УДК 544.723 doi: 10.15407/Surface.2018.10.245

МАГНІТОЧУТЛИВІ ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНІ НАНОКОМПОЗИТИ НА ОСНОВІ МАГНЕТИТУ І ГІДРОКСИАПАТИТУ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ В ОНКОЛОГІЇ

М.В. Абрамов, А.Л. Петрановська, Е.В. Пилипчук, С.П. Туранська, Н.М. Опанащук, Н.В. Кусяк[*], С.В. Горобець[**], П.П. Горбик

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

[*]Житомирський державний університет імені І. Франка, вул. В. Бердичівська, 40, Житомир, 10008, Україна

[**]Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», просп. Перемоги, 37, 03056, Київ, Україна

Систематизовано та узагальнено результати досліджень, спрямованих на розвиток концепції створення магніточутливих нанокомпозитів (НК) з багаторівневою ієрархічною наноархітектурою типу ядро-оболонка та функціями медико-біологічних нанороботів на основі однодоменного магнетиту (Fe_3O_4), поверхня якого модифікована гідроксиапатитом (ГА). Наноструктури вказаного типу характеризуються біосумісністю з організмом людини, відсутністю мутагенності та задовільними, з точки зору реалізації методу адресної доставки лікарських засобів та локальної терапії, магнітними характеристиками.

Синтез Fe_3O_4 здійснено за методикою співосадження солей двох- і трьохвалентного заліза. Синтезовані ансамблі наночастинок (НЧ) Fe_3O_4 характеризувались розмірами 3 – 23 нм. Середній розмір НЧ Fe_3O_4 залежав від умов синтезу і становив 8 – 15 нм, розподілом за розмірами можна було керувати технологічно. Питома поверхня магнетиту становила S_n = 90–180 м^2/г, в роботі використовували зразки, для яких S_n ~ 110 м^2/г. Вивченням ІЧ-спектрів поверхні Fe_3O_4 виявлено функціональні групи ОН, концентрація яких, розрахована за даними термогравіметричного аналізу, дорівнювала 2,4 ммоль/г.

Синтез покриття ГА на поверхні Fe_3O_4 здійснювали золь-гель методом. Середній розмір кристалітів Fe_3O_4 і ГА в структурі НК Fe_3O_4/ГА складав 15 і 19 – 21 нм, відповідно. Дослідженнями ІЧ-спектрів зразків Fe_3O_4/ГА виявлено ОН-групи на поверхні нанокомпозиту, концентрація яких становила 2,2 ммоль/г. Питома поверхня НК Fe_3O_4/ГА становила S_n = 105 м^2/г. Відношення Ca/P становило 1,6 – 1,7. Товщина шару ГА на поверхні Fe_3O_4, оцінена за співвідношенням площі Fe2p-/Fe3p- ліній та приростом маси НК, становить ~4 нм.

Вивчено процеси адсорбційної іммобілізації хіміотерапевтичних препаратів (цисплатину (ЦП), доксорубіцину (ДР)) та нормального імуноглобуліну людини (як моделі антитіла – імунотерапевтичного препарату) на поверхні НК.

Виявлено значну адсорбційну активність по відношенню до комплексів ЦП нанорозмірного Fe_3O_4. Так, при 298 К для Fe_3O_4 адсорбційна ємність A_{max} = 80,1 мг/г, коефіцієнт вилучення R = 66,2 %.

Модифікування Fe_3O_4 ГА зменшує адсорбційну активність поверхні НК по віношенню до ЦП: A_{max} = 54 мг/г, R = 64,8%. Можливо, це відбувається внаслідок зменшення концентрації гідроксильних груп на поверхні НК Fe_3O_4/ГА в порівнянні з

поверхнею вихідного Fe_3O_4. Час встановлення адсорбційної рівноваги для поверхні НК Fe_3O_4/ГА знаходиться в межах 10 хв.

Адсорбцію імуноглобуліну (Ig) проводили в середовищі фізіологічного розчину (ФР) протягом 2 год в динамічному режимі за кімнатної температури. Кількість адсорбованої речовини на поверхні НК визначали вимірюванням концентрації Ig в контактних розчинах до і після адсорбції.

Вивільнення Ig в ФР досліджували на зразках Fe_3O_4/ГА і Fe_3O_4/ГА/Ag, що містять Ig, іммобілізований з різних буферних систем (фосфатний буфер, фізіологічний розчин).

Коефіцієнт розподілу (Е) імуноглобуліну між поверхнею НК і розчином складає 111,36 мл/г для Fe_3O_4/ГА, а для Fe_3O_4/ГА/Ag – 186,67 мл/г. При адсорбції з ФР для Fe_3O_4/ГА Е = 47, 2 мл/г, для Fe_3O_4/ГА/Ag Е = 59,4 мл/г. Адсорбція Ig на поверхні НК з НЧ срібла перевищує адсорбцію на поверхні Fe_3O_4/ГА в обох буферних системах. Це є свідченням того, що наночастинки срібла на поверхні композиту виступають в ролі додаткових адсорбційних центрів.

Встановлено, що вивільнення Ig, іммобілізованого з ФР, при великих концентраціях (А = 17-38 мг/г) практично не відбувається.

Результати експериментальних досліджень впливу НК на клітинні лінії MCF-7 карциноми молочної залози людини in vitro свідчать, що застосування поліфункціональних магніточутливих НК принципово дозволяє реалізувати розпізнавання специфічних клітин, досягти цитотоксичного ефекту препарату при нижчих концентраціях лікарських препаратів та створити умови для зменшення токсико-алергічного впливу лікарських хіміотерапевтичних засобів на організм в цілому.

Дослідженнями адсорбції ДР на поверхні НК Fe_3O_4/ГА від часу встановлено, що протягом перших двох годин адсорбується 60 – 70 % речовини, а протягом доби адсорбція проходить майже повністю (93 – 97 %). Результати дослідження залежності десорбції від часу вказують, що вивільнення ДР зменшується з ростом його кількості на поверхні НК.

Наведено дані щодо синтезу нових поліфункціональних магніточутливих наноструктур, перспективних для цільової доставки в пухлини гепатоцелюлярної карциноми та внутрішньопечінкової холангіокарциноми лікарського препарату хіміотерапевтичного механізму дії гемцитабін (ГЦ) та депонування за допомогою магнітного поля з додатковими функціями гіпертермічної терапії та магнітно-резонансної томографічної діагностики в режимі реального часу. Показано, що модифікована ГА поверхня магніточутливих носіїв Fe_3O_4 здатна до адсорбційної іммобілізації онкологічних лікарських засобів різних механізмів дії та до їх вивільнення в середовищі фізіологічної рідини без зміни терапевтичної активності.

На прикладі магнітної рідини Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na/ПЕГ+ФР, що містить дисперсійну фазу – фізіологічний розчин (ФР), суперпарамагнітні носії Fe_3O_4 з модифікованою ГА поверхнею та іммобілізованим лікарським препаратом ДР, комплексний стабілізатор на основі олеату натрію та поліетиленгліколю (ол.Na/ПЕГ), розвинено метод магнітної гранулометрії, застосовний до НК типу суперпарамагнітне ядро – оболонка зі складною багаторівневою структурою. Наведені результати експериментальних досліджень і розрахунків, їх перевірка різними способами і порівняння з літературними даними свідчать, що використовуючи ансамблі магнітних носіїв у якості суперпарамагнітного зонда та теорію парамагнетизму Ланжевена можна оцінити розміри компонентів складної оболонкової структури нанокомпозитів. Отримані дані можуть бути корисними при оптимізації хімічного складу, структури та властивостей нових магнітних рідин та адсорбентів на основі магніточутливих НК зі складною будовою оболонки.

Відпрацьовано наукові підходи щодо впровадження магнітокерованих поліфункціональних НК Fe_3O_4/ГА, модифікованих іонами гадолінію, у нейтронозахопну терапію. Показано їх перспективність для створення нових типів малотоксичних селективних нейтронозахопних лікарських засобів із додатковими функціями магнітокерованої спрямованої доставки до органів- або клітин-мішеней і депонування, гіпертермії та комбінованої T_1-, T_2-МРТ-діагностики у режимі реального часу.

Наведено основи синтезу нових векторних систем – магнітокерованих лікарських форм хіміотерапевтичної дії онкологічного призначення на основі магнітних рідин, що містять нанорозмірний однодоменний магнетит з модифікованою поверхнею та лікарський цитостатичний препарат. Показано, що за даними магнітних вимірювань можливе визначення з високою достовірністю розмірних параметрів векторних систем, що може бути використано для їх стандартизації та контролю параметрів в процесі виробництва.

Ключові слова: *гідроксиапатит, поверхня, магнетит, магніточутливі нанокомпозити, адсорбція.*

Вступ

В роботах [1 - 8] обґрунтовано концепцію хімічного конструювання магніточутливих нанокомпозитів з багаторівневою ієрархічною наноархітектурою, що характеризуються функціями "наноклінік" [1] та медико-біологічних нанороботів [2 - 8]: 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 створення вказаних магніточутливих нанокомпозитів (НК) значний інтерес дослідників викликають наноструктури типу ядро-оболонка на основі однодоменного магнетиту (Fe_3O_4) та гідроксиапатиту (ГА), що утримують онкологічні лікарські засоби різного функціонального призначення та різних механізмів дії. Такі НК характеризуються унікальним комплексом фізичних, хімічних та біологічних властивостей, можливістю створення на їх основі магнітних рідин (МР) [9 - 19]. У якості онкологічних лікарських засобів широкого використання набули, зокрема, цитостатичний препарат цисплатин (ЦП), антрацикліновий антибіотик доксорубіцин (ДР), які застосовуються практично у всіх схемах сучасної хіміотерапії, та антитіла, що дозволяють реалізувати принципи розпізнавання антигенів та імунотерапії. Крім того, в роботі наведено дані щодо синтезу нових поліфункціональних магніточутливих наноструктур, здатних до цільової доставки в пухлини гепатоцелюлярної карциноми та внутрішньопечінкової холангіокарциноми лікарського препарату хіміотерапевтичного механізму дії гемцитабін (ГЦ) та депонування за допомогою магнітного поля з додатковими функціями гіпертермічної терапії та магнітно-резонансної томографічної діагностики в режимі реального часу.

Вибір однодоменного магнетиту в якості вихідного матеріалу для синтезу НК обумовлений його унікальними магнітними властивостями, прийнятними біосумісністю і біодеградацією, накопиченим досвідом у галузі модифікування поверхні, можливостями керування рухом наночастинок за допомогою зовнішнього магнітного поля, застосуванням на стадіях розділення і вилучення 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).

Застосування ГА у якості покриття магніточутливих носіїв обумовлено його високою біосумісністю з живим організмом, стабільністю в біологічних середовищах, адсорбційною активністю поверхні, можливістю забезпечення необхідної хімічної функціоналізації поверхні носія для подальшої біофункціоналізації.

В цій роботі виконано огляд досліджень, спрямованих на розвиток концепції створення магніточутливих НК з багаторівневою ієрархічною наноархітектурою та функціями медико-біологічних нанороботів. Наведено дані стосовно синтезу магніточутливих НК типу ядро-оболонка на основі однодоменного магнетиту та гідроксиапатиту, вивчення їх магнітних властивостей, особливостей іммобілізації на поверхні онкологічних препаратів різного механізму дії, перевірки біоактивності, розробки методики вимірювання розмірних параметрів багатокомпонентної оболонкової структури з використанням теорії парамагнетизму Ланжевена, створення магнітних рідин на основі синтезованих НК та встановлення перспективності їх використання в онкології.

Методи досліджень

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

Для вивчення морфології і розподілу наночастинок (НЧ) 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 [20]. Розмагнічені наночастинки для запобігання взаємодії були розподілені в матриці парафіну з об’ємною концентрацією ~ 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 $D_{BET} = 6/(\rho S_{BET})$, де ρ – густина матеріалу НЧ, S_{BET} – значення питомої площі поверхні, розрахованої за теорію полімолекулярної адсорбції Брунауера, Еммета і Теллера (БЕТ).

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) з використанням електронного спектрометра ЕС-2402 з енергоаналізатором PHOIBOS-100-SPECS ($E_{MgK\alpha}$ = 1253,6 еВ, P = 200 Вт, $p = 2\cdot10^{-7}$ 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 [21].

Адсорбцію ЦП, ДР і ГЦ на поверхні нанорозмірного магнетиту і нанокомпозитів здійснювали з їх розчинів різної концетрації. Для досліджень використовували цисплатин ЕБЕВЕ Фарма Гес. м. б. х Нфг. КГ(Австрія); DOXORUBICIN-TEVA (Pharmachemie BV, The Netherlands); гемцитабін тева (Pharmachemie BV, The Netherlands).

Концентрацію ЦП в розчинах визначали за вмістом іонів Pt^{2+} методом атомно-абсорбційного аналізу за допомогою спектрофотометра С-115 М в полум'яній суміші ацетилен-повітря. Вимірювання провадили на довжині хвилі 265,7 нм.

Концентрацію нормального імуноглобуліну людини (Ig) і антитіл (CD 95) у фосфатному буфері (pH = 7,0) та фізіологічному розчині, а також ДР у фізіологічному розчині, вимірювали на спектрофотометрі Spektrometer Lambda 35 uv/vis Perkin Elmer Instruments (при 280 та 480 нм, відповідно) з використанням калібрувальних графіків.

Адсорбціїну ємність наноструктур A (мг/г) розраховували за формулою: $A = (C_0 - C_p) \cdot V/m$, де C_0 і C_p – концентрації вихідного розчину і розчину після адсорбції (мг/л), V – об'єм розчину (л), m – наважка сорбенту (г). На основі експериментальних результатів побудовано 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 [6] співосадженням солей заліза згідно реакції:

$Fe^{+2} + 2Fe^{+3} + 8NH_4OH \rightarrow Fe_3O_4 + 4H_2O + 8NH_4^+$.

Синтезовані ансамблі НЧ Fe_3O_4 характеризувались розмірами 3 – 23 нм. Середній розмір НЧ (d_0) залежав від умов синтезу і становив 8 – 15 нм, розподілом за розмірами можна було керувати технологічно. Питома поверхня (S_n) синтезованого магнетиту, залежно від середнього розміру частинок, становила S_n = 90 – 180 м^2/г, в роботі використовували зразки, для яких S_n ~ 110 м^2 /г. Вивченням ІЧ-спектрів поверхні магнетиту виявлено функціональні групи ОН, концентрація яких, розрахована за даними термогравіметричного аналізу, дорівнювала 2,4 ммоль/г [6].

Синтез нанокомпозитів магнетит/гідроксиапатит

Синтез покриття гідроксиапатиту на поверхні високодисперсного магнетиту здійснювали золь-гель методом [6] згідно реакції: $10Ca(NO_3)_2 + 6(NH_4)_2HPO_4 + 8NH_3 + 2H_2O \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 20NH_4NO_3$.

Методом рентгенофазового аналізу підтверджено наявність в зразках фаз магнетиту (Fe_3O_4, JCPDS №19-629) і гідроксиапатиту ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, JCPDS №74-0566). Середній розмір кристалітів магнетиту і гідроксиапатиту складав 15 і 19 – 21 нм, відповідно.

Дослідженнями ІЧ-спектрів зразків Fe_3O_4/ГА виявлено ОН-групи на поверхні нанокомпозиту, концентрація яких становила 2,2 ммоль/г.

Питома поверхня зразків Fe_3O_4/ГА становила 105 м^2/г.

Дослідженнями поверхні НК Fe_3O_4/ГА методами РФС було встановлено [17, 22], що відношення Ca/P складало 1,6 – 1,7 (близько до оптимального стехіометричного значення (Ca/P = 1,67) для ГА). Товщина шару гідроксиапатиту на поверхні магнетиту,

оцінена за співвідношенням площі, обмеженою Fe2p-/Fe3p- лініями та приростом маси НК, становить ~4 нм.

Дослідження адсорбції і десорбції цисплатину

Зразки магнетиту і НК Fe_3O_4/ГА були використані для досліджень адсорбції ЦП [16, 23]. Увагу було зосереджено, головним чином, на виясненні можливості їх використання у медицині як носіїв для адресної доставки лікарських препаратів та адсорбентів, здатних до адсорбційної детоксикації організму після онкотерапії.

Розчини *цис*-дихлордіамінплатини готували в діапазоні концентрацій Pt^{2+} від 10 до 200 мг/л. До 0,1 г сорбенту прибавляли 0,03 л приготовленого розчину *цис*-дихлордіамінплатини. Адсорбцію здійснювали в динамічному режимі протягом 3 год. з використанням шейкера при pH = 7,1 за кімнатної температури.

Отримані результати (рис. 1, *а*, *б*) свідчили про залежність адсорбційної ємності досліджених зразків від хімічної природи їх поверхні. Із експериментальних даних видно, що зростання рівноважної концентрації ЦП приводить до адсорбційного насичення. Така форма ізотерм може бути описана рівнянням Ленгмюра, яке справедливе для адсорбентів з енергетично еквівалентними адсорбційними центрами.

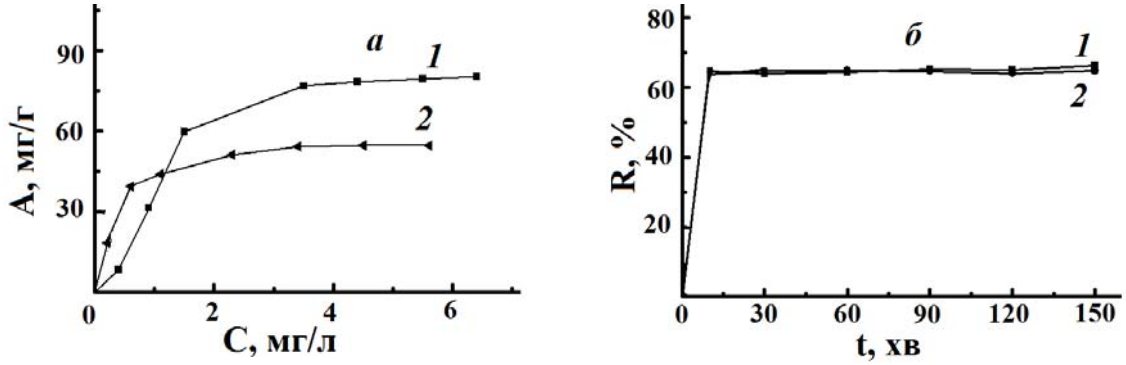


Рис. 1**.** Ізотерми (*а*) і залежність від часу (*б*) адсорбції ЦП зразками магнетиту (*1*) і НК Fe_3O_4/ГА (*2*).

Перед усім, слід відмітити значну адсорбційну активність по відношенню до комплексів цис-дихлордіамінплатини нанорозмірного магнетиту. Так, при 298 К для Fe_3O_4 A_{max} = 80,1 мг/г, R = 66,2 % (рис. 1, *а*, *б*, криві *1*).

