

МАГНИТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ И НАНОКОМПОЗИТЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ

С.П. Туранская, В.В. Туров, П.П. Горбик

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины,
ул. Генерала Наумова, 17, 03164, Киев-164*

Представлен обзор литературы по разработке и использованию магнитоуправляемых наноконкомпозитов, перспективных для целенаправленной доставки лекарственных препаратов, гипертермической обработки определенных участков тела или клеток, в качестве контрастирующих агентов в методе получения изображений с помощью магнитного резонанса, в иммунотестах и при очистке или разделении различных биологических объектов.

The review is made on the development and use of magnetic nanocomposite materials, which are perspective for target drug delivery, hyperthermia, as contrasting agents in magnetic resonance imaging, in immunotests and for the purification or separation of different bioobjects.

1. Пути использования магнитных частиц и наноконкомпозитов для решения медико-биологических задач

Впервые целенаправленная доставка токсинов для уничтожения болезнетворных микроорганизмов как способ лечения заболевания с помощью агента, обладающего селективным действием, был предложен П. Эрлихом (1854 – 1915). С тех пор разработаны различные стратегии доставки лекарственных средств в окрестность опухоли, включающие использование материалов, чувствительных к физическим воздействиям и содержащих участки, способные к распознаванию опухолевых клеток [1]. В последнее время миниатюризация электромагнитов, развитие сверхпроводящей техники и создание способов введения сильных постоянных магнитов внутрь организма позволили применить средства направленной доставки в таких отраслях медицины как стоматология, кардиология, нейрохирургия, онкология, радиология и др. [2].

Магнитные наночастицы – мощные и многофункциональные диагностические инструменты, применимые как в биологии, так и в медицине. Будучи связанными с соответствующим антителом, они приобретают способность «метить» специфические молекулы, клеточные популяции, структуры или микроорганизмы. На этой основе были разработаны методики магнитных иммунотестов, в которых магнитное поле, порождаемое молекулами-мишенями, связанными с магнитными частицами, непосредственно измеряется с помощью чувствительного прибора [3].

Магнитные наночастицы размером от 1 до 100 нм (хотя есть примеры использования наночастиц размером в несколько сотен нм) содержат ферромагнитную сердцевину, состоящую из металла или оксида металла, инкапсулированную в неорганическое или полимерное покрытие, обеспечивающее стабильность, биосовместимость частиц и позволяющее прикреплять к их поверхности различные биомолекулы. Магнитные свойства позволяют использовать частицы в различных медицинских целях, в том числе в качестве:

1) магнитных контрастирующих агентов при получении изображений методом магнитного резонанса;

2) агентов гипертермической обработки, когда магнитные наночастицы подвергаются селективному нагреванию связанные с ними клеточные или молекулярные структуры за счет эффективного поглощения ими энергии высокочастотного электромагнитного поля;

3) магнитных векторов, которые могут быть направлены в определенный участок организма при создании градиента магнитного поля, что лежит в основе целенаправленной доставки лекарственных препаратов.

Наверное, наиболее обещающим применением указанных направлений является диагностика и лечение рака [1].

Медицинское использование магнитов в современных методах диагностики, таких как получение изображений с помощью ЯМР-томографии, достигается путем использования магнитных свойств протонов, молекул воды и молекул органических веществ, входящих в состав биополимеров, липидов, клеток и тканей тела. ЯМР-томография применяется для получения трехмерных неинвазивных изображений человеческого тела и в настоящее время является самым важным и доступным методом диагностики. В процессе развития этого метода вначале считали, что контрастирующие агенты не нужны, но потом выяснилось, что во многих клинических ситуациях они способны значительно облегчить диагностику ряда заболеваний. Роль контрастирующих агентов состоит в значительном ускорении времени магнитной релаксации протонов воды в некоторых областях организма, что повышает контрастность изображения в смежных областях. Одна из наиболее эффективных методик для изменения релаксации воды состоит в использовании высокоспиновых парамагнитных комплексов металла, например Gd^{3+} -хелатов, вводимых внутривенно. Вскоре это стало рутинной процедурой при использовании метода ЯМР-томографии. В последние годы для этой цели стали использовать также водные дисперсии наночастиц магнетита, защищенных слоем декстрана [2]. Сейчас два типа суперпарамагнитных наночастиц разрешены к применению в качестве контрастирующих агентов в ЯМР-томографии. Они содержат неорганическую сердцевину оксида железа (магнетита, магемита или других нерастворимых соединений железа), покрытого полимером, таким как декстран. Это – люмирен (покрытые силиконом частицы оксида железа, диаметром 300 нм) и эндорем (покрытые декстраном наночастицы магнетита, диаметром 150 нм) [3].

В одном из перспективных методов лечения онкологических заболеваний используют гипертермию опухолевых тканей. При этом локальное повышение температуры в ограниченном участке тела может быть осуществлено путем поглощения на нем электромагнитного излучения подходящей частоты. Селективность такого теплового воздействия можно повысить, если в зону распространения опухоли вводить вещества, способные поглощать электромагнитное излучение более эффективно, чем вода в окружающих тканях. После того как было установлено, что сильные магнитные поля не слишком вредны для человеческого организма, кроме пациентов, в тело которых введены материалы, способные к намагничиванию (медицинские устройства с батареями или компьютерными чипами, а также металлические материалы внутри сосудов или внутри черепа), были испробованы способы доставки и удерживания в зоне опухоли суперпарамагнитных частиц, усиливающих поглощение электромагнитной энергии. Оказалось, что такая модификация гипертермии может успешно использоваться для терапии рака, особенно в сочетании с химио- и/или радиотерапией. Гипертермия на основе магнитных флюидов [2] показала свою эффективность для гомогенной обработки глубоких или рассеянных опухолей.

Недостатки обычных методов лечения опухолей, включающих хирургию, облучение, химиотерапию и биологические способы (иммунотерапия) заключаются в труднодоступности опухоли, риске оперативного вмешательства в организм, распространении раковых клеток в другие ткани. Иммунотерапия с большим терапевтическим эффектом может применяться для лечения небольших опухолей, но ее эффективность снижается на более поздних стадиях рака. Значительные преимущества использования нано- и микрочастиц для доставки лекарственных препаратов состоят в:

- 1) возможности их доставки в определенные участки тела;
- 2) снижении общей дозы лекарства, необходимой для достижения определенной его концентрации вблизи мишени;
- 3) уменьшении концентрации лекарства в других участках организма, что позволяет избежать серьезных побочных эффектов [1].

Магнитные флюиды на основе соединений железа получили название феррожидкостей. Феррожидкости – это коллоидные растворы магнитных наночастиц оксида железа, окруженных слоем полимера, с закрепленными биомолекулами, имеющими высокое сродство к определенной биологической мишени (конкретному виду клеток или тканей). Частицы феррожидкости могут быть настолько малы (радиус 25 – 100 нм), что ведут себя в жидкостях скорее как молекулы растворенного вещества, чем коллоидные частицы. За счет высокого сродства при контакте частицы феррожидкости они взаимодействуют с мишенью практически необратимо. Это свойство позволяет создавать препараты с очень высокой чувствительностью и эффективностью [3].

Внутривенное введение композитных наночастиц является наиболее распространенным способом достижения ими определенного органа или ткани, поскольку все живые клетки получают питание через кровеносную систему. Результат применения магнитных наночастиц как для ЯМР-томографии, так и для гипертермии зависит от времени их удерживания в плазме крови и окончательного биораспределения. Даже наиболее активные в условиях *in vitro* соединения не могут быть использованы для дизайна средств доставки лекарственных препаратов, если они не существуют *in vivo* в кровеносной системе в течение достаточно длительного времени, необходимого для достижения ими биологической мишени. Удерживание лекарственных препаратов в кровеносной системе требует поиска путей предотвращения их быстрого метаболизма, понижения токсичности, замедления иммунных реакций и накопления в нежелательных тканях. Распределение наночастиц в определенных биологических компартментах зависит от их размера и формы, гидрофобно/гидрофильного баланса поверхности, поверхностного заряда.

Важная часть иммунной системы – мононуклеарные фагоциты, состоящие из клеток-предшественников костного мозга, моноцитов крови и тканевых макрофагов. Эти макрофаги, распределенные во многих тканях тела, распознают и уничтожают стареющие клетки, чужеродные микроорганизмы или частицы. Механизм распознавания/очистки включает: 1) спонтанную адсорбцию циркулирующих в плазме крови белков (опсонинов), способных к взаимодействию с определенными рецепторами плазматической мембраны моноцитов и макрофагов; 2) распознавание частиц; 3) эндоцитоз/фагоцитоз этими клетками, что приводит к удалению чужеродных частиц и их концентрированию в органах с высокой фагоцитарной активностью. Поэтому после внутривенного введения коллоидные частицы исчезают из кровеносной системы в течение нескольких минут и их типичное окончательное биораспределение составляет 80 – 90 % в печени, 5 – 8 % в селезенке и 1 – 2 % в костном мозге. Таким образом, создается благоприятная возможность для эффективной доставки терапевтических агентов в эти фагоцитарные клетки и в соответствующие органы. Такая опосредованная системой мононуклеарных фагоцитов доставка композитных наноматериалов называется „пассивной доставкой”.

