

УДК 539.211:544.723

А.Л. Петрановська¹, М.В. Абрамов¹, С.П. Туранська¹, П.П. Горбик¹, А.П. Кусяк²

МАГНІТНІ РІДИНИ НА ОСНОВІ МАГНЕТИТУ І ДОКСОРУБІЦИНУ ДЛЯ СПРЯМОВАНОЇ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

¹ Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, E-mail: petranovska@ukr.net

² Житомирський державний університет імені Івана Франка
вул. В.Бердичівська 40, Житомир, 10008, Україна

Розроблено технологічну методику синтезу нових магнітних рідин на основі колоїдних систем модифікованого магнетиту, що містять хіміотерапевтичний препарат доксорубіцин. Модифікування поверхні магнетиту здійснено гідроксоапатитом, магнітну рідину стабілізовано олеатом натрію та поліетиленгліколем для надання біосумісних властивостей та низької здатності до адсорбції білків плазми крові. Вивчено фізико-хімічні властивості розроблених колоїдних систем.

Ключові слова: магнітні рідини, модифікування, біосумісні покриття, гідроксоапатит, адсорбція, доксорубіцин

ВСТУП

Магнітні наночастинки широко використовуються як багатофункціональні терапевтичні та діагностичні інструменти у біології та медицині [1, 2]. Кон'югація з відповідним антитілом надає здатності наночастинкам «мітити» специфічні молекули, клітинні популяції, структури або мікроорганізми. На цій основі розроблено ряд сучасних методик магнітного імунотестування, в яких магнітне поле, що породжується молекулами-мішенями, пов'язаними з магнітними частинками, безпосередньо вимірюється за допомогою чутливого приладу [3].

Магнітні наноконкомпозити розміром до 100 нм містять феро(фері)магнітну серцевину, що складається з металу або оксиду металу, інкапсульовану в неорганічне або полімерне покриття, яке забезпечує стабільність, біосумісність частинок, а також дозволяє прикріплювати до їх поверхні необхідні біомолекули. Магнітні властивості дозволяють використовувати наночастинки і наноконкомпозити на їх основі в різних медичних цілях, зокрема, як:

1) магнітних контрастуючих агентів при отриманні зображень методом магнітного резонансу;

2) агентів гіпертермічної обробки за рахунок ефективного поглинання енергії височастотного електромагнітного поля;

3) магнітних векторів в методах спрямованої доставки лікарських препаратів.

Найбільш перспективним застосуванням вказаних напрямів є діагностика і лікування раку. Для ефективного лікування онкологічних захворювань використовують гіпертермію пухлинних тканин. При цьому локальне підвищення температури в обмеженій ділянці тіла може бути здійснене поглинанням в ній електромагнітного випромінювання відповідної частоти. Селективність такої теплової дії можна підвищити, якщо в зону поширення пухлини вводити речовини, що здатні поглинати електромагнітне випромінювання ефективніше за воду в навколишніх тканинах.

Серед феромагнітних матеріалів, найбільш широко використовуваних для створення магнітних наночастинок, слід виділити магнетит Fe_3O_4 . Наночастинки Fe_3O_4 можуть бути синтезовані шляхом співосадження іонів Fe^{2+} і Fe^{3+} у лужному середовищі. Величина частинок, отриманих цим методом, відносно однорідна. Проте, внаслідок високого співвідношення площі поверхні до об'єму та наявної магнітної диполь-дипольної взаємодії,

магнітні частинки зазнають агрегації, що може обмежувати корисні властивості магнітних рідин в таких сферах застосування, як розподіл клітинного матеріалу, доставка лікарських препаратів, отримання зображень методом ЯМР-томографії, встановлення діагнозу і лікування раку [4].

Недоліки традиційних методів лікування пухлин, що включають хірургію, опромінення, хіміотерапію і біологічні способи (імуно-терапія), полягають, зокрема, у важкодоступності пухлини, ризику оперативного втручання в організм, поширенні ракових клітин в інші тканини. Імунотерапія з високим терапевтичним ефектом може застосовуватися для лікування невеликих пухлин, проте її ефективність знижується на пізніших стадіях раку.

Значні переваги використання наночастинок для цільової доставки лікарських препаратів полягають у:

- 1) можливості їх доставки в задані ділянки організму;
- 2) зниженні загальної дози ліків, необхідної для досягнення терапевтичної концентрації в органі-мішені;
- 3) уникненні серйозних побічних токсико-алергічних наслідків [2].

Показано, що чим більші хімічна інертність і гідрофільність поверхні наночастинок, тим довший час напівжиття частинки в плазмі крові. Гідрофільність частинки може бути забезпечена поверхневою оболонкою з гідрофільних макромолекул, які створюють просторові перешкоди і знижують адсорбцію опсонинів (цитофільні антитіла, що сприяють підготовці та посиленню фагоцитарної активності макрофагів). Як гідрофільні макромолекули широко використовується поліетиленгліколь з молекулярною масою від 2000 до 5000 г/моль [5].

Створення на поверхні наночастинок нейтральних і гідрофільних покриттів (таких як поліетиленгліколь, полісахариди, дисопсоніни (сироватковий альбумін людини) тощо) також підвищує час їх циркуляції в кровеносній системі від декількох хвилин до годин або днів [2].

Застосовуючи відповідну попередню підготовку поверхні магнітних носіїв (наприклад, модифікування певними неорганічними або органічними сполуками) з метою підвищення їх біосумісності, сорбційної

ємності, оптимізації структури композиту приєднанням необхідних функціональних груп, можна створити ефективний носій для спрямованої доставки терапевтичних препаратів і депонування, ранньої діагностики і комплексної терапії захворювань на клітинному рівні, збору продуктів клітинного розпаду і виведення їх з організму за допомогою магнітного поля [2–4].

