

PACS numbers: 81.20.Fw, 83.60.Np, 87.50.-a, 87.80.Ek, 87.85.Qr, 87.85.Rs, 87.85.St

Наноконползити з функціями медико-біологічних нанороботів: синтез, властивості, застосування

П. П. Горбик

*Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України,
вул. Генерала Наумова, 17,
03164 Київ, Україна*

Узагальнено результати досліджень з метою обґрунтування концепції та методології хімічного конструювання магнеточутливих наноконползитів з багаторівневою ієрархічною архітектурою та функціями медико-біологічних нанороботів: розпізнавання мікробіологічних об'єктів у біологічних середовищах; цільової доставки лікарських препаратів до клітин- та органів-мішеней і депонування; комплексної терапії хіміо-, імуно-, радіо-, гіпертермічними методами та діагностики в режимі реального часу; адсорбції решток клітинного розкладу та їх видалення з організму за допомогою зовнішнього магнетного поля. Наведено дані стосовно синтезу, властивостей та практичного використання наноконползитів.

The results of studies are generalized in order to support both concept and methodology of chemical design of magnetically sensitive nanocomposites with multilevel hierarchical architecture and functions of biomedical nanorobots: recognition of microbiological objects in biological media; the targeted drug delivery into target cells and organs, and deposit; complex treatment with chemo-, immuno-, radio-, hyperthermic methods and diagnostics in real-time regime; adsorption of residual cell debris and removing them from the body with the aid of an external magnetic field. The data are shown on the synthesis, properties, and practical use of nanocomposites.

Обобщены результаты исследований с целью обоснования концепции и методологии химического конструирования магниточувствительных наноконползитов с многоуровневой иєрархической архитектурой и функциями медико-біологических нанороботов: распознавания микробиологических объектов в биологических средах; целевой доставки лекарственных препаратов в клетки- и органы-мишени и депонирования; комплексной терапии химио-, иммуно-, радио-, гипертермическими методами и диагностики в режиме реального времени; адсорбции остатков клеточного распада и их удаления из организма с помощью внешнего магнетного поля. Приведены данные по синтезу, свойствам и практическому использованию наноконползитов.

Ключові слова: магнеточутливі наноккомпозити, багаторівнева ієрархічна наноархітектура, медико-біологічні нанороботи, цільова доставка лікарських препаратів.

(Отримано 16 квітня 2013 р.)

1. ВСТУП

У найближчому майбутньому застосування нанотехнологій уможливить вирішити основні проблеми людства, медичні нанороботи переможуть невиліковні хвороби і забезпечать безсмертя — подібні повідомлення легко можна знайти в Інтернеті і ЗМІ. Сенсації про створення нанороботів, здатних знищувати ракові клітини, вже не дивують. На жаль, у зазначених повідомленнях відсутні дані, що підтверджують їх достовірність. Проте, безперечними залишаються своєчасність і актуальність порушеного питання [1].

Згідно з Вікіпедією, нанороботам характерні функції руху, обробки та передачі інформації, виконання певних програм. Їх розміри становлять $\cong 10$ нм.

Сучасні наукові публікації свідчать, що проблема створення нанороботів і наномашин, зокрема, для застосування в медицині та біології, набула актуальності [1–11]. На початкових етапах пошуку шляхів її розв'язання значне місце приділяється завданням встановлення перспективних фізичних принципів та способів практичного забезпечення контрольованих механічних переміщень нанооб'єктів в біологічних середовищах [1–13].

Для організації таких переміщень та побудови нанороботів використовуються, наприклад, фрагменти молекул ДНК, м'язові нановолокна [8, 9], фотозбуджені та метастабільні стани наночастинок, асиметричний розподіл електричних диполів у напрямку руху, флуктуаційні процеси молекулярної та електричної природи [12, 13], кільцеподібні біомолекули, «нанизані» на лінійний «місток» із амінокислот [10, 11] і т.п.

Однак слід зауважити, що практична реалізація подібних [8–13] способів руху нанороботів та механічних маніпуляцій з їх складовими частинами з метою, наприклад, спрямованого транспорту лікарських препаратів, або виконання інших корисних функцій, залишається перспективою, доволі проблематичною.

Тим не менш, теперішній рівень нанотехнологій дозволяє створювати унікальні засоби для медицини і біології [2, 4, 14, 15]. Впровадження таких технологій в практику є основою сучасного прогресу в областях діагностики і терапії захворювань, зокрема, на клітинному і генному рівнях [1].

Останніми роками у якості альтернативного та найбільш перспективного з точки зору практичного використання напряму пріори-

тет одержали роботи в галузі створення «наноклінік» — багаторівневих магнеточутливих наноконкомпозитів, яким притаманний комплекс функцій, характерних для нанороботів, що включає розпізнавання специфічних мікробіологічних об'єктів в біологічних середовищах, цільову доставку лікарських препаратів в органи- або клітини-мішені, діагностику і терапію захворювань на клітинному або генному рівнях, адсорбцію продуктів розкладу клітин після дії терапевтичного препарату або гіпертермії, їх видалення з організму за допомогою магнетного поля і тому подібне [2, 4, 14].

Так, автори [2] одержували магнеточутливий наноконкомпозит багатостадійним золь-гель-синтезом в міцелярній системі. Поверхня наноконкомпозитів функціоналізувалася з метою забезпечення розпізнавання і досягнення специфічних клітин. Такими наноконкомпозитами є магнеточутливі носії в кремнеземних оболонках розміром до 50 нм, у яких можуть бути інкапсульовані різні оптичні, магнетні або електричні датчики, терапевтичні агенти. Наноконкомпозити прицільно доставляються в клітину і застосовуються для діагностики або зміни її функцій в заданому напрямі, а також для створення гіпертермічних зон. Використання локальної гіпертермії принципово дозволяє здійснювати терапію онкозахворювань без застосування хімічних препаратів.

Слід зазначити, що інтерес до магнетних матеріалів для використання в медицині виник здавна і не слабшає у наші дні. Увага дослідників до магнетних наночастинок, особливо магнетиту, який має біогенну природу і задовільну біодеградабельність, обумовлена, зокрема, тим, що вони мають специфічні властивості, не характерні для масивного магнетного матеріалу. Так, в наноматеріалах спостерігаються нові явища, пов'язані з відмінностями до сотень градусів у температурах Кюрі або Нееля, виникненням гігантського магнетоопору, аномального магнетокалориметричного ефекту і т.п. [16].

У сучасній медицині магнетні лікарські препарати на основі магнетиту широко використовуються у якості рентгеноконтрастних засобів. Наприклад, у [17] описано рентгеноконтрастний препарат, що містить магнетит з рідким носієм — тетрадеканом. У [16] обґрунтовано ефективність гемостатичного засобу на основі водного колоїдного розчину магнетиту. Іншим застосуванням наносистем є візуалізація біологічних тканин, що складаються з апоферитину, в порожнині якого включені кристали магнетиту. До перспективних напрямів використання магнетних матеріалів з розвинутою поверхнею відноситься створення сорбентів [18–20], магнеточутливих наноконкомпозитів для спрямованого транспорту лікарських засобів [21, 22]. Магнетит характеризується низькою токсичністю, високим рівнем мутагенної безпеки, відсутністю негативних реакцій організму при внутрішньовенних, внутрішньоартеріальних і внутрішньом'язових введеннях магнеточутливого колоїду. Крім того,

на поверхні нанодисперсного магнетиту можуть бути іммобілізовані терапевтичні агенти різного механізму дії.

Присутність лікарського препарату у складі магнетних терапевтичних форм [23] не завжди є обов'язковою. В цьому випадку терапевтичний ефект досягається або внаслідок впливу постійного магнетного поля, джерелом якого служить сама магнетна лікарська форма, або за рахунок гіпертермічної обробки при впливі на магнетну лікарську форму зовнішнього височастотного магнетного поля [2, 14].

Змінюючи розміри, форму, склад і будову наночастинок, можна в певних межах керувати магнетними характеристиками композитів. Проте контролювати вказані фактори при синтезі наночастинок вдається далеко не завжди, тому властивості навіть однотипних матеріалів можуть сильно відрізнятися. Зокрема, має місце сильна залежність магнетних властивостей феромагнетиків від розмірів частинок, з яких вони виготовлені [3, 24, 25].

Застосовуючи відповідну попередню підготовку поверхні магнетних носіїв з метою збільшення їх сорбційної місткості (наприклад, модифікуванням SiO_2), можна здійснювати збір продуктів клітинного розкладу і виведення їх з організму за допомогою магнетного поля.

При розробці магнетокерованих фармацевтичних препаратів необхідно вирішити ряд завдань, пов'язаних з синтезом ефективних нанорозмірних носіїв, модифікуванням їх поверхні, іммобілізацією лікарських препаратів, капсулюванням і т.п. Важливим є здійснення теоретичної оцінки умов транспорту і розрахунків параметрів носіїв з метою їх оптимізації [14, 26–28].

Так, при модифікуванні поверхні носіїв біосумісними полімерами необхідно оптимізувати функції полімерної складової. Полімерні молекули можуть виконувати роль утримувача терапевтичного або діагностичного препарату і визначати важливі характеристики ліків: розчинність, біодоступність, пролонгованість дії за рахунок повільної десорбції лікарських препаратів з полімерної матриці, термін зберігання та ін. Способи закріплення фармакологічно активних речовин на поверхні полімеру також можуть бути різними, що визначається призначенням ліків і клінічною патологією, в умовах якої вони застосовуються [29].

Слід враховувати також, що хіміотерапевтичні протипухлинні лікарські засоби в живому організмі викликають порушення обміну нуклеїнових кислот, перешкоджають процесам біосинтезу і функції ДНК, пригнічують кровотворення, травлення, є кардіо-, нейро- і нефротоксичними [23]. Тому завдання спрямованого транспорту лікарського засобу в клітини пухлини за допомогою магнетних носіїв є надзвичайно актуальним. Їх фіксація і депонування магнетним полем у зоні пухлини дає можливість значно зменшити дозу

препарату і, як наслідок, звести до мінімуму токсико-алергічні реакції організму.

Використання моноклональних антитіл в онкологічній практиці відносять до методів пасивної імунотерапії [30, 31]. Клінічні дані свідчать, що пасивна імунотерапія, безумовно, ефективна і за результатами зрівнюється з хіміотерапією, проте рівень її токсичності значно нижчий. Комбіноване використання цих методів вважається найбільш перспективним, оскільки значно розширює можливості лікування сучасними препаратами і сприяє підвищенню їх ефективності.

Однією з різновидностей радіотерапії ракових пухлин є нейтронзахватна терапія (НЗТ) [32]. НЗТ — терапія раку, яка використовує випромінювання від реакції захоплення теплових нейтронів ізотопами ^{10}B або ^{157}Gd , попередньо накопичених в клітинах пухлин [33, 34]. Результатом взаємодії ізотопів з тепловими нейтронами є виникнення значного цитотоксичного ефекту, зумовленого впливом продуктів ядерної реакції на ракові клітини.

Незважаючи на значно більший переріз захвату нейтрона ізотопом ^{157}Gd , порівняно з ^{10}B , використанню гадоліній-нейтронзахватної терапії (ГНЗТ) перешкоджала токсичність вільних, тобто незв'язаних, іонів гадолінію. Інтерес до ГНЗТ загострився наприкінці 1980-х років з введенням в практику універсальних гадолінійвмісних препаратів для магнеторезонансної контрастної діагностики (МРТ).

Запропоновані на сьогоднішній день препарати для НЗТ мають молекулярну форму і, відповідно, ряд недоліків. Серед них можна виділити неможливість адресної доставки в пухлину і накопичення, комбінованої T_1/T_2 -діагностики і терапії в реальному часі, незначний вміст бору чи гадолінію та ін.

Вказаним недолікам можна запобігти використовуючи наноконкомпозити на основі магнеточутливих наночастинок магнетиту та препаратів бору і гадолінію [35, 36]. Синтезовані наноконкомпозити можуть бути використані для створення нових типів високоефективних лікарських засобів нейтронзахватної терапії з додатковими функціями магнетокерованої спрямованої доставки до органів- або клітин-мішеней, селективного накопичення і депонування, гіпертермії, комбінованої T_1 -, T_2 -МРТ-діагностики і терапії в режимі реального часу.

Дослідження, спрямовані на розробку магнетокерованих лікарських препаратів комплексної хіміо-, імуні-, радіотерапевтичної, гіпертермічної та діагностичної дії, є пріоритетними в розвинених країнах світу. Особливо актуальними є напрями, пов'язані з ранньою діагностикою і терапією онкозахворювань на клітинному рівні. Вказані обставини обумовили вибір наукової проблематики, відображеної в цьому огляді.

У ньому узагальнено результати досліджень з метою обґрунтуван-

ня концепції та методології хімічного конструювання магнеточутливих наноконкомпозитів з багаторівневою ієрархічною архітектурою та функціями медико-біологічних нанороботів [37]: розпізнавання мікробіологічних об'єктів у біологічних середовищах; цільової доставки лікарських препаратів до клітин- та органів-мішеней і депонування; комплексної терапії хіміо-, імуно-, радіаційними нейтронзахватними, гіпертермічними методами та діагностики в режимі реального часу; адсорбції рештків клітинного розкладу та їх видалення з організму за допомогою зовнішнього магнетного поля.

1.1. Аналіз умов транспорту і утримання магнеточутливих носіїв лікарських препаратів за допомогою магнетного поля

Аналіз умов транспорту і утримання магнеточутливих носіїв лікарських препаратів за допомогою магнетного поля проведено в [3].

Здійснення функції цільової доставки і депонування лікарських препаратів до клітин- та органів-мішеней медико-біологічними магнеточутливими наноконкомпозитами (нанороботами) полягає у створенні у відповідному місці організму необхідної для терапевтичного ефекту концентрації лікарського препарату та пролонгації його дії. Способом вирішення такої задачі може бути магнетокерована адресна доставка лікарського препарату та його утримання протягом певного часу. Тому останніми роками дослідженню можливості використання магнетних носіїв як засобів транспорту лікарських препаратів приділяється значна увага. Передусім, це пов'язано з очікуваним істотним розширенням сфер застосування хіміотерапії, зокрема, за рахунок зведення до мінімуму небажаних токсико-алергічних ефектів. Оскільки терапія здійснюється в локалізованій ділянці організму, загальна доза препарату при цьому може бути мінімальна. Зовнішнє статичне магнетне поле повинне впливати на рух частинок і запобігти вимиванню носіїв з органу-мішені. Однак широкого застосування вказаний метод досі не знайшов у зв'язку з труднощами, що виникають при його практичній реалізації.

Вимоги до магнетних носіїв досить жорсткі. Їх розміри мають бути менше 1 мкм, щоб запобігти агрегації в магнетному полі і закупорці капілярних судин. В той самий час сила, обумовлена прикладеним зовнішнім магнетним полем і що утримує носій в кровотоку, пропорційна характерному розміру частинки в третьому степені і кількості магнетного компонента в ній. Протидіюча гідродинамічна сила, прагнуча винести з органу-мішені носій, пропорційна розміру носія лише в другому ступеню. Таким чином, для ефективного утримання носія розміри частинок і вміст магнетного матеріалу необхідно збільшувати. Окрім вирішення цього протиріччя, при створенні магнетних носіїв необхідно враховувати і такі фактори, як зменшення часу затримки носіїв (як чужорідних тіл), зниження

впливу зовнішнього магнетного поля на організм і т.п.

Для утримання препарату в заданій обмеженій ділянці необхідно створити зону ефективної дії неоднорідного магнетного поля, під впливом якого значна частина носіїв (чи усі) повинна залишитися в органі-мішені. Вказані обставини призводять до необхідності рішення наступних завдань:

— розрахунок сили, з якою діє неоднорідне магнетне поле на окремі носії;

— визначення необхідних умов (величина ґрадієнту магнетного поля, ступінь намагнетованости носія, розподіл по розмірах і т. д.) для одержання кількісних оцінок значень параметрів з метою визначення можливости утримання контейнерів з медичним препаратом на стінці судини;

— аналіз руху магнетних носіїв у в'язкій рідині (крові) під дією неоднорідного магнетного поля для одержання критерію можливости їх доставки до стінок судин.

Деякі аспекти вказаних питань викладені в [38–41]. Розглядалися технологічні аспекти створення магнетокерованих носіїв лікарських препаратів. Аналіз цих робіт показує складність побудови як фізико-математичних моделей даних явищ, так і відповідних обчислювальних методів і алгоритмів. Отже, було приділено особливу увагу удосконаленню моделей і побудові чисельних методів, що адекватно описують експериментальні результати [3].

Наведемо розрахункові формули для знаходження магнетної сили, діючої на окремі носії з урахуванням їх розподілу по розмірах. Розрахунок розподілу магнетного поля в просторі пов'язаний з рішенням конкретних завдань магнетостатики. Найбільш прийнятними є джерела, що мають вісь симетрії [38]. Вони створюють аксіально-симетричні поля, і в цьому випадку векторний потенціал має тільки одну, відмінну від нуля, складову A_ϕ , яка повинна задовольняти скалярному Пуассоновому рівнянню:

$$\Delta A_\phi = -4\pi\mu_0 j_\phi, \quad (1)$$

де Δ — Лапласів оператор; j_ϕ — об'ємна густина кільцевого електричного струму, $\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7}$ Гн/м — магнетна постійна.

Розв'язок рівняння (1) можна представити у вигляді об'ємного потенціалу

$$A_\phi = \frac{\mu_0}{4\pi} \iiint_V \frac{j_\phi}{R} dv, \quad (2)$$

де $R = \sqrt{r^2 + \rho^2 - 2r\rho \cos(\phi - \theta) + (z - \zeta)^2}$.

Інтегрування в (2) виконується по області V , яку займають джерела струму. Через (r, j, z) позначені циліндричні координати дові-

льної точки в просторі, а через (ρ, θ, ζ) (циліндричні координати точки, що належить області V). Вектор магнетної індукції визначається з рівності $\mathbf{B} = \text{rot}\mathbf{A}$.

Магнетні носії (окремі наночастинки або їх агрегати) можна розглядати як магнетні диполі. У загальному випадку на диполь діють сила \mathbf{F} і механічний момент \mathbf{M} , які визначаються відомими формулами:

$$\mathbf{F} = -\nabla(\mathbf{m} \cdot \mathbf{B}), \quad \mathbf{M} = [\mathbf{m} \times \mathbf{B}], \quad (3)$$

де \mathbf{m} — вектор ефективного магнетного моменту окремого носія або агрегатів наночастинок; \mathbf{B} — вектор магнетної індукції, а символом ∇ позначено оператор градієнту.

За рахунок дії механічного моменту вільні диполі орієнтуються по полю, і тоді $\mathbf{M} = \mathbf{0}$. Повороти диполів відбуваються досить швидко, і можна вважати, що вони завжди орієнтовані по полю. Сила магнетної взаємодії визначається не лише зміною магнетного поля, але і варіаціями магнетного моменту носія. Якщо ці величини постійні в просторі, то $\mathbf{F} = \mathbf{0}$. Звідси випливає, що для одержання необхідних величин сил магнетне поле повинне змінюватися в просторі.

Відмітимо, що

$$\nabla(\mathbf{m} \cdot \mathbf{B}) = |\nabla(\mathbf{m} \cdot \mathbf{B})| \cdot \mathbf{n}, \quad (4)$$

де \mathbf{n} (одичинний вектор зовнішньої нормалі до ліній поля $\varphi = \nabla(\mathbf{m} \cdot \mathbf{B})$). Тоді похідна по довільному напрямку \mathbf{e} має вигляд

$$\frac{\partial \varphi}{\partial e} = \mathbf{e} \cdot \nabla \varphi = |\nabla(\mathbf{m} \cdot \mathbf{B})| \cos(\mathbf{e}, \nabla \varphi),$$

де

$$|\nabla(\mathbf{m} \cdot \mathbf{B})| = \sqrt{\left(\frac{\partial(\mathbf{m} \cdot \mathbf{B})}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\partial(\mathbf{m} \cdot \mathbf{B})}{\partial y}\right)^2 + \left(\frac{\partial(\mathbf{m} \cdot \mathbf{B})}{\partial z}\right)^2}.$$

Розглянемо неоднорідне одновимірне поле з індукцією $B = B(y)$, діючою уздовж осі y . Якщо нехтувати зміною магнетного моменту в просторі, то вираз для магнетної сили відповідно до рівняння (4) може бути записано у вигляді

$$F_y = V \frac{d(m(H)B)}{dy}, \quad (5)$$

де V — об'єм частинки; H — напруженість поля, пов'язана з магнетною індукцією співвідношенням $B = \mu_0 H$; $m(H)$ — середній магнетний момент, що відповідає одиниці об'єму частинки.

ТАБЛИЦЯ 1.1. Коефіцієнт пропорційності для обчислення магнетного моменту еліпсоїдів обертання з різним співвідношенням величин півосей.

| | | | | | | | | |
|----------------|-----|------|------|-----|-----|------|------|------|
| L/D_p | 0,0 | 0,1 | 0,25 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| $\kappa = m/H$ | 1,0 | 1,19 | 1,45 | 1,9 | 3,0 | 5,75 | 12,5 | 18,0 |

Величина ефективного магнетного моменту наночастинок і агрегатів залежить від їх розмірів, форми, намагнетованості, температури і деяких інших фізичних факторів і є невідомою заздалегідь. Для ферромагнетиків намагнетованість є функцією модуля вектору напруженості магнетного поля, і для малих значень напруженості полів середній магнетний момент одиниці об'єму $m(H)$ пропорційний модулю вектора напруженості магнетного поля H , тобто $m(H) = \kappa H$, де κ — коефіцієнт пропорційності. З формули (5) виходить, що в цьому випадку сила, з якою магнетне поле діє на частинку довільної форми, пропорційна її об'єму і добутку модуля напруженості на градієнт модуля індукції. Така закономірність зберігається тільки до напруженостей, поки намагнетованість частинок далека від насичення.

Тоді формулу (5) можна переписати у вигляді

$$F_y = \kappa V \frac{d(HB)}{dy}. \tag{6}$$

Значення коефіцієнта пропорційності κ залежить від форми частинки. Для суцільних еліпсоїдів обертання з різними відношеннями довжини L до діаметру D_p значення κ наведено в табл. 1.1, з якої виходить, що відношення L/D_p (фактор форми) істотно впливає на величину магнетного моменту частинки. Для частинки з магнетним ядром і оболонкою у вигляді еліпсоїда у зв'язку з існуванням аналогії між завданнями електростатики і магнетостатики для обчислення магнетного моменту може бути використаний метод [40], запропонований для розрахунку поляризованості шаруватого еліпсоїда.

При високих рівнях напруженості полів для ферромагнетиків намагнетованість досягає насичення, тобто $m(H) \rightarrow m_{\text{sat}}$, де m_{sat} — магнетний момент одиниці об'єму при досягненні матеріалом намагнетованості насичення. В цьому випадку з (6) маємо

$$F_y = \kappa V m_{\text{sat}} \frac{dB}{dy}, \tag{7}$$

і, таким чином, рівень напруженості поля перестає впливати на силу, а сила залежить тільки від градієнту модуля індукції. Вказані закономірності виконуватимуться і для довільного розподілу поля в просторі, якщо вважати, що вісь y співпадає з напрямом вектору магнетної індукції.

Оскільки сила істотно залежить від геометричних параметрів частинки, то необхідно враховувати розподіл наночастинок або їх агрегатів по розмірах. Щільність розподілу частинок по розмірах (за діаметром, об'ємом) багато в чому визначається технологією виготовлення. Досліджений [39] розподіл наночастинок по розмірах при використанні даних, одержаних трьома різними методами. Встановлено, що найбільш відповідним для магнетних носіїв виявляється логарифмічно нормальний розподіл, густина вірогідності якого $p(D_p)$ для частинок сферичної форми дається виразом

$$p(D_p) = \frac{1}{D_m \sigma \sqrt{2\pi}} \exp \left\{ -\ln^2 (D_p / D_m) / (2\sigma^2) \right\}, \quad (8)$$

де D_p і D_m — відповідно діаметр і найбільш вірогідний діаметр (математичне очікування) частинки; σ — середньоквадратичне відхилення від середнього значення.

З урахуванням закону розподілу по розмірах неважко вирахувати середнє значення (математичне очікування M) сили, діючої на сферичні частинки об'ємом $V = \pi D^3/6$, за формулою:

$$F_m = M [F_y] = \frac{\pi}{6} \kappa m_{\text{сут}} \frac{dH}{dy} \int_{-\infty}^{\infty} D_p^4 p(D_p) dD_p. \quad (9)$$

Для розрахунку характеристик руху, як окремих магнетних носіїв, так і їх агрегатів під дією магнетного поля приведемо деякі теоретичні оцінки параметрів в завданні транспорту носіїв в кровоносних судинах. На рисунку 1.1, а схематично показано розгалужену структуру судин в органі-мішені, а також наведено розрахункову схему руху носіїв на ділянці горизонтальної судини кінцевої довжини (рис. 1.1, б; пунктиром позначено зону активної дії магнетно-

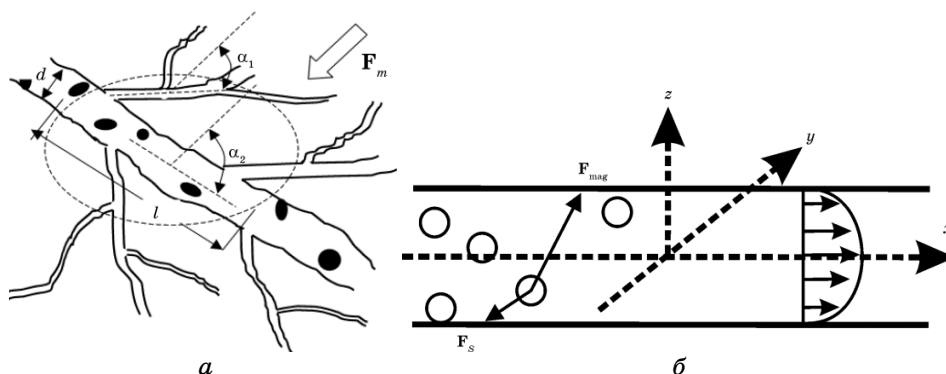


Рис. 1.1. Схема судинного середовища (а) і розрахункова схема руху магнетних носіїв на судинній ділянці (б).

го поля). Відмітимо, що кожне j -е відгалуження основної судини органу утворює деякий кут α_j (рис. 1.1).

Розглянемо рух окремого носія (магнетної частинки або агрегату) на ділянці судини, яку вважаємо циліндричною трубкою з жорсткими стінками. Оскільки рух носія поступальний, то можна вважати частинку матеріальною точкою. Рух частинки описуватимемо в Декартовій прямокутній системі координат $Oxyz$, вісь x направимо уздовж осі судини, осі y і z — перпендикулярно x так, щоб вони утворювали праву трійку, причому, вісь y спрямуємо уздовж лінії максимального зростання поля. Початок координат зв'яжемо з віссю судини. На частинку діють зовнішні сили: сила тяжіння $G = mg$ (тут m маса частинки, g (прискорення сили тяжіння), F_A — Архімедова сила; F_m — магнетна сила; F_s — сила опору руху. Надалі вважатимемо, що силою тяжіння, Архімедовою силою і інерційною силою (ma ; a — прискорення частинки) можна нехтувати зважаючи на незначну масу частинок (10^{-11} – 10^{-10} г).

В ході детального вивчення течії крові експериментально і теоретично встановлено, що рух має ламінарний характер як в тонких судинах, так і на ділянках значної кривизни. У зв'язку з таким характером руху можна вважати, що в довільній частині судини рух носія практично припиняється при досяганні стінки судини. Відмітимо, що частинки можуть ковзати по стінках судин, проте швидкість їх переміщення в цьому випадку буде значно меншою, ніж в середній частині.

Розглянемо спочатку умови зупинки носіїв магнетним полем на внутрішній стінці судини. На утримуваній магнетним полем носій в потоці крові діє Стоксова сила:

$$F_s = 3\pi D_g \nu \eta_l,$$

де D_g — гідродинамічний діаметр носія (з урахуванням оболонки); ν — швидкість потоку крові; η_l — її в'язкість. Оскільки рух крові в судині ламінарний, то зупинити носій найлегше біля стінки, де швидкість потоку ν мінімальна і по порядку величини пропорційна γ (параметр γ має розмірність кутової швидкості).

Нехай магнетне поле з величиною градієнту напруженості ∇H локалізовано на ділянці розміром l усередині судини діаметром d (рис. 1.1). У наближенні Пуазейлевого (параболічного) розподілу швидкості по перерізу судини, яка приймається у вигляді круглої циліндричної трубки, має місце наступний закон розподілу швидкостей по радіальній координаті r :

$$v = \frac{p_1 - p_2}{4\eta_l l} \left(\frac{d^2}{4} - r^2 \right),$$

де p_1, p_2 — тиск на вході і виході ділянки активної дії магнетного

поля завдовжки l . Середня швидкість течії рідини \bar{U} визначається виразом

$$\bar{U} = \frac{p_1 - p_2}{\eta_1 l} \frac{d^2}{128}.$$

Тоді об'ємну витрату крові (кровотік) Q , виражену через середню швидкість, можна знайти за формулою $Q = \pi d^2 \bar{U}$.

Прирівнюючи Стоксову силу значенню осьової компоненти магнетної сили [41]

$$F = m \nabla H \cos \alpha,$$

одержано умову утримання носіїв магнетним полем на стінці судини:

$$m \nabla H \cos \alpha \geq 6 \pi r_g^2 \gamma_1 \eta_2, \quad (10)$$

де m — магнетний момент носія; α — кут між напрямком \mathbf{H} і віссю судини, $r_g = D_g / 2$ — гідродинамічний радіус; η_2 — в'язкість крові в пристінному шарі, а γ_1 визначається виразом [41]

$$\gamma_1 = \frac{32Q}{\pi d^3} = \frac{8\bar{U}}{d}.$$

Якщо об'ємний вміст феромагнетного матеріалу з питомим магнетним моментом m_0 в носіїві дорівнює k , а об'єм носія $(4/3)\pi r^3$ (тут і далі $r = r_g$), то

$$m = \frac{4}{3} \pi r^3 m_0 \chi k, \quad (11)$$

де χ — намагнетованість [41]. З точністю, достатньою для оціночних розрахунків, припустимо, що для магнетних полів з напруженістю $H < H^*$ насичення феромагнетика $\chi \sim H/H^*$, а за умови $H > H^*$ маємо $\chi = 1$. Тепер умова зупинки носія на внутрішній стінці судини набере вигляду [41]:

$$k_1 = \frac{9}{2} \frac{\gamma_1 \eta_2}{\mu_0 \chi r \nabla H \cos \alpha}. \quad (12)$$

Рівняння (12) визначає такий вміст у носіїві феромагнетного матеріалу k_1 , при якому для середньої швидкості течії крові \bar{U} в судині діаметром d може відбуватися його зупинка біля стінки судини магнетним полем з параметрами μ_0 і ∇H .

Надалі виходитимемо з характеристик течії крові людини [41], значення яких наведено в табл. 1.2.

ТАБЛИЦЯ 1.2. Деякі характеристики течії крові людини [41].

| Тип судини | Діаметр судини d , см | Середня швидкість кровотоку в судинах \bar{U} , см/с | Середнє значення параметра $\gamma_1 = 8\bar{U} / d$, c^{-1} |
|--------------------|-------------------------|--|---|
| Аорта | 1,6–3,2 | 30–60 | 300–600 |
| Великі артерії | 0,6–0,1 | 20 | 270–1600 |
| Артеріоли | 0,1–0,02 | 10–0,2 | 800 |
| Капіляри | 0,0005–0,001 | 0,05–0,07 | 500–800 |
| Венули і малі вени | 0,02–0,2 | 0,1–1 | 40–200 |
| Великі вени | 0,5–1,0 | 10–20 | 160 |
| Порожністі вени | 2,0 | 50 | 200–300 |

Розглянемо тепер вплив неоднорідного магнетного поля на частинки в довільній судині і оцінимо умови, необхідні для доставки носіїв до стінки судини в зоні ефективної дії магнетного поля з характерною довжиною l (рис. 1.1). Рівень поля вважаємо таким, що намагнетованість носіїв досягає насичення. Аналіз рівнянь руху частинки у в'язкій рідині при деяких спрощеннях дозволяє оцінити час, необхідний для досягнення частинкою стінки судини [40]. Для довільної частинки з радіус-вектором \mathbf{r} , що рухається в області, протилежній до розташування магнету, можна оцінити модуль швидкості руху частинки в напрямку \mathbf{r} .

З формули (7) визначаємо величину швидкості частинки в цьому напрямку [38]:

$$v_r = \frac{\kappa m_{\text{sat}} G}{\rho f(D_g)} \left[1 - e^{-f(D_g)t} \right], \tag{13}$$

де $f(D_g) = 3\pi\eta_1 / (\beta\gamma D_g^2)$ — функція ефективного діаметру частинки D_g , ρ — густина частинки; κ — коефіцієнт, який залежить від її форми; G — градієнт модуля магнетної індукції, який в перерізі тонкої судини можна вважати постійним.

З (13) випливає, що під дією магнетного поля швидкість частинки швидко стає постійною внаслідок малого значення маси. Тоді швидкість руху v_r відносно течії крові при певних значеннях концентрації магнетних носіїв і градієнту поля уздовж осі y знаходиться по формулі

$$v_r = \frac{\kappa m_{\text{sat}} G}{\rho f(D_g)}. \tag{14}$$

Оцінимо час руху носіїв до стінки судини. Якщо позначити через τ час перебування носіїв в судині органу, а через t — час, необхідний усім носіям для досягнення стінки судини, то умова успішної доставки препарату в орган-мішень можна записати у вигляді нерівно-

сти $t \leq \tau$. Виконання цієї нерівності є основним критерієм успішної доставки препарату.

Для подальших оціночних розрахунків доцільно, як і вище, використовувати середню швидкість течії \bar{U} , значення якої для різних судин приведене в табл. 1.2. Тоді час перебування носіїв в судині органу за відсутності поля дорівнює $\tau = l / \bar{U}$, де l — зона активної дії магнетного поля (рис. 1.1).

У загальному випадку вектор магнетної сили і вісь судини можуть складати деякий кут α ($0 < \alpha < \pi$). Час перебування носія в судині залежить від величини цього кута, оскільки до середньої швидкості U руху уздовж осі додається проекція відносної швидкості на цей напрямок. Часи t і τ можуть бути обчислені за формулами:

$$t = \frac{d}{v_r \sin \alpha}, \quad \tau = \frac{l}{\bar{U} + v_r \cos \alpha}. \quad (15)$$

З цих співвідношень виходить, що за умови $0 < \alpha < \pi/2$ час перебування носія в судині скорочується, а при $\pi/2 < \alpha < \pi$ збільшується. При цьому мінімальний час перебування препарату в судині, очевидно, рівний $\tau_1 = l / (\bar{U} + v_r)$, а максимальний $\tau_2 = l / (\bar{U} - v_r)$.

Найбільш несприятливий випадок, коли частинка знаходиться біля протилежної стінки, і тому максимально можлива відстань, яку їй треба здолати, дорівнює діаметру судини. З врахуванням (15) критерій успішної доставки препарату може бути записаний у вигляді нерівності

$$v_r \left(\sin \alpha - \frac{d}{l} \cos \alpha \right) \geq \frac{d}{l} \bar{U} \quad (0 \leq \alpha \leq \pi), \quad (16)$$

з якої виходить, що при певних значеннях кутів вираз в дужках може бути від'ємним. Отже, виконання умови (16) при деякому граничному куті $\alpha_{\text{lim}} = \arctg(d/l)$ стає неможливим. Таким чином, частина судин, для яких кути між осями і напрямком дії магнетної сили потрапляють в інтервал $0 \leq \alpha \leq \alpha_{\text{lim}}$, не задовольняють критерію успішної доставки препарату.

У загальному випадку формальний розв'язок нерівності (16) має вигляд $\alpha_1 \leq \alpha \leq \alpha_2$, де

$$\alpha_1 = \arctg \frac{d}{l} + \arcsin \frac{d}{l} + \arcsin \frac{d}{\sqrt{d^2 + l^2}} \frac{\bar{U}}{v_r},$$

$$\alpha_2 = \pi + \arctg \frac{d}{l} + \arcsin \frac{d}{l} - \arcsin \frac{d}{\sqrt{d^2 + l^2}} \frac{\bar{U}}{v_r}. \quad (17)$$

Цей розв'язок існує за умови

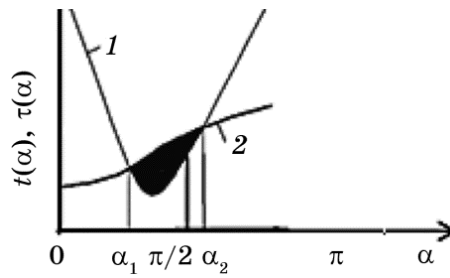


Рис. 1.2. Графічна ілюстрація розв'язання нерівності (16): 1 — залежність $t(\alpha) = d / (v_r \sin \alpha)$; 2 — $\tau(\alpha) = d / (\bar{U} + v_r \cos \alpha)$.

$$\frac{d}{\sqrt{d^2 + l^2}} \frac{\bar{U}}{v_r} \leq 1,$$

а інакше — розв'язків немає.

Графічна ілюстрація нерівності (16) зображена на рис. 1.2, де схематично показані залежності $t(\alpha)$ і $\tau(\alpha)$ при фіксованих значеннях довжини і діаметру судин і середніх швидкостях.

Слід мати на увазі, що для більшості кровоносних судин відношення діаметрів до довжини активної зони дії поля малі, тому і значення граничного кута буде малим. Наприклад, для судини з відношенням $d / l = 0,1$ граничний кут $\alpha_{\text{lim}} \approx 6^\circ$. Оскільки кут α можна вважати випадковою величиною, рівномірно розподіленою у вказаному інтервалі кутів, то вірогідність попадання судин в цей інтервал буде мала, і в розглянутому прикладі вона рівна лише 0,03. Для тонших судин ця вірогідність ще менша. Тому з дуже високою вірогідністю допустимо вважати, що нерівність $\alpha > \alpha_{\text{lim}}$ виконується.

При цьому для малих значень відношення d/l можна використовувати наближення $\alpha_{\text{lim}} \approx d / l$.

Область існування розв'язків нерівності обмежена значеннями кутів $\alpha_1 < \alpha < \alpha_2$; для наочності на рис. 1.2 вона зафарбована. Для різних значень довжини і діаметру судини і швидкостей цей інтервал може бути різним (у тому числі і порожнім, якщо криві не перетинаються). Довжина інтервалу $A = \alpha_2 - \alpha_1$ має наступний сенс: для усіх судин, осі яких утворюють з вектором магнетної сили кути, що потрапляють в цей інтервал, є гарантована доставка препарату до їх стінок. Оскільки кути можуть набувати довільних значень в інтервалі $[0, \pi]$ і при цьому розподілені рівномірно, відношення $\lambda = A / \pi$ покаже, в яку саме частину судин органу, довільно орієнтованих в просторі, може бути доставлений препарат.

З урахуванням введених позначень приходимо до нерівності вигляду

ТАБЛИЦЯ 1.3. Критичні швидкості при різних значеннях параметра λ .

| $\lambda, \%$ | 30 | 50 | 70 | 90 |
|-----------------------|------|------|------|------|
| v_r / v_{cr}^{\min} | 1,12 | 1,41 | 2,20 | 6,39 |

$$v_r \geq \bar{U} \frac{\sin \alpha_{\lim}}{\sin(1-\lambda)\pi/2} \approx \bar{U} \frac{d}{l} \frac{1}{\cos(\lambda\pi/2)}, \quad (18)$$

яка дозволяє повністю вирішити поставлене завдання визначення необхідних значень швидкостей і, відповідно, характеристик поля. Нерівність зв'язує швидкість відносного руху, яку повинне забезпечити прикладене магнетне поле, з середньою швидкістю течії крові в судині, геометричними параметрами судин і частиною використаних судин органу-мішені.

У таблиці 1.3 наведено значення параметра $\lambda = (\alpha_2 - \alpha_1) / \pi$ при різних значеннях v_r / v_r^{\min} , де $v_r^{\min} = \bar{U}d / l$. З цих даних виходить, що навіть при незначному збільшенні мінімальної критичної швидкості $v_{cr}^{\min} = \bar{U}d / l$, яка є фіксованою характеристикою конкретної судини, можна досягти 50%-го успіху в доставці препарату до стінки судини. Таблиця 1.3 уможливорює оцінити необхідні швидкості для будь-якої судини за наявності відповідних характеристик.

