

З. УЛЬБЕРГ, Т. ГРУЗИНА, О. КАРПОВ

## НАНОТЕХНОЛОГІЇ В МЕДИЦИНІ: РОЛЬ КОЛОЇДНОХІМІЧНИХ ПРОЦЕСІВ

*Серед багатьох напрямів нанонауки сьогодні чільне місце займають технології й процеси, використовувані в медицині, що базуються на досягненнях у галузі колоїдної хімії ультрадисперсних систем, молекулярної біології та фармації. Найефективніше розвиваються дослідження щодо створення флуоресцентних біологічних міток, визначення патогенних мікроорганізмів, протейнів, інжинірингу кісткових тканин, руйнування ракових пухлин, у тому числі з використанням гіпертермії тощо.*

*У запропонованій статті головну увагу приділено результатам досліджень саме цих напрямів нанонауки і нанотехнології. Автори аналізують механізми взаємодії клітин мікроорганізмів із нанорозмірними частинками, визначають можливості використання наноматеріалів як носіїв для доставки ліків і біологічно активних речовин до різних органів людини, обґрунтовують перспективи застосування цих матеріалів для цільової терапії.*

Використання ультрадисперсних частинок як носіїв біоактивних препаратів відкриває нові можливості для підвищення ефективності їхньої дії на біологічні об'єкти. Це відбувається передусім унаслідок прецизійної доставки ліків до окремих органів і тканин живого організму (наприклад, крізь гематоенцефалічний бар'єр, у розгалуження легеневої системи, до клітин плоского епітелію шкіри) або до клітин-мішеней, а також як результат покращення

розчинності слабозчинних препаратів у воді та їхньої біосумісності, підвищення рівня організації процесу дозованого й пролонгованого вивільнення лікарських препаратів із поверхні носія, а отже, зменшення їхньої токсичності шляхом зниження дози.

Один із актуальних напрямів розвитку сучасної нанобіотехнології — вивчення поверхневих властивостей частинок носіїв, тобто отримання наночастинок із певних

© УЛЬБЕРГ Зоя Рудольфівна. Доктор хімічних наук, професор. Директор Інституту біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України.

ГРУЗИНА Тамара Григорівна. Кандидат біологічних наук. Старший науковий співробітник відділу колоїдної технології природних систем цього ж інституту.

КАРПОВ Олександр Вікторович. Доктор біологічних наук. Професор кафедри біотехнології мікробного синтезу Національного університету харчових технологій (Київ). 2008.

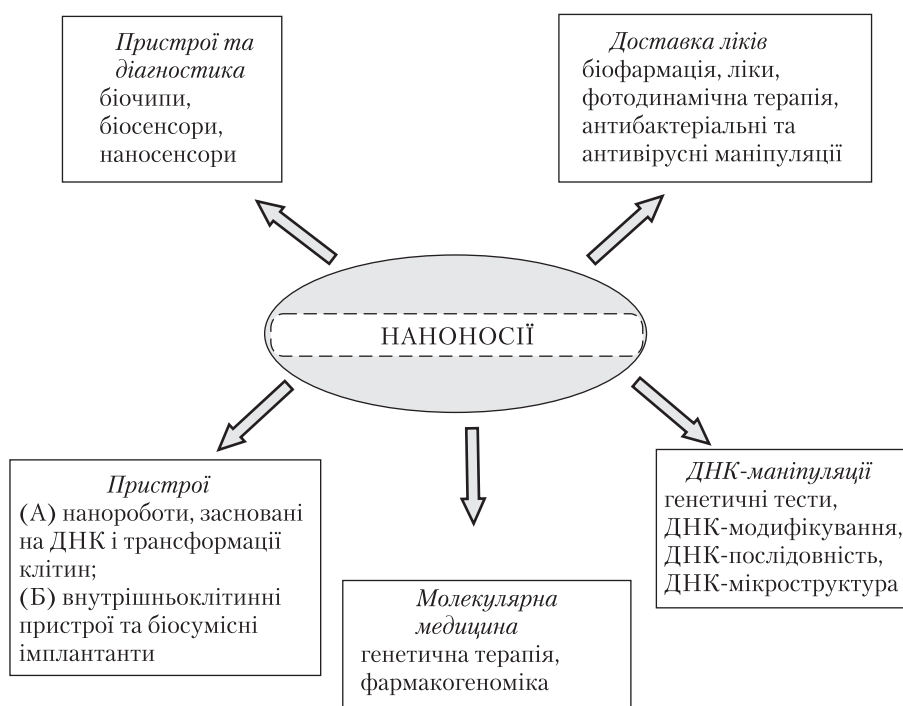


Рис. 1. Використання ультрадисперсних носіїв у біології та медицині. Цит. за [1].

матеріалів фіксованого розміру. Загалом наночастинки, менші за 100 нм, містять від 20 до 15000 атомів й існують у сфері, проміжній між квантовою та Ньютоною шкалами вимірів. Їх можна отримати з різних матеріалів у різних формах (кульки, палички, нитки й трубочки) [1]. Основні напрями використання таких специфічних наночастин у медицині й біології наведено у вигляді схеми на рис. 1.

Основною структурою клітини, яка відповідає за процеси взаємодії з колоїдною частинкою, є плазматична мембрана. У проведених дослідженнях показано, що принаймні два типи механізмів визначають процеси сорбції, гетерокоагуляції й адгезії цих частинок на поверхні клітини:

1. Колоїднохімічні, які зумовлені формуванням подвійного електричного шару клітини й відповідно зарядом її поверхні, а також електрокінетичними явищами, а саме — дифузійно-електричним транспортуванням частинок у дифузійному шарі клі-

тини й регулюванням заряду частинки адсорбцією на її поверхні біополімерів, які виділяє клітина [2], зв'язком цих біополімерів із трансмембранним потенціалом і роботою електрогенних насосів.

2. Енергозалежні біохімічні процеси, що відбуваються в клітині. Щодо колоїдних частинок металів, то їх визначають функціонуванням мембранних АТФ-аз [3].

Як показали дослідження, вибірковість у взаємодії ультрадисперсних мінеральних або біологічних частинок з інтактними клітинами (наприклад, мікроорганізмів) проявляється вже на транспортній стадії, яка зумовлена електрокінетичним дрейфуванням частинки в дифузійно-електричному полі градієнта концентрації продуктів метаболізму живої клітини. На основі дослідів спостережено й виміряно спрямоване перенесення частинок уздовж вектора, перпендикулярного площині іммобілізованих клітин, тобто вздовж градієнта концентрації метаболітів. Виявилося, що напрямом

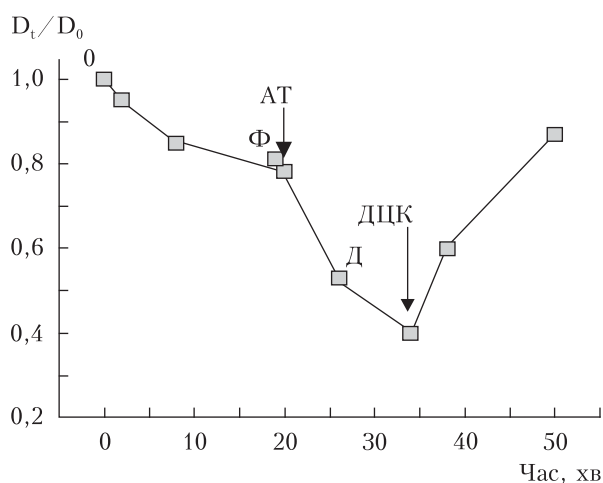


Рис. 2. Енергозалежний механізм взаємодії клітин мікроорганізмів із наночастинками золота. Розмір частинок — 20 нм.

