

УДК 539.211:544.723.23

ПРОБЛЕМА НАПРАВЛЕННОГО ТРАНСПОРТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

П.П. Горбик^{1*}, А.Л. Петрановская¹, М.П. Турелик¹, Н.В. Абрамов¹, С.П. Туранская¹,
Е.В. Пилипчук¹, В.Ф. Чехун², Н.Ю. Лукьянова², А.П. Шпак³, А.М. Кордубан³

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

² *Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого
Национальной академии наук Украины
ул. Васильковская, 45, Киев, 03022, Украина*

³ *Институт металлофизики им. Г.В. Курдюмова Национальной академии наук Украины
бульв. Академика Вернадского, 36, Киев, 03142, Украина*

Рассмотрены результаты научных исследований, относящихся к проблеме направленного транспорта лекарственных препаратов, позволяющие оценить ее современное состояние и перспективы. Проанализированы пути создания нанокмозитов с многоуровневой иерархической архитектурой, обладающих функциями медико-биологических нанороботов: способностью распознавания микробиологических объектов в биологических средах, направленного транспорта и депонирования лекарственных препаратов в органах-мишенях, диагностики и терапии заболеваний на клеточном уровне. Физико-химические экспериментальные данные, медико-биологические исследования подтверждают их перспективность для создания новых лекарственных форм комплексного цитотоксического, иммунотерапевтического и гипертермического действия, нейтронозахватной терапии.

ВВЕДЕНИЕ

Результаты исследований последних лет свидетельствуют о перспективности использования магнитоуправляемых наноматериалов для решения ряда актуальных медицинских и биологических задач. На их основе созданы уникальные образцы нанокмозитов с многоуровневой иерархической архитектурой, обладающие функциями медико-биологических нанороботов: способностью распознавания микробиологических объектов в биологических средах, направленного транспорта и депонирования лекарственных препаратов в органах-мишенях, диагностики и терапии заболеваний на клеточном уровне, адсорбции и удаления продуктов клеточного распада под воздействием магнитного поля. Физико-химические экспериментальные данные, медико-биологические исследования *in vitro*, *in vivo* подтверждают их перспективность для создания новых форм комплексных лекарственных препаратов с цитотоксическим, иммунотерапевтическим и гипертермическим действием, иммуномагнитных сорбентов, средств для деконтаминации вирусов из плазмы и сыворотки донорской крови человека, а также нейтронозахватной терапии [1–7].

В соответствии с достигнутыми результатами, претерпела существенное изменение постановка известной проблемы направленного транспорта лекарственных препаратов. Сегодня ее решение включает изложенный выше комплексный подход, базирующийся на широком использовании современных физико-химических, биологических и медицинских нанотехнологий, применении "наноклиник" и нанороботов [2, 4, 5].

В настоящей работе проанализированы научные и прикладные аспекты, связанные с современными подходами к решению проблемы направленного транспорта лекарственных препаратов, позволяющие оценить ее современное состояние, перспективы развития и практического использования.

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ

В научных публикациях значительное место уделяется задаче обеспечения контролируемого механического перемещения нанообъектов в биологических средах [1]. Решение задачи осуществляется путем глубоких теоретических изысканий и постановки сложнейших экспериментальных исследований. Так, для организации такого перемещения и построения нано-

* контактный автор gorbyk@isc.gov.ua

роботов и наномашин используются, например, фрагменты молекул ДНК, мышечные нановолокна, фотовозбужденные состояния наночастиц, асимметрическое распределение электрических полей в направлении движения, флуктуационные процессы молекулярной и электрической природы и т.п. [8–11]. Однако следует заметить, что практическая реализация подобных способов движения нанороботов и механических манипуляций с их составляющими частями с целью направленного транспорта лекарственных препаратов или выполнения иных полезных функций в ближайшем десятилетии представляется весьма проблематичной.

Тем не менее, современный уровень нанотехнологий позволяет создавать уникальные средства для медицины и биологии. Внедрение таких технологий в практику является основой современного прогресса в областях диагностики и терапии заболеваний, в частности на клеточном и геномном уровнях [1].

В последние годы, в качестве альтернативного и наиболее перспективного с точки зрения практического использования направления, приоритет получили работы в области создания "наноклиник" – многоуровневых магниточувствительных наноконструкций, обладающих комплексом характерных для нанороботов функций, включающим распознавание специфических микробиологических объектов в биологических средах, целевую доставку лекарственных препаратов в органы- или клетки-мишени, диагностику и терапию заболеваний на клеточном или геномном уровнях, адсорбцию продуктов распада клеток после воздействия терапевтического препарата или гипертермии, их удаление из организма с помощью магнитного поля и т.п. [2].

