

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОВЕРХНОСТНЫХ ЯВЛЕНИЙ

УДК 539.211:544.723.23

МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫЙ ТРАНСПОРТ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ РАЗРАБОТКИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

П.П. Горбик¹, И.В. Дубровин¹, А.Л. Петрановская¹,
М.П. Турелик¹, Л.П. Сторожук¹, В.Н. Мищенко¹, Н.В. Абрамов¹,
С.П. Туранская¹, С.Н. Махно¹, Е.В. Пилипчук¹, В.Ф. Чехун²,
Н.Ю. Лукьянова², А.П. Шпак³, А.М. Кордубан³

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

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

³Институт металлофизики им. Г.В. Курдюмова Национальной академии наук Украины,
бульв. Академика Вернадского, 36, Киев, 03680, Украина

Выполнен комплекс работ, направленных на научное обоснование химического конструирования многоуровневых биосовместимых магниточувствительных наноконструкций с иерархической структурой и полифункциональными свойствами (моделей медико-биологических нанороботов).

Изучены процессы иммобилизации на их поверхности биологически активных молекул с цитотоксическими свойствами, нормального иммуноглобулина человека (Ig), моноклональных антител типа CD 95 с иммунотерапевтическими и сенсорными свойствами. Исследованы возможности целевой доставки фармпрепаратов и формирования гипертермических зон, используя внешнее магнитное поле, влияния полученных моделей нанороботов на онкоклетки эпителиальной карциномы яичника и карциномы молочной железы человека (линии A 2780 и MCF-7, соответственно).

Приведены основные результаты по указанным этапам исследований, позволяющие оценить современное состояние разработки и перспективы направленного транспорта лекарственных препаратов.

По инициативе академика НАН Украины А.А. Чуйко в 2003 году в Институте химии поверхности НАН Украины стартовал новый проект по проблеме направленного транспорта лекарственных препаратов (Магия поверхности. Зеркало недели, № 50 (425), 28 декабря 2002 г.). Формулируя задачу, Алексей Алексеевич указывал на ее актуальность, сложность и необходимость приглашения к сотрудничеству специалистов из других институтов.

К началу наших исследований было ясно, что приоритет приобрели работы в области создания многоуровневых наноконструкций, обладающих комплексом функций, включающим распознавание специфических микробиологических объектов в биологических средах, целевую доставку лекарственного препарата в органы- или клетки-мишени, диагностику и терапию заболеваний на клеточном или генном уровнях, адсорбцию продуктов распада клеток после воздействия химиотерапевтического препарата или гипертермии, их удаление из организма с помощью магнитного поля и т.п.

Было известно, что химиотерапевтические противоопухолевые препараты в организме вызывают нарушение обмена нуклеиновых кислот, угнетают функции ДНК, процессы биосинтеза, кроветворения, пищеварения, являются кардио-, нейро- и нефротоксичными. Целевая доставка и депонирование лекарственного средства с помощью магнитного поля в зоне опухоли в терапевтической концентрации дают возможность свести к минимуму токсико-аллергические реакции.

Использование моноклональных антител в онкологической практике относят к методам пассивной иммунотерапии. Клинические данные свидетельствуют, что пассивная иммунотерапия безусловно эффективна, по результату сравнима с химиотерапией, а уровень ее токсичности значительно ниже. Комбинированное использование этих методов считается наиболее перспективным, так как значительно расширяет возможности лечения современными препаратами и способствует повышению их эффективности.

Поэтому идея настоящих исследований заключалась в создании магнито-чувствительных наноконструктов комбинированного действия (химиотерапевтического, иммунотерапевтического, гипертермического), в состав которых входят моноклональные антитела и высокоэффективный цитостатик, что могло бы позволить распознавать клетки-мишени, осуществлять целевую доставку к ним препаратов и формировать гипертермические зоны используя внешнее переменное магнитное поле.

Ниже приведены основные результаты по указанным этапам исследований, позволяющие оценить современное состояние разработки и перспективы проблемы направленного транспорта лекарственных препаратов.

Схема химического конструирования полифункциональных наноконструктов и нанороботов

На рис. 1 приведена схема конструирования полифункциональных наноконструктов и нанороботов двух типов. К первому типу относятся наносистемы для использования, главным образом, в качестве средств сосудистого транспорта, локальной химиотерапии. Ко второму типу принадлежат наносистемы, предназначенные для распознавания, диагностики, целевой доставки препарата, терапии (гипертермии) на клеточном уровне, адсорбции и удаления остатков клеточного распада из организма.



Рис. 1. Схема химического конструирования полифункциональных наноконструктов и нанороботов.

В качестве исходного для обеих типов наносистем выбран однодоменный магнетит размером 30 – 50 нм. Известно, что магнетит имеет биогенную природу и удовлетворительно выводится организмом. В данной схеме он служит магниточувствительным носителем; преобразователем энергии высокочастотного магнитного поля внешнего источника в тепловую при создании гипертермического эффекта; обладает реакционноспособной поверхностью, что позволяет реализовать химический дизайн и сконструировать необходимую архитектуру полифункционального нанокompозита.