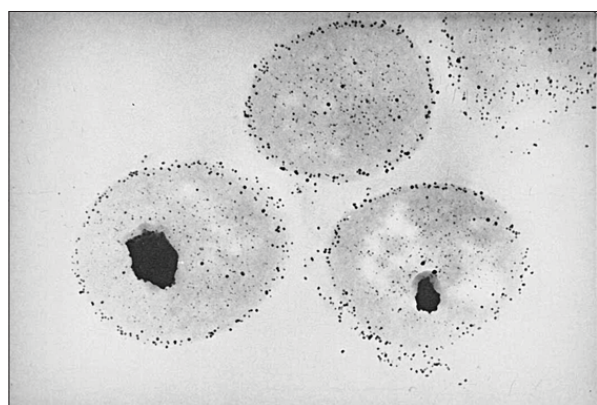


Рис. 3. Акумуляція колоїдних частинок золота клітинами мікроорганізмів.

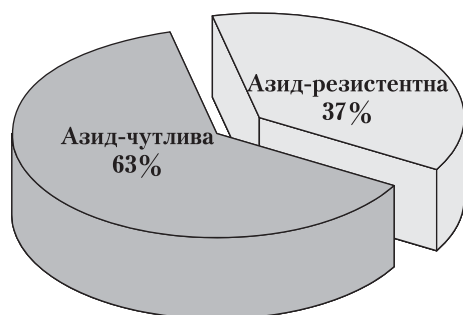


Рис. 4. Компоненти сумарної АТФ-азної активності мембран бактерій.

руху частинок у дифузійному шарі клітини визначають величина і знак заряду частинок, регульованих адсорбцією біополімерів і продуктів метаболізму, що виділяє клітина [4].

Розглянемо процес агрегації клітин із наночастинками. Механізми і процеси стадії селективної агрегації інтактною клітиною з частинкою відбуваються на основі розробленої фізико-хімічної моделі подвійного електричного шару живої клітини, яка встановлює взаємозв'язок між поверхневим зарядом клітини і відповідною величиною трансмембранного потенціалу [3]. Запропонована модель такого біоспецифічного подвійного шару побудована на розгляді двох його головних параметрів: рівноважного електричного потенціалу  $\psi_s$ , який виникає в результаті дисоціації функціональних груп на поверхні клітини, і нерівноважного потенціалу  $\phi_s$ , що виникає внаслідок активного транспортування протонів. Використання зазначеного підходу дозволило знайти шляхи регулювання спрямованості й ефективності гетерокоагуляції клітини й частинки залежно від природи, заряду, розміру частинки і фізіологічного стану клітини.

Біохімічно важливими факторами, що відповідають за процес акумуляції клітиною ультрадисперсних колоїдних частинок, наприклад, золів золота з розміром частинок 10–20 нм на поверхні клітини, є генератори трансмембранного потенціалу. Головні з таких генераторів — дихальний ланцюг і мембранна АТФ-аза. Дослідні дані, які характеризують цей процес, наведено на рис. 2. Так, накопичення металу підсилюється при введенні в систему енергетичного субстрату АТФ і переходить у зворотний процес пептизації частинок золота в розчин при додаванні дициклогексилкарбодіміду (ДЦКД) — високоспецифічного інгібітора АТФ-ази. Зі збільшенням терміну контакту фізична адгезія

частинок золота на поверхні клітин, яка дозволяє здійснювати їх ресуспендування в розчині, переходить у хімічну взаємодію за участю функціональних груп на поверхні клітинної мембрани, зокрема карбоксильних -COOH та тіолових -SH [5–7].

Крім того, у клітинних оболонках металофільних мікроорганізмів виявлено високополімерні структури глікопротеїнової природи (молекулярна маса 50 кДа), які активно флокулювали ультрадисперсні частинки золота завдяки наявності в їхній структурі позитивно заряджених аміногруп [8]. Такі структурні компоненти виступають своєрідними клітинними рецепторами, що сприяють процесу специфічної взаємодії клітини з нанорозмірними частинками.

Акумуляція частинок золота може відбуватися як на поверхні, так і всередині клітини. Про це свідчать дані, наведені на електронно-мікроскопічних знімках зрізів клітин після їхнього контакту з частинками та іонами золота (рис. 3). У зв'язку з цим для створення ефективного носія з біологічно активними речовинами важливий не тільки механізм його транспортування і закріплення на поверхні клітини-мішені, але й механізм його перенесення крізь плазматичну мембрану клітини.

Ми довели можливість трансмембранного транспортування нанорозмірних комплексів і частинок у клітинах бактерій, здатних до вибіркового акумуляції золів золота, а також визначили молекулярні структури і механізми, відповідальні за цей процес [9–10]. У досліджуваних клітинах ідентифіковано Mg-АТФ-азну активність, що складається з двох компонентів: азидчутливої (63%) та азид-резистентної (37%) (рис. 4).

Аналіз властивостей цих двох ферментних складників дозволив зробити висновок, що азидчутлива АТФ-аза пов'язана з функціонуванням дихального ланцюга клі-

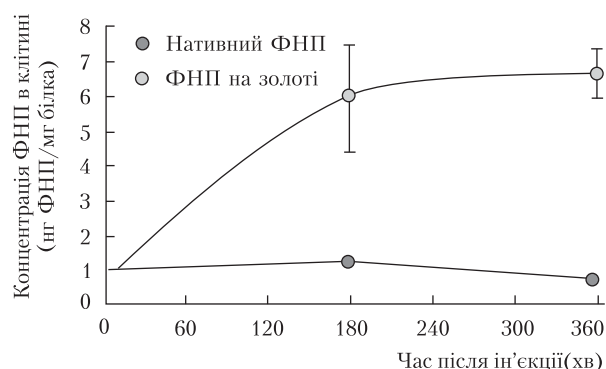


Рис. 5. Накопичення фактора некрозу пухлин (ФНП) при ін'єкції його в звичайному вигляді (1) й на золотому носії (2). Цит. за [24].