Так, авторы [2] получали магниточувствительный наноконструктивный многостадийный зольгель синтезом в мицеллярной системе. Поверхность наноконструктива функционализировалась с целью обеспечения распознавания и достижения специфических клеток. Такие наноконструктивы представляют собой магниточувствительные носители в кремнеземных оболочках размером до 50 нм, в которых могут быть инкапсулированы различные оптические, магнитные или электрические датчики, терапевтические агенты. Наноконструктивы прицельно доставляются в клетку и применяются для диагностики или изменения ее функций в заданном направлении, а также для создания гипертермических зон. Использование локальной гипертермии принципиально позволя-

ет осуществлять терапию онкозаболеваний без применения химических препаратов.

В рамках рассматриваемого альтернативного направления нами выполнен комплекс экспериментальных и теоретических исследований с целью разработки научных основ создания медико-биологических полифункциональных наноконструктивов и первого поколения нанороботов. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования указанных наносистем для решения ряда актуальных медицинских и биологических задач, а также возможности их практического применения в самое ближайшее время. Для достижения указанной цели начаты доклинические исследования.

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА МАГНИТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ И НАНОРОБОТОВ

Схема химического конструирования полифункциональных наноконструктивов и нанороботов рассмотрена в [5, 12]. В качестве исходного материала для химического конструирования выбран однодоменный магнетит размером 10–50 нм. Известно, что магнетит имеет биогенную природу и удовлетворительно выводится организмом. В иерархической структуре он служит магниточувствительным носителем лекарственных препаратов, преобразователем энергии высокочастотного магнитного поля внешнего источника в тепловую при создании гипертермических зон, обладает реакционноспособной поверхностью, что позволяет реализовать химический дизайн и сконструировать необходимую полифункциональную архитектуру. Магнетит стабилизировали модифицированием поверхности биосовместимым покрытием. Наличие слоя модификатора увеличивает удельную поверхность и позволяет осуществить ее функционализацию с целью иммобилизации химио-, иммуно- и нейтронозахватных терапевтических компонентов, диагностических препаратов, а также сенсоров, обеспечивающих распознавание специфических микробиологических объектов. Капсулирование наноконструктивов осуществляется декстраном, желатином, поливиниловым спиртом (ПВС), поливинилпирролидоном (ПВП).

В результате выполненных исследований разработаны все основные технологические этапы создания полифункциональных наноконструктивов и нанороботов. Так, разработаны перспективные для практического применения нанотехнологии

синтеза и изучены физико-химические свойства магниточувствительных нанокомпозитов с биосовместими покрытиями; магнитных жидкостей для медико-биологических применений; биофункционализированных магнитных нанокомпозитов и жидкостей, представляющие собой опытные образцы новейших лекарственных препаратов на основе действующих моделей нанокомпозитов и нанороботов (табл. 1).

Табл. 1. Перечень синтезированных и исследованных экспериментальных образцов

Магниточувствительные нанокомпозиты	
Fe ₃ O ₄ /ПАА	Fe ₃ O ₄ /ГА
Fe ₃ O ₄ /γ-АПС	Fe ₃ O ₄ /ГА-Ag
Fe ₃ O ₄ /DMSA	Fe ₃ O ₄ /Gd ₂ O ₃
Магнитные жидкости	
Fe ₃ O ₄ /ол. Na	Fe ₃ O ₄ /Gd ₂ O ₃ /ол. Na
Fe ₃ O ₄ /DMSA	
Биофункционализированные магниточувствительные нанокомпозиты	
Fe ₃ O ₄ /ПАА/Ig	Fe ₃ O ₄ /ГА/ Ig
Fe ₃ O ₄ /γ-АПС/CD-95	Fe ₃ O ₄ /ГА/CD-95
Fe ₃ O ₄ /γ-АПС/Ig	Fe ₃ O ₄ /ГА-Ag/ Ig
Fe ₃ O ₄ /γ-АПС/CD-95	Fe ₃ O ₄ /Gd ₂ O ₃
Fe ₃ O ₄ /DMSA/КБ	
Биофункционализированные магнитные жидкости	
Fe ₃ O ₄ /ол. Na/ПЭГ	Fe ₃ O ₄ /DMSA/SMCC/Ig
Fe ₃ O ₄ /ол. Na/ЦП	Fe ₃ O ₄ /Gd ₂ O ₃ /ол. Na
Fe ₃ O ₄ /DMSA/Ig	Fe ₃ O ₄ /Gd ₂ O ₃ /ол. Na/ПЭГ

Перечень сокращений:

ПАА – полиакриламид, γ-АПС – γ-аминопропилсилоксан, DMSA – мезо-2,3-димеркаптосукциновая кислота, SMCC – сульфосукцинимидил-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбоксилат, ГА – гидроксиапатит, КБ – карборан, ол. Na – олеат натрия, ЦП – цисплатин, ПЭГ – полиэтиленгликоль

Рассмотрим более подробно основные этапы синтеза образцов для исследований.