При модифікуванні поверхні носіїв біосумісними компонентами необхідно оптимізувати функції модифікуючої складової. Модифікатор може виконувати роль утримувача терапевтичного або діагностичного препарату і визначати важливі характеристики ліків: розчинність, біодоступність, пролонгованість дії за рахунок повільної десорбції лікарських препаратів з приповерхневої матриці, термін зберігання та ін. Способи закріплення фармакологічно активних речовин на поверхні носія також можуть бути різними, що визначається, зокрема, призначенням ліків і клінічною патологією, в умовах якої вони застосовуються.

Подібність структури та складу біологічного та синтетичного гідроксопатиту (ГА) визначає інтерес до методів одержання останнього, придатного для медичних цілей. Оскільки магнітокеровані композити мають безпосередній контакт з такою складною біосистемою, як плазма крові, використання гідроксопатиту для покриття магнітокерованого носія, нанорозмірного магнетиту є доцільним та перспективним.

Викладене обґрунтовує постановку цієї експериментальної роботи, метою якої є розробка перспективної для практичного використання методики синтезу нових магнітних рідин на основі колоїдних систем, що містять наноструктури типу магнетит (Fe_3O_4)/гідроксопатит (ГА)/доксорубіцин (ДР)/олеат натрію (ол. Na)/поліетиленгліколь (ПЕГ) та вивчення їх основних фізико-хімічних властивостей.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

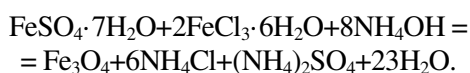
Біосумісність гідроксопатиту усуває багато перешкод для ефективного застосування магнітокерованих лікарських форм на його основі. Однак, складність хімічної будови та технології синтезу ГА обмежують можливості їх виготовлення. Тому, на початковому етапі створення вказаних лікарських форм

актуальним завданням є розробка перспективної для практичного використання хімічної методики синтезу гідроксоапатиту відповідної стехіометрії на поверхні нанорозмірного магнетиту при збереженні його магнітних властивостей.

Синтез нанорозмірного магнетиту.

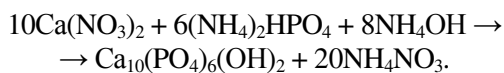
Необхідність одержання нанорозмірних носіїв, що мають високі магнітні властивості, обумовлює важливість дотримання певних рекомендацій при проведенні синтезу. Зокрема, гомогенність реакційного середовища забезпечується постійним інтенсивним перемішуванням реакційної суміші, надлишок лугу сприяє максимальному виходу реакції, поступове рівномірне додавання розчину солей заліза до амоніачного розчину обумовлює формування монодисперсного нанорозмірного магнетиту.

Високодисперсний магнетит синтезували за реакцією Елмора:



Використання гідроксиду амонію забезпечує необхідні м'які умови реакції співосаження та сприяє утворенню в ході реакції осаду стехіометричного магнетиту $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ з рівним вмістом оксидів заліза (II і III). За жорстких умов перебігу реакції під дією гідроксиду лужного металу можливе утворення магнетиту змінного складу $m\text{FeO} \cdot n\text{Fe}_2\text{O}_3$ (при $m \neq n$), що погіршує магнітні властивості одержаного носія [6].

Синтез магнітної рідини на основі магнетиту, вкритого шаром гідроксоапатиту та низькою здатністю до сорбції білків плазми крові. В основу синтезу гідроксоапатиту покладена реакція:



Для синтезу $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ необхідну кількість компонентів розраховували таким чином, щоб молярне співвідношення Ca:P було в межах 1.67:1.75 при надлишку амоніаку (рН = 11). рН кожного з розчинів (0.1 М $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ та 0.1 М $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) доводили 25 %-м NH_4OH до 11. Наважку одержаного Fe_3O_4 поміщали у розчин $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, до якого поступово додавали, при інтенсивному перемішуванні, розчин $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. В результаті реакції утворюється об'ємний осад. Після

додавання всього об'єму $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ реакційну суміш перемішували ще протягом 1 год при нагріванні до 100 °С та залишали на 24 год. Утворений нанокомпозит $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ промивали $\text{H}_2\text{O}_{\text{dist}}$ до нейтрального рН та відділяли за допомогою постійного магніту. Для одержання нанодисперсного матеріалу продукт реакції обробляли ультразвуком двічі, з перервою 5–10 хв протягом 5 хв.

Для запобігання агрегації нанодисперсних частинок їх поверхню стабілізували олеатом натрію при температурі 80 °С у динамічному режимі впродовж 1 год. Одержану магнітну рідину ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ол.На}$) доводили до робочої концентрації $C = 3$ мг/мл. Отримана магнітна рідина є колоїдною системою, в якій частинки магнетиту в полярному дисперсійному середовищі стабілізовані подвійним шаром молекул олеату натрію [7, 8].

Наявність гідроксоапатитового покриття на наночастинках магнетиту підтверджено рентгенофазовим аналізом на автоматизованому приладі ДРОН-УМ1 з геометрією зйомки по Бреггу-Брентано у випромінюванні $\text{CoK}\alpha$ лінії анода ($\lambda = 1.79021 \text{ \AA}$) з Fe фільтром у відбитому пучку. Значення середнього розміру областей когерентного розсіювання або кристалітів оксидів заліза були розраховані за методикою [9], яка основана на рівнянні Шеррера [10]. Згідно з рівнянням, в припущенні, що усі зерна є сферичними, $D_{\text{рФА}} = 1.33\lambda/[d(2\theta) \cdot \cos \theta]$, де λ – довжина хвилі випромінювання, $d(2\theta)$ – розширення дифракційної лінії. Середній розмір кристалітів складав ~10 нм.