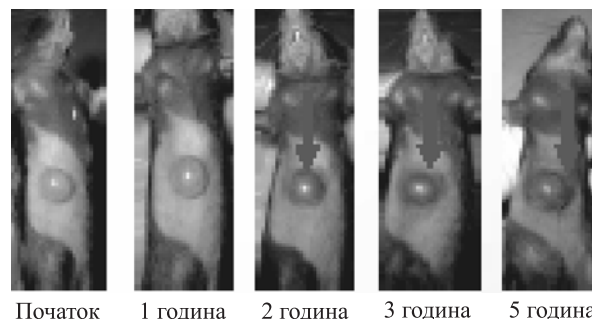


Рис. 6. Вигляд ракової пухлини, де показано зміни її морфології з часом накопичення в ній системи «частинка золота-препарат ФНП» (стрілкою позначено локалізацію наночастинок у пухлині). Цит. за [24].

тини бактерій, локалізованого в плазматичній мембрані, а азид-резистентна компонента виступає як молекулярна основа трансмембранного перенесення частинок золота всередину клітини.

Отримані закономірності й вивчені механізми надзвичайно важливі для теоретичних засад розроблення селективних носіїв на основі ультрадисперсних частинок різної природи, яким притаманна природна спорідненість (афінність) до певних клітин або спорідненість, яку можна змодельовувати й організувати, у тому числі і до трансформованих або пухлинних клітин. При цьому для виготовлення таких частинок-носіїв можна використовувати різні матеріали.

Розглянемо ультрадисперсні наночастинки, які можна класифікувати за матеріалом на металеві, напівпровідникові та полімерні. Металеві частинки займають особливе місце. Це передусім частинки золота і магнітних матеріалів (залізо, нікель, кобальт і сплави, виготовлені з магнітних металів) [11]. Їхні розміри коливаються в межах 0,8–250 нм. Практичне застосування нанорозмірних частинок у біології й медицині пов'язане з їхніми оптичними та магнітними властивостями, які безпосередньо залежать від розміру. Для підвищення біосумісності поверхню частинок вкривають біомолекулами або поверхневоактивними речовинами (ПАР).

Сучасні технології дозволяють отримувати наночастинки золота в розмірному діапазоні 0,8–250 нм. Вони можуть кон'югувати з різними біомолекулами просто шляхом біотин-(стрепт)авідин-поєднувальної реакції між біотинільованими біомолекулами й частинками золота, вкритими шаром (стрепт)авідину. Біокон'юговані золоті наночастинки можна також отримати, використовуючи високий афінитет тіолових груп до поверхні золота. Зараз існують терапевтичні системи, у яких нанорозмірні частинки золота використовують як носії для цільової доставки протиракових препаратів. Такі системи у вихідному стані майже нетоксичні. Крім того, вони певним чином стимулюють імунну систему організму.

На рис. 5 наведено дані щодо накопичення препарату фактора некрозу пухлин (ФНП), внесеного ін'єкцією всередину ракової пухлини в нативному вигляді і на золотій основі. Ці препарати мають високу здатність до цільової доставки ліків у ракові пухлини, послаблену токсичність щодо здорових органів і клітин, а також підвищену лікувальну дію порівняно з вихідними препаратами без золотої «платформи». Розглянемо два механізми, які можуть за-

безпечити цільову доставку препарату всередину пухлини: 1) проникнення носіїв із лікарськими препаратами всередину пухлинного утворення, у тому числі й шляхом активного транспортування з подальшим зв'язуванням таких частинок із клітинними поверхнями пухлини за допомогою клітинних рецепторів; 2) пасивне цільове проникнення крізь кровоносні судини пухлини [12].

Суттєвою перевагою комплексу «лікарський препарат–ультрадисперсний носій» є можливість створення на його основі системи «депо» для пролонгованого дозованого вивільнення ліків та іонів металу. На рис. 6 можна простежити, як упродовж декількох годин змінюється величина та структура пухлини на тілі миші. Видно, що пухлина з часом зменшується в розмірі і стає менш щільною.

Квантові порошинки (quantum dots, QDs) належать до носіїв, що захоплюють електрони і є дірковими носіями з роздільною здатністю менше за радіус Бора. QD-нанокристали зазвичай містять атоми II та VI груп (CdSe, CdS і CdTe) або III і V груп (InP) у своїй серцевині. Оболонку, якою є ZnS та CdS, можна вводити для запобігання поверхневому гасінню екситонів у випромінювальній серцевині й аналогічно фотостабільності і квантовому виходу емісії. Квантові порошинки з типовим діаметром 3–12 нм, подібно до CdSe-ZnS, звичайно готують у гідрофобній поверхневоактивній речовині [13]. Однак через нерозчинність у воді вони несумісні з біологічними молекулами, що наявні у водних розчинах. Для їхньої кон'югації з біомолекулами виготовляють водорозчинні кристали на основі заміщення молекул триоктилфосфіноксиду (ТОРО) на нанокристалічній поверхні тіолованими молекулами, що мають вільну карбоксильну групу. Квантові порошинки проявляють емісійні характеристики, залежні від їхнього розміру. Поодинокую до-

вжину хвилі можна використати для одночасного збудження QDs різної величини, у результаті чого отримують різний емісійний спектр.

Інтенсивність флуоресцентної емісії та стабільність QDs на основі CdSe відповідно у 20 та 100 разів вищі, ніж у поодиноких органічних молекул родаміну 6G. Унаслідок цього QDs є кращою флуоресцентною міткою, ніж загальноприйняті органічні речовини.

Квантові порошинки, приєднані до специфічної олігонуклеотидної проби або імуноглобуліну G (IgG), використовували для успішного детектування Y-хромосоми людини та для локалізації маркерів раку в клітинному зображенні.

Для демонстрації зображень *in vivo* міцели, що містили QDs, вводили за допомогою мікроін'єкції в ембріони *Xenopus* на ранніх стадіях. Досліди показали, що такі QDs-вмісні міцели можна вводити всередину ембріональної клітини, при цьому вони будуть стабільними і нетоксичними. Флуоресценція, отримана в такий спосіб, детектувалася в різних типах ембріональних клітин *Xenopus*. QDs-вмісні міцели застосовували також для мічення і візуалізації ракових клітин *in vivo* [14].

Важливою проблемою в організації спрямованої доставки лікарських препаратів із використанням нанокристалів як носіїв є можливість капсулювання таких комплексів. Невеликі кількості поверхневоактивних речовин можна використати для стеричної та електростатичної стабілізації поверхні частинок. Капсулювання частинок металів і отримання їхніх стабільних дисперсій, наприклад, у плазмі крові дозволило досягти високого ступеня їхньої специфічної спорідненості з пухлинними клітинами і в такий спосіб знизити побічні явища, зокрема токсичний вплив на здорові клітини, а також зберегти агрегативну стійкість суспензій у ліофільних та ліофобних

середовищах, що важливо для стандартизації терапевтичного процесу.