Модифікування магнетиту гідроксиапатитом зменшує адсорбційну активність по віношенню до ЦП (рис. 1, а, крива 2): A_{max} = 54 мг/г, ступінь вилучення R = 64,8 % (рис. 1, *б*, крива *2*). Можливо, це відбувається внаслідок зменьшення концентрації гідроксильних груп на поверхні нанокомпозиту Fe_3O_4/ГА в порівнянні з поверхнею вихідного магнетиту. Час втановлення рівноваги для поверхні нанокомпозиту Fe_3O_4/ГА знаходиться в межах 10 хвилин (рис. 1, *б*, крива *2*).

Для дослідження десорбції ЦП у модельне середовище (фізіологічний розчин) 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. 2) на те, що вивільнення ЦП зменшується з часом.

Дослідженнями спектрів оптичної густини розчинів вихідного ЦП в фізіологічній рідині і спектрів після десорбції в фізрозчин з поверхні дослідженого НК Fe_3O_4/ГА/ЦП встановлено характерні ознаки наявності в розчинах комплексної сполуки *цис*-дихлордіамінплатини [24 - 26]. Крім того, наявність саме комплексів *цис*-дихлордіамінплатини на поверхні синтезованих наноструктур підтверджено експериментально дослідженнями цитотоксичності *in vivo*, *in vitro* [27] по відношенню до

клітинних ліній та пухлин раку молочної залози людини MCF-7 та карциноми Герена. Як відомо [28], основною мішенню терапевтичної дії цисплатину є ДНК. Згідно класичного механізму цитотоксичної активності препаратів платини, гідроліз цисплатину і утворення його аквакомплексів є необхідною і лімітуючою стадією для пошкодження більшості біомолекул (за виключенням деяких сірковмісних).

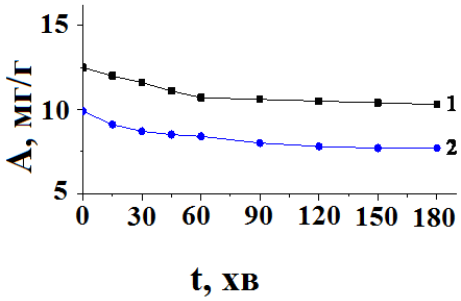


Рис. 2. Залежність десорбції ЦП від часу з поверхонь Fe_3O_4 (1) та НК Fe_3O_4/ГА (2) при T = 298 К.

Задовільні магнітні властивості і адсорбційні параметри досліджених в роботі НК по відношенню до ЦП, можливість використання в рідких середовищах, в тому числі, біологічних, свідчать про перспективність їх застосування в якості адсорбентів медико-біологічного (детоксикація організму) і екологічного та технічного (утилізація розчинів) призначення. Дослідження *in vitro, in vivo* синтезованих наноструктур на основі однодоменного магнетиту [5, 6] 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.

Цитотоксичні властивості та біологічна безпека МР на основі ЦП

Синтезовані наноструктури у складі магнітної рідини (МР) використані при створенні нової форми онкологічного лікарського засобу «Фероплат», вперше експериментально обгрунтованої в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, яка перебуває на стадії впровадження у виробництво. Ідея вказаної нової форми полягає в стратегії подолання резистентності злоякісних пухлин до цисплатину шляхом фармакологічної корекції обміну ендогенного заліза, що забезпечується застосуванням залізовмісного нанокомпозиту 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 щурів лінії Wistar з карциномою Герена після проведення курсу терапії цисплатином. Детальніше методики досліджень наведено в [27, 29].

У системах *in vitro* та *in vivo* доведено переваги застосування МР порівняно з використанням цисплатину. Встановлено, що найбільша цитотоксична активність нанокомпозиту, 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 характеризується здатністю до редокс-регуляції клітин з фенотипом медикаментозної резистентності, що свідчить про перспективу його використання для патогенетично обґрунтованої таргетної терапії злоякісних новоутворень.

Щурам лінії Wistar перещеплювали резистентну до цисплатину карциному Герена під шкіру на спину по 0,4 мл 23 % суспензії пухлинної тканини у фізіологічному розчині.

Через 8 діб після перещеплення починали курс терапії цисплатином: 5 внутрішньочеревних ін'єкцій у дозі 1,2 мг цисплатину/кг. Препарат вводили 1 раз у 2 доби на фоні наркозу (Каліпсовет-Плюс, 1мкл/г маси, в/м). Цисплатин не чинив достовірного ефекту на пухлини резистентного до цисплатину штаму; середній об’єм пухлин у контрольній групі складав 20,2 ± 1,0 $см^3$, а у тварин, яким вводили цисплатин – 21,1 ± 1,4 $см^3$.

У випадку терапії щурів лінії Wistar з перещепленою резистентною до цисплатину карциномою Герена МР за описаною вище методикою (п'ять внутрішньочеревних ін'єкцій 1,2 мг цисплатину/кг, 1 раз у 2 доби, наркоз Каліпсовет-Плюс, 1 мкл/г, в/м) було встановлено достовірний протипухлинний ефект на пухлини резистентного до цисплатину штаму: середній об'єм пухлин знижувався з 20,2 ± 1,0 $см^3$ у контрольній групі до 12,1 ± 2,4 $см^3$ у тварин, яким вводили нанокомпозит, відсоток гальмування росту пухлин складав 40 %.

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 нанокомпозит 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.

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

Синтез нанокомпозитів Fe_3O_4/ГА/Ag

Як відомо, у складі магніточутливих нанокомпозитів наночастинки благородних металів можуть виконувати функції сенсорів (оптичні мітки), терапевтичних агентів (термальна та фотодинамічна терапія), спейсерних ділянок для зв'язування моноклональних антитіл тощо [6].

Модифікування нанокомпозиту Fe_3O_4/ГА наночастинками срібла проводили з 0,005-н розчину $AgNO_3$. Кількість срібла, введеного в реакційну суміш, складала 1 % від маси зразка $Fe_3O_4/Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Відновлення іонів срібла проведене 0,005 %-ним гідразин гідратом при нагріванні і перемішуванні [30] за реакціями:

$4Ag^+ + N_2H_4 + 4OH^- \rightarrow 4Ag^0 + N_2 + 4H_2O$,

$N_2H_4 + 4H_2O \rightarrow 2NH_4OH + 2OH^-$.

Визначено, що для нанокомпозиту магнетит/гідроксоапатит/срібло (Fe_3O_4/ГА/Ag) $S_{пит}$ = 104 $м^2/г$. Наявність срібла на поверхні підтверджена рентгенофазовим аналізом. Обчислений за формулою Шеррера середній розмір наночастинок Ag складав ~ 10 нм.

Іммобілізація імуноглобуліну на поверхні нанокомпозиту Fe_3O_4/ГА

Метою цих досліджень було вивчення процесів адсорбція/десорбція імуноглобуліну, як моделі антитіла, на поверхні нанокомпозитів Fe_3O_4/ГА і Fe_3O_4/ГА/Ag для використання їх при цілеспрямованому створенні багатофункціональних біосумісних нанокомпозитів медико-біологічного призначення [31, 32].

Нормальний імуноглобулін людини очищали діалізом проти 0,02 моль/л ацетатного буфера на фізіологічному розчині. Адсорбцію Ig проводили в заданому середовищі протягом 2 годин в динамічному режимі за кімнатної температури. Кількість адсорбованої речовини на поверхні нанокомпозитів визначали вимірюванням концентрації Ig в контактних розчинах до і після адсорбції.

Вивільнення Ig в модельне середовище (фізіологічний розчин) досліджували на зразках Fe_3O_4/ГА і Fe_3O_4/ГА/Ag, що містять імуноглобулін, іммобілізований з різних буферних систем (фосфатний буфер, фізіологічний розчин). Відповідні концентрації десорбованої речовини (C_D) розраховували за графіками ізотерм десорбції.

Відомо, що адсорбція протеїнів на гідроксоапатиті включає як аніонний, так і катіонний обмін. Активні центри Ca^{2+} взаємодіють з карбоксильними функціональними групами Ig, тоді як PO_4^{2-}-центри взаємодіють з основними ділянками молекули. Визначено, що форма отриманих ізотерм адсорбції імуноглобуліну є відмінною для різних буферних систем (рис. 3, 4). Так, ізотерми адсорбції Ig в середовищі фосфатного буфера (рис. 3) мають специфічну форму внаслідок виникнення конкуренції адсорбтива і фосфат-іонів розчинника за адсорбційні центри адсорбенту. Така форма кривої властива системам, в яких взаємодія між адсорбованими молекулами є сильнішою, ніж взаємодія між розчиненими сполуками і адсорбентом [6]. Імуноглобуліни, зазвичай, адсорбуються при низьких концентраціях (10-20 мМ) на поверхні носія з фосфатного буфера, хоча деякі кислі протеїни адсорбуються лише у водному середовищі, розчинах солей або нефосфатних буферах.

Коефіцієнт розподілу E імуноглобуліну між поверхнею нанокомпозиту і розчином складає 111,36 мл/г для Fe_3O_4/ГА, а для Fe_3O_4/ГА/Ag - 186,67 мл/г. При адсорбції з фізіологічного розчину для Fe_3O_4/ГА E = 47, 2 мл/г, для Fe_3O_4/ГА/Ag E = 59,4 мл/г. Адсорбція Ig на поверхні нанокомпозиту з наночастинками срібла перевищує адсорбцію на поверхні Fe_3O_4/ГА в обох буферних системах. Це є свідченням того, що наночастинки срібла на поверхні композиту виступають в ролі додаткових адсорбційних центрів.

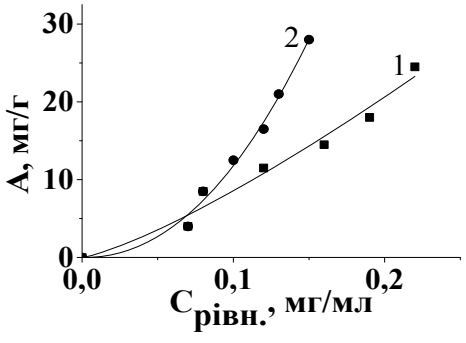


Рис. 3. Ізотерми адсорбції нормального Ig людини на поверхні нанокомпозитів Fe_3O_4/ГА (1) і Fe_3O_4/ГА/Ag (2) з фосфатного буфера.

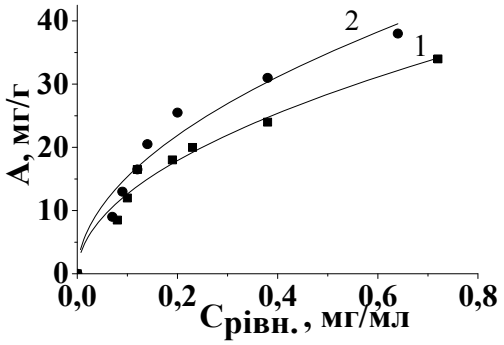
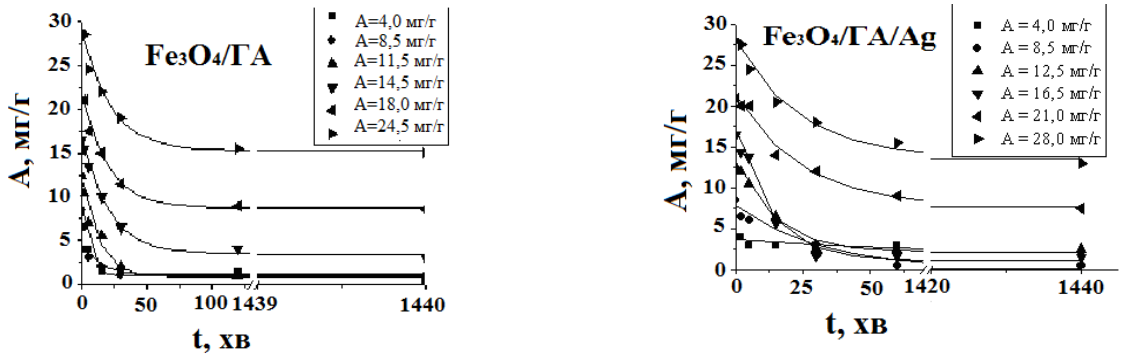


Рис. 4. Ізотерми адсорбції нормального Ig людини на поверхні нанокомпозитів Fe_3O_4/ГА (1) і Fe_3O_4/ГА/Ag (2) з фізіологічного розчину.

Згідно з даними [33], підвищення кількості біомолекул в розчині до рівня, що перевищує їх кількість в адсорбованому моношарі, сприяє впорядкуванню біомолекул і утворенню щільної упаковки. У випадку антитіл їх орієнтація є, переважно, перпендикулярною до поверхні.

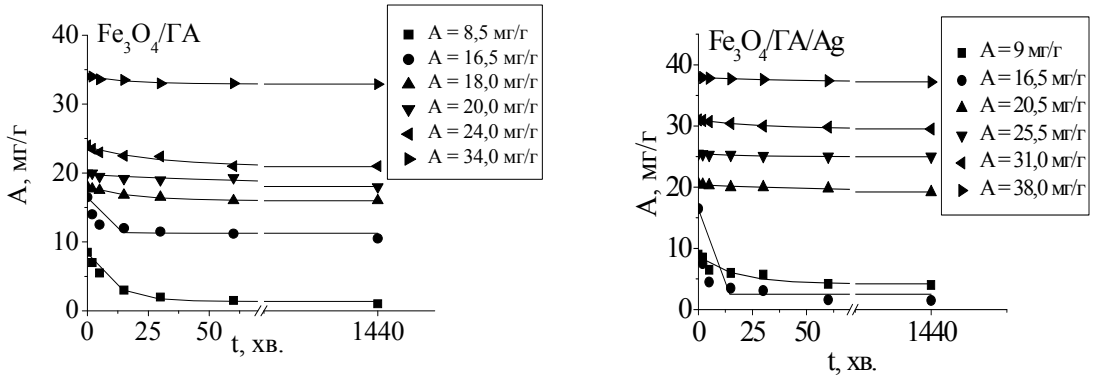
Враховуючи високу адсорбцію (A = 34 - 38 мг/г) імуноглобуліну, можна припустити утворення компактної упаковки адсорбованих антитіл на поверхні НК, модифікованих ГА і сріблом.

Кінетику десорбції іммобілізованого Ig в модельне середовище (фізіологічний розчин) досліджували на зразках Fe_3O_4/ГА і Fe_3O_4/ГА/Ag (рис. 5, 6). Отримані кінетичні криві свідчать про зниження десорбції Ig із зростанням кількості імуноглобуліну, іммобілізованого на поверхнях НК у фосфатному буфері. При низькій адсорбції за 10 - 15 хв десорбується до 50 % імуноглобуліну, тоді як при вищій адсорбції протягом того ж часу десорбується близько 10 - 20 %. Залежність десорбції імуноглобуліну з поверхні Fe_3O_4/ГА/Ag наведено на рис. 6, *а*, *б*.



а *б*

Рис. 5. Кінетика десорбції імуноглобуліну людини з поверхні нанокомпозитів: *а* - Fe_3O_4/ГА, *б* - Fe_3O_4/ГА/Ag. На вставках наведена початкова адсорбція імуноглобуліну з фосфатного буфера**.**



а *б*

Рис. 6. Кінетика десорбції імуноглобуліну людини з поверхні нанокомпозитів:
а - Fe_3O_4/ГА, *б* - Fe_3O_4/ГА/Ag. На вставках наведена початкова адсорбція імуноглобуліну з фізіологічного розчину.

Вивільнення імуноглобуліну, іммобілізованого з фізіологічного розчину, при великих концентраціях (A = 17 - 38 мг/г) не відбувається. Відомо [33], що великі біомолекули, у тому числі антитіла, не десорбуються при розведенні тим самим буфером, в якому відбувалася адсорбція, природа адсорбенту також істотно впливає на здатність адсорбованих біомолекул до десорбції. Така тенденція характерна для досліджуваних поверхонь.

Вивчення впливу нанокомпозитів комплексної дії *in vitro*

Моделі магніточутливих лікарських засобів на основі синтезованих НК Fe_3O_4/ГА, модифікованих ЦП і моноклональним мишачим антитілом CD95 досліджені *in vitro* в ІЕПОР НАН України. Проведено аналіз цитотоксичної дії синтезованих нанокомпозитів

на клітинні лінії MCF - 7 карциноми молочної залози людини з банку клітинних культур ІЕПОР НАН України [3, 5, 27].

З метою вивчення впливу магніточутливих НК, що характеризуються здатністю розпізнавання специфічних клітин та комплексного виконання хіміо- і імунотерапевтичних функцій, на життєздатність онкоклітин, були виготовлені зразки, що містять іммобілізований цитостатик (Fe_3O_4/ГА + ЦП, зразки типу 1), моноклональні антитіла (Fe_3O_4/ГА + CD 95, тип 2) та більш складні магніточутливі структури, модифіковані цисплатином і кон'юговані моноклональними антитілами (Fe_3O_4/ГА + ЦП + CD 95, тип 3):

НК типу 1 - 2 виготовляли, застосовуючи описані вище методики. З метою оптимізації методики створення НК Fe_3O_4/ГА+CD95 (зразки 3) досліджено адсорбцію моноклонального антитіла CD95 на поверхні нанокомпозиту Fe_3O_4/ГА.

Адсорбцію моноклональних антитіл CD95 (C = 20 мкг/мл, V = 1 мл) на поверхні НК Fe_3O_4/ГА (наважки 0,03 г) проводили у фізіологічному середовищі протягом 2 годин в динамічному режимі за кімнатної температури. Концентрацію антитіл вимірювали на комбінованому рідері для мікропланшет Synergy HT, Model SIAFRTD, Serial Number 202993 (Bio Tek). Кількісне визначення вмісту глікопротеїну в пробах [6] проведене по методу Бредфорда. Адсорбція антитіл CD95 на поверхні нанокомпозиту Fe_3O_4/ГА становила 590 мкг/г.

Порівняльними дослідженнями встановлено, що величина фізичної адсорбції глікопротеїну на поверхні ГА істотно перевищує величину адсорбції не лише фізично, але і ковалентно іммобілізованого антитіла на поверхні Fe_3O_4, функціоналізованого аміногрупами. Висока адсорбційна ємність поверхні Fe_3O_4/ГА може бути пояснена складним механізмом адсорбції глікопротеїнів: Ca^{2+}-центри взаємодіють з карбоксилатними залишками поверхні антитіла, PO_4^{2}-центри – з основними ділянками молекули. Згідно з даними [33] значний вплив на механізм адсорбції здійснює pH середовища, з якого відбувається адсорбція. Кореляція pH середовища з pI адсорбтиву обумовлює переважну конформацію адсорбованих молекул.