Питома поверхню ($S_{\text{пит}}$) зразків визначали методом термодесорбції азоту на приладі KELVIN 1042 фірми «COSTECH Instruments». Питома поверхня дослідних зразків становила $S = 125 \text{ м}^2/\text{г}$.

ІЧ Фур'є-спектри вихідного магнетиту, гідроксіапатиту і нанокомпозиту магнетит/гідроксіапатит досліджували за допомогою Фур'є-спектрометра Perkin Elmer (модель 1720X) в діапазоні 4000–400 см^{-1} .

Електронну структуру композитів досліджували методом рентгенівської фотоелектронної спектроскопії (РФС) на електронному спектрометрі ЭС-2402 з енергоаналізатором PNOIBOS-100_SPECS ($E_{\text{MgK}\alpha} = 1253.6 \text{ eV}$, $P = 200 \text{ Вт}$, $p = 2 \cdot 10^{-7} \text{ Па}$). Спектрометр оснащений іонною гарматою

IQE-11/35 і джерелом повільних електронів FG-15/40 для компенсації зарядки поверхні діелектриків.

Згідно даним РФС величина співвідношення Ca/P в іммобілізованому поверхневому шарі синтезованих зразків відповідає стехіометрії гідроксоапатиту (Ca/P = 1.67).

Розміри ($D_{\text{ПЕМ}}$) і форму частинок у зразках вивчали методом електронної просвічуючої мікроскопії (ПЕМ) (JEOL 2010). Як підкладки для зразків використовувалися вуглецеві плівки з круглими отворами на мідних сіточках.

Намагніченість зразків вимірювали за допомогою вібраційного магнітометра на частоті 228 Гц за кімнатної температури. Опис установки і методики вимірювання викладені в [11]. Зразками для досліджень служили сухі розмагнічені полідисперсні матеріали. Для порівняння використовували нікелевий зразок і наночастинки Fe_3O_4 (98 %) виробництва фірми «Nanostructured & Amorphous Materials Inc», USA. Похибка вимірювання σ_s по відношенню до еталонного зразка не перевищувала 2.5 %.

Дослідження ізотерми адсорбції доксорубіцину (ДР) на поверхні нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$. Наважки нанокompозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ по 30 мг заливали розчинами доксорубіцину ($V = 5$ мл) різної концентрації. Адсорбцію ДР проводили у фізіологічному середовищі протягом 2 год в динамічному режимі при кімнатній температурі. Кількість адсорбованої речовини на поверхні нанокompозитів визначали вимірюванням концентрації ДР контактних розчинів до і після адсорбції за допомогою спектрофотометра Spectrometer Lambda 35 Uv/Vis Perkin Elmer Instruments при $\lambda = 480$ нм по калібрувальному графіку.

Дослідження кінетики адсорбції ДР на поверхні нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$. Як і при дослідженні ізотерм, використовували наважки (30 мг) нанокompозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, які заливали розчинами доксорубіцину ($V = 5$ мл) різної концентрації, адсорбцію ДР здійснювали у фізіологічному середовищі (динамічний режим, кімнатна температура). Кількість адсорбованої речовини на поверхні нанокompозитів визначали вимірюванням через певний фіксований час (від 30 хв до доби) концентрації ДР контактних розчинів.

Для створення магніточутливих колоїдних систем з низькою здатністю до сорбції білків плазми крові одержану магнітну рідину з

адсорбованим доксорубіцином $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}/\text{ол.На}$ додатково модифікували ПЕГ-2000 з розрахунку 10 %–15 % полімеру від маси наважки нанокompозиту. Модифіковану магнітну рідину $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$ синтезували в динамічному режимі впродовж 3 год.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Синтезовані наночастинки магнетиту характеризуються високими середніми значеннями питомої (на одиницю маси) намагніченості насичення $\sigma_s = 56.2$ Гс·см³/г. Вони є перспективними як магніточутливі носії для спрямованої доставки біологічно активних сполук у біологічному середовищі.

З метою створення магніточутливих колоїдних систем з високою біосумісністю та попередження агрегування частинок розроблена методика модифікування нанорозмірного магнетиту гідроксоапатитом з подальшою стабілізацією олеатом натрію та ПЕГ.

Зображення синтезованих при температурі ~293 К наночастинок $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, стабілізованих олеатом натрію (рис. 1), отримані методами електронної просвічуючої мікроскопії (ПЕМ) та статистично опрацьовані.

Одержані розподіли частинок за розмірами і об'ємами дозволяють охарактеризувати синтезовану магнітну рідину, як полідисперсію, що складається з частинок $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ з поверхневим шаром олеату натрію. Частинок Fe_3O_4 мають розміри від 4 до 23 нм при максимальному вмісті (22 %) частинок розміру 6.8–8.5 нм. Кількість частинок розміру 13.2–15.7 нм складає ~9 %, проте вони займають найбільший (~35 %) об'єм дисперсії. Частинок розміру 17–19 нм складають 18 % об'єму матеріалу, а частинки розміру 20–23 нм – 10 %.