З урахуванням наведених вище (у рамках спрощеної моделі одновимірного поля) виразів, одержуємо нерівність для оцінки необхідних середніх рівнів ґрадієнтів в судинах

$$G \geq \frac{\bar{U}d}{l \cos(\pi\lambda/2)} \frac{\rho f(D_g)}{km_{\text{sat}}}. \quad (19)$$

Цей критерій дозволяє визначити для конкретного органу необхідні значення потрібних швидкостей руху магнетних носіїв. У свою чергу, він дає можливість провести оцінку необхідних рівнів полів і ґрадієнтів. Точніше рішення цих завдань вимагає додаткових досліджень і удосконалення моделей для опису руху носіїв в судинах. Відмітимо, що з одержаного загального критерію виходить результат, наведений в [41] — формула (5).

Утримати усі носії, які потрапляють у велику судину, можна лише тоді, коли характерний розмір l області локалізації магнетного поля дорівнює $l = bU\tau - d \operatorname{ctg} \alpha$, де b — коефіцієнт порядку одиниці, $\tau = d / V_{\perp}$ — час перетину носієм судини під дією поперечної складової магнетної сили. Поперечна компонента V_{\perp} швидкості носія має вигляд

$$V_{\perp} = \frac{\mu \nabla H \sin \alpha}{6\pi r \eta_1}.$$

Як і раніше, виражаючи μ через k , знаходимо умову доставки 100% носіїв до стінки судини на потрібній ділянці при дії магнетного поля (тут і нижче r — гідродинамічний радіус):

$$k_2 = \bar{U}d\eta_1 \left[br^2\mu_0\nabla H \sin \alpha(l + d\text{ctg}\alpha) \right]^{-1}. \quad (20)$$

Порівнюючи цей вираз з умовою зупинки носіїв біля стінки судини при $\alpha = 45^\circ$, $b = 4/3$ і умові, що $l \gg d$ і $\eta_1/\eta_2 \sim 2$, одержуємо

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{1}{18} \frac{d^2}{rl}. \quad (21)$$

Для 100% -ної доставки носіїв до стінки за умови $d > \sqrt{18lr}$ потрібний більший вміст в них феромагнетного матеріалу, ніж для зупинки їх біля стінки; для випадку $d < \sqrt{18lr}$ — навпаки.

Якщо вміст феромагнетика в контейнері складає $k_1/k_2 = 0,01$, то для реалізації 100% -ної доставки носіїв до стінки судини і їх зупинки в судинах різного діаметру потрібне магнетне поле з $H \geq 1,6 \cdot 10^6$ А/м (насичувальне поле) і $H \geq 1,6 \cdot 10^6$ А/м для вен, де $\bar{U} = 0,1$ см/с, або $\nabla H \geq 2,2 \cdot 10^8$ А/м² для артерій, де $\bar{U} = 0,4$ см/с.

Відмітимо ряд обставин, важливих для практичного використання одержаних теоретичних результатів. Існує певна величина напруженості магнетного поля для конкретного феромагнетного матеріалу носіїв, після досягнення якої подальше її збільшення не призводить до зміни сили. При цьому як для слабких, так і для сильних полів магнетна сила пропорційна об'єму ядра, зайнятому магнетною речовиною частинки, і істотно залежить від її форми. Визначальним фактором служить також градієнт модуля вектора магнетної індукції зовнішнього поля. Тільки при швидкій зміні поля в просторі можливе досягнення великих значень сили, які потрібні для утримання частинок в потрібній області капілярно-судинного середовища.

У конкретних випадках при розрахунку конфігурації магнетних полів необхідно враховувати тип магнетного носія, розташування органу-мішені, а конструювання носіїв проводиться з урахуванням типу органу-мішені, конкретних ліків і механізму їх терапевтичної дії.

У тонких судинах ($d < \sqrt{18rl}$) можна реалізувати доставку усіх носіїв, що знаходяться в зоні активної дії магнетного поля до стінки судини з наступним їх утриманням. При магнетному полі напруженості $H \geq 1,6 \cdot 10^6$ А/м необхідні рівні градієнтів складають $H \geq 1,6 \cdot 10^6$ А/м для вен (де $\bar{U} = 0,1$ см/с) і $\nabla H \geq 2,2 \cdot 10^8$ А/м² для артерій ($\bar{U} = 0,4$ см/с).

У великих судинах ($d > \sqrt{18rl}$) досягти 100% -ної доставки практично неможливо, оскільки необхідні для цього величини градієнтів створити технічно важко, проте деяка частина носіїв, розташованих ближче до магнету, все ж утримається магнетним полем.

У судинах діаметром більше 3 см досягти 100% -ного осадження носіїв важко, оскільки необхідний ґradient напружености магнетного поля складає 10^{12} – 10^{13} А/м². Це, проте, не унеможливорює зупинки на внутрішніх стінках великих судин тієї частини магнетних носіїв, які досягли поверхні за час «прольоту» області локалізації зовнішнього магнетного поля.

З одержаних в цій роботі оцінок виходить, що при застосуванні оптимально вибраних магнетних систем можливо досягти утримання контейнерів з ліками навіть у великих магістральних судинах. Подальші дослідження покажуть ефективність розроблених підходів, проте слід особливо відмітити, що проведені розрахунки і знайдені рівні ґradientів вказують на реальну можливість доставки і утримання магнетних носіїв в органі-мішені. В той же час, враховуючи складність даної проблеми транспорту лікарських препаратів, з проведених вище оцінок можна зробити висновок, що вирішення конкретних терапевтичних завдань за допомогою магнетних носіїв вимагає виконання всебічних як теоретичних досліджень на модельних системах, так і проведення необхідних попередніх експериментів, у тому числі на клітинних культурах і тваринах.

2. СИНТЕЗ МАГНЕТОЧУТЛИВИХ ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНИХ НАНОКОМПОЗИТІВ МЕДИКО-БІОЛОГІЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ ВЛАСТИВОСТЕЙ

2.1. Схема хімічного конструювання наноконкомпозитів з функціями нанороботів

На рисунку 2.1 наведено схему хімічного конструювання наноархітектури поліфункціональних наноконкомпозитів з властивостями нанороботів [5, 14] згідно зі сформульованою концепцією, експериментально відпрацьованою за всіма основними етапами шляхом послідовного синтезу елементів наноархітектури та всебічної перевірки їх функціональності.

В якості першого рівня ієрархічної наноструктури — вихідного матеріалу для хімічного конструювання наноконкомпозитів, вибраний монодомений магнетит розміром 8–50 нм. Відомо, що магнетит має біогенну природу і задовільно виводиться організмом. У цій схемі він може виконувати функції магнеточутливого носія лікарських препаратів; перетворювача енергії високочастотного магнетного поля зовнішнього джерела в теплову з метою створення гіпертермічних зон; наночастинки з реакційно здатною поверхнею, що дозволяє реалізувати подальший дизайн заданої ієрархічної архітектури поліфункціонального наноконкомпозиту.

Другий ієрархічний рівень наноструктури (1–4 нм) може мати досить складну будову. Він забезпечує стабілізацію нанорозмірного

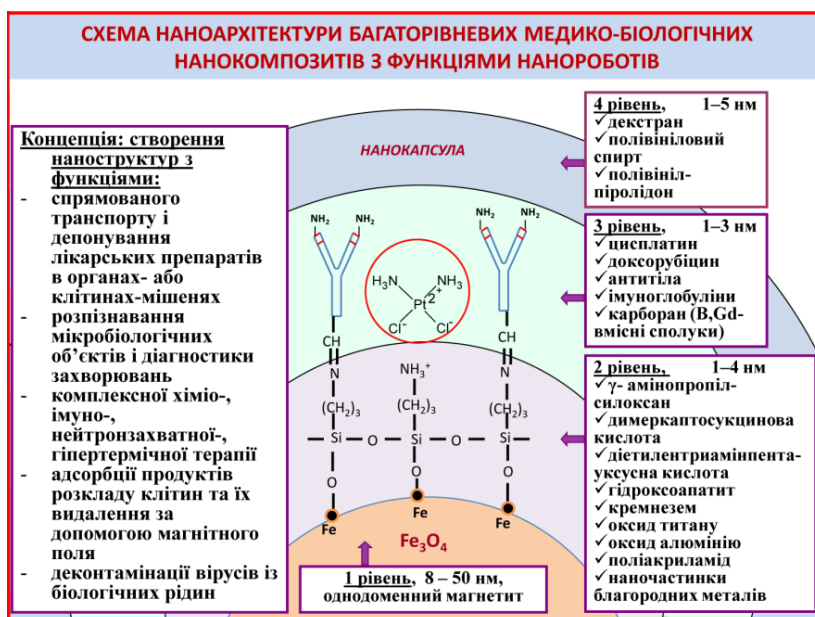


Рис. 2.1. Схема хімічного конструювання наноархітектури багаторівневих наноконкомпозитів з функціями нанороботів.

носія шляхом модифікування його поверхні біосумісним покриттям (поліакриламід, кремнезем, гідроксоапатит, оксид титану чи алюмінію тощо). Наявність шару модифікатора зберігає високу питому поверхню наночастинки і дозволяє здійснити необхідну хімічну функціоналізацію, наприклад, гідроксильними, карбоксильними, тїольними й аміногрупами.

Біофункціоналізація наноконкомпозиту здійснюється на третьому рівні (1–3 нм) шляхом іммобілізації хіміо- (цисплатин, доксорубіцин), імуно- (антитіла), радіотерапевтичних (бор- та гадолінійвмісних нейтронзахватних агентів) і діагностичних (T_1 -, T_2 -контрастувальних агентів, наночастинок благородних металів) препаратів, а також сенсорів, що забезпечують розпізнавання специфічних мікробіологічних об'єктів. Слід зазначити, що наночастинки благородних металів, наприклад, завдяки наявності плазмонного резонансу можуть виконувати функції як сенсорів (оптичні мітки), так і терапевтичних агентів (термальна та фотодинамічна терапія).

Функції четвертого ієрархічного рівня пов'язані з капсулюванням наноконкомпозитів для збереження їх властивостей та пролонгації дії лікарських препаратів. Наноконкапсулювання здійснюється декстраном, желатиною, полівініловим спиртом (ПВС), полівінілпіролідом (ПВП).

Нижче наведено результати експериментального відпрацювання

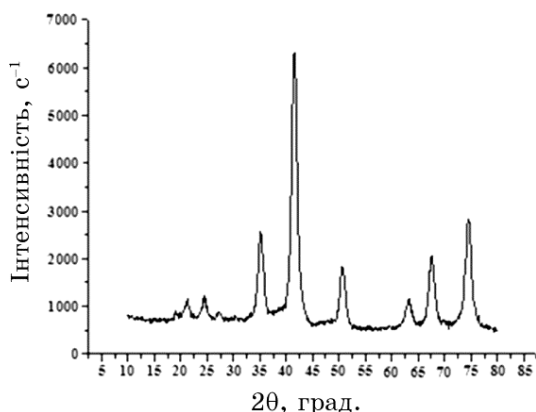
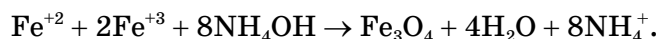


Рис. 2.2. Дифрактограма нанорозмірного магнетиту.

всіх основних етапів хімічного конструювання поліфункціональних нанокompatитів та моделей нанороботів, дослідження їх властивостей та перевірки функціональності.

2.2. Магнеточутливі носії

Синтез магнеточутливого нанорозмірного носія — нанодисперсного магнетиту здійснено за методикою [42] співосадженням солей заліза за реакцією:



Рентгенівська дифрактограма (дифрактометр ДРОН-4-07) синтезованого магнетиту наведена на рис. 2.2. Середній розмір кристалітів Fe_3O_4 становив 8–11 нм (знайдено за формулою Шеррера).

Питома поверхня синтезованого магнетиту складала $S = 90\text{--}180 \text{ м}^2/\text{г}$ (визначено за тепловою десорбцією аргону).

Методами ІЧ-спектрометрії на поверхні магнетиту встановлена присутність функціональних груп ОН, концентрація яких складала 2,2 ммоль/г або 24 мкмоль/м² при $S_{\text{пит.}} = 90 \text{ м}^2/\text{г}$ (розраховано за даними термогравіметричного аналізу).

Криві намагнетювання зразків вимірювали за допомогою вібраційного магнетометра на частоті 228 Гц при кімнатній температурі. Дані щодо результатів вимірювань викладені нижче при розгляді відповідних наноструктур. Для досліджень використовували сухі розмагнетовані високодисперсні зразки.

Дослідження морфології наночастинок Fe_3O_4 методами силової атомної мікроскопії свідчило, що значна кількість наночастинок у висушеному стані формує агрегати, розмір яких сягає 500 нм.

Для виготовлення наноконкомпозитів використовували фракції частинок магнетиту, середній розмір яких знаходився в діапазоні 8–50 нм, які, за експериментальними даними, є монодоменими.

Поверхня порошку магнетиту стабілізувалася олеїноювою кислотою в розчині гексану. Вміст вуглецю і водню в стабілізованому магнетиті складає: С — 2,00%, Н — 1,50%. В [43] показано, що стабілізуюче покриття на поверхні магнетиту формується з двох шарів щільноупакованої олеїнової кислоти, яка знаходиться переважно в іонізованій формі. Це підтверджується наявністю в ІЧ-спектрах характеристичних смуг поглинання групи COO^- (див. 2.4.1, рис. 2.9). Дифузна смуга поглинання при 105 см^{-1} відповідає валентним коливанням Fe–OH. За допомогою растрової електронної мікроскопії (РЕМ) високої роздільної здатності і атомної силової мікроскопії (АСМ) встановлено, що частинки магнетиту розмірами до 50 нм мають близьку до еліпсоїдної форму.

Методика [42] уможливила одержувати магнетит з широким розподілом частинок по розмірах, що обумовлює необхідність проведення додаткової операції фракціонування і низький вихід монодомених ладанної фракції частинок.

При використанні магнетиту для медичних застосувань його частинки повинні відповідати ряду вимог [43]:

- розмір частинок не повинен перевищувати ~ 60 нм, щоб вони могли вільно проходити через капіляри, не викликаючи емболізації;
- частинки повинні мати досить великий сумарний магнетний момент в технічно досяжних полях для утримання їх в течії крові при фізіологічних параметрах. Для магнетних наночастинок це значення співпадає з теоретично оціненою величиною найменшого по розмірах магнетного домену. Частинки магнетиту в монодоменим стані мають найбільше значення коерцитивної сили. Оцінка значення розміру сферичних монодомених частинок магнетиту при температурі 300°C складає $\cong 30$ нм;
- носії мають бути здатні нести необхідний набір хіміотерапевтичних агентів, при цьому лікарська речовина повинна займати значну частину об'єму препарату;
- поверхневі властивості носіїв повинні забезпечувати максимум біосумісності і мінімум антигенності;
- магнетні носії після виконання функцій мають бути біодеградуєчими, при цьому продукти розпаду повинні швидко виводитися з організму або бути мінімально токсичними.

З метою реалізації вищезгаданих умов і одержання стабільних прогнозованих результатів, була розроблена кріохімічна методика гетерогенного синтезу магнетиту на межі поділу двох фаз: твердої — замороженого розчину солей, і рідкої — розчину аміаку фіксованої концентрації [3]. При топленні розчину солей на тонкій міжфазній межі підтримується (у першому наближенні) постійний граді-

ент концентрацій. З одного боку — розчин аміаку, узятий в надлишку, з іншого — у міру танення твердої фази вивільняється і вступає в реакцію розчин, що має заздалегідь задану, постійну концентрацію компонентів реакції. На відміну від гомогенного синтезу, зростання наночастинок на деякій відстані від поверхні замороженого розчину солей припиняється внаслідок відсутності солі заліза. Це дозволяє запобігти зростанню частинок, що утворилися, і зберегти їх первинний розмір.

Постійна температура, внаслідок протікання ендотермічної реакції топлення розчину солей, сприяє утворенню нанорозмірних частинок з близьким розподілом по розмірах. Низька температура реакційної суспензії перешкоджає протіканню процесу утворення агрегатів з білякритичних зародків і їх рекристалізації з утворенням великих і не кращим чином структурованих частинок.

Реактор для кріохімічного синтезу (рис. 2.3) складається із склянки (3) з аміачним розчином (5), в який опущений фторопластовий стрижень (2), що обертається, із замороженим у вигляді циліндра сольовим розчином (4) певного складу. У нижній частині склянки осідає магнетит (6), що утворюється в результаті реакції.

Наночастинок магнетиту синтезовані за наступною методикою. Перший розчин складається з розчиненого у мінімальній кількості води сульфату заліза $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (26,3 г на 100 г H_2O при 293 К). Стехіометричну кількість хлориду тривалентного заліза нагрівали до 315°C і вливали при перемішуванні в попередній розчин. Одержували концентрований розчин солей заліза А. Розбавлений водою розчин А, заздалегідь вставивши стрижень (2), охолоджували до

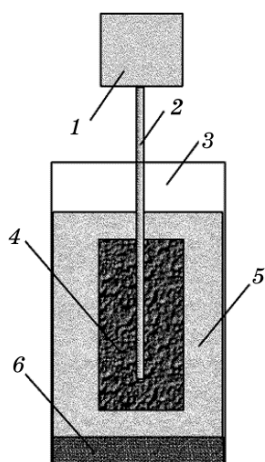


Рис. 2.3. Блок-схема установки кріохімічного синтезу монодоменого магнетиту.

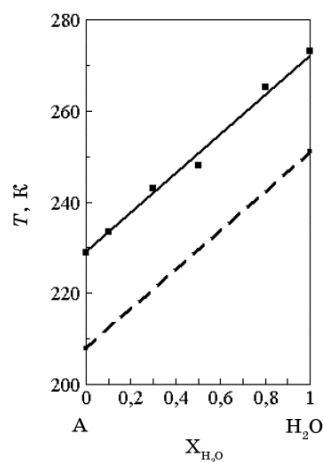


Рис. 2.4. Залежність температури (T) замерзання сольового розчину А від об'ємної доли води ($X_{\text{H}_2\text{O}}$).

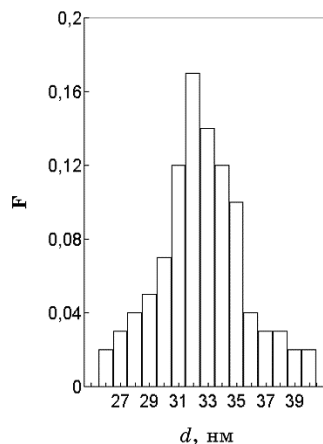
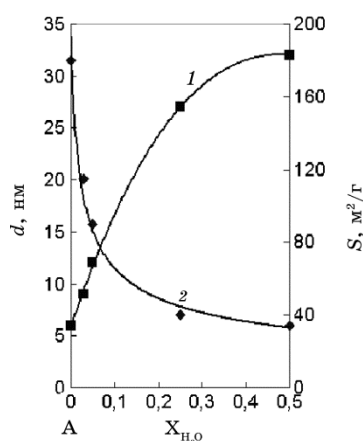


Рис. 2.5. Залежність усередненого діаметру (*a*) і площі поверхні частинок магнетиту (*b*) від розбавлення водою розчину складу *A* (X_{H_2O} — об’ємна доля H_2O).

Рис. 2.6. Розподіл наночастинок магнетиту по діаметру.

температури на $\cong 20^\circ C$ нижче за точку кристалізації цього складу (рис. 2.4, штрихова лінія). Стрижень (2) прикріплювали до ротора мотора, потім опускали циліндр з сольового розчину в розчин аміаку відповідної концентрації. Швидкість обертання стрижня складала $\cong 3,2$ об/с. Розчин солей заліза, що розтанув, вступає в реакцію хімічної конденсації з розчином аміаку з утворенням високодисперсного магнетиту.

Магнетит осаджували за допомогою неоднорідного магнетного поля, розчин відділяли методом декантації. Осад багаторазово промивали до видалення наявних в розчині аніонів.

За крихімічною методикою були одержані зразки нанокристалічного магнетиту. Як видно з рис. 2.5, площа поверхні висушеного порошку, досліджена методом адсорбції аргону, плавно змінювалася залежно від міри розбавлення водою початкового розчину *A* і складала $\cong 40\text{--}180$ m^2/g . Розмір частинок залежно від умов синтезу складав 6–50 нм з досить вузьким інтервалом розподілу (рис. 2.6).

Визначені умови одержання монодоменого магнетиту при контролі *in situ* розміру частинок за допомогою силового наноскопу Digital Instruments NanoScope (рис. 2.7, *a*). Рентгенівські дослідження показали, що зразки, одержані за цією методикою, мали не повністю сформовану кристалічну ґратницю. На дифрактограмі зразка (рис. 2.7, *b*) є лише три найбільш інтенсивних рефлекси: 1 ($2\theta = 35,5^\circ$), 2 ($30,4^\circ$), 3 ($42,1^\circ$), характерні для магнетиту. Переваги запропонованої методики полягають в тому, що вона дозволяє безпосередньо в процесі синтезу одержувати монодоменні частинки

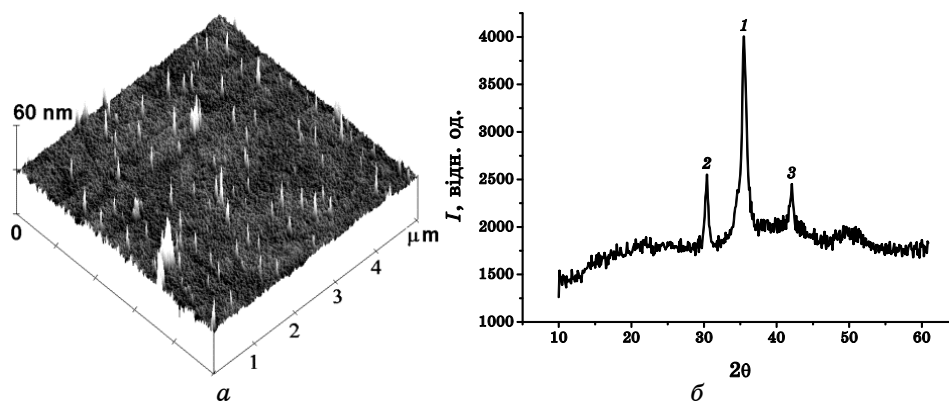


Рис. 2.7. АСМ-зображення частинок Fe_3O_4 на полірованій поверхні монокристалічного кремнію (а) і дифрактограма зразка нанорозмірного магнетиту (б).

магнетиту заданої фракції з більш високим виходом і спрощує процес подальшого виділення високодисперсного продукту (сепарації).

2.3. Дослідження гіпертермічного ефекту

З метою з'ясування можливості створення гіпертермічних зон досліджений нерезонансний (тепловий) вплив електромагнетного випромінювання ($\lambda = 3$ см) на модельні м'язові тканини тварин *in vitro*, в які проводили ін'єкцію високодисперсного магнетиту (рис. 2.8) [22]. Для досліджень використовували зразки тканин масою 5 г.

Тканини 2 і 3 відрізнялися наявністю різної кількості жирової складової. Площа опромінення складала $\cong 2$ см². Встановлено, що у разі введення в м'язові тканини частинок Fe_3O_4 (0,1% мас.) погли-

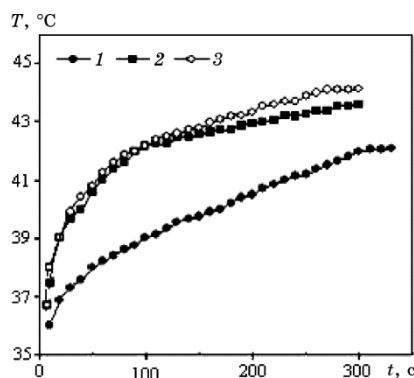


Рис. 2.8. Залежність температури зразків м'язової тканини від часу обробки: 1 — початковий; 2, 3 — з магнетитом.

нання електромагнетного випромінювання зростає, а швидкість нагрівання збільшується від 2–3 до 4 град/хв при потужності випромінювання 0,5 Вт.

2.4. Хімічне модифікування поверхні магнетиту

2.4.1. Модифікування поверхні магнетиту поліакриламідом

З метою підвищення біосумісності наночастинок, а також функціоналізації поверхні необхідними реакційноздатними групами для подальшої іммобілізації біоактивних компонентів, проведено формування полімерного поліакриламідного покриття на поверхні нанодисперсного магнетиту. Шар поліакриламіду на поверхні частинок магнетиту одержували полімеризацією акриламіда зі зшиваючим агентом N,N'-метилен-біс-акриламідом в плазмі жеврійного ВЧ-розряду [3, 44, 45]. Аналіз кінетичних кривих титрування подвійних вуглець-вуглецевих зв'язків свідчить про те, що повна полімеризація шару поліакриламіду (ПАА) здійснюється протягом 120 с.

Вивченням ІЧ-спектрів вихідного магнетиту і модифікованого поліакриламідним покриттям встановлена наявність на їх поверхні функціональних груп –ОН і –NH₂ відповідно. ІЧ-спектри вихідних зразків магнетиту (1) та модифікованих поліакриламідним шаром (2) наведено на рис. 2.9.

Для вихідного Fe₃O₄ смуга поглинання (СП) 3428 см⁻¹ відповідає валентним коливанням О–Н-груп поверхні магнетиту, що асоціюються водневими зв'язками, і валентним коливанням адсорбованих молекул води [46]. Поглинання при 2851 і 2922 см⁻¹ відноситься до симетричних і асиметричних валентних коливань СН₂-груп стабілі-

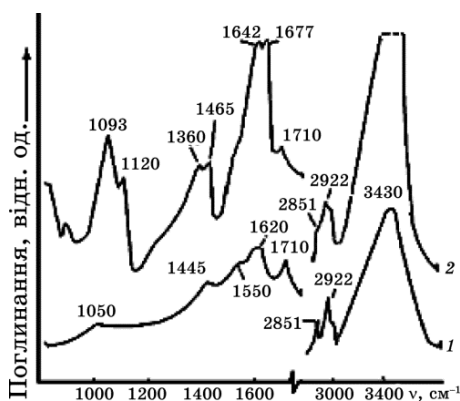


Рис. 2.9. ІЧ-Фур'є-спектри вихідного магнетиту (1) і магнетиту з поліакриламідним покриттям (2); таблетки КВг.

зуючого покриття. СП 1710 см^{-1} відповідає валентним коливанням карбонільної групи олеїнової кислоти, не зв'язаної водневими зв'язками [47]. Поглинання при 1620 см^{-1} відповідає деформаційним коливанням молекул води, адсорбованих поверхнею магнетиту. СП 1445 і 1550 см^{-1} характеризують симетричні і асиметричні коливання зв'язків груп $-\text{COO}^-$ стабілізуючого покриття.

У ІЧ-спектрі магнетиту з поліакриламідним покриттям з'являються смуги поглинання модифікатора. Інтенсивна СП 3428 см^{-1} обумовлена валентними коливаннями зв'язку $\text{N}-\text{H}$. СП 2851 і 2922 см^{-1} відносяться до симетричних і асиметричних валентних коливань CH_2 -груп поліакриламиду. СП 1677 см^{-1} належить валентним коливанням $\text{C}=\text{O}$ амідної групи, низькочастотне крило якої при 1642 см^{-1} пов'язане з деформаційними коливаннями NH_2 -груп поліакриламиду [46].

Смуги при 1360 і 1465 см^{-1} слід віднести до симетричних і асиметричних коливань CH_2 -груп поліакриламиду. СП при 1120 см^{-1} належить $\text{C}-\text{N}$ деформаційним коливанням амідної групи. У цій самій області можуть реєструватися смуги поглинання заряджених форм атомарного і молекулярного кисню (O^{2-} , O^- та ін.), виникнення яких можливо в процесі полімеризації в плазмі ВЧ-розряду [48].

Досліджені магнетні характеристики частинок магнетиту і з'ясований вплив на них поліакриламідного покриття (рис. 2.10). Масу покриття змінювали від 5 до 50% від загальної маси частинок магнетиту. На основі експериментальних результатів розраховували питому намагнетованість зразків σ_i , будували експериментальні залежності $\sigma_i = f(H)$. Використовуючи ці залежності, визначали граничну намагнетованість за умови насичення σ_s , залишкову намагнетованість σ_r , коерцитивну силу H_c [49].

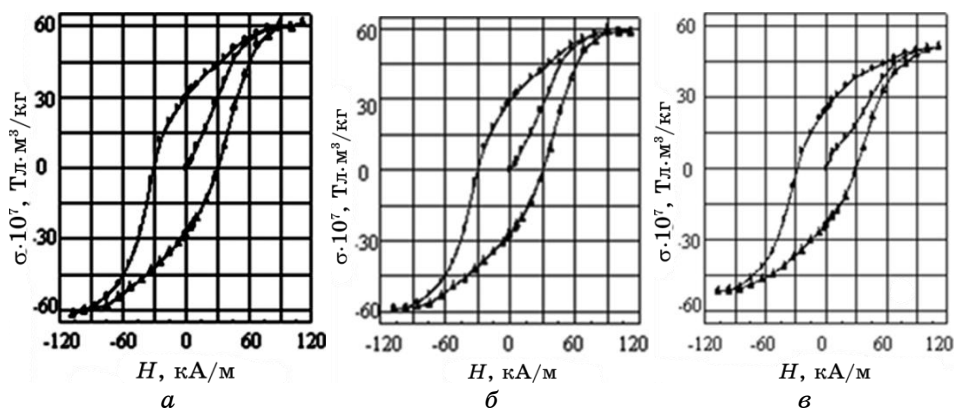


Рис. 2.10. Залежність питомої намагнетованості частинок магнетиту без полімерного покриття (а) і з покриттям (б, в) від напруженості магнетного поля. Маса покриття: б — 10, в — 50% від загальної маси зразка.

На рисунку 2.10, *а, б, в* наведені залежності питомої намагнетованості від напруженості магнетного поля для порошків магнетиту без покриття і з різним вмістом покриття на поверхні. З аналізу даних видно, що зміна маси покриття від 0 до 10% не призводить до помітної зміни початкових магнетних характеристик магнетиту: значення σ_s знаходиться в межах від $61,5 \cdot 10^{-7}$ до $62,0 \cdot 10^{-7}$ Тл·м³/кг, H_c від 30,94 до 29,31 кА/м, $\sigma_r = 30,1 \cdot 10^{-7}$ Тл·м³/кг. При подальшому збільшенні маси покриття до 50% відбувається зменшення значень σ_s до $51,1 \cdot 10^{-7}$ Тл·м³/кг та σ_r до $24,0 \cdot 10^{-7}$ Тл·м³/кг, $H_c = 29,31$ кА/м. Ці результати свідчать, що приріст маси ПАА-покриття на поверхні частинок магнетиту до 50% не спричиняє значного впливу на магнетні характеристики.

Зразки наноккомпозитів Fe₃O₄/ПАА досліджували методами силової атомної та силової магнетної наноскопії. На рисунках 2.11, *а–г* наведено атомно-силові (*а, в, д, ж*) і магнето-силові (*б, г, є, з*) зображення масивів наноккомпозитів Fe₃O₄/ПАА (*а–г*) і Fe₃O₄/γ-АПС (*д–з*) в форматах 2d (*а, б, д, є*) і 3d (*в, г, ж, з*).

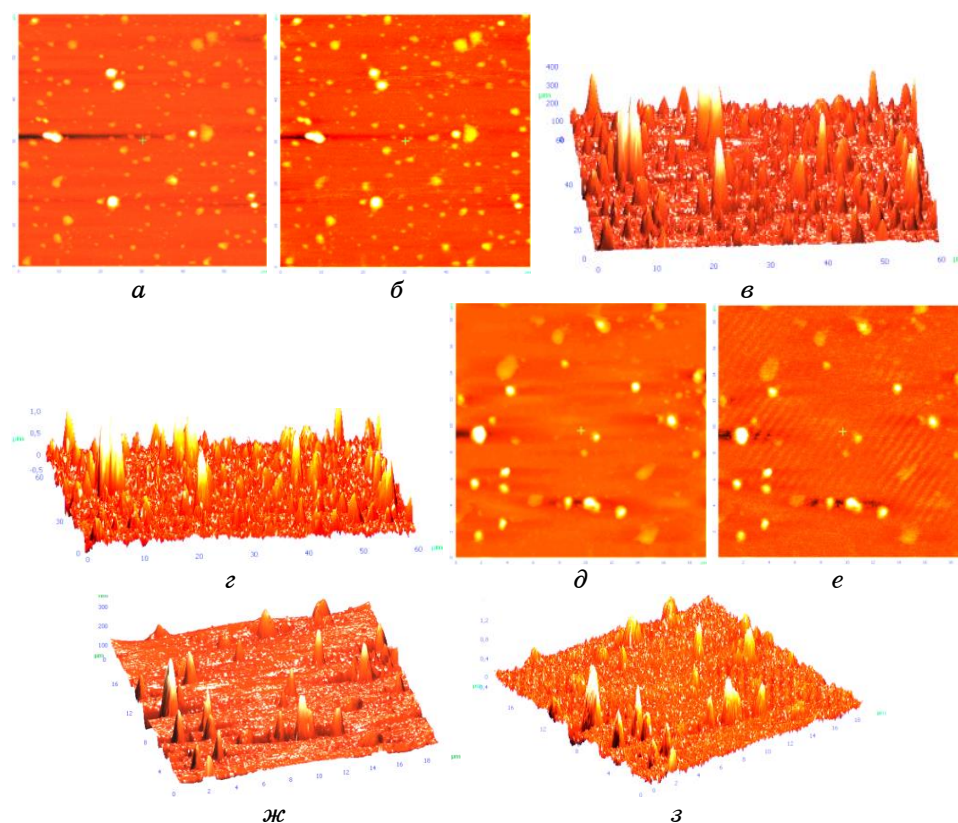


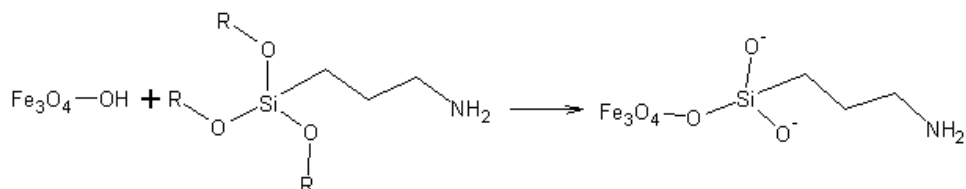
Рис. 2.11. Атомно-силові (*а, в, д, ж*) і магнето-силові (*б, г, є, з*) зображення масивів наноккомпозитів Fe₃O₄/ПАА (*а–г*) і Fe₃O₄/γ-АПС (*д–з*) в форматах 2d (*а, б, д, є*) і 3d (*в, г, ж, з*).

сивів наноккомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ ($a-z$) в форматах 2d ($a, б$) і 3d ($в, з$).

Для досліджень використовували висушені порошкоподібні зразки з широким розподілом частинок та їх агрегатів за розміром (від 8 нм до 1 мкм). Видно, що зображення наноккомпозитів, одержані за атомно-силовим та магнето-силовим методами, знаходяться в добрій відповідності, що свідчить про координацію магнетних і «силових» фаз та незначну товщину і досить рівномірний розподіл зшитого поліакриламідю навколо частинок магнетиту.

2.4.2. Хімічне модифікування поверхні магнетиту γ -амінопропіл-сілоксаном

Для функціоналізації нанодисперсного магнетиту активними аміногрупами проведений синтез γ -амінопропілсілоксанового покриття на поверхні наночастинок магнетиту. Модифікування поверхні наночастинок проводили рідиннофазним способом — γ -амінопропілтриетоксисиланом в толуолі [50] за схемою:



В результаті реакції поліконденсації поверхня магнетиту набувала основних властивостей за рахунок приєднання γ -амінопропільних груп. Одержані модифіковані зразки досліджувалися методами дериватографії, рентгеноструктурного аналізу і ГЧ-Фур'є-спектроскопії, атомно-силової мікроскопії та рентгенофотоелектронної спектроскопії* [50].

Після модифікування магнетиту приєднанням до поверхні γ -амінопропільних груп за даними рентгенофазового аналізу структурних перетворень магнетиту не відбувалося. Вміст амінопропільних груп розраховували по втраті маси в інтервалі 450–1010 К з урахуванням присутності в пробі фізично адсорбованої води (термогравіметричний аналіз). Концентрація амінопропільних груп складає 24 мкмоль/м².

ГЧ-Фур'є-спектр магнетиту, модифікованого γ -АПС (рис. 2.12) містить смуги поглинання 3280 і 3370 см⁻¹, які відносяться до симетричних і асиметричних валентних коливань NH_2 -груп амінопропільного радикала. Смуги поглинання 2861 і 2920 см⁻¹ належать симетричним і асиметричним валентним коливанням CH_2 -груп

* Всі дослідження методом рентгенофотоелектронної спектроскопії виконано в Інституті металофізики ім. Г. В. Курдюмова НАН України.

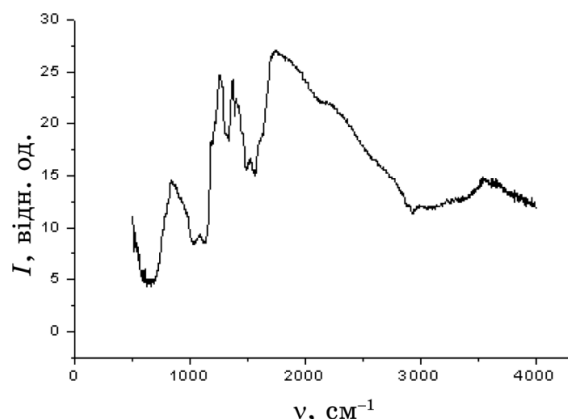


Рис. 2.12. ІЧ-Фур'є-спектр магнетиту, модифікованого γ -АПС.

амінопропільного радикала. СП при 1625 см^{-1} відноситься до деформаційних коливань молекул води, адсорбованої на поверхні магнетиту. СП 1550 см^{-1} характеризує симетричні деформаційні коливання протонуваних аміногруп NH_3^+ , поява яких в ІЧ-спектрі обумовлена перенесенням протона гідроксильних груп поверхні до атомів азоту амінопропільного радикала. СП при 1542 см^{-1} належить деформаційним коливанням NH_2 -груп [51, 52]. Інтенсивний дублет СП 1052 і 1108 см^{-1} свідчить про утворення на поверхні магнетиту полімерної структури $-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$ з достатньо високим ступенем полімеризації [53].

Результати досліджень зразків високодисперсного магнетиту, модифікованого γ -амінопропілсилоксаном, методами рентгенофотоелектронної спектроскопії [3, 5, 54] наведені на рис. 2.13, *а, б, в, г*. Спектр $\text{Si}2p$ (рис. 2.13, *а*) містить максимуми, що належать фотоелектронам груп покриття модифікатора. Компонент з $E_{\text{зв.}} = 101\text{ еВ}$ відповідає групам, які включають $\text{Si}-\text{C}$ -зв'язок, а з $E_{\text{зв.}} = 102,5\text{ еВ}$ — групам із зв'язком $\text{Si}-\text{OH}$. У спектрі $\text{N}1s$ присутні дві компоненти (рис. 2.13, *б*): максимум з енергією зв'язку $399,2\text{ еВ}$ вказує на наявність на поверхні зразка NH_2 -груп, 400 еВ — груп $[-\text{NH}_3]^+$.

Спектр $\text{O}1s$ (рис. 2.13, *в*) свідчить про наявність на поверхні досліджуваних високодисперсних частинок різних форм кисню: 528 – 530 еВ — атомів кисню в оксидній матриці, 532 еВ — у складі OH -груп, 534 еВ — фізично зв'язаної води. Максимум при $710,1\text{ еВ}$ (рис. 2.13, *г*) свідчить, що основною фазою поверхні зразка є магнетит, тобто на поверхні не виявлені хімічні зв'язки, що відповідають іншим оксидним фазам заліза.

На підставі аналізу цих результатів запропонована модель поверхні частинок високодисперсного магнетиту, модифікованого γ -АПС (рис. 2.14).