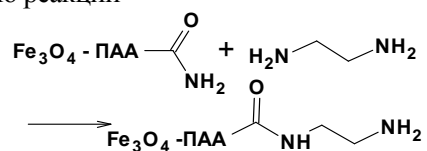
Создание биосовместимых покрытий на поверхности наноразмерного магнетита.

Наночастицы, предназначенные для транспорта лекарственных средств, должны иметь гидрофильную поверхность и размеры 8–60 нм. Одним из возможных подходов к увеличению времени циркуляции наночастиц в кровотоке является покрытие их гидрофильными полимерами типа полиэтиленгликоль (ПЭГ), что предотвращает агрегацию, минимизирует или вовсе устраняет адсорбцию белка, а также защищает частицу от клеток иммунной системы.

Модифицирование поверхности магнетита полиакриламидом. Одним из перспективных способов формирования покрытия на поверхно-

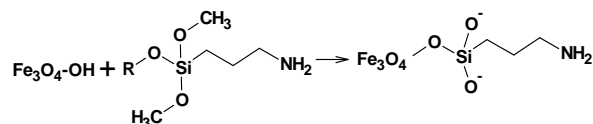
сти наноматериалов является полимеризация в плазме. Процесс формирования покрытий полимеризацией в плазме объединяет в себе все стадии образования полимера и проходит, по сути, в течение одного этапа. Следует отметить, что химические реакции в плазме, как правило, носят сложный многостадийный характер и протекают через промежуточные состояния возбужденных молекул. Макро- и микроскопические характеристики тлеющего разряда обеспечивают высокоэффективную генерацию радикалов мономерных молекул в элементарных процессах роста при полимеризации. Процессы переноса заряженных частиц в тлеющем разряде играют важную роль при полимеризации на поверхности, а именно, в образовании активного центра роста полимерной цепи. Сведения о характере инициирования реакций, образовании новой фазы в объеме и на поверхности с участием активных частиц важны для описания процессов получения пленок в тлеющем разряде, их структуры и свойств.

Слой полиакриламида на поверхности наноразмерного магнетита получали полимеризацией акриламида с N,N'-метилден-бис-акриламидом в плазме тлеющего ВЧ разряда. Анализ кинетических кривых титрования двойных углерод-углеродных связей свидетельствовал о полной полимеризации слоя акриламида в течение 2 мин. Поверхность полиакриламидного слоя активировали этилендиамином для образования реакционноспособных –NH₂ групп. Активацию осуществляли по реакции



Модифицирование поверхности магнетита γ-аминопропилсилоксаном.

Модифицирование поверхности наночастиц магнетита γ-аминопропилсилоксаном проводили жидкофазным способом полимеризацией γ-аминопропилтриэтоксисилана в толуоле. В результате реакции поверхность магнетита приобретала основные свойства за счет прививки γ-аминопропильных групп.



Полученные модифицированные образцы исследовались методами дериватографии, рентгеноструктурного анализа и ИК фурье-спектроскопии. Содержание аминопропильных

групп рассчитывали по потере массы в интервале 450–1010 К с учетом присутствия в пробе физически адсорбированной воды. Концентрация аминопропильных групп – 24 мкмоль/м².

Модифицирование поверхности магнетита мезо-2,3-димеркаптосукциновой кислотой. Перспективными модифицирующими агентами магниточувствительных наночастиц являются соединения с тиольными функциональными группами, поскольку образование межмолекулярных дисульфидных мостиков значительно повышает прочность покрытия. Использование мезо-2,3-димеркаптосукциновой кислоты (DMSA) для формирования капсулы магниточувствительных частиц решает проблему стабильности коллоидной системы в водной среде, биосовместимости материала, и позволяет иммобилизацию необходимых соединений через тиольные и карбоксильные функциональные группы поверхности.

Биоактивность DMSA характеризуется способностью к образованию связей функциональных групп покрытия с ионами тяжелых металлов и выведению их из организма. Тиольные группы, входящие в состав DMSA, способны к образованию связи с остатками цистеина в молекулах белков крови, облегчая тем самым ее выведение из организма. Данные изучения *in vivo* кинетики покрытия клеточной мембраны магнитными наночастицами с оболочками на основе DMSA подтверждают повышение (до 32,5 %) степени их фагоцитоза клетками иммунной системы (макрофагами и нейтрофилами).

Тиольные группы DMSA обеспечивают формирование дисульфидных мостиков между адсорбированными молекулами и образование прочной полимерной нанокапсулы. Покрытые DMSA магниточувствительные частицы являются перспективными носителями для проведения медико-биологических исследований.