У дослідженій області розмірів частинки магнетиту за кімнатної температури знаходяться в суперпарамагнітному стані. Магнітний момент частинки спонтанно переорієнтується уздовж легких осей намагнічування під впливом теплової енергії, а встановлення теплової рівноваги частинки характеризується часом Неєлевської релаксації. Ансамбль частинок, що знаходяться в суперпарамагнітному стані, має безгістерезисну криву перемагнічування і, отже, нульові значення коерцитивної сили (H_c) і залишкової

намагніченості (M_r). Експериментально було показано, що такі показники має монодисперсія частинок магнетиту з діаметром ≤ 16 нм.

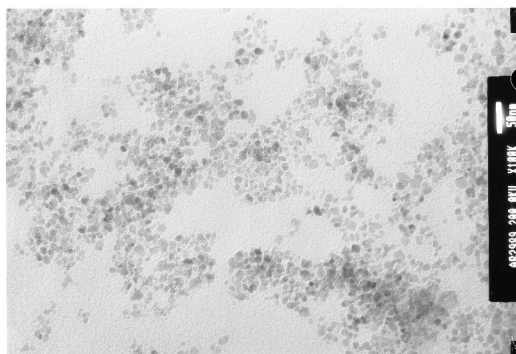


Рис. 1. ПЕМ зображення синтезованих при температурі ~ 293 К наночастинок $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$, стабілізованих олеатом натрію

Мале значення M_r частинок магнетиту важливе для медико-біологічних застосувань, наприклад, при транспорті лікарських препаратів по кровоносних судинах малого діаметру, в яких у край небажана агрегація частинок. З іншого боку, для ефективного утримання частинки магнітним полем її розміри і значення σ_s не мають бути малими, оскільки сила, обумовлена прикладеним зовнішнім насичуючим магнітним полем, що утримує носій у кровотоці, пропорційна його об'єму, градієнту поля і значенню σ_s . У [12] детально проаналізовані умови транспорту магнітних носіїв по кровоносних судинах і умови утримання їх магнітним полем.

В попередніх роботах, наприклад [13], вивчали вплив олеату натрію та ПЕГ на магнітні властивості водних колоїдних систем. В цій роботі досліджено наночастинки вихідного магнетиту та наночастинки вихідного магнетиту, модифіковані гідроксоапатитом і стабілізовані олеатом натрію (рис. 2 а). Вони характеризуються $H_c = 70\text{--}80$ Е. Розрахункові усереднені часи Нієлівської релаксації частинок магнетиту діаметрів 4–22 нм складають $\tau_N \sim 10^{-9}\text{--}10^{-6}$ с, час вимірювання складає ~ 100 с. Коерцитивна сила, ймовірно, обумовлена або невеликою кількістю досить великих частинок діаметром 25–40 нм або/та їх агрегатами, об'єднаними диполь-дипольною взаємодією.

Порівняно магнітні властивості одержаних водних магнітних рідин $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На}$ та $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ол.На}$ (рис. 2 б). Згідно експери-

ментальних кривих, коерцитивні сили магнітних рідин складають 2–3 Е. Методом магнітної гранулометрії [14], який ґрунтується на порівнянні експериментальної кривої намагнічування з ланжевенівською кривою при заданому закону розподілу частинок за розмірами і їх магнітних параметрах, зокрема, намагніченості насичення матеріалу і товщини розмагніченого шару. По кривій намагнічування магнітної рідини знаходили розподіл частинок за розмірами. Криві співпадають у випадку логнормального розподілу частинок магнетиту за умови того, що частинка магнетиту складається з ядра, намагніченого до насичення (~ 90 Гс $\text{см}^3/\text{г}$) і слабomagнітного шару, товщина якого досягає ~ 0.84 нм.

У зв'язку з вищевикладеним, була синтезована колоїдна система $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ол.На}$ з робочою концентрацією $C = 3$ мг/мл, в якій частинки магнетиту в полярному дисперсійному середовищі стабілізовані подвійним шаром молекул олеату натрію.

Супрамолекулярні системи біосумісних наноконструкцій з ієрархічною архітектурою: магнетит – біосумісне покриття – хіміотерапевтичний препарат є важливими для розробки новітніх фармацевтичних засобів для онкотерапії. Галузь спрямованого транспорту терапевтичних препаратів має суттєві досягнення на сьогоднішній день, зокрема новітні нанобіотехнології інкапсулювання, розпізнавання та цільового вивільнення терапевтичного препарату. Впровадження цих методів у практику є основою сучасного прогресу у діагностиці та терапії, зокрема, на клітинному та генному рівні.

Для створення стійкою колоїдної системи $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}/\text{ол.На}$ була розроблена методика іммобілізації цитостатичного препарату доксорубіцин на поверхні магніточутливих наночастинок $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ та досліджено адсорбційні характеристики поверхні наноконструкції щодо доксорубіцину.

Доксорубіцин (Doxorubicinum, брутто-формула $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{NO}_{11}$) – протипухлинний антибіотик антрациклінового ряду, цитостатичний препарат, відомий з кінця 1960-х років. Молекула доксорубіцину складається з тетрациклічного антрахіноїдного аглікону доксорубіцінона, сполученого глікозидним зв'язком з аміноцукром даунозаміном. Розчинний у водних розчинах кислот, ацетоні, бутанолі, хлороформі. Комерційно доступний у

вигляді доксорубіцину гідрохлориду. рН водного розчину 4.0–5.5 (у концентрації 5 мг/мл) (рис. 3).

