

УДК 544.723

СИНТЕЗ ТА ВЛАСТИВОСТІ МАГНІТОЧУТЛИВИХ ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНИХ НАНОКОМПОЗИТІВ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ В ОНКОЛОГІЇ

М.В. Абрамов¹, А.П. Кусяк², О.М. Камінський², С.П. Туранська¹, А.Л.
Петрановська¹, Н.В. Кусяк², В.В. Туров¹, П.П. Горбик¹

¹Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України,
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна

²Житомирський державний університет ім. Івана Франка,
вул. Велика Бердичівська, 40, Житомир, 10008, Україна

Наведено результати досліджень, спрямованих на розвиток концепції створення магніточутливих наноконкомпозитів (НК) з багаторівневою ієрархічною наноархітектурою та функціями медико-біологічних нанороботів. Синтезовані нанорозмірний магнетит в однодомному стані і магніточутливі НК на його основі (Fe_3O_4 /дімеркаптосукцинова кислота (ДМСК), Fe_3O_4 / γ -амінопропілсилоксан (γ -АПС), Fe_3O_4 /поліакриламід (ПАА), Fe_3O_4 /гідроксиапатит (ГА), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$). Отримано ізотерми і вивчено кінетику адсорбції цисплатину в залежності від хімічної природи поверхні наноструктур. Досліджено процеси адсорбції доксорубіцину (ДР) на поверхні НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ з розчину у фізіологічній рідині. Виготовлено та досліджено магнітні рідини, що містять НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}$. Використовуючи ансамбль носіїв Fe_3O_4 як суперпарамагнітний зонд та теорію парамагнетизму Ланжевена, оцінено розмірні параметри їх оболонки, що підтверджено незалежними вимірюваннями питомої площі поверхні наноструктур та термодинамічної седиментаційної стійкості відповідних магнітних рідин. Отримані результати можуть бути використані при розробках нових форм магнітокерованих лікарських засобів спрямованої доставки і адсорбентів на основі НК типу суперпарамагнітне ядро-оболонка з багаторівневою наноархітектурою та для визначення, контролю і оптимізації розмірних параметрів її компонентів.

Ключові слова: магнетит, магніточутливі наноконкомпозити, адсорбція, цисплатин, доксорубіцин, магнітні рідини, розмірні параметри наноструктур

Вступ

В роботах [1 – 6] обґрунтовано концепцію хімічного конструювання магніточутливих наноконкомпозитів з багаторівневою ієрархічною наноархітектурою, що характер-ризуються функціями "наноклінік" [1] та медико-біологічних нанороботів [2 – 6]: розпізнавання мікробіологічних об'єктів у біологічних середовищах; цільової доставки лікарських препаратів до клітин та органів-мішеней і депонування; комплексної локальної хіміо-, імуно-, нейтронзахоплювальної, гіпертермічної, фотодинамічної терапії та магнітно-резонансної томографічної діагностики в режимі реального часу, детоксикації організму шляхом адсорбції рештків клітинного розкладу, вірусних частинок, іонів важких металів тощо та їх видалення за допомогою магнітного поля.

Для виготовлення магніточутливих поліфункціональних наноконкомпозитів значний інтерес дослідників викликають наноструктури типу ядро-оболонка на основі однодомного магнетиту (Fe_3O_4), які характеризуються унікальним комплексом

фізичних, хімічних та біологічних властивостей, можливістю створення на їх основі магнітних рідин (МР), що містять онкологічні лікарські засоби різного функціонального призначення та механізмів дії, зокрема цитостатичний препарат цисплатин (ЦП) та антрацикліновий антибіотик доксорубіцин (ДР), які застосовуються практично у всіх схемах сучасної онкотерапії [7 – 17].

Цисплатин [18] – протипухлинний препарат, серійно випускається промисловістю у вигляді розчину. Діюча речовина – сіль Пейроне, комплексна сполука *цис*-діаміно-діхлорплатина (*цис*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]). Механізм протипухлинної дії цисплатину пов'язаний зі здатністю до біфункціонального алкілювання ланцюгів ДНК, що на клітинному рівні викликає порушення реплікації і транскрипції та призводить до затримки клітинного циклу і апоптозу.

Доксорубіцин (C₂₇H₂₉NO₁₁) [19] – протипухлинний антибіотик антрациклінового ряду, характеризується антимітотичною і антипроліферативною дією. Механізм протипухлинної активності полягає у взаємодії з ДНК, створенні вільних радикалів і прямій дії на мембрани клітин з придушенням синтезу нуклеїнових кислот. Клітини чутливі до препарату в S- і G₂-фазах.

У зв'язку з використанням ЦП і ДР для створення нових магніточутливих форм онкологічних лікарських засобів (адресної доставки та локальної терапії) актуальними завданнями є дослідження особливостей процесів їх адсорбційної іммобілізації на поверхні наноконструкцій та вивільнення у фізіологічний розчин при збереженні їх біологічної активності. Фізіологічний розчин застосовується, зокрема, для створення магнітної рідини медичного призначення. Як свідчать результати випробувань, адсорбційний метод іммобілізації препаратів ЦП і ДР на поверхні магніточутливих носіїв має переваги перед ковалентним, оскільки характеризується збереженням їх цитато-кислотності [14, 15].

Вибір однодоменного магнетиту як вихідного матеріалу для синтезу НК обумовлений його унікальними фізико-хімічними властивостями, прийнятними біосумісністю і біодеградацією, накопиченим досвідом у галузі модифікування поверхні, можливостями керування рухом наночастинок за допомогою зовнішнього магнітного поля, при вилученні адсорбентів методом магнітної сепарації. До особливостей однодоменного стану магнітних частинок можна віднести однорідність намагніченості при будь-яких значеннях і напрямках поля *H*, можливість існування доменів не тільки в твердотільних феро- і феримагнітних сплавах і сполуках, а й в рідких середовищах (суспензіях і колоїдах).

Для виготовлення магніточутливих поліфункціональних НК використовують модифікатори поверхні магнітного носія, які надають їй властивостей біосумісності з живим організмом та забезпечують необхідну хімічну функціоналізацію для подальшої біофункціоналізації. У цій роботі як модифікатори поверхні однодоменного магнетиту використані димеркаптосукцинова кислота (ДМСК), γ -амінопропілсилоксан (γ -АПС), поліакриламід (ПАА), гідроксиапатит (ГА), оксиди кремнію (SiO₂), титану (TiO₂) і алюмінію (Al₂O₃).

При традиційних застосуваннях ЦП і ДР виникають гострі токсико-алергічні реакції [18, 19]. Тому пошук шляхів адсорбційної детоксикації організму після онкотерапії також є актуальним завданням. Воно може бути вирішене створенням високоефективних біосумісних наноконструктивних матеріалів сорбційного механізму дії медичного і біологічного призначення, зокрема для вилучення надлишкових доз ЦП і ДР, а також їх токсичних метаболітів, навіть за низьких концентрацій.

Крім того, завдання утилізації платини і її сполук, зокрема, з лікарських препаратів, які втратили придатність, також становить практичний інтерес. Платина належить до найбільш дорогоцінних металів, тому її концентрування і збір з

технологічних відходів є економічно вигідним. Для вирішення зазначених завдань може бути перспективним застосування магніточутливих біосумісних адсорбентів і методів магнітної сепарації.

У багатьох практично важливих випадках функціональне застосування НК (спрямований транспорт лікарських препаратів до органів і клітин-мішеней, розпізнавання і деконтамінації вірусів, адсорбція) здійснюється в рідких середовищах [20–24]. Крім того, рідина є найкращою формою магніточутливих лікарських препаратів для введення в організм [3]. Тому інтерес представляє вивчення властивостей МР, що містять нанорозмірний магнетит в однодоменому стані і нанокомпозити на його основі. При цьому важливим питанням залишається знаходження розподілу за розмірами ансамблю суперпарамагнітних наночастинок складної оболонкової будови за експериментальними вимірюваннями кривої намагнічування. Його успішне вирішення може розвинути можливості сучасної магнітної гранулометрії та відкрити шлях до встановлення розмірних параметрів елементів наноархітектури, що складають багатокомпонентну оболонкову структуру НК, побудовану на суперпарамагнітних нанорозмірних носіях, в тому числі у складі МР.

Виходячи з викладеного, можна стверджувати, що актуальними є дослідження можливості застосування підходів, використаних в [14, 15], які ґрунтуються на теорії парамагнетизму Ланжевена, до опису нанокомпозитів з суперпарамагнітними ядрами і складними оболонковими структурами різної хімічної природи та магнітних рідин на їх основі, перспективних для застосування в онкології.

Виконані в цій роботі дослідження спрямовані на розвиток концепції створення магніточутливих НК з багаторівневою ієрархічною наноархітектурою та функціями медико-біологічних нанороботів. Метою роботи є узагальнення результатів вивчення адсорбції цисплатину і доксорубіцину на поверхні однодоменого магнетиту в суперпарамагнітному стані та магніточутливих наноструктур на його основі з різною хімічною природою поверхні, процесів вивільнення вказаних цитостатиків у фізіологічне середовище, синтезу біоактивних нанокомпозитів типу ядро-оболонка на основі цисплатину і доксорубіцину та перевірки їх цитотоксичності, аналізу магнітних властивостей нанокомпозитів з використанням теорії парамагнетизму Ланжевена, визначення розмірних параметрів багатокомпонентної оболонкової структури нанокомпозитів у складі магнітних рідин.

Експериментальна частина

Методи досліджень

Рентгенофазовий аналіз наноструктур виконували за допомогою дифрактометра ДРОН-4-07 (випромінювання $\text{Cu}_{K\alpha}$ з нікелевим фільтром у відбитому пучку, геометрія знімання за Бреггом–Брентано). Розмір кристалітів визначали за шириною відповідної найбільш інтенсивної лінії згідно рівняння Шеррера.

Для вивчення морфології і розподілу наночастинок за розмірами використовували їх дисперсії у воді. Розмір та форму НЧ визначали методами електронної мікроскопії (растровий електронний мікроскоп (РЕМ) JEM100CX-II, просвічуючий електронний мікроскоп (ПЕМ) Transmission Electron Microscope JEOL 2010 та JEM-2100F (Японія).

Дослідження методами атомної силової (АСМ) та магнітної силової (МСМ) мікроскопії виконували за допомогою приладів NanoScope-300 (Digital Instruments) та Solver PRO-M.

Петлі гістерезису магнітного моменту зразків вимірювали за допомогою лабораторного вібраційного магнітометра фонерівського типу при кімнатній

температурі. Опис установки і методика вимірювань викладені в [25]. Розмагнічені наночастинки для запобігання взаємодії були розподілені в матриці парафіну з об'ємною концентрацією $\sim 0,05$. Для порівняння використовували матеріали з відомим значенням питомої намагніченості насичення (σ_s): тестований зразок нікелю і НЧ Fe_3O_4 (98%) виробництва фірми "Nanostructured & Amorphous Materials Inc.", USA. Похибка вимірювання σ_s по відношенню до еталонного зразка не перевищувала 2,5 %.

Питому поверхню (S_{num}) зразків визначали методом термодесорбції азоту на приладі KELVIN 1042 фірми "COSTECH Instruments". Розмір НЧ оцінювали за формулою $D_{\text{ВЕТ}} = 6/(\rho S_{\text{ВЕТ}})$, де ρ – густина матеріалу НЧ, $S_{\text{ВЕТ}}$ – значення питомої площі поверхні, розрахованої за теорію полімолекулярної адсорбції Брунауера, Еммета і Теллера (БЕТ). При розрахунках вважали, що посадочна площадка молекули азоту за температури 77,4 К становить $0,162 \text{ нм}^2$.

Розрахунок концентрації гідроксильних груп на поверхні наноструктур визначали за даними термогравіметричного аналізу за допомогою дериватографа Q – 1500.

Дослідження стану поверхні нанодисперсних зразків здійснювали методами ІЧ-спектроскопії (Фур'є-спектрометр "Perkin Elmer", модель 1720X) та рентгенівської фотоелектронної спектроскопії (РФС) за допомогою електронного спектрометра ЕС-2402 з енергоаналізатором РНОІВОС-100-SPECS ($E_{\text{MgK}\alpha} = 1253,6 \text{ еВ}$, $P = 200 \text{ Вт}$, $p = 2 \cdot 10^{-7} \text{ Па}$), спектрометр оснащений іонною гарматою IQE-11/35 і джерелом повільних електронів FG-15/40 для компенсації зарядки поверхні діелектриків.

Дослідження біосумісності і біоактивності наноструктур здійснювали за їх впливом на модельні клітини стандартним цитохімічним методом [26].

Адсорбцію ЦП і ДР на поверхні нанорозмірного магнетиту та нанокompозитів здійснювали з їх розчинів різної концентрації.

Концентрацію ЦП в розчинах визначали за вмістом іонів Pt^{2+} методом атомно-абсорбційного аналізу за допомогою спектрофотометра С-115 М в полум'ї суміші ацетилен–повітря. Вимірювання проводили на довжині хвилі 265,7 нм. Для досліджень використовували цисплатин ЕБЕВЕ Фарма Гес. м. б. х Нфг. КГ (Австрія). Концентрацію ДР в розчинах вимірювали за допомогою спектрофотометра Spektrometer Lambda 35 uv/vis Perkin Elmer Instruments при $\lambda = 480 \text{ нм}$ з використанням калібрувального графіка. У цій роботі використовувався ліофілізований препарат DOXORUBICIN-TEVA (Pharmachemie BV, Нідерланди).

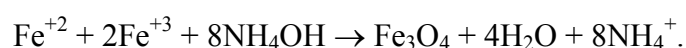
Адсорбційну ємність наноструктур A (мг/г) розраховували за формулою: $A = (C_0 - C_p) \cdot V/m$, де C_0 і C_p – концентрація вихідного розчину і розчину після адсорбції (мг/л), V – об'єм розчину (л), m – наважка сорбенту (г). На основі експериментальних результатів побудовані ізотерми адсорбції.

Коефіцієнти розподілу E (мл/г) іонів Pt^{2+} між поверхнею наноструктур і розчином, ступінь вилучення R (%) визначали за формулами: $E = A/C_p$, $R = (1 - C_p/C_0) \cdot 100 \%$, відповідно.

Десорбцію ЦП і ДР у модельне середовище досліджували на зразках наноструктур, котрі були отримані при побудові кривих ізотерм.

Синтез магнетиту

Синтез нанодисперсного магнетиту здійснено за методикою [4] співосадженням солей заліза за реакцією:



Синтезовані ансамблі НЧ Fe_3O_4 характеризувались розмірами 3 – 23 нм. Середній розмір НЧ (d_0) залежав від умов синтезу і становив 8 – 12 нм, розподілом за розмірами можна було керувати технологічно. Питома поверхня синтезованого магнетиту, залежно від середнього розміру частинок, становила 90–180 $\text{м}^2/\text{г}$. В цій роботі використовували зразки, для яких $S_{\text{num}} \sim 110 \text{ м}^2/\text{г}$. Вивченням ІЧ-спектрів поверхні магнетиту виявлено функціональні групи ОН, концентрація яких, розрахована за даними термогравіметричного аналізу, дорівнювала 2,4 ммоль/г [4].

Синтез нанокмпозитів магнетит/мезо-2,3-димеркаптосукцинова кислота

Модифікування поверхні наночастинок магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою [4] проводили шляхом суспендування наважки (50 мг) частинок магнетиту у толуолі (20 мл) з такою ж кількістю ДМСК, розчиненою у 20 мл диметилсульфоксиду (ДМСО). Реакцію проводили за кімнатної температури впродовж 24 год. Отриману реакційну суміш центрифугували, осад промивали етанолом та дистильованою водою.

Концентрацію функціональних тіольних груп ДМСК на поверхні НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ визначали методом титрування (Кімбола–Крамера–Ріда), заснованому на реакції $2\text{RSH} + \text{I}_2 \rightarrow \text{RSSR} + 2\text{HI}$. Встановлено, що на поверхні НК зі значенням $S_{\text{num}} \sim 135 \text{ м}^2/\text{г}$ вміст SH-груп становив 2,4 ммоль/г.

Синтез нанокмпозитів магнетит/ γ -амінопропілсилоксан

Модифікування поверхні наночастинок магнетиту γ -АПС у толуолі здійснено рідиннофазним методом [15]. Як модифікатор використовували γ -амінопропілтриетокси-силан (γ -АПТЕС), який перед застосуванням витримували над молекулярними ситами. Магнетит перед модифікуванням витримували в 10%-ному розчині γ -АПТЕС в толуолі протягом 8 год для повного змочування поверхні. Вивченням ІЧ-Фур'є спектрів модифікованого γ -АПС магнетиту встановлено наявність амінопропільних груп. Їх концентрація на поверхні $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС, визначена за допомогою термічного аналізу, становила 2,4 ммоль/г. Дослідженнями спектрів N1s зразків $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС методом РФС встановлено наявність у складі амінопропільних кінцевих $-\text{NH}_2$ та $[-\text{NH}_3]^+$ -груп, їх концентрація становила, відповідно, 1,44 та 0,96 ммоль/г при $S_{\text{num}} = 62 \text{ м}^2/\text{г}$.