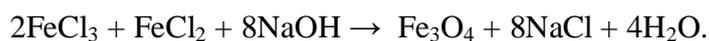
Однако, если моноциты и макрофаги, пребывающие в контакте с кровью, нежелательная мишень, то должна быть разработана стратегия „активной доставки”, которая включает: 1) предельное уменьшение или задержку поглощения наночастиц системой мононуклеарных фагоцитов; 2) повышение возможности направленной доставки долгоциркулирующих частиц к желаемой мишени путем мечения их поверхности специфичными лигандами.

Следует обязательно исключить поглощения макрофагами таких долгоциркулирующих наночастиц. Один из наиболее эффективных путей к этому состоит в предотвращении адсорбции опсопинов. Показано, что чем меньше размер частиц, выше их химическая инертность и более гидрофильна поверхность, тем дольше время полужизни частицы в плазме крови. Изменение кривизны поверхности частиц также может влиять на степень и тип адсорбции опсопина. Гидрофильность частицы может быть обеспечена поверхностной оболочкой из гидрофильных макромолекул, которые создают пространственные препятствия и понижают адсорбцию опсопинов. В качестве гидрофильных макромолекул в настоящее время широко используется полиэтиленгликоль, с молекулярной массой от 2000 до 5000 г/моль [2]. Покрытие наночастиц нейтральным и гидрофильным соединением (таким как полиэтиленгликоль, полисахариды, дисопсопины (сывороточный альбумин человека), и др.) повышает время полужизни (циркуляции в кровеносной системе) от нескольких минут до нескольких часов или дней [1].

Для повышения возможности направленной доставки долгоциркулирующих частиц к мишени их поверхность должна быть функционализирована лигандами, способными к специфичному связыванию с определенными участками или рецепторами на поверхности мишени (процессы молекулярного распознавания, такие как взаимодействия антиген–антитело). В случае гипертермической терапии рака активная доставка должна приводить к избирательной деструкции раковых клеток, даже если они находятся вне опухолевого очага и представляют собой рассеянные метастатические клетки. Для установления диагноза методом ЯМР-томографии также необходимо использовать меченые контрастирующие агенты, которые должны аккумулироваться специфично и в большом количестве в злокачественных опухолях, позволяя установить точный диагноз на стадии, когда болезнь еще может быть излечимой. Однако использование антител (или фрагментов антител) имеет, по крайней мере, два недостатка: их большие размеры (~ 20 нм) приводят к медленной диффузии частиц через биологические барьеры, а иммуногенность, т. е. способность вызывать иммунный ответ организма, способствует их быстрой дезактивации. По этим причинам исследуется возможность использования малых, неиммуногенных лигандов (олигосахаридов, олигопептидов, фолиевой кислоты и др.) [2].

Активная доставка может осуществляться благодаря избыточной экспрессии различных эпитопов или рецепторов на опухолевых клетках или их экспрессии исключительно опухолевыми клетками. Для активной доставки могут использоваться такие избыточно экспрессирующиеся молекулы, как низкомолекулярные лиганды (фолиевая кислота, тиамин, сахара); пептиды (RGD, LHRD), белки (трансферрин, антитела, лектины), полисахариды (гиалуроновая кислота), полиненасыщенные жирные кислоты и ДНК [1].

Среди ферромагнитных материалов, наиболее широко используемых для создания магнитных наночастиц, следует выделить магнетит Fe_3O_4 . Наночастицы Fe_3O_4 могут быть легко синтезированы путем химической со-преципитации (совместного осаждения) ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} . Это наиболее распространенный метод создания магнитных наночастиц. В этом методе соли железа при соотношении $Fe^{3+} / Fe^{2+} = 2$ используются для реакции, которая протекает в щелочной среде:



Размер частиц, полученных этим методом, относительно однороден. Однако если наночастицы Fe_3O_4 хранятся в водной среде, они могут агрегировать и выпадать в осадок.

Наиболее распространенный способ создания стабильных магнитных наночастиц состоит в покрытии их сурфактантами или амфифильными полимерами, поскольку стабильность магнитных частиц очень важна, особенно для магнитных жидкостей, в которых агрегация частиц до приложения к системе внешнего магнитного поля недопустима. Стабильные водные суспензии магнетита могут быть получены при использовании в качестве сурфактантов насыщенных или ненасыщенных жирных кислот. Применение сурфактантов при создании магнитных наночастиц не только помогает стабилизировать частицы, но и позволяет уменьшить их размер.

Микроэмульгирование – простой метод синтеза наноразмерных магнитных частиц. Оригинальная методика синтеза предполагает использование пузырьков сурфактанта. Как и микроэмульсии, пузырьки сурфактанта могут применяться как микрореакторы для приготовления магнитных частиц. Разница состоит в том, что в микроэмульсиях обычно используется только один сурфактант, а жидкая фаза представляет собой систему «вода–масло». В пузырьках сурфактанта присутствуют как минимум два сурфактанта: обычно один катионный, другой анионный. В качестве жидкой фазы используется вода [4].

Благодаря высокому соотношению площадь поверхности/объем и магнитному диполь-дипольному притяжению магнитные частицы агрегируются, что может ограничивать полезные свойства магнитных жидкостей в таких областях применения как разделение клеточного материала, доставка лекарственных препаратов, получение изображений методом ЯМР-томографии, установление диагноза и лечение рака. Метод приготовления высокодисперсных магнитных наночастиц со средним размером менее 5 нм описан в [5].

Дистиллированную воду перед использованием деоксигенировали путем барботирования чистым азотом в течение 30 мин. В качестве источников железа использовали растворы хлорида железа $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и хлорида железа $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ в молярном соотношении 2:1. Смесь 1 моль/л гидроксида аммония и различных количеств раствора цитрата натрия (щелочная среда) медленно вводили в раствор хлоридов железа при сильном перемешивании. Молярное соотношение цитрат-ионов к ионам железа изменяли от 25 до 125 %. Реакцию проводили под защитой газообразного азота в закрытой системе при 323 К в течение 2 ч. В результате был получен черный щелочной коллоидный магнетит, который окислялся на воздухе с образованием коллоидного красновато-коричневого магемита. К последнему добавляли ацетон в равном соотношении объемов, после чего происходила флокуляция коллоида. Жидкость центрифугировали со скоростью 9000 об/мин в течение 10 мин. Супернатант над осадком удаляли путем декантации, центрифугирование повторяли два раза, используя смесь деоксигенированной воды и ацетона (1:1) для удаления избытка катионов аммония и натрия. Таким образом, получали коричневый осадок $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, который можно повторно пептизировать при добавлении воды.

Известно, что цитрат-ионы влияют на формирование оксидов железа за счет комплексообразования на поверхности первичных частиц железа. Когда цитрат-ионы адсорбируются на ядрах оксидов железа, дальнейший рост частиц ингибируется. Лиганды цитрата не только влияют на рост наночастиц, но также обеспечивают отрицательные электрические заряды на их поверхности, что препятствует агрегации. После деионизации приготовленные магнитные коллоиды стабильны в течение как минимум полугода,

при этом деионизация необходима, поскольку избыточные катионы аммония и натрия в коллоидах могут взаимодействовать с отрицательно заряженным поверхностным слоем и препятствовать возникновению сил отталкивания между частицами.

В случае, если добавляемая вода не деоксигенирована и синтез протекает на воздухе без защиты газообразным азотом, приготовленные коллоиды имеют красновато-коричневую окраску, которая свидетельствует о примеси других оксидов железа. Поэтому необходимо в процессе синтеза использовать газообразный азот для предотвращения нежелательного окисления.

Если в раствор железа вводить щелочь слишком быстро при интенсивном перемешивании, может быть получен черный коллоид, но распределение частиц по размеру будет слишком широким, а размер частиц в таком случае не контролируется должным образом [5].

Среди различных наноструктурных материалов большой интерес для применения в разных отраслях биомедицины и биоинженерии проявляется к таким магнитным наночастицам, как магнетит, магемит, никель и кобальт, что обусловлено их суперпарамагнитными свойствами. При этом рассматривается возможность их использования для доставки лекарственных веществ с помощью магнита, выделения клеток из биологических жидкостей, создания контрастирующих агентов в ЯМР-томографии, иммунотестах и для очистки биомакромолекул. Однако с целью предотвращения их агрегирования и седиментации, а также придания особых поверхностных свойств для функционального применения в большинстве случаев необходимо обеспечивать покрытие магнитных наночастиц немагнитным матриксом.

В качестве такого матрикса может выступать слой кремнезема. Оказалось, что кремнеземная оболочка позволяет придать наночастицам ряд полезных свойств. Во-первых, он способен устранять магнитное дипольное притяжение между частицами, что способствует диспергированию магнитных наночастиц в жидких средах и защищает их от выщелачивания в кислотной среде. Во-вторых, благодаря существованию большого числа силанольных групп на поверхности кремнезема покрытые им магнитные наночастицы могут быть легко модифицированы различными функциональными группами. И наиболее важно то, что слой кремнезема на поверхности магнитных наночастиц обуславливает химическую инертность их поверхности в биологических системах.

