

Міністерство освіти і науки України  
Національний технічний університет України  
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

**С.В. ГОРОБЕЦЬ, О.Ю. ГОРОБЕЦЬ,  
П.П. ГОРБИК, І.В. УВАРОВА**

**ФУНКЦІОНАЛЬНІ БІО- ТА НАНОМАТЕРІАЛИ  
МЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ**

**Монографія**

Київ



2018

УДК 621.762+539.1.074+539.2.621-022.532

Ф947

*Рекомендовано Вченою радою КПІ ім. Ігоря Сікорського  
(Протокол № 3 від 12.03.2018 р.)*

**Рецензенти:**

***Бар'яхтар Віктор Григорович,***

академік НАН України, головний науковий співробітник  
Інституту магнетизму НАН та МОН України

***Туров Володимир Всеволодович,***

член-кореспондент НАН України, доктор хімічних наук, професор,  
заступник директора з наукової роботи

***Фірстов Сергій Олексійович,***

академік НАН України, доктор фізико-математичних наук,  
перший заступник директора з наукової роботи Інституту проблем  
матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України

**Відповідальний редактор**

***Лесин Володимир Георгійович,***

Науковий співробітник Інституту проблем матеріалознавства  
ім. І.М. Францевича НАН України

**Ф947 Функціональні біо- та наноматеріали медичного призначення:**  
монографія / С.В. Горобець, О.Ю. Горобець, П.П. Горбик, І.В. Уварова. – Київ:  
Видавничий дім «Кондор», 2018. – 480 с.

**ISBN 978-617-7582-77-8**

У монографії наведено загальні характеристики біо- та наноструктурних об'єктів, медико-біологічні підгалузі нанотехнологій, основні напрями біо- і наномедицини, яка застосовує результати цих технологій у медичному приладобудуванні при створенні різних пристроїв та препаратів, а також для обробки контрольних даних про стан здоров'я та для діагностики. Визначено місце біо- і наноматеріалів у загальному матеріалознавстві, сформульовано головні вимоги до них, схарактеризовано основні концепції та методології хімічного конструювання магніточутливих нанокомпозитів із багаторівневою ієрархічною архітектурою та функціями медико-біологічних нанороботів, а також явища біомагнетизму і роль біогенних магнітних наночастинок. Йдеться, крім того, про широкий спектр застосування магнітних технологій, і в т.ч із використанням природних магнітних властивостей живих організмів і впливу їхніх власних магнітних полів на біохімічні процеси, мембранне транспортування та міжклітинну взаємодію, які відбуваються у цих організмах.

Монографія розрахована на широке коло науковців, інженерів-практиків, викладацький корпус, студентів, аспірантів та докторантів профільних ВНЗ, які спеціалізуються у різних галузях матеріалознавства і застосування біо- і наноматеріалів у медицині.

ISBN 978-617-7582-77-8

УДК 621.762+539.1.074+539.2.621-022.532

© С.В. Горобець, О.Ю. Горобець,

П.П. Горбик, І.В. Уварова, 2018

© КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2018

© Видавничий дім «Кондор», 2018

## ПЕРЕДМОВА

Відомо, що живі організми складаються з клітин, які мають типовий розмір 10 мікрон, але, в свою чергу, складові кожної клітини є ще набагато меншими і мають розміри у діапазоні від частки нанометра до сотень нм. Дослідження механізмів, за якими діє живий організм і його клітини, які раніше були прерогативою наук медичного і біологічного спрямувань, у нинішньому столітті викликали жвавий інтерес і ознаменувалися технічною революцією в галузі нанобіотехнологій у контексті створення нових матеріалів медичного, біологічного та фармацевтичного призначень: зокрема, з метою їх застосування як терапевтичних та діагностичних наночастинок, флуоресцентних нанобіологічних міток, роботів та наноконтейнерів для спрямованої доставки ліків і біологічно активних речовин та сенсорів для визначення патогенних мікроорганізмів, а також при проведенні інжинірингу кісткових тканин і руйнування ракових пухлин із використанням гіпертермії тощо. Необхідність вирішення вищенаведених та цілої низки супутніх завдань спричинила об'єднання зусиль фізиків, хіміків, біологів та медиків задля досягнення належних передумов для подальшого якісного покращення життя людини в цілому.