Синтез нанокмпозитів магнетит/поліакриламід

Модифікування поверхні магнетиту поліакриламідом [5] полягало в формуванні покриття на поверхні нанорозмірного магнетиту способом полімеризації акриламіду із зшиваючим агентом N,N'-метилен-біс-акриламідом в плазмі тліючого високочастотного розряду. Аналіз кінетичних кривих титрування подвійних вуглець-вуглецевих зв'язків свідчив про повну полімеризацію шару акриламіду протягом 2 хв. Питома поверхня НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ складала 41 $\text{м}^2/\text{г}$, вміст $-\text{NH}_2$ груп становив 1,8 ммоль/г.

Синтез нанокмпозитів магнетит/гідроксиапатит

Синтез покриття гідроксиапатиту на поверхні високодисперсного магнетиту здійснювали золь-гель методом [4] згідно реакції: $10\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + 8\text{NH}_3 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{NH}_4\text{NO}_3$.

За даними РФС для синтезованих зразків нанокмпозитів відношення Ca/P становило 1,6 – 1,7, що близько до оптимального стехіометричного значення для гідрокси-апатиту (Ca/P = 1,67). Товщина шару гідроксиапатиту на поверхні магнетиту, оцінена за співвідношенням площі Fe2p-/Fe3p- ліній та приростом маси НК, становила \sim

4 нм. Питома поверхня зразків Fe₃O₄/ГА мала значення ~ 105 м²/г. Концентрація поверхневих гідроксильних груп – 2,2 ммоль/г.

Синтез нанокмпозитів Fe₃O₄/SiO₂

Синтез НК Fe₃O₄/SiO₂ здійснювали методом модифікування поверхні магнетиту тетраоксисиланом [27]. Формування шару SiO₂ з високим ступенем полімеризації на поверхні нанорозмірного однодомного магнетиту відбувалось в результаті утворення водневих зв'язків між силанольною групою модифікатора і гідроксильною групою поверхні магнетиту з подальшою полімолекулярною конденсацією силоксанового покриття Si–O–Si. Вміст шару SiO₂ складав 0,2 г на 1 г магнетиту [28]. Питома поверхня НК Fe₃O₄/SiO₂ зменшувалась у порівнянні з вихідним магнетитом і становила ~ 80 м²/г, концентрація активних гідроксильних груп складала 0,4 ммоль/г.

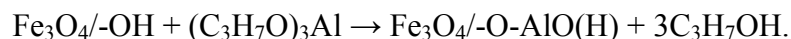
Синтез нанокмпозитів Fe₃O₄/TiO₂

Для синтезу НК Fe₃O₄/TiO₂ використана методика [27], заснована на реакції гідролізу *n*-бутилортотитанату та наступній конденсації продуктів гідролізу з утворенням полімерної сітки Ti–O–Ti. Покриття Ti–O–Ti з вмістом 0,2 г на 1 г поверхні магнетиту отримано модифікуванням поверхні полімером згідно [29]. Питома поверхня синтезованих НК Fe₃O₄/TiO₂ істотно збільшувалась у порівнянні з вихідним магнетитом і становила 184 м²/г, концентрація активних гідроксильних груп складала 0,3 ммоль/г.

Синтез нанокмпозитів Fe₃O₄/Al₂O₃

Синтез нанокмпозитів Fe₃O₄/Al₂O₃ здійснювали [27] методом хімічного модифікування поверхні наночастинок магнетиту ізопропілатом алюмінію (C₃H₇O)₃Al рідиннофазним способом в ізопропіловому спирті [30]. В результаті реакції поліконденсації поверхня магнетиту набуває амфотерного характеру за рахунок Al–O(H)-груп.

Реакція поліконденсації відбувається за схемою



В роботі [30] методами ІЧ-Фур'є спектроскопії, рентгеноструктурного аналізу та рентгенівської фотоелектронної спектроскопії вивчено склад та структуру одержаного на-нокмпозиту. Встановлено, що в результаті синтезу на поверхні нанорозмірних частинок магнетиту утворюється фаза гідроксиду алюмінію. Показано, що після відпалювання зразку при 460 °С відбувається перетворення гідроксидної фази алюмінію в фазу Al₂O₃.

Питома поверхня синтезованих НК Fe₃O₄/Al₂O₃ зростала у порівнянні з вихідним магнетитом і становила 141 м²/г, концентрація активних гідроксильних груп складала 0,7 ммоль/г.

Результати і обговорення

Ансамбль НЧ магнетиту досліджували методом ПЕМ. За даними ПЕМ (рис. 1) мінімальний і максимальний діаметр НЧ вибірки об'ємом $N = 271$ становить 4.4 і 20.4 нм, відповідно.

На рис. 2 (гістограма 1) наведено розподіл за діаметрами НЧ Fe₃O₄, отриманий експериментально статистичною обробкою (програма Get Data Graph Digitizer 2.24) ТЕМ-зображення вихідного магнетиту (рис. 1), та логнормальний розподіл за діаметрами (гістограма 2). Статистичний аналіз здійснювали за допомогою функції густини ймовірності логнормального розподілу

$$p(d) = \frac{1}{d\sigma_{\ln d}\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{[\ln d - M(\ln d)]^2}{2\sigma_{\ln d}^2}}, \quad (1)$$

де $M(\ln d)$, $\sigma_{\ln d}$ – математичне очікування і середньоквадратичне відхилення логарифма діаметру частинки, відповідно.

Розрахунки логнормального (рис. 2, діаграма 2) розподілу НЧ Fe_3O_4 за діаметрами проводили за методикою, наведеною у [33]. Середні значення діаметра $d_0 = (\sum n_i d_i)/N$, де n_i – число НЧ у i -му інтервалі варіаційного ряду діаметрів складало 10,78 нм ($\sigma = 2,930$ нм), логарифма діаметра – 2,34 ($\sigma_{\ln d} = 0,277$). Відмітимо, що для математичних очікувань діаметра $M(d)$ і логарифма діаметра $M(\ln d)$ справедливе співвідношення [33]:

$$M(d) = \exp[M(\ln d) + (\sigma_{\ln d})^2/2]. \quad (2)$$

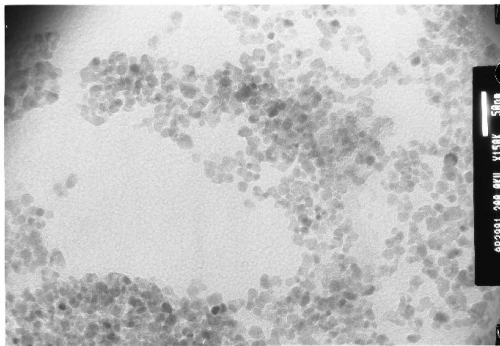


Рис. 1. ПЕМ-зображення ансамблю наночастинок магнетиту.

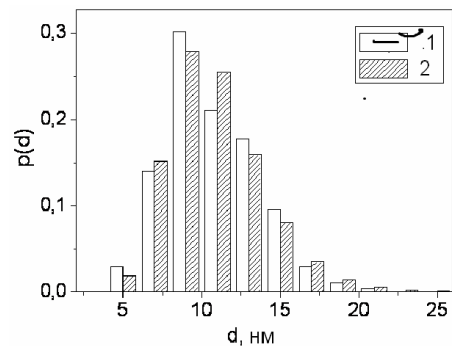


Рис. 2. Гістограми експериментального (1) і логнормального (2) з параметрами (2,340, 0,277) роз-поділу НЧ Fe_3O_4 за діаметрами, відповідно.

В [34] показано, що умова абсолютної однодомності частинок магнетиту ($T = 300$ К) виконується при $d < 50$ нм. Таким чином, частинки ансамблю з розмірами 3 – 23 нм є абсолютно однодомними. Аналіз значень намагніченості насичення (σ_s) монодисперсії магнетиту з різним діаметром частинок за літературними даними дозволив встановити емпіричну залежність, за допомогою якої можна обчислити σ_s частинки діаметром d (нм) в діапазоні 4 – 42 нм:

$$\sigma_s = a - \frac{b}{1 + \exp\left(\frac{d}{c} - 2,1\right)}, \quad (3)$$

де постійні a , b і c складають $82.0 \text{ Гс}\cdot\text{см}^3\cdot\text{г}^{-1}$, $92.2 \text{ Гс}\cdot\text{см}^3\cdot\text{г}^{-1}$ та 3 нм, відповідно. Зменшення σ_s зі зменшенням d може бути обумовлено зростаючою роллю поверхневої спінової підсистеми, яка не вносить вклад в загальну намагніченість частинки.

Характерний час теплових флуктуацій (τ_N) магнітного моменту однодомних частинок з одноосною анізотропією за умови $KV/k_B T \geq 1$ визначали [34] за формулою

неелівської релаксації

$$\tau_N = \tau_0 \exp(KV / k_B T), \quad (4)$$

де $\tau_0 = \text{const} = 10^{-9} - 10^{-13}$ с, K – щільність енергії магнітної анізотропії, V – об'єм частинки, k_B – стала Больцмана, T – температура.

Величина τ_N швидко зростає зі збільшенням об'єму частинки. Наприклад, при $\tau_0 = 10^{-9}$ с, $K = 1.4 \cdot 10^5$ ерг/см³ [35] і $T = 300$ К τ_N становить $4.4 \cdot 10^{-9}$; $2.0 \cdot 10^{-3}$ і 10.0 для сферичних частинок магнетиту діаметрами 9.4; 20.0 і 23.4 нм, відповідно.

Температура блокування (T_b) визначається умовою $t_{\text{вим}} = \tau_N$, где $t_{\text{вим}}$ – час вимірювання магнітних характеристик. При $t_{\text{вим}} = 100$ с, $\tau_0 = 10^{-9}$ с з формули (4) отримуємо $KV/k_B T \approx 25,3$. Тоді $T_b \approx KV/25,3 k_B$. Температура блокування для дослідженого ансамблю частинок ($d_0 = 10,78$ нм) становила 135 – 150 К при намагнічуючому полі 100 Е. Частинок магнетиту ($K = 1.70 \cdot 10^5$ ерг/см³ [36]) з $d > 22.7$ нм переходять в блокований стан при ~ 300 К і обумовлюють гістерезис (рис. 3, а).

Отримані дані узгоджуються з результатами досліджень суперпарамагнітної межі для частинок магнетиту ($d_{\text{кр}} = 23$ нм) при 300 К [37]. Рівноважна намагніченість таких ансамблів досягається неелівським механізмом релаксації магнітних моментів частинок (4). Для отримання співвідношень, що описують ансамбль однакових однодомених суперпарамагнітних частинок, використовують класичний закон Ланжевена, виведений для намагніченості ансамблю молекул парамагнітного газу [35]:

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

де \bar{m} – компонента середнього магнітного моменту частинки вздовж напрямку поля напруженістю H , m – абсолютна величина магнітного моменту частинки, $L(\alpha)$ – функція Ланжевена, $\alpha = mH/(k_B T)$.

Для монодисперсної магнітної рідини

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

де $M(H)$ – намагніченість МР в полі H , M_s і M_∞ – намагніченість насичення магнетика і магнітної рідини, відповідно, φ – об'ємна доля магнетика в МР.

Для полідисперсної (наповнювач магнетит) МР було встановлено [35], що узгодження експериментальної і теоретичної кривої намагнічування можливо при допущенні наявності у частинок Fe_3O_4 внутрішнього приповерхневого шару з магнітними моментами направленими не колінеарно m завтовшки $h_1 = 0.83$ нм (рис. 18). Зазначимо, що постійна ґратки магнетиту при 300 К становить $\sim 0,824$ нм. Виникнення зазначеного шару вважали результатом хімічної взаємодії частинки зі стабілізуючою поверхнево-активною речовиною [38]. Однак вимірюваннями месбауерівських спектрів колоїдних частинок Fe_3O_4 наявності подібного шару виявлено не було [39].

Таким чином, для полідисперсної колоїдної МР [37]

$$\frac{M(H)}{\varphi M_s} = \frac{\sum_i^k n_i (d_i - 2h_1)^3 L\left(\frac{M_s H \pi}{k_B T} \frac{\pi}{6} (d_i - 2h_1)^3\right)}{\sum_i^k n_i d_i^3}, \quad M(H) = \bar{nm}, \quad M_s = nm, \quad (5)$$

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

Узгодження вказаних кривих можливо здійснити без використання поняття про слабкомагнітний шар шляхом використання емпіричної залежності питомої намагніченості частинки магнетиту від її діаметра (3).

Тоді

$$\frac{M(H)}{M_s} = \frac{\sum_{i=1}^{11} n_i d_i^3 \sigma_s(d_i) L\left(\frac{\rho \sigma_s(d_i) H \pi}{k_B T} \frac{\pi}{6} d_i^3\right)}{\sum_{i=1}^{11} n_i d_i^3 \sigma_s(d_i)}, \quad (6)$$

де величини $n_i = np(d_i)$, $\sigma(d_i)$ можна обчислити за формулами (1) і (3), відповідно. Залежність намагнічування насичення наночастинок від їх розмірів отримана в [40].

На рис. 3, *a* наведено криву магнітного гистерезису ансамблю наночастинок Fe_3O_4 з поверхнею, модифікованою олеатом натрію (ол. Na). Зазначене модифікування здійснено з метою запобігання агрегації наночастинок магнетиту і, як свідчили експериментальні результати, практично не впливає на намагнічування окремих частинок.

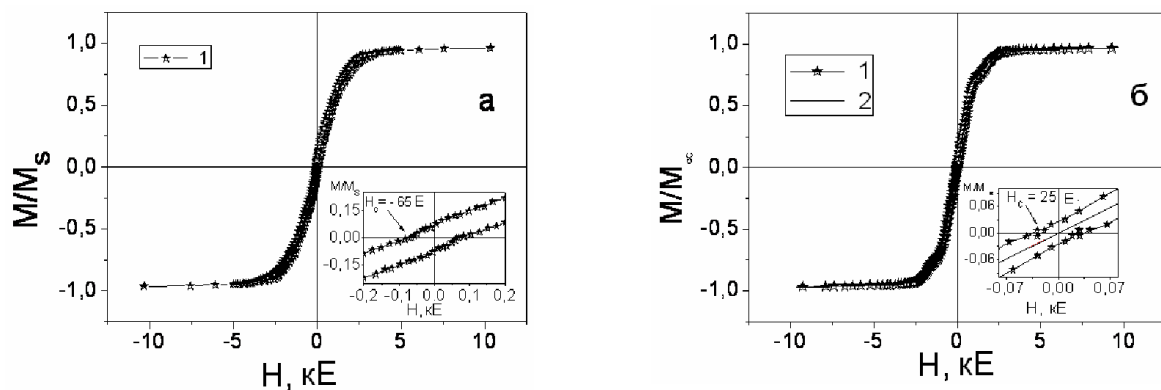


Рис. 3. Петлі гистерезису нормованої намагніченості: *a* – ансамблю модифікованих наночастинок Fe_3O_4 /ол. Na, *b* – магнітної рідини Fe_3O_4 /ол. Na+ H_2O (1), ансамблю логнормально розподілених ($d_0 = 10,78 \text{ нм}$, $\sigma = 2,9345 \text{ нм}$) НЧ магнетиту (2). M_∞ – намагніченість насичення МР. На вставках – початкові ділянки кривих магнітного гистерезису.

На рис. 3, *b* наведено експериментальну (1) петлю гистерезису магнітної рідини Fe_3O_4 /ол. Na+ H_2O і розраховану (2) за формулою (6) нормовану криву намагнічування ансамблю невзаємодіючих логнормально розподілених ($d_0 = 10,78 \text{ нм}$, $\sigma = 2,9345 \text{ нм}$) частинок магнетиту. Видно, що експериментальні і розрахункові результати задовільно узгоджуються. У магнітних рідинах наночастинок здійснюють броунівський поступальний і обертальний рух. Рівноважна намагніченість МР у магнітному полі може бути досягнута шляхом обертання частинок відносно дисперсійного середовища.

Такий механізм релаксації намагніченості характеризується броунівським часом обертальної дифузії τ_B , який визначається об'ємом частинки, в'язкістю середовища η і температурою. Для МР на водній основі ($\eta = 0,07 \text{ г} \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), що містять сферичні частинки розмірами $d = 6$ і 34 нм , τ_B становить 10^{-6} і 10^{-4} с , відповідно. При $t_{\text{вим}} = 10 \text{ с}$ рівноважна намагніченість МР встигає встатися і петля нормованої намагніченості характеризується значно меншим гистерезисом (рис. 3, б).

Таким чином, по експериментально виміряному розподілу наночастинок в ансамблі можна розрахувати криву намагнічування магнітної рідини на їх основі.