Підвищення кількості біомолекул в розчині до рівня, що перевищує їх концентрацію в адсорбованому моношарі, сприяє впорядкуванню і утворенню щільної упаковки на поверхні. Враховуючи значну величину адсорбції антитіл на поверхні Fe_3O_4/ГА в порівнянні зі значеннями адсорбції на поверхні нанокомпозитів, функціоналізованих аміногрупами, можна зробити припущення про утворення щільної, сприятливо орієнтованої, упаковки молекул CD 95 на поверхні нанокомпозиту, модифікованого ГА. На користь цього припущення свідчать дослідження імунотерапевтичного впливу біофункціоналізованих нанокомпозитів на клітинні лінії, виконані в ІЕПОР НАН України. Їх цитотоксична дія перевищує дію контрольних доз антитіл в 2,7 рази. Крім того, антитіла, іммобілізовані на поверхні ГА, характеризуються слабкою десорбцією в модельних біологічних середовищах.

НК Fe_3O_4/ГА+ЦП+CD95 (зразки типу 3) виготовляли наступним чином.

НК Fe_3O_4/ГА з адсорбованим цисплатином (A = 60,1 мг/г по Pt^{2+}) (зразки типу 2) заливали розчином моноклонального антитіла CD 95 (C = 20 мкг/мл, V = 1 мл). Іммобілізацію проводили адсорбційним методом у фізіологічному розчині протягом 2 годин в динамічному режимі за кімнатної температури.

Для вивчення впливу НК з адсорбованим цитостатиком і іммобілізованим моноклональним антитілом (зразки 3) на культивоване середовище, розраховували вміст цисплатину так, щоб його концентрація відповідала біологічному еквіваленту ефективності IC_{25}, тобто складала 25% концентрації ІС, що дозволяє повністю знищити клітини. Попередніми дослідженнями встановлено, що IC_{50} = 5 мкг/мл, тому для нашого

експерименту використовували концентрацію IC_{25} = 2,5 мкг/мл. При цьому концентрація антитіл CD95 становила 0,2 мкг/мл (терапевтична доза складає 10–30 мкг/мл).

Результати досліджень комплексного цитотоксичного впливу магніточутливого нанокомпозиту на життєздатність клітин лінії MCF – 7 наведені в табл. 1.

З отриманих результатів видно, що використання магніточутливих нанокомпозитів з адсорбованим цисплатином з концентрацією удвічі нижче терапевтичного рівня, кон'югованих моноклональними антитілами CD 95 з майже на порядок меншою концентрацією за терапевтичну, призводить до загибелі 57 % пухлинних клітин, що перевищує дію контрольного зразка на ~50 %. Виявлений синергічний ефект можна пояснити наступним чином.

Таблиця 1. Вплив магніточутливих НК з адсорбованим ЦП, кон'югованих моноклональними антитілами, на життєздатність клітин лінії MCF – 7

Контроль порівняння	Загиблі клітини, % Дія контрольних зразків	Fe_3O_4/ ГА+ЦП	Fe_3O_4/ГА+ CD 95	Fe_3O_4/ГА+ ЦП+CD 95
Цисплатин (ЦП) C = 2,5 мкг/мл	25	48		
Антитіло CD 95 C = 0,2 мкг/мл	10		27	
Цисплатин + CD 95	38			57

По-перше, реалізована цільова доставка комплексу цитостатик–моноклональне антитіло до пухлинних клітин завдяки наявності на їх поверхні відповідних рецепторів. По-друге, ефективному цитотоксичному впливу цисплатину може сприяти «травматична» дія нанокомпозиту на клітинну мембрану, істотно покращуючи проникнення лікарських засобів через мембранний бар'єр.

Таким чином, наведені результати експериментальних досліджень [6] свідчать, що застосування поліфункціональних магніточутливих нанокомпозитів принципово дозволяє реалізувати розпізнавання специфічних клітин, досягти цитотоксичного ефекту препарату при нижчих концентраціях лікарських препаратів та створити умови для зменшення токсико-алергічного впливу лікарських хіміотерапевтичних засобів на організм в цілому.

Адсорбція доксорубіцину нанокомпозитами магнетит/гідроксиапатит

Адсорбцію доксорубіцину нанокомпозитами магнетит/гідроксиапатит досліджено в [17]. Як відомо, доксорубіцин [34] 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.

Дослідження ізотерми адсорбції ДР на поверхні НК Fe_3O_4/ГА проводили в діапазоні рівноважних концентрацій C_0 = 0,1 - 1,04 мг/мл. Експериментальні результати (рис. 7) свідчать, що зростання рівноважної концентрації ДР не призводить до адсорбційного насичення поверхні адсорбента Fe_3O_4/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 нанокомпозиту. 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 нанокомпозиту та розчином становив 366,8 мл/г при A = 91,7 мг/г.

Дослідженнями адсорбції ДР на поверхні НК Fe_3O_4/ГА від часу (рис. 8) встановлено, що протягом перших двох годин адсорбується 60 – 70 % речовини, а протягом доби адсорбція проходить майже повністю (93 – 97 %). Причому це відноситься до всього діапазону досліджених концентрацій ДР.

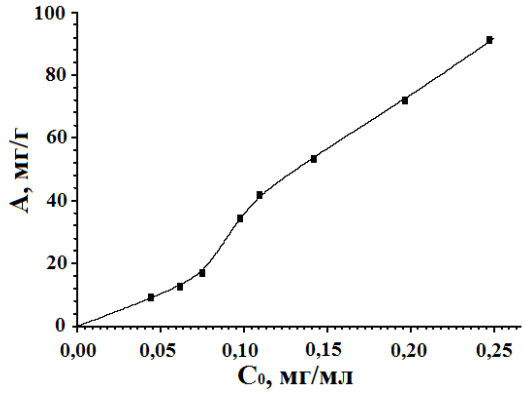


Рис. 7. Ізотерма адсорбції доксорубіцину на поверхні НК Fe_3O_4/ГА.

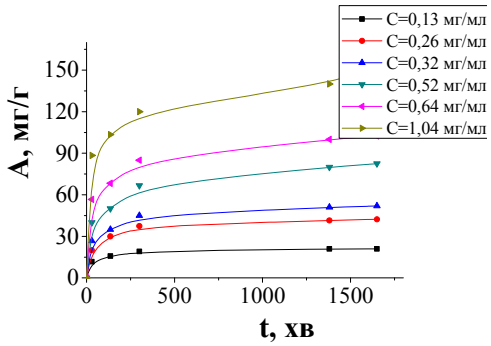


Рис. 8. Залежність від часу адсорбції ДР НК Fe_3O_4/ГА у ФР. На вставці вказано вихідні концентрації розчинів ДР.

Результати дослідження залежності десорбції (A_D, мг/г) від часу надані на рис. 9. 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, десобується 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 доксорубіцину [35]: гідроксильні- та карбонатні групи поверхні НК Fe_3O_4/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. Основна кількість ДР десорбується протягом 20 хвилин для всіх досліджених концентрацій.

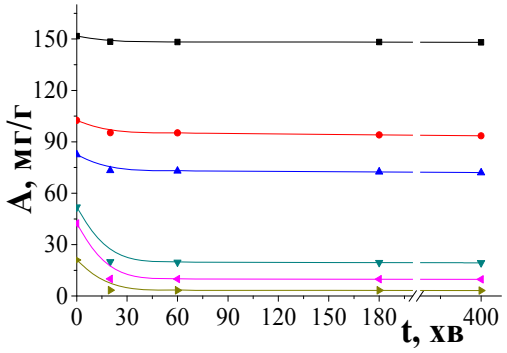


Рис. 9. Залежність від часу τ десорбції ДР (A_D) з поверхні НК Fe_3O_4/ГА/ДР у ФР при різних початкових кількостях адсорбційно іммобілізованого ДР.

Таким чином, вивченням процесів адсорбції ДР на поверхні НК Fe_3O_4/ГА з розчину у фізіологічній рідині встановлено, що зростання рівноважної концентрації ДР в діапазоні C_0 = 0,1 - 1,04 мг/мл не призводить до адсорбційного насичення поверхні адсорбента Fe_3O_4/ГА. Виявлено, що вивільнення ДР у фізіологічний розчин зменшується з ростом його кількості на поверхні НК.

Отримані результати можуть бути використані при розробках нових форм магнітокерованих лікарських засобів спрямованої доставки і адсорбентів на основі нанокомпозитів з багаторівневою наноархітектурою.

Дослідження біосумісності та біоактивності нанокомпозитів на основі доксорубіцину

Біосумісність НК Fe_3O_4/ГА вивчалась у багатьох роботах, наприклад, в [3, 5, 7, 10 - 17]. У роботах [16, 17, 21, 36 - 38] біосумісність та біоактивність виготовлених зразків контролювали за їх впливом на життєздатність клітин хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae.*

Отримані результати склали основу для відпрацювання досить ефективної, надійної, безпечної та відносно недорогої методики контролю цитотоксичної активності нанокомпозитів, яка може бути актуальною для використання в розробках нових лікарських магнітокерованих засобів спрямованої доставки [21].

Так, при дослідженні біоактивності вихідного препарату доксорубіцин було експериментально встановлено, що його розчин у фізіологічній рідині в концентрації 0,5 мг/мл призводить до майже повної загибелі клітин дріжджів (95 %) за 3,5 доби. В методиці на визначення цитотоксичності прийнято користуватись дозою IC_{50}, за якої спостерігається загибель ~50% клітин [6]. Тому для тестування біоактивності кількість нанокомпозитного матеріалу Fe_3O_4/ГА/ДР (~20 мг) з іммобілізованим доксорубіцином (~50 мг/г), який використовувався для утворення суспензії, вибиралась за даними рис. 9 з розрахунку, щоб концентрація вивільненого ДР у дослідних суспензіях становила ~0,25 мг/мл.

Загалом досліджено по 5 зразків таких серій:

1 – суспензія дріжджових клітин (початкова концентрація $n_0 \approx 2{,}5 \cdot 10^7$ мл$^{-1}$) у ФР з мінімальним синтетичним живильним середовищем (МСЖС) [21] (рис. 10, *а*);

2 – суспензія дріжджових клітин (початкова концентрація $n_0 \approx 2{,}5 \cdot 10^7$ мл$^{-1}$) у ФР з МСЖС, що містила 20 мг НК Fe_3O_4/ГА;

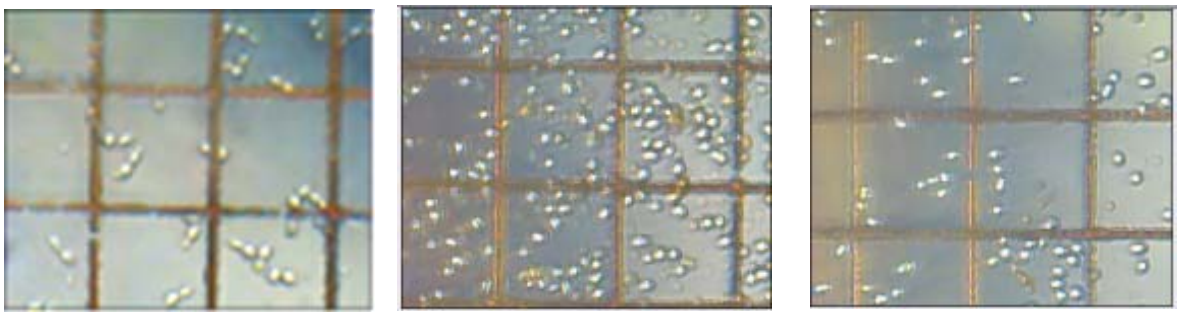
3 – суспензія дріжджових клітин (початкова концентрація $n_0 \approx 3{,}5 \cdot 10^7$ мл$^{-1}$) у ФР з МСЖС, що містила 20 мг НК Fe_3O_4/ГА/ДР.

Всі зразки містили 1,3 мл ФР (0,9 % NaCl) та 1 мл МСЖС. Зразки серій 1 та 2 використовували для контролю і порівняння, а серії 3 – для досліджень біоактивності НК Fe_3O_4/ГА/ДР.

Аналіз даних досліджень свідчить, що в суспензіях дріжджів ($n_0 \approx 2{,}5 \cdot 10^7$ мл$^{-1}$) у ФР з МСЖС (контрольні серії типу 1) спостерігається характерне для дріжджів [39]

розмноження клітин, яке призводило до зростання їх концентрації через 16 годин удвічі ($5 \cdot 10^7$ мл$^{-1}$). В подальшому швидкість їх розмноження сповільнювалась (можливо, через зменшення живильної речовини). Через 3,5 доби їх концентрація становила ~10^8 мл$^{-1}$. Життєздатність дріжджових клітин в дослідах серії 1 суттєво не змінювалась і сягала ~ 98 – 99 %.

Дослідження суспензій контрольних серій типу 2 фіксували досить активне ділення, внаслідок якого концентрація дріжджів через 16 годин становила ~ $6{,}5 \cdot 10^7$ мл$^{-1}$, а через 3,5 доби, як і в попередньому випадку, сягала ~ 10^8 мл$^{-1}$ (рис. 10, *б*). Життєздатність клітин, як і в попередньому випадку, на всіх стадіях досліджень зразків серії 2 становила ~98 – 99 %. Наведені дані свідчать про біосумісність НК Fe_3O_4/ГА по відношенню до клітин дріжджів в умовах експерименту.



а *б* *в*

Рис. 10. Типові зображення фрагментів камери Горяєва з клітинами дріжджів: на початку досліджень (*а*), після взаємодії клітин дріжджів з НК Fe_3O_4/ГА (*б*), після взаємодії клітин дріжджів з НК Fe_3O_4/ГА/ДР (*в*). Час взаємодії 3,5 доби, *T*~300 К, концентрація клітин: (*а*) – $2{,}5 \cdot 10^7$ мл$^{-1}$, (*б*) – $1 \cdot 10^8$ мл$^{-1}$, (*в*) – $3 \cdot 10^7$ мл$^{-1}$.

Дослідженнями зразків суспензій серії 3 встановлено істотне пригнічення клітинної проліферації (рис. 10, *в*). Так, концентрація клітин дріжджів на початку експерименту становила ~ $3{,}5 \cdot 10^7$ мл$^{-1}$ і практично не змінилася за 16 годин, лише через 3,5 доби їх кількість зросла до ~ $4 \cdot 10^7$ мл$^{-1}$. За час досліджень кількість загиблих клітин у зразках серій 3 становила ~ 10 %.

Отже, аналізуючи результати експериментів серій 1 та 2 (рис. 10, *а, б*) та порівнюючи їх з даними серії 3 (рис. 10, *в*), можна зробити висновок, що нанокомпозити Fe_3O_4/ГА/ДР виявляють на клітини *Saccharomyces cerevisiae* цитотоксичний вплив та знижують темп їх проліферації [21].

Слід зазначити, що особливості впливу магніточутливих НК Fe_3O_4/ГА/ДР на клітини дріжджів, які спостерігалися, є характерними для взаємодії вказаних клітин з вільною формою доксорубіцину [21].

Вивчення магнітних та структурних властивостей нанокомпозитів у складі магнітних рідин

Для досліджень синтезовано зразки трьох типів магнітних рідин ($МР_{1\text{-}3}$) на основі фізіологічного розчину, стабілізованих олеатом натрію (ол.Na) і поліетиленгліколем (ПЕГ), складу: $МР_1$ – Fe_3O_4/ол.Na/ПЕГ+ФР, $МР_2$ – Fe_3O_4/ГА/ол.Na/ПЕГ+ФР, $МР_3$ – Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na/ПЕГ+ФР [17]. Відомо, що ПЕГ перешкоджає адсорбційним взаємодіям компонентів рідини з білками [40], що є важливим при медичному застосуванні магнітних рідин. Наважки олеату натрію *m* для стабілізації поверхні НЧ і НК у складі МР розраховували з врахуванням 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 нанокомпозиту Fe_3O_4/ГА, визначено за даними термогравіметричного аналізу за допомогою дериватографа 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 нанокомпозиту.

Нижче наведено результати досліджень, спрямованих на вивчення магнітних і структурних властивостей НК зі складною оболонковою структурою на основі магнетиту у складі МР. Такі дані можуть бути актуальними для аналізу модельних лікарських магнітокерованих систем, перспективних для використання в онкотерапії. Ідея досліджень ґрунтується на використанні ансамблю суперпарамагнітних носіїв у якості зонда для визначення параметрів та контролю наноструктур складної будови, зокрема, у складі магнітних рідин [16, 17, 41, 42].

Реалізація вказаного підходу може бути досягнена шляхом використання методу магнітної гранулометрії [43], зокрема, заснованому на зіставленні експериментальної кривої намагнічування з ланжевеновскою кривою при заданих законах розподілу частинок за розмірами і їх магнітних параметрах, зокрема, намагніченості насичення частинок і товщини «розмагніченого шару» [16, 17].

Для аналізу кривої намагнічування МР, що містить суперпарамагнітні наночастинки, застосовано [16] відоме рівняння [44, 45]:

$$\frac{M(H)}{\varphi_\rho M_s} = \frac{\sum_{i=1}^{k} n_i (d_i - 2h_1)^3 L\left(\frac{M_s H}{k_B T}\frac{\pi}{6}(d_i - 2h_1)^3\right)}{\sum_{i=1}^{k} n_i d_i^3}, \qquad (1)$$

де $M(H)$ – намагніченість МР у магнтному полі напруженністю H; M_s – намагніченість насичення об'ємного магнетиту; φ_ρ – 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; $L(\xi) \equiv cth\xi - 1/\xi$ – функція Ланжевена; k_B – постійна Больцмана; T – температура.

Експериментально встановлено, що діаметри НЧ магнетиту, отриманого методом хімічної конденсації, розподілені за логнормальним законом. У дослідженій області розмірів (3 - 23 нм) частинки однодоменного магнетиту за кімнатної температури у МР знаходяться в суперпарамагнітному стані [16]. Магнітний момент НЧ Fe_3O_4 спонтанно переорієнтовується уздовж легких осей намагнічування під впливом теплової енергії, а процес встановлення теплової рівноваги характеризується часом неєлівської 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 (FF) на основі нанокомпозитів Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na/ПЕГ+ ФР (MP_3FF_3) (рис. 11, *а*).

Питома намагніченість насичення σ_s типових ансамблів НЧ Fe_3O_4, синтезованих для досліджень у цій роботі, становила 62,6 ± 2,5 % Гс·см^3/г (рис. 11, *б*, верхня вставка). При дослідженні статичних магнітних характеристик (час вимірювання складав ~ 100 с) НЧ Fe_3O_4 або сухі залишки (СЗ) магнітних рідин розподіляли в матриці з парафіну (для запобігання міжчастинкової взаємодії) за умови $m_{C3}/m_n \sim 0{,}1$ (m_{C3} – маса СЗ, m_n – маса парафіну). Розрахункові часи неєлівської релаксації магнітного моменту НЧ Fe_3O_4 діаметрів 3 - 22 нм складають (10^{-9} - 10^2) с відповідно.