Свойства магнетита стабилизировали модифицированием поверхности биосовместимым полимером или оксидом кремния. Наличие слоя модификатора увеличивает удельную поверхность и позволяет осуществить ее функционализацию с целью иммобилизации химио-, иммунотерапевтического и диагностического препаратов, а также сенсоров, обеспечивающих распознавание. Для капсулирования нанокompозитов использовали декстран, желатин, поливиниловый спирт (ПВС), поливинилпирролидон (ПВП).

Рассмотрим более подробно основные стадии создания полифункциональных магниточувствительных нанокompозитов и нанороботов для медицины и биологии.

Синтез и свойства магнетита

С целью получения выхода монодоменных частиц не менее 85 % (масс.) была разработана криохимическая методика гетерогенного синтеза магнетита на границе раздела двух фаз: твердой – замороженного раствора солей сульфата железа $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и хлорида трехвалентного железа, и жидкой – раствора аммиака фиксированной концентрации. В отличие от гомогенного синтеза методика позволяет изменять условия роста частиц. Получены образцы нанокристаллического магнетита, удельная поверхность которого изменялась в зависимости от степени разбавления водой исходного раствора и составляла ~ 40–180 м²/г. Размер частиц зависел от условий синтеза и составлял 6–50 нм; интервалом распределения по размерам можно было управлять технологически, он мог быть достаточно узким.

Преимущества предложенной методики состоят в том, что она позволяет непосредственно в процессе синтеза получать однодоменные частицы магнетита с высоким выходом и упрощает процесс сепарации высокодисперсного продукта.

Нанокристаллический однодоменный магнетит фракции 20–50 нм получен также методом твердофазного синтеза в инертной атмосфере. В качестве исходных использовались металлоорганические соединения двух- и трехвалентного железа. Магнетит, полученный твердофазным методом, обладал наиболее высокими значениями коэрцитивной силы (150–240 Э), удельная поверхность составляла ~ 40 м²г⁻¹.

Исследование гипертермического эффекта

С целью выяснения возможности создания гипертермических зон исследовано нерезонансное (тепловое) влияние электромагнитного излучения ($\lambda = 3$ см) на модельные мышечные ткани животных (*in vitro*), в которые проводили инъекцию высокодисперсного магнетита (рис. 2). Для исследований использовали образцы тканей массой 5 г.

Ткани 2 и 3 отличались наличием незначительного количества жировой составляющей. Площадь облучения составляла ~ 2 см². Установлено, что в случае введения в мышечные ткани частиц Fe_3O_4 (0,1 % масс.) поглощение электромагнитного излучения возрастает, а скорость нагревания увеличивается от 2–3 до 4 град/мин при мощности излучения 0,5 Вт

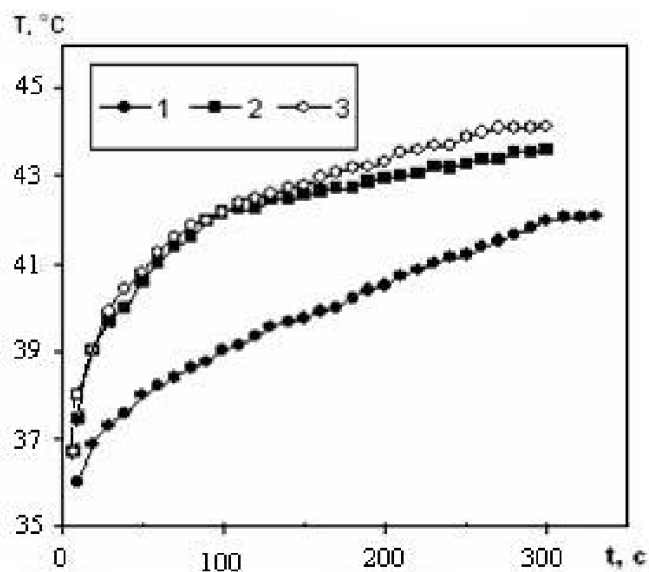


Рис. 2. Зависимость температуры образцов мышечной ткани от времени обработки: 1 – исходный, 2, 3 – с магнетитом.

Синтез и свойства нанокompозитов магнетит/гидроксиапатит

С целью придания магниточувствительным носителям высокой биосовместимости разработана методика синтеза нанокompозитов на основе нанокристаллических магнетита и гидроксиапатита. Исходный магнетит для нанокompозитов синтезировали жидкофазным и твердофазным способами. Синтез гидроксиапатита на поверхности магнетита осуществляли золь - гель методом согласно реакции:



Методами ИК-Фурье спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии изучены состав и структура полученных нанокompозитов. Установлено, что фаза гидроксиапатита характеризуется соотношением Ca/P = 1,7, что соответствует стехиометрии реакции его образования. Средний размер кристаллитов магнетита и гидроксиапатита рассчитывали согласно рентгеновским дифракционным пикам (311) и (002), соответственно, с использованием формулы Шеррера. Толщина слоя гидроксиапатита на поверхности наночастиц магнетита определена по соотношению площади Fe2p-/Fe3p-линий и равна ~ 4 нм (оценено по приросту массы нанокompозита, которая составила 30 %).