Существует четыре основных метода приготовления магнитных наночастиц, покрытых кремнеземом. Первый метод, известный как золь-гель процесс, основан на использовании алкоксидов кремния как источника кремнеземного матрикса. Согласно этому методу фаза кремнезема формируется на коллоидных магнитных наночастицах в основной смеси спирт-вода. Второй подход базируется на формировании магнитных наночастиц внутри пор предварительно синтезированного кремнезема с применением соединений металла (например, солей или алкоксидов) как источника магнитной фазы. Третий метод называется аэрозольным пиролизом. Согласно этому методу, покрытые кремнеземом магнитные наночастицы получают пиролизом аэрозоля из смеси-прекурсора, содержащей алкоксиды кремния и соединения металла. Согласно четвертому методу, предложенному совсем недавно, при формировании обратной микроэмульсии для приготовления или суспендирования магнитных наночастиц использовали неионогенные сурфактанты, при этом слой кремнезема формировался вокруг них гидролизом и конденсацией тетраэтилортосиликата. Среди указанных методов, для приготовления покрытых кремнеземом магнитных наночастиц золь-гель синтез используется наиболее часто из-за таких его преимуществ, как относительно мягкие условия протекания реакции, низкая стоимость и отсутствие посторонних веществ (сурфактантов), которые при последующих стадиях синтеза должны быть удалены [6].

Были разработаны композитные магнитные наночастицы для доставки в клетки тела терапевтических генов или противоопухолевых лекарств [7]. Магнитные наночастицы покрывали полимерным матриксом О-карбоксиметилхитозаном. Этот полимер биосовместим, подлежит биодegradации, нетоксичен и растворим в воде. Кроме того, он имеет противоопухолевые и антисептические свойства, а также содержит карбоксильные и аминоксильные группы, которые могут ковалентно связываться с различными биологически активными макромолекулами, противоопухолевыми препаратами и липосомами. Магнитные наночастицы, покрытые этим полимером, конъюгировали с полипептидом вирусного происхождения HIV-1 (tat). Этот полипептид содержит 86 аминокислотных остатков и важен для репликации вируса. Его использование при создании композитных наночастиц весьма существенно в связи со способностью проходить сквозь клеточную и ядерную мембрану, поскольку эти мембраны – труднопреодолимые препятствия для магнитных наночастиц. Манипулируя этим свойством tat, непроницаемые магнитные наночастицы могут быть введены в клетку и в клеточное ядро. Кроме того, tat может быть связан с поверхностью полимера дисульфидными связями, что облегчает расщепление нанокомпозита внутри клетки, деградацию наночастицы и выход из них лекарственного препарата или ДНК. Была оценена возможность использования данной композитной наночастицы в качестве носителя лекарственных препаратов путем прививки модельного лекарства МТХ [7].

Поскольку противоопухолевые препараты вызывают серьезные побочные эффекты, которые ограничивают их эффективное терапевтическое использование, представляется интересным повысить соотношение польза/вред таких лекарств путем направленного транспорта к больным органам или тканям с применением магнитного поля. С другой стороны, термочувствительные липосомы в сочетании с местной гипертермией могут быть применены для лечения рака. Сейчас изучаются возможности электромагнитного нагревания, особенно локальной гипертермии глубоких структур тела. Как уже сообщалось, магнетит, покрытый декстраном, может использоваться для селективного нагрева с помощью переменного магнитного поля. Благодаря высокой диспергируемости в воде декстран-магнетит способен включаться в липосомы в гораздо большей степени, чем обычный магнетит, который не может быть полностью диспергирован ни в водном, ни в органическом растворителе. Разработаны термочувствительные липосомы, включающие декстран-магнетит, и названные термочувствительными магнитолипосомами (ТМ).

Сочетание магнитных и термочувствительных свойств в липосомах для магнитного транспорта может способствовать не только направленной доставке лекарственного препарата с помощью магнитного поля, но и выходу лекарства в ответ на гипертермию, особенно вызванную электромагнитным полем местную гипертермию. ТМ нагреваются с помощью переменного электромагнитного поля, но не статического, используемого для направленного транспорта. Гипертермия – эффективный способ лечения рака. Для этой цели полезен декстран-магнетит, имеющий очень низкую токсичность.

ТМ способны эффективно удерживаться магнитным полем в линейной проточной системе в условиях *in vitro*. Однако возможности использования ТМ для целенаправленной доставки лекарственного препарата внутри интактного организма в условиях *in vivo* оставались невыясненными. В качестве модельного органа-мишени была выбрана печень, поскольку одним из наиболее распространенных летальных злокачественных новообразований является гепатоклеточная карцинома. Системная химиотерапия в общем неэффективна при лечении неоперабельных форм этого заболевания. Активность ретикулоэндотелиальной системы (системы мононуклеарных фагоцитов) ослаблена у пациентов с гепатоклеточной карциномой. Кроме того, активность ретикулоэндотелиальной системы ослабляется после химиотерапии неопластических заболеваний, что связано с подавлением функции костного мозга.

После внутривенной инъекции ТМ проходили через печень и удерживались в ней. Неудержанные печенью ТМ инкубировали на водяной бане при 315 К в силиконовой катушке длиной 20 м (соответственная скорость потока 2 мл/мин в течение 8 мин). В этих условиях флуоресцентный маркер, кальцеин, выходил из ТМ и регистрировался с помощью детектора. Поскольку молекулы кальцеина, вышедшие из липосом, имеют значительно более высокую интенсивность флуоресценции, чем заключенные в липосомах, между печенью и флуоресцентным детектором располагали силиконовую катушку, нагреваемую до 315 К, для того чтобы вызвать полный выход кальцеина из ТМ.

Было исследовано соотношение удерживаемости ТМ в присутствии и в отсутствие магнитного поля. В печени животных с нормальной и заблокированной ретикулоэндотелиальной системой (хлорид гадолиния, $GdCl_3$, способен подавлять фагоцитарную активность ретикулоэндотелиальной системы) это соотношение больше единицы, что свидетельствует о том, что ТМ могут быть целенаправленно удерживаемы в печени, органе с хорошим кровоснабжением, с помощью магнита, расположенного вне тела. Более того, в нормальной печени количество ТМ, не удержавшихся в печени и покинувших ее, составляло только 14 – 16 % в присутствии магнита и 25 – 41 % в его отсутствие. Это свидетельствует о преимуществах целенаправленного транспорта с помощью магнита с точки зрения снижения возможных системных побочных эффектов противоопухолевых препаратов, заключенных в липосомы. Кроме того, исходя из предыдущих исследований *in vitro*, это соотношение должно быть тем выше, чем более сильный магнит применяется.

Однако печень способна удерживать ТМ даже в отсутствие магнитного поля. Для того чтобы выяснить, как поглощение системой мононуклеарных фагоцитов способствует удерживанию ТМ в печени без применения магнита, были проведены эксперименты *in situ* с использованием печени мышей с заблокированной ретикулоэндотелиальной системой и результаты сравнены с полученными для печени нормальных животных. Установлено, что соотношение удерживаемости ТМ в присутствии и в отсутствие магнитного поля значительно выше в печени животных с заблокированной ретикулоэндотелиальной системой, как при высоких, так и при низких концентрациях декстрана-магнетита и липосом.

Таким образом, в разных клинических ситуациях липосомы удерживаются в печени более эффективно в случае применения магнитного поля. Укажем другие преимущества магнитного транспорта ТМ в печень. 1. Даже если поглощение клетками ретикулоэндотелиальной системы значительно, дополнительное удерживание ТМ способствует эффективной гипертермии, поскольку повышение температуры зависит от концентрации ТМ (или декстрана-магнетита) в определенном участке. Кроме того, поскольку способность к поглощению системой мононуклеарных фагоцитов ограничена, магнитный транспорт может быть эффективен и в тех случаях, когда имеется большее количество липосом, содержащих лекарственное средство, чем способны поглотить фагоциты, что и требуется для эффективного лечения рака. 2. Токсичность лекарств (особенно антинеопластических препаратов) может быть максимально снижена с уменьшением количества ТМ, вытекающих из печени в другие органы. 3. В идеальном случае авторы [8] надеются доставлять антинеопластический препарат в паренхимальные клетки неретикулоэндотелиальной системы. Производство ТМ, избегающих поглощения системой мононуклеарных фагоцитов, расширит преимущества магнитного транспорта липосом. В альтернативном способе используется временная блокада клеток ретикулоэндотелиальной системы. Поскольку магнитный транспорт не органоспецифичный, ТМ могут применяться для доставки лекарственных препаратов и в другие органы, кроме печени (например, мозг) [8].

Хорошим альтернативным методом противоопухолевой терапии, имеющим минимальные побочные эффекты, является фотодинамическая терапия. Он основан на введении в опухолевый очаг фоточувствительного препарата с последующим воздействием на опухоль электромагнитного излучения (спектрального диапазона 600 – 800 нм, называемый терапевтическим окном). При поглощении электромагнитного излучения в этом диапазоне молекула фоточувствительного препарата подвергается превращению из основного синглетного в возбужденное триплетное состояние, которое может приводить к образованию синглетного кислорода вследствие реакции переноса энергии между возбужденной формой молекулы фоточувствительного препарата и молекулярным кислородом. Возбужденный фоточувствительный агент может также взаимодействовать с окружающими биомолекулами путем переноса электронов или атомов водорода, что приводит к образованию других реакционноспособных форм кислорода, таких как кислородный супероксид O_2^- или гидроксил-радикал. В общем предполагается, что молекула синглетного кислорода – главный разрушающий фактор фотодинамической терапии, приводящий к необратимой деструкции тканей-мишеней.