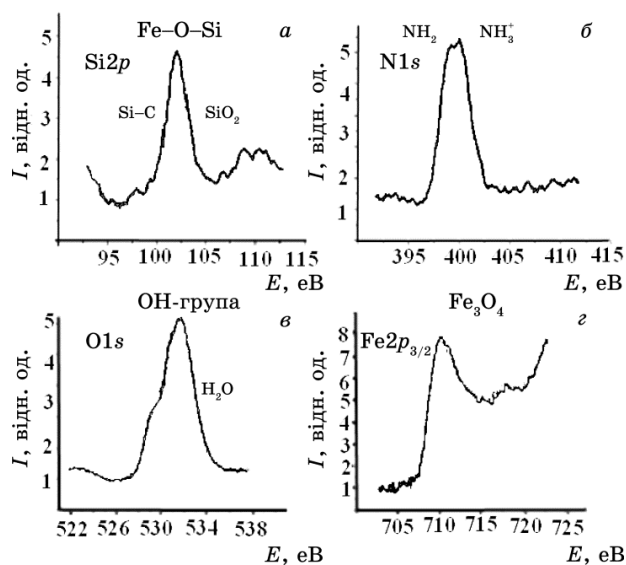


Рис. 2.13. РФ-спектри високодисперсного магнетиту, модифікованого γ -амінопропілтриетоксисиланом.

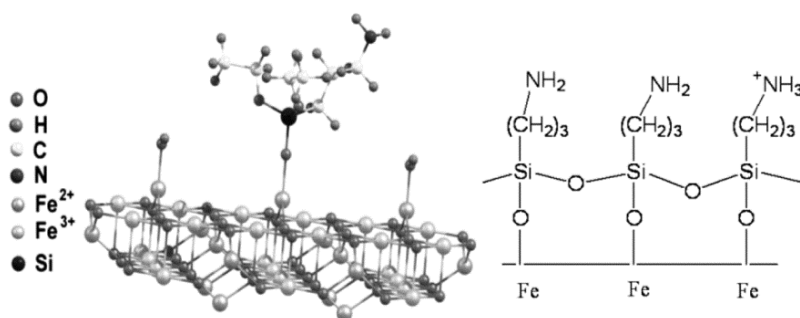


Рис. 2.14. Модель поверхні високодисперсного магнетиту, модифікованого γ -амінопропілтриетоксисиланом.

Згідно з цією моделлю на поверхні частинок Fe_3O_4 утворюється моношар оксиду кремнію, в якому атоми кремнію, з одного боку, через кисневі містки хімічно зв'язані з атомами заліза, а з іншої ті, що утримують амінопропільні групи. Концентрація амінопропільних груп складає 2,2 ммоль/г або 24 мкмоль/м² при $S_{\text{пит.}} = 90 \text{ м}^2/\text{г}$, що відповідає концентрації гідроксильних груп на поверхні вихідного магнетиту. Таким чином, на поверхні магнетиту формується полімерне покриття Si–O–Si з досить високим ступенем полімеризації, яке, у свою чергу, може бути надалі використане для надання магнетним носіям певних хімічних або біохімічних властивостей, а

також виготовлення магнетокерованих адсорбентів.

Атомно-силові (∂ , \mathcal{J}) і магнето-силові (ϵ , \mathcal{Z}) зображення масивів наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС (∂ - \mathcal{Z}) в форматах $2d$ (∂ , ϵ) і $3d$ (\mathcal{J} , \mathcal{Z}) наведено на рис. 2.11. Можна зробити висновок про збіг магнетних і «силових» фаз, тобто незначну товщину і досить рівномірний розподіл шару γ -амінопропілсилоксану навколо частинок магнетиту.

2.4.3. Модифікування поверхні магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою

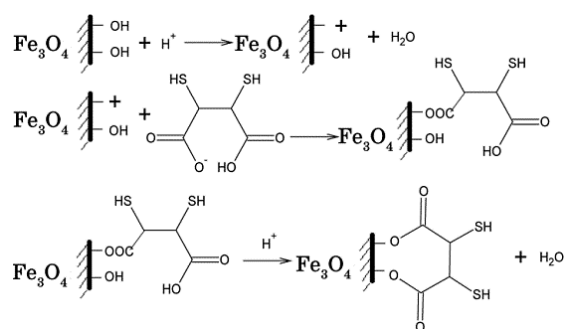
Перспективними модифікувальними агентами [55] поверхні нанорозмірних частинок медико-біологічного призначення являються сполуки з тиольними функціональними групами. Використання мезо-2,3-димеркаптосукцинової кислоти (ДМСК) для формування капсули магнеточутливих частинок вирішує проблему стабільності колоїдної системи у водному середовищі, біосумісності матеріалу, і уможливорює іммобілізацію необхідних сполук через тиольні і карбоксильні функціональні групи поверхні.

Проведені дослідження свідчать про здатність тиольних груп до утворення зв'язків із з іонами важких металів, залишками цистеїну в молекулах білків крові [56] і полегшене виведення їх з організму [57]. Тиольні групи ДМСК забезпечують формування дисульфідних містків між адсорбованими молекулами і утворення міцної полімерної нанокapsули [56–58].

Покриття, створені за участю ДМСК, містять як тиольні, так і карбоксильні групи. Вказані типи груп можуть бути використані для ковалентного приєднання сенсорних молекул і лікарських препаратів [57, 59–61].

2.4.3.1. Синтез магнетної суспензії на основі мезо-2,3-димеркаптосукцинової кислоти

ДМСК приєднується до оксиду заліза шляхом утворення зв'язку карбоксильної групи з гідроксильною групою поверхні по реакції:



Наважки 0,249 г $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ і 0,751 г $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ розчиняли в 11,4 мл дистильованої води в реакторі з азотною атмосферою [55]. Температуру розчину доводили до 80°C і при перемішуванні повільно доводили до 1,4 мл 25% водного розчину аміаку. Випадав осад Fe_3O_4 чорного кольору. До реакційної суміші додавали 0,29 г мезо-2,3-димеркаптосукцинової кислоти в 20 мл води і температуру суміші піднімали до 94°C на 30 хв. Спостерігалось швидке перетворення чорного осаду в стабілізовану водну суспензію з утворенням червоноуватого забарвлення. Одержану реакційну суміш очищали діалізом проти 2 л дистильованої води.

Синтезований водний золь наночастинок Fe_3O_4 , покритих ДМСК, є стабільним в широких межах рН (3–11), у фосфатних буферних системах. Підтверджено, що агрегація частинок суспензії проходить в незначній мірі. Вільні карбоксильні групи надають частинкам наноконкомпозиту гідрофільних властивостей.

Характеристики колоїдних магнетних суспензій досліджували фізичними та хімічними методами: ІЧ-Фур'є-спектроскопії (Perkin Elmer, модель 1720X) в діапазоні $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$; рентгенівської фотоелектронної спектроскопії (електронний спектрометр ЕС-2402 з енергоаналізатором PNOIBOS-100_SPECS), $E_{\text{MgK}\alpha} = 1253,6\text{ eV}$, $P = 200\text{ Вт}$, $p = 2 \cdot 10^{-7}\text{ Па}$ (спектрометр оснащено йонною гарматою IQE-11/35 і джерелом повільних електронів FG-15/40 для компенсації зарядки поверхні діелектриків, спектри $S2p$ -рівнів розкладали на незалежні

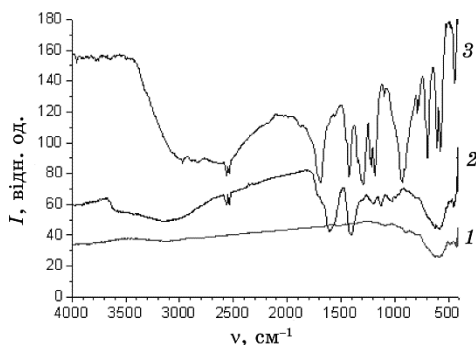


Рис. 2.15. ІЧ-спектри магнетиту (1), наноконкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ (2) і ДМСК (3).

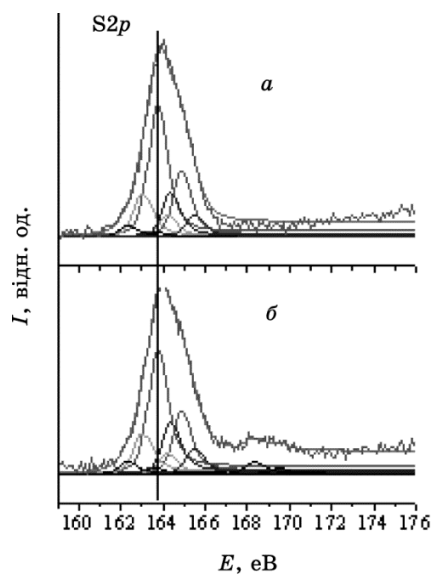


Рис. 2.16. Компоненти $S2p$ -спектрів зразків ДМСК (а) і наноконкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ (б).

компоненти методом Гауса–Ньютона із їхньою шириною на половині висоти $\Delta E = 0,9$ еВ, площа компонент визначалася після вирахування фону за методом Ширлі [61]); кількісного аналізу функціональних SH-груп (наважки одержаного нанокompозиту (0,03 г) розчиняли в 20 мл диметилсульфоксиду, додавали 50 мл 0,1 н розчину йоду, паралельно готували контрольний розчин, суміш ретельно перемішували і залишали на деякий час для забезпечення повноти реакції, надлишок йоду титрували 0,1 н розчином тіосульфату натрію у присутності крохмалю).

Вміст тіольних груп (X у %) розраховували за формулою:

$$X = (V_1 - V_0)NM \cdot 100 / g \cdot 1000,$$

де V_1 і V_0 — об'єми розчинів тіосульфату натрію, які було витрачено на титрування контрольного розчину і проби відповідно, мл; N — нормальність розчину тіосульфату натрію; M — молярна маса тіолу; g — наважки нанокompозиту, г.

Визначення дзета-потенціалу і середнього розміру частинок утвореної магнетної рідини здійснювали за допомогою динамічного світлорозсіювання на приладі Zetasizer компанії Malvern, Великобританія. Були проведені вимірювання розподілу частинок магнетної рідини $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{вода}$ по дзета-потенціалу.

На рисунку 2.15 наведено ІЧ-Фур'є-спектри магнетиту, нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ і ДМСК . Спостерігаються три основні групи смуг при $\cong 550 \text{ см}^{-1}$, ($\cong 1400 \text{ см}^{-1}$ і $\cong 1630 \text{ см}^{-1}$) і (2505 см^{-1} і 2510 см^{-1}), що відповідають S–S, C=O і S–H зв'язкам в ДМСК покритті на поверхні магнетиту і оболонки. Не зважаючи на те, що характеристична смуга S–S перекривається зі смугою Fe–O при 593 і 606 см^{-1} , незначне зміщення у бік менших енергій і підвищення інтенсивності піку при 550 см^{-1} на ІЧ-спектрі є свідченням утворення S–S зв'язку між молекулами ДМСК [57].

РФ спектри S2p-рівнів наночастинок магнетиту з оболонкою ДМСК і зразка порівняння ДМСК , як результат розкладання спектрів на компоненти, наведені на рис. 2.16, а, б і в табл. 2.1. З рисун-

ТАБЛИЦЯ 2.1. Енергії зв'язку ($E_{\text{зв.}}$, еВ) максимумів компонент S2p-спектрів і інтегральні інтенсивності компонент I (%).

| $E_{\text{зв. S2p}}$, еВ | $I, \text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$, % | $I, \text{ДМСК}$, % |
|---------------------------|--|----------------------|
| 162,3 | 5,27 | 4,97 |
| 163,0 | 16,68 | 18,47 |
| 163,7 | 51,81 | 57,5 |
| 164,3 | 21,39 | 19,06 |
| 168,3 | 4,85 | — |

ка 2.16 видно, що в спектрах початкового ДМСК присутні сигнали від трьох нееквівалентних станів іонів сірки. Домінуюча компонента в області $E_{зв.} = 163,7$ еВ відповідає фрагменту зв'язку Н–S–С в ДМСК [61].

За результатами розкладання на компоненти спектру поверхні модифікованого магнетиту видно (рис. 2.16, а), що кількість і співвідношення компонент в порівнянні з початковим зразком ДМСК практично не змінюється. Це вказує на формування на поверхні магнетиту шару саме з ДМСК.

Відмінністю є наявність в області $E_{зв.} = 168,4$ еВ слабкого сигналу ($\cong 4\%$), який можна зв'язати з присутністю слідів розчинника — диметилсульфоксиду (ДМСО). Враховуючи, що $E_{зв.}$ S2p-рівня атомів сірки у фрагменті –SS– [61] знаходиться в тій самій області енергій, що і для фрагменту S–Н в ДМСК, зафіксувати зміну вкладів двох нееквівалентних станів атома сірки не вдалося. Компоненти з $E_{зв.} = 163,0$ еВ і $E_{зв.} = 164,3$ еВ можна співвіднести із сполуками проміжних етапів синтезу ДМСК, як основної речовини.

Хімічні методи визначення функціональних груп в органічних сполуках широко застосовуються, незважаючи на розвиток інструментальних методів аналізу. Тіоли можна розглядати як похідні сірководню, в яких заміщений один атом водню, що обумовлює подібність їх хімічних властивостей.

Відомо декілька методів для кількісного визначення –SH-груп,

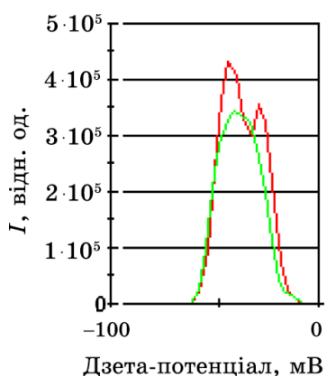


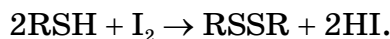
Рис. 2.17. Розподіл частинок Fe_3O_4 –ДМСК у воді за дзета-потенціалом.

ТАБЛИЦЯ 2.2. Дзета-потенціал і усереднений розмір частинок (z) магнетної рідини Fe_3O_4 /ДМСК/вода згідно з даними світлорозсіювання.

| | |
|---|-------|
| Дзета-потенціал, мВ | –40,3 |
| Ширина розподілу за дзета-потенціалом, мВ | 9,84 |
| Провідність зразка, мС/см | 0,129 |
| z — усереднений діаметр частинок, нм | 40,5 |

наприклад, аргентометричний метод, що включає амперометричне і алкаліметричне потенціометричне титрування, а також методи, засновані на окисненні йодом та іонами міді.

У дослідженнях [14, 15] було обрано метод титрування Кімбола–Крамера–Ріда, заснований на реакції окиснення:



Аналіз показав, що кількість SH-груп в нанокomпозитах складає 2,4 ммоль/г. При $S_{\text{пит.}} = 130 \text{ м}^2/\text{г}$, кількість SH-груп — 19 мкмоль/м².

Для порівняння проводили кількісне вимірювання SH-груп в ДМСК. Виявилось, що концентрація SH-груп в ДМСК складає 17 ммоль/г.

Дзета-потенціал і середній розмір частинок зразків магнетної рідини досліджено методом динамічного світлорозсіювання. Було проведено серії вимірювань розподілу частинок магнетної рідини Fe₃O₄–ДМСК/вода по дзета-потенціалу, результати яких показано в табл. 2.2 і рис. 2.17.

Методом динамічного світлорозсіювання досліджували також розподіл кількості частинок магнетної рідини Fe₃O₄–ДМСК/вода залежно від розміру (рис. 2.18, а) і від інтенсивності розсіювання (рис. 2.18, б) (4 виміри).

За даними рис. 2.16 зафіксовано розміри найдрібніших частинок, тоді як рис. 2.18, а, б вказують на наявність у складі нанокomпозитів Fe₃O₄–ДМСК агрегованих частинок Fe₃O₄. Такі агрегати є помітними навіть у незначних кількостях, оскільки інтенсивність динамічного світлорозсіювання дуже сильно зростає зі збільшенням розміру частинок.

Вимірювання ξ -потенціалу магнетних наночастинок у водному середовищі при рН = 7 свідчать, що частинки мають досить високий

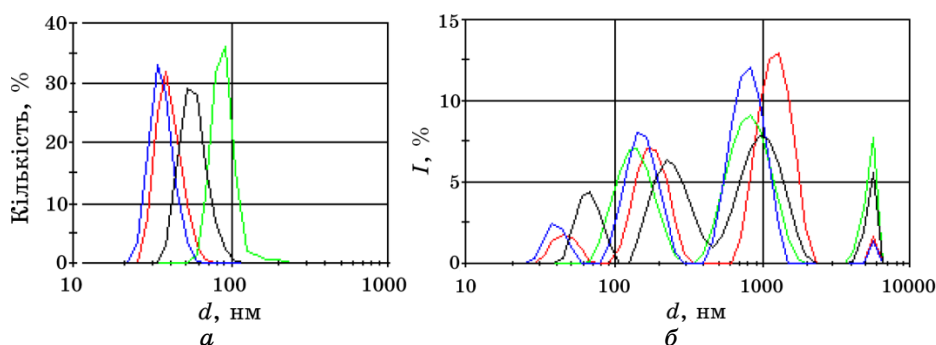


Рис. 2.18. Розподіл частинок Fe₃O₄/ДМСК у воді за розмірами (а) та за інтенсивністю динамічного світлорозсіювання (б).

негативний потенціал. Це сприяє електростатичному відштовхуванню, яке перешкоджає агрегації частинок у воді. При зростанні рН ξ -потенціал зменшується за рахунок підвищення ступеню іонізації COOH- і SH-функціональних груп [59].

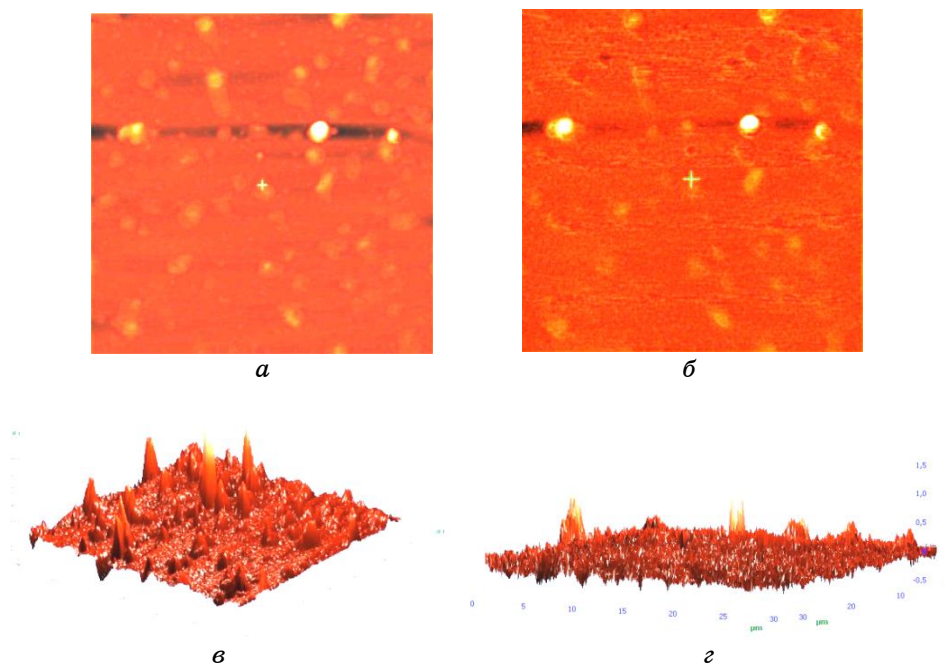


Рис. 2.19. Атомно-силові (*a, в*) і магнето-силові (*б, г*) зображення масивів наноконкомпозитів Fe₃O₄/ДМСК (*a–г*) в форматах 2*d* (*a, б*) і 3*d* (*в, г*).

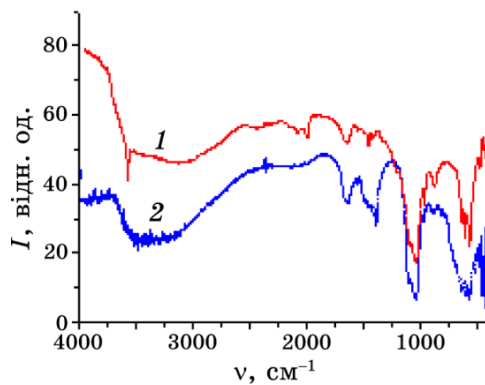


Рис. 2.20. ІЧ-Фур'є-спектри гідроксоапатиту (*1*) і наноконкомпозиту магнетит/гідроксоапатит (*2*).

Зразки наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ досліджували методами силової атомної та силової магнетної мікроскопії (рис. 2.19). За результатами досліджень можна стверджувати, що у досліджених зразках містяться як наночастинки розмірами $\cong 8$ нм, так і агрегати (до 100 нм). Зображення наноконкомпозитів, одержаних за атомно-силовим та магнето-силовим методами, свідчить про незначну товщину і досить рівномірний розподіл ДМСК навколо частинок магнетиту.

Розроблена методика синтезу наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ може бути використана для одержання медико-біологічних наноконкомпозитів з іммобілізованими сенсорними молекулами та біоактивними сполуками, яким притаманні функції розпізнавання мікробіологічних об'єктів.

2.4.4. Модифікування поверхні магнетиту гідроксопатитом

З метою надання магнеточутливим носіям високої біосумісності розроблена методика синтезу наноконкомпозитів на основі нанокристалічного магнетиту і гідроксопатиту (ГА). Вихідний магнетит синтезували рідиннофазним способом. Синтез гідроксопатиту на поверхні магнетиту здійснювали за двома способами.

В основі синтезу покриття з гідроксопатиту з використанням нітрату кальцію [62, 63] покладено реакцію:



Одержані зразки досліджені методами ІЧ-Фур'є-спектроскопії, рентгеноструктурного аналізу і рентгенівської фотоелектронної спектроскопії, вивчені їх склад і структура.

ІЧ-Фур'є-спектри гідроксопатиту і наноконкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ наведено на рис. 2.20.

З порівняння одержаних ІЧ-Фур'є-спектрів з даними літератури [64–67] можна зробити висновки, що смуга поглинання в спектрі вихідного гідроксопатиту (рис. 2.20, ГА) в області 3569 см^{-1} належить валентним коливанням ОН-груп, координованих катіоном. Валентним коливанням ОН-груп також відповідає широка смуга в області $3700\text{--}2800 \text{ см}^{-1}$, що свідчить про наявність водневих зв'язків. СП 1645 см^{-1} характеризує деформаційні коливання молекул води, адсорбованої на поверхні гідроксопатиту.

Про наявність валентних коливань груп CO_3^{2-} в структурі гідроксопатиту свідчить СП 1455 см^{-1} . Смуга поглинання в області 1095 см^{-1} належить коливанням груп PO_4^{3-} і HPO_4^{2-} структури гідроксопатиту. СП в області $800\text{--}400 \text{ см}^{-1}$ зумовлені деформаційними коливаннями тетраедрів PO_4^{3-} .

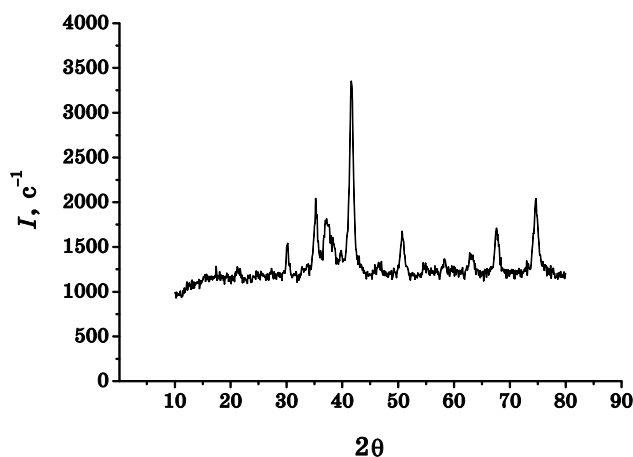


Рис. 2.21. Дифрактограма нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$.

Широка смуга поглинання в області 3500 см^{-1} (рис. 2.20, М + ГА) відповідає валентним коливанням ОН-груп поверхні нанокompозиту. Широка СП в області 1380 см^{-1} , яка відсутня у спектрі магнетиту, відповідає валентним коливанням зв'язків Р–О. СП 1645 см^{-1} характеризує деформаційні коливання молекул води, адсорбованих на поверхні нанокompозиту. СП при 1460 см^{-1} належить деформаційним коливанням ОН-груп, а також вказує на наявність в структурі зразка груп CO_3^{2-} . СП в області $1095\text{--}1100\text{ см}^{-1}$ належить коливанням груп PO_4^{3-} і HPO_4^{2-} структури гідроксоапатиту. СП в області $800\text{--}500\text{ см}^{-1}$ належать деформаційним коливанням Fe–ОН-груп магнетиту. При термообробці відбувається руйнування водневих зв'язків і видалення фізично адсорбованої води, однак, завдяки високій термічній стійкості зв'язку ОН-груп з катіоном в ГА, інтенсивність СП, зв'язаних з цією групою, не знижується.

За даними рентгенівської дифракції (рис. 2.21) зразки містили магнетит (найбільш інтенсивні рефлекси на дифрактограмах) і гідроксоапатит (рефлекси при кутах $2\theta = 30,2, 33,7, 37,1, 37,6, 38,4, 39,8, 46,6, 54,8^\circ$). Середній розмір кристалітів магнетиту та гідроксоапатиту розраховували згідно рефлексів (311) та (002), відповідно, з використанням формули Шеррера.

Встановлено, що фаза гідроксоапатиту характеризується співвідношенням $\text{Ca}/\text{P} = 1,67$; це відповідає стехіометрії реакції його утворення. Товщина шару гідроксоапатиту на поверхні наночастинок магнетиту, визначена по співвідношенню площ $\text{Fe}2p\text{-}/\text{Fe}3p\text{-}$ ліній, дорівнює $\cong 4\text{ нм}$ (оцінено по приросту маси нанокompозиту, яка склала $\cong 30\%$).

Хімічний склад і середній розмір кристалітів досліджуваних фаз приведені в табл. 2.3.

Визначено, що для нанокompозиту магнетит/гідроксоапатит/срібло ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{Ag}$) $S_{\text{пит.}} = 104 \text{ м}^2/\text{г}$. Наявність срібла на поверхні підтверджена рентгенофазовим аналізом (рентгенівський дифрактометр ДРОН-УМ 1 з використанням фокусування Рентгенових променів за Бреґгом–Брентано, CoK_α -випромінювання анода, $\lambda = 0,179021 \text{ нм}$, Fe-фільтр, у відбитих променях). Обчислений за формулою Шеррера середній розмір наночастинок Ag складав $\approx 10 \text{ нм}$.

У складі магнеточутливих нанокompозитів наночастинок благородних металів (як уже зазначалось у 2.1) можуть виконувати функції сенсорів (оптичні мітки), терапевтичних агентів (термальна та фотодинамічна терапія), спейсерних ділянок для зв'язування моноклональних антитіл тощо [70].

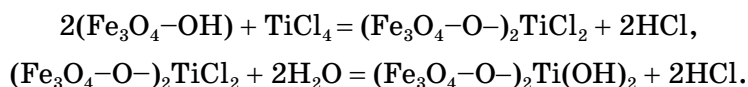
2.4.5. Нанокompозити $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{--TiO}_2$

Синтез нанокompозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{--TiO}_2$ здійснювали методом рідинно-фазного молекулярного нашарування [82]. Ідея методу полягає в послідовному нарощуванні моношарів заданого хімічного складу на поверхні твердого носія.

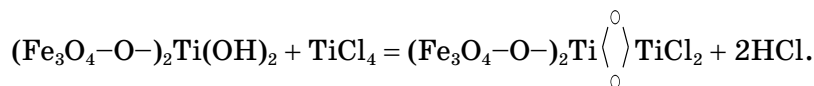
Наважку високодисперсного магнетиту, попередньо висушеного при 120°C до постійної маси, обробляли ультразвуком і розміщували в скляному реакторі з мішалкою і оберненим холодильником. Додавали CCl_4 і перемішували до утворення стійкої суспензії. Потім додавали трикратний надлишок TiCl_4 . Кількість TiCl_4 розраховували виходячи з того, що поверхня синтезованого магнетиту містить $0,0017 \text{ моль/г}$ OH-груп, а густина $\rho(\text{TiCl}_4) = 1,73 \text{ г/см}^3$. Концентрацію OH-груп розраховували за даними диференціального термогравіметричного аналізу.

Синтез проводили протягом 4 годин при температурі кипіння CCl_4 . Суміш після охолодження фільтрували і промивали CCl_4 до негативної реакції на Ti^{4+} -іони (по пероксиду водню). Оскільки TiCl_4 легко гідролізує на повітрі, перетворюючись в TiO_2 , зразки залишали в ексікаторі в атмосфері насиченої водяної пари на кілька годин, для впевненості, що в щепленому шарі всі Cl-іони заміщені на OH-групи.

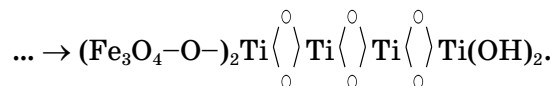
Реакції на поверхні відбувались за схемою:



Для нанесення другого шару зразок спочатку висушували при 120°C для видалення адсорбованої води, а потім повторно обробляли TiCl_4 за методикою, описаною вище:



Послідовно наносили чотири шари. Аналіз результатів досліджень свідчив, що кінцевий продукт синтезу має наступну структуру:



Синтезовано чотири типових серії зразків модифікованого Fe_3O_4 з кількістю моношарів від одного до чотирьох.

Наявність на поверхні наночастинок Fe_3O_4 діоксиду титану підтверджено спектрометричними і рентгенографічними дослідженнями продуктів молекулярного нашарування.

В 1–3 шарах на поверхні Fe_3O_4 відбувалося формування аморфної структури. Формування кристалічної фази анатазу спостерігалось при наявності не менше, аніж 4-х шарів.

Отже, при поступовому нарощуванні діоксиду титану на поверхні магнетиту, структура, властива анатазу, утворюється, певно, лише тоді, коли на поверхні магнетиту з'являється 4 атоми титану, чого достатньо для створення елементарної комірки TiO_2 . Для цього потрібно чотири цикли молекулярного нашарування, які забезпечують в масштабі постійної ґратниці TiO_2 відповідну координацію 4-х атомів титану.

Застосування термічного відпалювання зразків призводило до кристалізації анатазу вже при нанесенні першого шару покриття.

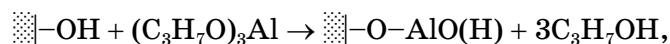
Встановлено, що модифікування поверхні частинок Fe_3O_4 шаром SiO_2 і TiO_2 сприяє підвищенню термостабільності наноконкомпозитів (по відношенню до властивостей магнетиту).

2.4.6. Рідиннофазне модифікування поверхні магнетиту ізопропілатом алюмінію

З метою створення магнетокерованого наноконкомпозиту, поверхня якого вкрита моношаром гідроксиду алюмінію, розроблено методику хімічного модифікування поверхні наночастинок Fe_3O_4 ізопропілатом алюмінію рідиннофазним методом у ізопропіловому спирті [83].

Попередньо ізопропілат алюмінію висушували перегонкою при $T = 138^\circ\text{C}$ і $p = 11$ Торр.

В результаті синтезу утворюється моношар гідроксиду алюмінію за схемою:



а поверхня набуває амфотерного характеру за рахунок Al-O(H)-груп.

Методами ІЧ-Фур'є-спектроскопії, рентгенофазового аналізу та рентгенівської фотоелектронної спектроскопії вивчено функціональний склад модифікованої поверхні та її структуру.

Встановлено, що в результаті синтезу на поверхні нанорозмірних частинок магнетиту утворюється фаза гідроксиду алюмінію. Після відпалювання зразку при 460°C кристалічний магнетит частково перетворюється у α -Fe₂O₃, з'являється фаза Al₂O₃.

Незважаючи на зменшення намагнетованості насичення у відпаленому зразку, магнетний момент в наноконкомпозитах зберігається. Це свідчить те, що перехід Fe₃O₄ в α -Fe₂O₃ відбувається не повністю (підтверджено даними рентгенофазового аналізу та рентгенівської фотоелектронної спектроскопії).

Синтезовані наноконкомпозити можуть бути використані при створенні магнетокерованих лікувальних засобів шлунково-кишкової терапії та сорбентів.

2.5. Біофункціоналізація магнетокерованих наноконкомпозитів

2.5.1. Імобілізація нормального імуноглобуліну людини на поверхні наноконкомпозитів Fe₃O₄/ПАА і Fe₃O₄/γ-АПС

Одним з найважливіших етапів створення поліфункціонального наноконкомпозиту є імобілізація на його поверхні біологічно активних молекул, зокрема, імуноглобулінів [63]. Така функціоналізація поверхні сприяє доставці лікарського препарату виключно в цільові клітини організму. Отже важливою частиною досліджень є моделювання умов та вивчення механізму імобілізації антитіл на поверхні магнеточутливого носія.

В результаті досліджень розроблено методики імобілізації сенсорних молекул на поверхнях наноконкомпозитів як органічної, так і неорганічної природи на прикладі нормального імуноглобуліну людини [71]. Зокрема, проведена імобілізація нормального імуноглобуліну людини на поверхні, функціоналізованій аміногрупами.

Безпосередньо перед посадкою на поверхню, нормальний імуноглобулін людини з концентрацією $C = 100$ мг/г очищали діалізом проти 2 л 0,02 моль/л ацетатного буфера на фізіологічному розчині протягом доби [4]. З очищеного Ig виготовляли серію розчинів для побудови калібрувального графіку. Здійснювали вимірювання оптичної густини (D) та спектрів поглинання Ig на Spectrometer Lambda 35 UV/vis Perkin Elmer Instruments при $\lambda = 280$ нм (рис. 2.22, калібрувальний графік на рис 2.23).

Проведено два типи імобілізації антитіл — методом фізичної адсорбції і ковалентного зв'язування.

Наважки наноконкомпозитів Fe₃O₄/ПАА і Fe₃O₄/γ-АПС по 100 мг заливали розчинами нормального Ig людини (після діалізу) різної

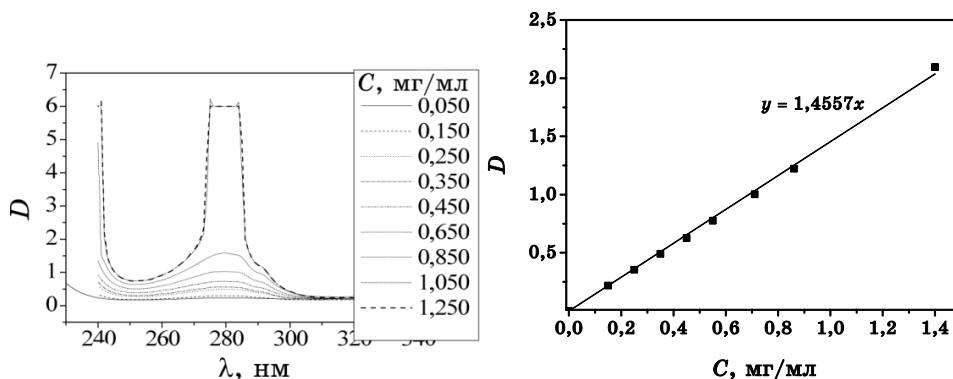
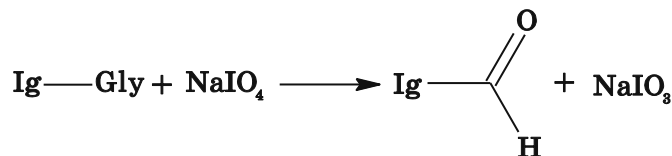


Рис. 2.22. Спектри поглинання нор- **Рис. 2.23.** Калібрувальний графік мального Ig людини в середовищі (нормальний Ig людини у середовищі фізіологічного розчину).

концентрації.

Адсорбцію Ig проводили у фізіологічному середовищі протягом 2 годин в динамічному режимі за кімнатної температури. Кількість адсорбованої речовини на поверхні наноконкомпозитів визначали вимірюванням концентрації Ig контактних розчинів до і після адсорбції. Концентрацію вимірювали спектрофотометрично, при $\lambda = 280$ нм по калібрувальному графіку.

Хімічна іммобілізація антитіл на поверхні наноконкомпозитів може бути здійснена шляхом ковалентної взаємодії реакційноздатних аміногруп з альдегідними функціональними групами окисненого імуноглобуліну [71]. Окиснення очищеного нормального Ig людини проводили 0,1 моль/л NaIO_4 в ацетатному буфері (рН 5,0) по реакції:



Окиснений Ig очищали діалізом проти 2 л 0,02 моль/л ацетатного буфера (рН 5,0). Розчин окиснених антитіл після діалізу був доведений до рН 8–9 0,06 моль/л карбонатно-гідрокарбонатним буфером на фізіологічному розчині (рН 9,5).

Для побудови калібрувального графіку виготовляли серію еталонних розчинів окисненого Ig. Проведено вимірювання оптичної густини (D) при $\lambda = 280$ нм і спектрів поглинання Ig. Спектри поглинання приведені на рис. 2.24, калібрувальний графік — на рис. 2.25.

Оскільки аміногрупи на поверхні $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ не є реакційноздатними внаслідок стеричних перешкод, проведена додаткова їх активація етилендіаміном по реакції:

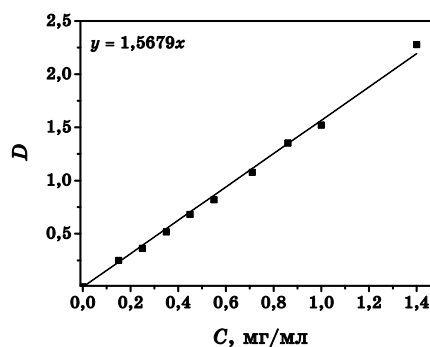
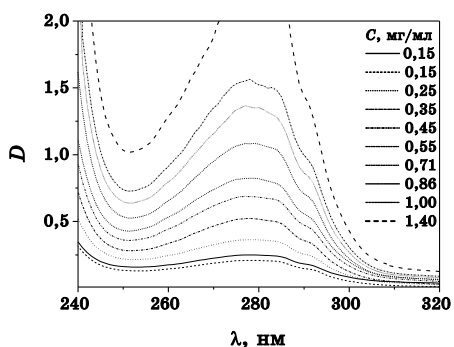
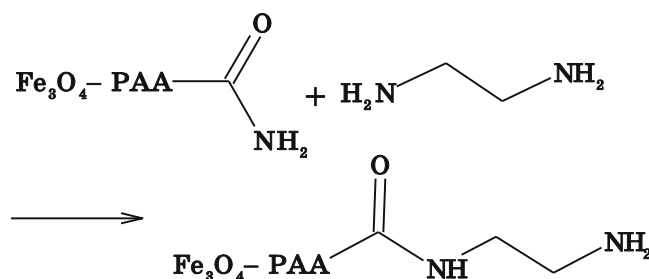
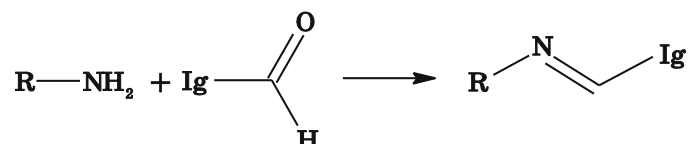


Рис. 2.24. Спектри поглинання окисненого Ig людини в середовищі карбонатного буферу на основі фізіологічного розчину. **Рис. 2.25.** Калібрувальний графік (нормальний Ig людини, окиснений 0,1 моль/л NaIO_4 у 0,02 моль/л ацетатному буфері, pH 5,0).



Ковалентне зв'язування Ig на нанокompозитах $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПAA}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$ проводили в 0,06 моль/л карбонатному буфері (pH 9,0) на фізіологічному розчині протягом 2 годин в динамічному режимі за кімнатної температури. Ковалентне зв'язування Ig з поверхнею відбувалося по реакції:



Кількість іммобілізованих антитіл на поверхні нанокompозитів визначали вимірюванням концентрації Ig контактних розчинів до і після адсорбції. Концентрацію вимірювали методом спектрофотометрії УФ-поглинання при $\lambda = 280$ нм по калібрувальному графіку.

Одержані ізотерми неспецифічної адсорбції (табл. 2.4, 2.5, рис. 2.26) та ковалентного приєднання Ig (табл. 2.6, 2.7, рис. 2.27) для вказаних нанокompозитів не мають виходу на насичення.

