



УДК 616-006.07

В. Е. Орел, А. Д. Шевченко, О. Ю. Рихальський, А. П. Бурлака,
С. М. Лукін, І. Б. Щепотін

Нелінійні магнітні властивості магнетомеханохімічно синтезованого наноконплексу з магнетиту та протипухлинного антибіотика доксорубіцину

(Представлено членом-кореспондентом НАН України В. Б. Молодкіним)

Проведено дослідження впливу постійного магнітного поля (ПМП) та електромагнітного поля (ЕМП) під час магнетомеханохімічного синтезу наноконплексу з наночастинок Fe_3O_4 і протипухлинного антибіотика доксорубіцину за допомогою методу магнітометрії й спектрів електронного парамагнітного резонансу (ЕПР). Показано, що за умов проведення досліджень величина коерцитивної сили підвищується, а кількість парамагнітних центрів, величина магнітного моменту та ширина ліній ЕПР має нелінійний характер змін. В умовах експерименту 8 мТл ПМП та 2 Вт вихідної потужності ЕМП магнітний момент насичення, кількість парамагнітних центрів та ширина ліній ЕПР досягають максимальних величин. Результати дослідження перспективні для практичного застосування при магнітній нанотерапії раку.

Нанотехнології в останні роки стали однією з найбільш перспективних областей знань, що динамічно розвиваються. Підвищений інтерес до наноматеріалів обумовлений тим, що при переході в нанорозмірний стан відбувається зміна ряду фундаментальних властивостей речовини. Одним з головних чинників, що визначають фізичні характеристики нанорозмірних об'єктів, виступає розвинена поверхня. В результаті у твердому тілі виникають нові фізичні явища та властивості, яких не було раніше і які неможливо передбачити, виходячи з будови і властивостей речовини. Істотно змінюються і його магнітні характеристики, внаслідок чого наночастинки набувають феро- і суперпарамагнітних властивостей. У даний час синтезований широкий спектр магнітних наночастинок: на основі металів Co, Fe, Ni, оксидів заліза та феритів [1].

Наночастинки оксидів мають менші за величиною магнітні моменти, ніж наночастинки на основі металів, проте вони більш стійкі до окислення. Завдяки цьому найбільш широкого застосування в медицині набули наночастинки оксиду заліза, що обумовлено їх низькою токсичністю і стабільністю магнітних характеристик. Вони складаються з ядра оксиду металу,

© В. Е. Орел, А. Д. Шевченко, О. Ю. Рихальський, А. П. Бурлака, С. М. Лукін, І. Б. Щепотін, 2013

укладеного в оболонку з органічної речовини. Це робить наночастинки більш стабільними при застосуванні в біології та медицині [2].

Магнетомеханохімічна технологія синтезу в нанореакторі — це новий метод, заснований на інтеграції двох відомих методів: механохімічного синтезу і синтезу в мікрореакторі з магнітними елементами [3]. Принцип механохімічного синтезу включає фрагментацію окремих елементів та ініціацію парамагнітних центрів (вільних радикалів) у структурі наноконплексу (НК). Одночасне опромінення неоднорідними постійним магнітним полем (ПМП) та електромагнітним полем (ЕМП) призводить до виникнення вихрових струмів та магнітних вихорів в областях контактів між наночастинками оксидів заліза та органічними сполуками [4].