Інтерес становить також вирішення оберненої задачі: за результатами вимірювання кривої намагнічування магнітної рідини, що містить НК типу ядро-оболонка, які характеризуються складною багаторівневою структурою, з використанням ансамблю суперпарамагнітних ядер як магнітного зонда, визначити розмірні параметри оболонок нанокompatитів. Вирішення зазначеної задачі наведено трохи нижче і може бути обґрунтованим застосуванням методу магнітної гранулометрії для контролю параметрів, атестації та стандартизації магнітних рідин на основі поліфункціональних нанокompatитів.

Дослідження адсорбції і десорбції цисплатини

Зразки магнетиту і НК з поверхнями різної хімічної природи ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$) були використані для досліджень адсорбції ЦП. Увагу було зосереджено, головним чином, на виявленні можливості їх використання як медичних адсорбентів, здатних до адсорбційної детоксикації організму після онкотерапії.

Для побудови ізотерм (рис. 4, а, б) використовували розчини ЦП у фізіологічній рідині з концентрацією $C_0 = 5,0 - 200,0$ мг/л (за катіонами Pt^{2+}), $V = 5$ мл, наважка адсорбенту становила $g = 30$ мг. Дослідженнями залежності адсорбції від рН встановлено, що максимальна адсорбційна ємність на поверхнях $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ спостерігалась при рН = 7,1, а на поверхнях $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ – при рН = 8,6.

В табл. 1 наведено обчислені значення адсорбційної ємності A , мг/г та ступінь вилучення (R , %) ЦП наноструктурами з різною хімічною природою поверхні при концентрації вихідного розчину $C_0 = 200,0$ мг/л, $V = 5$ мл, $g = 30$ мг. Адсорбцію здійснювали в динамічному режимі впродовж 3 год з використанням шейкера за кімнатної температури.

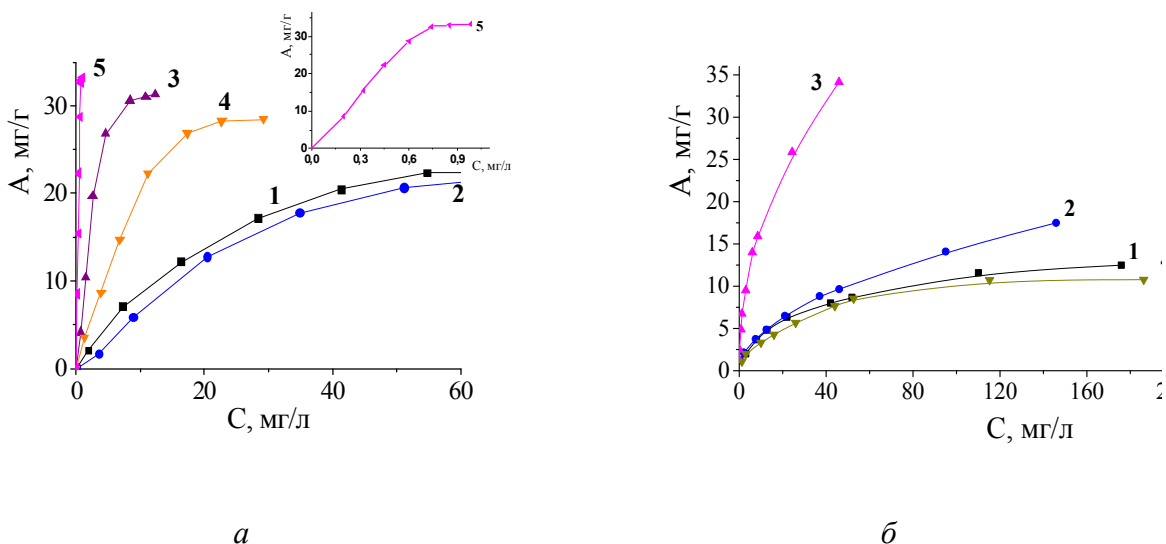


Рис. 4. Ізотерми адсорбції ЦП ($T = 298$ К): а – Fe_3O_4 (1), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ (2), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ (3), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ (4), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ (5), рН = 7,1; б – Fe_3O_4 (1), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ (2), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$ (3), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ (4), рН = 8,6.

Отримані результати свідчать про залежність адсорбційної ємності поверхні досліджених зразків від хімічної природи їх поверхні. На поверхнях з функціональними групами $-\text{NH}_2$ і $-\text{SH}$ (криві 3, 4, 5, рис. 4, а) адсорбційне насичення настає при малих

рівноважних концентраціях, що вказує на високі значення адсорбційної ємності і ступеня вилучення R в межах даних концентрацій. Насичення поверхні Fe_3O_4 /ПАА показано на вставці рис. 4, а, крива 5. Зростання рівноважної концентрації ЦП призводить до адсорбційного насичення поверхні наноструктур Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$. Всі ізотерми відповідають моделі Ленгмюра, слушній для адсорбентів з енергетично еквівалентними адсорбційними центрами.

Слід відмітити значну адсорбційну активність щодо ЦП нанорозмірного магнетиту. Так, при 298 К для Fe_3O_4 $A_{\max} = 12.5$ мг/г (рН=7,1) і 22,1 (рН-8,6) (рис. 4, а, б, криві 1, табл. 1), обчислені значення R становили 40,0 і 66,2 %, відповідно. Поява на поверхні Fe_3O_4 тіольних функціональних груп внаслідок модифікування ДМСК збільшує адсорбційну ємність. Для НК Fe_3O_4 /ДМСК $A_{\max} = 28,5$ мг / г (рис. 4, а, крива 4, табл. 1), а ступінь вилучення досягає 85.4%. Дослідження кінетики адсорбції показують, що основна частина ЦП на Fe_3O_4 /ДМСК адсорбується за 10–20 хв [14, 26].

Механізми адсорбції комплексів платини на поверхні синтезованих наноструктур нами будуть уточнюватися пізніше, однак зауважимо, що наявність гідроксильних або тіольних груп на поверхні наноструктур може викликати, відповідно, іонний обмін і комплексоутворення [41]. Слід враховувати також складний характер утворення хелатних комплексів димеркаптохелатуючих агентів з металами або металоїдами [42]. Так, наприклад, експериментами з використанням ЯМР та ІЧ-спектрометрії в поєднанні з потенціометричним титруванням суспензій ДМСК встановлено, що іони Pb^{2+} або Cd^{2+} координуються з одним атомом сірки і одним атомом кисню ДМСК. З іншого боку, Hg^{2+} або Ni^{2+} координуються з кожним з двох атомів сірки. Таким чином, характер координування за участю ДМСК залежить від типу іона металу.

Утворення на поверхні Fe_3O_4 активних $-\text{NH}_2$ груп в результаті модифікування його γ -АПС також призводить до зростання адсорбційної ємності магніточутливих наноконкомпозитів (рис. 4, а, крива 3, табл. 1). Величина A_{\max} , отримана з відповідної ізотерми адсорбції композиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС при 298 К, становить 31,3 мг/г при ступені вилучення 93,8. Для даного композиту швидше настає рівновага – основна частина ЦП на $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС адсорбується за 10 хв [14, 26].

Ще більші значення адсорбції ЦП спостерігалися на поверхні наноконкомпозитів Fe_3O_4 /ПАА (рис. 4, а, крива 5 і вставка, табл. 1). Величина A_{\max} , отримана з відповідної ізотерми адсорбції наноконкомпозиту Fe_3O_4 /ПАА, склала 33,2 мг/г при ступені вилучення 98,5%.

Високі адсорбційні параметри НК Fe_3O_4 /ПАА, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС і Fe_3O_4 /ДМСК можна пояснити утворенням хімічного зв'язку груп $-\text{NH}_2$ і $-\text{SH}$ з іонами платини [41].

Таблиця 1. Адсорбційні характеристики синтезованих наноструктур щодо ЦП при $C_0 = 200$ мг/л і наважці $g = 30$ мг, $V = 5$ мл, рН = 7.1, $T = 300$ К; * – рН = 8,6

Тип наноструктури	Адсорбційна ємність A , мг/г	Ступінь вилучення R , %
Fe_3O_4	22,1 (12,5*)	66,2 (40*)
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$	21,6	64,8
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma$ -АПС	31,3	93,8
Fe_3O_4 /ДМСК	28,5	85,4
Fe_3O_4 /ПАА	33,2	98,5
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$	20,5*	41,3*
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$	52,9*	87,0*
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$	10,9*	36,0*

Модифікування магнетиту гідроксиапатитом, на відміну від ДМСК, γ -АПС і ПАА, суттєво не змінює адсорбційну активність щодо ЦП (рис. 4, а, крива 5): $A_{\max} = 21,6$ мг/г, ступінь вилучення $R = 64, 8\%$. Час настання рівноваги для поверхні НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ становить ~ 10 хв [14, 26].

Ізотерми та параметри адсорбції ЦП на поверхні НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ наведені на рис. 4, б та в табл. 1.

Ізотерми адсорбції ЦП НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ (рис. 4, б, криві 2, 3, відповідно) вказують, що зростання рівноважної концентрації ЦП призводить до адсорбційного насичення моношару поверхні адсорбентів.

Ізотерму адсорбції ЦП наноконкомпозитом $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$ (рис. 4, б, крива 4) можна віднести до класу Н [43], який відрізняється високою спорідненістю адсорбату до поверхні адсорбенту. Це може бути пов'язано з гідрофобними властивостями поверхні TiO_2 , що є характерним для даного способу синтезу.

Поверхні Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ та $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ характеризуються досить близькими значеннями адсорбційних параметрів (табл. 1). Цей факт може бути обумовлений подібним характером природи їх поверхні та механізмів адсорбції, а саме, з наявністю гідроксильних груп та відповідними значеннями їх концентрації.

Кінетичні дослідження свідчать, що основна частина ЦП адсорбується на поверхнях усіх досліджених наноконкомпозитів за 10–40 хв [27]. Висока швидкість адсорбції може вказувати на відсутність в синтезованих наноконкомпозитах значної пористої структури.

Для дослідження десорбції ЦП у модельне середовище зразки з певною кількістю адсорбованої речовини заливали фізіологічним розчином (40 мл) і через певний час відбирали по 5 мл для вимірювання концентрації цитостатика.

Експериментальні залежності десорбції (A_D , мг/г) вказують (рис. 5, а, б) на те, що вивільнення ЦП зменшується з часом.

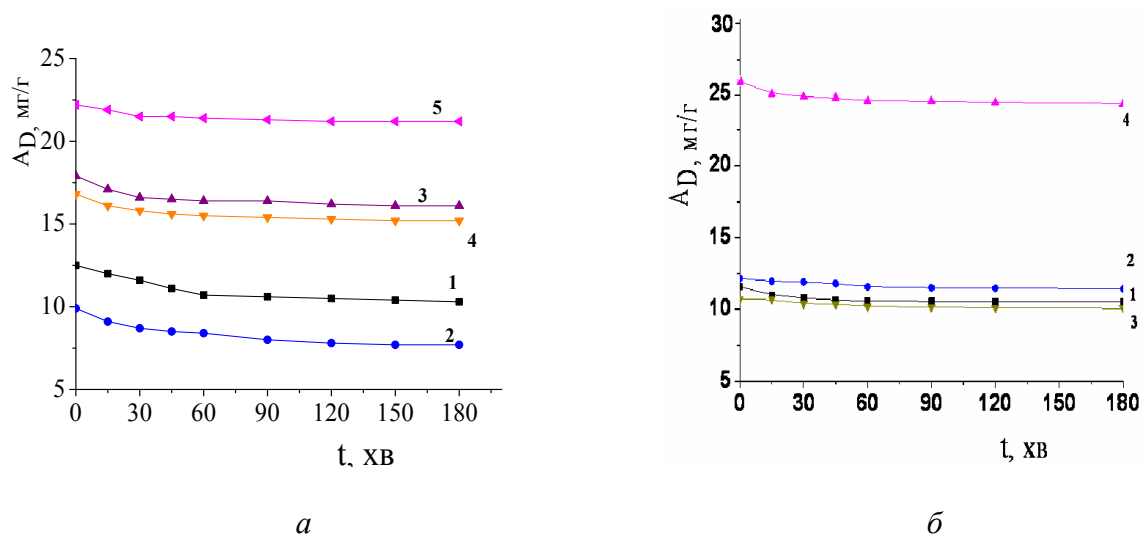


Рис. 5. Десорбція ЦП з поверхні наноструктур ($T=298$ К): а – Fe_3O_4 (1), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ (2), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ (3), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ (4) та $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ (5); б – Fe_3O_4 (1), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ (2), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$ (3), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ (4).

Слід зазначити, що в останні роки в літературі до розробки магнітних адсорбентів, зокрема на основі магнетиту, вивчення їх властивостей і моделювання процесів, що відбуваються на поверхні, спостерігається значний інтерес. Наприклад, адсорбція іонів важких металів магніточутливими наноконкомпозитами, модифікованими поверхнями різної хімічної природи, вивчалася в [44–47], органічних і біологічних

молекул – в [48–51], протипухлинних препаратів – в [52–54]. Уточнення механізмів і теоретичне моделювання адсорбції ЦП на поверхні синтезованих нами наноструктур з урахуванням стану поверхні, природи активних центрів і їх концентрації, буде виконано в подальшому.

На рис. 6 показані спектри оптичної щільності розчину ЦП в фізіологічній рідині різної концентрації (рис. 6, а) і спектри після десорбції в фізрозчин з поверхні досліджуваних нанокомпозитів (рис. 6, б). Інтенсивна смуга у діапазоні 200–230 нм та слабка смуга при 250–350 нм у наведених спектрах (рис. 6, а) є характерними ознаками наявності в розчинах комплексної сполуки *цис*-дихлордіаміноплатини [55–57]. Перерозподіл інтенсивності в діапазоні 200–350 нм (рис. 6, б) свідчить про утворення аквакомплексів ЦП внаслідок гідролізу. Ці дані вказують на те, що всі досліджені нами системи містять тільки два основних спектрально різних компоненти – цисплатин і аквакомплекси, сума концентрацій за іонами Pt^{2+} яких є постійною.

Збільшення оптичної щільності в позитивній області ($D > 0$) (рис. 6, б, криві 1, 3, 6 – НК $Fe_3O_4/ПАА$, $Fe_3O_4/ДМСК$ і $Fe_3O_4/\gamma-АПС$, відповідно) може свідчити про наявність міцних зв'язків Pt^{2+} з поверхнею НК. Функціональні групи $-SH$ і $-NH_2$ поверхні даних композитів утворюють ковалентні зв'язки з іонами платини. "Зростання" оптичної щільності в негативній області ($D < 0$) (рис. 6, б, криві 2, 4, 5 – НК $Fe_3O_4/ПАА$, $Fe_3O_4/ДМСК$ і $Fe_3O_4/\gamma-АПС$, відповідно) може свідчити про меншу міцність зв'язку Pt^{2+} з поверхнею, наприклад внаслідок електростатичного зв'язування. Ці припущення узгоджуються з даними досліджень ізотерм адсорбції (рис. 5) і залежності десорбції НК від часу (рис. 6).

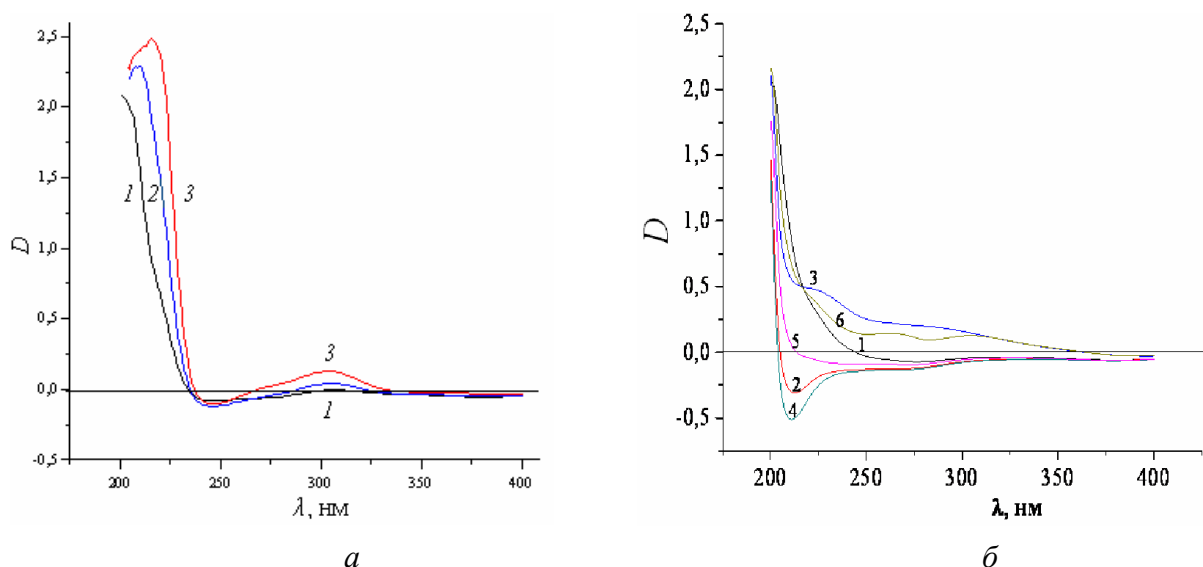


Рис. 6. УФ -спектри розчинів ($T \sim 300$ К): а – ЦП у фізіологічній рідині концентрації 0,25 (1), 0,375 (2), 0,5 (3) мг/мл; б – фізіологічного розчину після десорбції ЦП з поверхні НК: 1 – $Fe_3O_4/ПАА$, 2 – $Fe_3O_4/ГА$, 3 – $Fe_3O_4/ДМСК$, 4 – Fe_3O_4/TiO_2 , 5 – Fe_3O_4/SiO_2 , 6 – $Fe_3O_4/\gamma-АПС$.