Згідно з експериментальною кривою (рис. 11, *а*) коерцитивна сила (H_c) МР$_3$ дорівнює (2 ± 0,5) Е. Зразки НЧ Fe_3O_4 і СЗ$_3$ рідини МР$_3$, розподілені в парафіні, характеризуються H_c 89,7 Е і 90,0 Е, відповідно (рис. 11, *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.

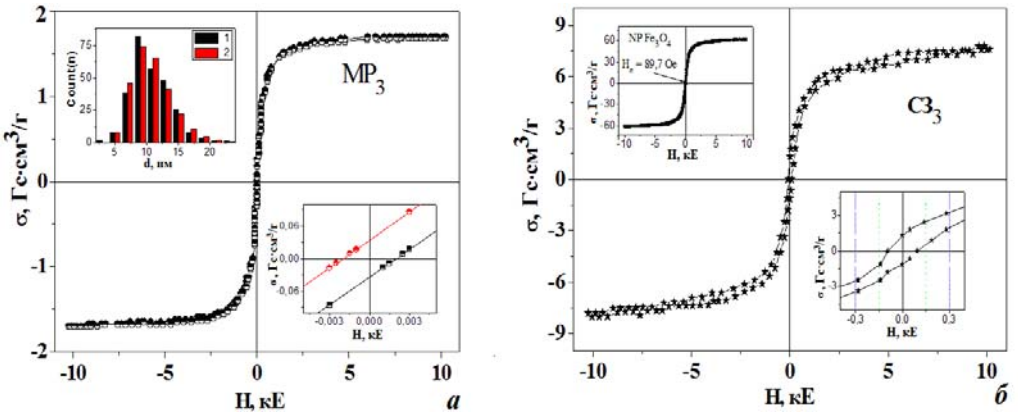


Рис. 11. Петлі гістерезису: а – МР3 (на вставках: верхній – 1, 2 – гістограми експериментального і логнормального (2,33; 0,298) розподілу НЧ Fe_3O_4 за діаметрами, відповідно; нижній – початкова ділянка петлі гістерезису МР3); б – СЗ3 у матриці парафіну (на вставках: верхній – петля гістерезису НЧ Fe_3O_4; нижній – початкова ділянка петлі СЗ3).

На верхній вставці рис. 11, *а* наведено розподіл за діаметрами НЧ Fe_3O_4, отриманий експериментально статистичною обробкою (програма Get Data Graph Digitizer 2.24) ТЕМ-зображень вихідного магнетиту (*1*), та логнормальний розподіл за діаметрами (*2*), розрахований для цього ж ансамбля за допомогою функції густини ймовірності $p(V;M(\ln V),\sigma_{\ln V})$ за формулою (2). Середнє значення діаметра $d_0 = (\Sigma n_i d_i)/N$ і стандартного відхилення (*s*) діаметра НЧ Fe_3O_4 для вибірки об'ємом N = 271 складало 10,77 nm (s = 3,083 нм), логарифма діаметра – 2,33 ($s_{\ln d}$ = 0,298), логарифма об'єма – 6,37 ($s_{\ln V}$ = 0,894). Стандартне відхилення відноситься до середньоквадратичного відхилення (СКВ), як $s/\sigma = N/(N-1)$, де $N/(N-1)$ – поправка Бесселя. При N > 55 практично (< 1 %) немає різниці між оцінками s і σ. Для математичного очікування діаметра частинки Fe_3O_4 $M(d)$ і логарифма діаметра $M(\ln d)$ справедливе співвідношення: $M(d) = \exp[M(\ln d)+(\sigma_{\ln d})^2/2]$. Розраховане за формулою (1) значення товщини «розмагніченого» приповерхневого шару h_1 НЧ Fe_3O_4 становило ~ 0,83 нм.

На рис. 12 наведено модель частинки НК Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na/ПЕГ з багатошаровою 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 Гс·см^3/г 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.Na/ПЕГ), відповідно.

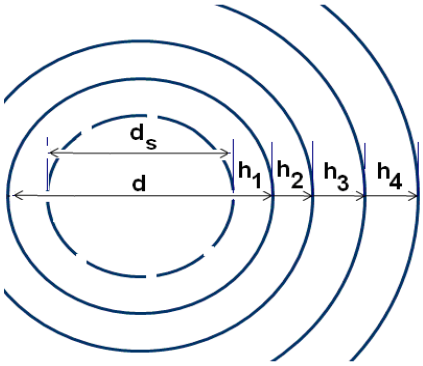


Рис. 12. Модель частинки НК з багатошаровою оболонкою. Позначено: $d = d_s + 2h_1$ – діаметр сферичної НЧ Fe_3O_4, d_s – діаметр області НЧ Fe_3O_4 з намагніченністю насичення, характерною для об'ємного магнетиту; h_1 – товщина приповерхневого «розмагніченого» шару НЧ Fe_3O_4; h_2, h_3, h_4 – товщина шару модифікатора (ГА), лікарського препарату (ДР) і комплексного стабілізатора (ол.Na/ПЕГ) в структурі НК, відповідно.

Користуючись моделлю (рис. 12), за результатами експериментальних вимірювань та розрахунків параметрів ансамблю наночастинок магнетиту і сухих залишків магнітної рідини відповідного складу, визначали розміри шарів оболонки наноструктури Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na/ПЕГ.

Статистична обробка ТЕМ-зображень висушеної МР дозволяє знайти математичне очікування логарифма об'єму $M(\ln V)$, СКВ логарифма об'єму ($\sigma_{\ln V}$) і густину вірогідності об'ємів ядер НЧ Fe_3O_4 :

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

Механічну густину нанокомпозитних частинок i-того інтервалу $\rho^{1234}{}_i$ розраховували за формулами :

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

$$\rho_i^{123} = \alpha_3\rho_i^{12} + (1-\alpha_3)\rho_3, \text{where } \alpha_3 = \left(\frac{d_i + 2h_2}{d_i + 2h_2 + 2h_3}\right)^3 = \left(1 + 2d_i^{-1}h_3\alpha_2^{-\frac{1}{3}}\right)^{-3}, \quad (4)$$

$$\rho_i^{1234} = \alpha_4\rho_i^{123} + (1-\alpha_4)\rho_4, \text{where } \alpha_4 = \left(\frac{d_i + 2h_2 + 2h_3}{d_i + 2h_2 + 2h_3 + 2h_4}\right)^3 = \left(1 + 2d_i^{-1}h_3\alpha_2^{-\frac{1}{3}}\alpha_3^{-\frac{1}{3}}\right)^{-3}, \quad (5)$$

де ρ_1, ρ_2, ρ_3, ρ_4 – густина магнетиту, ГА, ДР і ол.Na/ПЕГ, відповідно; ρ_i^{12}, ρ_i^{123}, ρ_i^{1234} – густина частинки i-того інтервалу НК Fe_3O_4/ГА, Fe_3O_4/ГА/ДР і Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na/ПЕГ, відповідно. Для розрахунків використовували значення $\rho_1 \approx 5{,}19$ г/см^3 [46], $\rho_2 \approx 2{,}71$ г/см^3 [47] і $\rho_3 \approx 1{,}00$ г/см^3, $\rho_4 \approx 1{,}13$ г/см^3, які були визначені експериментально. Вважали, що розподіл за розмірами НЧ Fe_3O_4 вихідного ансамблю і в його сухих залишках був ідентичним.

Розрахункове значення середньої густини НК частинок ансамблю становить:

$$\rho_{mean}^{calc} = \frac{\sum_{i=1}^{k} p_i\rho_i^{1234}\left[d_i + 2(h_2 + h_3 + h_4)\right]^3}{\sum_{i=1}^{k} p_i\left[d_i + 2(h_2 + h_3 + h_4)\right]^3} \quad (6)$$

де p_i – густина вірогідності, розрахована за формулою (2), k – кількість інтервалів варіаційного ряду діаметрів.

Масову концентрацію магнетиту в ансамблі з структурою частинок Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na +ПЕГ розраховували за формулою:

$$m_{Fe_3O_4}^{calc} = \frac{\rho_1 \sum_{i=1}^{k} p_i d_i^3}{\sum_{i=1}^{k} p_i \rho_i^{1234} \left[d_i + 2(h_2 + h_3 + h_4 - h_1) \right]^3} \quad , \tag{7}$$

Питому площу поверхні ансамблю частинок НК знаходили за формулою:

$$S_{sp}^{calk} = 6 \frac{\sum_{i=1}^{k} p_i \left[d_i + 2(h_2 + h_3 + h_4) \right]^2}{\sum_{i=1}^{k} \rho_i^{1234} \left[d_i + 2(h_2 + h_3 + h_4) \right]^3} , \tag{8}$$

Експериментальне значення масової концентрації магнетиту в ансамблі з структурою частинок Fe_3O_4/ГА/ДР/ол. Na+ПЕГ становить:

$$m_{Fe_3O_4}^{\exp} = \sigma_s^{DR4} \Big/ \sigma_s^{Fe_3O_4} \pm 2.5\ \% \tag{9}$$

де $\sigma_s^{DR4}, \sigma_s^{Fe_3O_4}$ - питомії намагніченності насичення сухого залишку МР4 і НЧ Fe_3O_4, відповідно.

Згідно моделі (рис. 12) в частинці $СЗ_1$ заповнена тільки оболонка h_4 ($h_2 = 0$, $h_3 = 0$). Результати експериментальних вимірювань та розрахунків параметрів ансамблю НЧ Fe_3O_4 і $СЗ_1$ наведено в табл. 2.

Таблиця 2. Результати експериментальних вимірювань та розрахунків параметрів ансамблю НЧ Fe_3O_4 і DR_1 (Fe_3O_4/ол.Na +ПЕГ).

Експериментальні значення					Розраховані значення			
Зразок	d_0,нм	σ_s, Гс·см^3/г	$m_{Fe_3O_4}^{\exp}$	$S_{sp}^{\exp}$, м^2/г	h_4,нм	ρ_{mean}^{calc}, г/см^3	$m_{Fe_3O_4}^{calc}$	S_{sp}^{calk}, м^2/г
Fe_3O_4	10,8	62.6±2,5%	1,00±5%	107,0±1 %	0	5,19±1 %	1,00	107,0
DR_1	10,8	36.6±2,5%	0,58±5%	161,0±1 %	3,4 ±1 %	2,07±1 %	0,58	161,0

Значення ρ_{mean}^{calc} розраховували за формулами (2)-(6), $m_{Fe_3O_4}^{calc}$ – (2)-(5), (7), S_{sp}^{calk} – (2)-(5), (8).

Як видно з табл. 2, товщина оболонки комбінованого стабілізатора ол.Na/ПЕГ у складі сухого залишку магнітної рідини Fe_3O_4/ол.Na+ПЕГ+ФР становить (3,4 ± 0,1) нм.

Для визначення товщини шару ГА досліджували ансамбль НЧ Fe_3O_4 і $МР_2$ складу Fe_3O_4/ГА/ол.Na/ПЕГ+ФР, отриману на його основі, зразки висушували при кімнатній температурі, отримували сухий залишок DR_2 та досліджували його параметри за описаною вище методикою. Знайдене значення товщини шару гідроксиапатиту h_2 в структурі Fe_3O_4/ГА/ол.Na+ПЕГ становить 3,5 ± 0,1 нм, що, на наш погляд задовільно узгоджується з величиною ~ 4 нм, визначеною незалежною методикою при дослідженнях нанокомпозитів Fe_3O_4/ГА методом фотоелектронної спектроскопії [16]. Отримані дані можуть свідчити про достовірність результатів визначення параметрів оболонок в складній наноархітектурі поліфункціональних магніточутливих нанокомпозитів.

Для визначення товщини шару ДР ансамбль наночастинок магнетиту і магнітну рідину $МР_3$ складу Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na/ПЕГ+ФР, отриману на їх основі, висушували за кімнатної температури. Висушені зразки Fe_3O_4 і сухий залишок $СЗ_3$ досліджували, як і в попередніх випадках. Знайдене значення товщини шару медичного препарату доксорубіцин h_3 в структурі Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na/ПЕГ становить 2,0 ± 0,1 нм.

Використовуючи отримані результати, та підходи, наведені в [48 - 50], було отримано оцінки седиментаційної стійкості МР на основі магнетиту, ГА та ДР.

Так, висота, на якій концентрація частинок у МР змінюється у *e* раз і характеризує термодинамічну седиментаційну стійкість колоїдної системи [48] (гіпсометрична висота), складає $L = 2{,}4 \pm 8$ % см, а час встановлення стану дифузійно-седиментаційної рівноваги, при якому розподіл частинок по висоті посудини підкоряється гіпсометричному закону, становить дев'ять років і більше.

Наведені в цій роботі результати експериментальних досліджень і розрахунків, їх перевірка різними способами і порівняння свідчать, що використовуючи ансамблі магнітних носіїв у якості суперпарамагнітного зонда та теорію парамагнетизму Ланжевена, можна оцінити розміри компонентів складної оболонкової структури нанокомпозитів. Отримані дані можуть бути корисними при оптимізації хімічного складу, структури та властивостей нових магнітних рідин та адсорбентів, що містять магніточутливі нанокомпозити зі складною будовою оболонки [7, 8].

Синтез гадолінійвмісних магніточутливих нанокомпозитів для нейтронозахопної терапії

Розробка наукових підходів до вирішення проблеми впровадження магнітокерованих поліфункціональних нанокомпозитів у нейтронозахопну терапію (НЗТ) є, безперечно, доцільним та актуальним завданням, оскільки вони можуть стати основою для створення нових типів малотоксичних селективних лікарських засобів із додатковими функціями магнітокерованої спрямованої доставки до органів- або клітин-мішеней і депонування, гіпертермії та комбінованої T_1-, T_2-МРТ-діагностики у режимі реального часу [6, 51 - 61].

У працях [56 - 61] розроблено методики синтезу та досліджено властивості нових типів нанокомпозитів на основі монодоменного магнетиту, зокрема:

- Fe_3O_4/γ-АПС/ДТПК/Gd – ковалентною іммобілізацією на поверхні Fe_3O_4 діетилентриамінпентаоцтової кислоти (ДТПК) у комплексах з іонами Gd^{3+};

- Fe_3O_4/ДМСК/Gd — модифікуванням поверхні магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою, до карбоксильних і сульфогідрильних функціональних груп якої приєднано іони Gd^{3+};

- Fe_3O_4/ДМСК/карборан – модифікуванням поверхні магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою з подальшою функціоналізацією орто-тіокарбораном за реакцією тіол-дисульфідного обміну;

- $Fe_3O_4/GdBO_3$ – модифікуванням поверхні магнетиту боратом гадолінію $GdBO_3$, що утворюється в результаті взаємодії іонів Gd^{3+} із гідратованими аніонами бору $[B_4O_5(OH)_4]_2^-$, з подальшим гідролізом до $GdBO_3$; нанокомпозити цього типу одночасно містять бор і гадоліній, можуть поєднувати функції неорганічного сцинтилятора й нейтронозахопного агента.

- Fe_3O_4/хітозан/Gd – модифікуванням поверхні магнетиту хітозаном з наступною адсорбційною іммобілізацією Gd; нанокомпозити цього типу можуть містити значну кількість гадолінію.

Вказані нанокомпозити синтезовано з компонентів, що характеризуються задовільною біосумісністю. Їх будову і властивості вивчено комплексом фізико-хімічних методів [56-61].

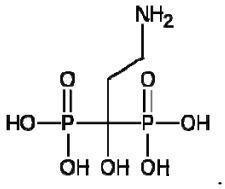
З метою синтезу поліфункціональних магніточутливих НК з високою біосумісністю до кісткових тканин, перспективних для використання в НЗТ, розроблено нову методику [62] іммобілізації комплексу ДТПК-Gd на поверхні НК Fe_3O_4/ГА.

Важливим етапом у розробці шляху модифікування є підбір спейсера, здатного зв’язуватись з ГА. Молекула-спейсер повинна відповідати таким критеріям: селективно

зв’язуватися з поверхнею ГА, мати вільні NH_2–групи після закріплення на поверхні ГА, характеризуватись біосумісністю.

Усім трьом критеріям відповідає добре вивчений клас органічних сполук – амінобісфосфонати. Відомо, що амінобісфосфонати використовуються для профілактики та лікування остеопорозу, оскільки вони пригнічують резорбцію кісткової тканини.

Завдяки наявності фосфонових груп, препарати цього класу міцно зв’язуються з ГА та чинять терапевтичний ефект. Для досліджень була обрана одна з найпростіших і комерційно доступних сполук цього класу – памідронова кислота (ПК):



Адсорбція памідронату на поверхні ГА відбувається за рахунок утворення водневих зв’язків між протонами аміногруп і гідроксильних груп на поверхні та координування атома кальцію і фосфатних груп. Тому, у памідронату спостерігається висока спорідненість і міцний зв'язок з поверхнею ГА і отриманий нанокомпозит Fe_3O_4/ГА/ПК може бути надійною основою для подальшого закріплення необхідних лігандів.

Схематично модель поверхні ГА, модифікованого памідроновою кислотою, наведено на рис. 13.

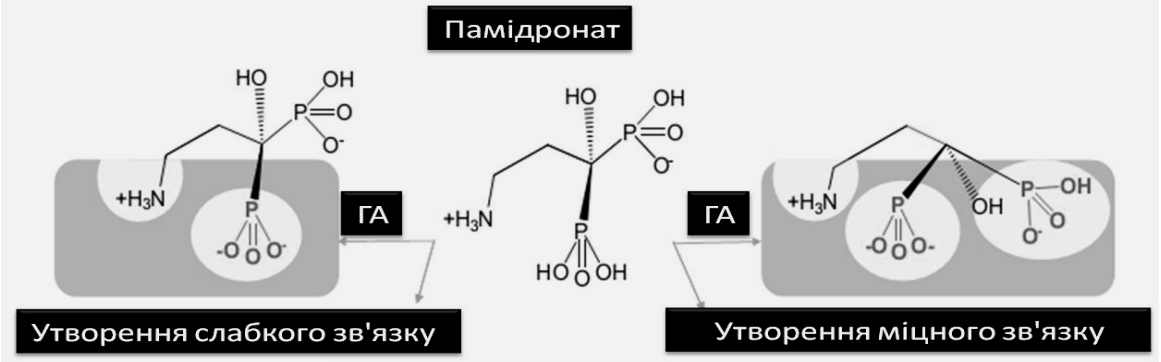


Рис. 13. Модель поверхні ГА, модифікованого памідроновою кислотою.

Внаслідок реакції між групами $–NH_2$ памідронової кислоти та ангідридом ДТПК одержували НК Fe_3O_4/ГА/ПК/ДТПК. В подальшому, вільні карбоксильні групи на поверхні НК Fe_3O_4/ГА/ПК/ДТПК утворюють міцні комплекси з йонами гадолінію з утворенням НК Fe_3O_4/ГА/ПК/ДТПК/Gd^{3+} (рис. 14).

