44.4, гос. тема № 0084-2019-0014).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Л. Б. Марголис и Л. Д. Бергельсон, *Липосомы и их взаимодействие с клетками* (Наука, М., 1986).
2. G. Gregoriadis, *Liposome Technology. Vol. 1: Preparation of Liposomes* (CRC Press, Floryda, 1989).
3. G. Gregoriadis, *Liposome Technology. Vol. 3: Targeted Drug Delivery and Biological Interaction* (CRC Press, Boston, 1990).
4. Ю. Н. Левчук и З. Н. Воловик, *Биофизика*, **28** (2), 266 (1983).
5. *Ultrasound: Its Chemical, Physical and Biological Effects*, Vol. XIII, Ed. by K.S. Suslick (New York: Weinheim, 1988).
6. М. А. Маргулис, *Успехи физ. наук*, 170. 263 (2003).
7. В. А. Меньшов, Л. Н. Шишкина, Е. Б. Бурлакова и др., *Прикл. биохимия и микробиология*, **29** (3), 412 (1993).
8. К. М. Маракулина, Р. В. Крамор, Ю. К. Луканина и др., *Журн. физ. химии*, **90** (2), 182 (2016).
9. М. А. Klimovich, L. N. Shishkina, D. V. Paramonov, and V. I. Trofimov, *Oxid. Commun.*, 33 (4), 965 (2010).
10. M. Mosca, A. Ceglie, and L. Ambrosone, *Chemistry and Physics of Lipoids*, **164** (2), 158 (2011).
11. *Биологические мембраны: Методы*, под ред. Дж. Б. С. Финдлея и В. Х. Эванза (Мир, М., 1990).
12. Л. Г. Шишкина, Е. В. Кушнирева и М. А. Смотряева, *Радиац. биология. Радиоэкология*, **44** (3), 289 (2004).
13. T. Asakawa and S. Matsushita, *Lipids*, **15**, 137 (1980).
14. Э. Ф. Брин и С. О. Травин, *Хим. физика*, **10** (6), 830 (1991).
15. М. В. Козлов, *Дисс. ... канд. биол. наук* (Москва, 2008).
16. В. А. Стручков и Н. Б. Стражевская, *Биохимия*, **65** (5), 620 (2000).
17. Р. Геннис, *Биомембраны: Молекулярная структура и функции* (Мир, М., 1997).
18. Л. Н. Шишкина, М. А. Климович и М. В. Козлов, *Биофизика*, **59** (2), 380 (2014).
19. R. Lordan, A. Tsoupras, and I. Zabetakis, *Molecules*, **22** (11), 1964 (2017). DOI: 10/3390/molecules22111964

Physicochemical Properties and Composition of the Liposome Lipids from Lecithin Depending on Conditions that Lead to the Formation of Liposome Lipids

L.N. Shishkina*, D.V. Paramonov**, M.A. Klimovich*, and M.V. Kozlov*

**Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia*

***State Scientific Research Institute of Biological Engineering, Volokolamskoe shosse 75/1, Moscow, 125424 Russia*

The effects of the composition and physicochemical properties of lecithin lipids, ultrasound exposure and centrifugation time on the composition and physicochemical properties of liposomes formed from lecithin were studied. It was found that the intensity of lipid peroxidation of liposomes is interrelated by the reversal correlation with the phospholipids share in the total lipid composition of lecithin and the direct correlation with the relative content of cardiolipin in the lecithin phospholipid composition. It was shown that ultrasound exposure and centrifugation produce stage changes in the composition and properties of the liposome lipids. Decreases in the levels of medium pH and the intensity of lipid peroxidation of liposomes were observed under centrifugal conditions. It was found that the stage changes in the ability of liposome lipids for oxidation depending on the time of ultrasound exposure and centrifugation are due to the relative changes in the sum share of the acid minor fractions in the composition of their phospholipids.

Keywords: lecithin, liposomes, ultrasound, centrifugation, phospholipids, lipid peroxidation