

## МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ НАНОКОМПОЗИТЫ

**П.П. Горбик<sup>1</sup>, А.Л. Петрановская<sup>1</sup>, Д.Г. Усов<sup>1</sup>, Л.П. Сторожук<sup>1</sup>,  
В.Ф. Чехун<sup>2</sup>, Н.Ю. Лукьянова<sup>2</sup>, С.И. Шпилева<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйка Национальной академии наук Украины  
ул. Генерала Наумова 17, 03164 Киев-164*

<sup>2</sup>*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии  
им. Р.Е. Кавецкого Национальной академии наук Украины,  
ул. Васильковская 45, 03022, Киев-022*

*Разработана методика получения магниточувствительных наноконструкций на основе магнетита с модифицированной поверхностью и иммобилизованным цисплатином, конъюгированных моноклональными антителами CD 95 (модель медико - биологического наноробота).*

*Изучены адсорбция и ковалентная иммобилизация моноклональных антител CD 95 на наноконструкциях с различной природой поверхности: магнетит / полиакриламид и магнетит / $\gamma$ -аминопропилтриэтоксисилан.*

*Исследовано взаимодействие полученных моделей с клеточной линией MCF-7. Показано, что использование магнитоуправляемых наноконструкций (нанороботов), несущих противоопухолевый препарат и моноклональные антитела CD 95, обуславливает синергический эффект терапевтического действия, превышающий влияние контрольных доз до 50 %.*

### **Введение**

Использование моноклональных антител относится по классификации S. Rosenberg (1997) к методам *пассивной иммунотерапии* злокачественных опухолей [1]. Клинические данные свидетельствуют, что пассивная иммунотерапия моноклональными антителами обладает эффективностью, сопоставимой с эффективностью химиотерапии. При этом уровень ее токсичности значительно ниже последней. Сочетание этих методов считается наиболее перспективным, так как существенно расширяет возможности современного лечения и делает его более эффективным.

Магнитоуправляемые наноконструкции, включающие цитотоксический препарат и моноклональные антитела, обладают функцией распознавания и осуществляют целевую доставку лекарственного средства к опухоли. При этом, терапевтический эффект достигается при более низких концентрациях препарата, уменьшая его токсичное действие на организм в целом [1 – 4].

Идея этой работы заключается в целенаправленном химическом конструировании многокомпонентных биосовместимых наноконструкций с иерархической структурой и полифункциональными свойствами, изучении процессов иммобилизации на их поверхности биологически-активных молекул с цитотоксическими свойствами и моноклональных антител типа CD-95 с сенсорными свойствами.

## Методы исследований

Синтез магнетита детально описан в [5]. Для его получения использовали реакцию соосаждения растворов солей двух- и трехвалентного железа.

Для исследований использовали фракцию 30 – 50 нм, которая соответствует одно-моментному состоянию с удельной поверхностью  $S = 90 \dots 180 \text{ м}^2/\text{г}$  (определено по тепловой десорбции аргона).

ИК-спектры образцов исследовали с помощью Фурье-спектрометра “Perkin Elmer” (модель 1720X) в диапазоне  $400\text{-}4000 \text{ см}^{-1}$ .

Иммобилизацию антител осуществляли на нанокompозитах двух типов: магнетит/ $\gamma$ -аминопропилсилоксан ( $\text{Fe}_3\text{O}_4 / \gamma\text{-АПС}$ ) и магнетит/полиакриламид ( $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ ).

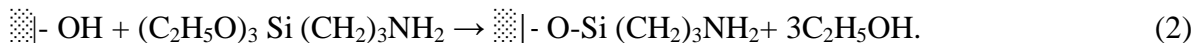
Модификацию поверхности наночастиц магнетита  $\gamma$ -АПС проводили жидкофазным методом в толуоле по методике [6]. Реакцию поликонденсации осуществляли по схеме:



Образец тестировали с помощью ИК-Фурье спектроскопии. Интенсивный дублет полосы поглощения (ПП)  $1037$  и  $1130 \text{ см}^{-1}$  приблизительно одинаковой интенсивности свидетельствует об образовании на поверхности магнетита силоксановых связей Si-O-Si.

Поверхность полиакриламидного слоя [7], активировали этилендиамином (ЭД) для образования реакционноспособных  $\text{-NH}_2$ -групп на поверхности [8]. Модификацию нанокompозита этилендиамином проводили следующим образом. К образцу магнетита, покрытого шитым полиакриламидом (ПАА), добавляли 2 % раствор ЭД и оставляли на 5 ч. Образцы промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции в поле постоянного магнита.