З урахуванням згаданих колоїднохімічних і біохімічних закономірностей створено носії для лікарських препаратів, які вводять в організм оральним шляхом. Такі препарати спрямовано активують секрецію слизу шлунково-кишкового тракту, а також клітини мононуклеарної фагоцитарної системи під час лікування фунгальних та мікобактеріальних інфекцій [15].

Наносії формують також на основі різних матеріалів, що піддаються біодеградації: натуральних та синтетичних полімерів, ліпідів або фосфоліпідів, і навіть органометалічних та / або металічних сполук. Здебільшого це ультрадисперсні колоїдні системи, наприклад: наночастинки, нанотрубки, нанокапсули, ліпідні комплекси, полімерні міцели й дендримери (рис. 7).

Використання *нанотрубок* для спрямованої доставки лікарських засобів також ґрунтується на їхній здатності проходити крізь пори і канали клітинної мембрани. Найбільш поширені трубки, сконструйовані із застосуванням компонентів живих клітин. Це білково-ліпідні нанотрубки-філаменти, які входять до складу більших за розміром трубок, що безпосередньо транспортують речовину всередину клітини. Зазвичай такі нанотрубки складаються з трьох шарів із загальним зовнішнім діаметром близько 40 нм і внутрішнім діаметром утвореної в такий спосіб капсули майже 16 нм. Це досить пластичні наноструктури, оскільки двохшарові ліпідні мембрани можуть набувати різної просторової форми залежно від співвідношення компонентів ліпід / білок.

Сьогодні вже розроблено систему, яка дозволяє контролювати розкриття кінців нанотрубок за позиціями «повністю закрито», «відкритий один кінець» та «відкриті обидва кінці» таким чином, щоб вивільнити лікарський препарат у заданому місці. Крім медичних препаратів, такі нанотрубки

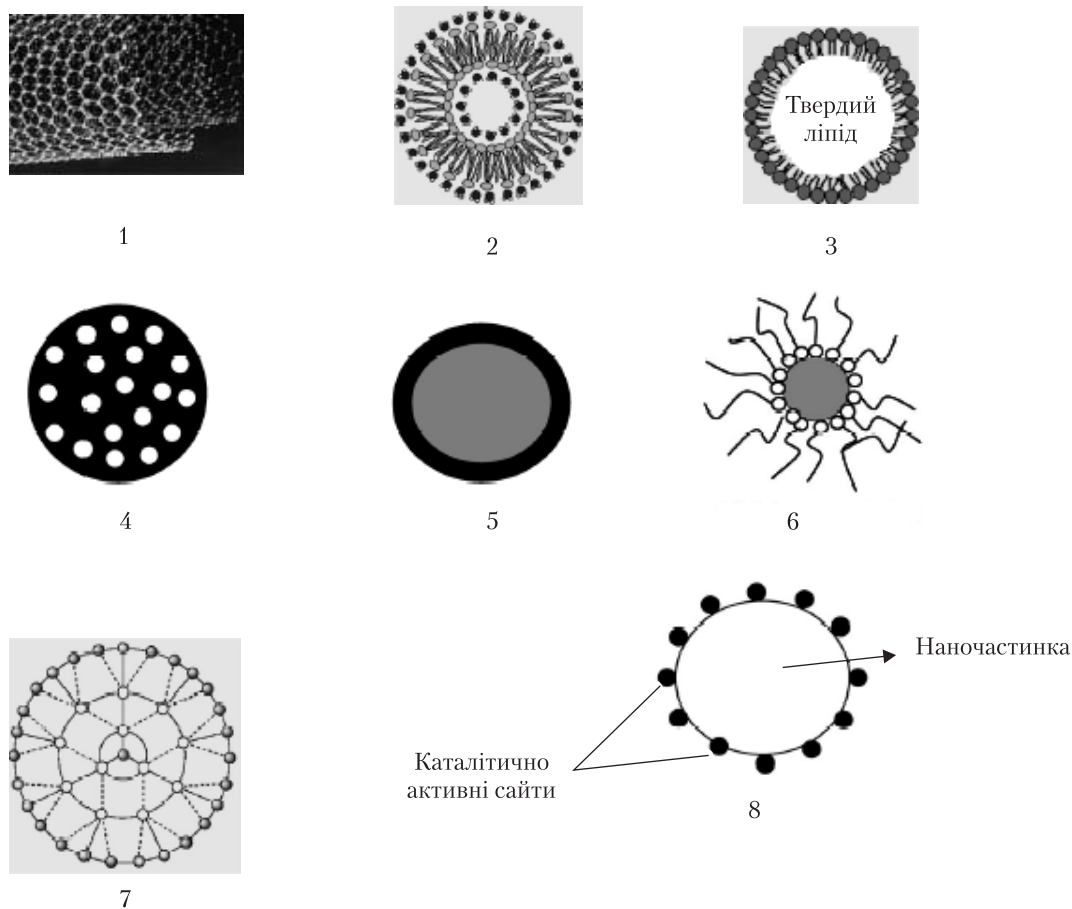


Рис. 7. Різні типи наноносіїв, що використовують у біології і медицині: 1) нанотрубки — самоорганізовані ліпідні трубки; 2) ліпосоми — сферичні бішарові везикули з оболонкою з мембранних ліпідів; 3) наночастинки на основі твердих ліпідів, субмікронні колоїдні носії; 4) полімерні наночастинки; 5) наносфери, у яких ліки зв'язані й виділені полімерною матрицею; 6) нанокапсули — наночастинки, у яких ліки містяться всередині полімерної мембрани; 7) полімерні міцели, у яких амфифільні блочні сополімери самоорганізуються у водних розчинах; 8) дендримери — макромолекулярні сполуки, у яких окремі молекули у вигляді відгалужень утворюють сітчасту структуру навколо ядра.

ки можуть доставляти до клітин фрагменти ДНК, що кодують певні гени. Така адресна генна терапія може бути корисною під час лікування багатьох генетичних захворювань і раку.

Важливою перевагою згаданих трубок є й те, що застосування природних компонентів, які містяться в кожній клітині, виключає побічні явища та інтоксикацію під час їх використання.

Для доставки лікарських препаратів і генів використовують також *вуглецеві нано-*

*трубки і фулерени*. У генній терапії їх застосовують тоді, коли їхні розміри відповідають розмірам молекул нуклеїнових кислот. При цьому для досягнення біосумісності на їхню поверхню зазвичай наносять шари рибонуклеїнової кислоти або бичачого сироваткового альбуміну. Фулерени ефективні при селективній доставці лікарських препаратів до клітин різних тканин, а також внутрішньоклітинній доставці відповідних препаратів до мітохондрій. Порожнинні фулеренові «мушлі», що містять

60 атомів вуглецю, мають декілька важливих властивостей для використання в медицині. Найцінніша серед них здатність фулеренів виконувати роль антиоксидантів усередині клітини та в навколишньому (щодо неї) середовищі.