Запропонована монографія об'єднує колектив авторів і, відповідно, досягнення фахівців у галузях одержання і подальшого вивчення біо- та наноматеріалів різного функціонального призначення та дослідження їхніх поверхневих властивостей, а також використання таких матеріалів безпосередньо в медичній практиці. Книга спрямована на ознайомлення читачів із загальними характеристиками біо- та наноструктурних об'єктів, новими досягненнями в галузі біо- і наноматеріалознавства і тими напрямками медицини, де перспективним є впровадження нових біоматеріалів, що мають розмір частинок (зерен) у нанометровому діапазоні.

Автори прагнуть довести читачам необхідність знання фізико-хімічних, біологічних та фізико-механічних властивостей як біогенних, так і синтетичних наночастинок, головних переваг використання біо- і наноматеріалів у сучасній практиці біомедицини (і зокрема магніточутливих нанокompозитів із функціями медико-біологічних нанороботів), технологій пакування ліків у наноконтейнери та створення на основі вищезгаданих біогенних і синтетичних частинок таких медичних препаратів, які дозволяють здійснювати ранню діагностику і терапією широкого спектру захворювань.

Монографія містить три основні розділи, поділені за окремими напрямками на підрозділи. У Розділі 1, написаному доктором технічних

наук, професором, завідувачем відділу технології тугоплавких сполук та композиційних наноструктурних покриттів Інституту проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України і професором кафедри біомедичної інженерії Факультету біомедичної інженерії КПІ ім. Ігоря Сікорського, лауреатом Державної премії України в галузі науки і техніки *Іриною Володимирівною Уваровою*, висвітлено основні особливості нанобіоматеріалів як окремого підкласу матеріалів синтетичного або ж натурального походження, а також загальні поняття й особливості наноматеріалів, історію розвитку біо- та наноматеріалознавства, різновиди таких матеріалів, зміну їхніх властивостей при переході розмірів частинок і зерен у нанообласть і збіг цих їхніх значень із параметрами деяких характерних фізичних явищ. Крім того, у розділі розглянуто фармакологічні проблеми використання біо- і наноматеріалів різної хімічної природи, вирішення яких пов'язане з потребою зменшення їх токсикологічної дії.

Розділ 2, написаний доктором фізико-математичних наук, професором, завідувачем відділу наноматеріалів Інституту хімії поверхні ім. О. О. Чуйка, лауреатом Державної премії України в галузі науки і техніки *Петром Петровичем Горбиком*, присвячений засадам нового наукового напрямку, концепцією якого було створення нанокомпозитів із функціями медико-біологічних нанороботів. При цьому значне місце приділено їх синтезу та дослідженню їхніх властивостей, хімічному модифікуванню поверхні магніточутливих носіїв, аналізу умов транспортування та утримання лікарських препаратів із використанням магнітного поля, а також визначенню фізичних принципів та способів практичного забезпечення контрольованих механічних переміщень магніточутливих нанооб'єктів у біологічних середовищах і використанню магнітних нанокомпозитів для біосепарації.

У Розділі 3, написаному доктором технічних наук, професором, завідувачем кафедри біоінформатики Факультету біотехнології і біотехніки КПІ ім. Ігоря Сікорського *Світланною Василівною Горобець* та професором кафедри загальної та експериментальної фізики Фізико-математичного факультету КПІ ім. Ігоря Сікорського, провідним науковим співробітником, доктором фізико-математичних наук *Оксаною Юрійівною Горобець*, описано явище біомагнетизму, визначено роль біогенних магнітних наночастинок і генетичного контролю за їх біомінералізацією у живих організмах, висвітлено функції біогенних магнітних наночастинок в живому організмі і їхню поведінку при хворобах людини, їх біологічне формування і можливі метаболічні функції, а також методологію розділення біологічних агентів із використанням методів магнітної сепарації. Значну увагу приділено й

питанням виявлення та використання мікроорганізмів при цілеспрямованій доставці до пухлин лікарських препаратів, які містять магнітні наночастинки природного походження, а також розрахунків необхідних сил відповідної магнітодипольної взаємодії між біогенними магнітними наночастинками мікроорганізмів та пухлинними клітинами.