Активацию поверхности магниточувствительных носителей с полиакриламидным слоем ЭД осуществляли по реакции:



### *Исследование процессов взаимодействия поверхности нанокompозитов с моноклональными антителами CD 95*

Изучалась неспецифическая (физическая) адсорбция и ковалентное присоединение моноклональных антител CD 95 на нанокompозитах с разной поверхностью:  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  и  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ . В качестве сенсорных молекул использовалось моноклональное мышинное антитело CD 95.

Были приготовлены 4 типа образцов, для которых навеска равнялась 0,03 г, объемы растворов CD 95 и CD 95 окисленного на один образец составляли 1,0 мл и 1,7 мл соответственно:

1.  $\text{Fe}_3\text{O}_4 / \gamma\text{-АПС} + \text{CD 95}$ ;
2.  $\text{Fe}_3\text{O}_4 / \text{ПАА} + \text{CD 95}$ ;
3.  $\text{Fe}_3\text{O}_4 / \gamma\text{-АПС} + \text{CD 95}$  окисл;
4.  $\text{Fe}_3\text{O}_4 / \text{ПАА} + \text{CD 95}$  окисл.

Адсорбцию (физическую) моноклональных антител CD 95 ( $C = 20 \text{ мкг/мл}$ ) на нанокompозитах  $\text{Fe}_3\text{O}_4 / \gamma\text{-АПС}$  и  $\text{Fe}_3\text{O}_4 / \text{ПАА}$  (образцы 1 и 2, соответственно) проводили в физрастворе (1 мл) в течение 2 ч в динамическом режиме при комнатной температуре.

Окисление моноклональных антител CD 95 проводили 0,1 М NaIO<sub>4</sub> в ацетатном буфере (рН 5,0). Окисленный CD 95 очищали диализом против 2 л 0,02 М ацетатного буфера (рН 5,0). Раствор окисленных антител после диализа был доведен до рН 8 – 9 0,06 М карбонатно-гидрокарбонатным буфером на физрастворе (рН 9,5). Исходная концентрация моноклональных антител CD 95 после диализа составляла 13 мкг/мл.

Ковалентное связывание моноклонального антитела CD 95 на нанокompозитах Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС и Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА, активированного этилендиамином (образцы 3, 4), проводили в 0,06 М карбонатном буфере (рН 9,0) на физрастворе в течение 2 часов в динамическом режиме при комнатной температуре. Маточный раствор сливали в поле постоянного магнита и измеряли концентрацию белка на комбинированном ридере для микропланшета Synergy HT, Model SIAFRTD, Serial Number 202993 (Bio Tek).

Количественное определение содержания белка в пробах было проведено по методу Бредфорда [9]. В основу метода положен сдвиг спектра поглощения красителя Кумаси (Coomassie Blue) G-250 на длине волны 595 нм при образовании им комплекса с белком. Концентрацию CD 95<sub>окисл.</sub> определяли по калибровочным графикам и рассчитывали адсорбцию моноклональных антител на поверхности исследуемых нанокompозитов.

#### ***Изучение кинетики адсорбции цисплатина на поверхности нанокompозитов Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПТЭС и Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА***

Исследовалась кинетика адсорбции цисплатина (ЦП) на поверхности нанокompозитов [13]. Адсорбция цисплатина осуществлялась при его перемешивании (50 мл) с магнитными частицами нанокompозитов (200 мг) в течение 18 часов при комнатной температуре. Через каждые 2 ч отбиралась аликвота 5 мл. Количество адсорбируемого вещества определяли измерением концентрации Pt<sup>2+</sup>-ионов контактных растворов до и после адсорбции цисплатина. Измерения проводили на однолучевом двухканальном атомно-абсорбционном спектрофотометре С-115 М1 с пламенным атомизатором, дейтериевым корректором фона и цифровой регистрацией. Использовали лампу с полым катодом на платину, аналитическая линия – 265,9, топливно - окислительная система: ацетилен – воздух.