DMSA формирует стабильное покрытие за счет образования межмолекулярных дисульфидных связей между цепями. Полученный водный золь наночастиц, покрытых DMSA, является устойчивым в широких пределах pH (3–11) в фосфатных буферных системах. Свободные карбоксильные группы придают наночастицам гидрофильные свойства. Свободные карбоксильные и тиольные группы могут использоваться для ковалентного закрепления биологических лигандов.

Для подтверждения наличия связи DMSA с поверхностью магнетита было проведено ИК фурье-спектроскопическое исследование покры-

тия наночастиц и применена рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия. Анализ, выполненный по методу Кимболла-Крамера-Рида показал, что количество SH-групп в нанокompозите составляет 2,4 ммоль/г. При S_{уд}= 130 м²/г количество SH-групп 0,019 ммоль/м².

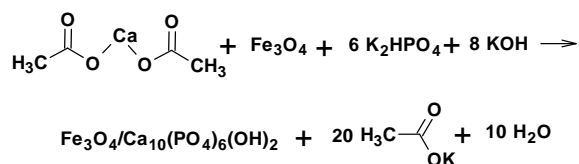
Важнейшими характеристиками магнитной жидкости являются размер частиц и дзета-потенциал. Последний определяет возможность и скорость перемещения дисперсной фазы относительно дисперсионной, интенсивность электрокинетических явлений и устойчивость зольей к деструкции дисперсных систем электролитами. Исследования дзета-потенциала и среднего размера частиц синтезированных магнитных жидкостей проводили методом динамического светорассеяния. Результаты измерений распределения частиц магнитных жидкостей Fe₃O₄-DMSA/вода по дзета-потенциалу и средний размер частиц приведены в табл. 2.

Табл. 2. Дзета-потенциал и усредненный размер частиц магнитных жидкостей Fe₃O₄-DMSA/вода согласно данным светорассеяния

дзета-потенциал, мВ	-40,3
ширина распределения по дзета-потенциалам, мВ	9,84
проводимость образца, мС/см	0,129
усредненный диаметр частиц, нм	40,5

Полученные результаты свидетельствуют о высоком отрицательном потенциале частиц при pH=7, благодаря чему возможно сильное электростатическое отталкивание, препятствующее агрегации частиц в водной среде. При росте pH дзета-потенциал уменьшается за счет повышения степени ионизации COOH- и SH- функциональных групп.

Модифицирование поверхности магнетита гидроксипатитом. Близкие к оптимальным покрытия гидроксипатита на поверхности магнетита получали из раствора ацетата кальция по реакции



Синтезированные образцы исследованы методами ИК фурье-спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии; изучены их состав и структура. Установлено, что фаза гидроксипатита

характеризуется соотношением Ca/P=1,7. Толщина слоя гидроксиапатита на поверхности наночастиц магнетита, оцененная по соотношению площади Fe2p-/Fe3p-линий и приросту массы нанокompозита, составляла ~ 4 нм.

Поскольку ацетат калия, являющийся сопутствующим продуктом реакции, безвреден для организма, гидроксиапатит, полученный данным способом, является перспективным материалом для применения в медицине и биологии.

Экспериментально установлена биосовместимость магниточувствительных нанокompозитов Fe₃O₄/ПАА, Fe₃O₄/γ-АПС, Fe₃O₄/ГА с клеточной линией карциномы молочной железы человека MCF-7. Для этого изучалось действие нанокompозитов на жизнеспособность клеток указанной линии *in vitro* (табл. 3).

Табл. 3. Результаты исследований биосовместимости синтезированных нанокompозитов

Носитель	Контроль, %	Живые клетки, %	Погибшие клетки, %
Fe ₃ O ₄	100	98	2
Fe ₃ O ₄ /γ-АПС	100	88	6
Fe ₃ O ₄ /ПАА	100	99	1
Fe ₃ O ₄ /ГА	100	100	0

Создание моделей магнитоуправляемых нанороботов. Иммунизация цитостатического препарата. Следующим этапом создания магниточувствительных полифункциональных нанокompозитов и нанороботов является иммобилизация цитотоксического препарата на модифицированной поверхности носителей. Одним из наиболее эффективных цитостатиков, применяющихся в современной онкомедицине, является цисплатин, в состав которого входит платина. Механизм противоопухолевого действия препаратов на основе платины связан с бифункциональным алкилированием цепей ДНК, вызывающим угнетение биосинтеза нуклеиновых кислот и апоптоз клеток. Экспериментально показано, что цитотоксическая активность растворов цисплатина сохраняется на протяжении одного месяца.