Автори висловлюють подяку за сприяння у підготовці книги до друку провідному науковому редактору журналу ПІМ ім. І. М. Францевича НАН України «Порошкова металургія», магістру державного управління *Володимиру Георгійовичу Лесину*.

## ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА.....	3
ВСТУП.....	14
<b>РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ БІО- ТА НАНОСТРУКТУРНИХ ОБ'ЄКТІВ.....</b>	<b>17</b>
1.1 Визначення основних понять у галузі наноматеріалів і нанотехнологій.....	17
1.2 Основні морфологічні та структурні особливості нанооб'єктів.....	24
1.3 Статистичний аналіз геометрії хаотичних пакувань у просторі.....	27
1.4 Фрактали і фрактальні структури у нанодисперсних системах.....	28
1.5 Медико-біологічні підгалузі нанотехнологій. Наночастинки у біотехнології та медицині.....	29
1.6 Наномедицина.....	32
1.6.1 Основні шляхи розвитку біофармакології.....	34
1.6.2 Адресна доставка ліків.....	40
1.6.2.1 Застосування наноконтейнерів у медицині. Пакування ліків у ліпосоми.....	42
1.6.2.2 Головні переваги ліпосом.....	44
1.6.2.3 Препарати на основі ліпосом.....	48
1.6.3 Дендримери як синтетичні засоби доставки ліків.....	54
1.6.4 Використання кон'югатів для доставки ліків у пухлини.....	56
1.6.4.1 Використання білкових векторів, специфічних до клітинних рецепторів. Трансферин-трансфериновий рецептор.....	57
1.6.4.1.1 Гормони та їхні рецептори.....	57
1.6.4.1.2 Онкофетальні білки.....	58
1.6.4.1.3 Моноклональні антитіла та імуноліпосоми.....	58
1.6.4.1.4 «Троянські» пептиди.....	59
1.6.5 Наночастинки у кардіології.....	60
1.6.6 Характерні ознаки терапії наночастинками при лікуванні раку.....	61
1.6.7 Наночастинки без спрямованих ліганд.....	62
1.6.8 Протівірусні та бактерицидні речовини.....	63
1.6.9 Композиційні матеріали на основі ГАП + антибіотик + наносрібло.....	64
1.6.9.1 Адсорбційна активність гранул кісткового кальційфосфатного імплантату щодо антибіотиків та	

	срібла.....	64
1.6.9.2	Кінетика виділення кальцію та срібла з ГАП.....	71
1.6.9.3	Композиційні матеріали ГАП/рифампіцин та ГАП/срібло/рифампіцин.....	74
1.6.9.4	Адсорбційна активність композиційних магнітних порошків на основі оксидів заліза стосовно антибіотиків та наносрібла.....	78
1.6.9.4.1	Закріплення рифампіцину на поверхнях частинок порошків на основі заліза.....	80
1.6.9.4.2	Адсорбційна активність порошків стосовно доксорубіцину.....	82
1.6.10	Фотодинамічна терапія.....	87
1.6.11	Спрямована нанотерапія злоякісних пухлин ультразвуком.....	89
1.6.12	Фулерени як засіб лікування розсіяного склерозу.....	89
1.6.13	Рідкі емульсійні наночастинки.....	90
1.6.14	Подолання наночастинками гематоенцефалічного бар'єру і посилення їх фагоцитозу раковими клітинами.....	91
1.7	Наноматеріали у мікроелектромеханічних системах (МЕМС).....	92
1.7.1	Робота синтетичних ДНК-наномашин всередині клітин організму.....	94
1.7.2	Лабораторія на чипі.....	98
1.7.3	Супрамолекулярні асоціати як електронні прилади різнофункціонального призначення.....	98
1.8	Хірургія без шрамів – завдяки нанотехнологіям.....	99
1.9	Нанотехнологічні біокоректори і сорбенти для медицини... ..	101
1.9.1	Нанопористі (нанопоруваті) матеріали.....	101
1.9.2	Властивості поверхні.....	102
1.9.3	Метод ентеросорбції.....	105
1.9.3.1	Вуглецеві сорбенти медичного призначення.....	106
1.9.3.2	Активовані вуглецеві волокнисті матеріали.....	107
1.9.3.3	Комбіновані сорбенти.....	108
1.9.4	Алмазні сорбенти.....	110
1.10	Біомедичні нанотехнології у регенеративній медицині.....	111
1.10.1	Головні вимоги до технологій одержання наноматеріалів медичного призначення. Їх використання у регенеративній медицині.....	112
1.11	Можливість шкідливого впливу наночастинок на організм людини.....	113
1.11.1	Дослідження впливу нанопорошків на здоров'я людини в умовах їх виробництва.....	113
1.11.2	Швидкі методи оцінювання можливої реакції організму на	