Наявність саме комплексів *цис*-дихлордіаміноплатини на поверхні синтезованих наноструктур з різною хімічною природою поверхні підтверджено експериментально дослідженнями цитотоксичності *in vivo*, *in vitro* [58] щодо клітинних ліній та пухлин раку молочної залози людини MCF-7 та карциноми Герена. Як відомо [59], основною мішенню терапевтичної дії цисплатину є ДНК. Згідно класичному механізму цитотоксичної активності препаратів платини, гідроліз цисплатину і утворення його

аквакомплексів є необхідною і лімітуючою стадією для пошкодження більшості біомолекул (за винятком деяких сірковмісних).

Задовільні магнітні властивості і адсорбційні параметри досліджених в даній роботі НК щодо ЦП, можливість використання в рідких середовищах, в тому числі біологічних, свідчать про перспективність їх застосування як адсорбентів медико-біологічного (детоксикація організму) і технічного (утилізація розчинів) призначення. Дослідження *in vitro*, *in vivo* синтезованих наноструктур на основі однодоменого магнетиту [3, 4] підтвердили їх високу біосумісність, відсутність мутагенності і можливість практичного використання в медико-біологічних цілях. На їх основі були виготовлені дослідні зразки магнітокерованих лікарських засобів, що містять цитотоксичний препарат цисплатин для онкологічних випробувань.

Дослідження адсорбції доксорубіцину

Попередніми дослідженнями нами встановлено високу біосумісність, адсорбційну активність поверхні по відношенню ДР та задовільні магнітні властивості НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, а також можливість створення на їх основі магнітних рідин. Тому наведені нижче результати досліджень стосуються, в основному, НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$.

Спектр поглинання ДР, виміряний у середовищі фізіологічної рідини, наведено на рис. 7. Він має декілька максимумів: 204, 233, 254, 290, 480 cm^{-1} , кут нахилу лінії калібрувального графіку для ДР в середовищі ФР був оптимальним для довжини хвилі $\lambda = 480$ нм (рис. 7, а), на якій здійснювали кількісні вимірювання концентрації ДР.

Дослідження ізотерми адсорбції ДР на поверхні НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ здійснювали наступним чином. Наважки (g) НК по 30 мг заливали розчинами ДР ($V = 5$ мл) різної концентрації. Адсорбцію ДР проводили у фізіологічному розчині (ФР) протягом 2 год в динамічному режимі при кімнатній температурі і $\text{pH} = 7,0$ [15].

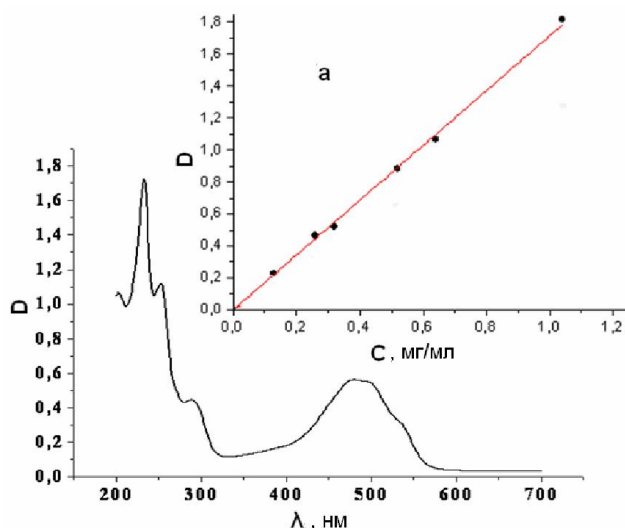


Рис. 7. Спектр поглинання ДР у середовищі ФР. На вставці (а) зображено калібрувальний графік.

Для дослідження залежності адсорбції ДР від часу на поверхні НК, як і при дослідженні ізотерм, використовували наважки (30 мг) НК, які заливали розчинами ДР у фізіологічній рідині ($V = 5$ мл) різної концентрації, адсорбцію ДР здійснювали у динамічному режимі з використанням шейкера при кімнатній температурі. Кількість адсорбованої речовини на поверхні нанокompatитів визначали вимірюванням через певний фіксований час (від 30 хв до доби) концентрації ДР у контактних розчинах.

Дослідження ізотерми адсорбції ДР на поверхні НК Fe₃O₄/ГА (рис. 8) свідчать, що зростання рівноважної концентрації ДР не призводить до адсорбційного насичення поверхні адсорбента Fe₃O₄/ГА. Увігнутість (S-подібність) початкової ділянки ізотерми відносно осі концентрацій та відсутність насичення в дослідженому інтервалі рівноважних концентрацій можуть бути пов'язані з полімолекулярним характером адсорбції і незначною пористістю поверхні нанокompозиту. Крім того, S-подібність ізотерми може бути викликана, певною мірою, сумісною адсорбцією хлориду натрію, оскільки адсорбція ДР здійснювалась з фізіологічного розчину.

Коефіцієнт розподілу (*E*, мл/г) доксорубіцину між поверхнею нанокompозиту та розчином становив 366,8 мл/г при *A* = 91,7 мг/г.

Дослідженнями адсорбції ДР на поверхні НК Fe₃O₄/ГА від часу (рис. 9) встановлено [15], що впродовж перших двох годин адсорбується 60–70 % речовини, а впродовж доби адсорбція проходить майже повністю (93–97 %). Це відноситься до всього діапазону досліджених концентрацій ДР. Результати вимірювань ступеня вилучення (*R*, %) доксорубіцину, концентрації розчинів та часу адсорбції наведені у таблиці 2.

Таблиця 2. Ступінь вилучення ДР (*R*, %) на поверхні НК Fe₃O₄/ГА в залежності від концентрації розчинів та часу адсорбції.

<i>C</i> ₀ , мг/мл	<i>R</i> , %				
	30 хв.	135 хв.	300 хв.	1380 хв.	1620 хв.
0,13	53,8	73,1	88,5	97,0	97,0
0,26	46,2	69,2	86,5	95,8	97,7
0,32	50,0	65,6	84,4	95,6	97,2
0,52	46,2	57,7	77,0	92,3	95,2
0,64	53,1	64,0	79,7	93,8	96,1
1,04	49,0	59,6	69,2	80,8	87,5

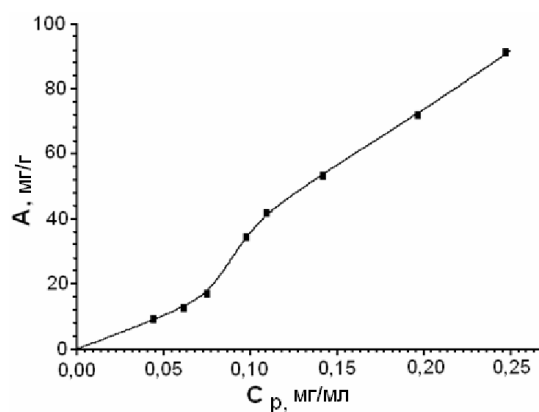


Рис. 8. Ізотерма адсорбції ДР на поверхні НК Fe₃O₄/ГА.

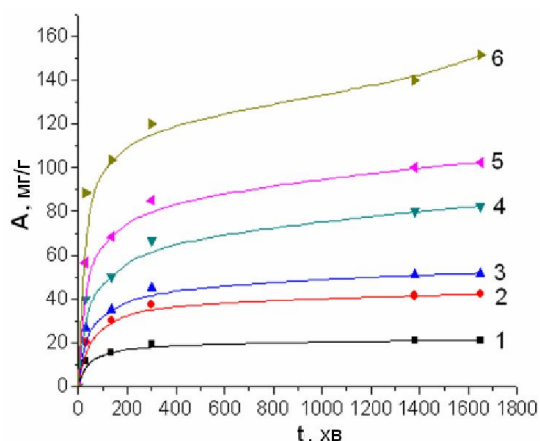


Рис. 9. Залежність адсорбції ДР на поверхні НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ з ФР від часу. Початкова концентрація розчинів ДР, мг/мл: 1 – 0.13, 2 – 0.26, 3 – 0.32, 4 – 0.52, 5 – 0.64, 6 – 1.04.

Десорбція доксорубіцину в фізіологічний розчин

Результати дослідження залежності десорбції (A_D , мг/г) ДР з поверхні НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ у фізіологічний розчин від часу та відсоток десорбованої речовини (A_D , %) надані на рис. 10 та в табл. 3. Експериментальні залежності десорбції від часу вказують на те, що вивільнення ДР зменшується з ростом його кількості на поверхні НК. При кількості адсорбованого ДР 20–50 мг/г десорбується 80 – 60 % ДР, відповідно, тоді як при великих кількостях адсорбованого ДР (100 – 150 мг/г) вивільнення майже не відбувається. Подібна ситуація може бути пояснена особливостями взаємодії та виникненням досить сильних зв'язків між певними функціональними групами поверхні ГА та молекул ДР: гідроксильні та карбонатні групи поверхні НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ можуть утворювати міцний водневий зв'язок з гідроксильними та аміногрупами ДР; при десорбції у зразках з меншою концентрацією ДР лікарський препарат десорбується швидше через часткову дисоціацію водневих зв'язків [60].

Основна кількість ДР десорбується впродовж 20 хв для всіх досліджених концентрацій.

Таблиця 3. Залежність десорбції ДР (A_D , %) з поверхні НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}$ у ФР від часу при різних початкових кількостях (A) адсорбційно іммобілізованого ДР

A , мг/г	D , %			
	20 хв	60 хв	180 хв	400 хв
21,0	83,8	84,3	84,3	84,8
42,3	76,4	76,6	76,8	77,0
51,9	61,5	62,1	62,4	62,6
82,5	11,6	11,5	12,1	12,7
102,5	7,0	6,1	8,3	8,7
151,7	2,2	2,3	2,3	2,4

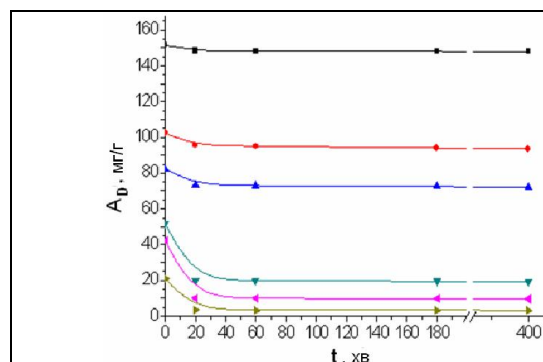


Рис. 10. Залежність десорбції ДР (A_D) з поверхні НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}$ у ФР від часу при різних початкових кількостях адсорбційно іммобілізованого ДР.

Дослідження біоактивності наноконструктив

Дослідження біосумісності наноструктур здійснювали за їх впливом на життєздатність клітин хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Життєздатність клітин визначали цитохімічним методом [26] за допомогою камери Горяєва із застосуванням методу оптичної мікроскопії (біологічний мікроскоп типу Bresser Erudit) та барвника метиленового синього шляхом реєстрації зміни їх концентрації при розмноженні в суспензіях при температурі 22 °С, що містили наноконструктиви, клітини дріжджів, мінімальне синтетичне живильне середовище (МСС) [61], фізіологічний розчин (ФР). Чисельно життєздатність (K) оцінювали за формулою: $K = M_1 / (M_1 + M_2) \cdot 100\%$, де M_1 – кількість живих клітин, M_2 – кількість загиблих клітин. Отримані дані порівнювали з результатами досліджень контрольних зразків.

Біоактивність наноструктур, модифікованих ДР, оцінювали за їх цитотоксичним впливом на модельні клітини *Saccharomyces cerevisiae* та зниженням темпу проліферації клітин [61]. Концентрацію клітин (n , мл⁻¹) підраховували за формулою камери Горяєва: $n = N \cdot 2,5 \cdot 10^5$, де N – кількість клітин над великим квадратом камери.

Нижче наведено дані щодо досліджень зразків таких серій:

1 – суспензія дріжджових клітин (початкова концентрація ($n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$ мл⁻¹) у фізіологічному розчині з МСЖС;

2 – суспензія фізіологічного розчину та вихідного нанорозмірного однодомного магнетиту (170 мкг/мл), що містила клітини дріжджів ($n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$ мл⁻¹) та МСЖС;

3 – суспензія дріжджових клітин ($n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$ мл⁻¹) у фізіологічному розчині, що містила МСЖС та наноконструктиви Fe₃O₄/ДР (маса іммобілізованого ДР в зразку ($M_{\text{ДР}}$) становила 0,7 мг);

4 – суспензія фізіологічного розчину та наноконструктивів Fe₃O₄/ГА/ДР ($M_{\text{ДР}} = 0,6$ мг) з клітинами дріжджів ($n_0 \approx 3,5 \cdot 10^7$ мл⁻¹) та МСЖС;

5 – суспензія фізіологічного розчину та наноконструктивів Fe₃O₄/SiO₂/ДР ($M_{\text{ДР}} = 0,7$ мг) з клітинами дріжджів ($n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$ мл⁻¹) та МСЖС;

6 – суспензія фізіологічного розчину та наноконструктивів Fe₃O₄/TiO₂/ДР ($M_{\text{ДР}} = 0,8$ мг) з клітинами дріжджів ($n_0 \approx 3 \cdot 10^7$ мл⁻¹) та МСЖС.

Всі досліджені зразки містили 1,3 мл фізіологічного розчину (0,9 % NaCl) та 1 мл мінімального синтетичного середовища як живильної речовини. Маса клітин дріжджів становила 0,5 мг. Наночастинки магнетиту, наноконструктиви та клітини дріжджів у суспензіях відповідних серій зразків приводили в контакт струшуванням.

Кількість клітин для кожного із зразків відповідних серій підраховували методом світлової мікроскопії із застосуванням камери Горяєва після початку досліду через 16 год та через 3,5 доби. Досліджували три зразки кожної серії для отримання статистично достовірних результатів, підрахунок кількості клітин проводили у 5–7 великих квадратах камери, результати усереднювали.

Результати досліджень зміни концентрації клітин дріжджів у зразках наведені на рис. 11–16.

Спочатку в суспензіях спостерігалось явище аглютинації наноконструктивів на поверхні клітин та утворення агрегатів із наноконструктивних частинок (рис. 12–16, а). Після достатньо тривалого обережного струшування суспензії ставали однорідними. Дослідження проводили при $t \sim 22$ °С. Встановлено, що при цій температурі за умов проведення дослідів у контролях відбувається відносно повільне зростання кількості клітин, що сприяло їх підрахунку.

При дослідженні біоактивності доксорубіцину було експериментально встановлено, що його розчин у фізіологічній рідині призводить до майже повної

загибелі клітин дріжджів (95%) в концентрації 0,5 мг/мл за 3,5 доби. В методиці на визначення цитотоксичності прийнято [58] користуватись дозою IC_{50} , за якої спостерігається загибель 50% клітин. Тому для тестування біоактивності кількість нанокompatитного матеріалу $Fe_3O_4/ГА/ДР$ (~20 мг) з іммобілізованим доксорубіцином (~50 мг/г), який використовувався для утворення суспензії, вибиралась з розрахунку, щоб концентрація вивільненого ДР у дослідних суспензіях становила ~0,25 мг/мл.

Аналіз даних досліджень (рис. 11) свідчить, що в суспензіях клітин дріжджів ($n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$ мл⁻¹) у фізіологічному розчині з поживною речовиною (контрольний зразок 1) спостерігається збільшення їх кількості [62], яке призводило до зростання їх концентрації удвічі через 16 год ($5 \cdot 10^7$ мл⁻¹). В подальшому швидкість їх поділу сповільнювалась (можливо, через зменшення поживної речовини), однак через 3,5 доби їх концентрація сягала $\sim 10^8$ мл⁻¹. Життєздатність дріжджових клітин в експериментах серії 1 суттєво не змінювалась і становила ~98–99%.