Была создана магнитная наноэмульсия масла в воде с биodeградируемыми свойствами (рис. 1) [9]. Эта композиция получена путем непосредственной эмульсификации из биodeградируемых сурфактантов в водной среде и соевых фосфолипидов в органической фазе. Используемыми магнитными наночастицами были покрытые фосфатом частицы магемита ($\gamma-Fe_2O_3$), стабилизированные в виде водного коллоида при биологическом pH. В магнитную наноэмульсию включали хорошо известный фоточувствительный медицинский препарат фоскан, применяемый в фотодинамической терапии для лечения рака. Для изучения проницаемости препарата в кожу в условиях *in vitro* фоскан вводили в наноэмульсию в присутствии и в отсутствие покрытых фосфатом магнитных наночастиц. Было показано, что проницаемость кожи для фоскана существенно повышалась в присутствии магнитных наночастиц, что объясняется более высокой стабильностью магнитной наноэмульсии. Повышение удерживания лекарства в роговом слое, эпидерме и дерме указывает на эффективность системы магнитной доставки лекарственного препарата магнитными наночастицами, покрытыми слоем фосфата. Такая система лекарственной доставки действует как усилитель проницаемости препарата и может использоваться для фотодинамического повреждения возбужденных светом участков ткани. Система обладает высокой фотодинамической активностью и в будущем может использоваться в клинической терапии для редукции неопластических клеток.

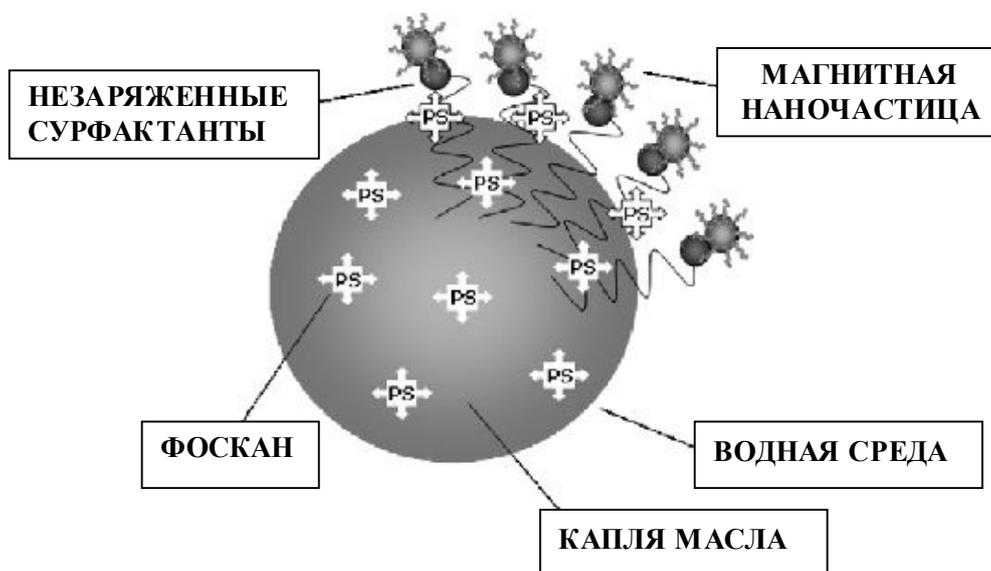


Рис. 1. Схематическое изображение капли магнитной наноэмульсии масла в воде.

На сегодняшний день наибольший интерес в клиническом использовании магнитных наночастиц представляет оксид железа. Это связано с химической стабильностью, биосовместимостью и сравнительной легкостью получения наночастиц магнетита Fe_3O_4 и магемита $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Синтез обычно производят в водном растворе подходящих макромолекул. Макромолекулы ограничивают рост магнитного ядра, в то же время создавая покрытие, которое помогает контролировать дисперсность и агрегирование частиц. Эксперименты *in vivo* показали, что оксид железа в таких композициях постепенно подвергается природному кругообороту. Тело человека содержит около 3 – 4 г железа, находящегося преимущественно в таких белках как ферритин, гемосидерин, трансферритин и гемоглобин. Когда магнитные наночастицы начинают распадаться, любая растворимая форма железа принимает участие в образовании указанных молекул, и этот процесс регулируется самим организмом. Принимая, что клиническая доза должна содержать только несколько миллиграммов железа на килограмм веса тела, возможность перенасыщения железом представляется совершенно невероятной. Если синтезированные Fe_3O_4 и $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ находятся в форме наночастиц, они проявляют суперпарамагнитные свойства при комнатной температуре. Другими словами, они сильно намагничиваются при наложении магнитного поля, но не сохраняют свойств постоянного магнита при выключении поля. Это позволяет надеяться, что наночастицы оксида железа могут повысить точность направленной доставки лекарственных препаратов к определенным участкам тела и при этом не будут агрегироваться в процессе синтеза или при выключении приложенного магнитного поля, находясь в диспергированной форме.

Комбинации Fe_3O_4 и $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ одобрены в клинических применениях в качестве контрастирующих агентов для получения изображений методом магнитнорезонансной томографии. Контрастирующие агенты изменяют время поперечной релаксации протонов воды. Это приводит к «негативному контрасту», или темным пятнам, на снимках. Контрастирующие агенты на основе оксида железа мало влияют на продольную релаксацию. Эти агенты называются суперпарамагнитными оксидами железа, если индивидуальные частицы крупнее 50 нм, и ультрамалыми суперпарамагнитными оксидами железа, если диаметр частиц менее 50 нм. Суперпарамагнитные оксиды железа используются для контрастирования при получении изображений органов, связанных с ретикулоэндотелиальной системой (например, печень, селезенка), в которых они быстро накапливаются после внутривенного введения. Ультрамалые суперпарамагнитные оксиды железа применяются для контрастирования при лимфографии благодаря их тенденции аккумулироваться в лимфатических узлах [10].

Хотя коммерческие контрастирующие агенты полезны для усиления контрастных различий при получении изображений печени или селезенки, они не способны к активному транспорту в определенные клетки-мишени. Для этой цели был разработан контрастирующий агент направленного действия – магнетит с присоединенными к нему моноклональными антителами, специфичными к раковым клеткам. Этот контрастирующий агент был синтезирован путем ковалентного присоединения покрытого полиэтиленгликолем магнетита к моноклональным антителам, специфичным к поверхностному антигену клеток глиомы человека. После внутривенного введения мышам с опухолью магнетита с присоединенными моноклональными антителами наночастицы магнетита аккумулировались в опухолевой ткани и только через 24 или 48 ч после инъекции наблюдалось снижение интенсивности сигнала на 50 % (рис. 2) [11].

Парамагнитные или суперпарамагнитные вещества, конъюгированные со специфичными к опухоли моноклональными антителами, могут быть полезными для идентификации определенного типа опухоли. Сердцевину использованных в [12] магнитных частиц составляли частицы оксида железа в виде монокристалла, покрытые стабильной

оболочкой из декстрана, которая изолирует их от окружающих растворов и снижает адсорбцию белка на поверхности.

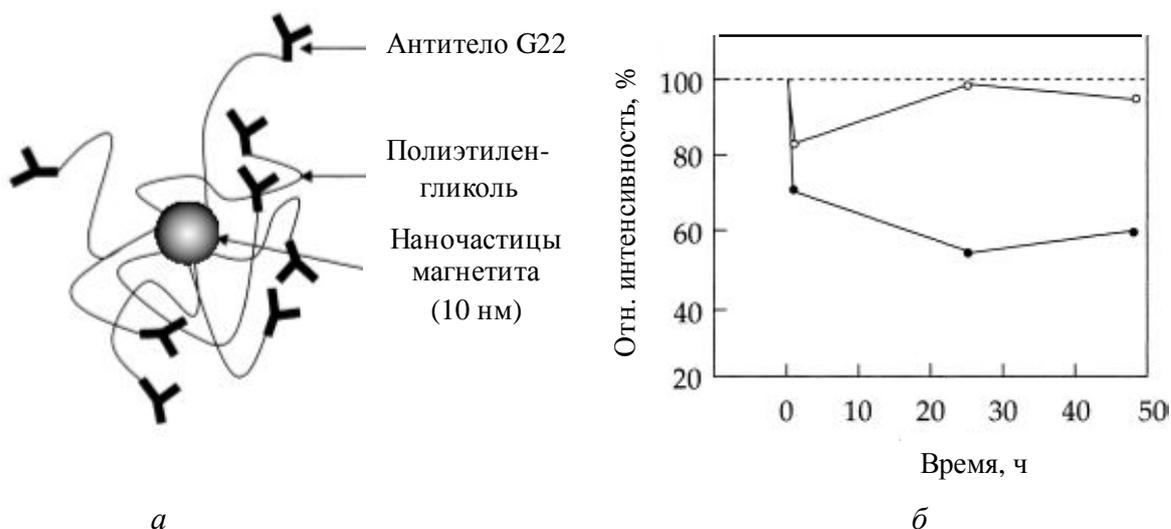


Рис. 2. Схема использования магнетита, конъюгированного с моноклональными антителами, в качестве контрастирующего агента для ЯМР-томографии. Магнетит, конъюгированный с моноклональными антителами (а) получен ковалентным связыванием магнетита, покрытого полиэтиленгликолем, с антителами G22. Его вводили внутривенно мышам с опухолью глиомы. Измерения интенсивности сигнала проводили через 30 мин, 24 и 48 ч после введения (б). Сравнение интенсивностей сигналов времени поперечной релаксации T_2 опухолевой ткани между наночастицами магнетита с (зачерненные кружки) или без (светлые кружки) антител G22.