	наночастинки.....	119
1.11.2.1	Порівняння процесів взаємодії ГАП різної дисперсності з плазмою крові.....	119
1.11.2.2	Дослідження взаємодії нанодисперсного ГАП і КАП із фізрозчинами.....	123
1.11.3	Дослідження процесів взаємодії порошків заліза різної дисперсності з фізіологічними розчинами.....	125
<b>РОЗДІЛ 2. МАГНІТОЧУТЛИВІ НАНОКОМПОЗИТИ з функціями МЕДИКО-БІОЛОГІЧНИХ нанороботів: одержання, основні характеристики і перспективні напрями використання...</b>		
2.1	Загальні дані.....	131
2.2	Аналіз умов транспортування та утримання магніточутливих носіїв лікарських препаратів із використанням магнітного поля.....	136
2.3	Синтез магніточутливих поліфункціональних нанокompatитів медико-біологічного призначення та дослідження їхніх властивостей.....	148
2.3.1	Схема хімічного конструювання нанокompatитів із функціями нанороботів.....	148
2.3.2	Магніточутливі носії.....	150
2.3.3	Дослідження гіпертермічного ефекту.....	155
2.4	Хімічне модифікування поверхні магнетиту.....	156
2.4.1	Модифікування поверхні магнетиту поліакриламідом.....	156
2.4.2	Хімічне модифікування поверхні магнетиту $\gamma$ -амінопропксілоаном.....	159
2.4.3	Модифікування поверхні магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою.....	163
2.4.3.1	Методика синтезу магнітної суспензії на основі мезо-2,3-димеркаптосукцинової кислоти.....	164
2.4.4	Модифікування поверхні магнетиту гідроксиапатитом.....	170
2.4.4.1	Синтез нанокompatитів $Fe_3O_4/ГАП/Ag$ .....	172
2.4.5	Нанокompatити $Fe_3O_4-TiO_2$ .....	173
2.4.6	Рідиннофазне модифікування поверхні магнетиту ізопропілатом алюмінію.....	174
2.5	Біофункціоналізація магнітокерованих нанокompatитів.....	175
2.5.1	Імобілізація нормального імуноглобуліну людини на поверхнях нанокompatитів $Fe_3O_4/ПАА$ і $Fe_3O_4/\gamma$ -АПС.....	175
2.5.2	Імобілізація малеїмактивованих імуноглобулінів на поверхні $Fe_3O_4/ДМСК$ .....	181
2.5.3	Імобілізація імуноглобуліну на поверхні нанокompatиту магнетит/ГАП.....	183