Фазовый состав и средний размер кристаллитов исследуемых фаз приведены в табл. 1.

Таблица 1. Средний размер кристаллитов в структуре нанокompозитов магнетит / гидроксиапатит согласно JCPDS № 19-629 и JCPDS № 21-145

Тип образца	Фазовый состав	Средний размер кристаллитов, нм
1	Fe ₃ O ₄ Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	15 20–25
2	Fe ₃ O ₄ Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	35–40 20–25

Модифицирование поверхности магнетита полиакриламидом

Полиакриламидный слой на поверхности частиц магнетита получали полимеризацией акриламида с N,N'-метилден-бис-акриламидом в плазме тлеющего ВЧ-разряда.

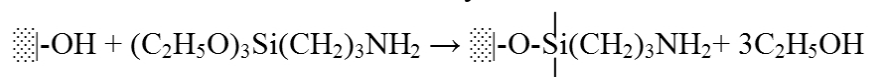
Анализ кинетических кривых титрования двойных углерод-углеродных связей свидетельствует, что полная полимеризация слоя полиакриламида (ПАА) осуществляется в течение 120 с.

Изучение ИК-спектров исходного магнетита и магнетита с полиакриламидным слоем позволило установить наличие на их поверхности реакционноспособных ОН- и NH₂-функциональных групп, соответственно.

Анализ зависимости удельной намагниченности σ от напряженности магнитного поля для образцов магнетита без покрытия и с различным содержанием полиакриламида на его поверхности показал, что изменение массы покрытия от 0 до 10 % не приводило к заметному изменению исходных магнитных характеристик магнетита: значение намагниченности насыщения σ_s находилось в пределах от $61,5 \cdot 10^{-7}$ до $62,0 \cdot 10^{-7}$ Тл·м³/кг, коэрцитивная сила H_c от 30,94 до 29,31 кА/м, остаточная намагниченность $\sigma_r = 30,1 \cdot 10^{-7}$ Тл·м³/кг. При дальнейшем увеличении массы покрытия до 50 % происходило уменьшение σ_s до $51,1 \cdot 10^{-7}$ Тл·м³/кг и σ_r до $24,0 \cdot 10^{-7}$ Тл·м³/кг, $H_c = 29,31$ кА/м. Эти результаты свидетельствуют, что прирост массы ПАА покрытия на поверхности частиц магнетита до 50 % оказывает незначительное влияние на магнитные характеристики.

Модифицирование поверхности магнетита γ -аминопропилтриэтоксисилоном

С целью функционализации наноматериала проводили модифицирование поверхности магнетита γ -аминопропилтриэтоксисилоном (γ -АПТЭС) жидкофазным способом в толуоле. Реакцию поликонденсации осуществляли по схеме:



в результате чего получали нанокомпозит типа магнетит – аминопропилсилоксан (АПС).

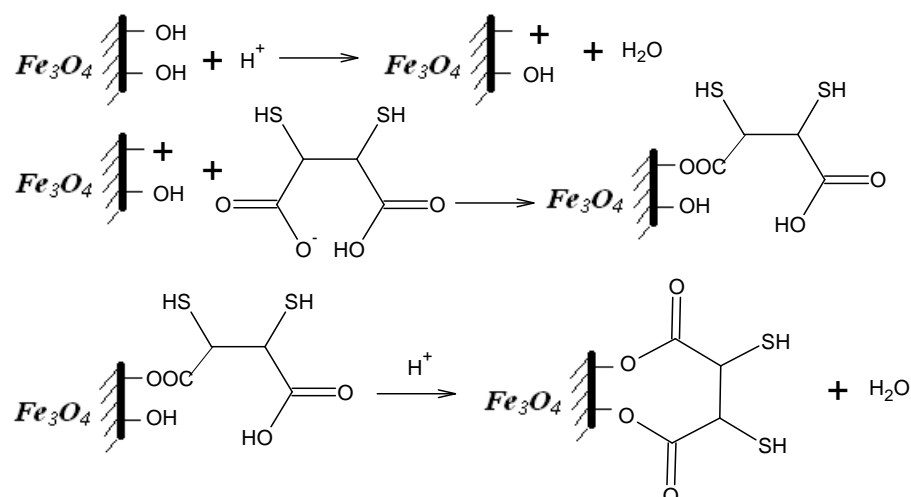
Комплексное изучение химически чистой и модифицированной АПС поверхности магнетита методами ИК-спектроскопии, рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, термогравиметрического анализа, квантовой химии позволили установить наличие реакционно-способных химических групп, определить их концентрацию, рассчитать длину химических связей и углы между ними, построить соответствующие квантовохимические модели [2].