Аналіз даних досліджень, наведених на рис. 12, свідчить, що в суспензії фізіологічного розчину та вихідного нанорозмірного однодомного магнетиту (170 мкг/мл), яка містила клітини дріжджів ($n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$ мл⁻¹) та поживну речовину (контрольний зразок 2), також спостерігається досить активний поділ, внаслідок якого концентрація клітин через 16 год становила $\sim 6,5 \cdot 10^7$ мл⁻¹, а через 3,5 доби перевершувала 10^8 мл⁻¹. Життєздатність клітин дріжджів, як і в попередньому випадку, на всіх стадіях досліджень зразків серії 2 становила ~98–99%. Наведені дані свідчать про біосумісність нанорозмірного однодомного магнетиту щодо клітин дріжджів в умовах експерименту. Деяке перевищення швидкості клітинної проліферації в зразках серії 2 порівняно з попереднім випадком може бути пояснено ефектом стимулювання життєдіяльності клітин внаслідок адсорбції продуктів метаболізму поверхнею магнетиту.

Зазначимо, що форма клітин у дослідях зі зразками серії 1 та 2 була округлою, поділ відбувався без особливостей.

Результати досліджень свідчать (рис. 13), що наявність нанокompatитів $Fe_3O_4/ДР$ (кількість іммобілізованого ДР в зразку 0,7 мг) у суспензіях дріжджових клітин ($n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$ мл⁻¹) у фізіологічному розчині з поживною речовиною (серія 3) призводить до істотного пригнічення клітинної проліферації. Так, через 16 годин концентрація клітин дріжджів практично не змінилася, лише через 3,5 доби їх кількість дещо зросла і становила $\sim 3 \cdot 10^7$ мл⁻¹.



Рис. 11. Зміна кількості клітин дріжджів у контролях серії 1: *a* – на початку досліджень, *б* – через 16 год.

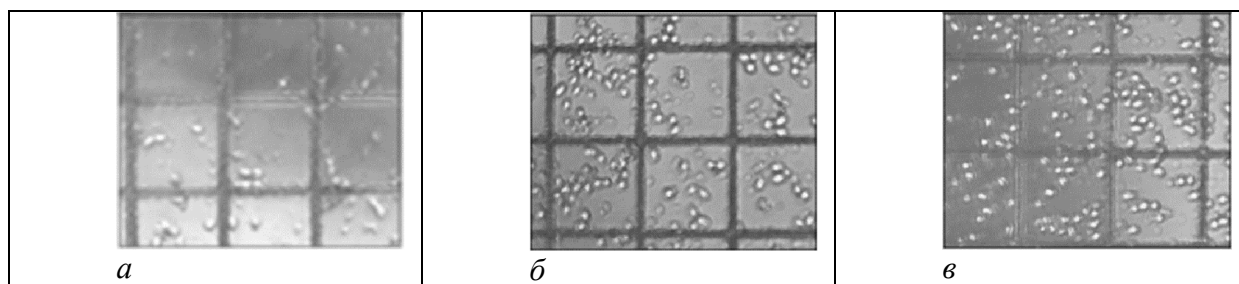


Рис. 12. Зміна кількості клітин дріжджів у контролях серії 2 (фізрозчин, клітини дріжджів, МСЖС, магнетит): *a* – на початку, *б* – через 16 год, *в* – через 3,5 доби.

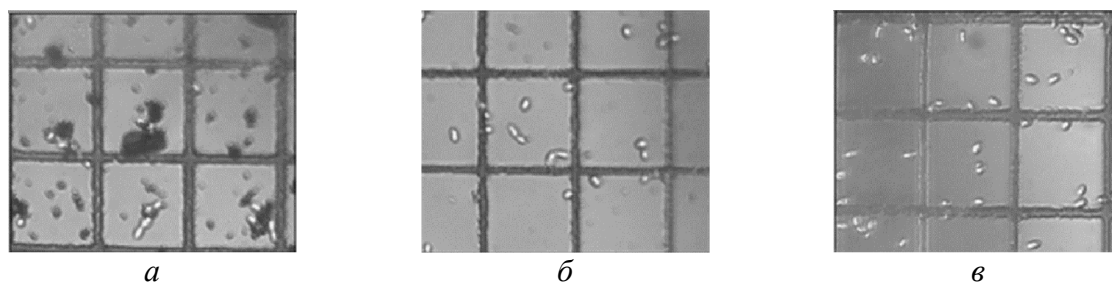


Рис. 13. Взаємодія нанокompatитів $Fe_3O_4/ДР$ з клітинами дріжджів (серія 3): *a* – на початку, *б* – через 16 год, *в* – через 3,5 доби.

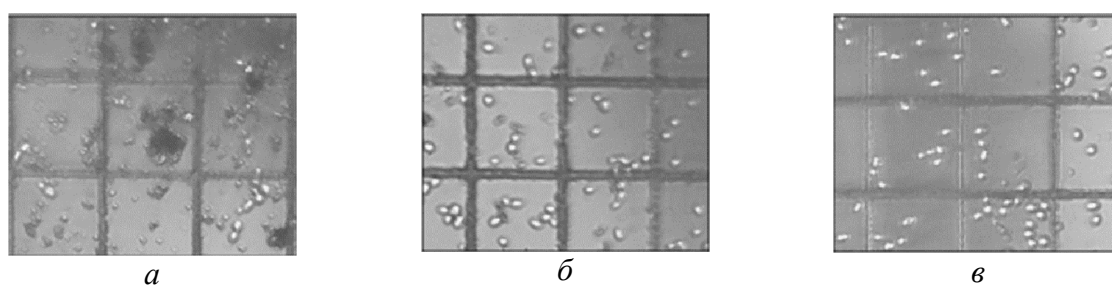


Рис. 14. Взаємодія нанокompatитів $Fe_3O_4/ГА/ДР$ з клітинами дріжджів (серія 4): *a* – на початку, *б* – через 16 год, *в* – через 3,5 доби.

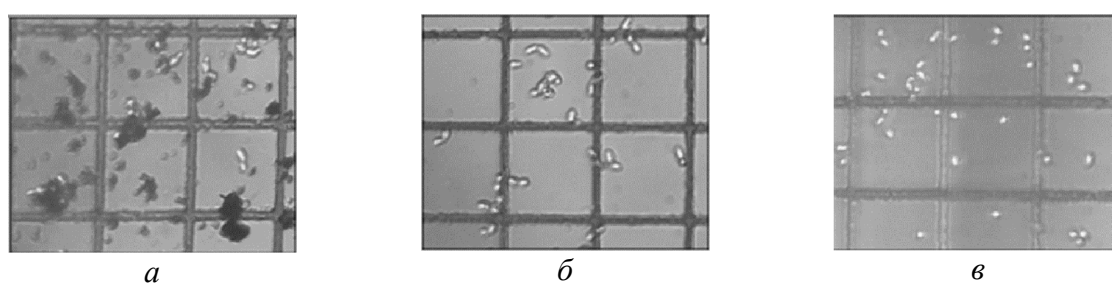


Рис. 15. Взаємодія нанокompatитів $Fe_3O_4/SiO_2/ДР$ з клітинами дріжджів (серія 5): *a* – на початку, *б* – через 16 год, *в* – 3,5 доби

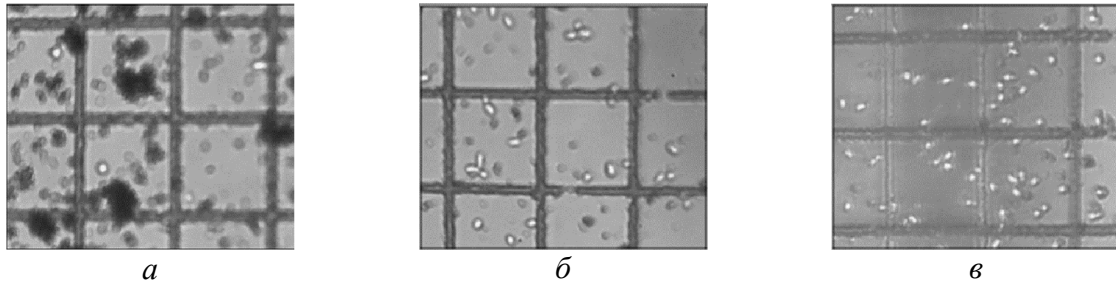


Рис. 16. Взаємодія наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2/\text{ДР}$ з клітинами дріжджів (серія 6): *а* – на початку, *б* – через 16 год, *в* – 3,5 доби.

Дослідженнями взаємодії суспензії фізіологічного розчину зразків серії 4, наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}$ (вміст ДР 0,6 мг) з клітинами дріжджів (рис. 14) також встановлено істотне пригнічення клітинної проліферації. Концентрація клітин дріжджів на початку експерименту становила $\sim 3,5 \cdot 10^7 \text{ мл}^{-1}$ і практично не змінилася за 16 год, лише через 3,5 доби їх кількість зросла до $\sim 4 \cdot 10^7 \text{ мл}^{-1}$.

Подібне пригнічення проліферації клітин дріжджів спостерігалось також при їх взаємодії з наноконкомпозитами $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{ДР}$ (вміст ДР 0,7 мг) та $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2/\text{ДР}$ (вміст ДР 0,8 мг) у дослідях із зразками серій 5 (рис. 15) та 6 (рис. 16), відповідно. Зазначимо лише, що у випадку наноконкомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{ДР}$ зростання кількості клітин дріжджів не спостерігалось навіть через 3,5 доби. Цей факт звертає на себе увагу, оскільки в роботі [63] повідомлялось про можливість синергічного впливу на метаболізм клітин антибіотика в присутності висодисперсного кремнезему.

Характерним для дослідів із зразками серій 3, 4, 5 та 6 було також те, що життєздатність дріжджових клітин з плином часу зменшувалась і складала ~ 85 та 75% , відповідно, через 16 годин та 3,5 доби. Слід також зазначити, що при цьому спостерігалось зростання кількості значно збільшених клітин (аж до подвоєння розміру) видовженої форми, які не змогли поділитися, що свідчить про значні порушення клітинного циклу.

Наведені дані свідчать, що магніточутливі наноконкомпозити $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДР}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{ДР}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2/\text{ДР}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}$ виявляють цитотоксичну та протипроліферативну активність щодо клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, механізм якої є характерним для антибіотика антрациклінового ряду – доксорубіцину.

Отримані результати можуть бути використані в розробках нових форм лікарських засобів спрямованої доставки.

Синтез магнітних рідин

Дані щодо синтезу, фізико-хімічних властивостей та перспектив практичного використання магнітних рідин на основі цисплатину наведено в [4–6, 58]. Оптимальними щодо медичних застосувань виявились МР, що містять НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ та ЦП. В цій роботі увагу зосереджено на дослідженні нових МР на основі НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ і ДР.

Для досліджень синтезовано зразки трьох типів магнітних рідин на основі фізіологічного розчину (МР₁₋₃) складу: МР₁ – $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}+\text{ФР}$, МР₂ – $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}+\text{ФР}$, МР₃ – $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}+\text{ФР}$. Наночастинки Fe_3O_4 , частинки НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, НК $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}$ стабілізували олеатом натрію [64, 65] і поліетиленгліколем (ПЕГ). Відомо, що ПЕГ перешкоджає адсорбційним взаємодіям компонентів рідини з білками [66], що важливо при медичних застосуваннях магнітних рідин. Наважки олеату натрію *m* для стабілізації поверхні НЧ і НК у складі МР розраховували з урахуванням концентрації гідроксильних груп на поверхні магнетиту і

гідроксиапатиту. Розрахунок проводили за формулою: $m = B \cdot M \cdot g$, де B – концентрація гідроксильних груп (2,2 ммоль/г на поверхні вихідного нанорозмірного магнетиту та 1,8 ммоль/г на поверхні нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, визначено за даними термогравіметричного аналізу за допомогою деріватографа Q – 1500), M – молекулярна маса олеату натрію (304 г/моль), g – наважка Fe_3O_4 або НК. Додаткове модифікування ПЕГ-2000 здійснювали в динамічному режимі з використанням шейкера, кількість полімеру складала 10–15 % від маси наважки НЧ Fe_3O_4 або нанокompозиту.

Вивчення магнітних і структурних властивостей нанокompозитів у складі магнітних рідин

Подальші дослідження було спрямовано на вивчення структурних і магнітних властивостей нанокompозитів зі складною оболонковою структурою на основі магнетиту у складі магнітних рідин. Такі дані можуть бути актуальними для аналізу модельних лікарських магнітокерованих систем, перспективних для використання в онкотерапії. Ідея досліджень ґрунтується на використанні ансамбля суперпарамагнітних носіїв як зонда для визначення параметрів та контролю наноструктур складної будови, зокрема у складі магнітних рідин [14, 15, 34, 67].

Реалізація вказаного підходу може бути досягнена шляхом використання методу магнітної гранулометрії, заснованому на зіставленні експериментальної кривої намагнічування з ланжевенівською кривою при заданих законах розподілу частинок за розмірами і їх магнітних параметрах, зокрема намагніченості насичення частинок і товщини «розмагніченого шару».

Для аналізу кривої намагнічування МР, що містить суперпарамагнітні наночастинки, застосовано [14] рівняння

$$\frac{\sigma(H)}{\varphi_p \sigma_s} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i (d_i - 2h_1)^3 L\left(\frac{M_s H}{k_B T} \frac{\pi}{6} (d_i - 2h_1)^3\right)}{\sum_{i=1}^k n_i d_i^3}, \quad (7)$$

де $\sigma(H)$ – питома намагніченість МР у магнітному полі напруженістю H ; σ_s – питома намагніченість насичення об'ємного магнетиту; φ_p – об'ємна концентрація твердої фази в МР, визначена за густиною МР; d_i , n_i – середній діаметр і кількість НЧ Fe_3O_4 в i -тому інтервалі варіаційного ряду діаметрів; k – кількість інтервалів; h_1 – товщина «розмагніченого» шару магнетиту; $L(\zeta) \equiv \text{cth}\zeta - 1/\zeta$ – функція Ланжевена; k_B – постійна Больцмана; T – температура.

а. Визначення розподілу за розмірами ансамблю частинок нанорозмірного магнетиту і товщини їх розмагніченого шару за формою кривих намагнічування магнітної рідини

У дослідженій області розмірів (3 – 23 нм) частинки однодоменного магнетиту за кімнатної температури у МР знаходяться в суперпарамагнітному стані [14]. Магнітний момент НЧ Fe_3O_4 спонтанно переорієнтовується уздовж осей легкого намагнічування під впливом теплової енергії, а процес встановлення теплової рівноваги характеризується часом неслівської релаксації магнітного момента частинки і часом броунівської обертальної дифузії колоїдної частинки. Ансамбль частинок, що знаходяться в суперпарамагнітному стані, має безгістерезисну криву перемагнічування і, отже, нульові значення коерцитивної сили (H_c) і залишкової намагніченості (M_r). Вказані особливості намагнічування спостерігаються, в основному, експериментально і для зразків МР на основі нанокompозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}/\text{ол.На}/\text{ПЕГ} + \text{ФР}$ (МР₃ FF₃) (рис. 17, а).

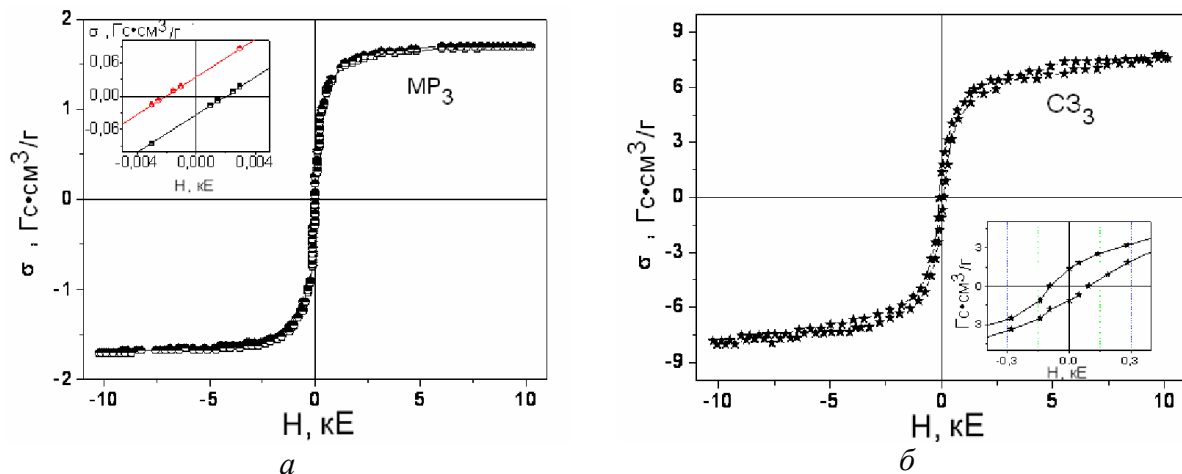


Рис. 17. Петлі гістерезису: *a* – MR_3 (на вставці – початкова ділянка петлі MR_3); *б* – $C3_3$ у матриці парафіну (на вставці – початкова ділянка петлі $C3_3$).