Ковалентне приєднання антитіл до амінофункціоналізованих нанокompозитів виконували наступним чином. Групи амінів, роз-

ТАБЛИЦЯ 2.4. Ізотерма неспецифічної адсорбції нормального Ig людини на поверхні нанокompозиту Fe₃O₄/ПАА.

| C_0 , мг/мл | $D(280 \text{ нм})$ | $A_{\text{физ}}$, мг/г |
|---------------|---------------------|-------------------------|
| 0,35 | 0,485 | 0,84 |
| 0,45 | 0,629 | 0,90 |
| 0,55 | 0,776 | 0,85 |
| 0,71 | 0,966 | 2,32 |
| 0,86 | 1,153 | 3,40 |
| 1,40 | 1,762 | 9,48 |

ТАБЛИЦЯ 2.5. Ізотерма неспецифічної адсорбції нормального Ig людини на поверхні нанокompозиту Fe₃O₄/γ-АПС.

| C_0 , мг/мл | $D(280 \text{ нм})$ | $A_{\text{физ}}$, мг/г |
|---------------|---------------------|-------------------------|
| 0,15 | 0,249 | 0,00 |
| 0,25 | 0,305 | 0,00 |
| 0,45 | 0,607 | 0,64 |
| 0,55 | 0,745 | 0,66 |
| 0,71 | 0,964 | 0,80 |
| 0,86 | 1,178 | 0,568 |
| 1,00 | 1,361 | 0,97 |
| 1,40 | 1,911 | 1,18 |

ташовані на поверхні нанокompозитів, реагували з альдегідними функціональними групами, утвореними на молекулах Ig шляхом періодатного окиснення карбогідратних залишків Ig. При цьому утворювалися основи Шиффа (іміни). Ковалентне приєднання антитілу по цьому методу до поверхні носіїв має перевагу перед іншими методами іммобілізації і полягає в орієнтованому закріпленні молекул антитіла, а саме, Fc-фрагментом до поверхні, тоді як Fab-фрагмент залишається незмінним і орієнтованим назовні.

Обчислені коефіцієнти розподілу (E) і кількості Ig, іммобілізованого на поверхні нанокompозитів при максимальній концентрації його початкового розчину $C = 1,4$ мг/г, зведено в табл. 2.8. У разі ковалентного приєднання коефіцієнти розподілу перевищують більш ніж на порядок відповідні коефіцієнти розподілу для неспецифічної адсорбції, показуючи зміщення рівноваги у бік іммобілізації речовини на поверхні.

При ковалентному приєднанні імуноглобуліну на поверхні нанокompозитів значна його частина (64–80%) залишається в розчині, оскільки реакція утворення основ Шиффа проходить як в прямому, так і у зворотньому напрямі (табл. 2.9, 2.10).

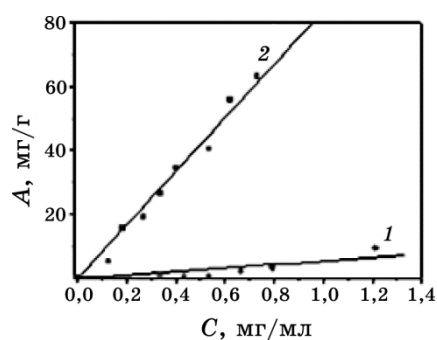


Рис. 2.26. Ізотерми неспецифічної адсорбції нормального Іg людини (1) та ковалентного приєднання окисненого Іg людини (2) $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ -наноконкомпозитів. Неспецифічна адсорбція, $E = 5,40$ мл/г; ковалентне приєднання, $E = 83,53$ мл/г.

ТАБЛИЦЯ 2.6. Ізотерма ковалентного приєднання окисненого Іg людини на поверхні наноконкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$.

| C_0 , мг/мл | $D(280 \text{ нм})$ | A , мг/г |
|---------------|---------------------|------------|
| 0,15 | 0,201 | 5,07 |
| 0,25 | 0,288 | 15,52 |
| 0,35 | 0,420 | 19,14 |
| 0,45 | 0,528 | 26,48 |
| 0,55 | 0,630 | 34,59 |
| 0,71 | 0,841 | 40,57 |
| 0,86 | 0,974 | 55,79 |
| 1,00 | 1,144 | 63,04 |
| 1,40 | 1,416 | 116,00 |

ТАБЛИЦЯ 2.7. Ізотерма ковалентного приєднання окисненого Іg людини на поверхні наноконкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$.

| C_0 , мг/мл | $D(280 \text{ нм})$ | A , мг/г |
|---------------|---------------------|------------|
| 0,15 | 0,282 | 2,42 |
| 0,25 | 0,352 | 6,14 |
| 0,35 | 0,468 | 12,07 |
| 0,45 | 0,594 | 16,67 |
| 0,55 | 0,723 | 20,70 |
| 0,71 | 0,924 | 28,08 |
| 0,86 | 1,025 | 48,19 |
| 1,00 | 1,207 | 53,71 |
| 1,40 | 1,742 | 67,41 |

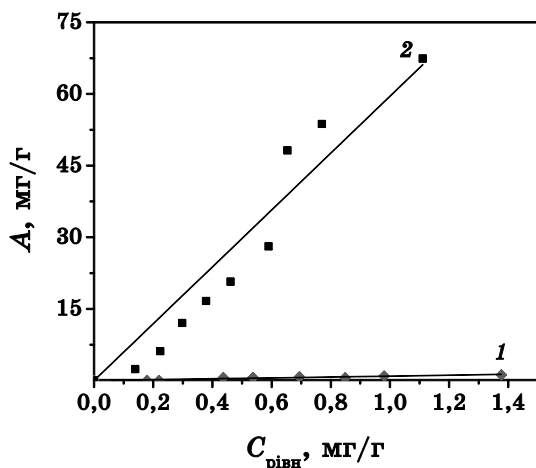


Рис. 2.27. Ізотерми неспецифічної адсорбції нормального Іg людини (1) і ковалентного приєднання окисненого Іg людини (2) на $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$. Неспецифічна адсорбція $E = 0,92$ мл/г; ковалентне приєднання, $E = 59,51$ мл/г.

ТАБЛИЦЯ 2.8. Кількість Іg людини, іммобілізованого на поверхні наноконкомпозитів різної хімічної природи при максимальній концентрації початкового розчину імуноглобуліну $C = 1,4$ мг/г.

| Наноконкомпозит | $A_{\text{фіз}}$, мг/г | $E_{\text{фіз}}$, мл/г | $A_{\text{ков}}$, мг/г | $E_{\text{ков}}$, мл/г |
|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ | 9,48 | 6,1 | 116,00 | 83,53 |
| $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ | 1,18 | 0,92 | 67,41 | 59,51 |

Природа поверхні наноконкомпозиту також впливає на величину як фізичної, так і ковалентної іммобілізації Іg. Кількості іммобілізованого Іg і коефіцієнти розподілу є вищими у разі наноконкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$.

Дослідження десорбції фізично адсорбованого Іg показало, що після промивання наноконкомпозитів в 5 мл фізіологічного розчину практично увесь Іg переходить в розчин упродовж 1–2 хв.

Вивільнення ковалентно іммобілізованого Іg в модельне середовище (фізіологічний розчин) досліджували на зразках $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$. Кінетика вивільнення ковалентно зв'язаного Іg наведена на рис. 2.28 і 2.29. Параметри кінетичних кривих обчислено методом найменших квадратів із застосуванням формули $y(x) = y_0 + Ae^{-x/t}$, де y_0 — кількість зв'язаного Іg, яка не переходить в модельне середовище за даних умов, A — кількість зв'язаного Іg, що вивільняється в модельне середовище, $1/t$ — характеризує швидкість вивільнення Іg і визначає кривизну кінетичної кривої.

ТАБЛИЦЯ 2.9. Параметри обчислених кінетичних кривих вивільнення ковалентно зв'язаного імуноглобуліну людини $y = y_0 A e^{-x/t}$ для наноконкомпозиту Fe₃O₄/ПАА.

| Параметр | $y(0) = 55,8$ мг/г | $y(0) = 40,6$ мг/г | $y(0) = 34,6$ мг/г | $y(0) = 19,1$ мг/г | $y(0) = 15,6$ мг/г |
|----------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| y_0 | $49,77 \pm 3,25$ | $30,40 \pm 1,22$ | $25,94 \pm 0$ | $11,09 \pm 0$ | 0 ± 0 |
| A | $2,76 \pm 5,62$ | $11,35 \pm 0$ | $8,65 \pm 0$ | $8,05 \pm 0$ | $15,52 \pm 0$ |
| t | $0,27 \pm 1,45$ | $1,80 \pm 19,54$ | $2,64 \pm 1,24$ | $4,37 \pm 1,35$ | $6,51 \pm 2,45$ |

ТАБЛИЦЯ 2.10. Параметри обчислених кінетичних кривих вивільнення ковалентно зв'язаного імуноглобуліну людини $y = y_0 + A e^{-x/t}$ для наноконкомпозиту Fe₃O₄/γ-АПС.

| Параметр | $y(0) = 48,2$ мг/г | $y(0) = 28,1$ мг/г | $y(0) = 12,1$ мг/г |
|----------|--------------------|--------------------|--------------------|
| y_0 | $28,69 \pm 3,89$ | $9,13 \pm 0$ | 0 ± 0 |
| A | $17,60 \pm 4,89$ | $18,93 \pm 3,1$ | $12,06 \pm 3,97$ |
| t | $60,15 \pm 5,12$ | $14,93 \pm 8,03$ | $12,18 \pm 17,68$ |

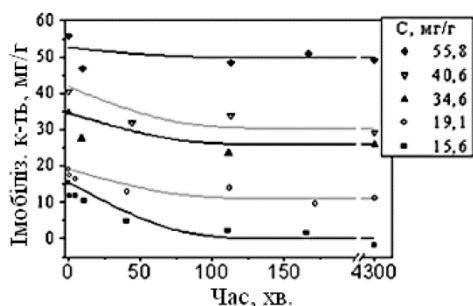
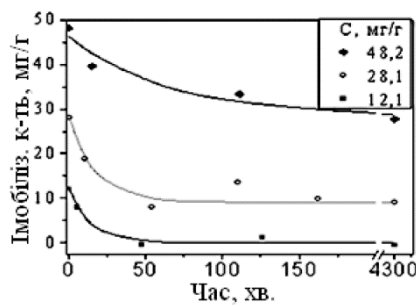


Рис. 2.28. Кінетика десорбції окисненого імуноглобуліну людини з $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПAA}$. **Рис. 2.29.** Кінетика десорбції окисненого імуноглобуліну людини з $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$. Справа вказані початкові адсорбовані кількості окисненого імуноглобуліну людини.



З одержаних кінетичних кривих можна бачити, що відносне вивільнення зменшується із зростанням кількості імуноглобуліну іммобілізованого на обох поверхнях наноконкомпозитів. При кількості іммобілізованого Ig 55,8 мг/г ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПAA}$) і 48,2 мг/г ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$) впродовж перших 10–15 хв десорбується, відповідно, 16–18% імуноглобуліну. При малих кількостях іммобілізованого Ig 15,5 мг/г ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПAA}$) і 12,0 мг/г ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$) вже упродовж перших 5–10 хв десорбується до 30% Ig.

Вивільнення імуноглобуліну, іммобілізованого за допомогою ковалентного зв'язку, проходить повільніше і у меншій мірі, чим у разі неспецифічної іммобілізації.

2.5.2. Іммобілізація малеїмід-активованих імуноглобулінів на поверхні $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$

Проведено біофункціоналізацію антитілами наноконкомпозитів на основі нанодисперсного магнетиту, поверхня якого модифікована *мезо-2,3*-димеркаптосукциновою кислотою. Хімічна іммобілізація антитіл на поверхні наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ була здійснена шляхом взаємодії реакційноздатних сульфогруп носія з малеїмідними функціональними групами, заздалегідь активованого sulfo-SMCC імуноглобуліну [14, 15].

Сульфосукцинімідил-4-(*N*-малеїмідометил)циклогексан-1-карбоксилат (sulfo-SMCC) — реактив для синтезу стабільних малеїмід-активованих глікопротеїнів, що безпосередньо вступають в реакцію з сульфгідрильними групами. При цьому, NHS-ефіри sulfo-SMCC вступають в реакцію з імуноглобулінами, перетворюючи їх на реакційноздатні малеїміди. Ці відносно стабільні малеїмід-активовані інтермедіати можуть бути ліофілізовані та зберігатися

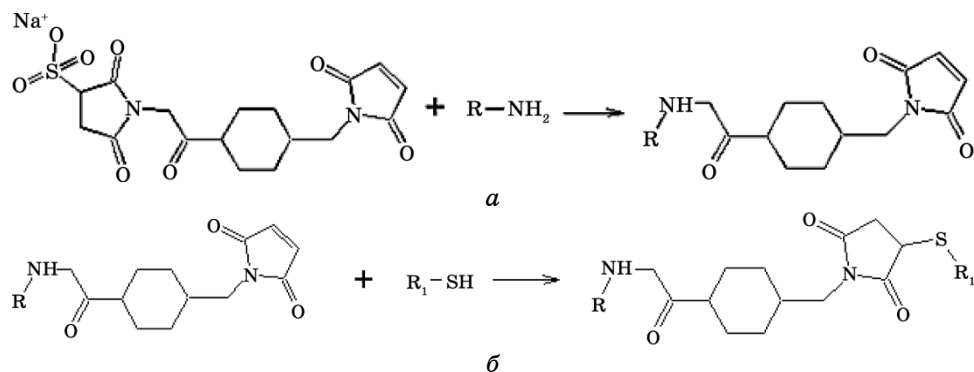


Рис. 2.30. Схема двостадійної реакції зв'язування Ig і носія з реакційноздатними сульфогрупами за допомогою sulfo-SMCC.

для подальшого зв'язування з носієм [72–75].

Sulfo-SMCC — розчинний у воді, стійкий, мембранонепроникний крослінкер. Молекулярна формула $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_9\text{SNa}$, молекулярна маса 436,37, довжина спейсера 0,83 нм (9 атомів) [75]. Він містить аміно-реакційноздатну N-гідроксисукцинімідну групу (NHS-естер) і сульфогідрил-реакційноздатну малеїмідну групу. NHS-естери вступають в реакцію з первинними амінами при pH 7–9 і утворюють стабільні амідні зв'язки. Малеїмід вступає в реакцію з сульфогідрильною групою при pH 6,5–7,5 з утворенням стабільного тіоефірного зв'язку. Малеїмідні групи sulfo-SMCC надзвичайно стабільні до pH 7,5 завдяки циклогексановому містку в спейсерному фрагменті. Наявність гідрофільної сульфонільної групи забезпечує розчинність sulfo-SMCC у воді і інших водних буферах [76].

Sulfo-SMCC використовується для синтезу нанокompatитів типу антитіло-носій. Двостадійна схема синтезу наведена на рис. 2.30.

Спочатку Ig, що містить аміногрупу, реагує з надлишком крослінкера. Після проходження реакції проводиться видалення надлишку реактиву діалізом. При введенні в реакційну суміш сульфогідрилвмісного носія, відбувається зв'язування з малеїмідними групами комплексу антитіло-спейсер і утворення специфічних комплексів носій-антитіло.

Вивчена ізотерма іммобілізації імуноглобуліну людини на поверхні нанокompatиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ за допомогою спейсерних молекул sulfo-SMCC за методикою, вказаною вище. Адсорбція Ig складала 92,15 мг/г при концентрації $C = 1,40$ мг/г. Результати дослідження представлені в табл. 2.11.

Проведено вивчення вивільнення іммобілізованого Ig з поверхні нанокompatитів магнетит/ДМСК в модельне середовище. У якості модельного середовища використовували фізіологічний розчин. Одержані результати показали, що упродовж 24 годин десорбується

ТАБЛИЦЯ 2.11. Ізотерма іммобілізації активованого sulfo-SMCC Ig людини на поверхні нанокompозиту Fe₃O₄/ДМСК.

| <i>C</i> ₀ , мг/мл | <i>D</i> (280 нм) | <i>A</i> , мг/г |
|-------------------------------|-------------------|-----------------|
| 0,25 | 0,37 | 7,92 |
| 0,45 | 0,62 | 20,43 |
| 0,86 | 1,45 | 67,32 |
| 1,40 | 1,87 | 92,15 |

8–12% імуноглобуліну. Вивільнення Ig, іммобілізованого за допомогою спейсера sulfo-SMCC, протікає повільніше і у меншій мірі, чим у разі неспецифічної іммобілізації на інших полімерних поверхнях.

2.5.3. Іммобілізація імуноглобуліну на поверхні нанокompозиту магнетит/гідроксоапатит

Створення на поверхні модифікованих магнеточутливих носіїв ділянок зі спейсерами для зв'язування моноклональних антитіл є одним з вирішальних етапів синтезу біофункціоналізованих нанокompозитів, в тому числі, з функціями нанороботів [62]. Такими ділянками зі спейсерними властивостями можуть бути наночастинки благородних металів. Використання срібла і золота в сучасних технологіях виготовлення лікарських форм [70] обумовлює доцільність їх вибору в наших дослідженнях. При одержанні нанокompозитів срібло в нанорозмірному стані наносять на поверхню носія, що мінімізує його витрати.

В [77] вивчено взаємодію іонів Ag⁺ і атомів срібла з дендримерами поліамідоамінів, що широко використовуються в біології і медицині. Визначено константи стійкості продуктів, стехіометричні співвідношення, коефіцієнт дифузії комплексів і міру адсорбції Ag⁺ на дендримери. Вивчена взаємодія Ag⁺ з альбуміном людини, доведено утворення зв'язків Ag–S і Ag–N. Наведені дані підтверджують можливість використання срібла у якості спейсера для міцного закріплення протеїнів на поверхні магнетокерованого носія неорганічної або органічної природи.

Метою досліджень, що розглянуті нижче, було вивчення процесів адсорбція/десорбція імуноглобуліну, як моделі антитіла, на поверхні нанокompозитів Fe₃O₄/ГА і Fe₃O₄/ГА/Ag для використання їх при цілеспрямованому створенні багатофункціональних біосумісних нанокompозитів медико-біологічного призначення.

Нормальний імуноглобулін людини очищали діалізом проти 0,02 моль/л ацетатного буфера на фізіологічному розчині. Адсорбцію Ig проводили в заданому середовищі впродовж 2 годин в динамічному

режимі за кімнатної температури. Кількість адсорбованої речовини на поверхні нанокompatитів визначали вимірюванням концентрації Ig в контактних розчинах до і після адсорбції. Вимірювання оптичної густини і спектрів поглинання Ig (у фосфатному буфері (рН = 7,0) і фізіологічному розчині) здійснювали на приладі Spectrometer Lambda 35 UV/vis Perkin Elmer Instruments при $\lambda = 280$ нм.

Вивільнення Ig в модельне середовище (фізіологічний розчин) досліджували на зразках $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{Ag}$, що містять імуноглобулін, іммобілізований з різних буферних систем (фосфатний буфер, фізіологічний розчин). Відповідні концентрації десорбованої речовини ($C_{\text{дес}}$) розраховували по графіках ізотерм десорбції.

Адсорбція протеїнів на гідроксоапатиті включає як аніонний, так і катіонний обмін. Активні центри Ca^{2+} взаємодіють з карбоксильними функціональними групами Ig, тоді як PO_4^{2-} -центри взаємодіють з основними ділянками молекули. Визначено, що форма одержаних ізотерм адсорбції імуноглобуліну є відмінною для різних буферних систем (рис. 2.31, 2.32). Так, ізотерми адсорбції Ig в середовищі фосфатного буфера (рис. 2.31) мають специфічну форму внаслідок виникнення конкуренції адсорбтива і фосфат-іонів розчинника за адсорбційні центри адсорбенту.

Згідно з літературними даними [78], така форма кривої властива системам, в яких взаємодія між адсорбованими молекулами є сильнішою, ніж взаємодія між розчиненими сполуками і адсорбентом. Імуноглобуліни зазвичай адсорбуються при низьких концентраціях (10–20 мМ) на поверхні носія з фосфатного буфера, хоча деякі кислі протеїни адсорбуються лише у водному середовищі, розчинах солей або нефосфатних буферах.

Коефіцієнт розподілу E імуноглобуліну між поверхнею нанокompatитів

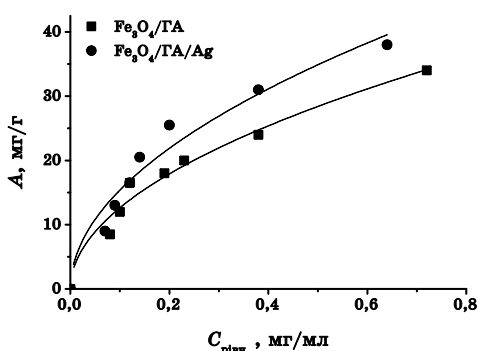
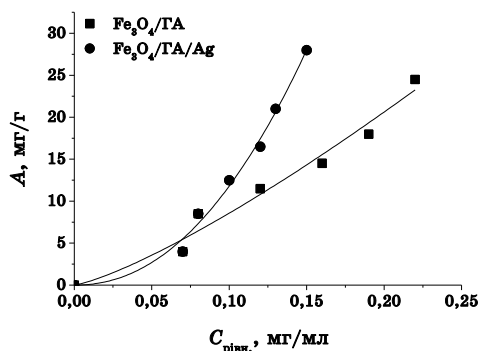


Рис. 2.31. Ізотерми адсорбції нормального Ig людини на поверхні нанокompatитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{Ag}$ з фосфатного буфера.

Рис. 2.32. Ізотерми адсорбції нормального Ig людини на поверхні нанокompatитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{Ag}$ з фізіологічного розчину.

ТАБЛИЦЯ 2.12. Величини адсорбції Ig людини і коефіцієнти розподілу наноконкомпозитів з різною хімічною природою поверхні.

| Наноконкомпозит | <i>A</i> , мг/г, фіз. розчин | <i>E</i> , мл/г, фіз. розчин |
|--|------------------------------|------------------------------|
| Fe ₃ O ₄ /ГА | 34,0 | 47,2 |
| Fe ₃ O ₄ /ГА /Ag | 38,0 | 59,4 |
| Fe ₃ O ₄ /ПАА | 9,48 | 6,1 |
| Fe ₃ O ₄ /γ-АПС | 1,18 | 0,92 |

зиту і розчином складає 111,36 мл/г для Fe₃O₄/ГА, а для Fe₃O₄/ГА/Ag — 186,67 мл/г. При адсорбції з фізіологічного розчину для Fe₃O₄/ГА *E* = 47, 2 мл/г, для Fe₃O₄/ГА/Ag *E* = 59,4 мл/г. Адсорбція Ig на поверхні наноконкомпозиту з наночастинками срібла перевищує адсорбцію на поверхні магнетит/ГА в двох буферних системах. Це є свідченням того, що наночастинки срібла на поверхні композиту виступають в ролі додаткових адсорбційних центрів.

Хімічна природа поверхні наноконкомпозиту також впливає на адсорбцію Ig. Про це свідчать результати досліджень ізотерм адсорбції Ig (табл. 2.12) наноконкомпозитами з активними –NH₂-групами поверхні: магнетит/поліакриламід (Fe₃O₄/ПАА) і магнетит/γ-амінопропілсілоксан (Fe₃O₄/γ-АПС) [3, 4, 14].

Згідно з даними [79, 80], підвищення кількості біомолекул в розчині до рівня, що перевищує їх кількість в адсорбованому моношарі, сприяє впорядкуванню біомолекул і утворенню щільної упаковки. У випадку антитіл їх орієнтація є, переважно, перпендикулярною до поверхні.

Враховуючи високу адсорбцію (*A* = 34–38 мг/г) імуноглобуліну в порівнянні з адсорбцією на поверхнях наноконкомпозитів, функціоналізованих аміногрупами (*A* = 1,18–9,48 мг/г), можна припустити утворення компактної упаковки адсорбованих антитіл на поверхні наноконкомпозитів, модифікованих ГА і сріблом.

Кінетику десорбції іммобілізованого Ig в модельне середовище (фізіологічний розчин) досліджували на зразках Fe₃O₄/ГА і Fe₃O₄/ГА/Ag (рис. 2.33, 2.34). Одержані кінетичні криві свідчать про зниження десорбції Ig із зростанням кількості імуноглобуліну, іммобілізованого на двох поверхнях наноконкомпозитів у фосфатному буфері. При низькій кількості адсорбованого імуноглобуліну в перші 10–15 хвилин десорбується його до 50% імуноглобуліну, тоді як при вищій адсорбції протягом того ж часу десорбується близько 10–20%. Кінетика десорбції імуноглобуліну з поверхні Fe₃O₄/ГА/Ag наведена нижче.

Вивільнення імуноглобуліну, іммобілізованого з фізіологічного розчину, при великих концентраціях (*A* = 17–38 мг/г) не відбувається. Відомо [80], що великі біомолекули, у тому числі антитіла, не десорбуються при розведенні тим самим буфером, в якому відбувалася адсорбція, природа адсорбенту також істотно впливає на

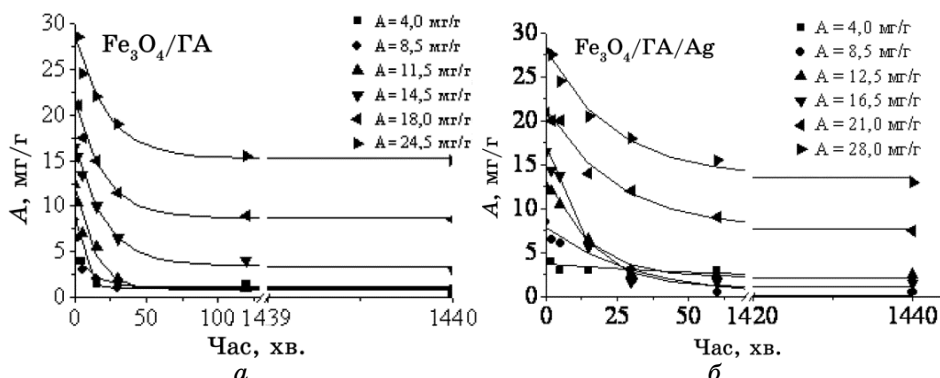


Рис. 2.33. Кінетика десорбції імуноглобуліну людини з поверхні наноконкомпозитів: *a* — $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, *б* — $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{Аg}$. На вставках наведена початкова адсорбція імуноглобуліну з фосфатного буфера.

здатність адсорбованих біомолекул до десорбції. Така тенденція характерна також для досліджених поверхонь.

Таким чином, вивчено процеси іммобілізації імуноглобуліну людини на поверхні наноконкомпозитів магнетит/гідроксоапатит і магнетит/гідроксоапатит/срібло у фосфатному буфері і фізіологічному розчині. Експериментальна залежність адсорбції від концентрації адсорбенту свідчить про особливості механізму адсорбції в цих буферних системах, а саме, вірогідну конкуренцію молекул імуноглобуліну і фосфат-іонів на активних центрах адсорбенту у фосфатному буфері. Встановлено, що наночастинки срібла є додатковими адсорбційними центрами адсорбенту. Антитіла, іммобілізовані на поверхні наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{Аg}$, характеризуються слабкою десорбцією в модельному середовищі, більш інтенсивне вивільнення імуноглобуліну, іммобілізованого з фізіологічного розчину, відбувається при низьких рівнях адсорбції.

Важливими напрямками застосування біофункціоналізованих імуноглобулінами магнетних наноматеріалів є видалення збудників інфекційних захворювань з крові та інших біологічних рідин, діагностика захворювань (контрастування і візуалізація), розпізнавання мікробіологічних об'єктів (за допомогою специфічних антитіл) і терапія на клітинному рівні.

2.5.4. Іммобілізація моноклональних антитіл CD 95 на поверхні наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$

Наступним завданням досліджень було відпрацювання методики створення наноконкомпозитів з імунотерапевтичними властивостями

(містять моноклональні антитіла) та функціями розпізнавання специфічних клітин.

Як відомо, тканина пухлини характеризується цілим рядом особливостей, які відрізняють її від нормальної тканини, починаючи від порушень мікроциркуляції і закінчуючи експресією антигенних детермінант і рецепторів. Саме комплексне вивчення останніх заклало основу до розробки методів, так званої «таргетної терапії», використовуючи специфічні клітини у якості мішені. У таких випадках ліганди, здатні специфічно зв'язуватися з вказаними рецепторами, ковалентно або нековалентно приєднуються до наночастинок — носіїв протипухлинного препарату. Це дозволяє не лише підвищити концентрацію препарату біля клітини-мішені, але і зменшити його токсичну дію на організм.

Вивчалася неспецифічна (фізична) адсорбція і ковалентне приєднання моноклональних антитіл на наноконкомпозитах з модифікованою поверхнею: $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$. У якості сенсорних молекул використовувалося моноклональне мишаче антитіло CD 95 [3, 4, 14].

Були виготовлені 4 типи зразків, для яких наважки дорівнювали 0,03 г, об'єми розчинів CD 95 і CD 95 окисненого на один зразок склали 1,0 і 1,7 мл відповідно:

1. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС} + \text{CD 95}$;
2. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА} + \text{CD 95}$;
3. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС} + \text{CD 95}_{\text{окисн}}$;
4. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА} + \text{CD 95}_{\text{окисн}}$.

Адсорбцію (фізичну) моноклональних антитіл CD 95 ($C = 20$ мкг/мл) на наноконкомпозитах $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ (зразки 1 і 2, відповідно) проводили у фізіологічному розчині (1 мл) протягом 2 годин в динамічному режимі за кімнатної температури.

Імобілізацію моноклональних антитіл CD 95 здійснювали ковалентним приєднанням окиснених антитіл до амінофункціоналізованих наноконкомпозитів. Аміни реагують з альдегідними групами, утвореними в молекулах антитіл шляхом періодатного окиснення їх карбогідратних залишків з утворенням основ Шиффа. Ковалентне приєднання антитіл цим методом до поверхні носіїв має перевагу в порівнянні з іншими методами і полягає в орієнтованому закріпленні молекули антитіла на поверхні. Результати ковалентного приєднання моноклонального антитіла CD 95 представлено в табл. 2.13.

Окиснення моноклональних антитіл CD 95 проводили 0,1 М NaIO_4 в ацетатному буфері (рН 5,0). Окиснений CD 95 очищали діалізом проти 0,02 М ацетатного буфера (рН 5,0). Розчин окиснених антитіл після діалізу був доведений до рН 8–9 0,06 М карбонатно-

ТАБЛИЦЯ 2.13. Імобілізація моноклональних антитіл CD 95 на поверхні магнеточутливих наноконкомпозитів Fe₃O₄/γ-АПС і Fe₃O₄/ПАА.

| Наноконкомпозит | C ₀ , мкг/мл | D | C _{рівн.} , мкг/мл | A, мкг/г |
|---|-------------------------|------|-----------------------------|----------|
| Fe ₃ O ₄ /γ-АПС + CD 95 | 20,00 | 0,73 | 19,96 | 1,2 |
| Fe ₃ O ₄ /ПАА + CD 95 | 20,00 | 0,72 | 19,93 | 2,3 |
| Fe ₃ O ₄ /γ-АПС + CD 95 _{окисн.} | 3,88 | 0,44 | 1,45 | 137,7 |
| Fe ₃ O ₄ /ПАА + CD 95 _{окисн.} | 3,88 | 0,42 | 1,00 | 163,2 |

Примітка: C₀ — початкова концентрація антитіл; D — оптична густина; C_{рівн.} — рівноважна концентрація антитіл при адсорбції; A — адсорбція CD 95 на поверхні наноконкомпозитів.

гідрокарбонатним буфером на фізіологічному розчині (рН 9,5). Початкова концентрація моноклональних антитіл CD 95 після діалізу складала 13 мкг/мл.

Ковалентне зв'язування моноклонального антитіла CD 95 на наноконкомпозитах Fe₃O₄/γ-АПС і Fe₃O₄/ПАА, активованого етилендіаміном (зразки 3, 4), проводили в 0,06 М карбонатному буфері (рН 9,0) на фізіологічному розчині протягом 2 годин в динамічному режимі за кімнатної температури. Надосадовий розчин відділяли в полі постійного магнету і вимірювали концентрацію глікопротеїну на комбінованому ридері для мікропланшети Synergy HT, Model SIAFRTD, Serial Number 202993 (Bio Tek).

Кількісне визначення вмісту антитіла в пробах було проведено за методом Бредфорда [81]. У його основу покладено зсув спектру поглинання барвника Кумасі (Coomassie Blue) G-250 на довжині хвилі 595 нм при освітлюванні ним комплексу з білком. Концентрацію CD 95_{окисн.} визначали за калібрувальним графікам і розраховували адсорбцію моноклональних антитіл на поверхні досліджуваних наноконкомпозитів.

Окиснення моноклональних антитіл CD 95 проводили згідно описаної вище методики (2.5.1).

Початкова концентрація моноклональних антитіл CD 95 після діалізу складала 13 мкг/см³. Ковалентне зв'язування моноклональних антитіл CD 95 (V = 1,7 мл із C = 3,88 мкг/мл) на поверхні наноконкомпозитів Fe₃O₄/γ-АПС і Fe₃O₄/ПАА (наважки по 0,03 г), здійснювали протягом 1,5 годин в динамічному режимі за кімнатної температури. Одержані зразки відокремлювали в полі постійного магнету.

Одержані результати вказують на істотні переваги ковалентного приєднання антитіл порівняно з неспецифічною адсорбцією: збільшується термодинамічна стійкість шару іммобілізованого за рахунок утворення ковалентного зв'язку і кінетична стійкість в результаті ускладнення десорбції за рахунок повільного гідролізу основ Шиффа [4, 14].

2.5.5. Імобілізація цитотоксичного препарату цисплатин на поверхні наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$

Цисплатин — протипухлинний препарат, що містить платину, серійно випускається промисловістю у вигляді розчину. Механізм протипухлинної дії похідних платини пов'язаний зі здатністю до біфункціонального алкілування ланцюгів ДНК, що веде до подальшого пригнічення біосинтезу нуклеїнових кислот і апоптозу клітин. Цисплатин погано проникає через гематоенцефалічний бар'єр, швидко перетворюється без участі ферментів у неактивні метаболіти. Зв'язування з білками (у вигляді метаболітів) становить 90%. У початковій фазі період напіввиведення лікарського препарату з крові $\tau_{1/2}$ складає 20–49 хв, в кінцевій фазі при нормальній видільній функції нирок 58–73 год, при анурії — 240 год. Виводиться нирками 27–43% за 5 діб; платину можна виявити в тканинах протягом 4 місяців після введення [23, 82, 83].

Адсорбцію цитотоксичного препарату на поверхні наноконкомпозитів проводили протягом 18 годин з розчину цисплатину з концентрацією 1 мг/мл. Концентрацію розраховували по платині. Адсорбцію цисплатину здійснювали при перемішуванні впродовж 18 год при 293 К системи ($V = 50$ мл), що містить нанодисперсний магнетит з відповідним покриттям (200 мг).

Кількість адсорбованої речовини визначали вимірюванням концентрації Pt^{2+} -іонів аликвотних контактних розчинів (5 мл) до і після адсорбції цисплатину. Вимірювання проводили на однопроменевому двоканальному атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 М1 з полум'яним атомізатором, дейтерієвим коректором фону і цифровою реєстрацією. Використовували лампу з порожнинним катодом на платину (аналітична лінія — 265,9 нм); паливно-окисна система — ацетилен-повітря.

Величину адсорбції A (мг/г) розраховували за формулою

$$A = [(C_0 - C_1)V] / g,$$

де A — величина адсорбції Pt^{2+} , мг/г; C_0 — концентрація вихідного розчину Pt^{2+} , мг/м³·10³; C_1 — концентрація розчину після адсорбції Pt^{2+} , мг/м³·10³; V — об'єм розчину, м³·10⁻³; g — наважка магнетиту з покриттям, г.

Стабільність розчинів цитостатика досліджували, вимірюючи його активність на поживне середовище кожні 10, 20, 30 діб. Встановлено, що активність розчину цисплатину залишається незмінною протягом одного місяця.

Досліджено кінетику адсорбції цисплатину на поверхні магнетокерованих наноконкомпозитів (рис. 2.35, а, б, в).

Показано, що кількість адсорбованого цисплатину (за Pt^{2+}) стано-

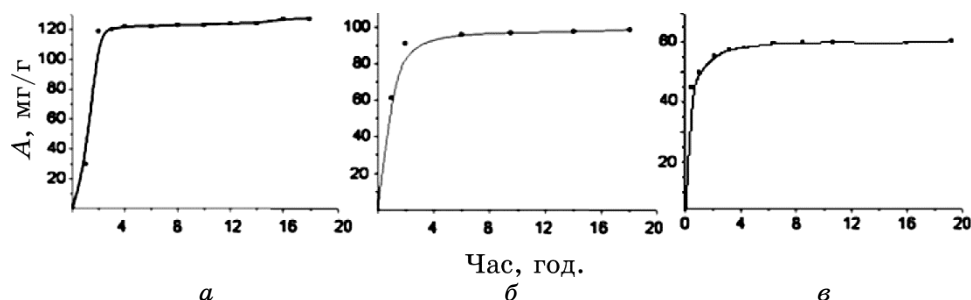


Рис. 2.35. Кінетичні криві адсорбції цисплатину на поверхні нанокompозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПAA}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$.

вила 128 мг/г на поверхні нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПAA}$, 98,3 мг/г — на $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$ та 60,1 мг/г на поверхні нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$. Основна частина цитостатика адсорбувалась протягом 2–3 годин.

2.5.5.1. Вивчення впливу нанокompозитів на життєздатність клітин

Нижче наведені результати досліджень біологічної активності синтезованих магнеточутливих нанокompозитів [4, 5, 14].

Метою досліджень було порівняння цитотоксичної дії цисплатину (ЦП), адсорбованого на нанокompозитах з різною хімічною природою поверхні, і стандартизованого лікарського препарату цисплатин у культивованому середовищі.

Моделі магнеточутливих лікарських засобів на основі синтезованих нанокompозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПAA} + \text{ЦП}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC} + \text{ЦП}$ та $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА} + \text{ЦП}$ досліджено *in vitro* в ІЕПОР НАН України. Проведено аналіз цитотоксичної дії синтезованих нанокompозитів на клітинні лінії MCF-7 карциноми молочної залози людини та епітеліальної карциноми яєчника людини А 2780 з банку клітинних культур ІЕПОР НАН України.

Клітини лінії MCF-7 (концентрація складала $1 \cdot 10^5$ клітин/мл в об'ємі 100 мкл) розміщували в 96-лункові пластикові планшети. Клітини культивувалися в модифікованому середовищі Dulbecco-ISCOV (Sigma) з додаванням 10% ембріональної телячої сироватки і антибіотика — гентаміцину в концентрації 40 мкг/мл в стандартних умовах при 37°C і при 5%-насиченні повітря CO_2 . Після 24-годинної адаптації клітин до умов культивування додавали досліджувані проби для тестування (кожна в 3 паралелях, по 100 мкл) і інкубували в тих самих умовах. Визначення цитотоксичності проводили через 24 години. Ефективність оцінювали за МТТ-колориметричним тестом. У основу методу покладена здатність мітохондріальних ферментів живої клітини перетворювати 3-[4,5-

диметилтіазол-2-іл]-2,5-дифенілтетразоліум бромід (МТТ) — сіль жовтого кольору, в кристалічній МТТ-формаан лілового кольору. Для цього в лунки 96-лункового планшету додавали 20 мкл розчину МТТ (5 мг/мл фосфатно-сольового буфера) і інкубували протягом 3-х годин. Після центрифугування планшету (1500 об/хв, 5 хв) видаляли супернатант. Для розчинення кристалів формаану в кожену лунку додавали 100 мкл диметилсульфоксиду (Serva). Величину оптичного поглинання розчину вимірювали за допомогою мульти-лункового спектрофотометра (MultiScan MCC 340) при довжині хвилі 540 нм (ОП540).

За описаною методикою вивчено цитотоксичну дію синтезованих наноконпозитів на клітини епітеліальної карциноми яєчника людини лінії А 2780. Дослідження проводилось на зразках:

- цисплатин, стандартизований препарат (ЦП);
- магнетокерований наноконпозит $Fe_3O_4/ПAA$;
- магнетокерований наноконпозит $Fe_3O_4/ПAA + ЦП$.

В дослідженнях використовували розчини цисплатину з концентрацією $C = 2$ мкг/мл в дозах IC_{50} , які викликають загибель 50% клітин.

Результати досліджень синтезованих зразків наведено в табл. 2.14.

З таблиці видно, що застосування розчину ЦП з концентрацією $C = 2$ мкг/мл у відповідній дозі IC_{50} , викликає загибель 52% клітин лінії А2780. Наноконпозит $Fe_3O_4/ПAA$ — магнеточутливий нанорозмірний носій з біосумісним полімерним покриттям, практично не пригнічує клітин, що свідчить про його біосумісність з даною клітинною лінією у використаних дозах. Проте, магнетокерований наноконпозит $Fe_3O_4/ПAA + ЦП$, що створює відповідну концентрацію цисплатину (2 мкг/см³), викликає загибель 65% клітин і на 13% перевищує ефект дії вільної форми препарату.