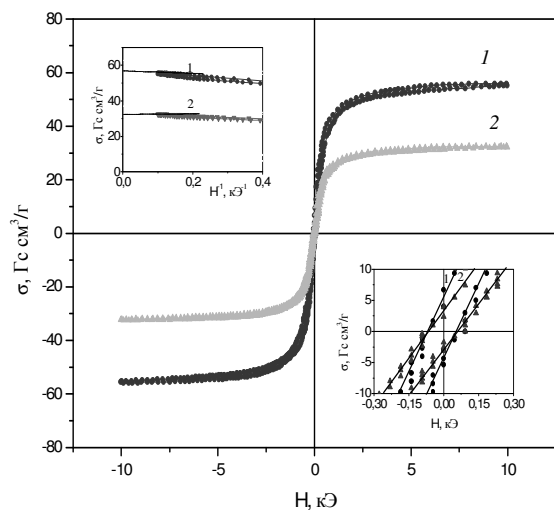


Рис. 2. Петлі гістерезису зразків магнетиту: *а* – вихідного (1), модифікованого гідроксоапатитом та стабілізованого олеатом натрію (2); *б* – водної магнітної рідини з носієм складу магнетит/олеат натрію (1), магнетит/гідроксоапатит/олеат натрію (2)

Доксорубіцин виявляє високу протипухлинну, протилейкозну та імуносупресивну активність, має здатність інтеркалювати ДНК клітин, пригнічувати кровотворення. Однією з характерних токсикологічних особливостей доксорубіцину є його кардіотоксичність. Механізм його впливу полягає у взаємодії з ДНК, утворенні вільних радикалів і прямій дії на мембрани клітин з пригніченням синтезу нуклеїнових кислот. Експерименти на тваринах

і клінічні дослідження довели антинеопластичну активність доксорубіцину, проте механізм його активності (як і інших антрациклінів) остаточно не з'ясований, хоча відомо, що принцип дії базується на інтеркаляції ДНК, зв'язуванні з мембранами та метаболічній активації відновленням.

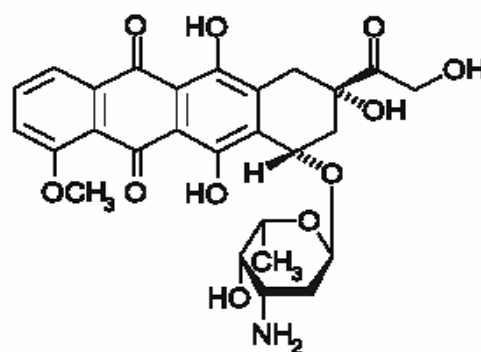


Рис. 3. Структурна формула молекули доксорубіцину

Через гематоенцефалічний бар'єр препарат не проходить. Метаболізується в печінці (протягом 1 год) з утворенням активного метаболіту – доксорубіцинолу. Ферментативне відновлення доксорубіцину під дією оксидаз, редуктаз і дегідрогеназ призводить до утворення вільних радикалів, що може сприяти прояву кардіотоксичної дії. Після внутрішньовенного введення швидко зникає з крові, концентруючись у печінці, нирках, міокарді, селезінці, легенях. Період напіввиведення ($T_{1/2}$) для доксорубіцину 20–48 год. Виведення: 40 % в незміненому вигляді з жовчю протягом 5 днів, 5–12 % (у тому числі з метаболітами) – з сечею протягом 5 днів. Спектр поглинання ДР наведено на рис. 4. Він має декілька максимумів: 204, 233, 254, 290, 480 nm^{-1} . Тому калібрувальний графік будували при двох значеннях довжини хвилі ($\lambda = 480, 290 \text{ nm}$) для оптимального вибору кута нахилу калібрувальної лінії (рис. 5). Видно, що залежність I найбільш відповідає закону Бугера-Ламберта-Бера, тому подальші обчислення проводили при $\lambda = 480 \text{ nm}$.

Дослідження ізотерми адсорбції ДР на поверхні нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ проводили у фізіологічному середовищі в діапазоні концентрацій $C_0 = 0.1\text{--}0.8 \text{ mg/l}$ ($g = 0.03 \text{ g}$, $V = 5 \text{ ml}$, $\text{pH} = 7.0$). З рис. 6 видно, що зростання рівноважної концентрації доксорубіцину не приводить до адсорбційного

насичення поверхні адсорбента $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$. Можна припустити, що увігнутість початкової ділянки ізотерми відносно осі концентрацій пов'язана з сумісною адсорбцією хлориду натрію, оскільки адсорбція ДР здійснювалась з фізіологічного розчину.

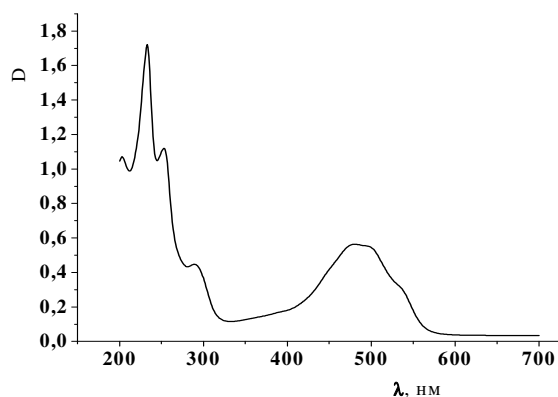


Рис. 4. Спектр поглинання доксорубіцину у фізіологічному розчині

За даними, одержаними з обробки експериментальних значень у різних інтервалах рівноважних концентрацій, визначено коефіцієнт розподілу E , мл/г (відображає розподіл доксорубіцину між поверхнею нанокompозиту та розчином), який дорівнює $E = 366.8$ мл/г при $A = 91.7$ мг/г.