*Ліпосоми* — це концентричні бішарові везикули, мембрана яких складається з природних фосфоліпідів, що надає їм багато позитивних якостей: вони нетоксичні, біодеградовані, за певних умов їх можуть поглинати клітини, їхня мембрана може зливатися з мембранами клітин.

Явище пригнічення або активування ферментативної активності клітинної мембрани ліпосомами надзвичайно важливе під час їх використання в біологічних системах для внутрішньоклітинної доставки вмісту ліпосом. Важливою перевагою таких носіїв є також і те, що речовина, вміщена в ліпосоми, захищена від впливу ферментів. Це відповідно збільшує ефективність препаратів, що піддаються біодеструкції в біологічних рідинах. Тому такі носії можна використати як «контейнери» для доставки лікарських засобів. Сьогодні ліпосомальні препарати проходять клінічні випробування, а деякі з них уже ліцензовані.

Останнім часом на світовому фармацевтичному ринку з'явилося декілька нових протиракових препаратів у формі ліпосом, а саме — антрациклін дауноміцин та доксорубіцин, вінкристин, анаміцин і третиноїн. Використання ліпосомальних препаратів дозволяє зменшити їхню токсичність при підвищених дозах. Ще одна важлива перевага ліпосом як лікарської форми — це поступове і дозоване вивільнення лікарської речовини, що збільшує час її дії. Поверхню ліпосом можна легко модифікувати поверхневоактивними речовинами з гнучким гідрофільним ланцюгом. Найчастіше з цією метою використовують поліетиленгліколь і різні білки, наприклад, родамін та овальбумін. Це дозволяє не тільки стабілізувати

ліпосоми, але й вибірково хемосорбційно зв'язувати лікарські препарати і нанорозмірні тверді частинки, як-от золото та / або оксиди заліза.

Важливою галуззю застосування ліпосом сьогодні стає генна терапія, коли ліпосома постає як засіб доставки генетичного матеріалу. У багатьох випадках, зокрема в генній терапії, адресна доставка діючого фактора набуває вирішального значення. Як «молекулярну адресу» найчастіше використовують молекули імуноглобулінів, які мають відповідні мішені на цільових клітинах. Таким чином, модель «ідеальної» ліпосоми як засобу спрямованої доставки лікарської речовини до клітини має таку структуру: 1) лікарська речовина або ДНК (у генній терапії) всередині ліпосоми; 2) іммобілізовані на її поверхні гнучкі ланцюги полімеру або ПАР для стеричного захисту; 3) прикріплені на поверхні імуноглобуліни як «молекулярна адреса». Як мембраноутворювальні ліпіди використовують здебільшого фосфатидилхолін, до того ж у поверхню ліпосом вбудовують спеціальні білки зливання, що забезпечують сумісність, контакт і взаємодію з клітиною-мішенню.

Розглянемо наночастинки на основі твердих ліпідів. Це субмікронні колоїдні носії (50–1000 нм), що дисперговані у воді або водних розчинах ПАР. Поверхню таких носіїв вкривають моношаром фосфоліпідів. Лікарські препарати в них адсорбовані на поверхні або розміщені всередині частинки, куди спрямовані гідрофобні вуглеводневі ланцюги фосфоліпідів. Особливість таких систем полягає в тому, що повільне руйнування твердих ліпідних компонентів забезпечує їхній пролонгований і дозований вплив на імунну систему [16]. Сьогодні вже визначено певні галузі терапії, де використовують нові технології спрямованої доставки ліків, у тому числі з носіями на основі твердих ліпідів, що надходять до





Рис. 8. Структура білково-ліпідних трубок, що включає білок тубулін та двошаровий ліпідний шар.

легенів і легеневи́х артерій, їх (ліки) також прецизійно вводять у різні органи парентеральним шляхом. Такі системи біоруйнівні, вони нетоксичні, порівняно з вуглецевими і полімерними матеріалами, біосумісні. Установлено можливість транспортування подібних наночастинок крізь гематоенцефалічний бар'єр, що відбувається або шляхом пасивної дифузії, або за допомогою ендцитозу. При цьому покриття таких частинок полісорбатами, наприклад полісорбатом-80, зумовлює ефективне зв'язування їх з аполіпропротеїном (apo E) або з іншими компонентами крові.

Для отримання полімерних наночастинок або носіїв колоїдів використовують переважно біоруйнівні й біосумісні полімерні системи, на поверхні яких можна контролювати процес акумулювання ліків і їх виділення. Наночастинок мають субнано-розмірну колоїдну структуру з розмірами в межах 10–1000 нм. Залежно від способу отримання утворюються наносфери або нанокапсули, де лікарські препарати можуть бути розчинені, сорбовані, капсульовані або поєднані з матрицею. Як базові полімери використовують полімолочну, полігліколеву, полімолочно-гліколеву кислоти, а також поліметилметакрилат. Носії на їхній основі застосовують для доставки макромолекул білків, фрагментів ДНК, що містять окремі гени, а також у спеціальних ви-

падках для цільової доставки антигенів до дендритних клітин і під час оральної вакцинації [17].

Окрім полімерних частинок, як носії лікарських речовин використовують *полімерні міцели*. Ці системи включають амфифільні блоки, як-от сополімери поліоксиетилену і поліоксипропілену, що асоціюють у водних розчинах у вигляді міцел. Вони мають такі переваги: висока термодинамічна стабільність у фізіологічних розчинах і повільне розчинення в системах *in vivo* [18]. Останнє досягнення в цій галузі — імуноміцели, до складу яких одночасно включені антитіла як «цільові» молекули та протиракові препарати [19].

Серед полімерних нанорозмірних носіїв слід також виділити частинки гідрогелів, що включають самоорганізовані та самоагреговані системи на основі природних амфифільних полімерів — гідрофобізованих полісахаридів, які подібні до структур холестерольмісних декстрану й агарози, де холестерольні групи утворюють поперечні зв'язки нековалентного типу. Зміна ступеня заміщення холестерольних груп — головний механізм регулювання розміру й щільності гідрогелевих наночастинок [20]. Гідрогелі рекомендовані для ефективної доставки антигенів, фрагментів ДНК, а також олігонуклеотидів.

У галузі розроблення оптимальних способів цільової доставки лікарських засобів багато робіт сьогодні присвячено проблемам капсулювання. Ефективність капсулювання — основа для зменшення побічних ефектів під час використання ліків, а також підвищення їхньої біосумісності й розчинності (рис. 8).