На сьогодні найкраще дослідженим експериментально є магнетомеханохімічно синтезований (ММХС) протипухлинний НК, що складається з магнетиту Fe_3O_4 та протипухлинного антибіотика антрациклінового ряду доксорубіцину (ДР). За нормальних умов іони заліза потрапляють до клітин зв'язаними з білком феритином і здатні залежно від різних факторів впливу нейтралізувати або, навпаки, ініціювати гідроксильні радикали [5]. Магнетит є м'яким феромагнетиком з високим магнітним моментом насичення в широкому діапазоні температур. У процесі магнетомеханохімічної активації його магнітні властивості змінюються. ДР є цитостатичним препаратом, який широко застосовується для лікування різних видів злоякісних захворювань. Вплив зовнішніх магнітних та електромагнітних полів на хімічні реакції обумовлений магнітно-спіновими ефектами, які можуть виявлятися в радикальних реакціях за участю речовин з парамагнітними та феромагнітними властивостями. Це реакції рекомбінації радикалів, що відбуваються з утворенням бірадикалів, реакції радикалів з триплетними молекулами, парамагнітними комплексами тощо. Тому природне утворення комплексу ДР—оксид заліза під час комбінованої терапії хіміопрепарату та електромагнітного опромінення (ЕО) ініціює ефект цитотоксичності внаслідок формування гідроксильних радикалів у злоякісній пухлині. Якщо локальна протипухлинна дія препарату є лікувальним фактором, то разом з цим можливі й побічні ефекти в інших органах (наприклад, кардіотоксичність) [6]. ДР у звичайному стані є діаманетиком та діелектриком. Магнетомеханохімічна активація ДР призводить до керованого виникнення у препараті додаткових носіїв заряду і зростання кількості парамагнітних центрів (вільних радикалів). Завдяки цьому виникає можливість штучного керування ефектом цитотоксичності за рахунок зовнішнього ЕО.

При ЕО в наночастинках металів, а особливо на їх поверхні, ініціюються нелінійні електромагнітні ефекти. Специфіка нелінійності полягає у визначальній ролі магнітної компоненти електромагнітного поля. Магнітна компонента, яка набагато більша за електричну, може істотно змінити траєкторію електрона. Якщо довжина вільного пробігу електронів перевищує характерні розміри електронних траєкторій в магнітному полі, провідність металу стає функцією просторового розподілу цього поля, що і є причиною нелінійності [7].

Нелінійні магнітні властивості відіграють важливу роль для можливості дистанційного керування ПМП, ЕМП та протипухлинною активністю НК. І не лише його феромагнітним ядром з магнетиту, а і зовнішньою оболонкою з парамагнітними властивостями ДР [3]. Виходячи з цього, нашою метою було дослідження нелінійності магнітних характеристик магнетомеханохімічно синтезованого НК на основі Fe_3O_4 та ДР при різних за величиною ПМП та ЕМП під час ММХС.

Досліджували НК на основі наночастинок оксиду заліза Fe_3O_4 з КСІ діаметром 20–40 нм, отриманих із застосуванням технології електронно-променевого випаровування та

конденсації у вакуумі неорганічних матеріалів [8] й ДР виробництва Пфайзер Італія С. р. л., Італія. Масова частка ДР у НК — 65%. ММХС НК у сухому вигляді проводили за допомогою магнетомеханохімічного нанореактору “ММР1” (НІР). НК піддавали постійній механічній активації з інтенсивністю підводу механічної енергії 20 Вт/г з частотою 35 Гц за допомогою просторового коливання камери з кульками та одночасній дії радіочастотного випромінювання від індуктора при змінних параметрах ЕМП з частотою 40 МГц і ПМП постійних неодимових магнітів протягом 5 хв [9].

Магнітні характеристики препарату досліджували методом магнітометрії на вібраційному магнітометрі “Vibrating Magnetometer 7404 VSM” (“Lake Shore Cryotronics, Inc. ”, США) у магнітних полях з напруженістю до 13000 Е. Чутливість магнітометра становила 10^{-7} емо, що давало можливість виконувати виміри магнітного моменту на зразках масою до одиниць міліграм. Масу досліджуваних зразків визначали за допомогою електронних мікроваг АВ135-S/ФАСТ з автокомпенсацією (“METTLER TOLEDO”, Швейцарія). Чутливість ваг становила 10^{-5} г.

Для дослідження стабільних вільних радикалів аналізували спектри електронного парамагнітного резонансу (ЕПР), які реєстрували на модернізованому спектрометрі марки РЕ1307 (ЗЕПС АН) при температурі рідкого азоту (≈ 77 К) у циліндричному резонаторі з модою Н011 на частоті близько 9,15 ГГц. Потужність надвисокочастотного випромінювання становила 40 мВт. Використовували модуляцію магнітного поля частотою 100 кГц. Пробу розміщували у кварцовому дьюарі з внутрішнім діаметром 4,5 мм. Об’єм проби становив 0,5 мл.