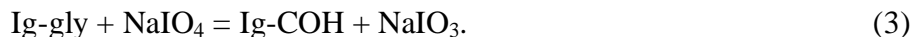
#### ***Изготовление модели нанороботов (методика совместной иммобилизации цисплатина и моноклонального антитела)***

С целью изучения влияния магниточувствительных нанокompозитов с иммобилизованным цитостатиком, конъюгированных моноклональными антителами, на жизнеспособность онкоклеток, были изготовлены следующие образцы:

1. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ γ-АПС + CD 95;
2. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ γ-АПС + ЦП;
3. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ γ-АПС + CD 95 + ЦП;
4. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ ПАА + CD 95;
5. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ ПАА + ЦП;
6. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ ПАА + CD 95 + ЦП.

Изготовление нанокompозитов с адсорбированным цисплатином, конъюгированных моноклональными антителами (образцы 3, б) осуществляли последовательно. В начале, к поверхности нанокompозитов Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС и Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА (активированного ЭД) ковалентно присоединяли окисленные моноклональные антитела CD 95, а затем адсорбировали цитостатик.

Окисление моноклональных антител CD 95 проводили согласно описанной выше методике по реакции:



Исходная концентрация моноклональных антител CD 95 после диализа составляла 13 мкг/мл.

Ковалентное связывание моноклональных антител CD 95 ( $V = 1,7$  мл с  $C = 3,88$  мкг/мл) на поверхности нанокомпозитов  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  и  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  (навески по 0,03 г), осуществляли в течение 1,5 ч в динамическом режиме при комнатной температуре по реакции:



Полученные образцы осаждали в поле постоянного магнита.

Нанокомпозиты с ковалентно присоединенными моноклональными антителами (адсорбция  $A_{\text{CD 95}} = 137,7$  мг/г для  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  и  $A_{\text{CD 95}} = 163,2$  мг/г для  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ ) заливали 10 мл раствора цисплатина с концентрацией  $C = 1$  мг/мл. Адсорбцию проводили в динамическом режиме на протяжении 4 часов по вышеописанной методике. Осадок отделяли в поле постоянного магнита. Адсорбция составляла  $A = 98,3$  мг/г для  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  и  $A = 128$  мг/г для  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ .

Для изучения влияния нанокомпозитов с адсорбированным цитостатиком, конъюгированных моноклональными антителами, на культивируемую среду, рассчитывали разведения образцов живительной средой таким образом, чтобы концентрация цисплатина соответствовала биологическому эквиваленту эффективности  $\text{IC}_{25}$ , то есть равнялась 25 % концентрации  $\text{IC}$ , что позволяет полностью подавить клетки. Поскольку из предыдущих исследований известно, что  $\text{IC}_{50} = 5$  мкг/мл, то для нашего эксперимента использовали концентрацию  $\text{IC}_{25} = 2,5$  мкг/мл. При этом концентрация CD 95 составляла 0,2 мкг/мл (доза, используемая при лечении, составляет 10 – 30 мкг/мл).

### **Исследование цитотоксического действия**

Модели магнитоуправляемых лекарственных средств цитостатического действия были исследованы “*in vitro*” в Институте экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины [10]. Была определена цитотоксическая активность нанокомпозитов  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  и  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  с адсорбированным цисплатином, конъюгированных моноклональными антителами CD 95, на клетках карциномы молочной железы человека линии MCF-7. Для сравнения была исследована цитотоксическая активность нанокомпозитов, содержащих только цисплатин или моноклональные антитела.

В качестве контрольных образцов были использованы чистая питательная среда, цисплатин с  $C = 2,5$  мкг/мл, что соответствует четвертичной дозе  $\text{IC}$ , и моноклональные антитела CD 95 с  $C = 0,2$  мкг/мл. Также были исследованы исходный магнетит и нанокомпозиты  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  на биосовместимость с данной клеточной линией.

Клетки линии MCF-7 (концентрация составляла  $1 \cdot 10^5$  клеток/мл в объеме 100 мкл) высаживали в 96-луночные пластиковые планшеты. Клетки культивировались на модифицированной среде Dulbecco - ISCOV (Sigma, Germany) с добавлением 10 % эмбрионной телячьей сыворотки и антибиотика – гентамицина в концентрации 40 мкг/мл в стандартных