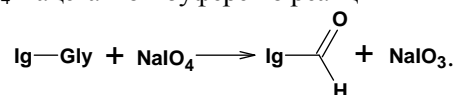
Иммобилизацию цисплатина на модифицированной поверхности магнетита осуществляли адсорбцией из раствора. Количество адсорбируемого цисплатина (по Pt²⁺) на поверхности Fe₃O₄/ПАА составило 128 мг/г, Fe₃O₄/γ-АПС – 98,3 мг/г, Fe₃O₄/ГА – 60,1 мг/г. Основная часть цитостатика адсорбировалась в течение первых 2–3 ч. Измерения проводили на однолучевом

двухканальном атомно-абсорбционном спектрофотометре С-115 М1 с пламенным атомизатором, дейтериевым корректором фона и цифровой регистрацией. Использовалась лампа с полым катодом на платину, аналитическая линия – 265,9, топливно-окислительная система: ацетилен – воздух.

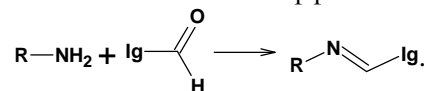
Иммобилизация моноклональных антител CD-95 на поверхности нанокompозитов. Идея разработанной методики ковалентного связывания антитела с нанокompозитом состояла во взаимодействии альдегидных групп, образующихся на молекулах гликопротеина в результате периодатного окисления боковых карбогидратных цепочек, с аминогруппами модификатора поверхности носителя. При этом образуются основания Шиффа (имины). Ковалентное присоединение антител к поверхности носителей по этой методике имеет преимущество по сравнению с другими, заключающееся в ориентированном закреплении молекул антитела фрагментом Fc к поверхности, тогда как Fab фрагмент остается свободным и ориентирован наружу.

Исследованы процессы неспецифической (физической) адсорбции и ковалентного присоединения моноклонального антитела CD-95 на поверхности нанокompозитов: Fe₃O₄/ПАА, Fe₃O₄/γ-АПС, Fe₃O₄/ГА. В качестве сенсорных молекул использовалось моноклональное мышечное антитело CD-95 против Fas-антигена человека изотипа IgG1, карпа, клоны DX2 производства DakoCytomation (Дания).

Окисление антитела для формирования альдегидной функциональной группы проводили NaIO₄ в ацетатном буфере по реакции



Ковалентная иммобилизация антитела на поверхность нанокompозита осуществлялась с образованием основания Шиффа



Количество адсорбированного вещества на поверхности нанокompозитов определяли измерением концентрации антител в контактных растворах до и после адсорбции на комбинированном ридере для микропланшета Synergy HT, Model SIAFRTD, Serial Number 202993 (Bio Tek) методом Бредфорда. В основу метода положен сдвиг спектра поглощения красителя Кумасси (Coomassie Blue) G-250 на длине волны 595 нм

при образовании им комплекса с гликопротеином. Концентрацию антитела измеряли по калибровочному графику и рассчитывали адсорбцию моноклональных антител на поверхности исследуемых наноконструкций (табл. 4).

Табл. 4. Количественные характеристики иммобилизации моноклональных антител CD-95

Наноконструкция	C ₀ , мкг/мл	A(CD-95), мкг/г; тип адсорбции
Fe ₃ O ₄ /ГА+CD-95	20,00	590 физическая
Fe ₃ O ₄ /γ-АПС+CD-95	20,00	1,2 физическая
Fe ₃ O ₄ /ПАА+CD-95	20,00	2,3 физическая
Fe ₃ O ₄ /γ-АПС+CD-95 _{окисл.}	3,88	137,7 ковалентная
Fe ₃ O ₄ /ПАА+CD-95 _{окисл.}	3,88	163,2 ковалентная

Отметим, что при распознавании специфического микробиологического объекта в биологической среде, например, клетки, магниточувствительный носитель сенсора находится в непосредственной близости от нее. При этом имеется реальная возможность точного определения ее пространственного местонахождения наблюдением магниторезонансными методами за перемещением композита во времени. Применяя методы компьютерной томографии, можно визуализировать этот процесс и получить объемные изображения. Последнее особенно важно для ранней диагностики заболеваний и установления точных размеров опухоли.

Исследование цитотоксического эффекта моделей нанороботов. Изучено цитотоксическое влияние магниточувствительных наноконструкций с адсорбированным цитостатиком, конъюгированным моноклональным антителом (моделей нанороботов), на жизнеспособность клеточной линии карциномы молочной железы человека MCF-7 *in vitro*. Для сравнения изучалось действие наноконструкций на жизнеспособность клеток с отдельно иммобилизованными моноклональными антителами и цитостатиком. Для контроля были использованы: чистая питательная среда; цисплатин с концентрацией C=2,5 мкг/мл, что соответствует четвертичной дозе биологического эквивалента эффективности IC25; моноклональное антитело CD-95 с C=0,2 мкг/мл (доза, используемая при лечении, составляет 10–30 мкг/мл) (табл. 5). Также были исследованы исходный магнетит и наноконструкции магнетит/полиакриламид (Fe₃O₄/ПАА), магне-

тит/γ-аминопропилсилоксан (Fe₃O₄/γ-АПС), магнетит/гидроксиапатит (Fe₃O₄/ГА) (табл. 3).