Аналіз магнітних характеристик (рис. 1) та спектрів ЕПР (рис. 2) свідчить про те, що всі досліджені зразки НК були магнітом’якими феромагнетиками. Сумісний вплив ПМП та ЕМП при 2 Вт вихідної потужності підвищували величину коерцитивної сили в усіх проведених дослідях, крім варіанту, коли досліджували НК без впливу ПМП. При цьому кількість парамагнітних центрів у зразках також збільшувалася, за винятком експерименту при 18 мТл ПМП. Величина магнітного моменту насичення зменшувалася в усіх експериментах, за винятком варіанту при 8 мТл ПМП й 2 Вт вихідної потужності ЕМП та постійній механічній вібрації. В умовах останнього експерименту магнітний момент насичення, кількість парамагнітних центрів та ширина лінії ЕПР досягали максимальних величин (рис. 3). Посилення сигналів вищезазначених параметрів при 8 мТл ПМП та 2 Вт вихідної потужності ЕМП, як ми припускаємо, було обумовлено тим, що параметри ПМП, ЕМП та механічної вібрації впливали на спінову динаміку спін-корельованих пар та носили резонансний характер. Тому посилення сигналів зареєстрованих магнітних параметрів, імовірно, було обумовлено резонансним магнетомеханохімічним ефектом.

Отримані результати свідчать про те, що для магнітних властивостей ММХС НК притаманні нелінійні ефекти. Добре відомо, що навіть малі збурення можуть викликати великі наслідки в нелінійних системах. Це підтверджує раніше розроблені теоретичні моделі та експериментальні дослідження стосовно магнетодинамічної нелінійності [10]. Механізми цього процесу можуть базуватися на ефектах перенесення електронів між наночастинками магнетиту і ДР під впливом ПМП та ЕМП. Одним з можливих механізмів перенесення електронів є виникнення циркуляційних (вихрових) струмів та магнітних вихорів при сумісному опроміненні ПМП та ЕМП за рахунок нерівномірного намагнічування матеріалу НК [11]. Інший механізм перенесення електронів, так званий спінтронний механізм, пов’язаний з виникненням явищ гігантського та колосального магнеторезистивного ефектів [12].