Питома намагніченість насичення σ_s типових ансамблів НЧ Fe_3O_4 , синтезованих для досліджень у цій роботі, становила $62,6 \pm 2,5$ % $Gs \cdot cm^3/g$. При дослідженні статичних магнітних характеристик (час вимірювання складав ~ 100 с) НЧ Fe_3O_4 або сухі залишки ($C3$) (dry residues DR) магнітних рідин розподіляли в матриці з парафіну (для запобігання міжчастинкової взаємодії) за умови $m_{C3}/m_n \sim 0,1$ (m_{C3} – маса $C3$, m_n – маса парафіну). Розрахункові часи неслівської релаксації магнітного моменту НЧ Fe_3O_4 діаметрів 3 – 22 нм складають $10^{-9} - 10^{-2}$ с, відповідно.

Згідно з експериментальною кривою (рис. 17, *a*) коерцитивна сила (H_c) MR_3 дорівнює $(2 \pm 0,5)$ Е. Зразки НЧ Fe_3O_4 і $C3_3$ рідини MR_3 , розподілені в парафіні, характеризуються H_c 89,7 Е і 90,0 Е, відповідно (рис. 17, *б*). Наявність коерцитивної сили в досліджених зразках у стані рідини, ймовірно, обумовлена наявністю незначного числа агрегатів, об'єднаних диполь-дипольною взаємодією, а у матрицях парафіну – незначною кількістю НЧ Fe_3O_4 з діаметром > 22 нм. Розраховане за формулою (7) значення товщини «розмагніченого» приповерхневого шару h_1 НЧ Fe_3O_4 становило $\sim 0,83$ нм.

На рис. 18 наведено модель частинки НК $Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.На/ПЕГ$ з багатшаровою оболонкою, у якій: $d = d_s + 2h_1$ – діаметр сферичної частинки магнетиту; d_s – діаметр області НЧ Fe_3O_4 з σ_s , характерною для об'ємного магнетиту (≈ 92 $Gs \cdot cm^3/g$ при 300 К); h_1 – товщина «розмагніченого» шару частинок Fe_3O_4 ; h_2, h_3, h_4 – товщини сферичних шарів модифікатора (ГА), лікарського препарату (ДР) і стабілізатора (ол.На/ПЕГ), відповідно.

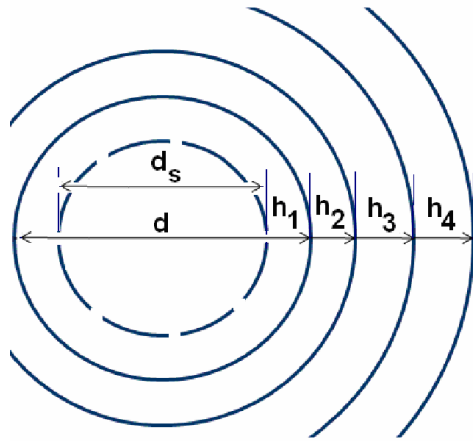


Рис. 18. Модель частинки НК з багатошаровою оболонкою. Позначено: $d = d_s + 2h_1$ – діаметр сферичної НЧ Fe_3O_4 , d_s – діаметр області НЧ Fe_3O_4 з σ_s , характерною для об’ємного магнетиту; h_1 – товщина приповерхневого «розмагніченого» шару НЧ Fe_3O_4 ; h_2, h_3, h_4 – товщина шару модифікатора (ГА), лікарського препарату (ДР) і комплексного стабілізатора (ол.На/ПЕГ) в структурі НК, відповідно.

Користуючись моделлю (рис. 18), за результатами експериментальних вимірювань та розрахунків параметрів ансамблю наночастинок магнетиту і сухих залишків магнітної рідини відповідного складу, визначали розміри шарів оболонки наноструктури $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$.

В роботі [14] було показано, що для ансамблів наночастинок типу «ядро-оболонка», за умови знаходження ядер в суперпарамагнітному стані, формула (7) практично однозначно зв’язує розподіл за розмірами НЧ Fe_3O_4 в ансамблі з формою гістерезисної кривої. Враховуючи, що в умовах магнітного насичення функція Ланжевена $L(\xi) \rightarrow 1$ і в СЗ об’ємна концентрація твердої фази ~ 1 , формулу (7) можна представити у вигляді

$$\frac{M_s^{NCPM}}{M_s^{NPM}} = \frac{\langle \rho_{NCPM} \rangle \sigma_s^{NCPM} \int_0^\infty V_{NCPM} f(V_{NCPM}) dV}{\langle \rho_{NPM} \rangle \sigma_s^{NPM} \int_0^\infty V_{NPM} f(V_{NPM}) dV}, \quad (8)$$

де M_s^{NCPM} , M_s^{NPM} – намагніченість насичення ансамблів частинок НК (NCPM) і Fe_3O_4 , відповідно; $\langle \rho_{NCPM} \rangle$, $\langle \rho_{NPM} \rangle$ – середня густина ансамблів частинок НК і Fe_3O_4 , відповідно; σ_s^{NCPM} , σ_s^{NPM} – питома намагніченість насичення ансамблів частинок НК і Fe_3O_4 , відповідно; $f(V_{NCPM})$, $f(V_{NPM})$ – функції густини імовірності для об’ємів ансамблів частинок нанокompозиту і магнетиту, відповідно; V_{NCPM} , V_{NPM} – об’єм частинки НК і Fe_3O_4 , відповідно.

б. Визначення товщини шару комбінованого стабілізатора (ол.На/ПЕГ)

Синтезовані зразки вихідного Fe_3O_4 і MP_1 складу $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}+\text{ФР}$ висушували при кімнатній температурі. Масову частку магнетиту в сухому залишку MP_1 (СЗ₁) експериментально визначали як $\alpha_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{\text{exp}} = \sigma_s^{\text{СЗ}_1} / \sigma_s^{\text{НЧМ}} \pm 5\%$, та розраховували за формулою

$$\alpha_{\text{Fe}_3\text{O}_4}^{\text{calc}} = \frac{v_{\text{Fe}_3\text{O}_4} \rho_{\text{Fe}_3\text{O}_4}}{\langle \rho_{NCPM} \rangle}, \quad (9)$$

де $v_{\text{Fe}_3\text{O}_4} = \sum n_i d_i^3 / \sum n_i (d_i + 2\delta)^3$ – об’ємна частка магнетиту в зразку; $\delta = h_2 + h_3 + h_4$ – товщина оболонки; $\rho_{\text{Fe}_3\text{O}_4}$ – густина магнетиту, $\langle \rho_{NCPM} \rangle$ – середня густина ансамбля частинок НК, яку знаходили за формулою

$$\langle \rho_{NCPM} \rangle = \frac{\sum_{i=1}^k n_i \rho_{NCPM_i} (d_i + 2\delta)^3}{\sum_{i=1}^k n_i (d_i + 2\delta)^3} \quad (10)$$

Густину нанокompatитних частинок i -го інтервалу ρ_{NCPM_i} у складі СЗ₁₋₃ визначали за формулами (11.1-11.3)

$$\rho_i^{12} = \alpha_2 \rho_1 + (1 - \alpha_2) \rho_2, \text{ де } \alpha_2 = \left(\frac{d_i}{d_i + 2h_2} \right)^3, \quad (11.1)$$

$$\rho_i^{123} = \alpha_3 \rho_i^{12} + (1 - \alpha_3) \rho_3, \text{ де } \alpha_3 = \left(\frac{d_i + 2h_2}{d_i + 2h_2 + 2h_3} \right)^3, \quad (11.2)$$

$$\rho_i^{1234} = \alpha_4 \rho_i^{123} + (1 - \alpha_4) \rho_4, \text{ де } \alpha_4 = \left(\frac{d_i + 2h_2 + 2h_3}{d_i + 2h_2 + 2h_3 + 2h_4} \right)^3. \quad (11.3)$$

В (11.1) – (11.3): $\rho_1, \rho_2, \rho_3, \rho_4$ – густина магнетиту, ГА, ДР і ОІ. Na/ПЕГ, відповідно; $\rho_i^{12}, \rho_i^{123}, \rho_i^{1234}$ – густина частинки i -го інтервалу НК Fe₃O₄/ГА, Fe₃O₄/ГА/ДР і Fe₃O₄/ГА/ДР/ОІ.Na/ПЕГ, відповідно. Для розрахунків використовували значення $\rho_1 \approx 5,19$ г/см³, $\rho_2 \approx 2,71$ г/см³, $\rho_3 \approx 1,00$ г/см³, $\rho_4 \approx 1,13$ г/см³ [67]). Вважали, що розподіл за розмірами НЧ Fe₃O₄ вихідного ансамблю і в його сухих залишках був ідентичним.

Питому (specific) площу поверхні ансамблю частинок НК визначали за формулою

$$S_{sp}^{calc} = 6 \frac{\sum_{i=1}^k n_i (d_i + 2\delta)^2}{\sum_{i=1}^k \rho_{NCPM_i} (d_i + 2\delta)^3}. \quad (12)$$

Згідно моделі (рис. 18) в частинці СЗ₁ заповнена тільки оболонка h_4 ($h_2, h_3 = 0$). Результати експериментальних вимірювань та розрахунків параметрів ансамблю НЧ Fe₃O₄ і СЗ₁ наведено в табл. 4.

Таблиця 4. Результати експериментальних вимірювань та розрахунків параметрів ансамблю НЧ Fe₃O₄ і СЗ₁

Зразок	Експериментальні значення					Розраховані значення		
	$d_{0,нм}$	$\sigma_s, Гс \cdot см^3/г$	$\alpha_{Fe_3O_4}^{exp}$	$S_{sp}^{exp}, м^2/г$	$h_4, нм$	$\langle \rho_{NCPM} \rangle, г/см^3$	$\alpha_{Fe_3O_4}^{calc}$	$S_{sp}^{calc}, м^2/г$
Fe ₃ O ₄	10,78	62.6±2,5%	1,00±5%	107,0±5%	0	5,19±1%	1,00	107,0
СЗ ₁	10,78	36.6±2,5%	0,58±5%	161,0±5%	3,4 ±3%	2,07±1%	0,58	161,0

Примітка. Значення $\langle \rho_{NCPM} \rangle$ розраховували за формулами (10) – (11.1–11.3), $\alpha_{Fe_3O_4}^{calc}$ – за формулою (9). Знаходили значення h_4 , при якому $\alpha_{Fe_3O_4}^{calc} = \alpha_{Fe_3O_4}^{exp}$. За отриманим h_4 і формулами (11.1–11.3) –(12) визначали S_{sp}^{calc} .

Як видно з табл. 4, товщина оболонки комбінованого стабілізатора ОІ.Na/ПЕГ у складі сухого залишку магнітної рідини Fe₃O₄/ОІ.Na/ПЕГ+ФР становить (3,4 ± 0,1) нм.

в. Визначення товщини шару ГА

Для визначення товщини шару ГА досліджували ансамбль НЧ Fe₃O₄ і МР₂ складу Fe₃O₄/ГА/ол.Na/ПЕГ+ФР, отриману на його основі. Зразки висушували при

кімнатній температурі, отримували сухий залишок СЗ₂ та досліджували параметри за описаною вище методикою. Результати наведено в табл. 5.

Таблиця 5. Результати експериментальних вимірювань та розрахунків параметрів ансамблю НЧ Fe₃O₄ і СЗ₂

Зразок	Експериментальні значення						Розраховані значення		
	d_0 , нм	σ_s , Гс·см ³ /Г	$\alpha_{Fe_3O_4}^{exp}$	S_{sp}^{exp} , м ² /Г	h_2 , нм	h_4 , нм	$\langle\rho_{NCPM}\rangle$, г/см ³	$\alpha_{Fe_3O_4}^{calc}$	S_{sp}^{calc} , м ² /Г
Fe ₃ O ₄	10,788	62.6±2,5 %	1,00±5%	107,0±5%	0	0	5,19±1%	1,00	107,0
СЗ ₂	10,78	13.2±2,5 %	0,21±5%	114,0±5%	3,5±3%	3,4±3 %	2,07±1%	0,20	114,6

Як видно з табл. 5, знайдене значення товщини шару гідроксиапатиту h_2 в структурі Fe₃O₄/ГА/ОІ.На/ПЕГ становить $3,5 \pm 0,1$ нм, що, на наш погляд, задовільно узгоджується з величиною ~ 4 нм, визначеною незалежною методикою при дослідженнях нанокompatитів Fe₃O₄/ГА методом фотоелектронної спектроскопії [14]. Отримані дані можуть свідчити про достовірність результатів визначення параметрів оболонок в складній наноархітектурі поліфункціональних магніточутливих нанокompatитів.

г. Визначення товщини шару ДР

Ансамбль наночастинок магнетиту і магнітну рідину МР₃ складу Fe₃O₄/ГА/ДР/ол.На/ПЕГ +ФР, отриману на їх основі, висушували при кімнатній температурі. Висушені зразки Fe₃O₄ і сухий залишок СЗ₃ досліджували, як і в попередніх випадках. Результати досліджень наведено в табл. 6.

Таблиця 6. Результати експериментальних вимірювань та розрахунків параметрів ансамблю наночастинок магнетиту і сухих залишків магнітної рідини МР₃

Зразок	Експериментальні значення				Розраховані значення					
	d_0 , нм	σ_s , Гс·см ³ /Г	$\alpha_{Fe_3O_4}^{exp}$	S_{sp}^{exp} , м ²	h_2 , нм	h_3 , нм	h_4 , нм	$\langle\rho_{NCPM}\rangle$	$\alpha_{Fe_3O_4}^{calc}$	S_{sp}^{calc} , м ² /Г
Fe ₃ O ₄	10,78	62.6±2,5%	1,00±3%	107±3%	0	0	0	5,19±1%	1,00	107,0
СЗ ₃	10,78	9.9±2,5%	0,16±3%	120±3%	3,5 ±3%	2,0 ±3%	3,4±3 %	1,74±1%	0,15	120,1

Як свідчать дані табл. 6, знайдене значення товщини шару медичного препарату доксорубіцин h_3 в структурі Fe₃O₄/ГА/ДР/ОІ.На/ПЕГ становить $2,0 \pm 0,1$ нм.

д. Дослідження седиментаційної стійкості магнітних рідин

Досліджені МР є наногетерогеними системами, в яких дифузійні потоки частинок переважають над седиментаційними. За тривалого періоду часу (роки) в монодисперсних золях потоки стають рівними і встановлюється стан дифузійно-седиментаційної рівноваги (ДСР), при якому розподіл частинок по висоті посудини підкоряється гіпсометричному закону [68]:

$$\frac{v_h}{v_0} = \exp\left[-\frac{V_{cp}(\rho_{cp} - \rho_{lc})gh}{k_B T}\right], \quad (13)$$

де v_h , v_0 – концентрація частинок на висоті h і на рівні дна посудини, відповідно; V_{cp} , ρ_{cp} – об'єм і густина колоїдних частинок (colloidal particles), відповідно, ρ_{lc} – густина рідкої основи (a liquid carrier), g – прискорення земного тяжіння.

Висота, на якій концентрація частинок змінюється у e раз, характеризує термодинамічну седиментаційну стійкість (ТДС) колоїдної системи [68] (гіпсометрична висота L). З рівняння (13) випливає, що для монодисперсної МР

$$L = \frac{k_B T}{V_{cp}(\rho_{cp} - \rho_{lc})g} = \frac{6k_B T}{\pi [d + 2(h_2 + h_3 + h_4)]^3 (\rho^{1234} - \rho_{lc})g}, \quad (14)$$

де ρ^{1234} – густина нанокompозитної частинки з діаметром НЧ Fe_3O_4 d та товщинами шарів h_2, h_3, h_4 , розрахована за формулами (11.1) – (11.3).

У полідисперсних системах ДСР встановлюється для кожної фракції частинок. Час встановлення ДСР (t_b) в МР розраховували за методикою, наведеною в [67]: використовували формулу $t_b = L_0^2 / \langle D \rangle$ де $\langle D \rangle = (1/N) \sum k_B T / [3\pi\eta(d_i + 2\delta)]$ – середній коефіцієнт дифузії; $L_0 = k_B T / [\langle V_{NCPM} \rangle (\langle \rho_{NCPM} \rangle - \rho_{lc})g]$ – середня гіпсометрична висота, η – динамічна в'язкість, яку для концентрованих МР визначали за допомогою лабораторного віскозиметра (час витікання рідини через скляний капіляр діаметром 0.2 мм складав ≈ 300 с); значення η розбавлених МР розраховували за формулою Ейнштейна: $\eta/\eta_0 = 1 + 5\phi/2$, де η_0 – динамічна в'язкість основи (η_0 для ФР $\approx 0,890$ мПа·с за температури 25 °С). Оціночні значення t_b в МР₁ – МР₃ становлять дев'ять років і більше. Експериментальне значення L для МР₃ складає $L^{exp} = 2,4 \pm 0,2$ см.