2.5.4	Імобілізація моноклональних антитіл CD 95 на поверхнях нанокompозитів Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС і Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА.....	187
2.5.5	Імобілізація цитотоксичного препарату цисплатину на поверхнях нанокompозитів Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС, Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА і Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ГАП.....	189
2.5.5.1	Вивчення впливу нанокompозитів на життєздатність клітин	191
2.6	Нанокompозити комплексної дії (моделі нанороботів).....	193
2.6.1	Моделі нанороботів на основі нанокompозитів Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ- АПС, Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА та Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ГАП.....	193
2.6.2	Біоактивність нанокompозитів.....	195
2.6.2.1	Взаємодія нанокompозитів, що містять ПАА, γАПС, ЦП та антитіла, з клітинами лінії MCF-7.....	195
2.6.2.2	Цитотоксичність нанокompозитів на основі магнетиту та гідроксиапатиту.....	196
2.7	Наноматеріали та магніточутливі нанокompозити для біосепарації.....	197
2.7.1	Деконтамінація вірусів із використанням високодисперсних оксидів.....	197
2.7.2	Магнітні нанокompозити для біосепарації.....	201
2.7.3	Сироватки.....	202
2.7.4	Імуноглобуліни.....	202
2.7.5	Інактивація вірусів магнітокерованими нанокompозитами...	202
2.7.6	Дослідження деконтамінації вірусних частинок.....	203
2.7.7	Експериментальні результати та обговорення.....	203
2.8	Синтез магніточутливих нанокompозитів для нейтронозахопної терапії.....	207
2.8.1	Магніточутливі наноструктури з хелатованими іонами Gd <sup>3+</sup> на поверхнях.....	208
2.8.2	Імобілізація комплексів Gd–ДТПК на поверхні модифікованого магнетиту.....	209
2.8.2.1	Синтез біс-ангідриду ДТПК.....	209
2.8.2.2	Синтез нанокompозиту Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС/ДТПК/Gd.....	211
2.8.2.3	Адсорбція катіонів Gd <sup>3+</sup> на поверхні нанокompозиту Fe <sup>3</sup> O <sub>4</sub> /γ-АПС/ДТПК.....	212
2.8.3	Електронна структура нанокompозиту Fe <sup>3</sup> O <sub>4</sub> /γ-АПС/ДТПК/Gd.....	213
2.8.4	Синтез гадолінійвмісних нанокompозитів на основі модифікованого мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою магнетиту.....	214
2.8.5	Синтез гадолінійвмісних нанокompозитів на основі магнетиту, модифікованого памідроною кислотою.....	219

2.8.6	Наноккомпозити на основі хімічно модифікованого карбонами функціоналізованого магнетиту.....	222
2.8.7	Синтез комбінованих бор- і гадолінійвмісних наноккомпозитів.....	222
2.9	Адсорбційні властивості магніточутливих наноструктур....	224
2.9.1	Адсорбція комплексів цис-дихлордіамінплатини наноккомпозитами Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ДМСК, Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ГАП, Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС, Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА.....	225
2.9.2	Адсорбція доксорубіцину наноккомпозитом магнетит/гідроксиапатит.....	229
2.9.3	Адсорбція катіонів Zn <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> та Pb <sup>2+</sup> наноккомпозитами на основі однодоменого магнетиту.....	233
2.10	Нанорозмірний магнетит та наноккомпозити на його основі у складі магнітних рідин.....	238
2.10.1	Магнітні рідини на основі однодоменого магнетиту.....	239
2.10.2	Наноккомпозити у складі магнітних рідин.....	244
2.10.3	Дослідження <i>in vivo</i> магнітних рідин, модифікованих цисплатином.....	250
2.10.3.1	Дослідження цитотоксичної дії магнітних рідин на асцитній карциномі Ерліха.....	251
2.10.3.2	Дослідження цитотоксичної дії магнітних рідин на солідній карциномі Герена.....	252
2.10.3.3	Особливості цитотоксичної дії наноккомпозитів на основі магнетиту і цисплатину.....	252
2.11	Дослідження біосумісності та біоактивності наноккомпозитів на основі доксорубіцину.....	253
2.12	Синтез та дослідження наноккомпозитів для фотодинамічної терапії.....	258
2.12.1	Основи методу.....	258
2.12.2	Фотосенсибілізатори для фотодинамічної терапії.....	261
2.12.3	Синтез та властивості магніточутливих наноккомпозитів для фотодинамічної терапії.....	263
2.13	Напрями практичного впровадження результатів досліджень.....	268
2.13.1	Контроль за розподілом частинок за розмірами та реакційною здатністю магнетиту.....	270
2.13.2	Стабілізація наночастинок магнетиту олеатом натрію.....	272
2.13.3	Контроль за розподілом частинок за розмірами і об'ємами..	272
2.13.4	Впровадження результатів досліджень у навчальний процес.....	273
2.14	Висновки.....	274