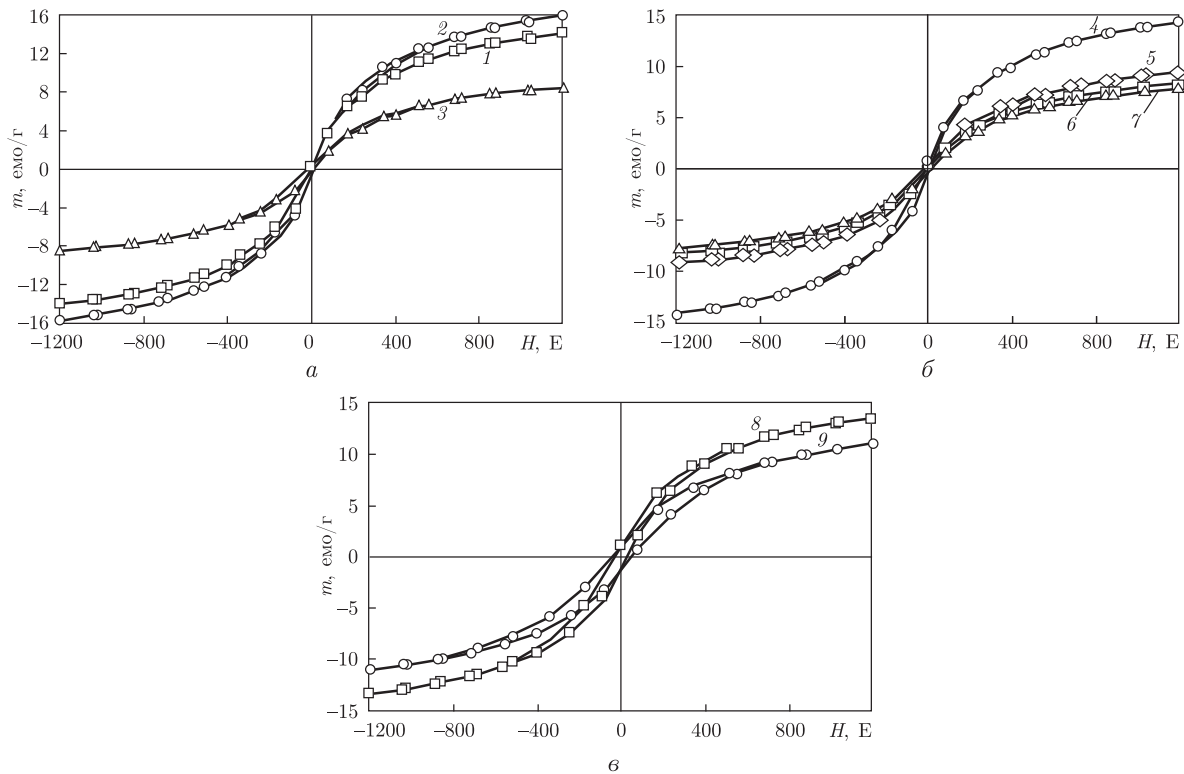


Рис. 1. Залежність питомого магнітного моменту m від напруженості магнітного поля H при кімнатній температурі.

W — вихідна потужність ЕМП; B — магнітна індукція ПМП; T — температура при ММХС.

a — $W = 2$ Вт; $T = 293$ К; $B = 0$ мТл (1); $B = 8$ мТл (2); $B = 5$ мТл (3);

$б$ — $B = 12$ мТл; $T = 293$ К; $W = 2$ Вт (4); $W = 50$ Вт (5); $W = 160$ Вт (6); $W = 270$ Вт (7);

$в$ — $W = 2$ Вт; $B = 30$ мТл; $T = 293$ К (8); $T \approx 77$ К (9)

У гетероструктурі Fe_3O_4 -ДР джерелом спін-поляризованих електронів є магнетит. У зовнішньому ПМП виникає зеєманівське розщеплення зони провідності з формуванням двох зеєманівських енергетичних підрівнів. При сумісній дії ПМП та ЕМП виникає інжекція спін-поляризованих електронів, що дає можливість реалізувати керовані переходи як на верхній, так і на нижній рівні в НК та створити інверсії їх заселення. В ряді експериментальних даних при ММХС змінювався g -фактор від 2,3 до 2,46, що свідчить про збільшення внеску в магнітний момент саме спінів неспарених електронів, що є непрямим свідченням збільшення кількості парамагнітних центрів (вільних радикалів).

Підвищення вихідної потужності змінного ЕМП від 50 до 160 Вт при ПМП 12 мТл знижувало магнітний момент насичення до мінімальної у всій серії дослідів величини — 7,8388 емо/г. Це пов'язано з ефектами, коли при ММХС одночасна дія механічного чинника, ПМП і ЕМП приводила до розмагнічування магнітних доменів. Але при цьому кількість парамагнітних центрів у досліджених зразках зростала до $2,02 \cdot 10^{19} \text{ мг}^{-1}$. Виходячи з того, що наночастинки Fe_3O_4 мають у своєму складі іони з неспареними електронами на внутрішній оболонці (3d оболонка іонів Fe у Fe_3O_4), які обумовлюють магнітні властивості магнетиту [13], можна припустити виникнення умов переходу електронів при ММХС між внутрішніми та частково заповненими зовнішніми орбіталами, що призводить до збільшення парамагнітних центрів у гетероструктурі Fe_3O_4 — ДР.