Так, концентрация ОН-групп на поверхности наночастиц магнетита рассчитывалась по данным дифференциального термогравиметрического анализа и составляла 2,2 ммоль/г или 24 мкмоль/м² при $S_{\text{уд}} = 90$ м²/г. Интенсивный дублет полос поглощения 1037 и 1130 см⁻¹ в ИК-спектрах приблизительно одинаковой интенсивности свидетельствовал об образовании на поверхности магнетита связей Si-O-Si в результате гидролитической поликонденсации молекул модификатора. Количество реакционноспособных аминогрупп в модифицированных образцах магнетита, определенное по реакции с 2,4-пентандионом в сухом пиридине, составляло 60 % от общего количества аминогрупп.

Установлено, что как исходный магнетит, так и нанокомпозиты Fe₃O₄/ γ -АПС и Fe₃O₄/ПАА проявляют высокую биосовместимость и практически не оказывают цитотоксического действия на онкоклетки эпителиальной карциномы яичника и карциномы молочной железы человека (линии А 2780 и MCF-7, соответственно).

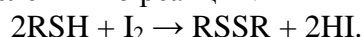
Модифицирование поверхности магнетита мезо-2, 3-димеркаптосукциновой кислотой

С целью подготовки поверхности наночастиц магнетита для биофункционализации антителами проведено модифицирование его поверхности мезо-2, 3-димеркаптосукциновой кислотой (DMSA). Модифицирование проведено по реакции образования связи карбоксильной группы DMSA с гидроксильной группой поверхности:



Для изучения связей DMSA с поверхностью магнетита проведены ИК-Фурье спектроскопические исследования покрытия наночастиц.

Количественный анализ SH-группы проведен титрованием по методу Кимболла-Крамера-Рида, основанном на окислении по реакции:



Анализ показал, что количество SH-групп в нанокompозитах равняется 2,4 ммоль/г. При $S_{\text{уд.}}=130 \text{ м}^2/\text{г}$, количество SH-групп = 0,019 ммоль/м². Количественными измерениями установлено, что концентрация SH-групп в DMSA составляет 17 ммоль/г.

Иммобилизация малеимид-активированных иммуноглобулинов на поверхности Fe₃O₄/DMSA

С целью получения иммуномагнитных наносорбентов и нанокompозитов с функциями распознавания микробиологических объектов в биологических средах, разработана методика создания магнитной жидкости с одновременным модифицированием поверхности частиц магнетита DMSA и иммобилизацией антител при помощи спейсерных молекул сульфосукцинимидил-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбоксилата (sulfo-SMCC). Показано, что химическая иммобилизация антител на поверхности нанокompозитов Fe₃O₄/DMSA может быть осуществлена взаимодействием реакционноспособных сульфогрупп носителя с малеимидными функциональными группами иммуноглобулина, предварительно активированного sulfo-SMCC.

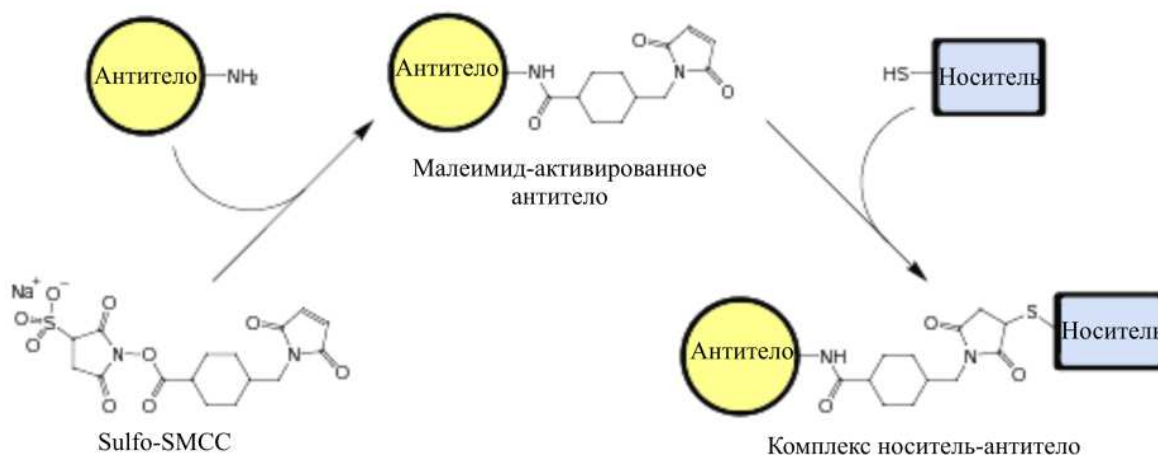


Рис. 3. Схема двухстадийной реакции sulfo-SMCC-иммобилизации иммуноглобулина на поверхности нанокompозитов Fe₃O₄/DMSA.