условиях при 37 °С и при насыщении воздуха 5 % CO<sub>2</sub>. После 24 ч адаптации клеток к условиям культивирования добавляли исследуемые пробы для тестирования (каждый в 3 параллелях, в 100 мкл) и инкубировали в тех же условиях. Определение цитотоксичности проводили через 24 ч. Эффективность оценивали по МТТ-колориметрическому тесту. В основу метода положена способность митохондриальных ферментов живой клетки превращать 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолиум бромид (МТТ) – соль желтого цвета в кристаллический МТТ-формазап лилового цвета [10]. Для этого в лунки планшета добавляли 20 мкл раствора МТТ (Sigma) (5 мг/мл фосфатно-солевого буфера) и инкубировали в течение 3 ч. После центрифугирования планшета (1500 об/мин, 5 мин) с помощью полуавтоматического отсоса удаляли супернатант. Для растворения кристаллов формазапа в каждую лунку добавляли 100 мкл диметилсульфоксида (Serva). Величину оптического поглощения раствора измеряли с помощью мультилучного спектрофотометра при длине волны 540 нм.

### Результаты и их обсуждение

Задачей исследований было создание нанокомпозитов, содержащих противоопухолевый препарат цисплатин и моноклональные антитела CD 95, обеспечивающие распознавание клеток и целевую доставку цисплатина к опухоли, а также достижение цитотоксического эффекта препарата при более низких концентрациях, уменьшая токсичное влияние цитостатика на организм в целом.

Как известно, ткань опухоли характеризуется целым рядом особенностей, которые отличают ее от нормальной ткани: начиная от нарушений микроциркуляции и заканчивая экспрессией антигенных детерминант и рецепторов. Именно комплексное изучение последних заложило основу к разработке методов, так называемой “таргентной терапии” (целевой), используя специфические клетки в качестве мишеней. В таких случаях лиганды, способные специфически связываться с указанными рецепторами, ковалентно или нековалентно присоединяются к наночастицам - носителям противоопухолевого препарата. Это позволяет не только повысить концентрацию препарата возле клетки-мишени, но и уменьшить его токсичное действие на нормальные ткани [1].

Для иммобилизации моноклональных антител CD 95 использовали их ковалентное присоединение к амино-функционализированным нанокомпозитам. Амины реагируют с альдегидными группами, которые могут быть образованы в молекулах антител путем периодатного окисления их карбогидратных остатков. В этом случае 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 молекулы антитела, а именно Fc фрагментом (fragment crystalline) к поверхности, тогда как Fab – связывающий фрагмент (fragment antigen binding) остается неизменным и ориентирован наружу [11, 12]. Результаты ковалентного присоединения моноклонального антитела CD 95 к поверхности нанокомпозитов представлены в табл. 1.

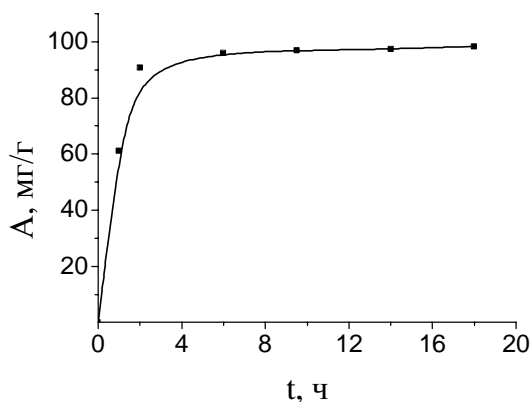
Полученные результаты адсорбции указывают на то, что ковалентное присоединение имеет существенные преимущества по отношению к неспецифической адсорбции; увеличиваются термодинамическая стойкость иммобилизованного слоя за счет образования ковалентной связи и кинетическая стойкость в результате осложнения десорбции за счет медленного гидролиза оснований Шиффа.

**Таблица 1.** Иммуобилизация моноклональных антител CD 95 на поверхности магнито-чувствительных наноконпозитов Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ γ-АПТЭС и Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА

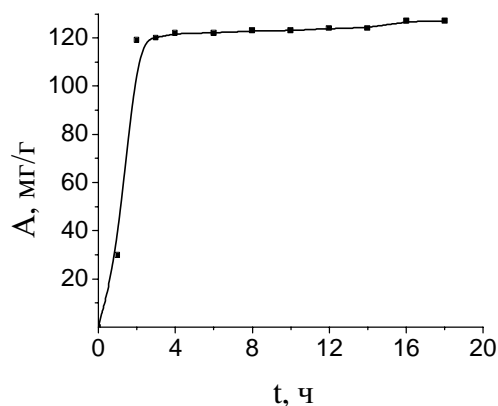
Наноконпозит	C <sub>0</sub> , мкг/мл	D	C <sub>равн</sub> , мкг/мл	A(CD 95), мкг/г
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> / γ-АПТЭС + CD 95 <sub>окисл.</sub>	3,88	0,44	1,45	137,7
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА + CD 95 <sub>окисл.</sub>	3,88	0,42	1,00	163,2
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> / γ-АПТЭС + CD 95	20,00	0,73	19,96	1,2
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА + CD 95	20,00	0,72	19,93	2,3

где C<sub>0</sub> – исходная концентрация антител, D – оптическая плотность, C<sub>равн</sub> – равновесная концентрация антител при адсорбции, A – адсорбция CD 95 на поверхности наноконпозитов.