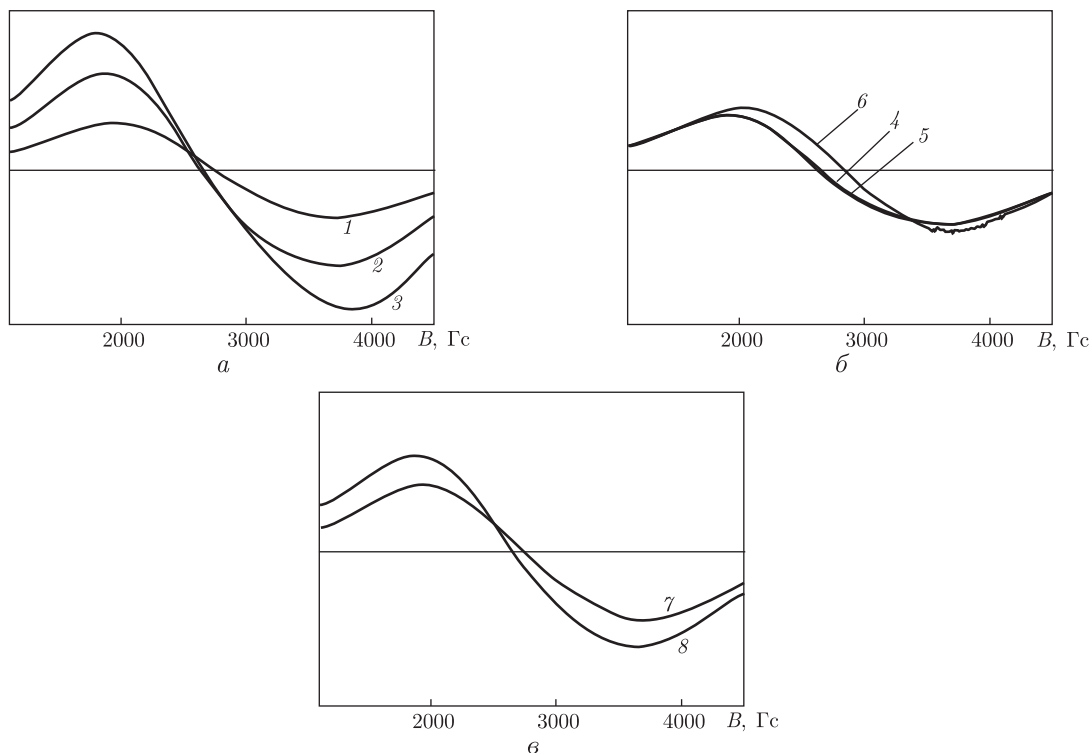


Рис. 2. Спектри ЕПР.

W — вихідна потужність ЕМП; B — магнітна індукція ПМП; T — температура при ММХС.

a — $W = 2$ Вт; $T = 293$ К; $B = 0$ мТл (1); $B = 8$ мТл (2); $B = 5$ мТл (3);

$б$ — $B = 0$ мТл; $T = 293$ К; $W = 50$ Вт (6); $W = 160$ Вт (4); $W = 270$ Вт (5);

$в$ — $W = 2$ Вт; $B = 30$ мТл; $T = 293$ К (7); $T \approx 77$ К (8)

В експериментах, коли проводили ММХС в умовах температури зрідженого азоту (≈ 77 К), знижувався магнітний момент насичення на 22% та зростала коерцитивна сила на 43% і кількість парамагнітних центрів на 28% в НК порівняно з експериментами, коли проводили синтез при подібних параметрах ПМП та ЕМП в умовах кімнатної температури. Отримані дані добре узгоджуються з відомими фактами залежності коерцитивної сили феромагнетиків від наслідків деформації їх структури при охолодженні [14].

Аналіз наведених на рис. 3 залежностей питомого магнітного моменту насичення, ширини спектра ЕПР та кількості парамагнітних центрів від величини індукції ПМП при 2 Вт вихідної потужності генератора ЕМП та постійній механічній вібрації вказує на те, що ці залежності не є лінійними і можуть бути наближені степеневими поліномами 6-го порядку. На графіках всіх залежностей маємо явно виражені максимуми магнітного моменту, концентрації парамагнітних центрів, ширини лінії ЕПР при індукції ПМП 8 мТл та вихідній потужності генератора ЕМП 2 Вт. Мінімуми ж не мають збігу. Так, на кривій магнітного моменту насичення мінімум (8,435 емо/г) спостерігається при 5 мТл індукції ПМП, мінімальна концентрація вільних радикалів ($1,17 \cdot 10^{19}$ мг $^{-1}$) та ширина спектра ЕПР — при 18 мТл ПМП.