Отже, використання наноконпозиту $Fe_3O_4/ПAA + ЦП$ уможливило збільшити цитотоксичний ефект цисплатину у культуральному середовищі. Це можна пояснити травматичною дією магнеточутливих наноконпозитів на клітинну мембрану, що сприяє проникненню цисплатину в онкоклетини.

Результати досліджень впливу синтезованих наноконпозитів на життєздатність клітин карциноми молочної залози людини лінії

ТАБЛИЦЯ 2.14. Вплив цисплатину на життєздатність клітин лінії А2780.

| Зразок | IC_{50} |
|--------------------|----------------------------------|
| | Кількість клітин, що загинули, % |
| ЦП | 52 |
| $Fe_3O_4/ПAA$ | 2 |
| $Fe_3O_4/ПAA + ЦП$ | 65 |

МСF-7 наведено нижче.

2.6. Наноконпозити комплексної дії (моделі нанороботів)

Аналіз цитотоксичности синтезованих наноконпозитів комплексної (хіміо- та імунотерапевтичної) дії вивчали на клітинах карциноми молочної залози людини лінії МСF-7 в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України.

2.6.1. Моделі нанороботів на основі наноконпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ та $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$

З метою вивчення впливу магнеточутливих наноконпозитів, що характеризуються здатністю розпізнавання специфічних клітин та комплексного виконання хіміо- і імунотерапевтичних функцій, на життєздатність онкоклетин, були виготовлені зразки, що містять іммобілізований цитостатик (зразки типу 2, 5, 7), моноклональні антитіла (1, 4, 8) та більш складні магнеточутливі структури, модифіковані цисплатином та кон'юговані моноклональними антитілами (моделі нанороботів, зразки 3, 6, 9):

1. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ + CD 95;
2. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ + ЦП;
3. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ + CD 95 + ЦП;
4. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ + CD 95;
5. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ + ЦП;
6. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ + CD 95 + ЦП;
7. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ + ЦП;
8. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ + CD 95;
9. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ + ЦП + CD 95.

Наноконпозити типу 1–7 виготовляли, застосовуючи описані вище методики. При виготовленні моделей нанороботів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ + CD 95 + ЦП, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ + CD 95 + ЦП (зразки 3, 6) спочатку до поверхні наноконпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ (активованого ЕД) ковалентно приєднували окиснені моноклональні антитіла CD 95, а потім адсорбували цитостатик.

Можливий і зворотній порядок синтезу моделей нанороботів: наноконпозити $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ з адсорбованим цисплати-

ном ($A = 128$ мг/г, $98,3$ мг/г (по PtI^+) відповідно) кон'югували моноклональним антитілом CD 95 ($C = 20$ мкг/мл, $V = 1$ мл) та попередньо окисненим антитілом ($C = 13$ мкг/мл, $V = 1,7$ мл). В результаті одержували зразки типу 3, 6.

З метою оптимізації методики створення наноконкомпозитів $Fe_3O_4/ГА + CD 95$ (зразки 8) досліджено адсорбцію моноклонального антитіла CD 95 на поверхні наноконкомпозиту $Fe_3O_4/ГА$.

Адсорбцію моноклональних антитіл CD 95 ($C = 20$ мкг/мл, $V = 1$ мл) на наноконкомпозитах (наважки $0,03$ г) проводили у фізіологічному середовищі протягом 2 годин в динамічному режимі за кімнатної температури. Концентрацію антитіл вимірювали на комбінованому рідері для мікропланшету Synergy HT, Model SIAFRTD, Serial Number 202993 (Bio Tek). Кількісне визначення вмісту глікопротеїну в пробах проведене по методу Бредфорда [81].

Одержані дані (табл. 2.15) вказують на значну адсорбцію антитіл на поверхні наноконкомпозиту $Fe_3O_4/ГА$. Наведені дані стосовно інших наноконкомпозитів ($Fe_3O_4/ПАА$ і Fe_3O_4/γ -АПС) свідчать, що природа поверхні наноконкомпозиту істотно впливає на адсорбцію антитіл.

Показано, що величина фізичної адсорбції глікопротеїну на поверхні ГА істотно перевищує величину адсорбції не лише фізично, але і ковалентно іммобілізованого антитіла на поверхні Fe_3O_4 , функціоналізованого аміногрупами. Висока адсорбційна місткість поверхні $Fe_3O_4/ГА$ може бути пояснена складним механізмом адсорбції глікопротеїнів: Ca^{2+} -центри взаємодіють з карбоксилатними залишками поверхні антитіла, PO_4^{2-} -центри — з основними ділянками молекули. Згідно з даними [80] значний вплив на механізм адсорбції здійснює рН середовища, з якого відбувається адсорбція. Кореляція рН середовища з рІ адсорбтиву обумовлює переважну конформацию адсорбованих молекул.

Підвищення кількості біомолекул в розчині до рівня, що перевищує їх концентрацію в адсорбованому моношарі, сприяє впорядкуванню і утворенню щільнішої упаковки на поверхні. Враховуючи значну величину адсорбції антитіл на поверхні $Fe_3O_4/ГА$ в порівнянні зі значеннями адсорбції на поверхні наноконкомпозитів, функціоналізованих аміногрупами, можна зробити припущення про

ТАБЛИЦЯ 2.15. Параметри адсорбції моноклональних антитіл CD 95 на поверхні магнеточувливих наноконкомпозитів (C_0 — початкова концентрація антитіл; A — адсорбція антитіл на поверхні наноконкомпозиту).

| Наноконкомпозит | C_0 , мкг/мл | A , мкг/г | |
|-----------------------|----------------|-------------------|--------------------------|
| | | фізична адсорбція | ковалентна іммобілізація |
| $Fe_3O_4/ГА$ | 20 | 590 | — |
| $Fe_3O_4/ПАА$ | 20 | 2,3 | 163,2 |
| Fe_3O_4/γ -АПС | 20 | 1,2 | 137,7 |

утворення щільної, сприятливо орієнтованої, упаковки молекул CD 95 на поверхні нанокompозиту, модифікованого ГА. Це підтверджено дослідженнями в ІЕПОР НАН України імунотерапевтичного впливу біофункціоналізованих нанокompозитів на клітинні лінії. Їх цитотоксична дія перевищує дію контрольних доз антитіл в 2,7 рази. Крім того, антитіла, іммобілізовані на поверхні ГА, характеризуються слабкою десорбцією в модельних біологічних середовищах.

Моделі нанороботів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА} + \text{ЦП} + \text{CD 95}$ (зразки типу 9) виготовляли наступним чином.

Нанокompозит ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$) з адсорбованим цисплатином ($A = 60,1$ мг/г по PtI^+) (зразки типу 7) заливали розчином моноклонального антитіла CD 95 ($C = 20$ мкг/мл, $V = 1$ мл). Іммобілізацію проводили адсорбційним методом у фізіологічному розчині впродовж 2 годин в динамічному режимі за кімнатної температури.

Для вивчення впливу нанокompозиту з адсорбованим цитостатиком і іммобілізованим моноклональним антитілом (зразки 9) на культивоване середовище, розраховували вміст цисплатину так, щоб його концентрація відповідала біологічному еквіваленту ефективності IC_{25} , тобто складала 25% концентрації ІС, що дозволяє повністю знищити клітини. Попередніми дослідженнями встановлено, що $\text{IC}_{50} = 5$ мкг/мл, тому для нашого експерименту використовували концентрацію $\text{IC}_{25} = 2,5$ мкг/мл. При цьому концентрація антитіл CD 95 становила 0,2 мкг/мл (терапевтична доза складає 10–30 мкг/мл).

2.6.2. Біоактивність нанокompозитів

2.6.2.1. Взаємодія нанокompозитів, що містять ПАА, γ -АПС, цисплатин та антитіло з клітинами лінії MCF-7

Результати досліджень цитотоксичної дії магнеточутливих нанокompозитів, що містять ПАА, γ -АПС адсорбований цисплатином, іммобілізовані моноклональні антитіла, на життєздатність клітин лінії MCF-7 наведено в табл. 2.16.

З одержаних результатів видно, що використання магнеточутливих нанокompозитів з адсорбованим цисплатином з концентрацією удвічі нижче терапевтичного рівня, кон'югованих моноклональними антитілами CD 95 з майже на порядок меншою концентрацією, призводить до загибелі 46–57% пухлинних клітин, що перевищує дію контрольного зразка на $\cong 50\%$. Виявлений синергічний ефект можна пояснити наступним чином.

По-перше, реалізована цільова доставка комплексу цитостатик–моноклональне антитіло до пухлинних клітин завдяки наявності на їх поверхні відповідних рецепторів. Ефективному цитотоксичному впливу цисплатину сприяє травматична дія нанокompозиту на клітинну мембрану, істотно покращуючи проникнення лікарських за-

ТАБЛИЦЯ 2.16. Вплив магнеточутливих наноконкомпозитів з адсорбованим цисплатином, кон'югованих моноклональними антитілами, на життєдіяльність клітин лінії MCF-7.

| Контрольні порівняння | Загиблі клітини, % | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|--|---|--|--|---|--|
| | Для контрольних зразків | Fe ₃ O ₄ /γ-АПС + ЦП | Fe ₃ O ₄ /γ-АПС + CD 95 | Fe ₃ O ₄ /γ-АПС + ЦП + CD 95 | Fe ₃ O ₄ /ПАА + ЦП | Fe ₃ O ₄ /ПАА + CD 95 | Fe ₃ O ₄ /ПАА + ЦП + CD 95 |
| Цисплатин (ЦП) C = 2,5 мкг/мл | 25 | 31 | | | 38 | | |
| Антитіло CD 95 C = 0,2 мкг/мл | 10 | | 20 | | | 21 | |
| ЦП + CD 95 | 38 | | | 46 | | | 57 |

собів через мембранний бар'єр. Біфункціональні продукти взаємодії, так звані ДНК-аддукти, блокують реплікацію, транскрипцію і, як наслідок, клітинну проліферацію.

По-друге, система ліганд/рецептор відіграє важливу роль в апоптозі злоякісних клітин. Зв'язуючись зі своїм рецептором, антитіло запускає систему передачі сигналів, яка призводить до апоптозу.

2.6.2.2. Цитотоксичність наноконкомпозитів на основі магнетиту та гідроксоапатиту

Досліджена цитотоксична активність наноконкомпозиту Fe₃O₄/ГА з адсорбованим цисплатином, кон'югованого моноклональним антитілом CD 95 на клітинах карциноми молочної залози людини лінії MCF-7 [68]. Для порівняння досліджена цитотоксична активність наноконкомпозитів з окремо адсорбованими цисплатином і моноклональними антитілами.

У якості контрольних зразків використано чисте поживне середовище, цисплатин із C = 2,5 мкг/мл, що відповідає четвертинній дозі IC і моноклональне антитіло CD 95 із C = 0,2 мкг/мл. Також досліджений вихідний магнетит і наноконкомпозит Fe₃O₄/ГА на біосумісність з даною клітинною лінією.

Результати досліджень цитотоксичного впливу магнеточутливого наноконкомпозиту наведено в табл. 2.17.

ТАБЛИЦЯ 2.17. Впливу магнеточутливих наноконкомпозитів з адсорбованим цисплатином, кон'югованих моноклональними антитілами, на життєздатність клітин лінії MCF-7.

| Контроль порівняння | Загиблі клітини, % | | | |
|----------------------------------|-------------------------|---|--|---|
| | Дія контрольних зразків | Fe ₃ O ₄ /ГА + ЦП | Fe ₃ O ₄ /ГА + CD 95 | Fe ₃ O ₄ /ГА + ЦП + CD 95 |
| Цисплатин (ЦП) C = 2,5 мкг/мл | 25 | 48 | | |
| Антитіло CD 95 C = 0,2 мкг/мл | 10 | | 27 | |
| Цисплатин + CD 95 | 38 | | | 57 |

Експериментальні дані свідчать, що вплив магнетокерованих наноконкомпозитів (нанороботів), до складу яких входить протипухлинний препарат і моноклональні антитіла CD 95, на онкоклетини MCF-7 відзначається високою ефективністю і синергізмом, причини яких, на нашу думку, аналогічні описаним у 2.6.2.1.

Таким чином, наведені результати експериментальних досліджень свідчать, що застосування поліфункціональних магнеточутливих наноконкомпозитів принципово дозволяє реалізувати розпізнавання специфічних клітин та досягти цитотоксичного ефекту препарату при нижчих концентраціях лікарських препаратів, створити умови для зменшення токсико-алергічного впливу лікарських хіміотерапевтичних засобів на організм в цілому.

3. НАНОМАТЕРІАЛИ ТА МАГНЕТОЧУТЛИВІ НАНОКОМПОЗИТИ ДЛЯ БІОСЕПАРАЦІЇ

Дослідження цього розділу проведені з метою вирішення одного з актуальних завдань сучасної медицини — створення біомагнетних сорбентів, здатних видаляти вірусні частинки з біологічних рідин, зокрема, плазми та сироватки крові людини. Дослідження виконані спільно з Інститутом гематології та трансфузіології АМН України [3, 14, 84, 85].

3.1. Деконтамінація вірусів за допомогою високодисперсних оксидів

Для запобігання трансфузійній передачі інфекційних агентів, що призводять до виникнення важких вірусних захворювань, серед яких особливе місце займають посттрансфузійні гепатити, потрібні високоякісні препарати. Основним структурним компонентом вірусної частинки (віріона) є білковий капсид, в якому розташована нуклеїнова кислота. Капсиди побудовані з білкових субодиниць, зіб-

раних за відносно простими геометричними принципами [86].

Багато вірусів, окрім нуклеокапсиду, мають зовнішні оболонки, що складаються з білків, ліпідів і вуглеводів. Індивідуальність їх визначається передусім амінокислотним складом, а також вторинною і третинною білковою структурою. Структурні білки вірусів зазвичай містять нейтральні і дикарбонові амінокислоти і в меншій кількості — двоосновні амінокислоти, у вірусних білках кількість кислотних залишків перевищує число аміногруп.

У зв'язку з цим ізоелектричні точки (pI) вірусів розташовані в кислотній зоні [87]. Білки та амінокислоти є амфолітами. Як амфоліти, білки зв'язують і катіони, і аніони. При $pH = pI$ число позитивних і негативних зарядів у білку є однаковим. У ізоелектричній точці сили електростатичного відштовхування мінімальні. При відхиленні pH в будь-яку сторону від pI білки набувають позитивного або негативного заряду, а їх розчинність збільшується. Присутність солей в розчині може або збільшити, або зменшити розчинність білку [88].

Встановлено [86], що віруси людини і тварин мають здатність приєднуватися до зарядженої поверхні таких речовин, як силікагелі, гелі фосфату кальцію, похідні целюлози. Ймовірно, електростатична взаємодія на початковому етапі має ключову роль в забезпеченні адсорбції вірусних частинок. Приєднання вірусів до клітин, як і до поверхні речовин (сорбентів), залежить від іонної сили розчину і його pH [86]. Роль впливу іонної сили розчину залишається не з'ясованою [89].

Механізм адсорбції білків остаточно не встановлений. Найбільш аргументованою є точка зору, згідно якої існує два (крайніх) типи білків, що розрізняються по механізмі їх адсорбції на твердій поверхні — «жорсткі» і «м'які». Адсорбція «жорстких» білків, в молекулах яких існують сильні внутрішньомолекулярні зв'язки (наприклад, рибонуклеаза), визначається електростатичними і гідрофобними взаємодіями, а також дегідратацією поверхні і білкових молекул. При адсорбції «м'яких» білків (наприклад, альбуміну) виникає додаткова рушійна сила адсорбції, пов'язана із структурними змінами молекул білка, яка може перевищити вклад електростатичного відштовхування. В результаті на відміну від «жорстких» білків вони можуть адсорбуватися на гідрофільній поверхні з однойменним зарядом. Необоротність цього процесу можна пояснити тільки багатоцентровим механізмом адсорбції білків [90].

Для біосепарації (деконтамінації) небажаних білкових домішок використовують неорганічні адсорбенти — оксиди, нерозчинні гідроксиди і фосфати. Однією з відмітних переваг цих матеріалів, особливо при великомасштабному або промисловому застосуванні, є їх економічність [80]. Вивчені антимикробні властивості TiO_2 , SnO_2 і встановлено, що кількість мікроорганізмів після зв'язування з ци-

ми сорбентами зменшується на 40–85% в порівнянні з початковим, допування металами збільшує швидкість зв'язування і кількість мікроорганізмів, що вижили, зменшується.

Швидку адсорбцію білків можна здійснити шляхом введення сорбенту в розчин [78]. Цей метод дозволяє швидко обробити великі об'єми матеріалу. Адсорбенти з пов'язаним на їх поверхні білком відділяють шляхом осадження (центрифугування) або фільтрації. Процес відділення можна модифікувати, використовуючи магнетокеровані сорбенти і магнетні штативи або магнетні сепаратори. Тому метою наших досліджень був підбір оптимальних адсорбентів для деконтамінації вірусів і подальшої розробки вірусінактивуючих магнетокерованих адсорбентів (нанокомпозитів).

Для досліджень у якості модельного оболонкового вірусу був вибраний вірус везикулярного стоматиту (ВВС) штаму Індіана. У якості моделей використані адсорбенти на основі оксидів заліза, кремнію, титану, алюмінію, магнію, хрому, марганцю, цинку (табл. 3.1). Інфекційну активність розраховували за методикою [91].

Інфекційна активність вірусу (у Іг ТЦД 50/см³) в початковій вірусосумісній рідині складала 5,7. Через 7 діб спостереження в культуральній рідині після контакту з Mn₂O₃ кількість вірусу не змінилася, що свідчить про відсутність адсорбції вірусу на цьому оксиді. При контакті вірусосумісної культуральної рідини з ZnO значення Іг ТЦД 50/см³ зменшилося на 1, після експозиції з Al₂O₃, Al₂O₃/SiO₂ (3,07%), SiO₂ на 2, після експозиції з Al₂O₃/SiO₂ (1,94%), Cr₂O₃/A-300, TiO₂/SiO₂ (25,1%) SiO₂ на 3, після експозиції з TiO₂/SiO₂ (11,27%), MgO на 4.

Повна інактивація (адсорбція ВВС) спостерігалася після контакту з магнетитом і діоксидом титану. Слід зазначити, що чим меншою була концентрація Al₂O₃ і TiO₂ на поверхні кремнезему, тим вище була адсорбційна здатність цих наноккомпозитів по відношенню до ВВС. Результати титрування ВВС після контакту вірусосумісної рідини з різними наноматеріалами при $T = 293^{\circ}\text{C}$ наведено на рис. 3.1.

Раніше при дослідженні елементного складу поверхні наноккомпозитів Al₂O₃/SiO₂ і TiO₂/SiO₂ було показано, що при збільшенні концентрації Al₂O₃ до 3% практично увесь алюміній знаходиться на поверхні наночастинок кремнезему [92]. Це призводить до утворення на поверхні кислих алюмосилоксанових містків Al–O(H)–Si, які визначають адсорбційні властивості поверхні. Збільшення загального вмісту Al₂O₃ до 8–30% призводить до зменшення концентрації алюмінію в приповерхневому шарі та збільшення концентрації кремнію.

Для зразків із загальним вмістом TiO₂ до 20% поверхнева концентрація титану вища, ніж його об'ємна концентрація.

Для зразків, що мають загальний вміст TiO₂ 20–80%, поверхня наноккомпозиту збіднена титаном в порівнянні з її об'ємом [93].

ТАБЛИЦЯ 3.1. Деякі характеристики високодисперсних оксидів.

| Оксид | Питома поверхня $S_{\text{птг.}}$, м ² /г | Середній розмір частинок d , нм | pH | Примітка |
|--|---|-----------------------------------|---------|-----------------------|
| Fe_3O_4 | 90–180 | 30–50 | 6–8 | Синтезований авторами |
| TiO_2 — анатаз | 30 | 50 | 3,6 | — |
| Cr_2O_3 (1%) / А-300 | 205 | 10 | 3,6 | — |
| ВДК ДА-300 (А-300) | 300 | 5–20 | 3,6–4,3 | ГОСТ 14922-77 |
| Титанокремнезем, вміст TiO_2 — 25,1% | 200 | 5–40 | 3,6 | ТУ88. УССР-251-01-08 |
| Алюмокремнезем, вміст Al_2O_3 — 3,07% | 200–300 | 5–40 | 3,6 | ТУ88. УССР-251-02-84 |
| Алюмокремнезем, вміст Al_2O_3 — 1,94% | 200–300 | 5–40 | 3,6 | ТУ88. УССР-251-02-84 |
| Титанокремнезем, вміст TiO_2 — 11,27% | 200 | 5–40 | 3,6 | ТУ88. УССР-251-01-08 |
| Al_2O_3 пірогенний | 200 | 20 | 7 | ГОСТ 8136-85 |
| MgO | 1 | 50 | 7 | ГОСТ 4526-75 |
| Mn_2O_3 | 1 | 50 | 7 | ГОСТ 4470-79 |
| ZnO | 5 | 65 | 7 | ГОСТ 10262-73 |

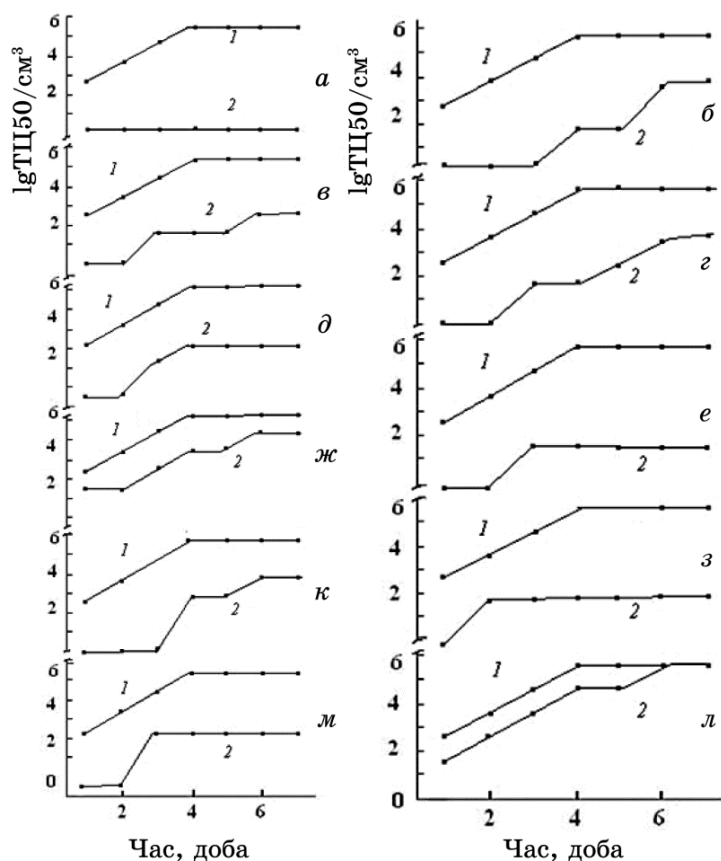


Рис. 3.1. Інфекційна активність ВВС ($\text{Ig TCD } 50/\text{cm}^3$) до (1) і після (2) контакту вірусомісної рідини з наноматеріалами: *a* — Fe_3O_4 і TiO_2 ; *б* — SiO_2 ; *в* — $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ — (25,1%); *г* — $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ — (3,07%); *д* — $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ — (1,94%); *е* — $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ — (11,27%); *ж* — ZnO ; *з* — MgO ; *к* — Al_2O_3 (пірогенний); *л* — Mn_2O_3 ; *м* — $\text{Cr}_2\text{O}_3/\text{A-300}$ при $T = 293 \text{ K}$.

Слід зазначити, що рН початкової вірусомісної рідини після додаванням дисперсного MgO змінюється до 10–11. Ймовірно, основна частина ВВС в лужному середовищі руйнується, а сорбція в такому діапазоні рН зазвичай не відбувається. Величина адсорбції сироваткових білків залежить від рН, вона пов'язана з електростатичною взаємодією адсорбент–білок. При значеннях рН, що перевищують ізоелектричну точку, на білковій молекулі з'являються негативні заряди, що призводить до пониження адсорбції в результаті відштовхування однойменних зарядів. При рН = 8 білок і поверхня сорбенту заряджені негативно, адсорбція припиняється [90] і віруси з розчину не видаляються [84].

Таким чином, одержані дані свідчать про перспективність вико-

ристання Fe_3O_4 і TiO_2 для створення магнетокерованих наноконкомпозитів, придатних для деконтамінації оболонкових вірусів з біологічних рідин.

3.2. Магнетні наноконкомпозити для біосепарації

З метою вирішення одного з актуальних завдань сучасної медицини — створення біомагнетних сорбентів, здатних видаляти вірусні частинки з сироватки крові людини, проведено виділення з сироваток реконвалесцентів після гострого вірусного гепатиту В (ВГВ) і гепатиту С (ВГС) специфічних глобулінів, які використовували надалі як молекули-вектори (ліганди) [85].

Для міцності імуноглобуліни (Ig) ковалентно зв'язували з магнетитом, інкапсульованим матрицею, що несла на поверхні амінопропільні групи. Була вивчена динаміка сорбції імуноглобулінів на магнетокерованому носіїві. Сироватки, позитивні в полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) і імуноферментному аналізі (ІФА), випробували з метою сепарації вірусів імуномагнетними сорбентами.

Згідно з результатами ПЛР, досягнута повна вірусна деконтамінація сироватки, в той самий час результати ІФА свідчать про присутність поверхневого антигену (HBsAg) в досліджуваних зразках сироватки, що може бути пов'язано, зокрема, з наявністю великої кількості дефектних вірусних частинок.

3.2.1. Сироватки

Використовували сироватки крові хворих у стадії реконвалесценції після гострого ВГВ і ГС, на початку ремісії після хронічного ВГС. Усі сироватки пройшли скринінг молекулярно-генетичним методом ПЛР («АмпліСенс HCV 240/ВКО-440», «АмпліСенс HBV») і ІФА («DIA-HCV», «DIA-HBV», «DIA-HBcore», «Anti-HBsAg Vitrotest»). Сироватки, негативні в ПЛР і ІФА (HBsAg), були відібрані для виділення специфічних імуноглобулінів (Ig-ВГС, Ig-ВГВ); позитивні в ПЛР аналізі використовували в подальшій роботі по видаленню вірусів.

Для виділення Ig ВГС використовували пули сироваток з показниками оптичної густини (ОГ) в ІФА від 2 в.о. і вище, для Ig ВГВ — від 15 до 400 мМЕ/мл.

3.2.2. Імуноглобуліни

Специфічні імуноглобуліни людини виділяли з високоактивних сироваток і використовували для одержання імуномагнетного сорбенту. Імуноглобуліни виділяли преципітацією риванолом і сульфатом амонію, діалізували проти фізіологічного розчину, концент-

рували ПЕГ-40000, знову діалізували. Визначали рівень Ig в ІФА, спектр антитіл (АТ) імуноелектроосмофорезом (ІЕОФ), концентрацію білку методом Лоурі.

3.2.3. Магнетокеровані вірусінактивуючі наноконізити

Для одержання біомагнетного сорбенту були використані конізити, що є високодисперсним магнетитом, модифікованим силіка- γ -амінопропілсілоксаном, одержаним золь-гель-методом. Вагове співвідношення $\text{SiO}_2:\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{O}_{3/2}$ в нанесених сорбентах складало 2:0,5 і 2:1 в конізитах 1 і 2 відповідно. Питома поверхня частинок була 31 і 36 м²/г. Зразки легко суспендували і швидко осідали за допомогою зовнішнього магнетного поля. Для запобігання десорбції Ig з поверхні носія в процесі використання магнетокерованого сорбенту переважним є їх хімічне зв'язування [85]. Зразки магнетиту несли на поверхні функціональні групи $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3^-$. У якості зв'язувального агента для силіка- γ -амінопропілсілоксану і глобулінів використовували глутаральдегід (25%, Merck — 820603).

Функціоналізовані магнетні носії перед роботою стерилізували озоном і диспергували ультразвуком. З цією метою використовували комплекс озонування і ультразвуковий диспергатор УЗДН-2.

Розчини Ig стерилізували, використовуючи фільтри з діаметром пор 0,22 мкм (Sarstedt) [94]. Для дослідницьких цілей зазвичай використовували 100 мг функціоналізованих магнетних носіїв [95]. Знаючи вагу, питому поверхню, визначали кількість імуноглобуліну, для біофункціоналізації з розрахунку, що на 1 мм² поверхні необхідно 2,5 нг антитіл [96].

Підготовлені зразки суспендували в 0,1 М фосфатному буфері рН 7,4; додавали рівний об'єм 5% розчину глутаральдегіду, приготовленого з 25% глутаральдегіду в 0,1 М фосфатному буфері. Одержану суміш м'яко перемішували протягом 3 годин. Глутаральдегід, що не прореагував, відмивали п'ятиразово 0,1 М фосфатним буфером. До активованих частинок додавали розраховану кількість Ig, потім суміш знову перемішували 17–20 годин.

Для вивчення динаміки сорбції Ig на магнетних наноконізитах відбирали проби імуноглобуліну в ході сорбції. Після закінчення етапу сорбції наноконізити, зв'язані з антитілами, відмивали 0,1 М фосфатним буфером і суспендували в 0,2 М розчині гліцину, для «блокування» непрореагованих функціональних альдегідних груп. Суспензію перемішували 30 хвилин, носії, зв'язані з антитілами, відмивали 0,1 М фосфатним буфером, етанолом, двічі фосфатним буфером з 0,2% бичачим сироватковим альбуміном, далі фосфатним буфером з 0,05% Tween-20. Одержаний таким чином імуномагнетний сорбент використовували для вірусної деконтамінації сироватки.

3.2.4. Дослідження деконтамінації вірусних частинок

До імуномагнетного сорбенту додавали вірусовмісну (ГВ або ГС) сироватку відомої активності, залишали при м'якому перемішуванні, відбирали проби сироватки для наступного тестування через 3 години і 18–20 годин. Активність сироваток перевіряли ПЛР і ІФА.

3.2.5. Експериментальні результати та обговорення

Зразки магнетних наночастинок та наноконкомпозитів вивчали методом растрової і трансмісійної електронної мікроскопії (рис. 3.2, 3.3) за допомогою приладів JSM 6060 LA і TEM 1230 (JEOL, Японія).

За даними рис. 3.2 видно, що висушені зразки високодисперсного магнетиту, модифікованого силіка- γ -амінопропілсилоксаном, синтезованим золь-гель-методом, складаються з частинок та агрегатів.

Трансмісійний електронно-мікроскопічний аналіз показав, що магнетні частинки характеризувалися незначним розкидом розмірів і були представлені округлою, еліпсоїдною, рідше геометрично неправильною формою. Вказаний розкид спостерігався також після обробки поверхні частинок силіка- γ -амінопропілсилоксаном і наступним нанесенням функціональних $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3$ -груп (рис. 3.3).

Згідно даним трансмісійної електронної мікроскопії, основна частина функціоналізованих частинок мала розмір 50–200 нм, причому 80% частинок мали розмір близько 200 нм. У відібраних по ходу приготування імуносорбента пробах Іg визначали концентрацію методом Лоурі, в кінцевих пробах визначали активність ІФА, ІЕОФ, графічно зображували динаміку сорбції Іg (рис. 3.4, а, б).

Як видно з графіків (рис. 3.4, а, б), ефективність ковалентного

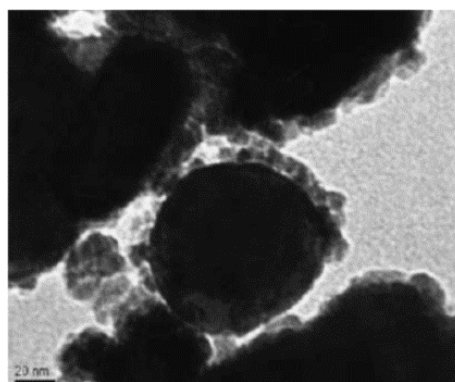
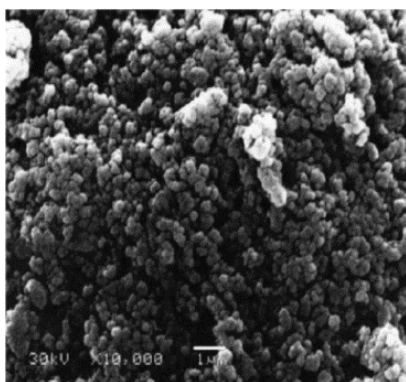


Рис. 3.2. РЕМ-зображення магнетиту, модифікованого силіка-амінопропіл-магнетиту, модифікованих силіка-амінопропілсилоксаном.

Рис. 3.3. ТЕМ-зображення частинок магнетиту, модифікованих силіка-амінопропілсилоксаном.

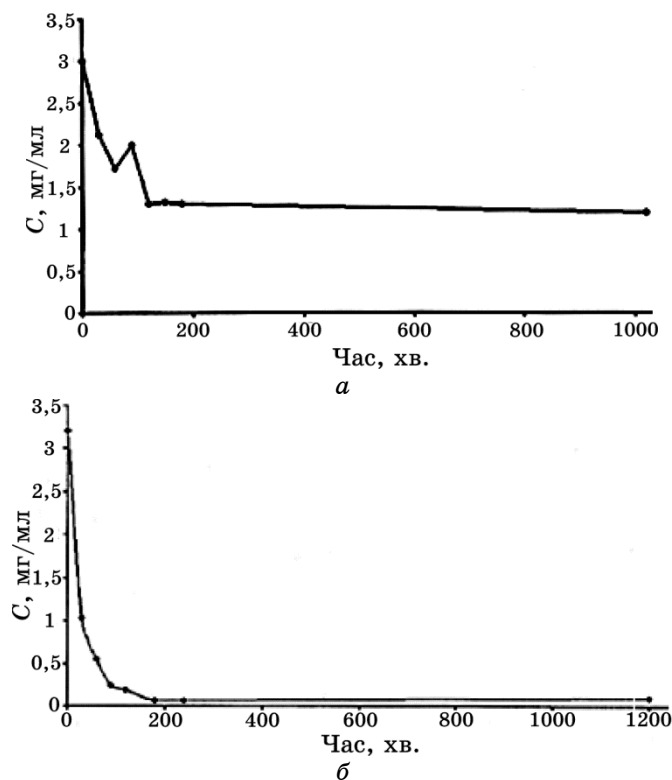


Рис. 3.4. Динаміка поверхневого зв'язування Ig-ВГВ (а) та Ig-ВГС (б) з частинками функціоналізованого магнетиту.

зв'язування специфічних Ig на магнеточутливих сорбентах, функціоналізованих силіка- γ -амінопропілсилоксаном, складала 60% для Ig-вірусу ГВ і 97% для Ig-вірусу ГС. На рисунку 3.5 наведено результати ІЕОФ вихідних зразків специфічних імуноглобулінів (рис. 3.5, а) і після проведення біофункціоналізації сорбенту (рис. 3.5, б).

Величина сорбційної місткості (кількість зв'язаного білку (мкг) на 1 мг носія) є важливою характеристикою імуномагнетних мікросфер, що визначає ефективність сепарації [94]. При виборі методу зв'язування необхідно враховувати структуру активної сполуки, яка закріплюватиметься на поверхні, а також умови, при яких препарат використовуватиметься після іммобілізації.

Обробка поверхні аміноорганокремнеземів за допомогою глутарового альдегіду, яку було запропоновано R.J. Robinson та ін., набула найбільшого поширення при створенні активованих матриць [97]. Типи зв'язку матриці і антитіл (АТ) або антигену (АГ) визначаються їх функціональними або реактивними групами, які, у свою

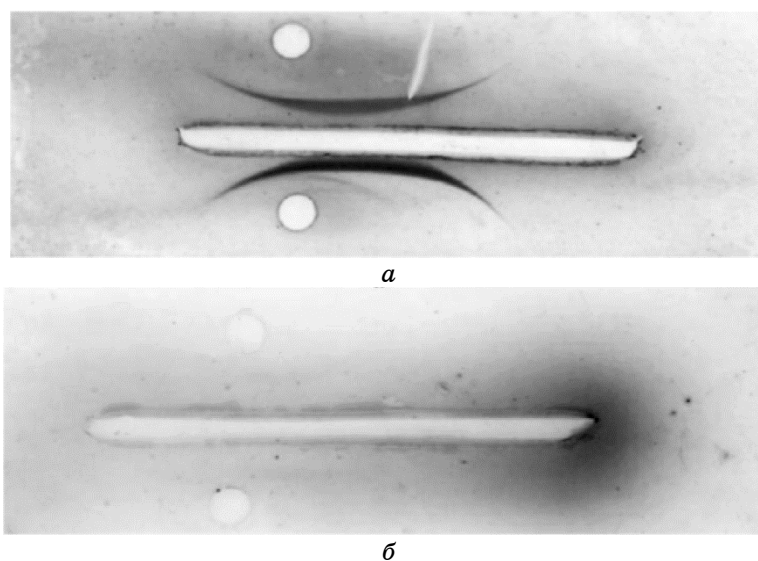


Рис. 3.5. Оцінка сорбції специфічних імуноглобулінів людини на магнетиті, функціоналізованому силіка-амінопропілсилоксаном, методом ІЕОФ. У лунки внесено: (а) розчин специфічних імуноглобулінів людини, підготовлений для сорбції на функціоналізованому магнетиті; (б) той самий розчин після завершення сорбції (через 18–20 годин). У канавки внесена антисироватка до цілісної сироватки людини.

чергу, визначають вибір зв'язувального агента [98].

Після зв'язування Іg з матрицею не виключені вільні для глікопротеїнів сайти на її поверхні. Для їх блокування використовували БСА, найбільш поширений і доступний для цих цілей. Можливе використання сироваткового альбуміну людини, найчастіше для імуномагнетних мікросфер, призначених для сепарації клітин крові [94]. Зниження рівня неспецифічної сорбції можна досягти також внесенням в готовий імуномагнетний біосорбент декстрану лейконостока [99], казеїну.

Як правило, одержані у такий спосіб імуносорбенти того ж дня випробовували на вірусовидалення, проте допускається їх консервація і зберігання. Сироватка, що містить вірус гепатиту С, не змінила свою активність до і після контакту з імуносорбентом (результати ПЛР), хоча поверхнєве зв'язування матриці і Іg-ВГС було максимальним (97%). Такі результати можна пояснити, по-перше, відсутністю кількісного методу обліку (якісна ПЛР), по-друге, реальною відсутністю нейтралізації вірусу гепатиту С імуносорбентом з огляду на те, що багато віріонів вірусу гепатиту С асоційовані з сироватковими ліпопротеїнами (β -ліпопротеїнами низької і дуже низької густини), які екранують вірусні АГ, захищаючи вірус гепати-

ту С від АТ [100].

Сироватка, що містить вірус гепатиту В, після контакту з імуносорбентом була негативною в ПЛР і була позитивною в ІФА (HBsAg), але значення оптичної густини були нижче за показники початкової сироватки. Зміст неповних вірусних форм («порожнинних», дефектних) в сироватці, зазвичай, значно перевищує концентрацію повних віріонів, в деяких сироватках їх кількість перевищує кількість віріонів в 10000 і більше разів [101]. На кожен виявлений інтактний вірус гепатиту В (частинку Дейна) доводяться сотні «порожніх» оболонки, що пояснюється циклом розвитку вірусу гепатиту В [102]. Неінфекційні, порожнисті частинки HBs-АГ з невеликим вмістом preS2-АГ, ймовірно, є продуктами паралельної експресії вірусних генів, вбудованих в клітинний геном [103]. Ми також спостерігали подібне явище: в 20% HBsAg позитивних сироваток не виявляли ДНК-ВГВ методом ПЛР [104].

В результаті проведеної роботи одержані зразки імуномагнетних сорбентів на основі силіка- γ -амінопропілсилоксану і лігандів-Ig, специфічних до вірусу гепатиту В і вірусу гепатиту С. Імуноглобуліни ефективно зв'язуються з поверхнею матриці. Імуномагнетний сорбент, специфічний до вірусу гепатиту В, здатний видаляти інфекційний повноцінний вірус з сироватки людини. Проте, незважаючи на високу величину сорбційної місткості, при одержанні імуномагнетного сорбенту, специфічного до вірусу гепатиту С, не вдалося досягти ефекту вірусної нейтралізації в сироватці людини.

Таким чином, проведені дослідження показали можливість створення імуномагнетного біосорбенту, здатного видаляти вірусні частинки із складної біологічної рідини — сироватки крові людини.