Один із сучасних підходів до розв'язання проблеми капсулювання ліків передбачає використання наноматеріалів, які отримали назву дендримерів [21]. Це макромолекулярні утворення, що включають внутрішній носій інформації та макромолеку-

лярні ланцюги, які визначають процес доставки. При полімеризації дендримери формуються зсередини, шар за шаром, збільшуючись на 1 нм у діаметрі з кожною генерацією. При цьому використовують різні полімери: поліамідоїмін, полі-L-глутамінова кислота, поліетиленімін, поліпропіленімін і поліетиленгліколь. Значна перевага таких нанорозмірних систем — можливість легко здійснювати модифікацію полімерних відгалужень, вводити необхідні функціональні групи під час взаємодії з біологічними речовинами. Нанотехнології з використанням дендримерів розроблені для капсулювання протиракових препаратів, зокрема цисплатини.

Використання кожного типу носія зумовлює наступний рівень технології — фізичний вплив на частинки, які перебувають у раковій клітині або на її поверхні, з метою їхньої активації. Результатом цього процесу може бути, наприклад, локальне підвищення температури в цій ділянці. Щодо ракової клітини, то цей ефект викликає пригнічення її фізіологічної активності. Нині дві американські компанії (Nanospectra Biosciences та Triton Biosciences) розробляють протиракову терапію, засновану на термічному руйнуванні пухлин. Основною стратегією терапії, яку, зокрема, використовує компанія Triton Biosciences, є активація металевих частинок, попередньо внесених у клітини пухлини або адгезованих на її поверхні за допомогою зовнішнього джерела енергії. У технології цієї фірми використано модифіковані полімером частинки окису заліза та змінне магнітне поле [22].

Інший підхід до розв'язання цієї проблеми запропонувала фірма Nanospectra Biosciences. Розроблений цією компанією носій — це пустотілі золоті наносфери, усередині яких розміщене силіконове ядро (рис. 9). Така система має здатність абсорбувати або відбивати світло з різною до-

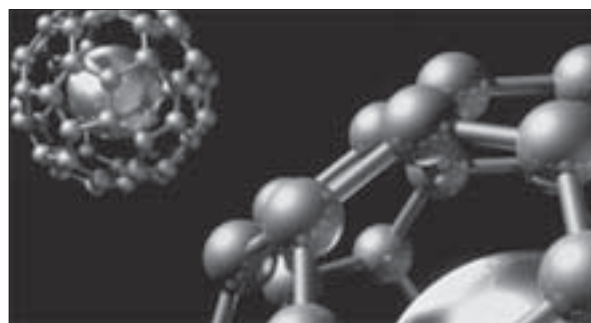


Рис. 9. Молекулярна структура золотих «мушель».

вжиною хвилі залежно від товщини ядра і «мушлі» наносфери. Ці наночастинки абсорбують світло, генероване лазером у ближньому інфрачервоному діапазоні, яке далі легко проходить до тканин [23].

Обидві технології доповнюють одна одну. Однак терапія, що ґрунтується на використанні золотих наносфер, хоча й не потребує складного обладнання, проте залежна від прямої дії лазера на пухлину і втрачає свою ефективність пропорційно глибині проникнення світла в тканини. Так, подібна технологія виявилася непридатною для кісткових тканин. Як бачимо, розглянуті вище підходи відкривають нові перспективи лікування злоякісних пухлин.

Наночастинкам приділяють велику увагу завдяки їх використанню в біологічних дослідженнях через їхній вплив на здоров'я людини і довкілля. Ряд спостережень вказує на шкідливий вплив наночастинок на здоров'я людей та навколишнє середовище [24]. Відходи виробництва таких наночастинок можуть спричиняти їх надмірне концентрування в об'єктах довкілля. Тому існує значна вірогідність того, що людина зазнає дії наночастинок унаслідок потрапляння їх в організм через органи дихання, травлення або шкіряний покрив.

Існує багато експериментальних досліджень, у яких проаналізовано проникнення мікро- і нанорозмірних частинок усередину клітини. Це явище властиве клітинам ен-

дотелію, епітелію легень і шлунка, макрофагів, нервових та ряду інших клітин [25]. Так, на основі дослідів доведено цитотоксичний вплив наночастинок із CdSe-ядром усередині моделі [26] на різні лінії клітин.

На ступінь життєздатності клітини впливають також окислення, час експозиції УФ і доза наночастинок. Вона мінімальна, якщо поверхня наночастинок вкрита оболонкою, наприклад ZnS. Наночастинок можуть бути просто абсорбовані на поверхні клітинних мембран, метаболізувати в клітинах і деградувати, що призводить до цитотоксичного ефекту. Нанонитки та нанотрубки можуть поводитися подібно до сферичних наночастинок, руйнуючи клітинні стінки та вповільнюючи клітинний ріст.

Потенційний вплив наночастинок на здоров'я людини остаточно не з'ясовано. Частинок нанометрового діапазону можуть потрапляти до організму людини переважно через шлунок та кишечник. Припускають, що деякі частинки можуть глибоко проникати в шкіру. Відмінності в поглинанні залежать від величини та поверхневих властивостей частинок, а також від точок контакту в шлунку, кишечнику та на шкірі. Після проникнення розподіл частинок в організмі залежить значною мірою від їхніх поверхневих характеристик [27].

Очевидно, процес поглинання наночастинок клітинами супроводжується відповідними змінами в механічних властивостях клітин. Такі властивості, як доведено, важливі для контролю клітинної форми, клітинного росту, клітинної міграції, диференціації та апоптозу [28]. У дослідях *in vivo* та *in vitro* показано, що ендотеліальні клітини кровоносних судин змінюють свої морфологічні та біохімічні показники у відповідь на механічний стрес. При цьому відбуваються також значні деформації мембрани клітин. Методом магнітної скручувальної цитометрії продемонстровано, що під час взаємодії ендотеліальних клітин

із феромагнітними мікрочастинками, вкритими синтетичними пептидами, під впливом ротаційного скручування відбуваються помітні зміни в механічних властивостях цитоскелета. У разі, коли механічні стреси спрямовано безпосередньо на рецептори клітинної поверхні, то екстрацелюлярні матриксні рецептори – інтегрини – діють як механорецептори і проводять механічні сигнали до цитоскелета [29].

Як виявилось, механічні сили, у тому числі й взаємодія з наночастинками, змінюють не тільки цитологічні, але й біохімічні властивості тканин і клітин, до яких вони прикладені. Установлено, що ряд клітин містить спеціальні іонні канали, які активуються або інактивуються механічною напругою мембрани. Їхня активність, можливо, пов'язана зі змінами в клітинній біохімії [30]. До того ж у клітинах, підданих дії механічної напруги, спостережено збільшення концентрації циклічного аденозин-3',5'-монофосфату (цАМФ) [31]. Доведено, що аденілатциклаза безпосередньо відповідає за передачу механічного сигналу через клітинну мембрану до цитоскелета [32].