Использование магнитных наноконструкций, в состав которых входит противоопухолевый препарат и моноклональное антитело CD-95, сопровождалось синергическим эффектом цитотоксического действия (превышение общего действия контрольных доз препаратов цисплатина и антитела достигало 1,5 раза).

Табл. 5. Результаты исследования цитотоксичности моделей нанороботов

Контроли сравнения	Количество погибших клеток, %				
	эффект препарата	Fe ₃ O ₄ /γ-АПС+ЦП	Fe ₃ O ₄ /γ-АПС+CD-95	Fe ₃ O ₄ /γ-АПС+ЦП+CD-95	Fe ₃ O ₄ /ПАА+ЦП
цисплатин (ЦП)	25	31	–	–	38
антитело CD-95	10	–	20	–	–
ЦП+CD-95	40	–	–	46	–

Контроли сравнения	Количество погибших клеток, %				
	Fe ₃ O ₄ /ПАА+CD-95	Fe ₃ O ₄ /ПАА+ЦП+CD-95	Fe ₃ O ₄ /ГА+ЦП	Fe ₃ O ₄ /ГА+CD-95	Fe ₃ O ₄ /ГА+ЦП+CD-95
цисплатин (ЦП)	–	–	48	–	–
антитело CD-95	21	–	–	27	–
ЦП+CD-95	–	57	–	–	57

Синергический эффект обусловлен рядом факторов. Во-первых, осуществлена адресная доставка комплекса цитостатик – моноклональное антитело к опухолевым клеткам благодаря наличию на их поверхности соответствующих рецепторов. Цитотоксический эффект собственно цисплатина осуществляется через образование ковалентных связей молекул препарата с ДНК. Гибели клетки способствует травматическое действие наноконструкций на клеточную мембрану, что существенно улучшает проникновение лекарственного препарата через мембранный барьер. Во-вторых, система лиганд – рецептор играет важную роль в апоптозе злокачественных клеток. Связываясь со своим рецептором, антитело запускает иммунотерапевтический механизм, который приводит к апоптозу. Следовательно, использование магниточувствительных наноконструкций (нанороботов), в состав которых входят противоопухолевый препарат и моноклональное

антитело CD-95, позволяет реализовать распознавание специфических клеток и достичь цитотоксического эффекта препарата при более низких концентрациях, уменьшая при этом токсическое воздействие препарата на организм в целом.

Нанокмозиты для нейтронозахватной терапии. Метод нейтронозахватной терапии основан на селективном накоплении изотопов ^{10}B , ^{157}Gd в раковых клетках и их взаимодействии с тепловыми нейтронами. Энергия γ -кванта, который выделяется при захвате нейтрона ядром атома бора, составляет 17 % от общей выделяемой энергии, поэтому основное воздействие на раковую клетку оказывают осколки: α -частицы и ядра лития ^7Li . Поскольку длина свободного пробега осколков сопоставима с размерами клетки, а сечение захвата тепловых нейтронов ядер ^{10}B на 4–7 порядков больше, чем углерода, водорода, кислорода и азота, входящих в состав клетки, здоровые ткани организма практически не повреждаются.

Изотоп ^{157}Gd имеет рекордное (255000 барн) сечение захвата нейтронов, высокий (98 %) выход конверсионных и Оже-электронов. Важной областью применения соединений гадолиния является нейтронозахватная терапия; при взаимодействии изотопов с эпитепловыми нейтронами происходит образование γ -фотонов и электронов внутренней конверсии (индуцированная радиация), создающих цитотоксический эффект. Использованию гадолиния в терапевтических целях, несмотря на высокое сечение захвата нейтрона ядром ^{157}Gd , препятствовала высокая нефротоксичность свободных, т.е. не связанных в комплексы, неорганических солей гадолиния. Значительный интерес к гадолинию в нейтронозахватной терапии обусловлен также с введением в практику Gd-содержащих препаратов для магнитно-резонансной диагностики и визуализации опухолей.

Перспективными для изготовления высокоэффективных нейтронозахватных агентов представляются соединения, одновременно содержащие бор и гадолиний.

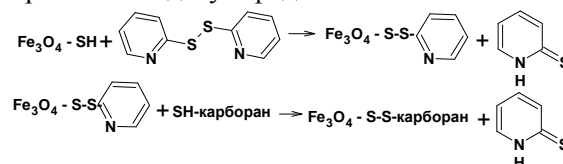
В качестве перспективного способа обеспечения селективности накопления ^{10}B или ^{157}Gd на тканевом уровне нами рассматривается использование нейтронозахватных агентов, модифицированных специфическими антителами, в составе магнитной жидкости. С этой целью разработаны методики получения борсодержащих магнитных жидкостей на основе наноразмерного магнетита,

стабилизированного мезо-2,3-димеркаптосукциновой кислотой, а также феррита гадолиния.