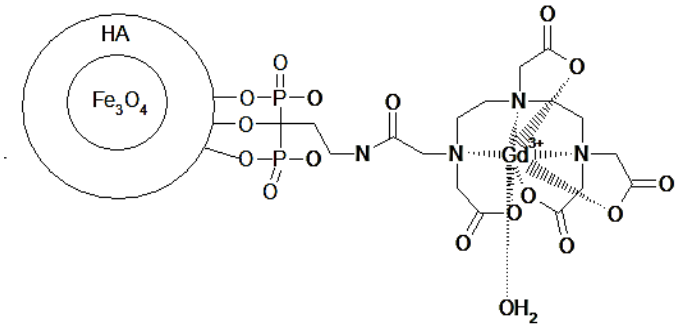


Рис. 14. Схема нанокомпозиту Fe_3O_4/ГА/ПК/ДТПК/Gd^{3+}.

Загалом схема утворення нанокомпозиту наведена на рис. 15.

Структуру НК Fe_3O_4/ГА/ПК/ДТПК/Gd^{3+} досліджено комплексом фізико-хімічних методів на всіх стадіях його синтезу, дослідження біосумісності НК Fe_3O_4/ГА/ПК/ДТПК/Gd^{3+} *in vitro* здійснено на модедьних клітинах [62]. Зроблено висновок про перспективність синтезованих магніточутливих НК для подальших досліджень з метою створення засобів терапії онкологічних захворювань нейтронзахоплювальним методом.

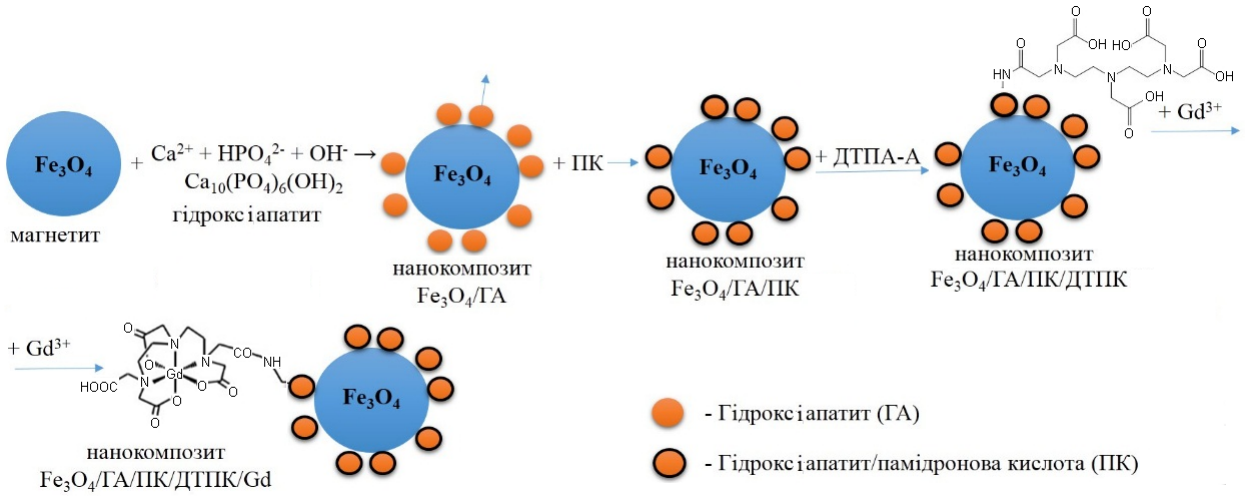


Рис. 15. Схема утворення НК Fe_3O_4/ГА/ПК/ДТПК/Gd^{3+}.

Адсорбція гемцитабіну на поверхні магнетиту та НК Fe_3O_4/ГА

Як відомо [63], гепатоцелюлярна карцинома (ГЦК) є високолетальним видом раку. ГЦК є другою за частотою серед найбільш поширених причин смерті від раку у світі – 745 000 пацієнтів помирають від цієї хвороби щорічно. Захворюваність на ГЦК продовжує зростати, наприклад, в США протягом останніх тридцяти років захворюваність і смертність від ГЦК потроїлася. Підходи до лікування ГЦК залежать від стадії захворювання на момент встановлення діагнозу і від доступності комплексних методів терапії. Проте, захворювання в пізніх стадіях є проблематичним, його ведення дороге і ефективне тільки відносно збільшення показника «якісно забезпечених років життя». Прогноз при ГЦК, зазвичай, вкрай несприятливий.

Сучасні варіанти лікування ГЦК, такі як хірургічна резекція печінки, пересадка печінки та локорегіональна терапія, включаючи радіочастотну абляцію та трансартеріальну хемоемболізацію, обмежуються дуже ранніми стадіями захворювання і не можуть попередити рецидив. Крім того, більшість пацієнтів (>80 %) перебувають на останніх або неоперабельних стадіях раку і ефективних варіантів лікування таких хворих практично не існує. Для таких випадків застосовувалась локалізована і систематична радіотерапія одночасно із хіміотерапією, але з обмеженим успіхом.

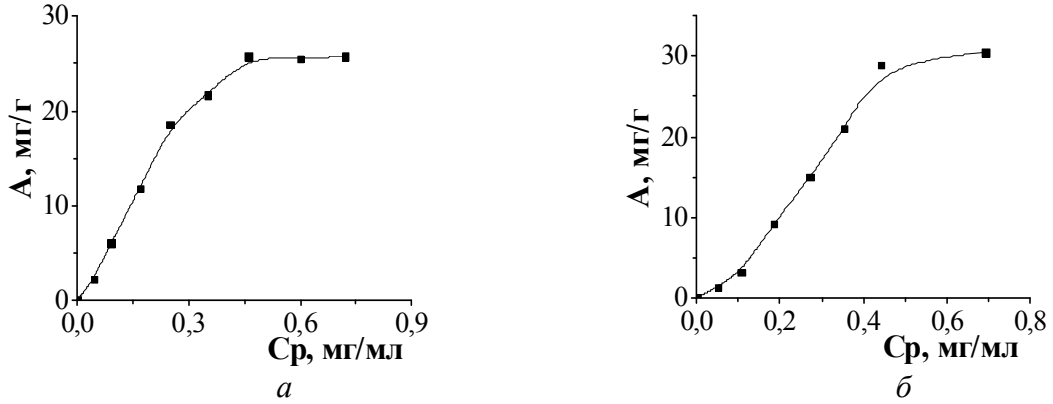
Внутрішньопечінкова холангіокарцинома (ВПХК) – злоякісна пухлина жовчних протоків [64]. Основний метод лікування ВПХК – оперативний. Повне хірургічне видалення пухлини для лікування ВПХК потенційно може використовуватись для лікування, але прогноз залишається несприятливим через часті рецидиви і метастазування пухлин після операції. Хіміотерапія і радіотерапія використовуються в комплексі з хірургічним методом або як паліативне лікування.

Як видно з наведених даних, ГЦК і ВПХК є дуже важкими захворюваннями, а перспективи лікування є вкрай неоптимістичними. Однак, у спеціалізованих науково-

лікувальних центрах розвинених країн провадяться цілеспрямовані дослідження з метою пошуку шляхів подолання проблеми. Так, наприклад, в одному із підходів, обраних у департаменті гастроентерології, гепатології і ендокринології Hannover Medical School (MHH), Hannover, Germany, планується використання магніточутливих нанокомпозитів, модифікованих хіміо- і імунотерапевтичними лікарськими препаратами та локальних методів терапії [65 - 67].

Наведені дані свідчать, що завдання синтезу нових поліфункціональних магніточутливих наноструктур, здатних до цільової доставки в пухлини ГЦК та ВПХК лікарського препарату хіміотерапевтичного механізму дії є актуальним як з наукової, так і практичної точок зору.

Вивчено адсорбційні характеристики поверхонь синтезованих нанокомпозитів щодо гемцитабіну. Результати побудованих ізотерми адсорбції ГЦ надані на рис. 16, *а, б*.



а *б*

Рис. 16. Ізотерми адсорбції гемцитабіну на поверхні магнетиту (*а*) та композитів Fe_3O_4/ГА (*б*).

Одержані результати свідчать про залежність адсорбційної ємності поверхні досліджених зразків від хімічної природи їх поверхні. Зростання рівноважної концентрації ГЦ прагне до адсорбційного насичення поверхні Fe_3O_4/ГА, а Fe_3O_4 майже виходить на насичення.

На поверхні композиту Fe_3O_4/ГА при малих концентраціях спостерігається слабка взаємодія з поверхнею, яка потім починає різко зростати при збільшенні коцентрації адсорбату. Спорідненість до поверхонь висока.

Поверхні досліджених НК характеризуються досить близькими значеннями адсорбційних параметрів (A = 25 - 30 мг/г). Це може бути обумовлено подібним характером природи їх поверхні та механізмів адсорбції. Ступінь вилучення R (%) складає 20 – 25 % (табл. 3).

Таблиця 3. Характеристики адсорбції гемцитабіну на поверхні наноструктур за умовами: C_0 = 0,8 мг/мл, g =0,03 г , V = 5 мл, pH = 7,0.

Наноструктура	A, мг/г	R, %
Fe_3O_4	25,8	20,3
Fe_3O_4/ГА	30,5	38,2

Результати експериментальних досліджень свідчать, що синтезовані нанокомпозити є перспективними для використання в якості адсорбційних матеріалів при інтракорпоральної (ентеросорбція) та екстракорпоральної детоксикації.

Магнітні властивості синтезованих наноструктур досліджували за методиками [17]. Ідея досліджень ґрунтується на використанні суперпарамагнітного носія у якості зонда для визначення параметрів та контролю наноструктур складної будови.

Виміряні петлі гістерезису частинок магнетиту, та композитів з імобілізованим гемцитабіном, наведені на рис. 17.

Значення σ_s вказують на наявність оболонки у композитів у порівнянні з магнетитом. Використовуючи модель НК типу ядро-багатошарова оболонка та методики розрахунків [16, 17], експериментально знайдені значення середнього розміру ядер Fe_3O_4 (d_0), питомої намагніченності насичення (σ_s), масової концентрації Fe_3O_4 у НК (α_{Fe3O4}^{calc}), питомої поверхні НК ($S_{sp\ exp}$) знаходили середнє значення товщини адсорбованого шару ГЦ у складі НК Fe_3O_4/ГЦ, що становить 2,4±0,1 нм. Вважаючи товщину шару ГЦ рівною 2,4 нм в усіх досліджених наноструктурах, знаходили значення товщини шару гідроксиапатиту в структурі НК Fe_3O_4/ГА/ГЦ (3,5±0,1 нм), що задовільно узгоджується з даними [17] (~ 4 нм).

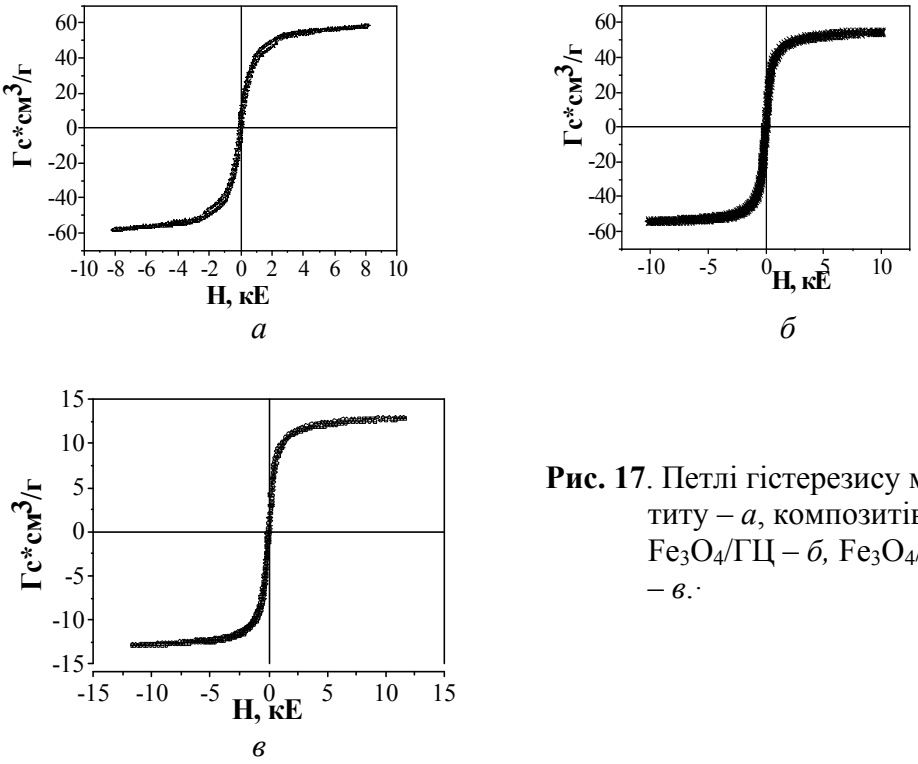


Рис. 17. Петлі гістерезису магнетиту – *а*, композитів Fe_3O_4/ГЦ – *б,* Fe_3O_4/ГА/ГЦ – *в*.·

В табл. 4 наведено магнітні характеристики магнетиту та НК з адсорбованим гемцитабіном, отриманих з експериментальних петель гістерезису.

Таблиця 4. Магнітні характеристики магнетиту та композитів з адсорбованим гемцитабіном.

№	Зразок	H_c, кЕ	σ_s, Гс·см^3/г	$\sigma_{H=8\ кЕ}$, Гс·см^3/г	σ_r, Гс·см^3/г	σ_r/σ_s	α_{Fe3O4}^{calc}, %
1	Fe_3O_4	0,081(7)	60,1	58,4	7,28	0,121	100
2	Fe_3O_4/ГЦ	0,079(9)	55,8	54,2	5,66	0,101	92,8
3	Fe_3O_4/ГА/ГЦ	0,085(9)	14,2	13,5	4,16	0,118	23,6

В таблиці: H_c, кЕ – коерцитивна сила; σ_s, Гс·см^3/г – питома намагніченість насичення; $\sigma_{H=8\ кЕ}$, Гс·см^3/г – питома намагніченність у полі 8 кЕ; σ_r, Гс·см^3/г – залишкова питома намагніченість, σ_r/σ_s – відносна залишкова намагніченість, α_{Fe3O4}^{calc} – розрахована масова концентрація Fe_3O_4 у НК, %.

Зазначимо, що користуючись методиками [16, 17], можна розрахувати: густину оболонки ρ, функцію $h(d)$, де h, d – товщина оболонки і діаметр НЧ Fe_3O_4, відповідно, питому площу поверхні зразків, а також знайти ρ і $h(d)$ при яких ансамблі НК володіють максимальною питомою поверхнею. Такі дані можуть бути актуальними для аналізу лікарських магнітокерованих систем, перспективних для використання в онкотерапії.

Наведені дані свідчать, що синтезовані магнітокеровані НК є перспективними для продовження цілеспрямованих досліджень з метою створення нової нанотехнології для онкології, що ґрунтується на використанні поліфункціональних наноструктур, здатних до розпізнавання пухлин ГЦК та ПХК, цільової доставки до них лікарських препаратів хіміотерапевтичного та імунотерапевтичного механізму дії та депонування з додатковими функціями гіпертермічної терапії та магнітно-резонансної томографічної діагностики в режимі реального часу.

Біоміметичний підхід для покриття поверхні магнетиту гідроксиапатитом

В роботах [68 - 71] розглянуто біоміметичний підхід для покриття поверхні титану та його сплавів гідроксиапатитом. Розроблено метод модифікування поверхні органічними модифікаторами для створення функціональних груп на поверхні, з наступним формуванням біоміметичного гідроксиапатиту методом самозбірки в модельній фізіологічній рідині. Проведено порівняльне дослідження формування гідроксоапатиту на поверхні титанвмісних пластин, модифікованих різними функціональними групами: Ti(≡OH), Ti/(≡Si-OH) та Ti/(≡COOH). Встановлено, що найближче значення співвідношення Ca/P отримано на поверхні зразків Ti/(≡COOH).

Вказаний підхід є перспективним для для створення НК Fe_3O_4/ГА з покращеною біосумісністю і потребує цілеспрямованого вивчення.

Напрями практичного використання результатів досліджень

З метою практичного використання отриманих результатів та впровадження відповідних розробок [4, 29, 72 - 76] створено тимчасовий технологічний регламент на виробництво речовини «Магнетит У» [77], яка є нанорозмірним монодоменним Fe_3O_4 та може слугувати субстанцією для створення нового покоління поліфункціональних онкологічних лікарських засобів адресної доставки та локальної терапії комбінованими методами, влючаючи хіміо- та імунотерапевтичний, радіологічний нейтронзахопний та інші [6]. Розроблено також тимчасовий технологічний регламент на виробництво магнітної рідини [78]. Регламенти передано на Калуський дослідно-експериментальний завод ІХП НАН України.

Технологічна методика синтезу вектроної системи – магнітокерованої лікарської форми хіміотерапевтичної дії онкологічного призначення на основі магнітних рідин, що містять нанорозмірний однодоменний магнет з модифікованою поверхнею та лікарський цитостатичний препарат, складається з етапів, які наведені на схемі рис. 18.

Рис. 18. Схема технології одержання магнітокерованої лікарської форми.

Встановлено, що ефективність лікарських форм на основі магнітної рідини в застосуванні in vitro, in vivo становить ~150–200% порівняно з традиційним використанням цисплатину в терапевтичних дозах.

На кожному етапі синтезу магнітної рідини на основі нанорозмірного Fe_3O_4 для нової форми цитостатичного лікарського засобу здійснювали контроль фізико-хімічних і магнітних властивостей розроблених зразків колоїдних систем.

Для контролю параметрів використано методи рентгенофазового аналізу, термогравіметричного аналізу, рентгенівської фотоелектронної спектроскопії, трансмісійної електронної мікроскопії, вібраційної магнітометрії та ін. Отримані дані стали основою стандартизації параметрів магнітних рідин, що є важливим для організації їх виробництва.

Дослідженнями встановлено, що за даними магнітних вимірювань можливе визначення з високою достовірністю розмірних параметрів нанокомпозитних частинок в синтезованих МР. Встановлено оптимальні значення розмірних і магнітних характеристик магнітного носія, однодоменного магнетиту (Fe_3O_4), та параметри для їх стандартизації. Фізичні параметри магнітної рідини з оптимізованими властивостивостями для одержання магнітокерованої лікарської форми, надані у табл. 5.

Таблиця 5. Фізичні параметри оптимізованої магнітної рідини при T=300 К.