У ряді робіт із вивчення інтерферон-індукувальної дії молекулярних комплексів дволанцюгової РНК, іммобілізованої на мікрочастинки сферону, доведено, що взаємодія таких конструкцій із клітинами не тільки викликає продукування інтерферону І типу, але й зумовлює підвищення активності трьох маркерних мембранозв'язаних ферментів –  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТР-ази,  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТР-ази та 5'-нуклеотидази. Одночасно відбувалися значні морфологічні зміни зовнішньої поверхні клітин, про що свідчили дані атомно-силової мікроскопії [33–37].

Фармакокінетична поведінка різного типу наночастинок потребує детального дослідження. Триває робота щодо створення бази даних про ризики для здоров'я людини, що пов'язані з проникненням різних наночастинок, із зазначенням цільових ор-

**Таблиця. Компанії, які спеціалізуються на розробленні й комерціалізації наноматеріалів у біології та медицині**

Компанія	Спрямованість розробок	Тип носія
Advectus Life, Sciences Inc.	Доставка ліків.	Полімерні наночастинки, збагачені протираковим препаратом, що проходять крізь гематоенцефалічний бар'єр.
Capsulation, NanoScience AG	Фармацевтичні покриття для покращення розчинності ліків.	Багатошарові поліелектролітні покриття 8–50 нм.
Dynal Biotech	Доставка ліків.	Магнітні сферичні частинки.
Eiffel Technologies	Доставка ліків.	Частинки з ліками, розмір 50–100 нм.
NanoPharm AG	Доставка ліків.	Полібутилціаноакрилатні частинки з прищепленими ліками і ПАР, що проходять крізь гематоенцефалічний бар'єр.
Nanoshpere Inc.	Біомаркери на наночастинках.	Біомаркери на основі ДНК з використанням методів ПЛР-аналізу та плазмонного резонансу.
NanoMed, Pharmaceutical Inc.	Доставка ліків.	Наночастинки для доставки ліків.
PSiVida Ltd	Відновлення м'язових тканин, імплантанти, доставка ліків і генів, біофільтрація.	Використання наноструктурованих пористих силіконів.

ганів, тканин або клітин. При цьому наявність різних контамінантів, як-от металеві каталізатори, що містяться в нанотрубках, та їхню роль розглядають разом із загальним негативним впливом наноматеріалів на здоров'я людини.

Епідеміологічні дослідження вказують, що наночастинки можуть діяти як важливий фактор ризику з боку довкілля, який викликає смертність від кардіопульмонологічних захворювань [38]. Підвищений ризик таких захворювань при використанні наноматеріалів потребує специфічних досліджень, які необхідно проводити стосовно кожної з новостворених наночастинок. Дослідники вважають, що не існує універсальної наночастинки, яка вбудовувалася б в організм у всіх випадках однаково. Кожний наноматеріал досліджують індивідуально, визначаючи ступінь ризику його впливу на здоров'я людини. Тому для ідентифікації небезпечних наноматеріалів адаптовують загальнозживані тести для визначення ступеня безпеки для людини. Перед промисловістю, яка виробляє наноматеріали для медицини, сто-

їть завдання створити відповідні тести для аналізу наночастинок, щоб оцінити ступінь ризику їх практичного використання. Наночастинки, створені для доставки ліків у організм людини або ж як компоненти їжі, потребують підвищеної уваги.

Сьогодні також маловивчена потенційно токсична дія наночастинок на різноманітні про- та евкаріотичні організми в довкіллі. Однак, виходячи з поширеної практики відведення відходів виробництв із стічними водами, можливе потрапляння наноматеріалів у довкілля саме таким способом. Тому необхідно оцінити потенційну загрозу шкідливого впливу наночастинок не тільки на організм людини, але й на інші організми.

Загалом запропонований матеріал свідчить про значне зацікавлення у світі цим напрямом біотехнології, на що вказує велика кількість досліджень у галузі розроблення й комерціалізації нанорозмірних матеріалів як носіїв лікарських засобів для цільової терапії. Насамкінець наводимо короткий список компаній, які спеціалізуються на дослідженнях у цій галузі нанотехнологій (табл.).

1. Liu W.-T. Nanoparticles and their biological and environmental application // J. Biosci. Biomed. — 2006. — №102. — P. 1–7.
2. Овчаренко Ф.Д., Эстрела-Льопис В.Р., Гаврилюк А.И., Духин А.С. О силах взаимодействия микроорганизмов и минеральных частиц в природных дисперсных системах // Физико-химическая механика и лиофильность дисперсных систем — К.: Наукова Думка, 1985. — Вып. 17. — С. 3–14.
3. Ульберг З.Р., Грузина Т.Г., Перцов Н.В. Коллоидно-химические свойства биологических наносистем. Биомембраны // Коллоидно-химические основы наноауки. — К.: Академперіодика, 2005. — С. 199–237.
4. Estrela-Llopis V.R. The phenomenology of the vital activity for biocolloids (microorganisms) from the colloid science viewpoint // XII International Conference Surface Forces, Zvenigorod (Russia). — 2002. — P. 35.
5. Коллоидно-химический механизм связывания металлов микроорганизмами // Коллоидный журнал. — 1994 — Вып. 58. — №4. — С. 584–588.
6. Ulberg Z.R., Dukhin A.S., Karamushka V.I. Interaction of energized bacteria cells with particles of colloidal gold: peculiarities of the process // Biochimica et Biophysica Acta. — 1992. — №1134. — P. 89–95.
7. Ulberg Z.R., Karamushka V.I., Dukhin A.S. ATR — Dependent Gold Accumulation by Living Chlorella Cells // Acta Biotechnologica. — 1991. — Vol. 11. — №3. — P. 197–203.
8. Ульберг З.Р., Карамушка В.И., Грузина Т.Г. Определение локализации и выделения фактора, связывающего коллоидные частицы золота // Биотехнология. — 1986. — №1. — С. 65–68.
9. Данилович Г.В., Грузина Т.Г., Ульберг З.Р., Костерин С.О. Ідентифікація та каталітичні властивості Mg<sup>+2</sup> — залежної АТР-гідролази плазматичних мембран *Bacillus* sp B 4253, здатних до накопичення золота // Укр. біохім. журнал. — 2004. — №16. — С. 45–51.
10. Данилович Г.В., Грузина Т.Г., Ульберг З.Р., Костерин С.О. Вплив іонного та колоїдного золота на АТР-гідролазні ферментні системи в мембрані мікроорганізмів *Bacillus* sp B4253 та *Bacillus* sp B4851 // Укр. біохім. журнал. — 2007. — №77. — С. 82–87.
11. Ito A., Shinkai M., Honda H., Kobayashi T. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles // J. Biosci. Bioeng. — 2005. — №100. — P. 1–11.
12. Roy I., Ohulchaskiy T.Y., Pudavar H.E., Bergery E.Y., Oseroff A.R., Morgan J., Dougherty T.J., Prasad P.N. Ceramic-based nanoparticles entrapping water insoluble photosensitizing anticancer drugs: a novel drug-carrier system for photodynamic therapy // J. Am. Chem. Soc. — 2003. — №125. — P. 7860–7865.
13. Qu L.H., Peng X.G. Control of photoluminescence properties of CdSe nanocrystals in growth // J. Am. Chem. Soc. — 2002. — №124. — P. 2045–2055.
14. Gao X., Cui Y., Levenson R.M., Chung L.W.K., Nie S. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots // Nat. Biotechnol. — 2004. — №22. — P. 969–976.
15. Muller R.H., Jacobs C., Kayser. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy. Rationale for development and what we can expect for the future // Adv. Drug. Deliv. Rev. — 2001. — №47. — P. 3–19.
16. Gregoriadis G. Engineering liposomes for drug delivery: progress and problems // Trends Biotechnol. — 1995. — №13. — P. 527–537.
17. Wissing S.A., Kayser O., Muller R.H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery // Adv. Drug Deliv. Rev. — 2004. — №56. — P. 1257–1272.
18. Sanchez A., Tobio M., Gonzalez L., Fabra A., Alonso M.J. Biodegradable micro- and nanoparticles as long-term delivery vehicles for interferon-alpha // Eur. J. Pharm. Sci. — 2003. — №18. — P. 221–229.
19. Tomalia D.A., Baker H., Dewald J., Hall M., Kallos G., Marlin S. Polymer // J. — 1985. — №17. — P. 117–132.
20. Savic R., Luo L., Eisenberg A., Maysinger D. Micellar nanocontainers distribute to defined cytoplasmic organelles // Science. — 2003. — №300. — P. 615–618.
21. Vinogradov S., Batrakov A., Kabanov A. Poly(ethylene glycol)-polyethyleneimine NanoGel™ particles: novel drug delivery systems for antisense oligonucleotides // Colloid and Surfaces B: Biointerfaces. — 1999. — №16. — P. 291–304.
22. Daemen T., de Mare A., Bungener L., de Jonge J., Huckriede A., Wilschut J. Virosomes for antigen and DNA delivery // Adv. drug Deliv. Rev. — 2005. — №57. — P. 451–463.
23. Fernandez-Urrusuno R., Fattal E., Feger J., Couvreur P., Theroud P. Evaluation of hepatic antioxidant systems after intravenous administration of polymeric nanoparticles // Biomaterials. — 1997. — №18. — P. 511–517.
24. Hayat M.H. Principles and techniques of electron microscopy. — Van Nostrand Reinhold, New York, USA, 1970.
25. Hoet P.H.M., Brüske-Hohlfeld I., Salata O.V. Nanoparticles — known and unknown health risks // J. Nanobiotechnology. — 2004. — №2. — P. 1–15.
26. Aitken R.J., Creely K.S., Tran C.L. Nanoparticles: an occupational hygiene review. — London: Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive, 2004.
27. Araujo L., Lobenberg R., Kreuter J. Influence of the surfactant concentration on the body distribution of nanoparticles // J. Drug Target. — 1999. — №6. — P. 373–385.