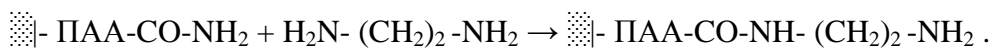
Двухстадийная реакция (рис. 3) приводит к образованию специфических комплексов магниточувствительный носитель–антитело.

Исследованы изотермы адсорбции малеимид-активированных иммуноглобулинов на поверхность Fe₃O₄/DMSA. Адсорбция составляет A = 92,12 мг/г при S = 130 м²/г. Высвобождение в модельную среду иммуноглобулина, иммобилизованного при помощи спейсера sulfo-SMCC, составляет 8–12 % в течение 24 ч. Десорбция происходит медленнее и в меньшей степени, чем в случае неспецифической иммобилизации.

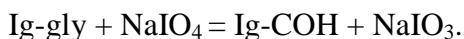
Ковалентная иммобилизация нормального иммуноглобулина человека на поверхности нанокompозитов Fe₃O₄/ПАА и Fe₃O₄/γ-АПС

Идея ковалентного связывания иммуноглобулина с нанокompозитом состояла в использовании взаимодействия альдегидных групп, образующихся на молекулах Ig в результате периодатного окисления боковых карбогидратных цепочек, с аминогруппами модификатора поверхности носителя. При этом образуются основания Шиффа (имины). Ковалентное присоединение антител этим методом к поверхности носителей имеет преимущество по сравнению с другими методами и заключается в том, что происходит ориентированное закрепление молекул антитела, фрагментом Fc (fragment crystalline) к поверхности, тогда как Fab фрагмент (fragment antigen binding) остается свободным и ориентирован наружу.

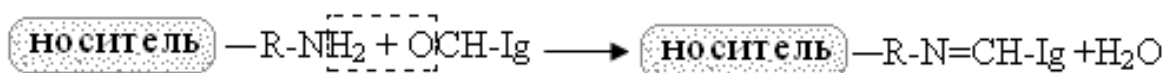
Для ковалентного присоединения Ig нанокompозит с полиакриламидным слоем активировали этилендиамином для образования реакционноспособных –NH₂ групп на поверхности по реакции:



Окисление нормального Ig человека проводили в растворе NaIO₄, приготовленном на ацетатном буфере по реакции:



Ковалентное связывание Ig на нанокompозитах Fe₃O₄/ПАА, активированных этилендиамином, и Fe₃O₄/γ-АПС проводили в карбонатном буфере на физиологическом растворе в динамическом режиме при комнатной температуре. Ковалентное связывание Ig с поверхностью осуществлялось по реакции:



Экспериментально показано, что ковалентное присоединение имеет существенные преимущества по сравнению с неспецифической адсорбцией: в результате образования ковалентной связи возрастает термодинамическая устойчивость иммобилизованного слоя и кинетическая устойчивость вследствие замедления процесса десорбции иммуноглобулина за счет медленного гидролиза оснований Шиффа.

Иммобилизация антител CD 95 на поверхности нанокompозитов

Иммобилизацию антител осуществляли на поверхности нанокompозитов магнетит– полиакриламид (Fe₃O₄/ПАА) и магнетит – γ-аминопропилсилоксан Fe₃O₄/γ-АПС) по методикам, описанным выше.

Изучены неспецифическая (физическая) адсорбция и ковалентное присоединение моноклонального антитела CD 95 на поверхности нанокompозитов Fe₃O₄/ПАА и Fe₃O₄/γ-АПС, соответственно. В качестве сенсорных молекул использовалось моноклональное мышечное антитело CD 95 против Fas-антигена человека изоформа IgG1,

карра, клоны DX2 производства DakoCytomation (Дания). Количество иммобилизованных антител определяли по калибровочному графику и рассчитывали адсорбцию A , которая составляла 163,2 мкг/г для нанокompозитов $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ и 137,7 мкг/г для нанокompозитов $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$.

Следует отметить, что при распознавании специфического микробиологического объекта в биологической среде, например, клетки, магниточувствительный носитель сенсора находится в непосредственной близости от нее, или проникает через мембрану во внутриклеточное пространство. При этом имеется реальная возможность точного определения ее пространственного местонахождения и наблюдения за его изменением во времени, используя, к примеру, магниторезонансные методы. Применяя методы компьютерной томографии, можно визуализировать этот процесс и получить объемные изображения. Последнее особенно важно для ранней диагностики заболеваний и установления точных размеров опухоли.

Иммобилизация цисплатина на поверхности нанокompозитов

Цисплатин (ЦП) – противоопухолевый препарат, содержащий платину, производится в виде раствора. Механизм противоопухолевого действия препаратов, содержащих платину, связан с бифункциональным алкилированием цепей ДНК, вызывающим угнетение биосинтеза нуклеиновых кислот и апоптоз клеток.