Исследовалась кинетика адсорбции цисплатина на поверхности магнитоуправляемых наноконпозитов Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ γ-АПС и Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ ПАА [13]. Кинетические кривые адсорбции представлены на рис. 1, 2.



**Рис. 1.** Кинетическая кривая адсорбции цисплатина на поверхности магнитоуправляемого наноконпозита Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС.



**Рис. 2.** Кинетическая кривая адсорбции цисплатина на поверхности магнитоуправляемого наноконпозита Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА.

Результаты исследований цитотоксического действия магнито-чувствительных наноконпозитов с адсорбированным цисплатином, конъюгированных моноклональными антителами, на жизнеспособность клеток линии MCF-7 представлены в табл. 2.

Из полученных результатов видно, что использование магнито-чувствительных наноконпозитов с адсорбированным цисплатином с концентрацией вдвое ниже терапевтического диапазона, конъюгированных моноклональными антителами CD 95 с почти на порядок меньшей концентрацией, приводит к гибели 46 - 57 % опухолевых клеток, что превышает действие контрольного образца до 50 %. Этот обнаруженный синергический эффект можно объяснить так. Во-первых, реализована адресная доставка комплекса цитостатик – моноклональное антитело, что имеет интегрированный лиганд, к опухолевым клеткам благодаря

наличию на их поверхности рецепторов. Цитотоксический эффект собственно цисплатина осуществляется через образование ковалентных связей молекул препарата с ДНК. Этому способствует травматическое воздействие нанокompозита на клеточную мембрану, что существенно улучшает проникновение лекарственных средств через мембранный барьер. Бифункциональные продукты взаимодействия, так называемые ДНК-аддукты, блокируют репликацию, транскрипцию и, как следствие, клеточную пролиферацию. Во-вторых, система лиганд/рецептор играет важную роль в апоптозе злокачественных клеток. Связываясь со своим рецептором, антитело запускает систему передачи сигналов, которая приводит к апоптозу. Есть также отдельные сведения [1], свидетельствующие о том, что данная система может вызывать гибель опухолевых клеток под воздействием цитотоксических препаратов.

**Таблица 2.** Исследование влияния магниточувствительных нанокompозитов с адсорбированным цисплатином, конъюгированным моноклональным антителом, на жизнеспособность клеток линии MCF-7

Контроли сравнения	Угнетенные клетки, %						
	Действие контрольных образцов	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС + ЦП	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС + CD 95	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС +ЦП+ CD 95	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА+ ЦП	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА+ CD 95	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА+ +ЦП+ CD 95
Цисплатин (ЦП), С=2,5 мкг/мл	25	31			38		
Антитело CD 95, С=0,2 мкг/мл	10		20			21	
Цисплатин+ CD 95	38			46			57

Следовательно, воздействие магнитоуправляемых нанокompозитов (нанороботов), в состав которых входит противоопухолевый препарат и моноклональные антитела CD 95, на онкоклетки MCF-7 характеризуется синергизмом и позволяет реализовать распознавание специфических клеток и достичь цитотоксического эффекта препарата при более низких концентрациях, создать условия для уменьшения токсического влияния лекарственного химиотерапевтического препарата на организм в целом.

## Выводы

Отработана совокупность нанотехнологических этапов построения биосовместимых нанокompозитов с иерархической архитектурой типа магнетит – биосовместимое покрытие – химиотерапевтический препарат – антитело.

Разработаны методики модифицирования биосовместимой поверхности нанокompозитов магнетит/γ-аминопропилсилоксан и магнетит/полиакриламид для ковалентной иммобилизации антител.

Изучены процессы адсорбции и ковалентной иммобилизации моноклональных антител CD 95 на нанокompозитах с различной природой поверхности.