Для конъюгации антител L6 (моноклональные антитела мыши, специфичные к прогрессофизинподобному белку клеточной поверхности – антигену, в большом количестве присутствующему на поверхности клеток злокачественных опухолей человека: мелкоклеточной карциномы легких, карциномы груди и карциномы толстой кишки) с монокристаллическими наночастицами оксида железа, сначала инкубировали последние с NaIO_4 (изначальное соотношение декстран/ NaIO_4 по весу составляло 1:1, а соотношение наночастицы/L6 (в мг) 1:2) в цитратном буфере с концентрацией 0,01 моль/л, pH 8,4 при комнатной температуре, и затем производили очистку на колонке Sephadex G-100. Продукт этой реакции затем конъюгировали с моноклональными антителами (L6 или P1.17) в буфере бикарбоната натрия концентрацией 0,2 ммоль/л, pH 6,5, в течение 15 мин при комнатной температуре. Далее добавляли 10 мг NaCNBH_3 для восстановления основания Шиффа. После этого производили очистку методом ультрафильтрации (фильтр Amicon) и гель-хроматографии на колонке Biogel A15 для отделения свободных антител от связанных. Около 12 моноклональных антител были связаны с одной коллоидной частицей оксида железа [12].

Монодисперсные, способные к намагничиванию полимерные частицы, Dynabeads M-450 (Dyna, Осло, Норвегия), были разработаны Ugelstad et.al. [13]. Частицы имели диаметр 4,5 мкм, площадь поверхности от 3 до 5 м²/г и содержали 20 % железа в форме $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Композиция содержала $1,4 \cdot 10^{10}$ частиц/г. Поверхность частицы была частично гидрофобна, что позволяло проводить физическую адсорбцию антител, и частично гидрофильна благодаря присутствию гидроксильных групп, которые могли быть активированы и использованы для химической прививки антител.

Антитела химически прививались к поверхности частиц после активации гидроксильных групп *n*-толуолсульфохлоридом, $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{Cl}$. Суспензия частиц была приготовлена в стерильной воде и автоклавирована при 393 К в течение 20 мин. Частицы переводились в сухой ацетон посредством последовательной промывки в 30, 60 и 80 % растворах ацетона в воде и трехкратной финишной промывки сухим ацетоном. К 1 г частиц добавляли 5 мл ацетона, 2 мл пиридина и 2 г *n*-толуолсульфохлорида в 5 мл ацетона. Смешивание проводили в течение 12 ч при комнатной температуре. Полученные частицы промывали 3 раза ацетоном и помещали в воду посредством последовательных промывок в 80 %, 60 % и 30 % растворах ацетона в воде. Затем частицы обрабатывали 70 % этанолом в течение 1 ч при комнатной температуре, промывали 3 раза в воде и хранили при 277 К в воде как суспензию с концентрацией частиц 100 мг/мл.

Антитела в буфере фосфата натрия концентрацией 0,01 моль/л, содержащем 0,5 моль/л NaCl при pH 7,5, добавляли к активированным частицам в количестве 5 мкг антител/мг частиц или около 50 мг частиц/мл. Суспензию помещали в боратный буфер концентрацией 0,1 моль/л, pH 9,5, и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 ч. Частицы промывали повторно в растворе NaCl с концентрацией 0,9 %, содержащем 1 %-ную стерилизованную при нагревании человеческую сыворотку крови. Полученные препараты содержали 2,5 – 3 мкг антител/мг частиц, что соответствует от $1,2 \cdot 10^5$ до $1,4 \cdot 10^5$ молекул антител/гранулу [13].

2. Новые типы магнитоуправляемых иммуносорбентов

Синтез магнитоуправляемых сорбентов с высокой сорбционной активностью был осуществлен методом формирования пористой структуры носителя в присутствии органических полимеров в соответствии с принципами, сформулированными в работе [14].

Нанокремнезем А-380 был использован в качестве структурного компонента, формирующего остов композиционного сорбционного материала [15]. В качестве органических компонентов синтеза использовали 3 %-ный раствор хитозана в 3 %-ной уксусной кислоте, применяли магнетит (Fe_3O_4) как магнитный компонент. Кроме того, был разработан способ получения магносорбентов путем введения на стадии получения гидрогеля оксалата железа (II). Таким образом, технология получения магноиммуносорбентов включает 8 стадий:

- 1) получение гидрогеля из аэросила и компонентов синтеза (хитозан, Fe_3O_4 , оксалат железа (II));
- 2) созревание и синерезис композиционного гидрогеля;
- 3) термообработка гидрогеля и образование ксерогеля;
- 4) механическое размельчение ксерогеля;
- 5) выделение высокодисперсной фракции магносорбента методом рассева;
- 6) стерилизация магносорбента методом автоклавирования;
- 7) химическое модифицирование магносорбента функциональными группами (метод бензохиноновый, глутаральдегидный, окисления перхлоратом);
- 8) ковалентное присоединение к магносорбенту лиганда (антигены, антитела).

Стадии 1 – 3 характеризуют процесс синтеза магносорбентов на основе формирования пористой структуры органокремнеземной матрицы в присутствии компонентов синтеза. На стадии 1 за счет конденсации с участием силанольных групп кремнезема – аэросила образуется гидрогель. На стадии 2 при созревании и синерезисе гидрогеля протекают дегидратационные процессы, что приводит к уменьшению объема гидрогеля и его уплотнению. На стадии 3, при термообработке, гидрогель превращается в ксерогель, при этом объем его уменьшается в 8 – 15 раз благодаря действию капиллярных сил. На стадиях 4 – 8 завершается синтез композиционных магносорбентов, обеспечивающий

выделение высокодисперсной фракции, получение стерильного сорбционного материала, а также его активирование функциональными группами с последующей иммобилизацией лигандов.

Структура композиционных сорбентов может быть представлена корпускулярной системой, состоящей из частиц кремнезема, покрытых полимером (в данном случае хитозаном). Размер корпускул определяет величину удельной поверхности, а плотность их упаковки – объем и радиус пор. Механизм образования пористых хитозан-кремнеземных магносорбентов – это сложный процесс, сопровождающийся формированием корпускулярной структуры кремнеземного остова из непористых частиц аэросила А-380 и включением в него магнетита и органического полимера – хитозана.

Рассмотренный механизм образования композиционных сорбентов согласуется с литературными данными по получению органокремнеземных сорбентов для аффинной хроматографии и носителей для иммобилизации ферментов [14].

Получение магносорбентов проводили двумя способами.

1. На первой стадии синтеза сорбента использовали готовый магнетит. Для этого к 5 г нанокремнезема А-380 добавляли 3 %-ный раствор хитозана в 3 %-ной уксусной кислоте и магнетит в количестве 0,5 – 3 г. Полученный продукт подвергали гелеобразованию в течение 4 ч при 295 К, предварительно поместив гидрогель в кварцевые кюветы. Затем полученный продукт высушивали до образования ксерогеля в течение 2 ч при температуре 368 – 378 К, измельчали, а затем методом отсева выделяли фракции с размером частиц 70 – 150 мкм.

2. На второй стадии синтеза использовали оксалат железа. Для этого к 5 г нанокремнезема А-380 добавляли 3 %-ный раствор хитозана в 3 %-ной уксусной кислоте и далее оксалат железа в количестве 1,5–3 г. В отличие от предыдущего способа, на стадии 3 термообработку гидрогеля и высушивание ксерогеля проводили при температуре 453 К. При этом происходит разложение оксалата железа до FeO, далее образование Fe₂O₃ и получение магнетита Fe₃O₄.

Были проведены исследования структурных характеристик полученных магносорбентов. Удельную поверхность материалов определяли на основании данных низкотемпературной адсорбции азота, а суммарный объем пор и их диаметр – методом ртутной порометрии на приборе АУТО PORE 9200.

В табл. 1 представлены структурные характеристики сорбентов, полученные методом формирования пористой структуры кремнеземной матрицы в присутствии органического полимера хитозана и использовании в качестве магнитного материала магнетита.

Таблица 1. Характеристики магносорбентов в зависимости от количества магнетита, используемого в синтезе

Образец	Массовое соотношение компонентов синтеза			Время гелеобразования, ч	Удельная поверхность, м ² /г	Объем пор, см ³ /г	Диаметр пор, нм
	SiO ₂	Fe ₃ O ₄	Хитозан				
1	5	2,5	1,5	4	68	1,5	35
2	5	1,5	1,5	4	74	1,4	32
3	5	0,5	1,5	4	82	1,2	26

В табл. 2 представлены структурные характеристики хитозанкремнеземных магносорбентов, полученных методом формирования пористой структуры кремнеземной матрицы в присутствии полимера хитозана и оксалата железа.