На графіку залежності магнітного моменту насичення при збільшенні індукції ПМП від 8 до 30 мТл спостерігається добре виражений коливальний процес. Залежності магнітного моменту та концентрації парамагнітних центрів між собою не корелюють.

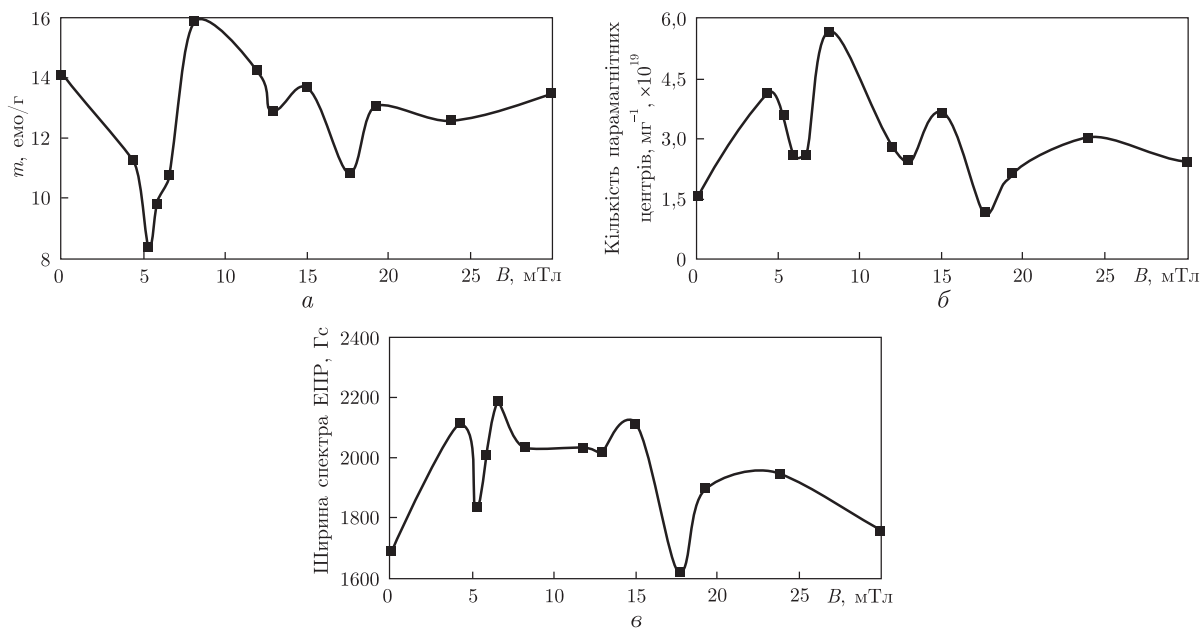


Рис. 3. Нелінійна динаміка змін, її апроксимація степеневими поліномами при 2 Вт вихідній потужності ЕМП.

R – коефіцієнт кореляції з експериментальними даними; B – індукція ПМП.

a – питомий магнітний момент насичення: $m = 227,5B^6 - 222,2B^5 + 6,1B^4 + 44B^3 - 8,1B^2 - 1,3B + 0,2$; $R = 0,76$;

b – кількість парамагнітних центрів: $C = -121,5B^6 - 0,12B^5 + 39,8B^4 - 11,7B^3 - 4,14B^2 - 1,48B + 0,1$; $R = 0,66$;

v – ширина спектра ЕПР: $w = -340,7B^6 + 79B^5 + 105,4B^4 - 2,7B^3 - 10B^2 - 1,1B + 0,2$; $R = 0,76$