Синтез карборансодержащих нанокмозитов по реакции тиол-дисульфидного обмена. Актуальным направлением создания нанокмозитов для нейтронозахватной терапии является иммобилизация борсодержащих соединений (карборанов) на поверхности магниточувствительных нанокмозитов, модифицированных биосовместимым покрытием с необходимыми функциональными группами.

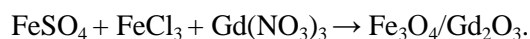
Как уже отмечалось выше, использование DMSA для формирования капсулы магниточувствительных частиц решает проблему стабильности коллоидной системы в водной среде, биосовместимости материала, и позволяет иммобилизацию необходимых соединений через тиольные и карбоксильные функциональные группы поверхности.

Иммобилизация на поверхность DMSA молекул орто-тиокарборана осуществлялась по реакции тиол-дисульфидного обмена с дипиридилдисульфидом. Пиридилдисульфиды (пиридилдитиолы) взаимодействуют со свободными сульфогидрильными группами по реакции дисульфидного обмена в широком спектре pH с образованием дисульфидной связи:



Оптимальные значения pH для проведения реакции находились в пределах 6–9. Методами рентгеноструктурного анализа и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии показано наличие бора и –S–S– связей на поверхности нанокмозита.

Синтез Gd-содержащих нанокмозитов. В настоящей работе синтезированы нанокмозитные материалы, содержащие гадолиний. Модифицирование магнетита катионами Gd проводили жидкофазным способом при помощи нитрата Gd. Состав и структуру полученных образцов исследовали методами ИК фурье-спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии. Магнитные характеристики нанокмозитов исследовали с помощью вибрационного магнитометра. Синтез образцов проводили по следующей схеме:



В результате синтеза получен наноматериал с хорошими магнитными свойствами. На рентгенограмме отчетливо проявляется фаза магнетита и присутствует аморфная фаза (рис. 1, кривая 1).

Для достижения степени кристалличности, приемлемой для определения методом РФА, образцы отжигали при высоких температурах. После отжига при $T = 900\text{--}1000\text{ }^\circ\text{C}$ на дифрактограмме (рисунок, кривая 2) наблюдаются пики при углах от 20 до 30° , которые относятся к кристаллической фазе GdFeO_3 (JCPDS № 47-67).

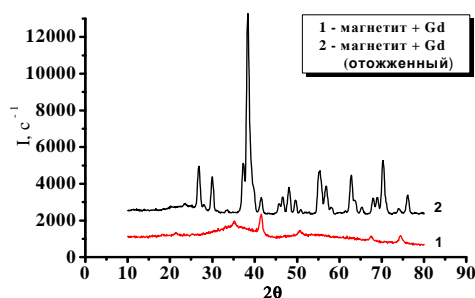


Рисунок. Дифрактограмма магнетита, модифицированного гадолинием

По результатам рентгенофазового анализа можно сделать вывод, что в процессе синтеза при заданных условиях образуются соединения типа $\text{Gd}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$, обладающие хорошими магнитными свойствами. Далее, в процессе отжига при высоких температурах на воздухе происходит окисление и образуется парамагнитная фаза GdFeO_3 .

ВЫВОДЫ

Рассмотрены результаты научных исследований, позволяющие оценить современное состояние и перспективы проблемы направленного транспорта лекарственных препаратов. Проанализированы перспективные пути создания биосовместимых магниточувствительных полифункциональных нанокомпозигов с иерархической архитектурой (моделей медико-биологических нанороботов), результаты исследований их физико-химических свойств и биоактивности *in vitro* на клеточных линиях MCF-7. Изучены процессы иммобилизации на поверхности нанокомпозигов цитотоксических препаратов, моноклональных антител CD-95 с иммунотерапевтическими и сенсорными свойствами. Исследованы возможности целевой доставки фармпрепаратов за счет распознавания специфических клеток моноклональными антителами,