Використовуючи знайдені параметри наноструктури $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}/\text{ОІ.Na}/\text{ПЕГ}$ у складі магнітної рідини, побудовано залежності гіпсометричної висоти (рис. 19, а) та питомої поверхні (рис. 19, б) від товщини шару ДР (h_3) для модельних магнітних рідин типу МР₃, у яких НК частинки $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}/\text{ОІ.Na}/\text{ПЕГ}$ характеризується фіксованими значеннями діаметра НЧ Fe_3O_4 (d) та товщин шарів гідроксиapatиту (h_2) і комбінованого стабілізатора (h_4) ($d = 10,78$ нм, $h_2 = 3,50$ нм, $h_4 = 3,40$ нм).

Розрахункову залежність $L(h_3)$ побудовано за формулою (14), залежність $S_{sp}(h_3)$ – за формулою

$$S_{sp} = \frac{6}{\rho^{1234} [d + 2(h_2 + h_3 + h_4)]} \quad (15)$$

Значення ρ^{1234} отримували за формулами (11.1) – (11.3). Наведена на рис. 19, а крива L , залежність $L(h_3)$ є характерною для колоїдних систем [68]. Експериментальне значення L для МР₃ ($L^{exp} = 2,4 \pm 0,2$ см) відповідає $h_3 = 2,4 \pm 0,2$ см

Показана на рис. 19, б залежність $S_{sp}(h_3)$ має максимум, викликаний тим, що S_{sp} є складною функцією ρ^{1234} і $[d + 2(h_2 + h_3 + h_4)]$. Його положення (h_{3cr}) можна знайти аналітично, прирівнюючи нулю похідну $dS_{sp}/dh_3 = 0$ (критерій для знаходження товщини оболонки, що відповідає максимальній питомій поверхні структури ядро-оболонка S_{sp}). Ордината, яка дорівнює експериментальному значенню $S_{sp}^{exp} = 120 \pm 3$ % для СЗ₃ (табл. 6), двічі перетинає розрахункову залежність $S_{sp}(h_3)$ в точках з абсцисами $h_3 = 1,9$ нм і $h_3 = 5,1$ нм. Значення $h_3 = 5,1$ нм протирічить даним магнітних вимірювань (табл. 6) та значенню, отриманому за L^{exp} (рис. 19, а).

Таким чином, використовуючи три незалежні експериментальні методи вимірювання величин σ_s , L , S_{sp} , отримано [15] три значення товщини шару доксорубіцину h_3 в структурі нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}/\text{ОІ.Na}/\text{ПЕГ}$: $2,0 \pm 0,1$ нм (табл. 6), $2,2 \pm 0,2$ нм (рис. 19, а), $1,9 \pm 0,1$ нм (рис. 19, б), відповідно. Знайдені значення h_3 є досить близькими, що може свідчити про їх достовірність.

Зазначимо, що аналіз розмірів суперпарамагнітних наночастинок оксидів заліза, вкритих шаром карбоксидекстрану, що застосовуються як контрастні агенти у магнітно-резонансній томографії (комерційний продукт Resovist і SH U555C) з використанням кривої намагнічування та зображень ансамблів частинок, отриманих методом просвічуваної електронної мікроскопії, виконано в [69].

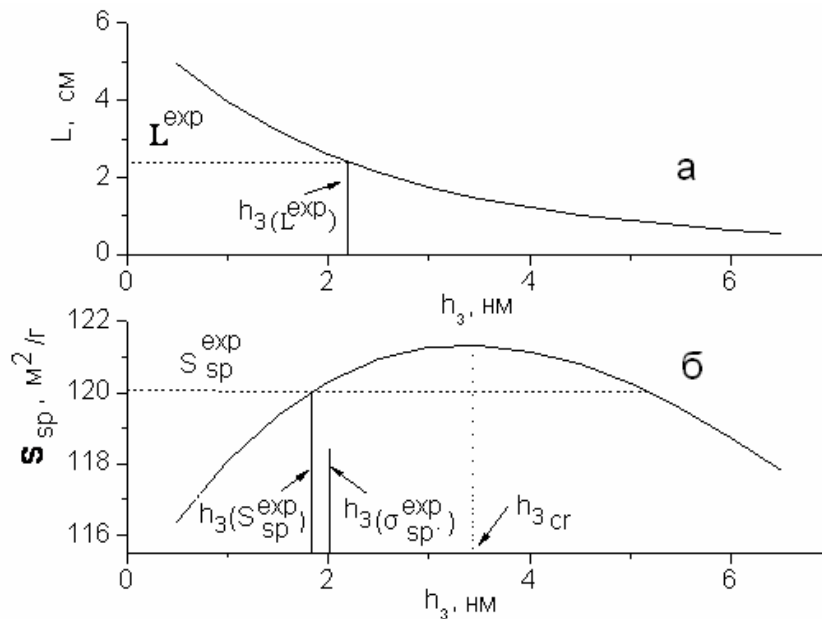


Рис. 19. Розрахункові залежності: *a* – за формулою (14), гіпсометричної висоти L від товщини h_3 шару ДР для модельних магнітних рідин типу МР₃, у яких нанокompозитні частинки Fe₃O₄/ГА/ДР/ОІ.На/ПЕГ характеризуються фіксованим значенням діаметра НЧ Fe₃O₄ (d), товщин шарів гідроксиапатиту (h_2) і комбінованого стабілізатора (h_4), *б* – за формулою (15), питомої площі поверхні від товщини h_3 для частинок Fe₃O₄/ГА/ДР/ОІ.На/ПЕГ з фіксованим значенням діаметра d і товщин шарів h_2 , h_4 .

Наведені в цій роботі результати експериментальних досліджень і розрахунків, їх перевірка різними способами і порівняння свідчать, що, використовуючи ансамблі магнітних носіїв як суперпарамагнітний зонд та теорію парамагнетизму Ланжевена, можна оцінити розміри компонентів складної оболонкової структури нанокompозитів. Отримані дані можуть бути корисними при оптимізації хімічного складу, структури та властивостей нових магнітних рідин та адсорбентів, що містять магніточутливі нанокompозити зі складною будовою оболонки [5, 6, 70].

Цитотоксичні властивості та біологічна безпека магнітних рідин

Синтезовані наноструктури у складі магнітної рідини використані при створенні нової форми онкологічного лікарського засобу «Фероплат», вперше експериментально обґрунтованої в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, яка перебуває на стадії практичного впровадження. Ідея вказаної нової форми полягає в стратегії подолання резистентності злоякісних пухлин до цисплатину шляхом фармакологічної корекції обміну ендogenous заліза, що забезпечується застосуванням залізовмісного нанокompозиту та цисплатину.

Цитотоксичні властивості МР на основі магнетиту та цисплатину досліджували на чутливих та резистентних до дії цисплатину клітинних лініях раку молочної залози людини (MCF-7 і MCF-7/CP, відповідно) та пухлинах карциноми Герена. Резистентні клітини MCF-7/CP отримано шляхом вирощування вихідних клітин лінії MCF-7 у культуральному середовищі з додаванням наростаючих концентрацій цисплатину в діапазоні доз від 0,01 до 6 мкг/мл. Рівень резистентності на момент проведення досліджень становив 4. Формування резистентності пухлин до цисплатину проводили шляхом послідовних перещеплень пухлинних клітин, які отримували від шурів лінії Wistar з карциномою Герена після проведення курсу терапії цисплатином. Детальніше методики досліджень наведено в [70].

У системах *in vitro* та *in vivo* доведено переваги застосування МР порівняно з використанням цисплатину. Встановлено, що найбільша цитотоксична активність нанокompозиту, відзначена у резистентній лінії MCF-7/CP, пов'язана з більш активним накопиченням наночастинок феромагнетику в клітинах за рахунок високого рівня рецепторів трансферину та порушення системи антиоксидантного захисту резистентних клітин. Показано, що магнітна рідина здатна викликати в клітинах резистентної лінії більш виражені цитоморфологічні зміни і генотоксичні ефекти, порівняно з клітинами чутливої лінії. Таким чином встановлено, що МР на основі магнетиту та цисплатину характеризуються здатністю до редокс-регуляції клітин з фенотипом медикаментозної резистентності, що свідчить про перспективу їх використання для патогенетично обґрунтованої таргетної терапії злоякісних новоутворень.

Біологічну безпеку МР у порівнянні з ЦП оцінювали за загальними та біохімічними показниками крові щурів лінії Wistar після завершення курсу терапії. Встановлено, що цисплатин та феромагнітний нанокompозит призводять до підвищення рівня креатиніну у сироватці крові піддослідних тварин. За іншими біохімічними показниками сироватки крові ці агенти не відрізняються від даних контролю. За загальними показниками крові ці агенти також не відрізняються від контролю. Зазначимо, що у тварин обох груп (ті, яким вводили цисплатин, і ті, яким вводили МР) було виявлено подібні зміни у структурі печінки та нирок [70].

Отже, показано, що використання МР за загальними і біохімічними показниками крові не створює більш токсичного впливу на організм, в порівнянні з офіційним протипухлинним препаратом цисплатин.

Висновки

Синтезовані нанорозмірний магнетит в однодоменному стані і магніточутливі нанокompозити з різною хімічною природою поверхні на його основі. Вивчено розподіл наночастинок магнетиту за розмірами в ансамблі і їх магнітні властивості. Розрахунки кривої намагнічування магнітної рідини на основі нанорозмірний магнетиту в рамках теорії парамагнетизму Ланжевена задовільно узгоджуються з експериментальними результатами при допущенні, що намагніченість насичення частинок магнетиту залежить від їх розмірів.

Вивчено ізотерми і кінетику адсорбції цисплатину в залежності від хімічної природи поверхні наноструктур. Показана перспективність використання досліджених наноструктур для створення адсорбентів *цис*-діхлордіамінплатини медико-біологічного і технічного призначення. Найбільш високі адсорбційні параметри демонстрували магніточутливі нанокompозити $Fe_3O_4/ПAA$ і $Fe_3O_4/\gamma-APC$.

Вивчено процеси адсорбції ДР на поверхні НК $Fe_3O_4/ГА$ з розчину у фізіологічній рідині. Встановлено, що зростання рівноважної концентрації ДР не призводить до адсорбційного насичення поверхні адсорбенту $Fe_3O_4/ГА$. Виявлено, що вивільнення ДР у фізіологічний розчин зменшується з ростом його кількості на поверхні НК.

Синтезовано магніточутливі НК $Fe_3O_4/ГА/ДР$. Виготовлено та досліджено магнітні рідини, що містять НК $Fe_3O_4/ГА/ДР$, стабілізовані олеатом натрію та поліетиленгліколем. Використовуючи ансамбль носіїв Fe_3O_4 як суперпарамагнітний зонд, теорію парамагнетизму Ланжевена, значення густини складових нанокompозитів, оцінено розмірні параметри їх оболонки, які підтверджені незалежними вимірюваннями питомої площі поверхні наноструктур та термодинамічної седиментаційної стійкості відповідних магнітних рідин.

Вивчено цитотоксичну та протипроліферативну активність магніточутливих нанокompозитів, що містять доксорубіцин, щодо клітин дріжджів *Saccharomyces*

cerevisiae, механізм якої обумовлено характерним впливом антибіотика антрациклінового ряду – доксорубіцину. На вибраних об'єктах відпрацьовано досить ефективну, надійну, безпечну та відносно недорогого методу доклінічного контролю цитотоксичної активності наноконструкцій, яка може бути актуальною для використання в розробках нових лікарських магнітокеруваних засобів спрямованої доставки.

Отримані результати можуть бути використані при розробках нових форм магнітокеруваних лікарських засобів спрямованої доставки і адсорбентів на основі наноконструкцій типу суперпарамагнітне ядро-оболонка з багаторівневою наноархітектурою та для визначення, контролю і оптимізації розмірних параметрів її компонентів.

Робота виконана при підтримці цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України «Фундаментальні проблеми створення нових наноматеріалів і нанотехнологій» на 2015–2019 р.р. (проект № 38/17-н).

Публікація містить результати досліджень, проведених при грантовій підтримці Держаного фонду фундаментальних досліджень (конкурсний проект 31566).

Література

1. Levy L., Sahoo Y., Kyoung-Soo Kim, Earl Bergey J., Prasad P. Synthesis and characterization of multifunctional nanoclinics for biological applications // *Chem. Mater.* – 2002. – V. 14. – P. 3715-3721.
2. *Nanomaterials and Supramolecular Structures: Physics, Chemistry, and Applications* (Eds. A.P. Shpak, P.P. Gorbyk) – Springer, 2009. – P. 63.
3. Gorbyk P.P., Chekhun V.F. Nanocomposites of medicobiologic destination: reality and perspectives for oncology // *Functional Materials.* – 2012. – V. 19, N. 2. – P. 145-156.
4. Горбик П.П. Наноконструкції з функціями медико-біологічних нанороботів: синтез, властивості, застосування // *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології.* – 2013. – Т. 11, № 2. – С. 323-436.
5. Gorbyk P.P., Lerman L.B., Petranovska A.L., Turanska S.P. Magnetosensitive nanocomposites with functions of medico-biological nanorobots: Synthesis and properties // *Advances in Semiconductor Research: Physics of Nanosystems, Spintronics and Technological Applications* (Eds. D.P. Adorno, S. Pokutnyi) – New York: Nova Science Publishers, 2014. – P. 161-198.
6. Gorbyk P.P., Lerman L.B., Petranovska A.L., Turanska S.P., Pylypchuk Ie.V. Magnetosensitive nanocomposites with hierarchical nanoarchitecture as biomedical nanorobots: synthesis, properties, and application // *Fabrication and Self-Assembly of Nanobiomaterials, Applications of Nanobiomaterials* (Ed. A. Grumezescu) – Elsevier, 2016. – P. 289-334.
7. Wahajuddin S.A. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers // *Int. J. Nanomedicine.* – 2012. – V. 7. – P. 3445-3471.
8. Huang C., Zhou Y., Tang Z., Guo X., Qian Z., Zhou S. Synthesis of multifunctional Fe₃O₄ core/hydroxyapatite shell nanocomposites by biomineralization // *Dalton Trans.* – 2011. – V. 40, N. 18. – P. 5026-5031.
9. Tomohiro Iwasaki. Mechanochemical synthesis of magnetite/hydroxyapatite nanocomposites for hyperthermia // *Materials Science - Advanced Topics* (Ed. Yitzhak Mastai). – 2013. – Chapter 8. – P. 175-194.
10. Gopi D., Thameem Ansari M., Shinyjoy E., Kavitha L. Synthesis and spectroscopic characterization of magnetic hydroxyapatite nanocomposite using ultrasonic irradiation //

Spectrochimica Acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2012. – V. 87. – P. 245-250.

11. Mir A., Mallik D., Bhattacharyya S., Mahata D., Sinha A., Nayar S. Aqueous ferrofluids as templates for magnetic hydroxyapatite nanocomposites // *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* – 2010. – V. 21. – P. 2365-2369.

12. Feng C., Chao L., Ying-Jie Z., Xin-Yu Zhao, Bing-Qiang L., Jin W. Magnetic nanocomposite of hydroxyapatite ultrathin nanosheets/Fe₃O₄ nanoparticles: microwave-assisted rapid synthesis and application in pH-responsive drug release // *Biomater. Sci.* – 2013. – V. 1. – P. 1074-1081.

13. Davaran S., Alimirzalu S., Nejati-Koshki K., Nasrabadi H.T., Akbarzadeh A., Khandaghi A.A., Abbasian M., Alimohammadi S. Physicochemical characteristics of Fe₃O₄ magnetic nanocomposites based on poly(N-isopropylacrylamide) for anti-cancer drug delivery // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2014. – V. 15, N. 1. – P. 49-54.

14. Petranovska A.L., Abramov N.V., Turanska S.P., Gorbyk P.P., Kaminskiy A.N., Kussyak N.V. Adsorption of cis-dichlorodiammineplatinum by nanostructures based on single-domain magnetite // *J. Nanostruct. Chem.* – 2015. – V. 5. – P. 275-285.

15. Abramov N.V., Turanska S.P., Kussyak A.P., Petranovska A.L., Gorbyk P.P. Synthesis and properties of magnetite/hydroxyapatite/doxorubicin nanocomposites and magnetic fluids based on them // *J. Nanostruct. Chem.* – 2016. – V. 6. – P. 223-233.

16. Anirudhan T.S., Sandeep S. Synthesis, characterization, cellular uptake and cytotoxicity of a multi-functional magnetic nanocomposite for the targeted delivery and controlled release of doxorubicin to cancer cells // *J. Mater. Chem.* – 2012. – V. 22. – P. 12888-12899.