28. *Sighvi R., Kumar A., Lopez G.R., Stephanopoulos G.N., Wang D.I.C., Whitesides G.M., Ingber D.E.* Engineering cell shape and function // *Science*. — 1994. — № 264. — P. 696–698.
29. *Wang N., Butler J.P., Ingber D.E.* Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton // *Science*. — 1993. — №260. — P. 1124–1127.
30. *Morris C.E., Sigurdson W.J.* Stretch-inactivated ion channels coexist with stretch-activated ion channels // *Science*. — 1989. — №243. — P. 807–809.
31. *Xenophontos X.P., Watson P.A., Chua B.H., Haneda T., Morgan H.E.* Increased cyclic AMP content accelerates protein synthesis in rat heart // *Circ Res*. — 1989. — №65. — P. 647–656.
32. *Watson P.A.* Direct stimulation of adenylate cyclase by mechanical forces in 549 mouse lymphoma cells during hyposmotic swelling // *J. Biol. Chem.* — 1990. — №265. — P. 6569–6575.
33. *Карпов О.В., Веревка С.В., Манджос О.П., Пенчук Ю.М., Поводзинський В.М., Жолобак Н.М., Співак М.Я., Кисельова О.К.* Індукція інтерферонів І типу в умовах *in vitro* за допомогою іммобілізованого комплексного інтерферогену // *Доп. НАН України*. — 2003. — №9. — С. 178–181.
34. *Жолобак Н.М., Манджос А.П., Веревка С.В., Поводзинський В.М., Карпов А.В.* Интерферогенное действие иммобилизованных рибополинуклеотидов *in vitro* // *Укр. биохим. журнал*. — 2003. — №75. — С. 106–110.
35. *Манджос А.П., Прокопова Е.В., Жолобак Н.М., Карпов А.В.* Изменение активности маркерных ферментов плазматических мембран под воздействием полинуклеотидного индуктора интерферона // *Доп. НАН України*. — 2005. — №3. — С. 148–151.
36. *Манджос О.П., Карпов О.В.* Вплив комплексного індуктора інтерферону на клітинну поверхню: дані атомно-силової мікроскопії // *Доп. НАН України*. — 2005. — №7. — С. 188–192.
37. *Карпов А.В., Пенчук Ю.Н., Веревка С.В.* Применение иммобилизованных индукторов в техно-

гии получения природных интерферонов I типа в культурах клеток. Использование гранулярных носителей // *Биотехнология*. — 2006. — №1. — С. 30–35.

38. *Hoet P.H.M., Brüske-Hohlfeld I., Salata O.V.* Nanoparticles — known and unknown health risks // *J. Nanobiotechnology*. — 2004. — №2. — P. 1–15.

*З. Ульберг, Т. Грузина, О. Карпов*

#### НАНОТЕХНОЛОГІЇ В МЕДИЦИНІ: РОЛЬ КОЛОЇДНОХІМІЧНИХ ПРОЦЕСІВ

##### Резюме

У статті запропоновано огляд сучасного стану розвитку напрямів нанонауки, нанотехнологій і процесів, пов'язаних із біотехнологією та медициною. Проаналізовано колоїднохімічні аспекти загальної проблеми модифікування нанорозмірних частинок біополімерами та поверхневоактивними речовинами. Розглянуто різні види наноматеріалів і їх використання в медицині. Осмислено проблему загрози, що виникає внаслідок впливу наноматеріалів на здоров'я людей та довкілля.

*Z. Ulberg, T. Gruzina, O. Karpov*

#### NANOTECHNOLOGIES IN MEDICINE: THE ROLE OF COLLOID-CHEMICAL PROCESSES

##### Summary

The paper deals with current state of nanoscience development trends as well as nanotechnologies and processes concerning biotechnology and medicine. The problems analyzed are associated with colloid-chemical aspects of the task directed to nanoparticles modification realized by biopolymers and surface-active compounds. The authors consider different nanoparticle types and their use in the medicine. The problems of danger for humans and environment due to nanomaterials effect are discussed.