Назва властивості та одиниця вимірювання	**Значення фізичної величини**
Концентрація магнетиту, мг/мл	14
Розмір частинок магнетиту, нм	4 – 22
Середній розмір частинок магнетиту, нм	10,8
Середній розмір частинок магнетиту, стабілізованих олеатом натрію, нм	16,8
Намагніченість насичення M_s, Гс	14,1 ± 2,5 %
Гіпсометрична висота, см	25 ± 10 %
В'язкість η, мПа·с	1,14 ± 3 %
Густина $\rho_{МР}$, г/см^3	1,14 ± 1,0 %

Отримані результати розвивають фізико-хімічні основи розробки субстанції нових типів векторних систем протипухлинних препаратів на основі МР для застосування в онкології та використані як метод оптимізації, стандартизації та контролю їх параметрів в процесі виробництва. Крім того, результати цієї роботи можуть бути використані в розробках нових магнітокерованих сорбційних матеріалів технічного, технологічного,

екологічного та медико-біологічного призначення, виробництві медичних тест-систем тощо.

Слід зазначити, що дослідження, відображені в цій роботі, в значній мірі отримали розвиток у зв'язку з виконанням комплексних наукових програм з нанотематики НАН України. Крім наукового, практичного та методологічного, дослідження з нанотематики мають ще й навчальне значення, зокрема важливим завданням є підготовка студентів та спеціалістів вищої кваліфікації відповідних спеціальностей [79]. Тому матеріали вищеокреслених досліджень у повнішому обсязі увійшли в навчальні посібники [80, 81], кандидатські дисертації [82-86], а також у монографії [87, 88] що, по суті, є їх впровадженням у вітчизняний освітній процес (аспірантура ІХП ім. О.О. Чуйка, кафедра біоінформатики НТУУ «КПІ ім. Ігоря Сікорського», кафедра фізики функціональних матеріалів КНУ ім. Тараса Шевченка та ін.).

Висновки

Виконано огляд досліджень, спрямованих на розвиток концепції створення магніточутливих нанокомпозитів з багаторівневою ієрархічною наноархітектурою типу ядро-оболонка та функціями медико-біологічних нанороботів на основі однодоменного магнетиту, поверхня якого модифікована гідроксиапатитом.

Встановлено, що такі наноструктури характеризуються біосумісністю з організмом людини, відсутністю мутагенності та задовільними, з точки зору реалізації методу адресної доставки лікарських засобів та локальної терапії, магнітними характеристиками. Вивчено процеси адсорбційної іммобілізації хіміотерапевтичних препаратів (цисплатину, доксорубіцину) та нормального імуноглобуліну людини (як моделі антитіла – імунотерапевтичного препарату) на поверхні нанокомпозитів. Наведено дані щодо синтезу нових поліфункціональних магніточутливих наноструктур, перспективних для цільової доставки в пухлини гепатоцелюлярної карциноми та внутрішньопечінкової холангіокарциноми лікарського препарату хіміотерапевтичного механізму дії гемцитабін та депонування за допомогою магнітного поля з додатковими функціями гіпертермічної терапії та магнітно-резонансної томографічної діагностики в режимі реального часу. Показано, що модифікована гідроксиапатитом поверхня магніточутливих носіїв Fe_3O_4 здатна до адсорбційної іммобілізації онкологічних лікарських засобів різних механізмів дії та до їх вивільнення в середовищі фізіологічної рідини без зміни терапевтичної активності.

На прикладі магнітної рідини Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na/ПЕГ+ФР, що містить дисперсійну фазу – фізіологічний розчин (ФР), суперпарамагнітні носії Fe_3O_4 з модифікованою гідроксиапатитом (ГА) поверхнею та іммобілізованим лікарським препаратом доксорубіцин (ДР), комплексний стабілізатор на основі олеату натрію та поліетиленгліколю (ол.Na/ПЕГ), розвинено метод магнітної гранулометрії, застосовний до нанокомпозитів типу суперпарамагнітне ядро – оболонка зі складною багаторівневою структурою. Наведені результати експериментальних досліджень і розрахунків, їх перевірка різними способами і порівняння з літературними даними свідчать, що використовуючи ансамблі магнітних носіїв у якості суперпарамагнітного зонда та теорію парамагнетизму Ланжевена можна оцінити розміри компонентів складної оболонкової структури нанокомпозитів. Отримані дані можуть бути корисними при оптимізації хімічного складу, структури та властивостей нових магнітних рідин та адсорбентів на основі магніточутливих нанокомпозитів зі складною будовою оболонки.

Відпрацьовано наукові підходи щодо впровадження магнітокерованих поліфункціональних нанокомпозитів Fe_3O_4/ГА, модифікованих іонами гадолінію, у нейтронозахопну терапію. Показано їх перспективність для створення нових типів малотоксичних селективних нейтронозахопних лікарських засобів із додатковими

функціями магнітокерованої спрямованої доставки до органів- або клітин-мішеней і депонування, гіпертермії та комбінованої T_1-, T_2-МРТ-діагностики у режимі реального часу.

Наведено основи синтезу нових векторних систем – магнітокерованих лікарських форм хіміотерапевтичної дії онкологічного призначення на основі магнітних рідин, що містять нанорозмірний однодоменний магнетит з модифікованою поверхнею та лікарський цитостатичний препарат. Показано, що за даними магнітних вимірювань можливе визначення з високою достовірністю розмірних параметрів векторних систем, що може бути використано для їх стандартизації та контролю параметрів в процесі виробництва.

Робота виконана при підтримці цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України «Фундаментальні проблеми створення нових наноматеріалів і нанотехнологій» на 2015-2019 р.р. (проект № 38/18-н). Публікація містить результати досліджень, проведених при грантовій підтримці Державного 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. Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур / Под ред. А.П. Шпака П.П. Горбика. – К.: Наукова думка, 2007. – Т. 1. – 428 с.
3. Nanomaterials and Supramolecular Structures: Physics, Chemistry, and Applications (Eds. A.P. Shpak, P.P. Gorbyk) – Springer, 2009. – P. 63.
4. Горбик П.П., Петрановська, А.Л., Турелик М.П., Туранська С.П., Васильєва О.А., Чехун В.Ф., Лук'янова Н.Ю., Шпак А.П., Кордубан О.М. Патент на винахід № 99211 України «Нанокапсула з функціями нанороботa» від 25.07.2012 р.
5. Gorbyk P.P., Chekhun V.F. Nanocomposites of medicobiologic destination: reality and perspectives for oncology // Functional Materials. – 2012. – V. 19, No 2. – P. 145–156.
6. Горбик П.П. Нанокомпозити з функціями медико-біологічних нанороботів: синтез, властивості, застосування // Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. – 2013. – Т. 11, № 2. – С. 323–436.
7. 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.
8. 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.
9. Wahajuddin S.A. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers // Int. J. Nanomedicine. – 2012. – V. 7. – P. 3445–3471.
10. 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.

11. Tomohiro Iwasaki. Mechanochemical synthesis of magnetite/hydroxyapatite nanocomposites for hyperthermia // Materials Science - Advanced Topics (Ed. Yitzhak Mastai). – 2013. – Chapter 8. – P. 175–194.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Davaran S., Alimirzalu S., Nejati-Koshki K., Nasrabadi H.T., Akbarzadeh A., Khandaghi A.A., Abbasian M., Alimohammadi S. Physicochemical characteristics of Fe_3O_4 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.
16. Petranovska A.L., Abramov N.V., Turanska S.P., Gorbyk P.P., Kaminskiy A.N., Kusyak N.V. Adsorption of cis-dichlorodiammineplatinum by nanostructures based on single-domain magnetite // J. Nanostruct. Chem. – 2015. – V. 5. – P. 275–285.
17. Abramov N.V., Turanska S.P., Kusyak 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. Туранська С.П., Кусяк А.П., Петрановська А.Л., Горобець С.В., Туров В.В., Горбик П.П. Цитотоксична активність магнітокерованих нанокомпозитів на основі доксорубіцину на прикладі клітин *Saccharomyces cerevisiae* // Хімія, фізика та технологія поверхні. – 2016. – Т. 7, № 2. – С. 236–245.
22. Wagner C.D., Moulder J.F., Davis L.E., Riggs W.M. Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy. New York: Perking-Elmer Corp., 1979. – 234 p.
23. Абрамов М.В., Кусяк А.П., Камінський О.М., Туранська С.П., Петрановська А.Л., Кусяк Н.В., Туров В.В., Горбик П.П. Синтез та властивості магніточутливих поліфункціональних нанокомпозитів для застосування в онкології // Поверхность. – 2017. – Вып. 9(24). – С. 165–198.
24. Скворцов А.Н. Эффективный метод анализа спектров оптического диапазона в исследованиях кинетики реакций // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 3. – С. 229–238.
25. Raghavan R., Cheriyamundath 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.

26. 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, No 7.
27. Горбик П.П., Туров В.В. Наноматериалы и нанокомпозиты в медицине, биологии, экологии (Ред. А.П. Шпак, В.Ф. Чехун) – Киев: Наук. думка, 2011. – 444 с.
28. Bruijnincx P.C., Sadler P.J. New trends for metal complexes with anticancer activity // Curr. Opin. Chem. Biol. – 2008. – V. 12. – P. 197–206.
29. Пат. 112490, Україна, Протипухлинний феромагнітний нанокомпозит / 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.
30. Shen X., Liang H., Guo J. H., Song C. // *J. Inorg. Biochem*. – 2003. – V. 95, N 2-3. – P. 124.
31. Горбик П.П., Міщенко В.М., Петрановська А.Л. та ін. Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. – Київ: РВВ ІМФ, 2009. – Т. 6, № 4 – 1273 с.
32. Туранская С.П., Четыркин А.Д., Дубровин И.В. и др., Синтез, свойства и применение в экспериментальной медицине и биологии магниточувствительных нанокомпозитов, содержащих благородные металлы // Поверхность. Сб. науч. тр. – 2011. – Вып. 3 (18). –С. 343–366.
33. Hermanson G. T. Bioconjugate Technigues. – Academic Press, 2008. – 1202 p.
34. Doxorubicin hydrochloride, European Pharmacopoeia. Sixth Edition, 2005. – P. 1389-1390.
35. 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. – P. 9557–9566.
36. Kule C, Ondrejickova O, Verner K. Doxorubicin, daunorubicin, and mitoxantrone cytotoxicity in yeast. // Mol Pharmacol. – 1994. – V. 46, N 6. – P. 1234–1240.
37. Patel S, Sprung AU, Keller BA, Heaton VJ, Fisher LM. Identification of yeast DNA topoisomerase II mutants resistant to the antitumor drug doxorubicin: implications for the mechanisms of doxorubicin action and cytotoxicity. // Mol Pharmacol. – 1997. – V. 52, N 4. – P. 658–666.
38. Саенко Ю.В., Шутов А.М., Расторгуева Е.В. Доксорубицин и менадион вызывают задержку клеточной пролиферации *Saccharomyces cerevisiae* с помощью различных механизмов // Цитология. – 2010. – Т. 52, № 5. – С. 407-411.
39. Бабаева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. – Т-во науч. изд. КМК, 2004. – 239 с.
40. 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.
41. 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.
42. Абрамов Н.В. Магнитные жидкости на основе доксорубицина для применений в онкотерапии // Поверхность. Сб. научн. ст. – 2014. – Вып. 6(21). – С. 241–258.
43. 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.
44. Kaiser R., Miscolezy G. Magnetic properties of staible dispertions of subdomain magnetic particles // J. of Appl. Phys. – 1970. – V. 1, N 3. – P. 1064–1072.
45. Бибик Е.Е., Матыгуллин Б.Я., Райхер Ю.Л., Шлиомис М.И. Статические магнитные свойства коллоидов магнетита // Магнитная гидродинамика. – 1973. – № 1. – С. 68.

46. Thakur M., De K., Giri S., Si S., Kotal A., Mandal T.K. Interparticle interaction and size effect in polymer coated magnetite nanoparticles // Journal of Physics: Condensed Matter – 2006. – V. 18, N 39. – P. 9093.
47. 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.
48. Фролов Ю.Г. Курс колоїдної хімії. – М.: Хімія, 1989. – 463 с.
49. Шлиомис М.И. Магнитные жидкости // УФН. – 1974. – Т. 112, № 3. – С. 427–458.
50. Розенцвейг Р. Феррогидродинамика. – М.: Мир, 1989. – 357 с.
51. Bellin M.F. MR Contrast Agents, the Old and the New // Eur. J. Radiol. – 2006. – V. 60. – P. 314–323.
52. Caravan P. Strategies for Increasing the Sensitivity of Gadolinium Based MRI Contrast Agents // Chem. Soc. Rev. – 2006. – V. 35. – P. 512–523.
53. Lowe M.P. MR Contrast Agents: the next generation // Aust. J. Chem. – 2002. – V. 55. – P. 551–556.
54. Fukumori Y., Ichikawa H. Nanoparticles for Cancer Therapy and Diagnosis // Adv. Powder. Technol. – 2006. – V. 17. – P. 1–28.
55. Пилипчук Є.В., Горбик П.П. B- та Gd-вмісні наноматеріали і нанокомпозити для нейтронзахопної терапії // Поверхность. –2014. –Вып. 6(21). –С. 150–183.
56. Горбик П.П., Петрановская А.Л., Пилипчук Е.В. и др. Синтез магниточувствительных Gd-содержащих наноструктур // Хімія, фізика та технологія поверхні. – 2011. – Вып. 4. – С. 385–392.
57. Пилипчук Е.В., Петрановская А.Л., Горбик П.П. Синтез и свойства нанокомпозитов на основе магнетита, модифицированного диэтилентриаминпентауксусной кислотой // Наноструктур. материаловедение. – 2012. – № 3. – С. 47–53.
58. Петрановская А.Л., Турелик М.П., Пилипчук Е.В. и др. Нанокомпозиты на основе магнетита для медицины и фармации // Матеріали міжнар. конф. «Нанотехнології у фармації та медицині». – Харків, 2011. – С. 154–166.
59. Турелик М.П., Горобець С.В., Македонська А.О., Горбик П.П. Біофункціалізація нанокомпозитів на основі магнетиту, модифікованого мезо-2, 3-димеркаптосукциновою кислотою // Наук. вісті НТУУ «КПІ». – 2012. – № 1. – С. 149–154.
60. Pylypchuk I.V., Kołodyńska D., Kozioł M., Gorbyk P.P. Gd-DTPA Adsorption on Chitosan/Magnetite Nanocomposites //Nanoscale Res Lett. – 2016. – V. 11(1). – P. 168.
61. Pylypchuk I. V., Kolodynska D., Gorbyk P. P. Gd(III) Adsorption on the DTPA-functionalized chitosan/magnetite nanocomposites // Separation Science and Technology. – 2017. – P. 1–11.
62. Пилипчук Є.В., Зубчук Ю.О., Петрановська А.Л., Туранська С.П., Горбик П.П. Синтез та властивості нанокомпозитів Fe_3O_4/гідроксиапатит/памідронова кислота/ діетилентриамінпентаоцтова кислота/Gd3+ // Хімія, фізика та технологія поверхні. — 2015. – Т. 6, № 3. – С. 326—335.
63. Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК): глобальная перспектива. http://www.worldgastroentero-logy.org/UserFiles/file/guidelines/hepatocellular-carcinoma-russian-2009.pdf
64. Майстренко Н.А., Шейко С.Б., Алентьев А.В., Азимов Ф.Х. Холангиоцеллюлярный рак (особенности диагностики и лечения) // Практическая онкология. – 2008. – Т. 9, № 4. – С. 229–236.
65. Kang T.W., Yevsa T., Woller N., Hoenicke L., Wuestefeld T., Dauch D., Hohmeyer A., Gereke M., Rudalska R., Potapova A., Iken M., Vucur M., Weiss S., Heikenwalder M.,

Khan S., Gil J., Bruder D., Manns M., Schirmacher P., Tacke F., Ott M., Luedde T., Longerich T., Kubicka S., Zender L. Senescence surveillance of pre-malignant hepatocytes limits liver cancer development // Nature. – 2011. – V. 479. – P. 547–551.
66. Yevsa T., Kang T.W., Zender L. Immune surveillance of pre-cancerous senescent hepatocytes limits hepatocellular carcinoma development // Oncoimmunology. – 2012. – V. 1. – P. 398–399.
67. Dauch D., Rudalska R., Cossa G., Nault J.C., Kang T.W., Wuestefeld T., Hohmeyer A., Imbeaud S., Yevsa T., Hoenicke L., Pantsar T., Bozko P., Malek N.P., Longerich T., Laufer S., Poso A., Zucman-Rossi J., Eilers M., Zender L. A MYC-aurora kinase A protein complex represents an actionable drug target in p53-altered liver cancer // Nature Medicine. –2016.
68. Pylypchuk Ie.V., Gorbyk P. P., Petranovska A.L., Korduban O.M., Markovsky P.E., Ivasyshyn O.M. Formation of biomimetic hydroxyapatite coatings on the surface of titanium and Ti-containing alloys: Ti–6Al–4V and Ti–Zr–Nb // Surface Chemistry of Nanobiomaterials. Applications of Nanobiomaterials – 2016. – V. 3. – P. 193–229.
69. Pylypchuk Ie., Petranovskaya A., Gorbyk P., Korduban A., Markovsky P., Ivasishin O. Biomimetic Hydroxyapatite Growth on Functionalized Surfaces of Ti-6Al-4V and Ti-Zr-Nb Alloys // Nanoscale Research Letters. – 2015. – V. 10. – P. 338–345.
70. Pylypchuk I.V., Petranovska A.L., Turelyk M.P., Gorbyk P.P. Formation of Biomimetic Hydroxyapatite Coating on Titanium Plates // Mat. Science (Med.). – 2014. – V. 20, N 3. – P. 328–332.
71. Петрановская А.Л., Турелик М.П., Пилипчук Е.В., Горбик П.П., Кордубан А.М., Ивасишин О.М. Формирование биомиметического гидроксиапатита на поверхности титана // Металлофизика и новейшие технологи. – 2013. – Т. 35, №11. – С. 1567–1584.
72. Pylypchuk Ie.V., Abramov M.V., Petranovska A.L., Turanska S.P., Budnyak T.M., Kusyak N.V., Gorbyk P.P. Multifunctional Magnetic Nanocomposites on the Base of Magnetite and Hydroxyapatite for Oncology Applications // Nanochemistry, Biotechnology, Nanomaterials, and Their Applications. Selected Proceedings of the 5th International Conference Nanotechnology and Nanomaterials (NANO 2017) (Aug. 23–26, 2017, Chernivtsi, Ukraine.) – P. 35–47.
73. Пат. 100210 Україна, B32B 5/16. Спосіб одержання магнітного шаруватого матеріалу / Семко Л.С., Горбик П.П., Хуторний С.В. – Опубл. 26.11.2012. Бюл. № 22.
74. Пат. 78448 Україна, H01F 1/28, C01G 49/08. Магнітна рідина / Горбик П.П., Петрановська А.Л., Абрамов М.В., Турелик М.П., Пилипчук Є.В., Васильєва О.А. – Опубл. 25.03.2013. Бюл. № 6.
75. Пат. 78473 Україна, H01F 1/28, A61K 47/02, C01G 49/08. Магнітна протипухлинна рідина / Патон Б.Є., Горбик П.П., Петрановська А.Л., Турелик М.П., Абрамов М.В., Васильєва О.А., Чехун В.Ф., Лук'янова Н.Ю. – Опубл. 25.03.2013. Бюл. № 6.
76. Протипухлинний нанокомпозит «Фероплат». http://files.nas.gov.ua/NAS Developments Book/PDF/0760.pdf
77. Свідоцтво про реєстрацію авторського права 46056 ТТР 03291669.012:2012. Тимчасовий технологічний регламент на виробництво речовини „Магнетит-У" / Горбик П.П., Абрамов М.В., Петрановська А.Л., Турелик М.П., Васильєва О.А.. Опубл. 07.09.2012.
78. Свідоцтво 58159 на ТТР (технологічний регламент) 03291669.017:2014 на виробництво магнітної рідини / Горбик П.П., Абрамов М.В., Петрановська А.Л., Пилипчук Є.В., Васильєва О.А. Опубл. 20.01.2015.
79. Цільова комплексна програма фундаментальних досліджень «Наноструктурні системи, наноматеріали, нанотехнології». – К., 2010. – 191 с.