17. Sadighian S., Hosseini-Monfared H., Rostamizadeh K., Hamidi M. pH-Triggered magnetic-chitosan nanogels (MCNs) for doxorubicin delivery: physically vs. chemically cross linking approach // *Adv. Pharm. Bull.* – 2015. – V. 5, N. 1. – P. 115-120.

18. http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_512.htm

19. Doxorubicin hydrochloride // *European Pharmacopoeia.* – Sixth Edition, 2005. – P. 1389-1390.

20. Shuai-Jun Chen, Hong-Zheng Zhang, Liang-Cai Wan, Shan-Shan Jiang, Yi-Ming Xu, Fang Liu, Tao Zhang, Dong Ma, Min-Qiang Xie. Preparation and performance of a pH-sensitive cisplatin-loaded magnetic nanomedicine that targets tumor cells via folate receptor mediation // *Mol. Med. Rep.* – 2016. – V. 13, N. 6. – P. 5059-5067.

21. Sakellari D., Mathioudaki S., Kalpaxidou Z., Simeonidis K., Angelakeris M. Exploring multifunctional potential of commercial ferrofluids by magnetic particle hyperthermia // *J. Magn. Mater.* – 2015. – V. 380. – P. 360-364.

22. Ahmed R.M., Fadel M., Hanafy M.S., Ibrahim M.A. Characterization and dielectric properties of magnetic nanoparticles (Ferrofluid) conjugated with chemotherapy drug for medical application // *J. Appl. Phys. (IOSR-JAP).* – 2014. – V. 6, N. 1. – P. 38-46.

23. Dave P.N., Chopda L.V. Application of iron oxide nanomaterials for the removal of heavy metals // *J. Nanotechnol.* – 2014. – V. 2014. – Article ID 398569.

24. Sadegh H., Ali G.A.M., Gupta V.K., Makhlof A.S.H., Shahryari-ghoshekandi R., Nadagouda M.N., Sillanpa M., Megiel E. The role of nanomaterials as effective adsorbents and their applications in wastewater treatment // *J. Nanostruct. Chem.* – 2017. – V. 7. – P. 1-14.

25. Борисенко Н.В., Богатырев В.М., Дубровин И.В., Абрамов Н.В., Гаевая М.В., Горбик П.П. Синтез и свойства магниточувствительных нанокомпозитов на основе оксидов железа и кремния // *Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур* (Ред. А.П. Шпак, П.П. Горбик) – К.: Наукова думка, 2007. – Т. 1. – С. 394-406.

26. Туранська С.П., Кусяк А.П., Петрановська А.Л., Горобець С.В., Туров В.В., Горбик П.П. Цитотоксична активність магнітокерованих наноконкомпозитів на основі доксорубіцину на прикладі клітин *Saccharomyces cerevisiae* // Хімія, фізика та технологія поверхні. – 2016. – Т. 7, № 2. – С. 236-245.
27. Кусяк А.П., Петрановська А.Л., Туранська С.П., Горбик П.П. Адсорбція комплексів цис-дихлордіамінплатини наноконкомпозитами магнетит–оксид кремнію (титану, алюмінію) // Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. – 2014. – Т. 12, № 3. – С. 451-467.
28. Семко Л.С., Горбик П.П., Сторожук Л.П., Дзюбенко Л.С., Дубровін І.В., Оранська О.І. Модифікування магнетиту діоксидом кремнію // Фізика і хімія твердого тіла. – 2007. – Т. 8, № 3. – С. 526-532.
29. Семко Л.С., Горбик П.П., Чуйко О.О., Сторожук Л.П., Дубровін І.В., Оранська О.І., Рево С.Л. Модифікування магнетиту діоксидом титану та властивості одержаних наноконкомпозитів // Доповіді НАН України. – 2007. – № 2. – С. 150-157.
30. Петрановская А.Л., Усов Д.Г., Абрамов Н.В., Демченко Ю.О., Кордубан О.М. Модифицирование поверхности нанокристаллического магнетита изопропилатом алюминия // Химия, физика и технология поверхности. Сб. научн. тр. – К.: Наукова думка, 2007. – Вып. 13. – С. 310-321.
31. Турова Н.Я., Козунов В.А. Координационная химия. – 1978. – Т. 4. – С. 15-17.
32. Пенкос Р. Успехи химии. – 1968. – Т. 37. – С. 647.
33. Иванова В.М., Калинина В.Н., Нешумова Л.А., Решетникова И.О. Математическая статистика. – М.: Высшая школа, 1975. – 397 с.
34. Абрамов Н.В., Горбик П.П. Свойства ансамблей наночастиц магнетита и магнитных жидкостей для применений в онкотерапии // Поверхность. Сб. научн. тр. – 2012. – Вып. 4(19). – С. 246-265.
35. Розенцвейг Р. Феррогидродинамика. – М.: Мир, 1989. – 357 с.
36. Shtrikman S., Wohlfarth E.P. The theory of the Vogel–Fulcher law of spin glasses // Phys. Lett. A. – 1981. – V. 85, N. 8-9. – P. 467-470.
37. Kim T., Reis L., Rajan K., Shima M. Magnetic behavior of iron oxide nanoparticle–biomolecule assembly // J. Magn. Magn. Mater. – 2005. – V. 295. – P. 132-138.
38. Шлиомис М.И. Магнитные жидкости // УФН. – 1974. – Т. 112, № 3. – С. 427-458.
39. Фертман В.Е. Магнитные жидкости. – Минск: Выш. шк., 1988. – 184 с.
40. Kim T., Shima M. Reduced magnetization in magnetic oxide nanoparticles // J. Appl. Phys. – 2007. – V. 101. – P. 09M516-518.
41. Химия поверхности кремнезема (Ред. А.А. Чуйко) – Киев, 2001. – Т. 1, ч. 1. – 736 с.
42. Yantasee W., Warner C.L., Sangvanich T., Addleman R.S., Carter T.G., Wiacek R.J., Fryxell G.E., Timchalk C., Warner M.G. Removal of heavy metals from aqueous systems with thiol functionalized superparamagnetic nanoparticles // Environ. Sci. Technol. – 2007. – V. 41, N. 14. – P. 5114-5119.
43. Волков В.А. Коллоидная химия. Поверхностные явления и дисперсные системы. – М. 2001. – 640 с.
44. Goon I.Y., Zhang C., Lim M., Gooding J.J., Amal R. Controlled fabrication of polyethylenimine-functionalized magnetic nanoparticles for the sequestration and quantification of free Cu²⁺ // Langmuir. – 2010. – V. 26, N. 14. – P. 12247-12252.
45. Liang B. Adsorption characteristics of Hg²⁺ ions using Fe₃O₄/chitosan magnetic nanoparticles // Adv. materials research. – 2011. – V. 291-294. – P. 72-75.
46. Wang J., Zheng S., Shao Y., Liu J., Xu Z., Zhu D. Amino-functionalized Fe₃O₄@SiO₂ core-shell magnetic nanomaterial as a novel adsorbent for aqueous heavy metals removal // J. Coll. Interface Sci. – 2010. – V. 349, N. 1. – P. 293-299.

47. Park M., Seo S., Lee I.S., Jung J.H. Ultraefficient separation and sensing of mercury and methylmercury ions in drinking water by using aminonaphthalimide-functionalized Fe₃O₄@SiO₂ core/shell magnetic nanoparticles // Chem. Commun. – 2010. – V. 46, N. 25. – P. 4478-4480.
48. Weng C.-H., Lin Y.-T., Yeh C.-L., Sharma Y.C. Magnetic Fe₃O₄ nanoparticles for adsorptive removal of acid dye (new coccine) from aqueous solutions // Water Sci. Technol. – 2010. – V. 62, N. 4. – P. 844-851.
49. Thio B.J., Clark K.K., Keller A.A. Magnetic pollen grains as sorbents for facile removal of organic pollutants in aqueous media // J. Hazard. Mater. – 2011. – V. 194. – P. 53-61.
50. Yu C.-J., Lin C.-Y., Liu C.H., Cheng T.L., Tseng W.L. Synthesis of poly(diallyldimethylammonium chloride)-coated Fe₃O₄ nanoparticles for colorimetric sensing of glucose and selective extraction of thiol // Biosensors and Bioelectronics. – 2010. – V. 26, N. 2. – P. 913-917.
51. Qiu J.D., Peng H.P., Liang R.P., Xia X.H. Facile preparation of magnetic core-shell Fe₃O₄@Au nanoparticle/myoglobin biofilm for direct electrochemistry // Biosens. Bioelectron. – 2010. – V. 25, N. 6. – P. 1447-1453.
52. Gu L., Park J.H., Duong K.H., Ruoslahti E., Sailor M.J. Magnetic luminescent porous silicon microparticles for localized delivery of molecular drug payloads // Small. – 2010. – V. 6, N. 22. – P. 2546-2552.
53. Ma Y., Manolache S., Denes F., Vail D., Thamm D., Kurzman I. Plasma synthesis of carbon-iron magnetic nanoparticles and immobilization of doxorubicin for targeted drug delivery // J. Mater. Engineering and Performance. – 2006. – V. 15, N. 3. – P. 376-382.
54. Zhu A., Yuan L., Jin W., Dai S., Wang Q., Xue Z., Qin A. Polysaccharide surface modified Fe₃O₄ nanoparticles for camptothecin loading and release // Acta Biomater. – 2009. – V. 5, N. 5. – P. 1489-1498.
55. Скворцов А.Н. Эффективный метод анализа спектров оптического диапазона в исследованиях кинетики реакций // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 3. – С. 229-238.
56. Raghavan R., Cheriyaundath S., Madassery J. Dimethyl sulfoxide inactivates the anticancer effect of cisplatin against human myelogenous leukemia cell lines in *in vitro* assays // Indian J. Pharmacol. – 2015. – V. 47, N. 3. – P. 322-324.
57. Silva P.P., de Paula F.C.S., Guerra W., Silveira J.N., Botelho F.V., Vieira L.Q., Bortolotto T., Fischer F.L., Bussi G., Terenzi H., Pereira-Maia E.C. Platinum(II) compounds of tetracyclines as potential anticancer agents: cytotoxicity, uptake and interactions with DNA // J. Braz. Chem. Soc. – 2010. – V. 21, N. 7.
58. Горбик П.П., Туров В.В. Наноматериалы и нанокompозиты в медицине, биологии, экологии (Ред. А.П. Шпак, В.Ф. Чехун) – Киев: Наук. думка, 2011. – 444 с.
59. Bruijninx P.C., Sadler P.J. New trends for metal complexes with anticancer activity // Curr. Opin. Chem. Biol. – 2008. – V. 12. – P. 197-206.
60. Biswanath Kundu, Debasree Ghosh, Mithlesh Kumar Sinha, Partha Sarathi Sen, Vamsi Krishna Balla, Nirmalendu Das, Debabrata Basu. Doxorubicin-intercalated nano-hydroxyapatite drug-delivery system for liver cancer: An animal model // Ceramics International. – 2013. – V. 39, N. 8. – P. 9557-9566.
61. Саенко Ю.В., Шутов А.М., Расторгуева Е.В. Доксорубин и менадион вызывают задержку клеточной пролиферации *Saccharomyces cerevisiae* с помощью различных механизмов // Цитология. – 2010. – Т. 52, № 5. – С. 407-411.
62. Бабаева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. – Т-во науч. изд. КМК, 2004. – 239 с.
63. Туров В.В., Гунько В.М. Кластеризованная вода и пути ее использования. – К.: Наукова думка, 2011. – 313 с.

64. Sun S., Zeng H., Robinson D.B. Monodispersed MFe_2O_4 ($M = Fe, Co, Mn$) nanoparticles // J. Am. Chem. Soc. – 2004. – V. 126. – P. 73-279.
65. Берковский Б.М., Медведев В.Ф., Краков М.С. Магнитные жидкости. – М.: Химия, 1989. – 239 с.
66. Mornet S., Vasseur S., Grasset F., Veverka P., Goglio G., Demourgues A., Portier J., Pollert E., Duguet E. Magnetic nanoparticle design for medical applications // Prog. Sol. St. Chem. – 2006. – V. 34. – P. 237-247.
67. Абрамов Н.В. Магнитные жидкости на основе доксорубицина для применений в онкотерапии // Поверхность. Сб. научн. ст. – 2014. – Вып. 6(21). – С. 241-258.
68. Фролов Ю.Г. Курс колоїдної хімії. – М.: Хімія, 1989. – 463 с.
69. Chen D.-X., Sun N., Gu H.-C. Size analysis of carboxydextran coated superparamagnetic iron oxide particles used as contrast agents of magnetic resonance imaging // J. Appl. Phys. – 2009. – V. 106. – 063906.
70. Пат. 112490, Україна, Протипухлинний феромагнітний наноккомпозит / Чехун В.Ф., Лук'янова Н.Ю., Горбик П.П., Тодор І.М., Петрановська А.Л., Бошицька Н.В., Божко І.В. – Опубл. 12.09.2016, бюл. № 17.

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА МАГНИТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАНОКОМПЗИТОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ОНКОЛОГИИ

Н.В. Абрамов¹, А.П. Кусяк², А.Н. Каминский², С.П. Туранская¹, А.Л. Петрановская¹, Н.В. Кусяк², В.В. Туров¹, П.П. Горбик¹

¹Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины, ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина

²Житомирский государственный университет им. Ивана Франко, ул. Большая Бердичевская, 40, Житомир, 10008, Украина

Приведены результаты исследований, направленных на развитие концепции создания магниточувствительных наноккомпозитов (НК) с многоуровневой иерархической наноархитектурой и функциями медико-биологических нанороботов. Синтезированы наноразмерный магнетит в однодоменном состоянии и магниточувствительные НК на его основе (Fe_3O_4 /димеркаптосуциновая кислота (ДМСК), Fe_3O_4 /γ-аминопропилсилоксан (γ-АПС), Fe_3O_4 /полиакриламид (ПАА), Fe_3O_4 /гидроксиапатит (ГА), Fe_3O_4/SiO_2 , Fe_3O_4/TiO_2 , Fe_3O_4/Al_2O_3). Изучены изотермы и кинетика адсорбции цисплатина в зависимости от химической природы поверхности наноструктур. Изучены процессы адсорбции доксорубицина (ДР) на поверхности НК $Fe_3O_4/ГА$ из раствора в физиологической жидкости. Приготовлены и исследованы магнитные жидкости, содержащие НК $Fe_3O_4/ГА/ДР$. Используя ансамбль носителей Fe_3O_4 в качестве суперпарамагнитного зонда, теорию парамагнетизма Ланжевена, оценены размерные параметры их оболочки, что подтверждается независимыми измерениями удельной поверхности наноструктур и термодинамической седиментационной устойчивости соответствующих магнитных жидкостей.

Полученные результаты могут быть использованы при разработке новых форм магнитоуправляемых лекарственных средств целевой доставки и адсорбентов на основе НК типа суперпарамагнитное ядро-оболочка с многоуровневой наноархитектурой, а также для определения, контроля и оптимизации размерных параметров ее компонентов.

SYNTHESIS AND PROPERTIES OF MAGNETOSENSITIVE POLYFUNCTIONAL NANOCOMPOSITES FOR APPLICATION IN ONCOLOGY

M.V. Abramov¹, A.P. Kusyak², O.M. Kaminskiy², S.P. Turanska¹, A.L. Petranovska¹, N.V. Kusyak², P.P. Gorbyk¹

¹ *Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine,*

² *Ivan Franko Zhytomyr State University, 40 V. Berdychevska Str., Zhytomyr 10008,
Ukraine*

The investigation results are shown directed onto development of the concept of creation of magnetosensitive nanocomposites (NC) with multilevel hierarchical nanoarchitecture and functions of biomedical nanorobots. We synthesized nanosized magnetite in monodomain state and magnetosensitive NC based on that (Fe_3O_4 /dimercaptosuccinic acid (DMSA), Fe_3O_4/γ -aminopropylsiloxane (γ -APS), Fe_3O_4 /polyacrylamide (PAA), Fe_3O_4 /hydroxyapatite (HA), Fe_3O_4/SiO_2 , Fe_3O_4/TiO_2 , Fe_3O_4/Al_2O_3). Isotherms and adsorption kinetics of cisplatin were studied depending on chemical nature of the surface of nanostructures. Adsorption of doxorubicin (DOX) onto the surface of Fe_3O_4/HA NC from solution in physiological liquid was studied. Magnetic fluids containing $Fe_3O_4/HA/DOX$ NC were produced and investigated. Using an ensemble of Fe_3O_4 carriers as a superparamagnetic probe, Langeven's paramagnetism theory, we appreciated size parameters of their shell, which was confirmed by independent measurements of specific surface area of the nanostructures and thermodynamic sedimentation stability of the corresponding magnetic fluids. The results obtained may be used in development of new forms of magnetocarried medical remedies for targeted delivery, and adsorbents based on NC of superparamagnetic core-shell type with multilevel nanoarchitecture, and for determination, control and optimization of size parameters of its components.