Таблица 2. Характеристики магносорбентов в зависимости от количества оксалата железа, используемого в синтезе

Образец	Массовое соотношение компонентов синтеза			Время гелеобразования, ч	Удельная поверхность, м ² /г	Объем пор, см ³ /г	Диаметр пор, нм
	SiO ₂	Хитозан	Оксалат железа				
4	5	1,5	3	4	70	1,63	37
5	5	1,5	2,5	4	73	1,55	34
6	5	1,5	2	4	78	1,35	30

Из сравнения данных табл. 1 и 2 следует, что при использовании в качестве компонента для синтеза сорбентов оксалата железа получаемые магносорбенты имеют несколько меньшую удельную поверхность и большее значение объема пор. Это объясняется, по-видимому, разрыхляющим и активирующим влиянием газообразных продуктов, выделяющихся при разложении оксалата железа, с образованием FeO, далее Fe₂O₃ и магнетита.

В последующем была проведена количественная оценка магнитных свойств разработанных композиционных магносорбентов с использованием вибрационного метода [15]. Для определения магнитных свойств сорбент закреплялся на конце тонкого стержня из немагнитного материала, который с помощью цангового зажима соединялся с вибрационной системой, приводящей образец в колебательное движение. Образец магносорбента располагался между четырьмя измерительными катушками, которые неподвижно закреплялись на полюсах электромагнита.

Магнитный момент сорбента определяли по магнитному моменту эталона – пластинки из никеля. Расчет удельной намагниченности проводили по формуле:

$$M_{уд} = \frac{E_{обр} m_{эт}}{E_{эт} m_{обр}},$$

где $E_{эт}$, $m_{эт}$ – ЭДС и масса эталона; $E_{обр}$, $m_{обр}$ – ЭДС и масса сорбента.

Результаты проведенных исследований представлены в табл. 3, из которой следует, что величина удельной намагниченности насыщения возрастает с увеличением содержания магнетита в составе композиционных хитозанкремнеземных сорбентов.

Таблица 3. Магнитные свойства хитозанкремнеземных магносорбентов

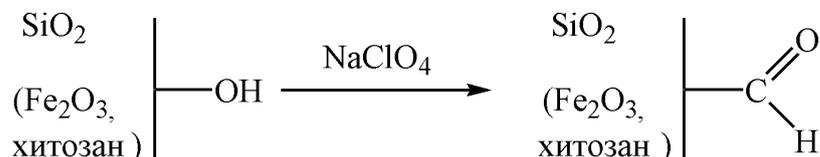
Образец	Массовое соотношение компонентов синтеза			Удельная поверхность, м ² /г	Удельная намагниченность насыщения, А·м ² /кг
	SiO ₂	Fe ₃ O ₄	Хитозан		
1	5	2,5	1,5	68	17,4
2	5	1,5	1,5	74	10,2
3	5	0,5	1,5	82	4,3

С целью дальнейшего активирования композиционных сорбентов функциональными группами были разработаны три варианта модифицирования носителей – бензохиноновый, окислением и с применением глутарового альдегида.

Аминокремнеземы могут использоваться в качестве промежуточных продуктов для синтеза биоспецифических адсорбентов методом химической сборки. Для химического превращения аминокрупп, находящихся в поверхностном слое кремнезема, в альде-

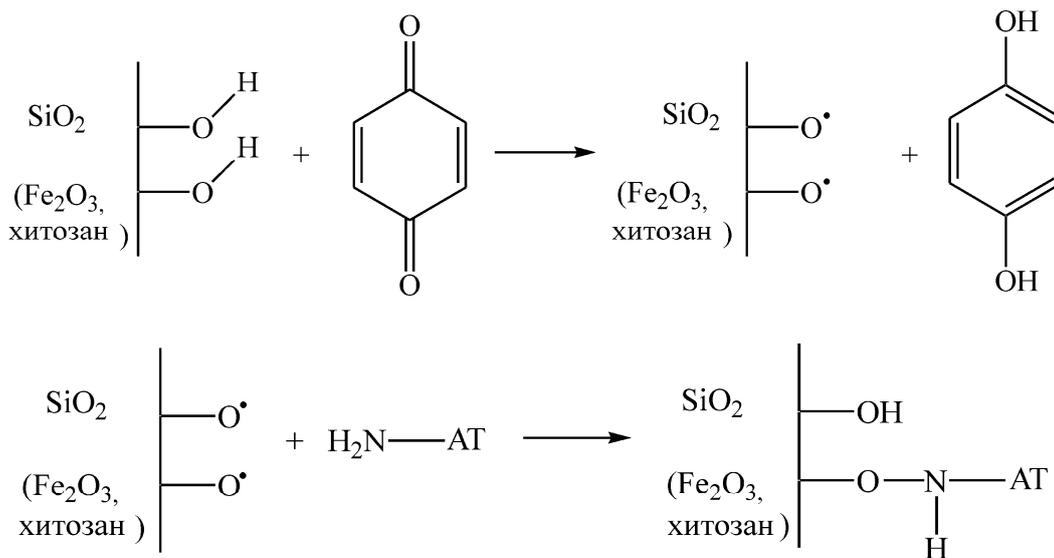
гидные группы носители обрабатывают глутаровым альдегидом. Этот метод основан на способности аминогрупп образовывать с карбонильными соединениями азометиновые связи. Наличие в структурных звеньях хитозана двух гидроксильных и первичной аминогруппы расширяет возможности его модификации.

Окислительный метод состоит в формировании на поверхности магносорбентов альдегидных групп за счет взаимодействия с сильным окислителем NaClO_4 :



Синтез альдегидосодержащего магносорбента проводили следующим образом [15]: к 1 г хитозанкремнеземного сорбента приливали 20 мл дистиллированной воды, содержащей 0,5 г перхлората натрия. Затем сорбент инкубировали в течение 1 ч в темноте при температуре $(295 \pm 4) \text{ K}$, после чего его отмывали дистиллированной водой (6-кратно, по 70 – 80 мл). Концентрация альдегидных групп магносорбентов определялась в соответствии с методикой, описанной в [16], и составила 0,42 мг-экв/г.

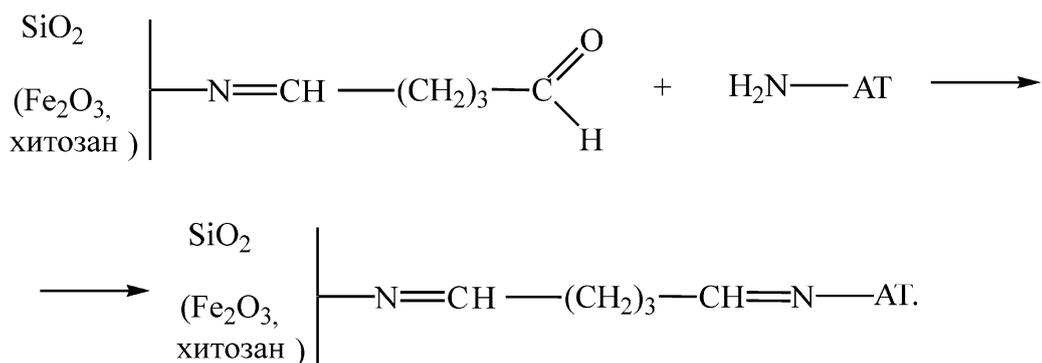
Был также разработан метод модифицирования хитозанкремнеземных сорбентов бензохиноном [14]:



$\text{H}_2\text{N—AT}$ – антитела с аминогруппами на поверхности.

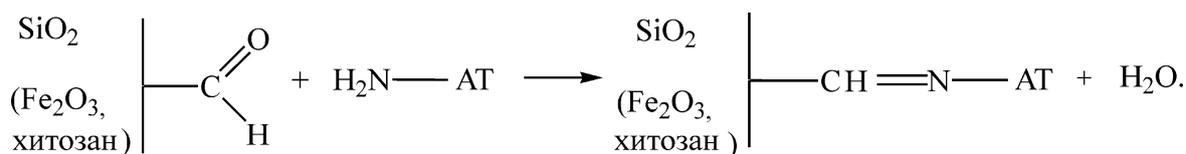
В этом случае синтез магносорбента проводили следующим образом: к 1 г композиционного хитозанкремнеземного сорбента приливали 5 мл 0,1 моль/л фосфатного буфера с pH 8,5, содержащего 2,5 мг бензохинона. Инкубировали сорбент при температуре $(295 \pm 4) \text{ K}$ в течение 1 ч. Затем магносорбент промывали трижды по 60 – 80 мл фосфатным буфером с pH 8,5. При таком химическом модифицировании на поверхности сорбента образуются функциональные группы, которые способны к ковалентному связыванию с аминокислотными остатками тирозина, лизина и гистидина, входящих в состав белкового лиганда [17].

Был также опробован вариант модифицирования поверхности магносорбентов глутаровым альдегидом. Схема получения композиционных магноиммосорбентов с применением глутарового альдегида имеет следующий вид:



Для синтеза к 1 г хитозанкремнеземного сорбента добавляли 2 мл дистиллированной воды и 1,5 мл 25 %-ного глутарового альдегида. Выдерживали 15 – 17 ч при температуре 295 ± 4 К. Затем сорбент шестикратно отмывали по 60 мл дистиллированной водой.

В процессе иммобилизации на поверхности магносорбентов белковых молекул иммуноглобулинов (антител) олигогидрохиноновые группы взаимодействуют с аминогруппами белка. Схема иммобилизации антител через альдегидные группы, полученные перхлоратным окислением хитозаномангнесорбентов, имеет вид:



При ковалентном связывании антител с активированным магносорбентом иммобилизация осуществляется за счет образования азометиновых связей.