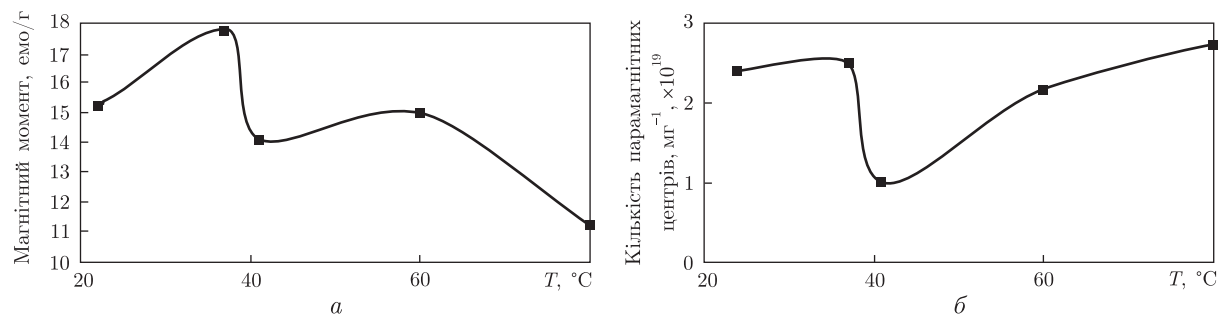


Рис. 4. Вплив температури на ММХС МК: a – магнітний момент; b – кількість парамагнітних центрів

У відомих технологіях протипухлинний ефект препаратів ініціюється внаслідок абляції (випарювання) пухлини при 50–60 °С або синергетичних ефектів при 42–46 °С [15], але лікування онкологічних хворих при таких значеннях температури має ряд проблемних питань. У нашій альтернативній технології магнітній нанотерапії синергетичний протипухлинний ефект хіміомагнітермії ініціюється за рахунок вільнорадикальних реакцій в умовах помірної гіпертермії 37–39 °С. Виходячи із закону Кюрі, ми дослідили вплив температури на магнітний момент та кількість парамагнітних центрів ММХС НК (рис. 4). Згідно з одержаними результатами, магнітний момент та кількість парамагнітних центрів при температурі 37 °С були більші, ніж при 41 °С. При наступному збільшенні температури до 80 °С магнітний

момент зменшувався, а кількість парамагнітних центрів, навпаки, збільшувалася. Все це свідчить про те, що магнітну нанотерапію краще проводити при фізіологічній помірній магнітотермії.

Отримані результати мають дві перспективні можливості практичного використання в онкології. Перша — це на основі отриманої нелінійної динаміки магнітних властивостей НК та поліномів для її апроксимації можливість наступної розробки комп'ютерних моделей й програм для встановлення параметрів ПМП та ЕМП з метою отримання необхідних магнітних властивостей протипухлинних препаратів при ММХС. Друга — це можливість дистанційного керування цитотоксичними та антиоксидантними властивостями введеного в злоякісну пухлину НК за допомогою генерації нелінійних впливів ПМП та ЕМП на основі теорії динамічного хаосу злоякісних процесів [3].