<b>РОЗДІЛ 3. БІОГЕННИЙ НАНОМАГНЕТИЗМ У БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНІ.....</b>	<b>276</b>
Вступ. Біомагнетизм і біогенні магнітні наночастинки.....	276
3.1 Біогенні магнітні наночастинки (БМН).....	277
3.2 Фізико-хімічні властивості БМН.....	280
3.2.1 БМН у магнітотаксисних бактеріях. Магнітосоми.....	284
3.2.2 БМН у немагнітотаксисних бактеріях та археях.....	286
3.2.3 БМН у багатоклітинних організмах.....	292
3.2.4 БМН в органах та тканинах людини (у нормі).....	294
3.3 Генетичний контроль біомінералізації БМН у живих організмах.....	295
3.3.1 Ресурси бази даних NCBI, які використовувалися для встановлення гомології нуклеотидних та амінокислотних послідовностей різних організмів.....	295
3.3.1.1 Проведення попарних вирівнювань із використанням онлайн-сервісу «pBLAST».....	296
3.3.1.2 Проведення множинного вирівнювання з використанням алгоритму «COBALT».....	298
3.3.1.3 Реконструкція філогенетичних дерев білків-гомолів на основі даних множинного вирівнювання.....	299
3.3.2 Білки біомінералізації у магнітотаксисних бактеріях.....	300
3.3.3 Білки біомінералізації БМН у немагнітотаксисних мікроорганізмах, БМН у яких виявлено експериментально..	303
3.3.3.1 Мікроорганізми, які синтезують позаклітинні аморфні БМН (група 1).....	307
3.3.3.2 Мікроорганізми, які синтезують позаклітинні кристалічні БМН (група 2).....	308
3.3.3.3 Мікроорганізми, які синтезують внутрішньоклітинні аморфні БМН (група 3), і мікроорганізми, що синтезують внутрішньоклітинні кристалічні БМН (група 4).....	310
3.3.4 Білки біомінералізації у немагнітотаксисних мікроорганізмах за різних типів дихання.....	314
3.3.5 Білки біомінералізації БМН у грибах.....	317
3.3.6 Білки біомінералізації БМН у рослинах та їхніх симбіотичних бактеріях.....	318
3.3.6.1 Загальна характеристика симбіотичних та патогенних представників родини <i>Rhizobiaceae</i> .....	319
3.3.6.2 Контроль за захисними реакціями рослин на дію мікробних агентів.....	330
3.4 Гомологи білків біомінералізації магнітотаксисних бактерій у багатоклітинних організмах, у тому числі	

	людини.....	335
3.4.1	Загальний механізм біомінералізації БМН у прокаріотах, археях та еукаріотах.....	337
3.4.2	БМН при патологіях людини.....	341
3.4.3	Чи є ядро феритину попередником БМН?.....	342
3.4.3.1	Основні фізико-хімічні характеристики феритину.....	343
3.4.3.2	Гіпотеза про ядро магнетиту в мутантному феритині як попередника БМН.....	344
3.4.3.3	Кореляція між рівнем розподілу БМН та феритину в тканинах людини.....	345
3.4.3.4	Порівняння розподілів розмірів кластерів наночастинок біогенного магнетиту та агрегатів феритину.....	346
3.4.3.5	Біологічне формування БМН <i>in vitro</i> .....	346
3.4.3.6	Генетичний аналіз ролі феритину в біомінералізації БМН... ..	347
3.5	Функції БМН у живих організмах.....	350
3.5.1	Дискусія про можливі метаболічні функції БМН.....	351
3.5.2	БМН як високоградієнтний магнітний сепаратор (ВГМС) та концентратор кластерних компонент у клітині.....	357
3.5.3	Фазові переходи та утворення кластерів у багатокомпонентних системах.....	361
3.5.4	Седиментаційний потенціал та електрокінетичні явища в колоїдних системах.....	366
3.5.5	Властивості нанокластерів (магніонів) у водних розчинах при електрохімічних процесах у неоднорідному магнітному полі.....	371
3.6	Перспективи використання природних феримагнітних властивостей мікроорганізмів та феримагнітних властивостей різних типів онкологічних клітин у терапії та діагностиці онкологічних захворювань.....	380
3.6.1	Виявлення та використання мікроорганізмів при спрямованій доставці до пухлин лікарських препаратів, які містять магнітні наночастинок природного походження.....	381
3.6.2	Потенційні продуценти БМН серед патогенних, умовно-патогенних та симбіотичних мікроорганізмів людини.....	383
3.6.3	Магнітна силова мікроскопія БМН та штучних магнітних наночастинок у складі біооб'єктів (мікроорганізмів, пухлинних клітин тощо).....	388
3.6.4	Розрахунок сил магнітодипольної взаємодії між ланцюжками БМН мікроорганізмів, які містять феримагнітні наночастинок природного походження або інші магнітокеровані лікарські форми, та пухлинними	