Кінетичні дослідження адсорбції ДР на поверхні нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ вказують на значну адсорбцію ДР на поверхні $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ (рис. 7). Протягом перших двох годин сорбується 60–70 % речовини, а протягом доби адсорбція проходить майже повністю (93–97 %).

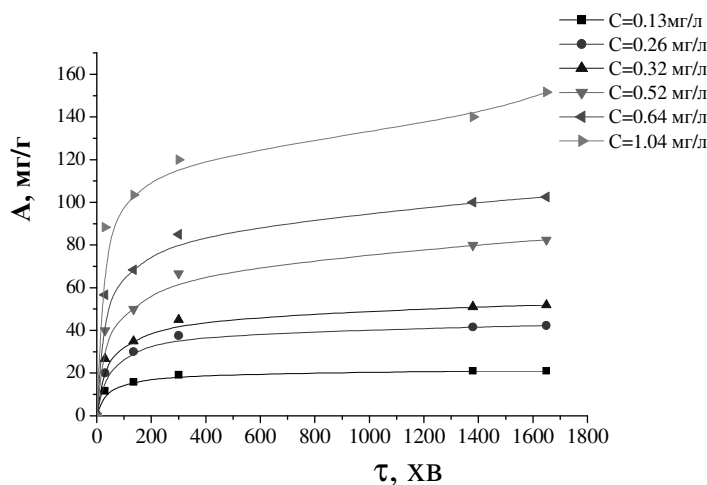


Рис. 7. Кінетика адсорбції доксорубіцину на поверхні $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$ у середовищі фізіологічного розчину. Праворуч вказані вихідні концентрації розчину доксорубіцину

Причому це стосується як малих, так і великих концентрацій ДР.

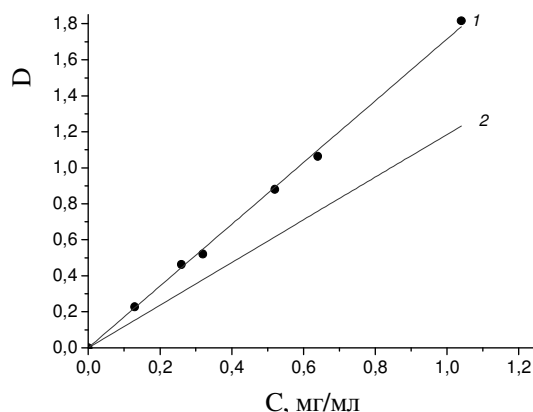


Рис. 5. Калібрувальний графік (доксорубіцину у фізіологічному розчині) 1 – $\lambda = 480$ нм; 2 – $\lambda = 290$ нм

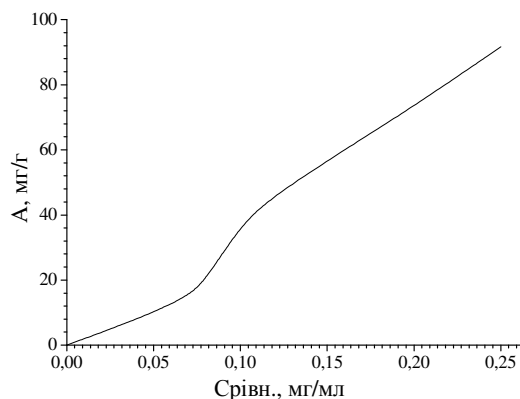


Рис. 6. Ізотерма адсорбції розчину доксорубіцину на поверхні $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}$

Таблиця 1. Ступінь вилучення ДР (R , %) на поверхні нанокompозитів $Fe_3O_4/ГА$ в залежності від концентрації розчинів та часу адсорбції

C_0 , мг/мл	Ступінь вилучення доксорубіцину, %				
	30 хв	135 хв	300 хв	1380 хв	1620 хв
0.13	53.8	73.1	88.5	97.0	97.0
0.26	46.2	69.2	86.5	95.8	97.7
0.32	50.0	65.6	84.4	95.6	97.2
0.52	46.2	57.7	77.0	92.3	95.2
0.64	53.1	64.0	79.7	93.8	96.1
1.04	49.0	59.6	69.2	80.8	87.5

Кінетику десорбції ДР у модельне середовище (фізіологічний розчин) досліджували на зразках $Fe_3O_4/ГА$, котрі були отримані при побудові кінетичних кривих. Зразки з різною кількістю адсорбованого доксорубіцину заливали фізіологічним розчином (5 мл) і через певний час вимірювали оптичну густину спектрофотометричним методом УФ та відповідно $C_{дес}$ (концентрацію десорбованої речовини) по калібрувальному графіку (рис. 8 та табл. 2.)

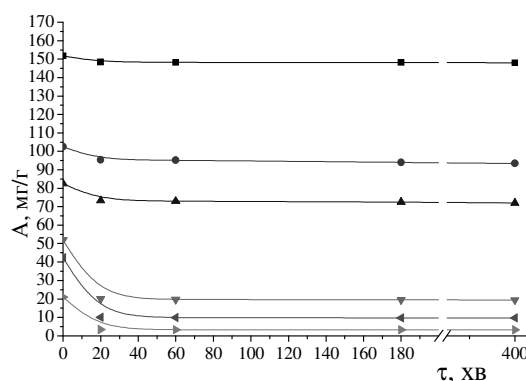


Рис. 8. Кінетика десорбції доксорубіцину з поверхні $Fe_3O_4/ГА$

Таблиця 2. Величини десорбції ДР з поверхні нанокompозиту $Fe_3O_4/ГА$ у модельне середовище