Разработана методика получения магниточувствительных нанокомпозитов на основе модифицированного магнетита с иммобилизованным цисплатином, конъюгированных моноклональными антителами CD 95 (модель наноробота). Исследованы процессы взаимодействия полученных моделей на клеточной линии карциномы молочной железы человека MCF-7. Показано, что использование магнитоуправляемых нанокомпозитов, в состав которых входит противоопухолевый препарат и моноклональные антитела CD 95, характеризуется синергическим эффектом, позволяет реализовать распознавание специфических клеток и достичь цитотоксического действия, превышающего влияние контрольной дозы цисплатина до 50 %.

Работа выполнена в рамках Проекта № 4128 УНТЦ

### Литература

1. Моисеенко В.М. Возможности моноклональных антител в лечении злокачественных опухолей // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3, № 4. – С. 253 – 260.
2. Горбик П.П. Супрамолекулярна хімія на межі розподілу фаз: пріоритетні напрямки та перспективи // Тези конф. «Нанорозмірні системи. Будова – Властивості – Технології. – НАНСИС 2007. – Київ, Україна (21-23 листопада 2007). – Київ: Вип. «Комункомплекс, 2007. – С. 9.
3. Нанотехнология в ближайшем десятилетии. Прогноз направлений исследований // Под ред. М.К. Роко, Р.С. Уильямса / Пер. с англ. – М: Мир, 2002. – 292 с.
4. Филиппов В.И., Владимирский М.А., Андросова М.В., Добринский Э.К. “Матрица иммуносорбента” // патент Рос. Фед. 2140084, - 1999.
5. Медико-біологічні нанокомпозити 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: Міжвід. Зб. Наук. Пр./Ін-т хімії поверхні НАН України. – К.: Наук. думка, 2006. – Вип. 11-12. – С. 374 – 397.
6. Розробка та властивості магніточутливих нанокомпозитів для спрямованого транспорту лікарських засобів / А.Л. Петрановська, О.М. Федоренко, П.П. Горбик та ін. // Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. – 2005. – Т. 3, вип. 3. – С. 817 – 823.
7. Модифікування наночастинок магнетиту  $\gamma$ -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.
8. Коршак В.В., Штильман М.И. Полимеры в процессах иммобилизации и модификации природных соединений. – Москва: Из-во «Наука», 1984. – 261 с.
9. Досон Р. Справочник биохимика. – Москва: Наука, 1991. – 523 с.
10. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays // J. Immunol. Methods. – 1983. – V. 65. – P. 55 – 63.
11. Wilson B.M., Nakane P.K. Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies // Immunofluorescence and related Staining Techniques. – 1978. – P. 215 – 244.
12. Shmanai V.V., Nikolaeva T.A., Vinokurova L.G. Orient antibody immobilization to polystyrene macrocarriers for immunoassay modified with hydrazide derivatives of poly(meth)acrylic acid. – BMC Biotechnology. – 2001. – V. 1, № 4. – P. 128 – 133.



# MAGNETOCARRIED BIOACTIVE NANOCOMPOSITES

**P.P. Gorbyk<sup>1</sup>, A.L. Petranovska<sup>1</sup>, D.G. Usov<sup>1</sup>, L.P. Storozhuk<sup>1</sup>,  
V.F. Chehun<sup>2</sup>, N. Y. Lukyanova<sup>2</sup>, S.I. Shpileva<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Chuiiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine  
General Naumov Str., 17, 03164 Kyiv -164*

<sup>2</sup>*R.E. Kavetskiy Institute of experimental pathology, oncology and radiobiology  
of National Academy of Sciences of Ukraine  
Vasilkovska Str. 45, 03022, Kyiv-022*

*The method of obtaining magnetosensitive nanocomposites on the base of magnetite with modified surface and immobilized cisplatin, conjugated by monoclonal antibody CD 95 (the model of medicobiological nanorobots) was developed.*

*The processes of adsorption and covalent immobilization of monoclonal antibody CD 95 on nanocomposites with various nature of surfaces: magnetite/poliacrylamide and magnetite/ $\gamma$ -aminopropyltriethoxysilane were studied.*

*We have investigated the processes of interaction of obtained models on the cell line MCF-7. It was shown, that usage of magnetocontrolled nanocomposites (nanorobots), in the structure of which antitumoral drug and monoclonal antibody CD 95 is contained, leads to synergetic effect and allows achieving therapeutic action, which is higher than one of the control dose of cisplatin approximately up to 50 %.*