4. СИНТЕЗ МАГНЕТОЧУТЛИВИХ НАНОКОМПОЗИТІВ ДЛЯ НЕЙТРОНЗАХВАТНОЇ ТЕРАПІЇ

Розробка наукових підходів до вирішення проблеми впровадження магнетокерованих поліфункціональних наноконкомпозитів у нейтронзахватну терапію (НЗТ) є, безперечно, доцільним та актуальним завданням, оскільки вони можуть стати основою для створення нових типів лікарських засобів з додатковими функціями магнетокерованої спрямованої доставки до органів- або клітин-мішеней і депонування, гіпертермії, комбінованої T_1 -, T_2 -МРТ-діагностики в режимі реального часу тощо [1, 32, 105–113].

В [110–113] розроблено методики синтезу та досліджені властивості нових типів наноконкомпозитів на основі однодоменого магнетиту, зокрема:

1. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС/ДТПК/Gd — ковалентною іммобілізацією на поверхні Fe_3O_4 діетилентріамінпентаоцтової кислоти (ДТПК) в комплексах з іонами Gd^{3+} ;

2. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}$ — модифікуванням поверхні магнетиту *мезо*-2,3-димеркаптосукциновою кислотою (ДМСК), до карбоксильних і сульфгідрильних функціональних груп якої ковалентно приєднані іони Gd^{3+} ;

3. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{карборан}$ — модифікуванням поверхні магнетиту *мезо*-2,3-димеркаптосукциновою кислотою та подальшою функціоналізацією *орто*-тіокарбораном за реакцією тіол-дисульфідного обміну;

4. $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GdBO}_3$ — модифікуванням поверхні магнетиту боратом гадолінію GdBO_3 , що утворюється в результаті взаємодії іонів Gd^{3+} з гідратованим аніоном бору $[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4]^{2-}$, з подальшим гідролізом до GdBO_3 . Наноккомпозити цього типу вміщують одночасно бор і гадоліній та можуть поєднувати функції неорганічного сцинтилятора і нейтронзахватного агента.

Для синтезу наноккомпозитів використано компоненти, що характеризуються задовільною біосумісністю. Будову і властивості наноккомпозитів вивчено комплексом фізико-хімічних методів. Результати досліджень [110–113] наведено нижче.

4.1. Магнеточутливі наноструктури з хелатованими іонами Gd^{3+} на поверхні

Наявність іонів гадолінію і заліза у складі наноккомпозитів принципово уможлиблює використовувати їх для комбінованої діагностики в магнеторезонансній томографії (МРТ) та НЗТ. Іони Gd^{3+} є токсичними при концентраціях, необхідних для виконання лікувально-діагностичних процедур. Токсичність вільних іонів Gd^{3+} може бути різко знижена шляхом їх координації з сильно зв'язувальними лігандами. Так, аніонні комплекси гадолінію з диетилентриамінпентаоцтовою (Gd -ДТПК, *Magnevist*[®]) і гадотеровою кислотами (Gd -DOTA *Dotarem*[®]) (рис. 4.1) використані першими в клініч-

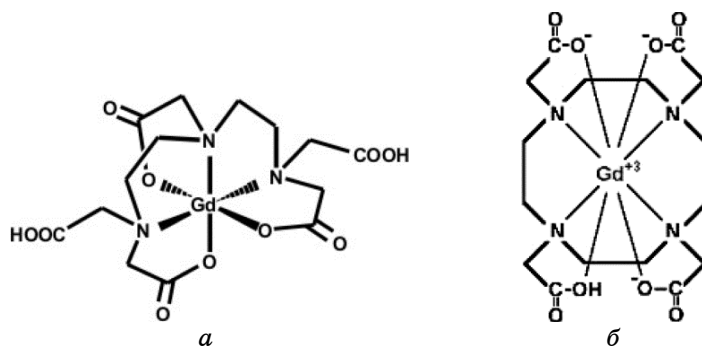


Рис. 4.1. Будова комплексів Gd -ДТПК (1) і Gd -DOTA (2).

ній практиці і є зразками порівняння при розробці та оцінці нових контрастують агентів [109].

Приєднання похідних ДТПК до супрамолекулярних структур може бути одним з ефективних шляхів зниження їх обертального руху, що істотно поліпшить якість діагностики цих комплексів в МРТ. Швидкість релаксації протонів води (s^{-1}) в контрастувальному агенті на одиницю зміни його концентрації в розчинах, що містять змішані міцели, в які інкорпоровані амфифільні біс-алкіламідні похідні ДТПК, є вищою, ніж для гідрофільного комплексу Gd–ДТПК в результаті зниження рухливості останнього. Ці дані необхідно враховувати при створенні нових, більш ефективних засобів для магнеторезонансної томографії [107–109].

4.1.1. Іммобілізація комплексів Gd–ДТПК на поверхні модифікованого магнетиту

З урахуванням наведених даних, нами запропонована методика іммобілізації комплексу Gd–ДТПК на поверхні магнетиту, модифікованого спейсером — γ -амінопропілсілоксаном. Здійснено хімічне конструювання наноструктур на основі високодисперсного Fe_3O_4 . Архітектура синтезованих наноконкомпозитів характеризується наявністю магнеточутливого «ядра»-носія, поверхню якого модифіковано біосумісним покриттям неорганічної або органічної природи.

Розроблено методику синтезу наноконкомпозиту з пошаровою наноархітектурою: $Fe_3O_4 \rightarrow \gamma$ -АПС \rightarrow ДТПК $\rightarrow Gd^{3+}$. Досліджено комплексоутворення іонів Gd^{3+} з хелатами поверхні наноконкомпозиту. Вивчено ізотерми адсорбції Gd^{3+} на наноконкомпозиті з поверхнею, модифікованою ДТПК.

Диетилтриамінпентаоцтова кислота утворює міцний стабільний комплекс з парамагнетним іоном гадолінію ($\log K = 22-23$).

Функціональні групи $-NH_2$ взаємодіють з ангідридами кислот, тому магнетит модифікували γ -АПС (за методиками (2.4.2) для одержання вільних аміногруп на поверхні, а ДТПК переводили у ангідрид даної кислоти. Синтез здійснювали в кілька стадій.

4.1.1.1. Синтез біс-ангідриду ДТПК

Синтез ангідриду проводили при нагріванні ДТПК ($75^\circ C$) з оцтовим ангідридом у піридині в колбі із зворотнім холодильником (рис. 4.2, стадія 1). Утворювався коричневий осад. Колір осаду та ІЧ-Фур'є-спектральні дослідження (зміщення смуги поглинання карбонільної групи від 1730 см^{-1} до 1636 см^{-1} , відповідність СП 3017–2900 см^{-1} коливанням С–Н-зв'язків) підтверджували утворення ангідриду ДТПК-А (рис. 4.3, а, криві 1, 2).

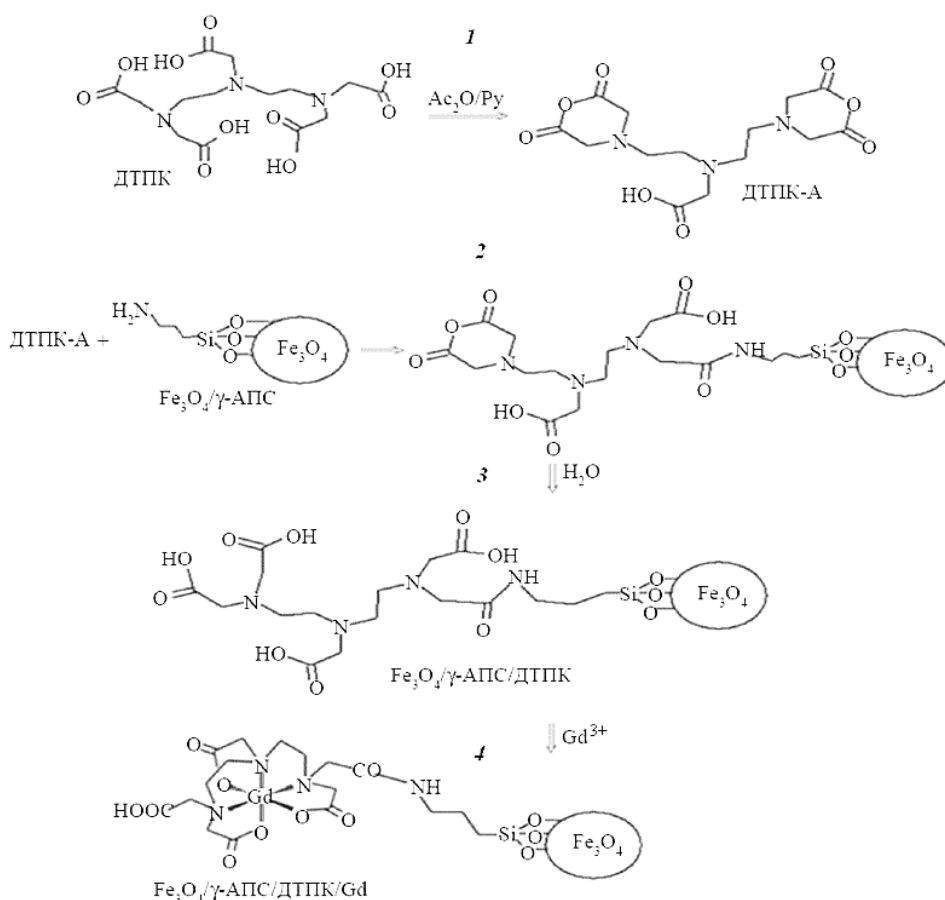


Рис. 4.2. Схема хімічного синтезу наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$.

4.1.1.2. Синтез наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$

Ангідрид ДТПК взаємодіє з первинними амінами з утворенням амідів. Зазначена реакція використана на другій стадії запропонованої нами методики (рис. 4.2, стадія 2). Взаємодія аміногрупи, яка міститься на поверхні магнетиту, модифікованого γ -амінопропілсилоксаном, з ангідридом ДТПК здійснювалась в етиловому спирті при кімнатній температурі і присутності концентрованої оцтової кислоти. В результаті одержували наноконкомпозити $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК-А}$.

На стадії 3, рис. 4.2, наноконкомпозит $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК-А}$ кип'ятили 3 години у воді для повного гідролізу всіх ангідридних груп та одержували наноконкомпозит $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}$.

Наноконкомпозити $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$ одержували шляхом взаємодії $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}$ з іонами гадолінію в середовищі вод-

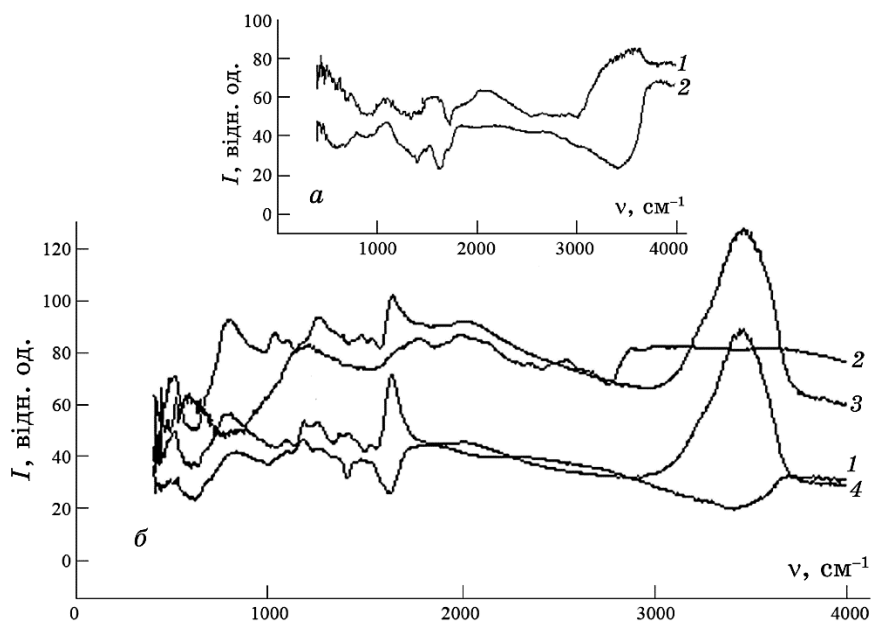


Рис. 4.3. ІЧ-Фур'є-спектри: ДТПК (1) та ДТПК-А (2), (а); продуктів послідовного синтезу нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$ (б): $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}-\text{А}$ (1), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}$ (2), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$ (3), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ (4).

ного розчину сульфату гадолінію (рис. 4.2, стадія 4) та утворення ковалентних зв'язків Gd^{3+} з карбоксильними групами та координаційних зв'язків з атомами азоту, закріпленими на поверхні магнеточутливого носія ДТПК.

ІЧ-Фур'є-спектри продуктів послідовного синтезу нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$ наведено на рис. 4.3, б (криві 1–3) та $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ (4). Дублет при 1130 і 1060 cm^{-1} свідчить про наявність на поверхні носія просторової полімерної сітки SiO_2 . Зсув на 36 cm^{-1} СП при 1410 cm^{-1} , що належать карбоксильним групам і атомам азоту, свідчить про утворення комплексів гадолінію в структурі нанокompозиту.

4.1.1.3. Адсорбція катіонів Gd^{3+} на поверхні нанокompозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}$

Дослідження процесів адсорбції іонів Gd^{3+} проводили на синтезованих нанокompозитах $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}$.

Для кількісного вимірювання адсорбції іонів гадолінію на поверхні нанокompозита використано спектрофотометричний метод визначення його комплексів у розчині. Визначали Gd^{3+} за допомогою

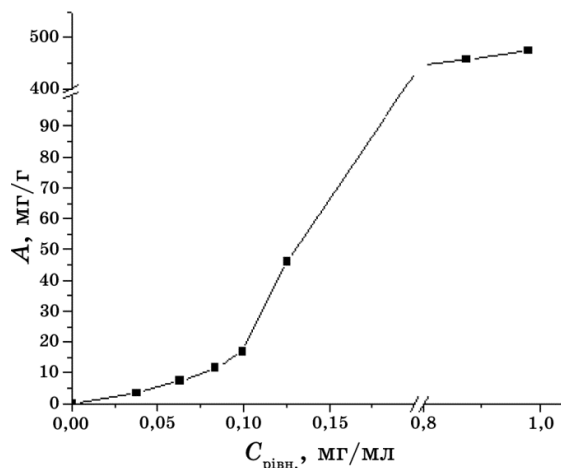


Рис. 4.4. Ізотерма адсорбції Gd^{3+} на поверхні наноконкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС/ДТПК}$.

реагенту арсеназо-3 в уротропіновому буфері.

Адсорбцію іонів Gd^{3+} проводили у водному середовищі впродовж 2 годин в динамічному режимі при кімнатній температурі. Кількість адсорбованої речовини на поверхні наноконкомпозитів визначали вимірюванням концентрації іонів Gd^{3+} контактних розчинів до і після адсорбції. Концентрацію вимірювали за допомогою спектрофотометра при $\lambda = 583$ нм по калібрувальному графіку.

Адсорбцію іонів гадолінію, A , на поверхні наноконкомпозиту розраховували за методикою 2.5.5.

Ізотерма адсорбції Gd^{3+} на поверхні наноконкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС/ДТПК}$ має S -подібний вигляд (рис. 4.4). Встановлено, величина адсорбції іонів гадолінію складала 490,8 мг/г.

Фізико-хімічні процеси, що визначають комплексоутворення на поверхні твердого тіла, можуть бути досить складними (формування як моно-, так і полішарів адсорбованих речовин, взаємодія комплексів адсорбат–адсорбент між собою тощо). Ці процеси залежать від будови і складу сорбенту, відносних і абсолютних концентрацій речовин, що сорбуються у розчині, його кислотности, стійкості комплексів на поверхні і т.п. Тому інтерпретація результатів експериментів за участю реакцій комплексоутворення на поверхні може бути досить складною і не завжди призводити до однозначних висновків.

4.1.2. Електронна структура наноконкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС/ДТПК/Gd}$

Електронну структуру наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС/ДТПК/Gd}$

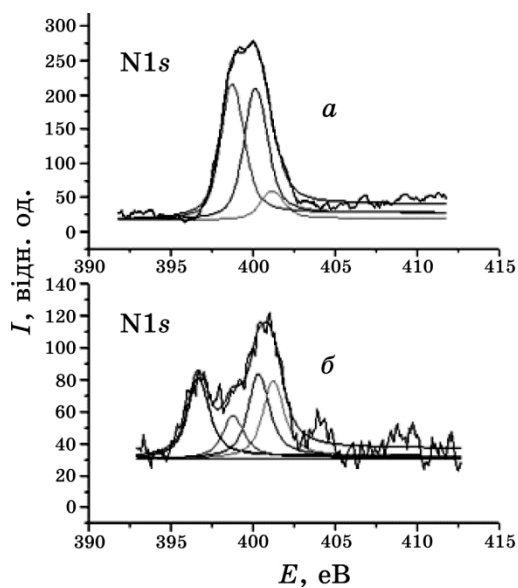


Рис. 4.5. Спектр N1s наноконпозиту Fe₃O₄/γ-АПС/ДТПК/Gd.

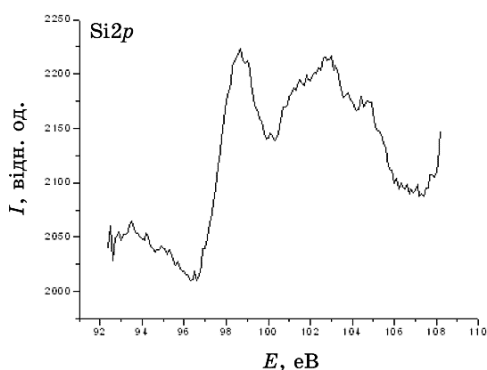


Рис. 4.6. Спектр Si2p наноконпозиту Fe₃O₄/γ-АПС/ДТПК/Gd.

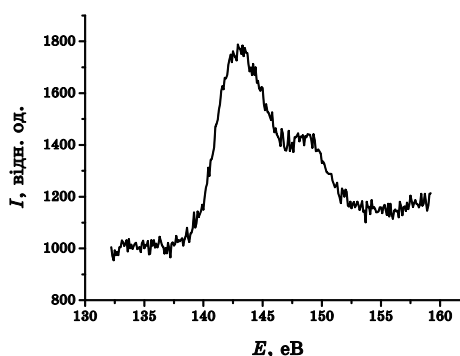


Рис. 4.7. Спектр 4d_{5/2} Gd та 4d_{3/2} Gd наноконпозиту Fe₃O₄/γ-АПС/ДТПК/Gd.

(рис. 4.5, а, б) досліджували методом рентгенівської фотоелектронної спектроскопії на електронному спектрометрі з енергоаналізатором РНОІВОС-100 SPECS. Джерелом випромінення була рентгенівська трубка з магнієвим анодом ($E_{\text{MgK}\alpha} = 1253,6$ еВ, $P = 300$ Вт).

У спектрі N1s структур Fe₃O₄/γ-АПС присутні дві компоненти (рис. 4.5, а). Максимум з енергією зв'язку 399,2 еВ вказує на наявність на поверхні зразка NH₂-груп, 400 еВ — радикалів NH₃⁺.

Поява додаткової смуги поглинання в спектрі N1s наноконпози-

тів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$ при 396,5 еВ (рис. 4.5, б) пов'язана з відтягуванням електронної густини з атома азоту внаслідок його зв'язування з атомом вуглецю карбоксильної групи ДТПК, що відповідає літературним даним.

Спектр $\text{Si}2p$ (рис. 4.6) містить максимуми, що відповідають сигналу від груп покриття модифікатора. Компоненти з $E_{\text{зв}} = 101$ еВ відповідають групам, що відповідають $\text{Si}-\text{C}$ зв'язкам, а $E_{\text{зв}} = 102,5$ еВ — групам із зв'язком $\text{Si}-\text{OH}$.

Максимум при 101–103 еВ відноситься до SiO_2 . У спектрі $\text{Si}2p$ спостерігається лінія з максимумом при 98,60 еВ, яка за даними бази NIST X-ray Photoelectron Spectroscopy Database може бути віднесена до сполуки GdSi або Gd_5Si_3 . Утворення силіцидів гадолінію в таких умовах мало ймовірно, тому слід віднести таку лінію до іонів гадолінію, адсорбованих на поверхні ґратниці шару SiO_2 .

Максимум при 143,2 еВ (рис. 4.7) належить рівню $4d5/2$ Gd, 148,9 еВ — рівню $4d3/2$ атома Gd.

В подальшому дослідження будуть продовжені. Однак, виходячи з наведених експериментальних даних, можна сподіватися, що наноконкомпозити $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$ зможуть поєднувати властивості нейтронзахватного агента і контрастувального засобу для магнеторезонансної томографії. Вони можуть стати основою створення нових перспективних комплексних препаратів для використання в нейтронзахватній терапії пухлин з одночасною МРТ-візуалізацією.

4.2. Синтез Gd-вмісних наноконкомпозитів на основі магнетиту, модифікованого мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою

Як зазначалось у 2.4.3, використання мезо-2,3-димеркаптосукцинової кислоти для формування капсули магнеточутливої наночастинки (рис. 4.8) сприяє стабільності колоїдної системи у водному середовищі, біосумісності матеріалу та уможливорює іммобілізацію необхідних сполук через тіольні та карбоксильні функціональні групи поверхні [55].

Синтез конкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}$ проводили шляхом модифікування магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою з подальшою адсорбційною іммобілізацією іонів Gd^{3+} .

Модифікування поверхні наночастинок магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою проводили аналогічно 2.4.3.

З метою вивчення процесів адсорбції іонів Gd^{3+} на поверхні наноконкомпозиту та побудови ізотерм наважки наноконкомпозиту по 0,02 г заливали розчинами $\text{Gd}_2(\text{SO}_4)_3$ різної концентрації. Адсорбцію проводили у водному середовищі уротропінового буферу в динамічному режимі за кімнатної температури впродовж 1 години. Одержано наноконкомпозит $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}$.

Кількість адсорбованого Gd^{3+} визначали спектрофотометричним вимірюванням концентрації контактних розчинів до і після адсорбції за допомогою 0,05% арсеназо 3 згідно з калібрувальним графіком.

Для підтвердження достовірності результатів кількість адсорбованого Gd^{3+} також визначали на високошвидкісному атомно-емісійному спектрометрі з індуктивно зв'язаною плазмою Shimadzu ICPE-9000.

Згідно з розрахунками, адсорбція гадолінію при $C_0 = 20$ мг/мл склала 474,5 мг/г по арсеназо 3 і 490,8 мг/г за даними атомно-емісійної спектрометрії. Близькі значення величин кількості гадо-

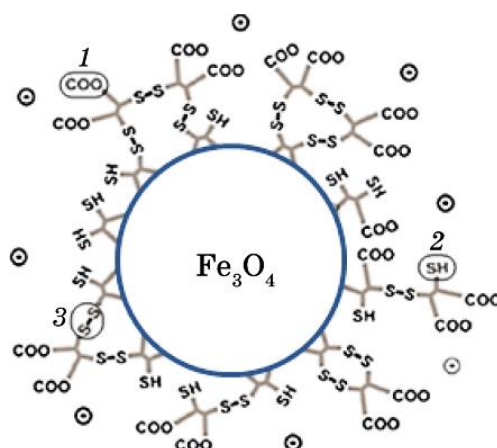


Рис. 4.8. Схема будови нанокompозиту Fe_3O_4 /ДМСК. \ominus — від'ємний заряд; \times — ДМСК; 1 — вільна карбоксилатна група; 2 — вільна тіольна група; 3 — дисульфідний місток.

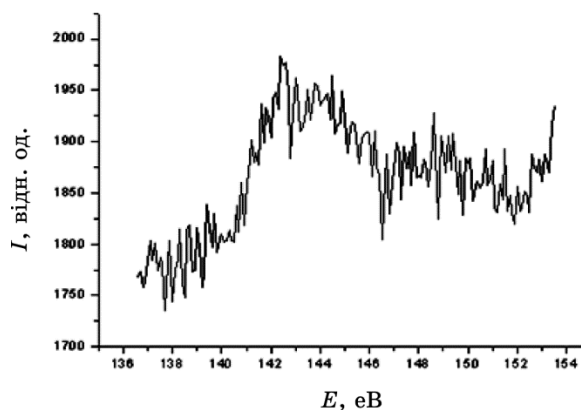


Рис. 4.9. РФ-спектри рівнів $4d5/2$ Gd та $4d3/2$ Gd.

лінію в складі наноконпозиту, одержані двома незалежними методами, підтверджують їх достовірність.

Структуру наноконпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}$ досліджували методами ІЧ-Фур'є-спектроскопії та рентгенівської фотоелектронної спектроскопії.

За даними ІЧ-спектрів смуги поглинання вільних карбоксильних груп на поверхні наноконпозиту при 1550 та 1450 см^{-1} змістились на -10 та -80 см^{-1} відповідно. Це свідчить про хімічне зв'язування їх з атомами гадолінію.

Згідно з даними рентгенівської фотоелектронної спектроскопії максимум при $142,26 \text{ eV}$ можна віднести до рівня $4d_{5/2} \text{ Gd}$, максимум при $148,5 \text{ eV}$ — до електронного рівня $4d_{3/2}$ атому Gd (рис. 4.9).

РФ-спектри $S2p$ -рівнів було розкладено на незалежні компоненти, їх ширина на половині висоти складала $\Delta E = 0,9 \text{ eV}$ (рис. 4.9). Розкладання проводилося методом Гауса–Ньютона. Площа компонент визначалась після вирахування фону за методом Ширлі.

Результати розкладання на компоненти рентгенофотоелектронних спектрів $S2p$ -рівнів зразка порівняння ДМСК, наночастинок магнетиту з оболонкою ДМСК та з оболонкою ДМСК/ Gd представлено на рис. 4.10, *a–e* і в табл. 4.1. Видно (рис. 4.10, *a*), що в спектрах вихідного ДМСК присутні сигнали від трьох нееквівалентних станів іонів сірки. Домінуюча компонента в області $E_{\text{зв.}} = 163,7 \text{ eV}$ відповідає фрагменту зв'язку H–S–C в ДМСК. За результатами розкладання на компоненти спектру поверхні модифікованого магнетиту видно (рис. 4.10, *b*), що кількість і співвідношення компонент в порівнянні з початковим зразком ДМСК (рис. 4.10, *a*) практично не змінюється. Це однозначно вказує на формування на поверхні магнетиту шару саме з ДМСК. Зменшення інтенсивності максимумів SH -груп з енергією зв'язку $S2p_{3/2} = 164,40 \text{ eV}$ в зразку $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}$ свідчить про часткове зв'язування Gd^{3+} з атомами сірки.

Зменшення інтенсивності максимумів SH -груп при $E_{\text{зв.}} = 164,40 \text{ eV}$ та $E_{\text{зв.}} = 162,30 \text{ eV}$ за даними РФС свідчить про утворення зв'язку між іонами Gd^{3+} та атомами сірки.

Характерний для всіх зразків ДМСК спектр $\text{O}1s$ -рівня, представлений на рис. 4.11, свідчить про наявність на поверхні досліджуваних високодисперсних частинок різних форм кисню: в області $528–530 \text{ eV}$ — кисню в оксидній матриці, в області $531–532,5 \text{ eV}$ — кисню в складі OH -груп, $533,3 \text{ eV}$ — кисню в молекулі H_2O фізично зв'язаної води.

Отже, виходячи з наведених даних, які свідчать про утворення зв'язків Gd^{3+} як з карбоксильними, так і з сульфгідрильними групами, можна запропонувати схему поверхні наноконпозиту (рис. 4.12).

Встановлено функціональні групи на поверхні магнетиту, модифікованого ДМСК, що беруть участь у координації. Як свідчать дані

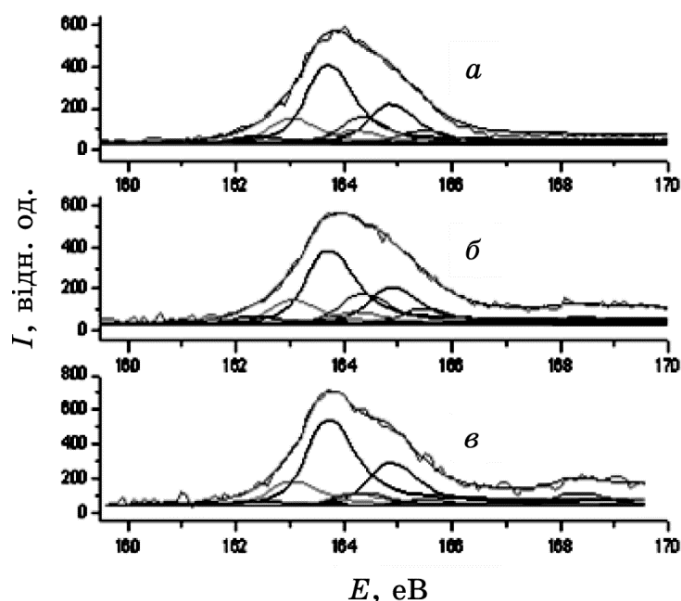


Рис. 4.10. РФ-спектри S2p-рівнів для зразка порівняння ДМСК (а), Fe₃O₄/ДМСК (б) та нанокompозиту Fe₃O₄/ДМСК/Gd (в).

ТАБЛИЦЯ 4.1. Енергії зв'язку ($E_{зв.}$, eВ) максимумів компонент S2p-спектрів та інтегральні інтенсивності компонент I (%).

| $E_{зв.}$ комп. S2p, eВ | ДМСК I , % | Fe ₃ O ₄ /ДМСК, I , % | Fe ₃ O ₄ /ДМСК/Gd I , % |
|-------------------------|--------------|---|---|
| 162,3 | 5,0 | 5,3 | 3,8 |
| 163,0 | 18,5 | 16,7 | 17,8 |
| 163,7 | 57,5 | 51,8 | 63,2 |
| 164,4 | 19,1 | 21,4 | 9,6 |
| 168,3 | — | 4,9 | 5,7 |

РФС та ГЧ-спектроскопії, комплексоутворення іонів Gd³⁺ з поверхнею ДМСК відбувається за рахунок як карбоксильних, так і сульфгідрильних груп на поверхні нанокompозиту.

Синтезовані та досліджені в 4.1 та 4.2 магнеточутливі нанокompозити можуть увійти до нового класу перспективних лікарських засобів — тераностиків, речовин комплексної терапевтичної та діагностичної дії. Прикладом їх застосування може бути візуалізація пухлин за допомогою МРТ-діагностики та нейтронзахватна терапія в режимі реального часу. Крім того, наявність суперпарамагнетного ядра (магнетит) та парамагнетного поверхневого шару (Gd³⁺) дозволяє використовувати такі нанокompозити як бімодальні T_1/T_2 контрастувальні агенти.

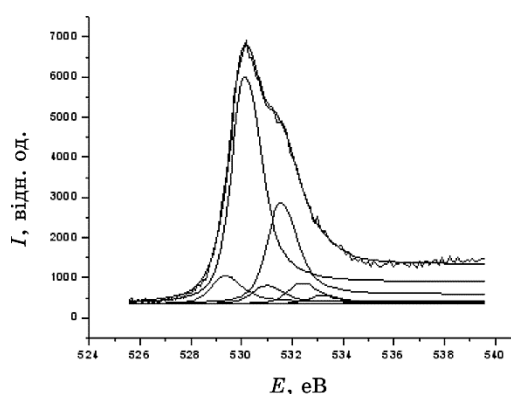


Рис. 4.11. РФ-спектри O1s-рівня нано-композиту Fe₃O₄/ДМСК/Gd.

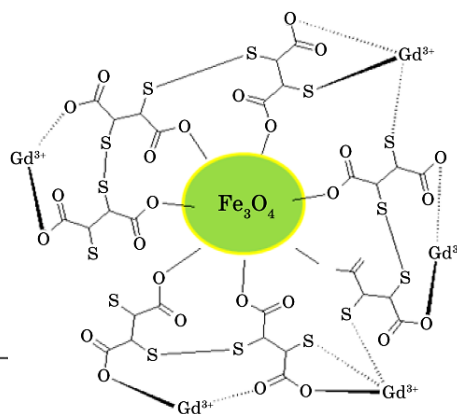
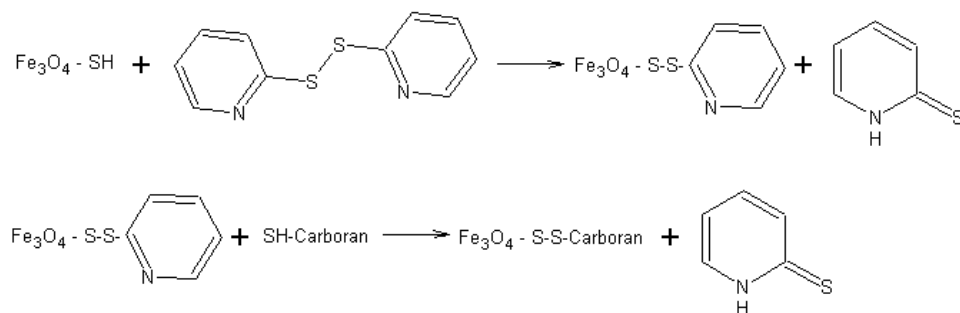


Рис. 4.12. Структура ДМСК/Gd³⁺ на поверхні магнетиту.

4.3. Наноконкомпозити на основі функціоналізованого магнетиту та карборанів

Актуальним напрямом створення наноконкомпозитів для нейтронзахватної терапії є іммобілізація борвмісних сполук, зокрема, карборанів, на поверхні магнеточутливих наноконкомпозитів, модифікованих біосумісним покриттям з необхідними функціональними групами (наприклад, SH).

Хімічне конструювання наноконкомпозитів проводилося у два етапи:



На першому етапі здійснюється реакція тіолдісульфідного обміну сульфогідрилвмісної поверхні магнетиту з дипіридилдисульфідом з утворенням піридилсульфідної поверхні. Відхідна група — піридин-2-тіон не вступає в подальші реакції з поверхнею наночастинок. На другому етапі піридилсульфідний залишок на поверхні обмінюється з тіолвмісною молекулою в розчині — орто-тіокарбораном [55, 109, 113].

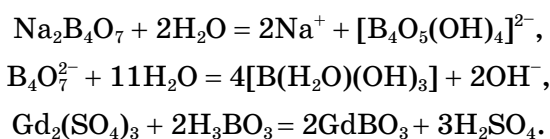
Будову наноконкомпозитів Fe₃O₄/ДМСК/карборан підтверджено фі-

зико-хімічними методами (рентгенівська дифракція, ІЧ-Фур'є- і рентгенівська фотоелектронна спектроскопія).

Синтезовані наноккомпозити $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{карборан}$ можуть бути перспективними для використання в якості ефективного агента в нейтронзахватній терапії з МРТ-діагностикою в режимі реального часу.

4.4. Синтез комбінованих бор/гадолінійвмісних наноккомпозитів

Використання бору є ефективним у нейтронзахватній терапії, а його наявність у складі нейтронзахватного агента одночасно з гадолінієм є додатковим активатором процесу НЗТ. Схема хімічної реакції, що відбувається в процесі синтезу комбінованого В-Gd-вмісного препарату має вигляд:



При розчиненні тетраборату натрію у воді відбувається дисоціація солі з утворенням гідратованого аніона $[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4]^{2-}$. Гідратований тетраборат-іон має складну будову. Два атома бору знаходяться в тетраедричному оточенні (sp^3 -гібридизація атомових орбіталей), а ще два — в пласкотрикутному (sp^2 -гібридизація). При подальшій взаємодії з водою цей складний аніон перетворюється на чотири молекули $\text{B}(\text{OH})_3$.

Магнеточутливі Fe-B-Gd-вмісні наноккомпозити $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GdBO}_3$ одержано осадженням борату гадолінію на поверхні магнетиту.

РФС-спектри Gd4d-рівня для зразків $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GdBO}_3$ наведено на рис. 4.13. Максимуми в області 143,2 еВ та 148,9 еВ належать, відповідно, Gd4d_{5/2} та Gd4d_{3/2} внутрішнім рівням атомів гадолінію.

У РФС-спектрах В1s-рівня (рис. 4.14) інтенсивність сигналу бору невисока, що дозволяє ідентифікувати його присутність, однак унеможлиблювала визначення його хімічного стану.

В результаті синтезу борат гадолінію утворюється у вигляді аморфної фази. Для надання ступеня кристалічності, достатнього для визначення методом РФА, зразки чистого GdBO_3 були відпалені при 950°C протягом 6 годин. Після відпалювання у зразку була ідентифікована основна фаза GdBO_3 (JCPDS 13-0483).

Застосований метод одержання наноккомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GdBO}_3$ може бути перспективним з міркувань одержання нанорозмірного неорганічного сцинтилятора на поверхні В-Gd-вмісного магнеточутливого носія.

Як відомо, завдяки унікальним властивостям, крім НЗТ, боратні

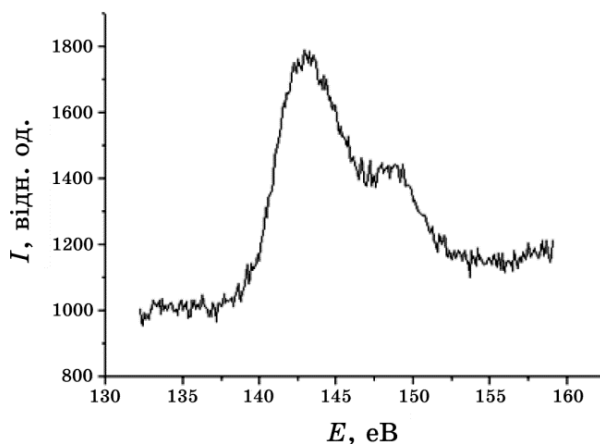


Рис. 4.13. РФС-спектри Gd4d-рівня для композитів Fe₃O₄/GdBO₃.

матеріали на сьогодні широко застосовуються в інших галузях. Так, наприклад, боратним матеріалам притаманні: велика ширина забороненої зони, прозорість у вакуумній ультрафіолетовій області, винятково високі оптичні пороги пошкодження тощо. Серед боратних люмінофорів одним з найкращих є активований європієм ітрій-гадолінієвий борат (Y,Gd)BO₃:Eu³⁺. Він використовується для одержання зображення червоного кольору в плазмових дисплеях. В люмінофорах типу GdBO₃:Tb³⁺, Yb³⁺ з використанням Ce³⁺ в якості кодопantu можливе досягнення рекордних значень квантового виходу [114].

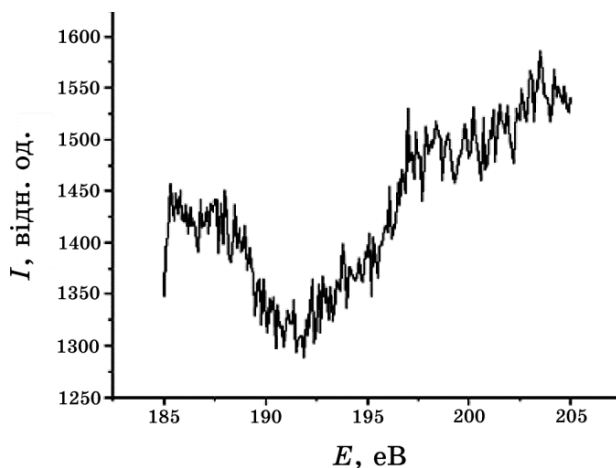


Рис. 4.14. РФС-спектри В1s-рівня для зразків Fe₃O₄/GdBO₃.

5. АДСОРБЦІЙНІ ВЛАСТИВОСТІ МАГНЕТОЧУТЛИВИХ НАНОСТРУКТУР

В [115] виконано огляд та аналіз робіт в галузях синтезу і дослідження властивостей магнеточутливих адсорбентів важких металів, білків та протипухлинних препаратів, що дозволяють оцінити сучасний стан, проблеми та перспективи зазначеного актуального науково-технічного напрямку. Основну увагу приділено одержанню адсорбентів на основі наноматеріалів та нанокомпозитів, хімічному модифікуванню і функціоналізації їх поверхні, опису застосувань і характеристик, можливості використання сучасних фізико-хімічних підходів до синтезу новітніх сорбційних матеріалів.

В даному розділі огляду наведено основні результати досліджень з метою реалізації концепції хімічного конструювання магнеточутливих нанокомпозитів з багаторівневою ієрархічною архітектурою та функціями медико-біологічних нанороботів в частині адсорбційних властивостей.