Кількість адсорбованого доксорубіцину, мг/г	Десорбція доксорубіцину, %			
	20 хв	60 хв	180 хв	400 хв
21.0	83.8	84.3	84.3	84.8
42.3	76.4	76.6	76.8	77.0
51.9	61.5	62.1	62.4	62.6
82.5	11.6	11.5	12.1	12.7
10.5	7.0	6.1	8.3	8.7
151.7	2.2	2.3	2.3	2.4

Одержані кінетичні криві десорбції вказують на те, що вивільнення доксорубіцину зменшується з ростом кількості адсорбованого ДР на поверхні нанокompозиту. При кількості адсорбованого ДР 20–50 мг/г десорбується 80–60 % ДР, відповідно, тоді як при великих кількостях адсорбованого ДР (100–150 мг/г) вивільнення практично не відбувається. Основна кількість ДР десорбується протягом перших 20 хв для всіх концентрацій.

Для біологічних використань синтезовано магнітні рідини, що містили нанокompозити $Fe_3O_4/ГА$ з адсорбованим ДР, стабілізовані олеатом натрію та додатково модифіковані поліетиленгліколем для надання низької

здатності до адсорбційних взаємодій компонентів рідини з білками плазми крові. Вивчено магнітні властивості розроблених колоїдних систем $Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.На/ПЕГ$. Показано, що значення питомої намагніченості насичення магнітного компоненту $\sigma_s(Fe_3O_4)$ у складі рідини становить ~ 55.0 Гс·см³/г. Ці дані свідчать про збереження магнітних властивостей наноструктур $Fe_3O_4/ГА/ДР/ол.На$ у складі магнітних рідин, модифікованих ПЕГ.

ВИСНОВКИ

З метою створення новітніх біосумісних і біоактивних наноматеріалів для магнітокеруваної доставки лікарських засобів

онкологічного призначення, виготовлено та досліджено фізико-хімічні властивості нових магніточутливих нанокompatитів та магнітних рідин на їх основі.

Синтезовано та досліджено нові магнітні рідини на основі наноструктур $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГА}/\text{ДР}/\text{ол.На}/\text{ПЕГ}$. Вивчено ізотерми та кінетику адсорбції доксорубіцину на вказаній поверхні. Визначено коефіцієнт розподілу E , мл/г ДР, який становить $E = 366.8$ мл/г при $A = 91.7$ мг/г. Зроблено висновок про перспективність магнітних рідин, що містять

магнетит, модифікований гідроксоапатитом, олеат натрію, поліетиленгліколь та доксорубіцин, для розробки нових форм ефективних лікарських засобів спрямованої доставки і депонування.

Робота виконана за проектом 31-15 в рамках цільової комплексної програми НАН України «Фундаментальні проблеми створення нових речовин і матеріалів хімічного виробництва».

Магнитные жидкости на основе магнетита и доксорубицина для направленной доставки лекарственных средств

А.Л. Петрановская, Н.В. Абрамов, С.П. Туранская, П.П. Горбык, А.П. Кусяк

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, petranovska@ukr.net
Житомирский государственный университет имени Ивана Франка
ул. Б. Бердичевская, 40, Житомир, 10008, Украина*

Разработана технологическая методика синтеза новых магнитных жидкостей на основе коллоидных систем модифицированного магнетита, содержащих химиотерапевтический препарат доксорубицин. Модифицирование поверхности магнетита осуществлено гидроксипапатитом, магнитная жидкость стабилизирована олеатом натрия и дополнительно полиэтиленгликолем для низкой адсорбции белков плазмы крови. Изучены физико-химические свойства синтезированных коллоидных систем.

Ключевые слова: магнитные жидкости, модифицирование, биосовместимые покрытия, гидроксипапатит, адсорбция, доксорубицин

Magnetic liquids based on magnetite and doxorubicin for targeted drug delivery

A.L. Petranovska, N.V. Abramov, S.P. Turanska, P.P. Gorbyk, A.P. Kussyak

*Chuiiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, E-mail: petranovska@ukr.net
Zhytomyr Ivan Franko State University
40 V. Berdychivska Str., Zhitomir, 10008 Ukraine*

Technological methods for synthesis of new magnetic liquids based on modified magnetite colloidal systems containing chemotherapeutic agent doxorubicin are developed. The magnetite surface modifying was carried out with hydroxyapatite, the magnetic liquid was stabilized with sodium oleate and polyethylene glycol to give biocompatible properties and low ability to adsorb plasma proteins. Physico-chemical properties of developed colloid systems have been studied.

Keywords: magnetic liquid, modification, biocompatible coatings, hydroxyapatite, adsorption, doxorubicin