Стабильность цитостатика исследовали, измеряя его активность на клеточной культуре через 10, 20, 30 сут. Было установлено, что цитотоксическая активность цисплатина сохраняется на протяжении одного месяца.

Исследовалась кинетика адсорбции ЦП на поверхности нанокompозитов. Показано, что количество адсорбируемого цисплатина (по Pt^{2+}) на поверхности нанокompозита $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ составило 128 мг/г, а на $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ – 98,3 мг/г. Основная часть цитостатика адсорбировалась за первые 2–3 ч.

Кроме того, изучены кинетика адсорбции цитостатика (цисплатин) и процессы иммобилизации иммуноглобулина человека, моноклональных антител CD 95 на поверхности нанокompозита магнетит/гидроксиапатит. Показано, что адсорбция (A) антитела на поверхности ГА равна 590 мкг/г. Соответствующая величина ковалентно иммобилизованных антител на поверхностях магнетита, функционализированных аминогруппами, составила 137 мкг/г ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$) и 165 мкг/г ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$). Иммобилизованные антитела на поверхности ГА характеризовались слабой десорбцией и ориентированной посадкой молекул, а именно Fc фрагментом (fragment crystalline) к поверхности, тогда как Fab фрагмент (fragment antigen binding) остается неизменным и оптимально ориентирован. Это подтверждено совместными исследованиями с ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины иммунотерапевтического влияния биофункционализированных нанокompозитов на клеточные линии. Их цитотоксическое действие превышало действие контрольных доз антител в 2,7 раза.

Разработана методика получения магниточувствительных нанокompозитов комбинированного (химиотерапевтического, иммунотерапевтического и гипертермического) действия на основе модифицированного гидроксоапатитом магнетита с иммобилизованным цисплатином, конъюгированным моноклональным антителом CD 95 (модель медико-биологического наноробота). Исследовано цитотоксическое влияние полученных моделей на клеточную линию карциномы молочной железы человека MCF-7. Использование магнитных нанокompозитов, 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 в 1,5 раза).

Исследование цитотоксического эффекта моделей нанороботов

Изучено влияние магниточувствительных наноконкомпозитов с адсорбированным цитостатиком, конъюгированным моноклональным антителом, (моделей нанороботов) на жизнеспособность клеточной линии карциномы молочной железы человека MCF-7. Для сравнения изучалось действие наноконкомпозитов на жизнеспособность клеток с отдельно иммобилизованными моноклональными антителами и цитостатиком.

Изготовление моделей нанороботов осуществляли последовательным выполнением всех технологических операций согласно схеме рис. 1. После получения наноконкомпозитов Fe_3O_4/γ -АПС и Fe_3O_4 /ПАА на их амино-функционализованную поверхность ковалентно присоединяли предварительно окисленные моноклональные антитела CD 95, а затем адсорбировали цитостатик.

Модели магнитоуправляемых лекарственных препаратов цитотоксического действия были исследованы “*in vitro*”. Для контроля были использованы: чистая питательная среда; цисплатин с концентрацией $C = 2,5$ мкг/мл, что соответствует четвертичной дозе биологического эквивалента эффективности IC_{25} ; моноклональное антитело CD 95 с $C = 0,2$ мкг/мл (доза, используемая при лечении, составляет 10–30 мкг/мл). Также были исследованы исходный магнетит и наноконкомпозиты Fe_3O_4/γ -АПС и Fe_3O_4 /ПАА на биосовместимость к данной клеточной линии. Результаты исследований приведены в табл. 2.

Таблица 2. Влияние магниточувствительных наноконкомпозитов с адсорбированным цисплатином, конъюгированных моноклональным антителом, на жизнеспособность клеточной линии MCF-7

Контроли сравнения	Действие наноконкомпозитов, % погибших онкоклеток						
	Действие контрольных препаратов	Fe_3O_4/γ -АПС + ЦП	Fe_3O_4/γ -АПС + CD 95	Fe_3O_4/γ -АПС + ЦП + CD 95	Fe_3O_4 /ПАА+ ЦП	Fe_3O_4 /ПАА+ CD 95	Fe_3O_4 /ПАА+ ЦП+ CD 95
цисплатин (ЦП), $C=2,5$ мкг/мл	25	31			38		
антитело CD 95, $C=0,2$ мкг/мл	10		20			21	
цисплатин+ CD 95	38			46			57

Результаты свидетельствовали: использование магниточувствительных наноконкомпозитов комбинированного действия (содержащих адсорбированный цисплатин в количестве, вдвое ниже терапевтического уровня, конъюгированных моноклональными антителами CD 95, с почти на порядок меньшим количеством), приводило к гибели 46–57% опухолевых клеток, что превышало действие контрольных доз соответствующих индивидуальных препаратов приблизительно на 40%. Обнаруженный синергический эффект можно объяснить селективной доставкой комплекса цисплатин–CD 95 к опухолевым клеткам благодаря наличию на их поверхности соответствующих рецепторов, а также более эффективным воздействием на клетки химиотерапевтического препарата вследствие травматического повреждения мембраны магниточувствительными наночастицами.