Для оптимизации условий получения магноиммуносорбентов были проведены исследования влияния таких факторов, как температура и pH раствора иммуноглобулинов на функциональные свойства магноиммуносорбентов – специфическую активность и чувствительность.

Для изучения влияния pH раствора иммуноглобулинов на процесс их иммобилизации в первом случае значение pH доводили до 9,0 добавлением 0,5 %-ного раствора едкого натрия, а во втором случае – до значения pH, равного 5,5, использованием 2 моль/л раствора соляной кислоты. Иммобилизацию иммуноглобулинов с разными магноиммуносорбентами осуществляли в течение 1 ч при температуре (295 ± 4) К. Далее иммуносорбенты использовали в тест-системах для иммуноферментного анализа [15].

3. Поиск новых магниточувствительных материалов

Как было показано выше, анизотропное распределение наночастиц оксида железа в неоднородном магнитном поле может использоваться для получения изображений. Обычно вопрос о том, могут ли в действительности эти частицы передвигаться в теле человека при приложении магнитного поля к отдельным участкам [10] требует дополнительного изучения. Единственной значительной силой, которую магнитные частицы преодолевают в биологических жидкостях, является гидродинамическая сила. Величина гидродинамической силы может быть очень высокой в малых капиллярах, где скорость движения крови минимальна и составляет только 0,05–0,1 см/с [18]. Увеличение размера частиц, несомненно, будет способствовать их притяжению к внешнему магниту. Однако исследователи весьма осторожны в чрезмерном увеличении размера суперпарамагнитных частиц оксида железа в связи с повышением вероятности

блокады ими кровеносных сосудов. Более мелкие частицы имеют пропорционально большую площадь поверхности для адсорбции, что приводит к снижению количества магнитного носителя, требуемого для доставки определенной лекарственной дозы. И чем меньше магнитный носитель, тем, вероятно, должна быть выше эффективность поглощения его клетками.

Можно предположить, что другие материалы более приемлемы для решения этой задачи. Одним из подходов в поиске альтернативных магниточувствительных материалов может быть использование наночастиц переходных металлов, таких как чистые Fe и Co или металлические сплавы, а также такие соединения, как FeCo. Эти металлические наночастицы имеют больший магнитный момент, чем оксиды железа. Насыщение магнетизации FeCo особенно высоко. Тогда использование той же массы магнитного носителя может приводить к значительно большей движущей силе, что улучшает эффективность доставки лекарственных препаратов. Меньшие концентрации магнитного материала или более мелкие частицы, могут использоваться для достижения того же магнитного эффекта. Возможно, применение ультрамалых наночастиц, меньших 5 или 10 нм, позволит производить доставку малых молекул или отдельных участков ДНК.

Однако этот класс наноматериалов имеет свои недостатки. Наночастицы чистых металлов при комнатной температуре скорее ферромагнитны, чем суперпарамагнитны. Это означает, что, будучи намагничены, они будут сохранять намагниченность после выключения магнитного поля, что с большей вероятностью будет приводить к их агрегации. Поэтому многие исследователи занимаются поиском подходящих покрытий, которые будут предотвращать агрегацию частиц и обеспечивать их химическую стабильность. Для этой цели рассматривается возможность использования инертных металлов, таких как Au и Ag, пептидных лигандов и кремнезема [10].

Предполагается, что такие неорганические материалы, как кремнезем, обладают свойствами, необходимыми для лекарственной доставки с помощью наночастиц: нетоксичностью, биосовместимостью, высокой стабильностью, гидрофильностью и пористой структурой, позволяющей инкапсулирование лекарственных препаратов. Железо, локализованное внутри пор частиц кремнезема или кремнеземных микрокапсул, придаст векторам лекарственной доставки магнитные свойства. Это позволит с помощью внешнего магнитного поля направить частицы или микрокапсулы к специфическим участкам тела, таким как больной орган. Оба указанных типа кремнеземных материалов могут быть достаточно малыми для транспорта через кровеносную систему. Скорость выхода лекарственных препаратов из кремнеземных структур может контролироваться подбором их размера и пористости. Погружение магнитного материала внутрь кремнеземного матрикса обеспечивает сведение к минимуму побочных эффектов. В настоящее время исследователи занимаются экспериментами *in vivo* на животных и изучением диффузии лекарств в модельных биологических жидкостях [19].

Альтернативным способом терапевтической обработки опухолевой ткани может быть эмболизация кровоснабжающих опухоль сосудов магнитной жидкостью, содержащей частицы железа или оксида железа размером порядка нескольких мкм. Были проведены эксперименты *in vitro*, в которых фиксировали условия эмболизации силиконовых трубок при создании давления магнитной жидкости, соответствующего кровяному давлению в малых артериях и артериолах организма человека. При этом блокировалось прохождение по модельным сосудам только частиц, но не жидкости. Полученный результат указывает на возможность создания методов приостановки снабжения кислородом опухолевой ткани [20].

Величина магнитного поля уменьшается с увеличением расстояния до мишени. Постоянные магниты Nd-Fe-B в комбинации с суперпарамагнитными наночастицами оксида железа, имеющими отличные магнитные свойства, позволяют достигать эффек-

тивной величины магнитного поля на глубине 10 – 15 см внутри тела [1]. Даже при использовании наиболее сильных физиологически безопасных магнитов, создающих магнитные поля величиной 1 – 2 Тл, эти поля являются практически однородными вне зоны мишени и имеют очень малый градиент в этой зоне, что осложняет накопление магнитных частиц, поскольку магнитная сила, действующая на магнитные частицы, пропорциональна не только величине магнитного поля, но также и его градиенту. Эффект дальнейшего повышения величины магнитного поля ограничивается свойствами магнитного материала, заключенного в магнитных частицах, который, как правило, достигает магнитного насыщения при сравнительно низких напряженностях магнитного поля [18]. При использовании внешнего магнита магнитные носители аккумулируются не только в желаемом участке тела, но также распределяются между внешним магнитом и областью, в которой эффективное магнитное поле больше некоторой минимальной величины. Таким образом, геометрия магнитного поля крайне важна и должна учитываться в процессе создания систем для доставки лекарственных препаратов с помощью магнитных носителей. Ограничения, связанные с использованием экстракорпоральных магнитов, могут устраняться путем имплантации дополнительных магнитов внутрь тела вблизи мишени [1].

В последние годы в работах [21 – 35] выполнен комплекс экспериментальных и теоретических исследований, направленных на разработку научных основ создания медико-биологических полифункциональных наноконпозитов и первого поколения нанороботов. Проанализированы условия транспорта и удержания магниточувствительных наноконпозитов (носителей лекарственных препаратов) с помощью магнитного поля в кровеносной сосудистой системе. Разработана криохимическая методика синтеза однодоменного магнетита. Изучены процессы полимеризации на его поверхности акрил-амида в плазме ВЧ-разряда. Предложена методика получения магнитоуправляемого носителя лекарственных препаратов на основе ультрадисперсного магнетита с биосовместимым полиакриламидным покрытием. Изучены модели магнитоуправляемых лекарственных препаратов цитотоксического (содержащих платидиам и цисплатин) и гипертермического действия, вирусинактивирующих магниточувствительных наноконпозитов. Проведена модификация поверхности наночастиц магнетита γ -аминопропилтриэтоксисиланом (γ -АПТЭС) в толуоле. Предложена модель строения поверхности частиц магнетита, модифицированных γ -АПТЭС. Разработаны магниточувствительные наноконпозиты на основе магнетита и диоксида титана с использованием метода жидкофазного молекулярного наслаивания. Синтезированы наноконпозиты магнетит – гидроксид алюминия и изучены их свойства. С целью распознавания микробиологических объектов исследованы физико-химические процессы функционализации поверхности наноконпозитов специфическими антителами.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования магнитоуправляемых наноконпозитов для решения ряда актуальных медицинских и биологических задач. На их основе созданы опытные образцы наносистем с функциями медико-биологических нанороботов: способностью распознавания микробиологических объектов, направленного транспорта и депонирования лекарственных препаратов в органе-мишени, диагностики и терапии заболеваний на клеточном уровне, адсорбции и удаления продуктов клеточного распада под воздействием магнитного поля.

Работа выполнена при поддержке Украинского научно-технологического центра (проект № 4128).