	клітинами з ланцюжками БМН.....	398
3.6.5	Роль біогенних магнітних наночастинок у везикулярному транспортуванні живих організмів.....	404
	<b>СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....</b>	<b>414</b>

## ВСТУП

Розвиток сучасної фармакології вимагає створення нових високоефективних лікарських засобів і відпрацювання цілої низки терапевтичних заходів, необхідних для мінімізації загальної дози препаратів за рахунок локалізації їх доставки в уражені ділянки організму, знання механізмів дії як самих препаратів, так і засобів їх доставки, побудови досконалих об'єктів на заміну ушкоджених органів, очищення судин, своєчасного розпізнавання та цілеспрямованого лікування широкого спектру захворювань тощо.

Виходячи з цього, знання, зокрема, функцій саме клітини, яка згуртовує відповідні молекули та атоми в живому організмі (залежно від того, наскільки це збирання є коректним, і виникають або досконалі, або ж ракові клітини), та біохімічних процесів, що в ньому відбуваються, проливає світло на динаміку і механічні властивості молекулярних біомашин, уможлиблюючи проведення прямих досліджень та формулювання висновків щодо діяльності біомоторів, реакцій ензимів, динаміки протеїнів, а також зчитування ДНК-інформації і сигналів відповідних комірочок.

Беручи ж до уваги діяльність клітини зі збирання молекул і атомів та знання основних механізмів такого збирання, надалі перед науковцями постають питання, як від суто біохімічних процесів перейти до розгляду структурної інженерії неорганічних матеріалів, покликаних виконувати в організмі функції, подібні до дії клітини. Отже, саме володіння принципами управління різними ієрархічними рівнями структури цих матеріалів – починаючи з електронної структури атомів елементів та сполук і закінчуючи кінцевою структурою матеріалу (з урахуванням спадковості та послідовності структурних станів) – у сукупності своїх складових допомагає визначати ті функціональні властивості, які має бути задано сконструйованим неорганічним матеріалам.

Згідно з ієрархією структурних рівнів неорганічних матеріалів, саме електронна структура є початковою характеристикою матеріалів, яка послідовно впливає на формування нижчих рівнів у цій ієрархії, зумовлюючи їхні структурно-залежні властивості.

Подальше ж проектування, на основі новітньої вітчизняної концепції ієрархії структурних рівнів, сучасних функціональних матеріалів, і зокрема медичного призначення, з метою досягнення високого рівня їхніх властивостей ґрунтується на побудові ієрархічної моделі їх структурних рівнів із чітко виділеними структурними елементами, встановленні взаємозв'язків між рівнями створення та умовами експлуатації відповідних матеріалів і розробці алгоритмів керованої технології їхнього

виготовлення. Так, схема хімічного конструювання багаторівневої ієрархічної наноархітектури поліфункціональних магніточутливих нанокомпозитів із властивостями нанороботів у цій монографії базується на концепції, що була спочатку сформульована, а потім експериментально відпрацьована за всіма основними етапами, реалізована та всебічно перевірена на предмет її належної функціональності. Зокрема, в якості вихідного матеріалу для хімічного конструювання нанокомпозитів обрано монодомений магнетит із розміром частинок 8–50 нм, який має біогенну природу і нормально виводиться з організму. Він, серед іншого, виконує функції магніточутливого носія лікарських засобів та перетворювача енергії височастотного магнітного поля зовнішнього джерела на теплову енергію з метою створення гіпертермічних зон при лікуванні пухлин.