ЛІТЕРАТУРА

1. Горбик П.П., Покутний С.И. Современные проблемы физики и химии поверхности: Магниточувствительные нанокompозиты с функциями нанороботов и атомоподобные наноструктуры. – Монография. – Palmarium Academic Publishing. – 2013. – 212 p.
2. Gorbyk P.P., Chekhun V.F. Nanocomposites of medicobiologic destination: reality and perspectives for oncology // *Functional materials*. – 2012. – V. 19, N 2. – P. 145–156.
3. Модифицированные кремнеземы в сорбции, катализе и хроматографии (под редакцией Лисичкина Г.В.) – Москва: Химия, 1986. – 248 с.
4. Guangnian X., Xueliang Q., Xiaolin Q., Jianguo C. A facile method to prepare quickly colloidal silver nanoparticles // *Rare Metal Mater. Eng.* –2010. – V. 39, N 9. – P. 1532 – 1535.
5. Mornet S., Vasseur S., Grasset F. et al. Magnetic nanoparticle design for medical applications // *Prog. Sol. St. Chem.* – 2006. – V. 34. – P. 237–247.
6. Свідоцтво про реєстрацію авторського права № 46056 «Тимчасовий технологічний регламент на виробництво речовини «Магнетит У» ТТР 03291669.012:2012». Горбик П.П., Абрамов М.В., Петрановська А.Л., Турелик М.П., Васильєва О.А., зареєстровано в державній службі інтелектуальної власності України 17.10.2012.
7. Sun S., Zeng H., Robinson D.B. Monodispersed MFe_2O_4 (M = Fe, Co, Mn) nanoparticles // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2004. – V. 126. – P. 273–279.
8. Берковский Б.М., Медведев В.Ф., Краков М.С. Магнитные жидкости – Москва: Химия. 1989. – 239 с.
9. Оранская Е.И., Горников Ю.И., Фесенко Т.В. Автоматизированная методика определения средних размеров кристаллитов поликристаллических твердых тел // *Заводск. лабор.* – 1994. – Т. 60, № 1. – С. 28.
10. Scherrer P. Bestimmung der Größe und inneren Struktur von Kolloidteilchen mittels Röntgenstrahlen. *Nachr. // Ges. Wiss.* – 1918. – B. 2. – P. 98–100.
11. Борисенко Н.В., Богатырев В.М.,

REFERENCES

1. Gorbyk P.P., Pokutnyi S.I. *Modern problems of surface physics and chemistry: Magnet sensitive nanocomposites and atom-like nanostructures* (Palmarium Academic Publishing, 2013) [In Russian].
2. Gorbyk P.P., Chekhun V.F. Nanocomposites of medicobiologic destination: reality and perspectives for oncology. *Functional materials*. 2012. **19**(2): 145.
3. *Modified silicas in sorption, catalysis, and chromatography* (Ed. Lisichkin G.V.) (Moscow: Khimiya, 1986) [In Russian].
4. Guangnian X., Xueliang Q., Xiaolin Q., Jianguo C. A facile method to prepare quickly colloidal silver nanoparticles. *Rare Metal Mater. Eng.* 2010. **39**(9): 1532.
5. 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. **34**: 237.
6. Gorbyk P.P., Abramov M.B., Penranovska A.L., Turelyk M.P., Vasileva O.A Temporary technology reglament for production of «Magnetit U TTP 03291669.012:2012» matter: *Sertificate of authors' rule* № 46056 (Reg. in SSIP of Ukraine 17.10.2012).
7. Sun S., Zeng H., Robinson D.B. Monodispersed MFe_2O_4 (M = Fe, Co, Mn) nanoparticles. *J. Amer. Chem. Soc.* 2004. **126**: 273.
8. Berkovsky B.M., Medvedev V.F., Krakov M.C. *Magnetic liquids* (Moscow: Khimiya, 1989) [In Russian].
9. Oranskaya E.I., Gornikov Yu.I., Fesenko T.V. Autumatized procedure of determination of the average sizes of the cryatallites of polycrystalline solids. *Industrial laboratory*. 1994. **60**(1): 28 [In Russian].
10. Scherrer P. Bestimmung der Größe und inneren Struktur von Kolloidteilchen mittels Röntgenstrahlen. *Nachr. Ges. Wiss.* 1918. **2**: 98.
11. Borysenko N.V., Bogatyrev V.M., Dubrovin

- Дубровин И.В. Синтез и свойства магниточувствительных нанокмозитов на основе оксидов железа и кремния // Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур (под редакцией Шпака А.П., Горбика П.П.) – Київ: Наук. думка, 2007. – Т. 1. – С. 394–406.
12. Гречко Л.Г., Горбик П.П., Лерман Л.Б., Чуйко О.О. Можливість використання магнітних наночасток як засобів транспорту і утримання лікарських препаратів в органі-мішені // Доп. НАН України. – 2006. – № 2. – С. 181–185.
13. Горбик П.П., Абрамов Н.В., Петрановская А.Л. и др. Синтез и свойства магнитных жидкостей на основе наноразмерного Fe₃O₄ // Сб. Поверхность. – 2011. – Вып. (3)18. – С. 287–297.
14. Bean C.P., Jacobs I.S. Magnetic granulometry and super-paramagnetism // Journal of Applied Physics. – 1956. – V. 27. – P. 1448–1452.
- I.V. Synthesis and properties of magnet-sensitive nanocomposites based on iron oxide and silica. In: *Physics and chemistry of nanomaterials and supramolecular structures*. V. 1. (Eds. Shpak A.P., Gorbyk P.P. Kyiv: Nauk. Dumka, 2007): 394. [In Russian].
12. Grechko L.G., Gorbyk P.P., Lerman L.B., Chuiko O.O. Probable use of magnetic nanoparticles as a tool for transportation and retention of medicines in organs-targets. *Dopovidi NAS Ukraine*. 2006. 2: 181. [In Ukrainian].
13. Gorbyk P.P., Abramov N.V., Petranovskaya A.L., Turelyk M.P., Pilipchuk E.V., Oranskaya E.I., Konchits A.A., Shevchenko Yu.B. Synthesis and properties of magnetic fluids based on nanosized Fe₃O₄. In: *Surface*. 2011. 3(18): 245. [In Russian].
14. Bean C.P., Jacobs I.S. Magnetic granulometry and super-paramagnetism. *J. Applied Physics*. 1956. 27: 1448.

Надійшла 05.06.2014, прийнята 19.06.2015