проанализировано влияние полученных моделей нанороботов на онкоклетки карциномы молочной железы человека (линия MCF-7). С целью решения задачи прицельной доставки терапевтических препаратов в методе нейтронозахватной терапии синтезированы и изучены магниточувствительные наноматериалы, содержащие бор и гадолиний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roco M.C., Williams R.S., Alivisatos P. Nanotechnology Research Directions. Vision for Nanotechnology R&D in the Next Decade. – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002. – 171 p.
2. Levy L., Sahoo Y., Kim K.-S. et al. Nanochemistry: synthesis and characterization of multifunctional nanoclusters for biological applications // Chem. Mater. – 2002. – V. 14. – P. 3715–3721.
3. Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур / под ред. А.П. Шпака, П.П. Горбика. – Киев: Наук. думка, 2007. – 428 с.
4. Gorbik P.P., Dubrovin L.V., Petranovska A.L. et al. Chemical construction of polyfunctional nanocomposites and nanorobots for medicobiological applications // Nanomaterials and Supramolecular Structures. Physics, Chemistry, and Applications. – Netherlands: Springer, 2009. – P. 63–78.
5. Горбик П.П., Чехун В.Ф., Шпак А.П. Физико-химические и медико-биологические аспекты создания полифункциональных нанокомпозигов и нанороботов // Наноструктурные материалы – получение, свойства, применение. – Минск: Белорус. наука, 2009. – С. 131–139.
6. Gorbik P.P., Petranovska A.L., Turelyk M.P. et al. Construction of magnetocarried nanocomposites for medico-biological applications // Chemistry, Physics and Technology of Surface. – 2010. – V. 1, N 3. – P. 360–370.
7. Пат. № 86322 Украина. Нанокапсула з функціями наноробота / П.П. Горбик, А.Л. Петрановська, Д.Г. Усов, Л.П. Сторожук. – Заявл. 25.12.2007; Опубл. 10.04.2009. – Бюл. № 15.
8. Gu H., Chao J., Xiao S.-J., Seeman N.C. A proximity-based programmable DNA nanoscale line // Nature. – 2010. – V. 465. – P. 202–205.
9. Lund K., Manzo A.J., Dabby N. et al. Molecular robots guided by prescriptive landscapes // Nature. – 2010. – V. 465. – P. 206–210.
10. Корочкова Т.Е., Дехтяр М.Л., Розенбаум В.М. Особенности кинематики дипольных фотомоторов // Химия, физика и технология поверхности. – 2008. – Вып. 14. – С. 52–60.
11. Корочкова Т.Е., Розенбаум В.М. Молекулярный насос, управляемый флуктуациями электрических

- кого поля // Химия, физика и технология поверхности. – 2006. – Вып. 11–12. – С. 29–40.
12. Горбик П.П., Дубровин И.В., Петрановская А.Л. и др. Магнитоуправляемый транспорт лекарственных препаратов: современное состояние

разработки и перспективы // Поверхность. – 2010. – Вып. 2(17). – С. 286–297.

Поступила 30.05.2011, принята 06.06.2011

Проблема спрямованого транспорту лікарських препаратів: стан і перспективи

**П.П. Горбик, А.Л. Петрановська, М.П. Турелик, М.В. Абрамов, С.П. Туранська,
Е.В. Пилипчук, В.Ф. Чехун, Н.Ю. Лук'янова, А.П. Шпак, А.М. Кордубан**

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, gorbyk@isc.gov.ua*

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
Національної академії наук України
вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна*

*Інститут металофізики ім. Г.В. Курдюмова Національної академії наук України
бульв. Академіка Вернадського, 36, Київ, 03142, Україна*

Розглянуто результати наукових досліджень, що стосуються проблеми спрямованого транспорту лікарських препаратів та дозволяють оцінити її сучасний стан і перспективи. Проаналізовано шляхи створення нанокмпозитів з багаторівневою ієрархічною архітектурою та функціями медико-біологічних нанороботів: здатністю розпізнавання мікробіологічних об'єктів в біологічних середовищах, спрямованого транспорту і депонування лікарських препаратів в органах-мішенях, діагностики і терапії захворювань на клітинному рівні. Фізико-хімічні експериментальні дані, медико-біологічні дослідження підтверджують їхню перспективність для створення нових лікарських форм комплексної цитотоксичної, імунотерапевтичної і гіпертермічної дії, нейтронозахватної терапії.

Problem on directed drug transport: current status and prospects

**P.P. Gorbyk, A.L. Petranovskaya, M.P. Turelyk, N.V. Abramov, S.P. Turanskaya,
E.V. Pilipchuk, V.F. Chekhun, N.Yu. Lukyanova, A.P. Shpak, A.M. Korduban**

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, gorbyk@isc.gov.ua*

*Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology
of National Academy of Sciences of Ukraine
45 Vasylykivska Str., Kyiv, 03022, Ukraine*

*Kurdyumov Institute for Metal Physics of National Academy of Sciences of Ukraine
36 Academician Vernadsky Avenue, Kyiv, 03142, Ukraine*

Research work results are reviewed related to the problem on directed transport of drugs as well as the current status and prospects in this field. The ways have been analyzed of nanocomposites creation with multilevel hierarchical architecture and functions of biomedical nanorobots such as the capability of microbiological objects recognition in biological media, directed transport and deposition of drugs in target organs, diagnosis and treatment of diseases at the cellular level. Physico-chemical, medical, and biological research data confirm effectiveness of such nanocomposites usage for the creation of new therapeutic forms of combined cytotoxic, immunotherapeutic, hyperthermic effect as well as for neutron capture therapy.