Як відомо, явище адсорбції складає основу багатьох способів розділення речовин, заснованих на вибіркового концентруванню компонентів газової або рідкої фази на поверхні твердотілого адсорбенту [116]. Вказаний метод є ефективним у багатьох випадках, а особливо в тих, коли інші технології розділення, наприклад із застосуванням перегонки, систем абсорбції або мембранних технологій, є не ефективними, або економічно не вигідними. Тому завдання вдосконалення відомих та вивчення нових адсорбційних процесів набуває усе більш важливого значення при створенні сучасних інноваційних технологій, вирішенні проблем захисту довкілля тощо та відкриває нові можливості їх використання.

Розвиток промислових технологій, медицини, біології та біотехнології стимулює пошук і впровадження в практику нових сорбентів і сорбційних процесів. Використання сорбентів з магнетними властивостями значно полегшує завдання розділення та збору речовин і мікробіологічних об'єктів [117, 118]. Застосування нанотехнологій, модифікування і функціоналізації поверхні сорбентів дозволяє пристосувати їх до експлуатації в різних фізичних, хімічних і біологічних умовах, керувати вибірковістю сорбції [3–7, 14–15, 118–120].

В останні роки з'явилася значна кількість публікацій і цікавих підходів, спрямованих на створення нових ефективних сорбційних матеріалів широкого функціонального призначення, що характеризуються унікальними властивостями [115]. Однак, як свідчать результати огляду наукової та патентної літератури, актуальним завданням залишається створення ефективних сорбентів іонів платини, зокрема, з рідких середовищ. Як відомо, платина є одним із найбільш дорогоцінних металів, тому її збір і концентрування з те-

хнологічних відходів є економічно вигідним.

Одним із актуальних напрямів використання сполук платини є виготовлення медичних препаратів цитотоксичної дії, що застосовуються в багатьох схемах сучасної онкотерапії. На сьогодні найширшого застосування в онкології набули протипухлинні препарати на основі *цис*-дихлордіамінплатини: *цисплатин* та його аналоги, що серійно випускаються в різних країнах у вигляді розчинів та ліофілізованих форм. Діючою речовиною *цисплатину* є сіль Пейроне, $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, *цис*-дихлордіамінплатина (II).

Важливо зазначити, що побічними ефектами терапії препаратами *цис*-дихлордіамінплатини є виникнення токсико-алергічних реакцій організму. Тому, пошук шляхів адсорбційного вилучення іонів платини з метою детоксикації організму та утилізації лікарських засобів, що втратили придатність, є особливо актуальним.

Відмітимо, що спосіб адсорбційної іммобілізації лікарського препарату *цисплатин* на поверхні магнеточутливих носіїв з модифікованою поверхнею та поліфункціональних наноконструктивів з метою створення нових форм онкологічних лікарських засобів цитотоксичного механізму дії описано в 2.5.5. Однак, завдання постановки цілеспрямованих досліджень, присвячених розробці новітніх магнеточутливих медико-біологічних адсорбентів для вилучення біологічно активних комплексів платини та детоксикації організму, як свідчать літературні дані, залишається актуальним як з наукової, так і прикладної точок зору.

5.1. Адсорбція комплексів *цис*-дихлордіамінплатини наноструктурами на основі магнетиту

Нижче наведено результати досліджень адсорбції комплексів *цис*-дихлордіамінплатини на поверхні нанорозмірного магнетиту та наноконструктивів складу $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$.

Задачі роботи включали синтез нанорозмірного однодоменного магнетиту, хімічне модифікування його поверхні, дослідження адсорбційних властивостей магнетиту і наноконструктивів з різною хімічною природою поверхні по відношенню до комплексів платини.

Вибір нанорозмірного магнетиту у якості вихідного матеріалу зумовлено його унікальними фізико-хімічними властивостями, прийнятною біосумісністю, накопиченим досвідом у галузі модифікування поверхні, можливостями керування рухом наночастинок в рідких середовищах за допомогою зовнішнього магнетного поля, застосування на стадіях розділення та вилучення адсорбентів методу магнетної сепарації, освоєння промислового виробництва магнетокерованих сорбційних матеріалів.

До особливостей однодоменного стану магнетних частинок можна віднести однорідність намагнетованості при любых значеннях і

напрямок поля **H**, можливість існування не лише у твердотільних феро- і ферімагнетних стопах і сполуках, але також і в рідинах (суспензіях), які одержують диспергуванням відповідних однодоменних частинок в рідких середовищах (більш детально в наступному розділі). Для намагнетування до насичення зразків суспензій однодоменних феромагнетних частинок, розподілених в діамагнетних матрицях, потрібні поля значно меншої напруженості, ніж у випадку багатодоменних. Створення в таких системах магнетної текстури, при якій осі легкого намагнетування частинок орієнтовані в одному напрямку (вісь текстури), призводить до збільшення намагнетованості і коерцитивної сили.

Методики синтезу, структура, властивості і дані стосовно біосумісності та функціональних груп поверхні досліджених наноструктур тощо досить детально наведено в попередніх розділах.

5.1.1. Дослідження адсорбції комплексів цис-дихлордіаміноплатини на поверхні магнетиту, нанокompatитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ та $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$

Адсорбцію на поверхні нанорозмірного магнетиту та нанокompatитів складу $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ здійснювали з розчинів цис-дихлордіаміноплатини у фізіологічній рідині. Розрахунки адсорбційної місткості наноструктур та концентрації розчинів проводили за вмістом Pt^{2+} -іонів.

Розчини цис-дихлордіаміноплатини готували в діапазоні концентрацій Pt^{2+} від 10 до 200 мг/л. Адсорбцію здійснювали у динамічному режимі при рН = 7,1 за кімнатної температури. До 0,1 г сорбенту додавали 0,03 л розчину цис-дихлордіаміноплатини і струшували протягом 3 годин на шейкері.

Адсорбційну місткість (*A*) на поверхні вихідного та модифікованого магнетиту визначали вимірюванням концентрації іонів Pt^{2+} в розчинах до і після адсорбції із застосуванням атомно-абсорбційного аналізу за допомогою спектрофотометра С-115 М у полум'яній суміші ацетилен-повітря. Вимірювання проводили при довжині хвилі 265,7 нм.

Місткість сорбенту *A* (мг/г) розраховували за методикою 2.5.5.

Коефіцієнти розподілу *E* (л/г) іонів Pt^{2+} між поверхнею нанокompatиту та розчином розраховували за формулою $E = A/C_p$, ступінь вилучення *R* визначали за формулою $R = [(C_0 - C_p)/C_0] \cdot 100\%$.

Одержані результати (рис. 5.1, *a-ж*) свідчили про залежність адсорбційних властивостей поверхні синтезованих зразків щодо комплексів цис-дихлордіаміноплатини. В цілому, із експериментальних даних видно, що зростання рівноважної концентрації цис-дихлордіаміноплатини призводить до адсорбційного насичення моношару поверхні адсорбентів (рис. 5.1, *a-г*). Така форма ізотерм може бути

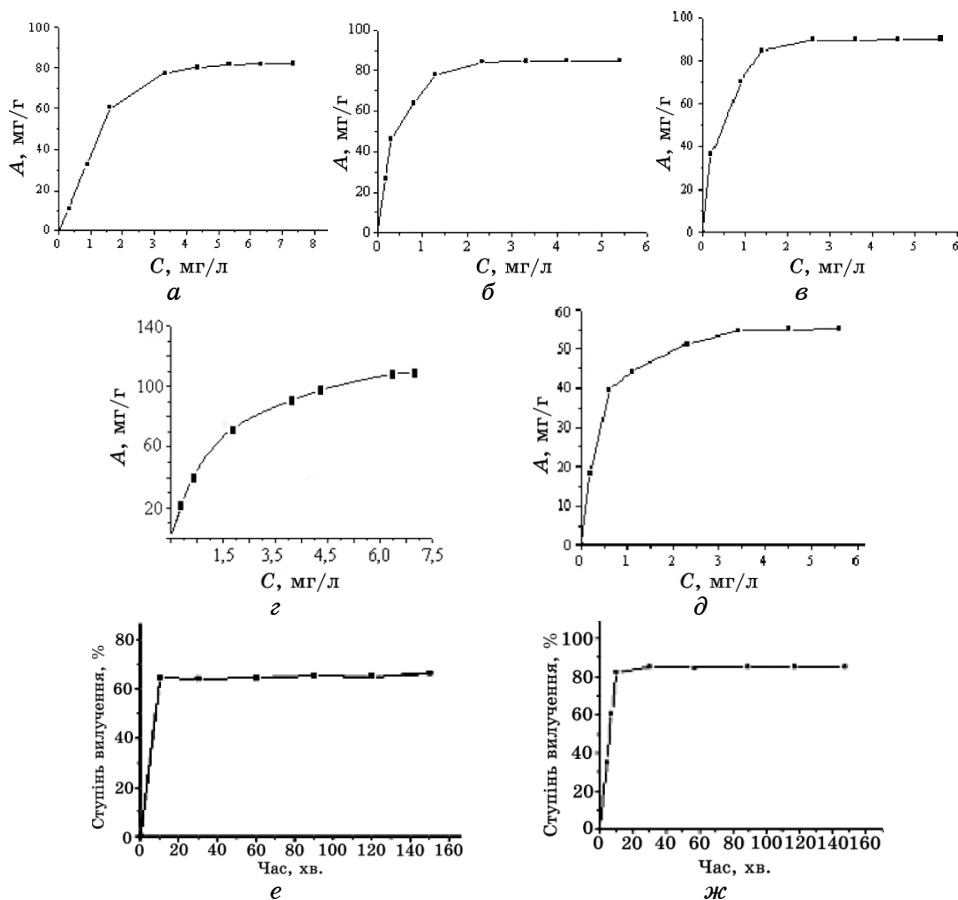


Рис. 5.1. Ізотерми адсорбції комплексів *цис*-дихлордіамінплатини нанорозмірним Fe₃O₄ (а), нанокompозитами Fe₃O₄/ДМСК (б), Fe₃O₄/γ-АПС(в), Fe₃O₄/ПАА (д) і Fe₃O₄/ГА (е); кінетика вилучення комплексів монодоменим Fe₃O₄, нанокompозитом Fe₃O₄/ДМСК (з).

описана Ленгмюровим рівнянням, що справедливо для адсорбентів з енергетично еквівалентними адсорбційними центрами.

Слід відмітити досить значну адсорбційну активність нанорозмірного немодифікованого магнетиту. Так, для Fe₃O₄ при 298 К $A_{\max} = 80,1$ мг/г (рис. 5.1, а) ступінь вилучення становить 66,2%. Модифікування поверхні магнетиту ДМСК, γ-АПС, ПАА та ГА порізно змінює його адсорбційні показники щодо комплексів *цис*-дихлордіамінплатини.

Так, поява на поверхні Fe₃O₄ тиольних функціональних груп після модифікування його *мезо*-2,3-димеркаптосукциновою кислотою, збільшує адсорбційну місткість магнетиту. Для Fe₃O₄/ДМСК

$A_{\max} = 83,4$ мг/г (рис. 5.1, б), а ступінь вилучення досягає 85,4%. Дані функціональні групи підвищують іммобілізацію *цис*-дихлордіаміноплатини на поверхні композиту.

Утворення на поверхні Fe_3O_4 активних $-\text{NH}_2$ -груп в результаті модифікування його γ -АПС призводить до зростання адсорбційної місткості магнеточутливих наноконкомпозитів (рис. 5, в). Величина A_{\max} , одержана з відповідної ізотерми адсорбції для композиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС при 298 К, становить 84 мг/г при ступені вилучення у 93,8%.

Ще більші значення адсорбції *цис*-дихлордіаміноплатини спостерігались на поверхні наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$. Величина A_{\max} , одержана з відповідної ізотерми адсорбції для композиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$, становила 109,5 мг/г при ступені вилучення у 99,9% (рис. 5.1, г).

Наведені експериментальні дані свідчать про покращення адсорбційних показників магнетиту після утворення на його поверхні в результаті модифікування тіольних та аміногруп.

Модифікування магнетиту гідроксоапатитом, на відміну від ДМСК, γ -АПС та ПАА, зменшує адсорбційну активність наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ по відношенню до комплексів *цис*-дихлордіаміноплатини (рис. 5.1, д). Як свідчать експериментальні дані, адсорбція комплексів зменшується: $A_{\max} = 54$ мг/г, ступінь вилучення 64,8%.

Можливо, це відбувається внаслідок зменшення кількості гідроксильних груп на поверхні наноконкомпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, порівняно з поверхнею вихідного магнетиту.

Кінетичні дослідження адсорбційного вилучення комплексів *цис*-дихлордіаміноплатини нанорозмірним Fe_3O_4 та наноконкомпозитами $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ (рис. 5.1, е, ж), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ (рис. 2.35); кінетика вилучення комплексів монодоменим Fe_3O_4 , наноконкомпозитом $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ (в) свідчать, що відповідні характеристики є якісно аналогічними, а основна частина *цис*-дихлордіаміноплатини адсорбується вже за перші 10–30 хвилин.

В таблиці 5.1 наведено адсорбційну місткість магнеточутливих наноструктур на основі однодоменого магнетиту A , мг/г (за катіо-

ТАБЛИЦЯ 5.1. Адсорбція *цис*-дихлордіаміноплатини наноструктурами з різною хімічною природою поверхні.

| Тип наноструктури | Адсорбційна місткість A , мг/г | Коефіцієнт розподілу E , л/г | Ступінь вилучення R , % |
|-------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| Fe_3O_4 | 80,10 | 2,16 | 66,20 |
| $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ | 83,40 | 4,77 | 85,40 |
| $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС | 84,00 | 12,92 | 93,80 |
| $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ | 109,5 | 16,2 | 99,90 |
| $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ | 54,00 | 1,08 | 64,80 |
| SiO_2 | 75,10 | 2,50 | 65,50 |
| $\text{SiO}_2/\text{ДМСК}$ | 80,20 | 4,41 | 74,40 |

нами Pt^{2+}) з різною хімічною природою поверхні, обчислені коефіцієнти розподілу (E , л/г) та ступінь вилучення (R , %) при максимальній концентрації вихідного розчину $C_0 = 200$ мг/л і наважці 0,1 г. Для порівняння наведено характеристики адсорбції комплексів *цис*-дихлордіамінплатини медичним препаратом «Силікс» та спеціально синтезованими наноконкомпозитами SiO_2 /ДМСК (виготовленими на основі пірогенного нанорозмірного кремнезему, який є субстанцією для виробництва препарату «Силікс» та його похідних).

Видно, що природа поверхні наноконкомпозиту істотно впливає величину адсорбції та коефіцієнт розподілу E . Так, у разі модифікування магнетиту ДМСК, АПС та ПАА коефіцієнти розподілу значно перевищують відповідні величини для вихідного Fe_3O_4 та модифікованого ГА і відображають зсув рівноваги в бік іммобілізації речовини на поверхні. Останнє може свідчити про активну участь введених функціональних тіольних та аміногруп в процесах адсорбції комплексів *цис*-дихлордіамінплатини.

Найкращі адсорбційні параметри спостерігались у наноконкомпозитів Fe_3O_4 /ПАА та Fe_3O_4 /γ-АПС. Можливо, це пов'язано з схильністю аміногруп до утворення комплексів з іонами платини. Як відомо, наявність гідроксильних груп на поверхні наноструктур може спричиняти іонообмінний механізм адсорбції, в той час як поверхневі аміногрупи схильні до комплексоутворення [121].

Найвищі параметри адсорбції зафіксовані на композитах Fe_3O_4 /ПАА, що може бути обумовлено наявністю розвиненої поверхні поліакриламідного покриття, характерної для використаного способу полімеризації.

Відмітимо, що адсорбцію саме комплексів *цис*-дихлордіамінплатини на поверхні синтезованих наноструктур підтверджено експериментально спектральними методами та дослідженнями цитотоксичності адсорбованої речовини на клітинних лініях.

Наведені результати свідчать про перспективність використання нанорозмірного магнетиту і наноконкомпозитів на його основі для створення магнеточутливих адсорбентів *цис*-дихлордіамінплатини, зокрема, медико-біологічного призначення.

На завершення вкажемо, що дослідженням адсорбції важких металів та біологічних молекул на поверхні магнеточутливих наноструктур з різною природою поверхні на основі магнетиту присвячено роботи [20, 122, 123], відповідно.

6. НАНОРОЗМІРНИЙ МАГНЕТИТ ТА НАНОКОМПОЗИТИ НА ЙОГО ОСНОВІ В СКЛАДІ МАГНЕТНОЇ РІДИНИ

Нанорозмірний магнетит у складі магнетних рідин (МР) широко використовується в медицині (гіпертермія [124, 125], магнетна резонансна томографія [126], спрямована доставка лікарських препа-

ратів [127–128] тощо). Дослідження магнетних рідин та їх дисперсних компонентів активно розвиваються [129].

В якості дисперсної фази МР застосовують частинки феро- або ферімагнетиків, які є сильномагнетними речовинами і намагнетовуються в порівняно слабких полях ($H = 1-100$ Е). Для запобігання коагуляції частинок через вплив Ван-дер-Ваальсових сил, а також магнетних сил у разі сильного зовнішнього поля, використовують поверхнево-активні речовини (ПАР). ПАР адсорбуються на поверхні дисперсних частинок і утворюють захисну оболонку — структурно-механічний бар'єр. Стійкість МР визначається розміром частинок (d), намагнетованістю і щільністю дисперсного наповнювача, температурою, в'язкістю, а також властивостями ПАР. За оцінками Фертмана, Розенцвейга і Шліоміса [26, 131, 132] МР, що містить частинки магнетиту, стабілізовані шаром молекул олеїнової кислоти, буде стійкою системою щодо седиментації в полі сили тяжіння; магнетної та Ван-дер-Ваальсової агломерації; осадження в неоднорідному полі зовнішнього магнетного джерела – наприклад, типового лабораторного постійного магнету ($H = 8 \cdot 10^4$ А·м⁻¹) при температурі 298 К за умови $d < 10$ нм. Такі МР не розшаровуються і зберігаються як колоїдні системи практично необмежений час.

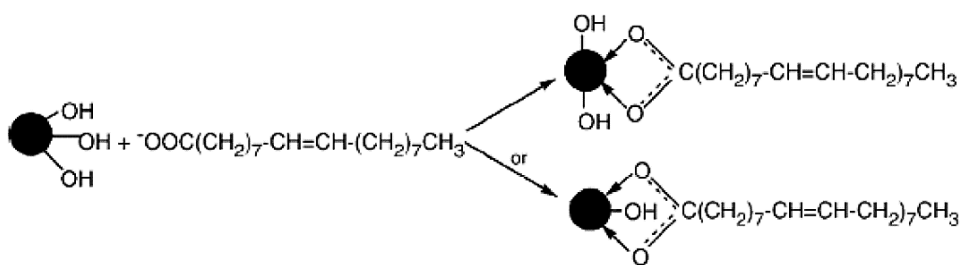
В даному розділі для виготовлення МР у якості високодисперсного наповнювача використовували описані раніше наночастинки магнетиту (2×2) та нанокомпозити на його основі.

Нанокомпозити характеризувались структурою типу ядро-оболонка і містили модифікатор на поверхні Fe₃O₄ та лікарські препарати, цитостатики цисплатин (ЦП), доксорубіцин (ДР) або нейтронзахватні агенти.

У якості дисперсійної фази МР були використані дистильована вода, фізіологічний розчин, фосфатний буфер.

Для стабілізації поверхні наночастинок і нанокомпозитів використовували олеат натрію C₈H₁₇CH = CH(CH₂)₇CO–ONa. Згідно з методикою на 10 г твердої магнетної фази витрачалося 7,5 г олеату натрію.

Молекули олеату натрію зв'язуються з атомами заліза через гідроксильну групу:



Площа, яку займають молекули олеату натрію, становить $\approx 0,36$

нм² [132].

Очистку синтезованих магнетних рідин проводили діалізом проти 3 л води. Властивості частинок у зразках вивчали методами електронної мікроскопії, рентгенофазового аналізу, рентгенівської фотоелектронної спектроскопії та вібраційної.

6.1. Магнетні рідини на основі однодоменого магнетиту

Синтез магнетиту для МР здійснювали за методикою [42]. Методом рентгеноструктурного аналізу ідентифіковано фазу Fe₃O₄ (рис. 2.2). Методами електронної мікроскопії встановлено, що частинки характеризувались розмірами 3–23 нм і еліпсоїдною формою.

При виготовленні МР витримували оптимальне співвідношення масових долей магнетиту до олеату натрію — 1:0,75. Поверхнева концентрація олеату натрію в дослідженому ансамблі (рис. 6.1, а) становить $c_{\text{Ol.Na}}^{\text{мас}} = 0,23 \pm 0,06$, отже відношення масових долей магнетиту і молекул олеата натрію поверхневого шару дорівнює 1: (0,30 ± 0,12). Таким чином, олеат натрію в системі Fe₃O₄–Ol.Na–H₂O розподіляється наступним чином: дві його частини зв'язуються з поверхнею частинок магнетиту, а три частини залишаються в об'ємі води.

На рисунку 6.1 наведено ТЕМ-зображення масиву частинок магнетиту (а), гістограма розподілу за розмірами N частинок (б), які знаходяться в обведених ділянці з середнім арифметичним значенням розміру в ансамблі $d_0 = 9,38$ нм і середньоквадратичним відхиленням від середнього розміру $\sigma_d = 3,38$ нм, і крива логарифмічно нормального розподілу з параметрами: математичне очікування розміру $M(d) = 9,38$ нм і $\sigma_d = 3,38$ нм (б).

Теоретичну частоту m_i наявності в ансамблі з таким розподілом

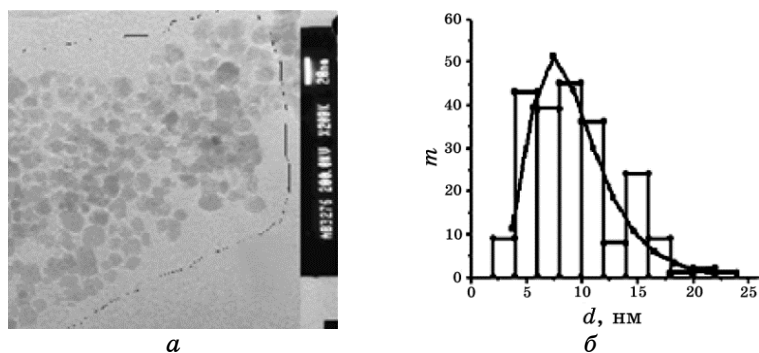


Рис. 6.1. ТЕМ-зображення частинок магнетиту (а), гістограма розподілу за розмірами частинок (з обведеної ділянки) і крива логарифмічно нормального розподілу з параметрами: $M(d) = 9,38$ нм і $\sigma_d = 3,38$ нм (б).

частинки розміру, який належить i -тому інтервалу і приходить на його середину, розраховували за формулою

$$m_i = Nhf(d_i), \quad (6.1)$$

$$\text{де } f(d_i) = \frac{1}{d_i \sigma_{\ln d} \sqrt{2\pi}} e^{-[\ln d_i - M(\ln d)]^2 / 2\sigma_{\ln d}^2},$$

$$h = (\ln d_{\max} - \ln d_{\min}) / 11 \quad (6.2)$$

— ширина інтервалу, $M(\ln d)$; $\sigma_{\ln d}$ — математичне очікування і середньоквадратичне відхилення логарифма розміру, відповідно; $N = 217$.

В [133] показано, що умова абсолютної однодоменності (однорідної намагнетованості при всіх значеннях перемагнетувального поля) частинки магнетиту при 300 К виконується при $d < 50$ нм. Отже, частинки дослідженого ансамблю розмірами 3–23 нм є абсолютно однодоменними.

На основі аналізу літературних даних щодо значень питомої намагнетованості насичення (σ_s) монодисперсій магнетиту з різним діаметром частинок було одержано емпіричну залежність

$$\sigma_s = a - \frac{b}{1 + e^{\left(\frac{d}{c} - 2,1\right)}}, \quad (6.3)$$

де постійні a , b і c становлять 82,0 Гс·г⁻¹·см³, 92,2 Гс·г⁻¹·см³ і 3 нм відповідно, яка дозволяє знайти σ_s частинки діаметром d (нм) в діапазоні 4–42 нм.

Характерний час теплових флуктуацій (τ_N) магнетного моменту однодоменної частинки з одноосною анізотропією за умови $KV/(k_B T) \geq 1$ визначали за формулою Нееля [134]:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\{(KV)/(k_B T)\}, \quad (6.4)$$

де $\tau_0 = \text{const} = 10^{-9} - 10^{-13}$ с, K — густина енергії магнетної анізотропії; V — об'єм частинки; k_B — Больцманова стала; T — температура. Він швидко зростає зі збільшенням об'єму частинки. Наприклад, при $\tau_0 = 10^{-9}$ с, $K = 1,4 \cdot 10^5$ ерг/см³ (значення для магнетиту [130]) і $T = 300$ К τ_N складає 4,4·10⁻⁹ с, 2,0·10⁻³ с і 10,0 с для сферичних частинок діаметрів 9,4 нм, 20,0 нм і 23,4 нм відповідно.

Температура блокування (T_b) відповідає умові $t_{\text{вим}} = \tau_N$, де $t_{\text{вим}}$ — час вимірювання магнетних характеристик. Якщо $t_{\text{вим}} = 10$ с, $\tau_0 = 10^{-9}$ с, то з формули (6.4) одержуємо $KV/(k_B T) \approx 23,0$. Тоді $T_b \approx KV/(23k_B)$. Температура блокування для дослідженого ансамблю частинок ($d_0 = 9,38$ нм) складала 135–150 К при значенні намагнетувального поля 100 Е. Частинки магнетиту з $d > 23,4$ нм блоку-

ються при $\cong 300$ К і відповідають за гістерезис (рис. 6.2, а).

Рівноважна намагнетованість таких ансамблів досягається за Неєлевым механізмом релаксації магнетних моментів частинок (формула (6.4)).

Для одержання співвідношень, справедливих для ансамблю однакових суперпарамагнетних частинок, використовують класичний закон П. Ланжевена, що описує намагнетованість ансамблю молекул парамагнетного газу [130]:

$$\frac{\bar{m}}{m} = \text{cth}\alpha - \alpha^{-1} \equiv L(\alpha),$$

де \bar{m} — компонента середнього магнетного моменту частинки вздовж напрямку поля напруженості H , m — абсолютна величина магнетного моменту частинки; $L(\alpha)$ — Ланжевенівська функція; $\alpha = mH/(k_B T)$.

Для монодисперсної колоїдної МР:

$$\frac{\bar{m}}{m} = \frac{M(H)}{\phi M_d} = \frac{M(H)}{M_s} = L(\alpha), \quad \alpha = \frac{\pi}{6} \frac{M_d H d^3}{k_B T},$$

де $M(H)$ — намагнетованість МР в полі H , M_d і M_s — намагнетованість насичення твердого магнетика і магнетної рідини відповідно, ϕ — об'ємна доля твердої фракції.

Для полідисперсної колоїдної МР на основі магнетиту [130]:

$$\frac{M(H)}{\phi M_d} = \frac{\sum_i n_i (d_i - d_s)^3 L\left(\frac{M_d H}{k_B T} \frac{\pi}{6} (d_i - d_s)^3\right)}{\sum_i n_i d_i^3}, \quad M(H) = n \bar{m}, \quad M_s = n m, \tag{6.5}$$

де d_i — зовнішній діаметр частинки; $d_i - d_s$ — діаметр магнетного ядра; n і n_i — кількість всіх частинок і частинок i -го діаметру в одиничному об'ємі МР відповідно, $M_d = \rho_{\text{Fe}_3\text{O}_4} \sigma_{\text{sFe}_3\text{O}_4} \approx 5,24 \text{ г}\cdot\text{см}^{-3} \cdot 92,0 \text{ Гс}\cdot\text{г}^{-1}\cdot\text{см}^3 \approx 482,1 \text{ Гс}$.

Було виявлено [130], що для узгодження експериментальної кривої намагнетування з теоретичною, необхідно допустити, що частинки мають слабкомагнетний шар товщиною $d_s/2 = 0,83$ нм (постійна ґратниці магнетиту при 300 К становить 0,824 нм). Виникнення згаданого шару вважали результатом хімічної взаємодії частинки з стабілізуючою поверхнево-активною речовиною [131]. Однак, вимірюваннями Мессбауєрових спектрів колоїдних частинок Fe_3O_4 його зафіксовано не було [26].

Узгодження вказаних кривих нами було досягнуто не шляхом

внесення в формулу (6.5) параметру d_s слабкомагнетного шару, а при допущенні, що M_d залежить від діаметру частинки: $M_d = \rho_{\text{Fe}_3\text{O}_4} \sigma_s$, де значення σ_s розраховували за формулою (6.3). Тоді

$$\frac{M(H)}{M_s} = \frac{\sum_{i=1}^{11} m_i d_i^3 \sigma_s(d_i) L\left(\frac{\rho \sigma_s(d_i) H}{k_B T} \frac{\pi}{6} d_i^3\right)}{\sum_{i=1}^{11} m_i d_i^3 \sigma_s(d_i)}, \quad (6.5')$$

де m_i розраховували за формулою (6.1).

Петлі гістерезису магнетного моменту зразків вимірювали за допомогою вібраційного магнетометра на частоті 228 Гц при кімнатній температурі. Опис установки і методика вимірювань викладено в [135]. Для досліджень використовували сухі розмагнетовані високодисперсні зразки.

На рисунку 6.2, *a* наведено криву магнетного гістерезису ансамблю наночастинок Fe_3O_4 з модифікованою поверхнею олеатом натрію (ол.На). Це модифікування здійснено з метою запобігання агрегації наночастинок магнетиту і, як свідчили експериментальні результати, практично не впливає на намагнетування окремих частинок.

У багатьох практично важливих випадках виконання функцій наночастинок і нанокомпозитів на їх основі (спрямований транспорт лікарських препаратів до органів- і клітин-мішеней, розпізнавання і деконтамінація вірусів тощо) здійснюється в рідких середовищах. Крім того, рідина є найбільш переважною формою магнеточутливих лікарських препаратів для введення в організм по кровоносній системі [7].

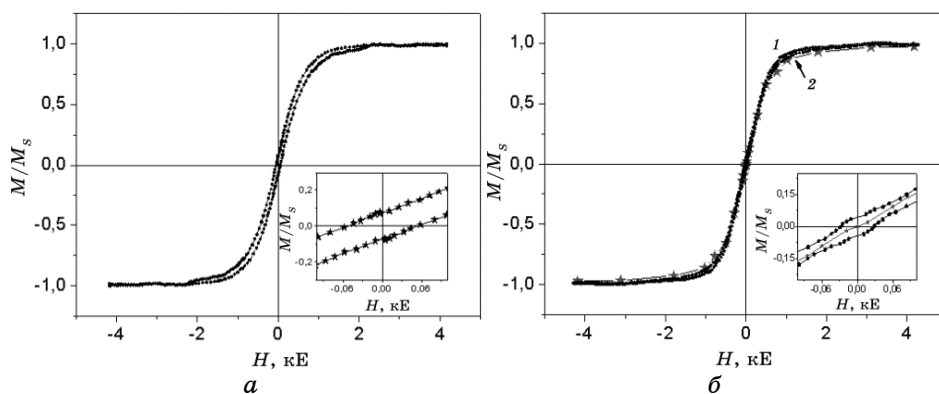


Рис. 6.2. Криві магнетного гістерезису ансамблю модифікованих наночастинок Fe_3O_4 /ол.На (*a*) та магнетної рідини Fe_3O_4 /ол.На + H_2O (*б*). M_s — намагнетованість насичення наночастинок у матриці. На вставках — початкові ділянки кривих.

У магнетних рідинах (МР) наночастинки здійснюють Броунів поступальний та обертальний рух, і рівноважна намагнетованість МР у прикладеному магнетному полі може бути досягнута шляхом обертання самих частинок відносно дисперсійного середовища. Такий механізм релаксації намагнетованости характеризується броунівським часом обертальної дифузії τ_B , який визначається об'ємом частинки, в'язкістю середовища η та температурою. Для МР на водній основі ($\eta = 0,07 \text{ г}\cdot\text{с}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$) для сферичних частинок розмірами $d = 6$ та 34 нм τ_B складає 10^{-6} та 10^{-4} с відповідно. При $t_{\text{вим}} = 10 \text{ с}$ рівноважна намагнетованість МР встигає встановитися і $\sigma(H)$ характеризується значно меншим гістерезисом (рис. 6.2, б).

На рисунку 6.2, б наведено польові залежності нормованої намагнетованости МР складу $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол. Na} + \text{H}_2\text{O}$: експериментальна (крива 1) та теоретична, розрахована за формулою (6.5') (крива 2). Їх добре суміщення свідчить, що використані теоретичні підходи задовільно описують магнетні властивості таких складних систем, як магнетні рідини, а за експериментально вимірним розподілом наночастинок в ансамблі можна розрахувати криву намагнетування магнетної рідини на їх основі.

6.2. Наноккомпозити у складі магнетних рідин

Результати досліджень останніх років свідчать про перспективність використання магнетокерованих наноккомпозитів на основі оксидів заліза і протипухлинних препаратів різного механізму дії для вирішення ряду актуальних задач сучасної онкології [3–6]. У [7, 14] проаналізовано наукові та прикладні аспекти, пов'язані з сучасними підходами до створення новітніх лікарських форм, використанням хімічного дизайну поліфункціональних наноккомпозитів медико-біологічного призначення із багаторівневою архітектурою та запрограмованим комплексом функцій на основі магнетиту та цитостатиків широкого спектру дії — цисплатину та доксорубіцину, які використовуються практично за всіма схемами онкотерапії та відрізняються механізмами цитотоксичности.

Основні властивості цисплатину наведено в 2.5.5. Доксорубіцин виявляє високу протипухлинну, протилейкозну та імуносупресивну активність, має здатність інтеркалювати ДНК клітин, пригнічувати кровотворення. Механізм дії доксорубіцину полягає у взаємодії з ДНК, утворенні вільних радикалів і прямій дії на мембрани клітин з пригніченням синтезу нуклеїнових кислот. Клітини чутливі до препарату в S- і G2-фазах.

Тому для виготовлення зразків дослідних магнетних рідин з цитотоксичними властивостями використовували цитостатики цисплатин та доксорубіцин.

Досліджено ансамблі частинок Fe_3O_4 , стабілізованих олеатом на-

трію і модифікованих поліетиленгліколем (ПЕГ). Модифікування поверхні наночастинок ПЕГ проводили з метою підвищення стабільності магнетної рідини та зменшення агрегації частинок. Крім того, при використанні магнетної рідини у біологічному середовищі наявність полімерних ланцюгів ефективно перешкоджає адсорбції різних біомолекул на поверхні наноконструкції, в тому числі, їх аглютинації активними агентами, що входять до складу крові. Очищення синтезованих магнетних рідин здійснювалося діалізом проти 3л води.

Імобілізацію цисплатину проведено у системах: $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ та $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$.

Одержані зразки синтезованих магнетних рідин досліджено методами ІЧ-Фур'є-спектроскопії та рентгенофазового аналізу, підтверджено збереження фази Fe_3O_4 і утворення стабілізуючої фази олеату Na та поліетиленгліколю у складі магнетної рідини.

Вивчено залежність магнетних характеристик зразків від архітектури наноконструкції. Досліджено вплив концентрації ПЕГ, ЦП та діалізу на магнетні і розмірні характеристики колоїдних систем $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$. Було виміряно польові залежності питомої намагнетованості $\sigma = M/\rho$ (M і ρ — намагнетованість і густина відповідно) зразків залежно від хімічної природи модифікатора поверхні магнетиту. Встановлено, що значення коерцитивної сили (H_c) залежить від розмірів і форми частинок, а також від сили магнетної взаємодії між ними. У більшості випадків взаємодія між частинками призводила до зменшення H_c .

Наявність гістерезису зразків пояснюється тим, що певний об'єм ансамблю частинок магнетиту займають частинки більшого розміру, ніж суперпарамагнетна межа для частинок Fe_3O_4 за кімнатної температури. Можна припустити, що після хімічного модифікування розміри стабілізованих частинок магнетиту і закономірність їх розподілу по розмірах не змінюється. На рисунку 6.3 наведені петлі гістерезису наноконструкцій $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$ (а) і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}/\text{ЦП}$ (адсорбційно іммобілізований ЦП (б)).

Масову концентрацію частинок магнетиту в ансамблі, стабілізованих олеатом натрію ($C_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{\text{мас}}$), знаходили як відношення питомих намагнетованостей насичення стабілізованих ($\sigma_s^{\text{стаб}}$) і вихідних ($\sigma_s^{\text{Fe}_3\text{O}_4}$) частинок: $C_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{\text{мас}} = \sigma_s^{\text{стаб}} / \sigma_s^{\text{Fe}_3\text{O}_4}$. Розрахунок, що ґрунтується на геометричних моделях, показує, що товщина шару олеату натрію на поверхні більшості досліджених частинок складає ≈ 1 нм. Масову концентрацію частинок магнетиту, стабілізованих олеатом натрію в ансамблі частинок, модифікованих ПЕГ, $C_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{\text{мас}}/\text{ол.На}$ знаходили, як відношення питомих намагнетованостей насичення модифікованих ($\sigma_s^{\text{мод}}$) і стабілізованих ($\sigma_s^{\text{стаб}}$) частинок: $C_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{\text{мас}}/\text{ол.На} = \sigma_s^{\text{мод}} / \sigma_s^{\text{стаб}}$.

У таблицях 6.1, 6.2 наведені значення H_c , σ_s , відносної залишкової намагнетованості M_r/M_s , а також масові концентрації вихідного магнетиту і магнетиту, стабілізованого олеатом натрію в синтезованих

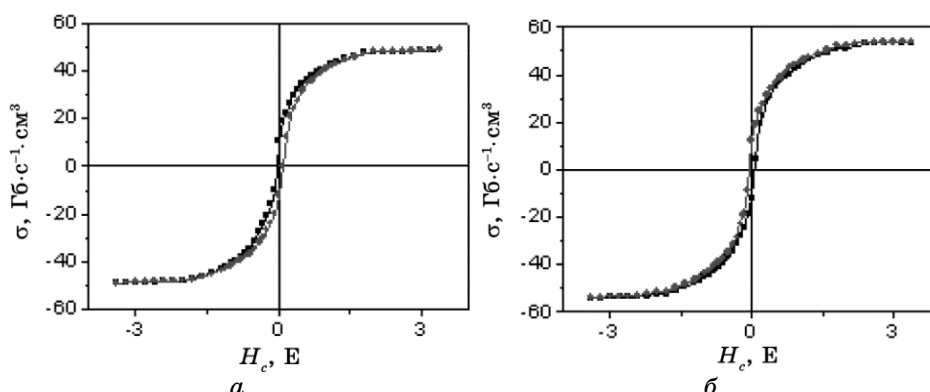


Рис. 6.3. Петлі гістерезису зразків: *a* — $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$; *б* — $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ЦП}$.

ансамблях наночастинок систем $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$; значення середнього розміру частинок в зразках, розраховані за допомогою формули Шеррера ($D_{\text{рФА}}$). Характеристики вихідного магнетиту наведено для кімнатної температури та рідкого азоту. Наведено також значення $C_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{\text{мас}}$ (%) в системі $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$, $C_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{\text{мас}}/\text{ол.На}$ (%) в системі $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$, $C_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{\text{мас}}$ (%) в системі $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$.

Наведені дані свідчать, що збільшення концентрації ПЕГ в композитах призводить до зменшення їх питомої намагнетованості насичення і зниження концентрації магнетиту в композиті. Процес діалізу сприяє збільшенню концентрації магнетиту і, відповідно, питомої намагнетованості в системі $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$ (табл. 6.1).

Згідно одержаних експериментальних даних спостерігається збільшення намагнетованості насичення (σ_s) і відносної залишкової намагнетованості (M_r/M_s) зразків при адсорбції малих кількостей ЦП (0,5 мг в перерахунку на платину). При збільшенні концентрації ЦП (1,5 мг), σ_s композиту зменшуються (табл. 6.1). Цей ефект проявляється в обох системах — $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$. Можна припустити, що малі феромагнетні частинки мають дві спінові підсистеми, утворені атомами, що знаходяться на поверхні і в об'ємі [204]. В цьому випадку не виключений вплив атомів Pt на спінову підсистему, пов'язану з поверхневими атомами магнетиту таким чином, що намагнетованість частинки зростає.

Синтезовано та досліджено Gd-вмісні наноккомпозити магнетит/оксид гадолінію з структурою ядро/оболонка. В таблиці 6.2 наведено магнетні характеристики колоїдних систем магнетиту, допованого іонами гадолінію, а також фериту гадолінію, одержаного при відпалі зразків при 1000°C . Магнетні характеристики і масові концентрації наведено для двох систем: $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Gd}_2\text{O}_3/\text{ол.На}$ и $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Gd}_2\text{O}_3/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$.