80. Горбик П.П., Горобець С.В., Турелик М.П., Чехун В.Ф., Шпак А.П. Біофункціоналізація наноматеріалів і нанокомпозитів: навч. посіб. – Київ: Наукова думка, 2011. – 294 с.
81. Горбик П.П., Турелик М.П., Горобець С.В., Горобець О.Ю., Дем'яненко І.В. Біофункціоналізовані наноматеріали і нанокомпозити. Наукові основи та напрями застосування, Електронний навчальний посібник, Надано гриф Рекомендовано Методичною радою НТУУ «КПІ». Свідоцтво НМУ № Е 12/13-090 від 21.02.2013, протокол № 6, тип носія CD диск, фізичний формат запису – документ MS Word, MS DOS
82. Сторожук Л.П. Синтез та властивості поліфункціональних магніточутливих нанокомпозитів: Автореф. дис. … канд. хім. наук / ІХП ім. О.О. Чуйка НАН україни. – Київ, 2007. – 21 с.
83. Турелик М. П. Хімічне конструювання наноструктур з функціями медико-біологічних нанороботів: Автореф. дис. … канд. хім. наук / ІХП ім. О.О. Чуйка НАН України. – Київ, 2012. – 24 с.
84. Пилипчук Є. В. Синтез та властивості магніточутливих гадолінійвмісних нанокомпозитів: Автореф. дис. … канд. хім. наук/ ІХП ім. О.О. Чуйка НАН України. – Київ, 2013. – 22 с.
85. Камінський О.М. Адсорбційна іммобілізація цис-дихлордіамінплатини та йонних форм важких металів наноструктурами з різною природою поверхні. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 01.04.18 «Фізика і хімія поверхні» (102 хімія) / Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України. – Київ, 2018. – 188 с.
86. Кусяк А.П. Адсорбційна активність поверхні в концепції багаторівневих нанокомпозитів з функціями нанороботів. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 01.04.18 «Фізика і хімія поверхні» (102-хімія) / Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України. – Київ, 2018. – 208 с.
87. Уварова І.В., Горбик П.П., Горобець С.В., Іващенко О.А., Ульянченко Н.В., Наноматеріали медичного призначення (Ред. В. В. Скороход). – Київ: Наукова думка, 2014. – 415 с.
88. Горобець С.В., Горобець О.Ю., Горбик П.П., Уварова І.В.. Функціональні біо- та наноматеріали медичного призначення. – Київ: Кондор, 2018. – 479 с.

References

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. **14**(9): 3715.
2. Shpak A.P., Gorbyk P.P. *Physical chemistry of nanomaterials and supramolecular structures*. (Kyiv: Naukova Dumka, 2007). [in Russian].
3. Shpak A.P., Gorbyk P.P. *Nanomaterials and Supramolecular Structures: Physics, Chemistry, and Applications.* (Springer, 2009).
4. Patent UA 99211. Gorbyk P.P., Petanovskaya A.L., Turelik M.P., Turanska S.P., Vasilieva O.A., Chekhun V.F., Lukyanova N.U., Shpak A.P., Korduban O.M. Nanocapsule with functions of nanorobot. 2012. [in Ukrainian].
5. Gorbyk P.P., Chekhun V.F. Nanocomposites of medicobiologic destination: reality and perspectives for oncology. *Funct. Mater.* 2012. **19**(2): 145.
6. Gorbyk P.P. Nanocomposites with Functions of Biomedical Nanorobots: Synthesis, Properties, Application. *Nanosystems, Nanomaterials, Nanotechnologies*. 2013. **11**(2): 323. [in Ukrainian].

7. Gorbyk P.P., Lerman L.B., Petranovska A.L., Turanska S.P. Magnetosensitive nanocomposites with functions of medico-biological nanorobots: Synthesis and properties. In: *Advances in Semiconductor Research: Physics of Nanosystems, Spintronics and Technological Applications*. 2014. P. 161.
8. 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*. V. 1. 2016. P. 289.
9. Wahajuddin S.A. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers. *Int. J. Nanomedicine.* 2012. **7**: 3445.
10. Huang C., Zhou Y., Tang Z., Guo X., Qian Z., Zhou S. Synthesis of multifunctional Fe_3O_4 core/hydroxyapatite shell nanocomposites by biomineralization. *Dalton Trans.* 2011. **40**(18): 5026.
11. Tomohiro Iwasaki. Mechanochemical synthesis of magnetite/hydroxyapatite nanocomposites for hyperthermia. *Materials Science - Advanced Topics*. 2013. P. 175.
12. Gopi D., Thameem Ansari M., Shinyjoy E., Kavitha L. Synthesis and spectroscopic characterization of magnetic hydroxyapatite nanocomposite using ultrasonic irradiation. *Spectrochim. Acta. Part A.* 2012. **87**: 245.
13. 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. **21**(8): 2365.
14. Feng C., Chao L., Ying-Jie Z., Xin-Yu Zhao, Bing-Qiang L., Jin W. Magnetic nanocomposite of hydroxyapatite ultrathin nanosheets/Fe_3O_4 nanoparticles: microwave-assisted rapid synthesis and application in pH-responsive drug release. *Biomater. Sci.* 2013. **1**(10): 1074.
15. Davaran S., Alimirzalu S., Nejati-Koshki K., Nasrabadi H.T., Akbarzadeh A., Khandaghi A.A., Abbasian M., Alimohammadi S. Physicochemical characteristics of Fe_3O_4 magnetic nanocomposites based on poly(N-isopropylacrylamide) for anti-cancer drug delivery. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014. **15**(1): 49.
16. Petranovska A.L., Abramov N.V., Turanska S.P., Gorbyk P.P., Kaminskiy A.N., Kusyak N.V. Adsorption of cis-dichlorodiammineplatinum by nanostructures based on single-domain magnetite. *J. Nanostruct. Chem.* 2015. **5**(3): 275.
17. Abramov N.V., Turanska S.P., Kusyak 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. **6**: 223.
18. 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. **22**(25): 12888.
19. 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. **5**(1): 115.
20. Borisenko N.V., Bogatyrev V.M., Dubrovin I.V., Abramov N.V., Gaevaya M.V., Gorbyk P.P. Synthesis and properties of magnetically sensitive nanocomposites based on iron and silicon oxides. *Physical chemistry of nanomaterials and supramolecular structures*. 2007. **1**: 394. [in Russian].
21. Turanska S.P., Kusyak A.P., Petranovskaya A.L., Gorobets S.V., Turov V.V., Gorbyk P.P. Cytotoxic activity of magnetoerated nanocomposites on the basis of doxorubicin on the example of Saccharomyces serevisiae. *Him. Fiz. Tehnol. Poverhni.* 2016. **7**(2): 236. [in Ukrainian].

22. Wagner C.D., Moulder J.F., Davis L.E., Riggs W.M. *Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy.* (New York: Perking-Elmer Corp., 1979).
23. Abramov M.V., Kusyak A.P., Kaminsky O.M., Turanska S.P., Petranovskaya A.L., Kusyak N.V., Turov V.V., Gorbyk P.P. Synthesis and properties of magnetically sensitive polyfunctional nanocomposites for use in oncology. *Surface.* 2017. **9**(24): 165. [in Ukrainian].
24. Skvortsov A.N. Effective method of analyzing the spectra of the optical range in studies of the kinetics of reactions. *Cytology.* 2009. **51**(3): 229. [in Russian].
25. Raghavan R., Cheriyamundath 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. **47**(3): 322.
26. 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. **21**(7).
27. Gorbyk P.P., Turov V.V. *Nanomaterials and nanocomposites in medicine, biology, ecology*. (Kiev: Nauk. Dumka, 2011). [in Russian].
28. Bruijnincx P.C., Sadler P.J. New trends for metal complexes with anticancer activity. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2008. **12**(2): 197.
29. Patent UA 112490 Chekhun V.F., Lukyanova N.Yu., Gorbyk P.P., Todor I.M., Petranovskaya A.L., Boshitskaya N.V., Bozhko I.V. Antitumor ferromagnetic nanocomposite. 2016. [in Ukrainian].
30. Shen X., Liang H., Guo J. H., Song C. *J. Inorg. Biochem*. 2003. **95**(2–3): 124.
31. Gorbyk P.P., Mishchenko V.N., Petranovska A.L. *Nanosystems, nanomaterials, nanotechnology*. (Kyiv: RVV IMF, 2009). [in Ukrainian].
32. Turanskaya S.P., Chetyrkin A.D., Dubrovin I.V., Turov V.V., Gorbyk P.P. Synthesis, Properties, and Application in Experimental Medicine and Biology of Magnetosensitive Nanocomposites Containing Noble Metals. *Surface.* 2011. **3**(18): 343. [in Russian].
33. Hermanson G.T. *Bioconjugate Technigues*. (Academic Press, 2008).
34. Doxorubicin hydrochloride. European Pharmacopoeia. Sixth Edition. 2005. P. 1389.
35. 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. **39**(8): 9557.
36. Kule C., Ondrejickova O., Verner K. Doxorubicin, daunorubicin, and mitoxantrone cytotoxicity in yeast. *Mol. Pharmacol.* 1994. **46**(6): 1234.
37. Patel S., Sprung A.U., Keller B.A., Heaton V.J., Fisher L.M. Identification of yeast DNA topoisomerase II mutants resistant to the antitumor drug doxorubicin: implications for the mechanisms of doxorubicin action and cytotoxicity. *Mol. Pharmacol.* 1997. **52**(4): 658.
38. Saenko Yu.V., Shutov A.M., Rastorgueva E.V. Doxorubicin and menadione cause delay in cell proliferation of Saccharomyces cerevisiae by various mechanisms. *Cytology.* 2010. **52**(5): 407. [in Russian].
39. Babayeva I.P., Chernov I.Yu. *Biology of yeast*. (KMK, 2004). [in Russian].
40. 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. Solid. State Chem.* 2006. **34**(2–4): 237.
41. Abramov N.V., Gorbyk P.P. Properties of magnetite nanoparticle ensembles and magnetic fluids for use in oncotherapy. *Surface.* 2012. **4**(19): 246. [in Russian].
42. Abramov N.V. Doxorubicin-based magnetic fluids for use in oncotherapy. *Surface.* 2014. **6**(21): 241. [in Russian].

43. 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. **106**(6): 063906.
44. Kaiser R., Miscolezy G. Magnetic properties of staible dispertions of subdomain magnetic particles. *J. Appl. Phys.* 1970. **1**(3): 1064.
45. Bibik E.E., Matygullin B.Ya., Rayhell Y.L., Shliomis M.I. Static magnetic properties of magnetite colloids. *Magnetic hydrodynamics.* 1973. (1): 68. [in Russian].
46. Thakur M., De K., Giri S., Si S., Kotal A., Mandal T.K. Interparticle interaction and size effect in polymer coated magnetite nanoparticles. *Journal of Physics: Condensed Matter*. 2006. **18**(39): 9093.
47. 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. *Ceram. Int.* 2013. **39**(8): 9557.
48. Frolov Yu.G. *Course of colloid chemistry*. (Moscow: Chemistry, 1989.) [in Russian].
49. Schliomis M.I. Magnetic fluids. *UFN.* 1974. **112**(3): 427. [in Russian].
50. Rosenzweig R. *Ferrohydrodynamics*. (Moscow: Mir, 1989). [in Russian].
51. Bellin M.F. MR Contrast Agents, the Old and the New. *Eur. J. Radiol.* 2006. **60**: 314.
52. Caravan P. Strategies for Increasing the Sensitivity of Gadolinium Based MRI Contrast Agents. *Chem. Soc. Rev.* 2006. **35**(6): 512.
53. Lowe M.P. MRI Contrast Agents: the next generation. *Aust. J. Chem.* 2002. **55**(9): 551.
54. Fukumori Y., Ichikawa H. Nanoparticles for Cancer Therapy and Diagnosis. *Adv. Powder. Technol.* 2006. **17**(1): 1.
55. Pylypchuk Ye.V., Gorbyk P.P. B- and Gd-containing nanomaterials and nanocomposites for neutron capture therapy. *Surface.* 2014. **6**(21): 150. [in Ukrainian].
56. Gorbyk P.P., Petranovskaya A.L., Pylypchuk Ye.V., Abramov N.V., Oranskaya E.I., Korduban A.M. Synthesis of magnetically sensitive Gd-containing nanostructures. *Him. Fiz. Tehnol. Poverhni.* 2011. **2**(4): 385. [in Russian].
57. Pylypchuk Ye.V., Petranovskaya A.L., Gorbyk P.P. Synthesis and Properties of Nanocomposites Based on Magnetite Modified with Diethylenetriamine Pentaacetic Acid. *Nanostructures. Mater. Sci.* 2012. (3): 47. [in Russian].
58. Petranovskaya A.L., Turelik M.P., Pylypchuk Ye.V. Nanocomposites on the basis of magnetite for medicine and pharmacy. In: *Nanotechnology in pharmacy and medicine:* International. conf. (Kharkiv, 2011). P. 154. [in Russian].
59. Turelik M.P., Gorobets S.V., Macedonskaya A.O., Gorbyk P.P. Biofunctionalisation of nanocomposites based on magnetite modified with meso-2,3-dimercaptosuccinic acid. *Scientific. News of NTUU "KPI".* 2012. (1): 149. [in Ukrainian].
60. Pylypchuk I.V., Kołodyńska D., Kozioł M., Gorbyk P.P. Gd-DTPA Adsorption on Chitosan/Magnetite Nanocomposites. *Nanoscale Res. Lett.* 2016. **11**(1): 168.
61. Pylypchuk I.V., Kolodynska D., Gorbyk P.P. Gd(III) Adsorption on the DTPA-functionalized chitosan/magnetite nanocomposites. *Sep. Sci. Technol.* 2017: 1.
62. Pylypchuk Ye.V., Zubchuk Yu.O., Petranovskaya A.L., Turansky S.P., Gorbyk P.P. Synthesis and Properties of Fe_3O_4 Nanocomposites/ Hydroxyapatite/ Pamidronic Acid/ Diethylenetriamine Pentaacetic Acid/ Gd^{3+}. *Him. Fiz. Tehnol. Poverhni.* 2015. **6**(3): 326. [in Ukrainian].
63. Hepatocellular carcinoma (HCC): a global perspective. http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/hepatocellular-carcinoma-russian-2009.pdf [in Russian].
64. Maystrenko N.A., Sheiko S.B., Alent'ev A.V., Azimov F.K. Cholangiocellular cancer (features of diagnosis and treatment). *Practical Oncology.* 2008. **9**(4): 229. [in Russian].

65. Kang T.W., Yevsa T., Woller N., Hoenicke L., Wuestefeld T., Dauch D., Hohmeyer A., Gereke M., Rudalska R., Potapova A., Iken M., Vucur M., Weiss S., Heikenwalder M., Khan S., Gil J., Bruder D., Manns M., Schirmacher P., Tacke F., Ott M., Luedde T., Longerich T., Kubicka S., Zender L. Senescence surveillance of pre-malignant hepatocytes limits liver cancer development. *Nature.* 2011. **479**: 547.
66. Yevsa T., Kang T.W., Zender L. Immune surveillance of pre-cancerous senescent hepatocytes limits hepatocellular carcinoma development. *Oncoimmunology*. 2012. **1**(3): 398.
67. Dauch D., Rudalska R., Cossa G., Nault J.C., Kang T.W., Wuestefeld T., Hohmeyer A., Imbeaud S., Yevsa T., Hoenicke L., Pantsar T., Bozko P., Malek N.P., Longerich T., Laufer S., Poso A., Zucman-Rossi J., Eilers M., Zender L. A MYC-aurora kinase A protein complex represents an actionable drug target in p53-altered liver cancer. *Nat. Med.* 2016. **22**(7): 744.
68. Pylypchuk Ie.V., Gorbyk P.P., Petranovska A.L., Korduban O.M., Markovsky P.E., Ivasyshyn O.M. Formation of biomimetic hydroxyapatite coatings on the surface of titanium and Ti-containing alloys: Ti–6Al–4V and Ti–Zr–Nb. *Surface Chemistry of Nanobiomaterials. Applications of Nanobiomaterials*. 2016. **3**: 193.
69. Pylypchuk Ye., Petranovskaya A., Gorbyk P., Korduban A., Markovsky P., Ivasishin O. Biomimetic Hydroxyapatite Growth on Functionalized Surfaces of Ti-6Al-4V and Ti-Zr-Nb Alloys. *Nanoscale Res. Lett.* 2015. **10**: 338.
70. Pylypchuk Ye.V., Petranovska A.L., Turelyk M.P., Gorbyk P.P. Formation of Biomimetic Hydroxyapatite Coating on Titanium Plates. *Mater. Sci.* 2014. **20**(3): 328.
71. Petranovskaya A.L., Turelyk M.P., Pylypchuk Ye.V., Gorbyk P.P., Korduban A.M., Ivasyshin O.M. Formation of biomimetic hydroxyapatite on the surface of titanium. *Metallophysics and Newest Technologies.* 2013. **35**(11): 1567. [in Russian].
72. Pylypchuk Ye.V., Abramov M.V., Petranovska A.L., Turanska S.P., Budnyak T.M., Kusyak N.V., Gorbyk P.P. Multifunctional Magnetic Nanocomposites on the Base of Magnetite and Hydroxyapatite for Oncology Applications. *Nanochemistry, Biotechnology, Nanomaterials, and Their Applications. Selected Proceedings of the 5th International Conference Nanotechnology and Nanomaterials (NANO 2017).* (Aug. 23–26, 2017, Chernivtsi, Ukraine.). P. 35.
73. Patent UA 100210. Semko L.S., Gorbyk P.P., Khutorny S.V. Method for obtaining a magnetic laminate material. 2012. [in Ukrainian].
74. Patent UA 78448. Gorbyk P.P., Petranovska A.L., Abramov M.V., Turelyk M.P., Pylypchuk Ye.V., Vasilyeva O.A. Magnetic fluid. 2013. [in Ukrainian].
75. Patent UA 78473. Paton B.E., Gorbyk P.P., Petranovska A.L., Turelyk M.P. Abramov M.V., Vasiliev A.A., Chekhun V.F. Lukyanov N.Yu. Magnetic antitumor fluid. 2013. [in Ukrainian].
76. Antitumor nanocomposite "Feroplat". Access point: http://files.nas.gov.ua/NASDevelopmentsBook/PDF/0760.pdf.
77. Certificate 46056. Gorbyk P.P., Petanovskaya A.L., Turelik M.P., Abramov M.V., Vasilieva O.A. TTR (temporary technological regulation) on the for the production of the substance "Magnetite". 2012. [in Ukrainian].
78. Certificate 58159. Gorbyk P.P., Abramov M.V., Petranovskaya A.L., Pylypchuk Ye.V., Vasilieva O.A. TTR (temporary technological regulations) for the production of magnetic liquid. 2015. [in Ukrainian].
79. Targeted comprehensive program of fundamental research "Nanostructural systems, nanomaterials, nanotechnologies". 2010. [in Ukrainian].