Следовательно, использование магнитоуправляемых нанокомпозитов (нанороботов) комбинированного действия, в состав которых входит противоопухолевый препарат и моноклональное антитело, может позволить достичь цитостатического эффекта при более низких значениях концентраций соответствующих компонентов и уменьшить токсико-аллергические реакции организма в целом.

Анализ условий транспорта и удержания магниточувствительных носителей лекарственных препаратов с помощью магнитных полей

Проведен теоретический анализ условий транспорта и фиксации магниточувствительных нанокомпозитов (носителей лекарственных препаратов) с помощью внешнего магнитного поля. Показано, что при оптимальном выборе магнитных систем можно достичь удержания наноконтейнеров с лекарством даже в больших магистральных сосудах. Проведенные расчеты и найденные уровни градиентов показывают реальную возможность доставки и удержания магнитных носителей в органе-мишени. Вместе с тем, учитывая сложность рассматриваемой проблемы транспорта лекарственных препаратов, из оценок можно сделать вывод, что решение конкретных терапевтических задач с помощью магнитных носителей требует выполнения всесторонних как теоретических исследований на модельных системах, так и проведения экспериментов, в том числе на клеточных культурах и животных.

Нанокомпозиты для деконтаминации вирусов

В Институте химии поверхности им. А.А. Чуйко НАН Украины совместно с Институтом гематологии и трансфузиологии АМН Украины проводятся исследования с целью разработки методов вирусной инактивации гепатитов В и С, содержащихся в плазме и сыворотке крови человека.

Проведена биофункционализация магниточувствительных нанокомпозитов иммуноглобулинами, специфичными к HCV. Удельная поверхность нанокомпозитов составляла 30–40 м²/г. На образцах магнетита, содержащих на поверхности γ -аминопропилсилоксан, сорбция иммуноглобулинов превышала 90 %. Кроме того, было проведено окисление белковых углеводных цепей Fc фрагментов иммуноглобулинов периодатом калия с образованием альдегидных групп, которые принимают участие в образовании ковалентной связи с аминогруппами на поверхности нанокомпозита. Эта методика может оказаться предпочтительней, поскольку обеспечивает прочную химическую связь и оптимальную ориентацию Ig на поверхности нанокомпозита.

Нанокомпозиты для нейтронозахватной терапии

Метод нейтронозахватной терапии основан на селективном накоплении изотопов ¹⁰B, ¹⁵⁷Gd 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 ¹⁰B на 4–7 порядков больше, чем углерода, водорода, кислорода и азота, входящих в состав клетки, здоровые ткани организма практически не повреждаются.

Изотоп ¹⁵⁷Gd имеет рекордное (255000 барн) сечение захвата нейтронов, высокий (98%) выход конверсионных и Оже-электронов. Перспективным представляется использование соединений, одновременно содержащих бор и гадолиний.

Одним из перспективных способов обеспечения селективности накопления ¹⁰B или ¹⁵⁷Gd на тканевом уровне нами рассматривается использование нейтронозахватных агентов в составе магнитной жидкости. С этой целью были разработаны методики

получения борсодержащих магнитных жидкостей на основе наноразмерного магнетита, стабилизированного олеатом натрия; а также феррита гадолиния. Исследования будут продолжены.

Выводы

Выполнен комплекс экспериментальных и теоретических исследований, направленных на разработку научных основ создания медико-биологических полифункциональных нанокompозитов и нанороботов, обладающих способностью распознавания микробиологических объектов, направленного транспорта лекарственных препаратов и депонирования, диагностики и комплексной (химио-, иммуно-, термо-) терапии заболеваний на клеточном уровне. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования указанных наносистем для решения ряда актуальных медицинских и биологических задач. Направлениями дальнейших исследований могут быть: создание новых форм лекарственных препаратов, проведение доклинических испытаний, разработка новейших магнитоуправляемых нанокompозитов для нейтронозахватной терапии.