ТАБЛИЦЯ 6.1. Вплив концентрації ПЕГ, ЦП та діалізу на магнетні і розмірні характеристики систем $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$.

| № | Наноструктура | T, К | H _c , Е | σ_s , Гс·см ³ /Г | M _r /M _s | C _{Fe₃O₄} ^{мкс} , % | D _{рф,А} , нм |
|----|---|------|--------------------|------------------------------------|--------------------------------|---|------------------------|
| 1 | Fe_3O_4 | 90 | 88,8 ± 0,5 | 72,0 ± 0,2 | 0,20 | 100 | 7,5 |
| 2 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ | 293 | 54,0 ± 0,5 | 54,2 ± 0,2 | 0,19 | 100 | 11,0 |
| 3 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ + діаліз | 293 | 56,0 | 50,7 | 0,16 | 94 | 10,5 |
| 4 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ + 18мг ПЕГ | — | 50,0 | 51,6 | 0,17 | 95 | 10,5 |
| 5 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ + 18мг ПЕГ + діаліз | — | 50,0 | 48,9 | 0,08 | 90 | 10,7 |
| 6 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ + 36мг ПЕГ | — | 50,0 | 49,5 | 0,09 | 91 | 10,7 |
| 7 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ + 180мг ПЕ | — | 50,0 | 45,2 | 0,11 | 84 | 10,7 |
| 8 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ + 180мг ПЕГ | — | 50,0 | 25,5 | 0,11 | 47 | 12,5 |
| 9 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ + 360мг ПЕГ | — | 50,0 | 24,8 | 0,11 | 46 | 13,7 |
| 10 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ + 0,5мг ЦП | — | 50,0 | 54,1 | 0,11 | ≅ 100 | 10,5 |
| 11 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ + 0,5 мг ЦП + діаліз | — | 50,0 | 54,3 | 0,13 | ≅ 100 | 10,6 |
| 12 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ + 1,5мг ЦП | — | 50,0 | 43,9 | 0,13 | 81 | 10,5 |
| 13 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$ + 0,5мг ЦП | — | 50,0 | 51,8 | 0,09 | 96 | 10,7 |
| 13 | $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$ + 0,5мг ЦП + діаліз | — | 50,0 | 52,7 | 0,11 | 97 | 10,8 |

ТАБЛИЦЯ 6.2. Вплив концентрації Gd^{3+} -іонів на магнетні і розмірні характеристики систем $Fe_3O_4/Gd_2O_3/ол. Na$.

| № | Наноструктура | H_c, E | $\sigma_s, \Gamma \cdot c \cdot cm^3 / \Gamma$ | $C_{Fe_3O_4}^{MRC}, \%$ | $C_{Fe_3O_4}^{OB}, \%$ | δ, nm | M_r/M | $D_{PFA}, nm (T_{снн} = 323 K)$ |
|---|-------------------------------|---------------|--|-------------------------|------------------------|--------------|---------|---------------------------------|
| 1 | Fe_3O_4 | $5,0 \pm 0,5$ | $4,2 \pm 0,2$ | 100 | 100 | 0 | 0,19 | 11,0 |
| 2 | Fe_3O_4/Gd_2O_3 | 106,5 | 33,0 | 61 | 4 | 1,9 | 0,47 | 13,8 |
| 4 | $Fe_3O_4/Gd_2O_3/ол. Na$ | 106,5 | 33,7 | 62 | | | 0,41 | 13,9 |
| 5 | $Fe_3O_4/2Gd_2O_3/ол. Na$ | 227,9 | 15,8 | 29 | | | 0,23 | 16,0 |
| 6 | $Fe_3O_4/Gd_2O_3/ол. Na/ПЕГ$ | 106,5 | 33,7 | 90 | | | 0,37 | 13,9 |
| 7 | $Fe_3O_4/2Gd_2O_3/ол. Na/ПЕГ$ | 227,5 | 15,9 | 89 | | | 0,18 | 16,1 |
| 8 | $GdFeO_3$ | 144,00 | 2,6 | — | | | 0,44 | 10,7 |

ТАБЛИЦЯ 6.3. Густина (ρ), питома намагнетованість насичення (σ_s), масова доля магнетиту в структурі ($m_{\text{Fe}_3\text{O}_4}/m_{\text{комп}}$), намагнетованість насичення (M_s), коерцитивна сила (H_c), питома залишкова намагнетованість нанокмпозитів M_r/M_s .

| | Наноструктура | ρ , г/см ³ | σ_s , Гс·см ³ /Г | $m_{\text{Fe}_3\text{O}_4}/m_{\text{комп}}$ | M_s , Гс | E | M_r/M_s |
|----|---|----------------------------|------------------------------------|---|------------|-------|-----------|
| 1 | Fe ₃ O ₄ /ол. Na + H ₂ O (MP) | 1,127 | 7,3 ± 0,2 | 0,106 ± 0,6 | 8,2 | ≅ 0,0 | 0,00 |
| 2 | Fe ₃ O ₄ /ол. Na | 2,290 | 25,0 ± 0,8 | 0,363 ± 0,8 | 57,1 | 69,0 | 0,08 |
| 2а | Fe ₃ O ₄ /ол. Na + H ₂ O (MP) | 1,130 | 5,5 ± 0,2 | 0,080 ± 0,05 | 6,2 | 22,0 | 0,02 |
| 3 | Fe ₃ O ₄ /ол. Na/ЦП | 3,320 | 29,8 ± 0,9 | 0,433 ± 0,06 | 98,9 | 56,0 | 0,11 |
| 3а | Fe ₃ O ₄ /ол. Na/ЦП + H ₂ O (MP) | 1,560 | 15,1 ± 0,5 | 0,219 ± 0,013 | 23,6 | 19,0 | 0,13 |
| 4 | Fe ₃ O ₄ /ГА/ДР | 1,143 | 49,4 ± 1,6 | 0,718 ± 0,043 | 56,5 | 81,0 | 0,13 |
| 4а | Fe ₃ O ₄ /ГА/ДР + H ₂ O (MP) | 1,057 | 16,4 ± 0,5 | 0,238 ± 0,014 | 17,3 | 50,0 | 0,09 |

Таким чином, експериментально досліджені основні властивості колоїдних систем на основі синтезованих наноконкомпозитів та розраховані їх розмірні параметри. Встановлено, що процес діалізу сприяє зростанню питомої намагнетованості в системі $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$.

Експериментально встановлено, що наявність шарів ДМСК, ГА, АПС, ПАА на поверхні магнетиту практично не впливала на магнетні властивості вихідного магнетиту (ядра наноконкомпозиту).

На магнетометрі з вібрувальним зразком (283 Гц, $t_{\text{вим}} \cong 100$ с) при температурі 290 К були виміряні криві намагнетування ансамблів наночастинок магнетиту, модифікованих олеатом натрію; наноконкомпозити на основі магнетиту, що містили гідроксоапатит, ол.На, цисплатин (0,5 мг) або доксорубіцин (ДР) (0,5 мг); магнетні рідини. Вказані результати, як приклад, наведено в табл. 6.3 та на рис. 6.4.

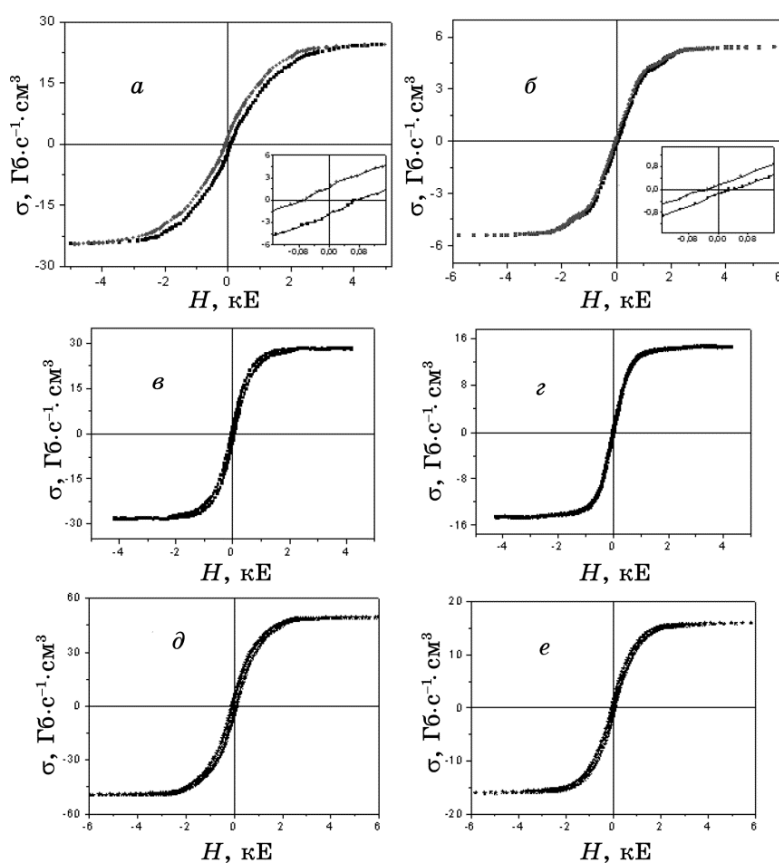


Рис. 6.4. Петлі гістерезису (на вставках — початкові ділянки) модифікованих наноконкомпозитів складу $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ (а), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ол.На}/\text{ЦП}$ (б) і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ол.На}/\text{ДР}$ (в) та їх МР (б), (з), (е), відповідно.

Таким чином, теорію магнетизму ансамблю частинок феромагнетика застосовано для опису магнетних властивостей синтезованих ферімагнетних наночастинок Fe_3O_4 , нових типів нанокомпозитів з функціями нанороботів і магнетних рідин медико-біологічного призначення на їх основі. За магнетними вимірюваннями з високою достовірністю можна визначити розмірні параметри ансамблів частинок.

Одержані результати будуть корисні при практичному використанні нанокомпозитів і магнетних рідин в онкотерапії.

Крім наведених в табл. 6.3 магнетних рідин, були синтезовані та досліджені магнетні рідини на основі води (фізіологічного розчину) та В- і Gd-вмісних нанокомпозитів.

6.3. Цитотоксичні властивості магнетних рідин *in vivo*

Зразки синтезованих магнетних рідин на основі нанокомпозитів з іммобілізованим цисплатином та додатково модифікованих поліетиленгліколем, було досліджено в Інституті експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Проведено визначення цитотоксичної дії на асцитній карциномі Ерліха та солідній карциномі Герена наступних нанокомпозитних МР: $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$, $C_{\text{Fe}_3\text{O}_4} = 3 \text{ мг/мл}$; $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}/\text{ЦП}$.

6.3.1. Дослідження цитотоксичної дії магнетних рідин на асцитну карциному Ерліха

Дослідження було проведено на мишах-самцях — гібридах (С57В1/6хДВА/21). Тваринам внутрішньочеревно перещеплювали асцитну карциному Ерліха по $2 \cdot 10^6$ клітин на тварину. Доза Fe_3O_4 складала 2 мг /кг маси тварин, доза цисплатину — 2 мг/кг маси тіла.

Протипухлинну активність досліджуваних МР визначали за середньою кількістю прожитих тваринами днів у порівнянні з контрольними мишами.

Процент гальмування росту (γ , %) асцитної пухлини Ерліха оцінювали за формулою:

$$\gamma = (\alpha/\beta) \cdot 100\%,$$

де α — різниця кількості прожитих днів у контрольній групі та кількості прожитих днів у піддослідній групі; β — кількість прожитих днів у контрольній групі.

За даними табл. 6.4 середня кількість прожитих днів у тварин контрольної групи й у тварин, яким вводили внутрішньочеревно магнетну рідину $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$, достовірно не відрізнялася. В

ТАБЛИЦЯ 6.4. Протипухлинна активність магнетних рідин щодо клітин асцитної карциноми Ерліха *in vivo*.

| Групи тварин | Тривалість життя, доба |
|---|------------------------|
| Контроль (фіз. розчин) | 17,0 ± 1,4 |
| ЦП | 23,0 ± 1,0* |
| Fe ₃ O ₄ /ол. Na/ПЕГ | 18,2 ± 1,1 |
| Fe ₃ O ₄ /ол. Na/ПЕГ/ЦП | 24,8 ± 1,2* |

Примітка: * достовірність < 0,05 у порівнянні з контролем.

той же час, з наведених даних видно, що у тварин, котрі одержували цисплатин у складі магнетної рідини (Fe₃O₄/ол. Na/ПЕГ/ЦП), спостерігалось достовірне збільшення тривалости життя на 35% та 46%, відповідно, у порівнянні з контрольною групою тварин.

Таким чином експериментально доведено ефективність використання магнетної рідини (Fe₃O₄/ол. Na/ПЕГ/ЦП) при лікуванні пухлин асцитної карциноми Ерліха.

6.3.2. Дослідження цитотоксичної дії магнетних рідин на солідну карциному Герена

Дослідження проведені на лабораторних щурах-самцях лінії Вістар масою 120 ± 5 гр (табл. 6.5). Тваринам, що досліджувались, перещеплювали підшкірно на спину 25% суспензію пухлинної тканини карциноми Герена у фізіологічному розчині (по 0,4 мл суспензії на тварину).

Встановлено, що контрольні дози цисплатину, гальмували ріст пухлини на 26,4% за масою. Показано, що у тварин, котрим вводили магнетну рідину Fe₃O₄/ол. Na/ПЕГ/ЦП, маса пухлини зменшувалась на 40,2% у порівнянні з контрольною групою. Найбільший

ТАБЛИЦЯ 6.5. Протипухлинна активність МР (Fe₃O₄/ол. Na/ПЕГ/ЦП) щодо клітин карциноми Герена (n = 10), у порівнянні з ЦП в залежності впливу (МП) *in vivo*.

| Групи тварин | Маса пухлини, г |
|--|-----------------|
| Контроль (фіз. розчин) | 31,8 ± 2,4 |
| ЦП | 23,4 ± 2,5* |
| ЦП + МП | 19,6 ± 2,9* |
| Fe ₃ O ₄ /ол. Na/ПЕГ/ЦП | 19,2 ± 2,1* |
| Fe ₃ O ₄ /ол. Na/ПЕГ/ЦП + МП | 13,4 ± 1,7** |

Примітка: * достовірність < 0,05 порівняно з контрольною групою;
** достовірність < 0,05 порівняно з 4-ю групою.

відсоток гальмування росту пухлин встановлено у тварин, котрим вводили магнетну рідину $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На/ПЕГ/ЦП}$ та накладали постійне магнетне поле. У цих тварин маса пухлин зменшувалась на 57,9% у порівнянні з контрольною групою.

Таким чином експериментально доведено ефективність використання магнетної рідини $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На/ПЕГ/ЦП}$ в умовах дії постійного магнетного поля при лікуванні пухлин карциноми Герена.

7. НАПРЯМИ ПОДАЛЬШОЇ РОБОТИ ТА ПРАКТИЧНОГО ВПРОВАДЖЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

В подальшому необхідно здійснити роботи з метою оптимізації повного технологічного циклу виготовлення медико-біологічних наноконструктивів та магнетних рідин на їх основі, проведення доклінічних та клінічних досліджень, з'ясування питань, пов'язаних з токсикологічними аспектами, стандартизацією, можливостями виробництва тощо.

З метою практичного використання результатів досліджень та впровадження розробок [37, 136–139] спільно з Інститутом експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України проводяться доклінічні дослідження нової магнеточутливої лікарської форми онкологічного препарату. Розроблено технологічний регламент на виробництво речовини «Магнетит У» [140], яка є нанорозмірним однодоменим Fe_3O_4 та може слугувати субстанцією для лікарських препаратів на основі досліджених наноструктур. Регламент планується передати на Калуський дослідно-експериментальний завод ІХП НАН України.

Як зазначено в концепції цільової комплексної програми «Фундаментальні проблеми наноструктурних систем, наноматеріалів, нанотехнологій» НАН України [141], її виконання, крім наукового, практичного та методологічного, має навчальний аспект; важливим завданням є підготовка спеціалістів, зокрема, вищої кваліфікації. Тому до робіт, наведених у цьому огляді, широко залучалась творча молодь: аспіранти і студенти, якими захищено три кандидатських [142–144] та ряд магістерських дисертацій.

За матеріалами досліджень з нанотематики видано наукову монографію [14], у якій узагальнено новітні результати, що стосуються сучасних проблем фізико-хімії наноматеріалів, наноконструктивів та супрамолекулярних структур, актуальних для використання в техніці, медицині, біології, екології тощо. Книга розрахована на фахівців галузей нанохімії, нанофізики, матеріалознавства, хімії та фізики поверхні, які займаються синтезом нових наноструктурних функціональних матеріалів та їх практичним застосуванням, викладачів, аспірантів і студентів вищих навчальних закладів відповідних спеціальностей.

Вийшов у світ навчальний посібник [15], який, по суті, є впровадженням у освітній процес вітчизняної вищої школи (кафедра біоінформатики факультету біотехнології і біотехніки Національного технічного університету України «КПІ») результатів новітніх наукових досліджень, виконаних у Національній академії наук України за цільовою комплексною програмою «Фундаментальні проблеми наноструктурних систем, наноматеріалів, нанотехнологій». Головною метою посібника є наукове висвітлення і опис основних експериментальних стадій створення біофункціоналізованих магнеточутливих наноматеріалів і поліфункціональних наноконструктивів, сприяння формуванню у студентів практичних навичок у галузі новітніх нанотехнологій. Навчальний посібник отримав гриф Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України. Посібник побудовано на найбільш актуальних прикладах синтезу, досліджень та застосувань наноконструктивів у галузях медицини, біології та біотехнології. Наведені наукові дані, цикл лабораторних робіт та методичні вказівки можуть бути використані викладачами і студентами вищих навчальних закладів при виконанні навчальних програм за відповідними спеціальностями.

8. ВИСНОВКИ

Проблема створення нанороботів, зокрема, для медико-біологічних застосувань, сьогодні є актуальною і розробляється в провідних наукових лабораторіях світу. Відповідний науково-прикладний напрямок є складовою сучасного науково-технічного прогресу, в тому числі в медицині, біології, біотехнології. Концепція та методологія хімічного конструювання магнеточутливих наноконструктивів з багаторівневою ієрархічною архітектурою та функціями нанороботів отримала наукове обґрунтування та експериментальне підтвердження.

На завершення автор висловлює щирі подяки всім співробітникам і колегам, що брали участь в дослідженнях, за творчу співпрацю. Матеріали наукових джерел та дані огляду свідчать, що вітчизняні дослідження у вказаному напрямку в багатьох аспектах знаходяться на передових рубежах світової науки. Це стало можливим завдяки об'єднанню зусиль в міждисциплінарних галузях дослідників Інституту хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України, Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Інституту металофізики ім. Г. В. Курдюмова НАН України, Інституту гематології та трансфузіології АМН України в рамках цільової комплексної програми «Фундаментальні проблеми наноструктурних систем, наноматеріалів, нанотехнологій».

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. M. C. Roco, R. S. Williams, and P. Alivisatos, *Vision for Nanotechnology R&D in the Next Decade* (Dordrecht: Kluwer Academic Publishers: 2002), vol. 156, p. 171.
2. L. Levy, Y. Sahoo, Kyoung-Soo Kim, and J. Earl Bergey, *Chem. Mater.*, **14**: 3715 (2002).
3. *Фізико-хімія наноматеріалів і супрамолекулярних структур* (Ред. А. П. Шпак, П. П. Горбик) (Київ: Наукова думка: 2007), т. 1.
4. *Nanomaterials and Supramolecular Structures. Physics Chemistry, and Applications* (Eds. A. P. Shpak and P. P. Gorbyk) (Netherlands: Springer: 2009), p. 63.
5. П. П. Горбик, В. Ф. Чехун, А. П. Шпак, *Наноструктурные материалы — получение, свойства, применение* (Минск: Беларуская навука: 2009), с. 131.
6. P. P. Gorbyk, A. L. Petranovska, M. P. Turelyk et al., *Chem. Phys. Tech. Surf.*, **1**, No. 3: 360 (2010).
7. P. P. Gorbyk and V. F. Chekhun, *Functional Materials*, **19**, No. 2: 145 (2012).
8. H. Gu, J. Chao, S.-J. Xiao, and N. C. Seeman, *Nature*, **465**: 202 (2010).
9. K. Lund, A. J. Manzo, N. Dabby et al., *Nature*, **465**: 206 (2010).
10. R. A. Muscat, J. Bath, and A. J. Turberfield, *Nano Lett.*, **11**, No. 3: 982 (2011).
11. B. Lewandowski, G. De Vo, J. W. Ward et al., *Science*, **339**, No. 6116: 189 (2013).
12. Т. Е. Корочкова, М. Л. Дехтяр, В. М. Розенбаум, *Хімія, фізика і технологія поверхності* (Київ: Наукова думка: 2008), вып. 14, с. 52.
13. Т. Е. Корочкова, В. М. Розенбаум, *Хімія, фізика і технологія поверхності* (Київ: Наукова думка: 2006), вып. 11–12, с. 29.
14. П. П. Горбик, В. В. Туров, *Наноматеріалы и нанокмполиты в медицине, биологии, экологии* (Ред. А. П. Шпак, В. Ф. Чехун) (Київ: Наукова думка: 2011).
15. П. П. Горбик, С. В. Горобець, М. П. Турелик та ін., *Біофункціоналізація наноматеріалів і нанокмполитів: Навчальний посібник* (Київ: Наукова думка: 2011).
16. С. П. Губин, Ю. А. Кокшаров, Г. Б. Хомутов, Г. Ю. Юрков, *Успехи химии*, **74**, № 4: 539 (2005).
17. Г. Великов, А. Г. Курегян, *Хим.-фарм. журн.*, **35**, № 2: 27 (2001).
18. Ю. А. Василевский, А. П. Володина, В. В. Паньков, *Магнитный порошок феррита бария* (Москва: НИИТЭхим: 1995), с. 2.
19. В. М. Міщенко, М. Т. Картель, В. А. Луценко та ін., *Поверхность: Межвед. сб. науч. тр.* (Київ: Наукова думка: 2010), вып. 2 (17): 276.
20. Л. С. Семко, С. В. Хуторний, Л. П. Сторожук та ін., *Поверхность: Межвед. сб. науч. тр.* (Київ: Наукова думка: 2010), вып. 2 (17): 330.
21. П. П. Горбик, А. Л. Петрановская, М. П. Турелик и др., *Хімія, фізика та технологія поверхні*, **2**, № 4: 433 (2011).
22. П. П. Горбик, И. В. Дубровин, А. Л. Петрановская, *Поверхность: Межвед. сб. науч. тр.* (Київ: Наукова думка: 2010), вып. 2 (17): 286.
23. Н. А. Оборотова, *Антибиотики и химиотерапия*, **36**, № 10: 47 (1991).
24. U. Hafely, W. Schut, Y. Teller, and N. Zbororsky, *Scientific and Clinical Application of Magnetic Carriers* (London: Plenum: 1997).
25. В. И. Рымарчук, Л. А. Радкевич, В. И. Сарбаш, *Биофизика*, **35**, № 1: 145 (1990).
26. В. Е. Фертман, *Магнитные жидкости* (Минск: Высш. школа: 1988).
27. Р. Н. Аляутдин, Й. Кройтер, Д. А. Харкевич, *Эксперим. и клинич. фармакология*, **66**, № 2: 65 (2003).
28. П. П. Горбик, А. Л. Петрановська, Л. П. Сторожук та ін., *Український хімічний журнал*, **73**, № 5: 24 (2007).

29. Т. Т. Березов, Н. В. Яглова, Т. Б. Дмитриева и др., *Вестн. Рос. акад. мед. наук*, № 3: 42 (2004).
30. J. E. Herrmann, S. Wang, C. Zhang et al., *Vaccine*, **24**, No. 31–32: 5872 (2006).
31. S. Mitra, G. Li, and G. R. Harsh, *Neurosurg. Clinics of North America*, **21**, No. 1: 67 (2010).
32. В. И. Брегадзе, И. Б. Сиваев, *Природа*, № 4: 1 (2004).
33. G. De Stasio, P. Casalbore, R. Pallini et al., *Cancer Research*, **61**: 4272 (2001).
34. A. Detta and G. S. Cruickshank, *Cancer Research*, **69**, No. 5: 2126 (2009).
35. С. П. Туранская, М. П. Турелик, А. Л. Петрановская и др., *Поверхность: Межвед. сб. науч. тр.* (Киев: Наукова думка: 2010), вып. 2 (17): 356.
36. П. П. Горбик, А. Л. Петрановская, М. П. Турелик и др., *Наносистемы, наноматериалы, нанотехнології*, **8**, вип. 4: 749 (2011).
37. П. П. Горбик, А. Л. Петрановська, Д. Г. Усов та ін., *Нанокapsула з функціями наноробота* (Патент України № 86322) (25.06.2009).
38. Л. Г. Гречко, П. П. Горбик, Л. Б. Лерман, О. О. Чуйко, *Доп. НАН України*, № 2: 181 (2006).
39. S. Cooper, *J. Magn. and Magn. Mater.*, **225**: 79 (2001).
40. А. Ю. Зубарев, Л. Ю. Исакова, *Коллоид. журн.*, **63**, № 6: 778 (2003).
41. А. Н. Русецкий, Э. К. Рууге, *Бюл. Всесоюз. кардиолог. науч. центра АМН СССР*, **7**, № 1: 85 (1984).
42. В. В. Свиридов, *Неорганический синтез* (Минск: Высш. школа: 1996), с. 165.
43. O. M. Mikhailik, V. I. Povstugar, and S. S. Mikhailova, *Colloids and Surfaces*, **52**: 315 (1991).
44. Х. Ясуда, *Полимеризация в плазме* (Москва: Мир: 1988).
45. П. П. Горбик, І. В. Дубровін, А. Л. Петрановська та ін., *Доповіді НАН України*, № 4: 224 (2005).
46. Л. И. Тарутина, Ф. О. Позднякова, *Спектральный анализ полимеров и вспомогательных веществ* (Ленинград: Химия: 1986).
47. И. Дехант, Р. Данц, В. Киммер, Р. Шмольке, *Инфракрасная спектроскопия высокополимеров* (Москва: Химия: 1976).
48. О. В. Крылов, В. Ф. Киселев, *Адсорбция и катализ на переходных металлах и их оксидах* (Москва: Химия: 1981).
49. L. S. Semko, V. M. Ogenko, S. L. Revo et al., *Functional Materials*, **9**, No. 3: 513 (2002).
50. О. М. Федоренко, А. Л. Петрановська, Л. С. Дзюбенко та ін., *Доповіді НАН України*, № 1: 157 (2006).
51. К. Накамото, *ИК-спектры и спектры неорганических и координационных соединений* (Москва: Мир: 1991).
52. И. Ф. Ковалев, И. В. Шевченко, М. Г. Воронков, Н. В. Козлова, *Докл. АН СССР*, **212**, № 1: 101 (1973).
53. А. А. Давыдов, М. Л. Шепотько, *Журн. прикл. спектроскопии*, **56**, № 3: 487 (1992).
54. О. О. Чуйко, П. П. Горбик, Л. П. Сторожук, *Магнітокеровані нанокomпозити для застосування в медицині та біології: Збірник доп. ІІ Всеукр. технологіч. форуму* (Київ: 2005), с. 48.
55. Д. Г. Усов, А. Л. Петрановська, М. П. Турелик та ін., *Поверхность: Межвед. сб. науч. тр.* (Киев: Наукова думка: 2009), с. 320.
56. H. Aposhian and M. Aposhian, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **30**: 279 (1990).
57. Y.-W. Jun, Y.-M. Huh, and J. Choi, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**: 5732 (2005).
58. N. Fauconnier, J. Pons, J. Roger, and A. Bee, *J. of Colloid and Interface Science*,

- 194: 427 (1997).
59. S. Zhang, Z. Bian, and C. Gub, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **55**: 143 (2007).
 60. L. Silva, S. Kuckelhaus, and M. Guedes, *J. Magn. Magn. Mater.*, **289**: 463 (2005).
 61. D. Wagner, J. Moulder, and L. Davis, *Handbook of X-Ray Photoelectron Spectroscopy* (New York: Perking-Elmer Corp.: 1979), p. 234.
 62. П. П. Горбик, В. М. Міщенко, А. Л. Петрановська та ін., *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології*, **6**, вип. 4: 1273 (2009).
 63. А. Л. Петрановська, В. М. Міщенко, М. П. Турелик та ін., *Хімія, фізика та технологія поверхні*, **1**, № 2: 182 (2010).
 64. В. П. Орловский, Г. В. Родичева, Ж. А. Ежова и др., *Журн. неорг. химии*, **37**, № 4: 881 (1992).
 65. Н. А. Чумаевский, В. П. Орловский, Г. В. Родичева и др., *Журн. неорг. химии*, **37**, № 7: 1455 (1992).
 66. J. Rena and M. Vallet-Regi, *J. Eur. Ceram. Soc.*, **23**, No. 10: 1687 (2003).
 67. П. А. Арсеньев, А. А. Евдокимов, С. А. Смирнов и др., *Журнал неорг. химии*, **37**, № 12: 2649 (1992).
 68. А. Л. Петрановська, М. П. Турелик, П. П. Горбик та ін., *Хімія, фізика та технологія поверхні*, **1**, № 4 (2010).
 69. X. Shen, H. Liang, J. H. Guo, and C. Song, *J. Inorg. Biochem.*, **95**, No. 2–3: 124 (2003).
 70. С. П. Туранская, А. Д. Четыркин, И. В. Дубровин и др., *Поверхность: Межвед. сб. науч. тр.* (Киев: Наукова думка: 2011), вып. 3 (18): 343.
 71. Д. Г. Усов, А. Л. Петрановська, П. П. Горбик, М. П. Івахненко, *Хімія, фізика і технологія поверхності: Межвед. сб. науч. тр.*, № 14: 548 (2008).
 72. M. A. Brinkley, *Bioconjugate Chem.*, **3**: 2 (1992).
 73. S. Hashida, *J. Appl. Biochem.*, **6**: 56 (1984).
 74. G. Mattson, *Molecular Biology Reports*, **17**: 167 (1993).
 75. M. D. Partis, *J. Protein. Chem.*, **2**: 263 (1983).
 76. M. K. Samoszuk, *Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals*, **2**: 37 (1989).
 77. W. Ostwald, *Kleines Praktikum der Kolloidchemie. 7 Ed.* (Dresden: Verlag Th. Steinkopff Dresden: 1930).
 78. Р. Скоупс, *Методы очистки белков* (Москва: Мир: 1985).
 79. *Биотехнология. Принципы и применения* (Ред. А. Хиггинс, Д. Бест, Дж. Джонс) (Москва: Мир: 1989), т. 20, с. 132.
 80. G. T. Hermanson, *Bioconjugate Techniques* (Academic Press: 2008), p. 1202.
 81. M. M. Bradford, *Anal. Biochem.*, **72**: 248 (1976).
 82. А. П. Шпак, П. П. Горбик, А. Л. Петрановська та ін., *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології*, **4**, вип. 3: 623 (2006).
 83. П. П. Горбик, А. Л. Петрановская, Д. Г. Усов и др., *Хімія, фізика і технологія поверхності: Межвед. сб. науч. тр.*, № 13: 310 (2007).
 84. Л. Ю. Вергун, Є. П. Трохименко, Л. М. Ісакова та ін., *Доповіді НАН України*, № 10: 140 (2006).
 85. Л. Ю. Вергун, Д. А. Климчук, П. П. Горбик та ін., *Мікробіологічн. журнал*, № 71: 65 (2009).
 86. С. Лурия, Дж. Дарнелл, Д. Балтимор, Э. Кэмпбелл, *Общая вирусология* (Москва: Мир: 1981), с. 56.
 87. В. М. Жданов, С. Я. Гайдамович, *Вирусология* (Москва: Медицина: 1966), с. 83.
 88. А. Уайт Хендлер, Э. Смит, Р. Хилл, И. Леман, *Основы биохимии* (Москва: Мир:

- 1981), т. 1, с. 115, 137.
89. Б. Филдс, Д. Найп, *Вирусология* (Москва: Мир: 1989), т. 2, с. 216.
 90. А. А. Чуйко, *Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния* (Киев: Наукова думка: 2003), с. 416.
 91. U. Barik, A. Ercan, G. Karakas, *Pure and Applied Surface Chemistry and Nanomaterials for Human Life and Environmental Protection: Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop* (Kiev: 2005), p. 78.
 92. П. П. Горбик, В. М. Гунько, В. И. Зарко, *Доп. НАН України*, № 11: 150 (2004).
 93. П. П. Горбик, В. М. Гунько, В. И. Зарко и др., *Химия, физика и технология поверхности: Межвед. сб. науч. тр.* (Киев: Наукова думка: 2007), вып. 11–12: 261.
 94. Е. А. Голенкина, А. А. Буркова, В. И. Филиппов и др., *Российский биотерапевтический журнал*, 1, № 3: 41 (2005).
 95. P. Esser, *Nunc Bulletin*, No. 6: 1 (1988).
 96. Z. Cheng, J.-M. Friedt, A. Angelova et al., *Langmuir*, 20: 5870 (2004).
 97. В. А. Тертых, В. В. Янишпольский, *Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния* (Ред. А. А. Чуйко) (Киев: Наукова думка: 2003), с. 42.
 98. H. H. Weetall, *US Patent 3652761, IC G01n 1/00, 1/34, 31/06* (Publ. 28.03.72).
 99. А. Н. Кузиков, В. М. Бондаренко, А. Т. Латкин, *Журн. микробиол.*, № 1: 80 (2003).
 100. А. Н. Маянский, А. П. Обрядина, Т. И. Уланова и др., *Информационные материалы* (Нижегород: 2006).
 101. У. С. Робинсон, *Вирусология* (Москва: Мир: 1989), т. 3, с. 292.
 102. К.-П. Майер, *Гепатит и последствия гепатита* (Москва: ГЭОТАР МЕДИЦИНА: 1999), с. 491.
 103. А. Д. Аммосов, *Гепатит В* (Новосибирск: 2006).
 104. Л. Ю. Вергун, В. А. Годзь, Л. И. Заневская и др., *Гематология і переливання крові: Міжвід. зб.* (Київ: Нора-Друк: 2006), вип. 33: 77.
 105. K. S. Hwang, *Biomater.*, 31: 8419 (2010).
 106. M. F. Bellin, *Eur. J. Radiol.*, 60: 314 (2006).
 107. P. Caravan, *Chem. Soc. Rev.*, 35: 512 (2006).
 108. M. P. Lowe, *Aust. J. Chem.*, 55: 551 (2002).
 109. Y. Fukumori and H. Ichikawa, *Adv. Powder. Technol.*, 17: 1 (2006).
 110. П. П. Горбик, А. Л. Петрановская, Е. В. Пилипчук и др., *Хімія, фізика та технологія поверхні*, 2, № 4: 385 (2011).
 111. Е. В. Пилипчук, А. Л. Петрановская, П. П. Горбик, *Наноструктурное материаловедение*, № 3: 47 (2012).
 112. А. Л. Петрановская, М. П. Турелик, Е. В. Пилипчук и др., *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Нанотехнології у фармації та медицині»* (Харків: 2011), с. 154.
 113. М. П. Турелик, С. В. Горобець, А. О. Македонська, П. П. Горбик, *Наукові вісті НТУУ «КПІ»*, № 1 (18): 149 (2012).
 114. X. Y. Huang, D. C. Yu, and Q. Y. Zhang, *J. Appl. Phys.*, 106: 113521 (2009).
 115. С. П. Туранская, А. Н. Каминский, Н. В. Кусяк и др., *Поверхность: Межвед. сб. науч. тр.* (Киев: Наукова думка: 2012), вып. 4 (19): 266.
 116. С. Грег, К. Синг, *Адсорбция, удельная поверхность, пористость* (Москва: Мир: 1984).
 117. Л. В. Загребин, С. С. Шестов, Ю. Г. Яновский, *Технологии живых систем*, 5, № 2–3: 111 (2008).
 118. Ю. Г. Яновский, А. Н. Данилин, А. П. Захаров, В. А. Жогин, *Альманах клинической медицины. III Троицкая конференция «Медицинская физика и иннова-*

- ци в медицині» (Москва: 2008), 17, ч. 2: 293.
119. В. М. Міщенко, М. Т. Картель, В. А. Луценко и др., *Поверхність: Межвед. сб. науч. тр.* (Київ: Наукова думка: 2012), вып. 2 (17): 276.
 120. С. В. Кологиллов, П. Н. Болтовец, Б. А. Снопко, В. В. Павлицук, *Теоретическая и экспериментальная химия*, 42, № 4: 204 (2006).
 121. *Химия поверхности кремнезема* (Ред. А. А. Чуйко) (Київ: 2001), т. 1, ч. 1.
 122. Н. В. Кусяк, О. М. Камінський, А. Л. Петрановська, П. П. Горбик, *Поверхність: Межвед. сб. науч. тр.* (Київ: Наукова думка: 2011), вып. 3 (18): 151.
 123. Л. С. Семко, С. В. Хуторний, Н. В. Абрамов, П. П. Горбик, *Неорганические материалы*, 48: 443 (2012).
 124. R. Hergt, R. Hiergeist, I. Hilger et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, 270: 345 (2004).
 125. J. P. Fortin, C. Wilhelm, J. Servais et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 129: 2628 (2007).
 126. M. C. Bautista, O. Bomati-Miguel, and X. Zhao, *Nanotechnology*, 15: S154 (2004).
 127. E. E. Carpenter, *J. Magn. Magn. Mater.*, 225: 17 (2001).
 128. С. П. Туранская, В. В. Туров, П. П. Горбик, *Химия, физика и технология поверхности: Межвед. сб. науч. тр.* (Київ: Наукова думка: 2007), вып. 13: 273.
 129. 2nd Int. Symp. on Advanced Magnetic Materials and Applications (ISAMMA2010), *Journal of Physics: Conference Series*, 266 (2011).
 130. Р. Розенцвейг, *Феррогидродинамика* (Москва: Мир: 1989).
 131. М. И. Шлиомис, *Успехи физ. наук*, 112, вып. 3: 427 (1974).
 132. R. Y. Hong, S. Z. Zhang, Y. P. Han et al., *Powder Technology*, 170: 1 (2006).
 133. М. В. Абрамов, П. П. Горбик, *Поверхність: Межвед. сб. научн. тр.* (Київ: Наукова думка: 2012), вып. 3 (18): 246.
 134. L. Neel, *C. R. Acad. Science*, 228, No. 6: 664 (1949).
 135. Н. В. Борисенко, В. М. Богатырев, И. В. Дубровин и др., *Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур* (Ред. А. П. Шпак, П. П. Горбик) (Київ: Наукова думка: 2007), т. 1, с. 394.
 136. П. П. Горбик, А. Л. Петрановська, М. П. Турелик та ін., *Нанокapsула з функціями наноробота* (Патент на винахід № 99211 України) (25.07.2012).
 137. Б. Є. Патон, П. П. Горбик, А. Л. Петрановська та ін., *Магнітна протилуклинна рідина* (Патент України № 78473) (25.03.2013).
 138. П. П. Горбик, А. Л. Петрановська, М. П. Турелик та ін., *Магнітна рідина* (Патент України № 78448) (25.03.2013).
 139. Л. С. Семко, П. П. Горбик, С. В. Хуторний, *Спосіб одержання магнітного шаруватого матеріалу* (Патент України № 20063) (17.07.2012).
 140. П. П. Горбик, А. Л. Петрановська, М. П. Турелик та ін., *Свідоцтво № 46056 на ТТР (технологічний регламент) на виробництво речовини «Магнетит У»* (07.09.2012).
 141. *Цільова комплексна програма фундаментальних досліджень «Наноструктурні системи, наноматеріали, нанотехнології»* (Київ: 2010), с. 191.
 142. Л. П. Сторожук, *Синтез та властивості поліфункціональних магніточутливих нанокomпозитів* (Автореферат дис. ... канд. хім. наук. Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України) (Київ: 2007).
 143. М. П. Турелик, *Хімічне конструювання наноструктур з функціями медико-біологічних нанороботів* (Автореферат дис. ... канд. хім. наук. Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України) (Київ: 2012).
 144. Є. В. Пилипчук, *Синтез та властивості магніточутливих гадолінійвмісних нанокomпозитів* (Автореферат дис. ... канд. хім. наук. Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України) (Київ: 2013).