Литература

1. Magnetic nanoparticles for drug delivery / M. Arruebo, R. Fernández-Pacheco, M. Ricardo Ibarra, J. Santamaría // *Nanotoday*. – 2007. – V. 2, № 3. – P. 22 – 32.
2. Magnetic nanoparticle design for medical applications / S. Mornet, S. Vasseur, F. Grasset, P. Veverka, G. Goglio, A. Demourgues, J. Portier, E. Pollert, E. Duguet // *Prog. Sol. Stat. Chem.* – 2006. – V. 34. – P. 237 – 247.
3. Sahoo S.K., Labhasetwar V. Nanotech approaches to drug delivery and imaging // *Drug Discov. Today*. – 2003. – V. 8, № 24. – P. 1112 – 1120.
4. Yang Y., Li L., Chen G. Synthesis of magnetic particles via a cationic-anionic surfactant vesicle method // *J. Magn. Magn. Mater.* – 2006. – V. 305. – P. 40 – 46.
5. Synthesis and characterization of ultrafine well-dispersed magnetic nanoparticles / Z.L. Liu, H.B. Wang, Q.H. Lu, G.H. Du, L. Peng, Y.Q. Du, S.M. Zhang, K.L. Yao // *J. Magn. Magn. Mater.* – 2004. – V. 283. – P. 258 – 262.
6. Investigation of formation of silica-coated magnetite nanoparticles via sol-gel approach / Y.-H. Deng, C.-C. Wang, J.-H. Hu, W.-L. Yang, S.-K. Fu // *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*. – 2005. – V. 262. – P. 87 – 93.
7. Synthesis and characterization of tat-mediated O-CMC magnetic nanoparticles having anticancer function / A. Zhao, P. Yao, C. Kang, X. Yuan, J. Chang, P. Pu // *J. Magn. Magn. Mater.* – 2005. – V. 295. – P. 37 – 43.
8. Magnetic targeting of thermosensitive magnetoliposomes to mouse livers in an *in situ* on-line perfusion system / E. Viroonchatapan, H. Sato, M. Ueno, I. Adachi, K. Tazawa, I. Horikoshi // *Life Sci.* – 1996. – V. 58, № 24. – P. 2251 – 2261.
9. Magnetic nanoemulsions as drug delivery system for Foscan: Skin permeation and retention in vitro assays for topical application in photodynamic therapy (PDT) of skin cancer / F.L. Primo, L. Michieletto, M.A.M. Rodrigues, P.P. Macaroff, P.C. Morais, Z.G.M. Lacava, M.V.L.B. Bentley, A.C. Tedesco // *J. Magn. Magn. Mater.* – 2007. – V. 311. – P. 354 – 357.
10. Gould P. Nanomagnetism shows *in vivo* potential // *Nanotoday*. – 2006. – V. 1, № 4. – P. 34 – 39.
11. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles / A. Ito, M. Shinkai, H. Honda, T. Kobayashi // *J. Biosci. Bioeng.* – 2005. – V. 100, № 1. – P. 1 – 11.
12. MR of carcinoma-specific monoclonal antibody conjugated to monocrySTALLINE iron oxide nanoparticles: the potential for noninvasive diagnosis / L.G. Remsen, C.I. McCormick, S. Roman-Goldstein, G. Nilaver, R. Weissleder, A. Bogdanov, K.E. Hellstrom, I. Hellstrom, R.A. Kroll, E.A. Neuwelt // *Amer. J. Neuroradiol.* – 1996. – V. 17. – P. 411 – 418.
13. Elimination of B-lymphoma cells from human bone marrow: model experiments using monodisperse magnetic particles coated with primary monoclonal antibodies1 / G. Kvalheim, O. Fodstad, A. Pihl, K. Nustad, A. Pharo, J. Ugelstad, S. Funderud // *Cancer Res.* – 1987. – V. 47. – P. 846 – 851.
14. Брыкалов А.В. Получение биопрепаратов на основе методов – аффинной сорбции и иммобилизации // Дис. ... д-ра хим. наук. – 1993. – 330 с.
15. Грядских Д.А. Синтез композиционных аффинных сорбентов с магнитными свойствами и их технологическое использование при изготовлении чумных иммунобиологических препаратов // Дис. ... канд. биол. наук. – 2004. – 153 с.
16. Климова В.А. Основные методы анализа органических соединений. – М.: Химия, 1971. – 159 с.
17. Тривен М. Иммобилизованные ферменты. – М.: Мир, 1983. – 230 с.

18. *In vitro* study of ferromagnetic stents for implant assisted-magnetic drug targeting / M.O. Avilersa, H. Chenb, A.D. Ebnera, A.J. Rosengartb, M.D. Kaminskic, J.A. Ritter // *J. Magn. Magn. Mater.* – 2007. – V. 311. – P. 306 – 311.
19. Sealy C. Silica key to drug delivery // *Research News.* – 2006. – V. 1, N 2. – P. 19.
20. Liu J., Flores G.A., Sheng R. *In vitro* investigation of blood embolization in cancer treatment using magnetorheological fluids // *J. Magn. Magn. Mater.* – 2001. – V. 225. – P. 209 – 217.
21. Магніточутливий носій лікарських препаратів на основі ультрадисперсних магнетит - поліакриламідних частинок / П.П. Горбик, І.В. Дубровін, А.Л. Петрановська, О.М. Федоренко, Л.П. Сторожук В.Ф. Чехун, О.О. Чуйко // *Доповіді НАН України.* – 2005. – № 4. – С 224 – 228.
22. Динаміка виходу лікарського препарату цитостатичної дії „Платидіам” з поверхні магнітокерованого нанокompозиту / А.Л. Петрановська, О.М. Федоренко, П.П. Горбик, Л.П. Сторожук, О.О. Чуйко, В.Ф. Чехун // *Мед. хімія.* – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 75 – 78.
23. Розробка та властивості магніточутливих нанокompозитів для спрямованого транспорту лікарських засобів / А.Л. Петрановська, О.М. Федоренко, П.П. Горбик, О.О. Чуйко, В.Ф. Чехун, І.В. Дубровін, Л.С. Семко, Л.П. Сторожук, М.В. Абрамов, С.Л. Рево // *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології.* – 2005. – Т. 3, Вип. 3. – С. 817 – 823.
24. Модифікування наночастинок магнетиту γ -амінопропілтриетоксисиланом рідинно-фазовим методом / А.Л. Петрановська, О.М. Федоренко, Л.П. Сторожук, П.П. Горбик, О.О. Чуйко, Л.С. Дзюбенко, О.І. Оранська // *Доповіді НАН України.* – 2006. – № 1. – С. 157 – 162.
25. Медико-біологічні нанокompозити на основі магнетиту: синтез, модифікація, функціоналізація поверхні для застосування *in vitro* / П.П. Горбик, А.Л. Петрановська, Л.П. Сторожук, І.В. Дубровін, Л.С. Семко, В.Ф. Чехун // *Хімія, фізика та технологія поверхні,* 2006. – Вип. 11-12. – С 374 – 397.
26. Magnetically sensitive nanocomposites for medical and biological applications / P.P. Gorbik, L.P. Storozhuk, O.O. Chuiko, L.Yu. Vergun, V.F. Chekhun // *Surface chemistry and nanomaterials in biomedical and environmental science: II Mathematics, Physics and Chemistry: - NATO Science Series,* 2006. – V. 228. – P. 299 – 306.
27. Использование некоторых оксидов металлов и их нанокompозитов в качестве сорбентов оболочечных вирусов / Л.Ю. Вергун, П.П. Горбик, Е.П. Трохименко, Л.М. Исакова, Л.П. Сторожук, А.А. Чуйко // *Доп. НАН України.* – 2006. – №10. – С. 140 – 145.
28. Одержання магніточутливих нанокompозитів Fe_3O_4 - TiO_2 методом рідиннофазного молекулярного нашарування / А.П. Шпак, А.Л. Петрановська, П.П. Горбик, О.І. Оранська, Л.П. Сторожук, Л.Ю. Вергун, О.М. Кордубан // *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології.* – 2006. – Т. 4, Вип. 3. – С. 623 – 632.
29. Структура та магнітні властивості нанокристалічного магнетиту і нанокompозитів на його основі / Л.С. Семко, П.П. Горбик, С.Л. Рево, Л.П. Сторожук, О.І. Оранська, О.І. Скрипка // *Вісн. Київ. ун-ту: фіз.-мат. науки.* – 2006. – Вип. 4. – С. 472 – 480.
30. Модифікування магнетиту діоксидом титану та властивості одержаних нанокompозитів / Л.С. Семко, П.П. Горбик, О.О. Чуйко, Л.П. Сторожук, І.В. Дубровін, О.І. Оранська, С.Л. Рево // *Доп. НАН України.* – 2007. – №2. – С. 150 – 157.
31. Синтез та властивості нанокompозитів на основі магнетиту, модифікованого оксидом кремнію / Л.С. Семко, П.П. Горбик, Л.П. Сторожук, І.В. Дубровін, О.О. Чуйко, О.І. Оранська, О.І. Скрипка // *Доп. НАН України.* – 2007. – № 3. – С. 153 – 160.

32. Нанокompозити на основі магнетиту / П.П. Горбик, А.Л. Петрановська, Л.П. Сторожук, Н.Ю. Лук'янова, О.М. Кордубан, С.М. Махно, О.О. Чуйко, В.Ф. Чехун, А.П. Шпак // Укр. хім. журн. – 2007. – Т. 73, № 5. – С. 24 – 29.
33. Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур // Под ред. А.П. Шпака, П.П. Горбика. – Киев: Наук. думка. – 2007. – Т.1. – 430 с.
34. Нанокompозиты медико-биологического назначения на основе ультрадисперсного магнетита / А.П. Шпак, В.Ф. Чехун, Л.Г. Гречко, И.В. Дубровин, А.Л. Петрановская, Л.Ю. Вергун, О.М. Кордубан // Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур. – Киев: Наукова думка. – 2007. – Т. 1. – С. 45 – 89.
35. Сторожук Л.П. Синтез та властивості поліфункціональних магніточутливих нанокompозитів // Автореф. дис. ... канд. хім. наук. – Київ, 2007. – 21 с.