1. Губин С. П., Кокшаров Ю. А., Хомутов Г. Б., Юрков Г. Ю. Магнитные наночастицы: методы получения, строение, свойства // Успехи химии. – 2005. – № 74(6). – С. 539–574.
2. Roca A. G., Costa R., Rebolledo A. F. et al. Progress in preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine // J. Phys. D. Appl. Phys. – 2009. – **42**. – P. 1–11.
3. Орел В. Э., Щепотин И. Б., Смолянка И. И. и др. Радиочастотная гипертермия злокачественных новообразований, нанотехнологии и динамический хаос. – Тернополь: ТПМУ, Укрмедкнига, 2012. – 448 с.
4. Савченко Л. Л., Звездин А. К., Попков А. Ф., Звездин К. А. Магнитные конфигурации в области наноконтакта между ферромагнитными “берегами” // Физика твердого тела. – 2001. – **43**, вып. 8. – С. 1449–1454.
5. Britigan B. E., Serody J. S., Cohen M. S. The role of lactoferrin as an anti-inflammatory molecule // Adv. Exp. Med. Biol. – 1994. – **357**. – P. 143–156.
6. Gille L., Kleiter M., Willmann M., Nohl H. Paramagnetic species in the plasma of dogs with lymphoma prior to and after treatment with doxorubicin. An ESR study // Biochem. Pharmacol. – 2002. – **64**, No 12. – P. 1737–1744.
7. Косевич А. М., Иванов В. А., Ковалев А. С. Нелинейные волны намагниченности. Динамические и топологические солитоны. – Киев: Наук. думка, 1983. – 192 с.
8. Мовчан Б. А. Электронно-лучевая нанотехнология и новые материалы в медицине – первые шаги // Вісн. фармакології і фармації. – 2007. – № 12. – С. 5–13.
9. Орел В. Э., Шевченко А. Д., Мельник Ю. Г. и др. Физико-химические характеристики магниточувствительного наноконструкта, полученного с использованием механомагнетохимической технологии сухого синтеза // Металлофизика и новейшие технологии. – 2010. – **32**, № 9. – С. 1157–1167.
10. Борисов А. Б., Киселев В. В. Нелинейные волны, солитоны и локализованные структуры в магнетиках. – Екатеринбург: Ин-т физики металлов, 2011. – 416 с.
11. Stoll R. L. The analysis of eddy currents. – Oxford: Oxford Univ. Press, 1974. – 148 p.
12. Fert A. The origin, development and future of spintronics // Phys. Usp. – 2008. – **178**, No 12. – P. 1336–1348.
13. Symons M., Gutteridge J. Free Radicals and Iron: Chemistry, Biology, and Medicine. – Oxford: Oxford Univ. Press, 1998. – 242 p.
14. Livingston J. D. A review of coercivity mechanisms // J. Appl. Phys. – 1981. – **52**, No 3. – P. 2541–2545.
15. Maier-Hauff K., Ulrich F., Nestler D. et al. Efficacy and safety of intratumoral thermotherapy using magnetic iron-oxide nanoparticles combined with external beam radiotherapy on patients with recurrent glioblastoma multiforme // J. Neurooncol. – 2010. – **103**, No 2. – P. 317–324.

Національний інститут раку, Київ
Інститут металофізики ім. Г. В. Курдюмова
НАН України, Київ
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 12.04.2013

В. Э. Орел, А. Д. Шевченко, А. Ю. Рыхальский, А. П. Бурлака,
С. Н. Лукин, И. Б. Щепотин

**Нелинейные магнитные свойства магнетомеханохимически
синтезированного наноконплекса из магнетита
и противоопухолевого антибиотика доксорубина**

Проведено исследование влияния постоянного магнитного поля (ПМП) и электромагнитного поля (ЭМП) при магнетомеханохимическом синтезе наноконплекса из наночастиц Fe_3O_4 и противоопухолевого антибиотика доксорубина с помощью метода магнитометрии и спектров электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Показано, что в условиях проведенных исследований величина коэрцитивной силы повышается, а количество парамагнитных центров, величина магнитного момента и ширина линий ЭПР имеют нелинейный характер изменений. В условиях эксперимента 8 мТл ПМП и 2 Вт выходной мощности ЭМП магнитный момент насыщения, количество парамагнитных центров и ширина линии ЭПР достигают максимальных величин. Результаты исследования перспективны для практического применения при магнитной нанотерапии рака.

V. E. Orel, A. D. Shevchenko, A. Yu. Ryhalskyu, A. P. Burlaka, S. N. Lukin,
I. B. Schepotin

**Nonlinear magnetic properties of a magneto-mechano-chemically
synthesized nanocomplex including magnetite and antitumor antibiotic
doxorubicin**

The influence of a constant magnetic field (CMF) and an electromagnetic field (EMF) during the magneto-mechano-chemical synthesis of a nanocomplex (NC) including Fe_3O_4 nanoparticles and antitumor antibiotic doxorubicin is studied by the methods of magnetometry and electron paramagnetic resonance (EPR). The coercivity increased in all experiments. The number of paramagnetic centers, magnetic moment, and EPR line width change nonlinearly. In the experiment with a 8-mT CMF and an output EMF power of 2 W, the saturation magnetic moment, the number of paramagnetic centers, and EPR line width reached maximum values. Results of the study are promising for the practical application to the magnetic nanotherapy of cancer.