Литература

1. Roco M.C., Williams R.S., Alivisatos P. Nanotechnology research directions. Vision for Nanotechnology R&D in the Next Decade. Dordrecht: Kluw. acad. publ. 2002. 171 p.
2. Levy L., Sahoo Y., Kim K.-S., J. Bergey E. Nanochemistry: Synthesis and Characterization of Multifunctional Nanoclinics for Biological Applications // Chem. Mater. – 2002. – V.14. – P. 3715–3721.
3. Шпак А.П., Горбик П.П., Чехун В.Ф., Гречко Л.Г., Дубровин И.В., Петрановская А.Л., Вергун Л.Ю., Кордубан О.М., Лерман Л.Б. Нанокompозиты медико-биологического назначения на основе ультрадисперсного магнетита // Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур. Київ: Наук. думка, – 2007. – Т.1. – С. 45–87.
4. Gorbyk P.P., Dubrovin I.V., Petranovska A.L., Abramov M.V., Usov D.G., Storozhuk L.P., Turanska S.P., Turelyk M.P., Chekhun V.F., Lukyanova N.Yu., Shpak A.P., Korduban O.M. Chemical Construction of Polyfunctional Nanocomposites and Nanorobots for Medico-biological Applications // Nanomaterials and Supramolecular Structures. Physics, Chemistry, and Applications. Netherlands: Springer 2009. A.P. Shpak, P.P. Gorbyk (eds.) P. 63–78.
5. П.П. Горбик, А.Л. Петрановская, Д.Г. Усов, Л.П. Сторожук. Нанокapsула с функциями наноробота. Пат. Украины №86322.
6. M.P. Turelyk, V.M. Mischenko, A.L. Petranovska, N.V. Abramov, Yu. B. Schevchenko, P.P. Gorbyk. Synthesis of neutron capture nanocomposites, based on magnetite, modified by boron compounds. // Modern Probl. of Surf. Chem. and Phys. Int. Sympos. dev. to the 80th anniv. of Academ. O.O. Chuiko. Progr. and Abstr. Book. 18-21 May 2010, Kyiv-Ukraine. P. 502.

МАГНІТОКЕРОВАНИЙ ТРАНСПОРТ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ: СУЧАСНИЙ СТАН РОЗРОБКИ І ПЕРСПЕКТИВИ

П.П. Горбик¹, І.В. Дубровін¹, А.Л. Петрановська¹, М.П. Турелик¹,
Л.П. Сторожук¹, В.М. Міщенко¹, М.В. Абрамов¹, С.П. Туранська¹,
С.М. Махно¹, Є.В. Пилипчук¹, В.Ф. Чехун², Н.Ю. Лук'янова², А.П. Шпак³,
А.М. Кордубан³

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

²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
Національної академії наук України,
вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна

³Інститут металофізики ім. Г.В. Курдюмова Національної академії наук України,
бульв. Академіка Вернадського, 36, Київ, 03680, Україна

Виконано комплекс робіт, спрямованих на наукове обґрунтування хімічного конструювання багаторівневих біосумісних магніточутливих нанокмполімерів з ієрархічною структурою і поліфункціональними властивостями (моделей медико-біологічних нанороботів).

Вивчені процеси іммобілізації на їх поверхні біологічно активних молекул з цитотоксичними властивостями, нормального імуноглобуліну людини (Ig), моноклональних антитіл типу CD 95 з імунотерапевтичними і сенсорними властивостями. Досліджена можливість цільової доставки фармпрепаратів та формування гіпертермічних зон із використанням зовнішнього магнітного поля, вплив одержаних моделей нанороботів на онкоклітини епітеліальної карциноми яєчника і карциноми молочної залози людини (лінії A 2780 та MCF-7, відповідно).

Наведено основні результати за вказаними етапами досліджень, що дозволяють оцінити сучасний стан розробки та перспективи спрямованого транспорту лікарських препаратів.

MAGNETOCARRIED TRANSPORT OF THERAPEUTIC DRUGS: CURRENT STATE OF DEVELOPMENT AND PROSPECTS

P.P. Gorbyk¹, I.V. Dubrovin¹, A.L. Petranovska¹, M.P. Turelyk¹, L.P. Storozhuk¹,
V.M. Mishchenko¹, M.V. Abramov¹, S.P. Turanska¹, S.N. Makhno¹,
E.V. Pilipchuk¹, V.F. Chekhun², N.Ju. Lukyanova², A.P. Shpak³, A.M. Korduban³

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

²R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology,
and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine,
Vasilkovskaya Str., 45, Kyiv, 03022, Ukraine

³G.V. Kurdiumov Institute of Metal Physics, National Academy of Sciences of Ukraine,
36 Prosp. Vernadsky, Kyiv, 03680, Ukraine

The complex of experiments, devoted to scientific grounding of chemical construction of multilevel biocompatible magnetosensitive nanocomposites with hierarchical structure and multifunctional properties (models of biomedical nanorobots) has been carried out.

The processes of surface immobilization were studied for bioactive molecules with inherent cytotoxic properties, normal human immunoglobulin (Ig), monoclonal antibodies such as CD 95 with immunotherapeutic and sensory properties. The probability of targeted delivery of pharmaceuticals and the formation of hyperthermia zones were investigated using an external magnetic field influence on the obtained nanorobot models and interaction with cancer cells of epithelial ovarian carcinoma and carcinoma of human breast (lines A 2780 and MCF-7, respectively).

The main results of the described research stages allow characterizing the current state of development and the prospects of directed drugs transport problem.