80. Gorbyk P.P., Gorobets S.V., Turelyk M.P., Chekhun V.P., Shpak A.P. *Biofunctionalisation of nanomaterials and nanocomposites: teach. manual*. (Kyiv: Naukova Dumka, 2011). [in Ukrainian].
81. Gorbyk P.P., Turelik M.P., Gorobets S.V., Gorobets O.Yu., Demyanenko I.V. Bio-functionalized nanomaterials and nanocomposites. Scientific fundamentals and directions of application, Electronic tutorial. 2013. [in Ukrainian].
82. Storozhuk L.P. Ph.D (Chem.) Thesis. (Kyiv, 2007). [in Ukrainian].
83. Turelik M.P. Ph.D (Chem.) Thesis. (Kyiv, 2012). [in Ukrainian].
84. Pylypchuk Ye.V. Ph.D (Chem.) Thesis. (Kyiv, 2013). [in Ukrainian].
85. Kaminsky O.M. Ph.D (Chem.) Thesis. (Kyiv, 2018). [in Ukrainian].
86. Kusyak A.P. Ph.D (Chem.) Thesis. (Kyiv, 2018). [in Ukrainian].
87. Uvarova I.V., Gorbyk P.P., Gorobets S.V., Ivashchenko O.A., Ulyanchenko N.V. *Nanomaterials of medical appointment*. (Kyiv: Naukova Dumka, 2014) [in Ukrainian].
88. Gorobets S.V., Gorobets O.Yu., Gorbyk P.P., Uvarova I.V. *Functional bio- and nanomaterials of medical purpose*. (Kyiv: Condor, 2018). [in Ukrainian].

МАГНИТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАНОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ МАГНЕТИТА И ГИДРОКСИАПАТИТА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ОНКОЛОГИИ

Н.В. Абрамов, А.Л. Петрановская, Е.В. Пилипчук, С.П. Туранская, Н.М. Опанащук, Н.В. Кусяк *, С.В. Горобец, П.П. Горбик**

Институт химии поверхности им. А.А.Чуйка НАН Украины, ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина
**Житомирский государственный университет им. И. Франко, ул. Большая Бердичевская, 40, Житомир, 10008, Украина*
***Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт им. Игоря Сикорского», пр. Победы, 37, 03056, Киев, Украина*

Систематизированы и обобщены результаты исследований, направленных на развитие концепции создания магниточувствительных нанокомпозитов (НК) с многоуровневой иерархической наноархитектурой типа ядро-оболочка и функциями медико-биологических нанороботов на основе однодоменного магнетита (Fe_3O_4), поверхность которого модифицирована гидроксиапатитом (ГА). Наноструктуры указанного типа характеризуются биосовместимостью с организмом человека, отсутствием мутагенности и удовлетворительными с точки зрения реализации метода адресной доставки лекарственных средств и локальной терапии, магнитными характеристиками.

Синтез Fe_3O_4 осуществлен по методике соосаждения из раствора солей двух- и трехвалентного железа. Синтезированные ансамбли наночастиц (НЧ) Fe_3O_4 характеризовались размерами 3 – 23 нм. Средний размер НЧ Fe_3O_4 зависел от условий синтеза и составлял 8 – 15 нм, распределением по размерам можно было управлять технологически. Удельная поверхность магнетита составляла $S_{уд}$ = 90 – 180 $м^2/г$, в работе использовали образцы, для которых $S_{уд}$ ~ 110 $м^2/г$. Изучением ИК-спектров поверхности Fe_3O_4 выявлены функциональные группы ОН, концентрация которых, рассчитанная по данным термогравиметрического анализа, равна 2,4 ммоль/г.

Синтез покрытия ГА на поверхности Fe_3O_4 осуществляли золь-гель методом. Средний размер кристаллитов Fe_3O_4 и ГА в структуре НК Fe_3O_4 ГА составлял 15 и 19 – 21 нм, соответственно. Исследованиями ИК-спектров образцов Fe_3O_4/ГА обнаружено ОН-группы на поверхности НК, концентрация которых составила 2,2 ммоль/г. Удельная поверхность НК Fe_3O_4/ГА составляла $S_{уд}$ = 105 $м^2$/г. Отношение Са / Р составляло 1,6 – 1,7. Толщина слоя ГА на поверхности Fe_3O_4, оценена по соотношению площади Fe2p- / Fe3p- линий и приростом массы НК, составляет ~ 4 нм.

Изучены процессы адсорбционной иммобилизации химиотерапевтических препаратов (цисплатина (ЦП), доксорубицина (ДР)) и нормального иммуноглобулина человека (как модели антитела – иммунотерапевтических препарата) на поверхности НК.

Обнаружено значительное адсорбционную активность по отношению к комплексам ЦП наноразмерного Fe_3O_4. Так, при 298 К для Fe_3O_4 адсорбционная емкость A_{max} = 80,1 мг/г, коэффициент извлечения R = 66,2%.

Модифицирование Fe_3O_4 ГА уменьшает адсорбционную активность поверхности НК по отношенню к ЦП: A_{max} = 54 мг/г, R = 64,8%. Возможно, это происходит вследствие уменьшения концентрации гидроксильных групп на поверхности НК Fe_3O_4/ГА по сравнению с поверхностью выходного Fe_3O_4. Время установленння адсорбционного равновесия для поверхности НК Fe_3O_4/ГА находится в пределах 10 мин.

Адсорбцию иммуноглобулина (Ig) проводили в среде физиологического раствора (ФР) в течение 2 ч в динамическом режиме при комнатной температуре. Количество адсорбированного вещества на поверхности НК определяли измерением концентрации Ig в контактных растворах до и после адсорбции.

Высвобождение Ig в ФР исследовали на образцах Fe_3O_4/ГА и Fe_3O_4/ГА/Ag, содержащих Ig, иммобилизованный из разных буферных систем (фосфатный буфер, физиологический раствор).

Коэффициент распределения (Е) иммуноглобулина между поверхностью НК и раствором составляет 111,36 мл/г для Fe_3O_4/ГА, а для Fe_3O_4/ГА/Ag – 186,67 мл/г. При адсорбции с ФР для Fe_3O_4/ГА Е = 47, 2 мл/г, для Fe_3O_4/ГА/ Ag Е = 59,4 мл/г. Адсорбция Ig на поверхности НК с НЧ серебра превышает адсорбцию на поверхности Fe_3O_4/ГА в обеих буферных системах. Это является свидетельством того, что наночастицы серебра на поверхности композита выступают в роли дополнительных адсорбционных центров.

Установлено, что высвобождение Ig, иммобилизованного с ФР, при больших концентрациях (А = 17 – 38 мг / г) практически не происходит.

Результаты экспериментальных исследований влияния НК на клеточные линии MCF-7 карциномы молочной железы человека in vitro свидетельствуют, что применение полифункциональных магниточувствительных НК принципиально позволяет реализовать распознавание специфических клеток, достичь цитотоксического эффекта препарата при более низких концентрациях лекарственных препаратов и создать условия для уменьшения токсико-аллергического воздействия лекарственных химиотерапевтических средств на организм в целом.

Исследованиями адсорбции ДР на поверхности НК Fe_3O_4/ГА от времени установлено, что в течение первых двух часов абсорбируется 60 – 70% вещества, а в течение суток адсорбция проходит почти полностью (93 – 97%). Результаты исследования зависимости десорбции от времени указывают, что высвобождение ДР уменьшается с ростом его количества на поверхности НК.

Приведены данные по синтезу новых полифункциональных магниточувствительных наноструктур, перспективных для целевой доставки в опухоли гепатоцеллюлярной карциномы и внутрипеченочного холангиокарциномы лекарственного препарата химиотерапевтического механизма действия гемцитабин (ГЦ) и депонирование с

помощью магнитного поля с дополнительными функциями гипертермической терапии и магнитно-резонансной томографической диагностики в режиме реального времени. Показано, что модифицированная ГА поверхность магниточувствительных носителей Fe_3O_4 способна к адсорбционной иммобилизации онкологических лекарственных средств различных механизмов действия и к их высвобождения в среде физиологической жидкости без изменения терапевтической активности.

На примере магнитной жидкости Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.Na/ПЭГ+ФР, содержащей дисперсионную фазу – физиологический раствор, суперпарамагнитные носители Fe_3O_4 с модифицированной ГА поверхностью и иммобилизованным лекарственным препаратом доксорубицин, комплексный стабилизатор на основе олеата натрия и полиэтиленгликоля (ол.Na/ПЭГ), развит метод магнитной гранулометрии, применим к НК типа суперпарамагнитная ядро-оболочка со сложной многоуровневой структурой. Приведенные результаты экспериментальных исследований и расчетов, их проверка различными способами и сравнение с литературными данными свидетельствуют, что используя ансамбли магнитных носителей в качестве суперпарамагнитного зонда и теорию парамагнетизма Ланжевена можно оценить размеры компонентов сложной оболочечной структуры НК. Полученные данные могут быть полезными при оптимизации химического состава, структуры и свойств новых магнитных жидкостей и адсорбентов на основе магниточувствительных нанокомпозитов со сложным строением оболочки.

Отработані научные подходы к внедрению магнитоуправляемых полифункциональных нанокомпозитов Fe_3O_4/ГА, модифицированных ионами гадолиния, в нейтронзахватную терапию. Показана их перспективность для создания новых типов малотоксичных селективных нейтронзахватных лекарственных средств с дополнительными функциями магнитоуправляемой направленной доставки в органы- или клетки-мишени и депонирования, гипертермии и комбинированной Т1-, Т2-МРТ-диагностики в режиме реального времени.

Рассмотрены основы синтеза новых векторных систем – магнитоуправляемых лекарственных форм химиотерапевтического действия онкологического назначения на основе магнитных жидкостей, содержащих наноразмерный однодоменных магнетит с модифицированной поверхностью и лекарственный цитостатический препарат. Показано, что по данным магнитных измерений возможно определение с высокой достоверностью размерных параметров компонентов векторных систем, что может быть использовано для для их стандартизации и контроля параметров в процессе производства.

Ключевые слова: *гидроксиапатит, поверхность, магнетит, магниточувстви композиты, адсорбция.*

MAGNETOSENSITIVE POLYFUNCTIONAL NANOCOMPOSITES ON THE BASIS OF MAGNETITE AND HYDROXYAPATITE FOR THEIR USE IN ONCOLOGY

M. V. Abramov, A.L. Petranovska, Ye.V. Pylypchuk, S.P. Turanska, N.M. Opanashchuk, N.V. Kusyak[*], S.V. Gorobets[**], P.P. Gorbyk

O.O. Chuiko Institute of Surface Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, 17 General Naumov Str., Kyiv 03164, Ukraine
** Ivan Franko Zhytomyr State University, 40 V. Berdychivska Str. Zhytomyr 10008, Ukraine,*
*** National Technological University of Ukraine "Kyiv Polytechnic Institute after Igor Sikorskiy", 37, Peremogy Prospect, 03056, Kyiv, Ukraine*

The results of the research directed at the development of the concept of creating the magneto-sensitive nanocomposites (NC) with multilayered hierarchic nano-architecture of a core-shell type as well as with functions of biomedical nano-robots on the basis of a single-domain magnetite (Fe_3O_4), whose surface is modified by hydroxyapatite (HA) have been systemized and generalized. The nanostructures of this type are characterized by bio-adaptability with a person's organism, deficiency of mutagenicity as well as by satisfactory magnetic characteristics from the point of view of the realization of the method of address delivery of medicines and local therapy.

Fe_3O_4 has been synthesized according to the method of neutralizing the salts of 2- and 3-valent Ferrum. The synthesized assemblages of nanoparticles (NP) of Fe_3O_4 were characterized by the limits of 3-23 nm. The average size of NP of Fe_3O_4 depended on synthesis conditions and equaled 8-15 nm, the distribution according to their size could be done using technological methods. The specific surface of the magnetite was S = 90–180 $м^2$/g, the samples for which S= ~ 110 м2 /g were used in process. By means of IR –spectra studies of the Fe_3O_4 surface, were discovered some functional groups of OH, the concentration of which was calculated on the data of thermo-gravimetric analysis and equaled 2.4 mM/g.

The synthesis of HA membrane on Fe_3O_4 surface was performed using sol-gel method. The average crystals size of Fe_3O_4 and HA in the structure of NC Fe_3O_4/HA respectively equaled 15 and 19-21nm. By means of IR- spectra studies of Fe_3O_4/HA samples, groups of OH were discovered on the NC surface, their concentration was 2.2mM/g. The specific surface of NC Fe_3O_4 equaled Sn = 105 $м^2$/g. Ca/P ratio was 1.6-1.7. The HA thickness on the Fe_3O_4 surface was estimated on Fe2p-/Fe3p-lines area to NC mass gain ratio and equaled ~4 nm.

The processes of adsorption immobilization of chemotherapeutic preparations (cisplatin (CP), doxorubicin (DR)) as well as of normal immune globulin of a man (as a model of antibody-immune-therapeutic preparation) on NC surface have been studied.

Some significant adsorption activity related to CP complexes of nano-sized Fe_3O_4 has been discovered. Thus, under 298K for Fe_3O_4 the adsorption capacity Amax = 80,1 mg/g, the removal coefficient R = 66,2 %.

Fe_3O_4 modification by HA reduces the adsorption activity of NC surface related to CP: Amax = 54 mg/g, R = 64,8%. Perhaps, it occurs due to the decrease in the concentration of hydroxyl groups on NC surface of Fe_3O_4/HA as compared to the surface of initial Fe_3O_4. The period for establishing the absorption balance for NC surface of Fe_3O_4 /HA is within 10 min.

The immune- globulin adsorption(Ig) was taking place in the medium of sodium chloride solution (SCS) for two hours in a dynamic regime under indoor temperature. The amount of adsorbed substance on the NC surface was determined by measuring the concentration of Ig in contact solutions before and after adsorption.

The emitting of Ig in SCS was studied on Fe_3O_4/HA and on Fe_3O_4/HA/Ag samples which contain Ig immobilized from different buffer systems (phosphate buffer, physiological solution).

The distribution coefficient (E) of immune globulin between the NC surface and the solution is 111,36 ml/g for Fe_3O_4/HA, and 186.67 ml/g for Fe_3O_4/HA/Ag. Under the adsorption from SCS for Fe_3O_4/HA E = 47, 2 ml/g, for Fe_3O_4/HA/Ag E = 59,4 ml/g.

The adsorption of Ig on the surface of NC from silver NP exceeds the adsorption on the surface of Fe_3O_4/HA in both buffer systems. It testifies to the fact that silver nano particles on the surface of a composite serve as additional adsorption centers.

It has been determined that Ig emitting immobilized from SCS under high concentrations (A=17.38mg/g) practically does not occur.

The results of the experimental studies as to the NC effects on the cells lines MCF-7 of breast carcinoma of a man in vitro testify to the fact that the use of multifunctional magneto-sensitive NC allows to recognize specific cells, to achieve cytotoxic effect of the preparation under lower concentrations of medicines as well as to create conditions for reducing toxic and allergic effects of medical chemotherapeutic products on the organism as a whole.

By the studies of DR adsorption on the surface of NC Fe_3O_4/HA it has been determined that during the first two hours 60 - 70% of the substance is adsorbed, and during the period of 24 hours 93 - 97% is adsorbed. The results of the studies as to the dependence of desorption on time indicate that DR emitting decreases when its amount increases on the NC surface.

The research has submitted the data as to synthesis of new multifunctional magneto-sensitive nanostructures which are prospective for a directed delivery of medicine with chemotherapeutic mechanism of action gemcitabine (GC) into the tumors of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma as well as for hypothermic therapy and magnetic resonance optical tomography diagnostics by means of magnetic field with additional functions and in a regime of real time.

It has been shown that modified by HA surface of magneto-sensitive carriers of Fe3O4 is capable of adsorption mobilization of oncological medicines with different mechanisms of action as well as of their emitting into the medium of body fluid without therapeutic activity changes.

On the example of a magnetic fluid Fe_3O_4/HA/DR/ ol.Na/PEG+SCS, which contains a dispersion phase - sodium chloride solution (SCS), superparamagnetic carriers of Fe_3O_4 with a modified by HA surface and with a immobilized medicine DR, a complex stabilizer on the basis of sodium oleate and polyethylene glycol (ol.Na/PEG), the method of magnetic granulometry has been schemed out. This method can be applied to NC of super magnetic nuclear-membrane type with a complex multilayered structure.

The results of the experimental studies and of calculations, as well as their checking and comparing with literature data, testify to the fact that by using both the assemblages of magneto carriers acting as a super magnetic probe and Lanzheven's theory of paramagnetism, we can estimate the components size of a complex shell-type nanocomposites structure. The obtained results can be useful when improving the chemical composition, structure and the qualities of new magnetic fluids and adsorbing agents on the basis of magneto-sensitive NC with a complex membrane structure.

New scientific approaches as to the introduction of magneto-sensitive polyfunctional NC of Fe_3O_4/HA, modified by the ions of gadolinium into neutron capture therapy have been practiced. The prospective for the creation of new types of low- toxic selective neutron- capture medicines with additional functions of magneto-sensitive direct delivery to organs or target cells and for deposition, hyperthermia and complex T1-, T2-MRT diagnostic testing in a real time regime, has been shown.

The basis for synthesis of new vector systems - magneto-sensitive drug formulations of chemotherapeutic action for cancer care on the basis of magneto fluids which contain nano-sized single-domain magnetite with a modified surface as well as cytostatic drug has been presented. It has been shown that according to the data of magnetic measurements the size parameters of vector systems can be accurately determined, it can be used for their standardization and parameters control in the productive process.

Key words: *hydroxyapatite, surface, magnetite, magnetically sensitive nanocomposites, adsorption.*