Наступний же ієрархічний рівень наноструктури може мати складну будову. Він, у свою чергу, забезпечує стабілізацію нанорозмірного носія шляхом модифікування його поверхні біосумісним покриттям (поліакриламід, кремнезем, гідроксиапатит тощо). При цьому шар модифікатора зберігає високу питому поверхню наночастинки й уможливує здійснення належної хімічної функціоналізації, наприклад, гідроксильними, карбоксильними, тільними та аміногрупами.

Водночас, хоча повний перелік потенційних застосувань нанотехнологій у біології та медицині дуже великий, але, поза сумнівом, найбільшим є їхнє значення для розробки нових ефективних напрямків упередження, діагностики та лікування цілої низки захворювань. При цьому йдеться про такі напрямки, стосовно яких відсутні притаманні сучасній молекулярній діагностиці обмеження та які дозволяють перейти до персоналізованої медицини. Зокрема, до основних напрямів відповідного застосування нанотехнологій належать візуалізація, діагностика та цільова доставка ліків, а також протипухлинна та генна терапія тощо.

І, безперечно, одним із головних завдань тут є визначення перспективних фізичних принципів та способів практичного забезпечення контрольованих механічних переміщень нанооб'єктів у біологічних середовищах, покликаних забезпечити спрямоване транспортування лікарських препаратів. Дедалі частіше для цих цілей використовують фрагменти молекул ДНК, шарові біомолекули, м'язові нановолокна, фотозбуджені та метастабільні стани наночастинок, асиметричний розподіл електричних диполів у напрямку руху, а також флуктуаційні процеси як молекулярної, так і електричної природи. Впровадження таких технологій на практиці є основою сучасного прогресу в галузях розпізнавання специфічних мікробіологічних об'єктів у біосередовищах

та терапії захворювань на клітинному або ж генному рівнях. Важливими є й теоретичне оцінювання умов транспортування і розрахунки параметрів відповідних носіїв (аби надалі їх добір можна було максимально оптимізувати).

Вже багато років увагу дослідників привертають і фізіологічне походження та роль біогенних магнітних наночастинок в органах та тканинах людини, і особливо за напрямками, пов'язаними з профілактикою та лікуванням цілої низки захворювань. Дуже важливим є також генетичний контроль за біомінералізацією біогенних магнітних наночастинок у живих організмах, їхня роль у терапії та діагностиці онкологічних захворювань та їх взаємозв'язок із нейродегенеративними розладами тощо.

Не менш важливою є й проблематика ризиків для здоров'я людини при використанні тих чи інших наноматеріалів. Тож не дарма, як відомо, фармакологічні дослідження проводяться на біологічних системах різної складності – організмі в цілому, окремих клітинах, субклітинних утвореннях, рецепторах, ферментах, клітинних мембранах і молекулах та ін.

Огляду та широкому науково-практичному аналізу потенційних шляхів вирішення вищенаведених та цілої низки супутніх проблем і присвячено цю колективну монографію.



## РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ БІО- ТА НАНОСТРУКТУРНИХ ОБ'ЄКТІВ

### 1.1. Визначення основних понять у галузі наноматеріалів і нанотехнологій

Серед багатьох напрямів сучасної науки на сьогодні чільне місце займають нанонаука, нанотехнології та наноматеріали, чиїм спільним завданням є створення належних передумов для подальшого покращення життя людини. Терміни «*наноматеріали*» і «*нанотехнології*» часто різними авторами подаються у різноманітних трактуваннях, пов'язаних із наявністю двох підходів до їх розгляду. Згідно з першим підходом, об'єкти наносвіту розглядаються з урахуванням лише їхніх нанорозмірних параметрів, для яких встановлюються умовні межі можливих змін, а згідно з другим – акцент робиться на тому, що об'єкти наносвіту мають особливі властивості, які виявляються завдяки притаманним їм нанорозмірам. Приставка «нано» у термінах наносвіту означає зміну масштабу в  $10^9$  (тобто в мільярд) разів від міліметра, тобто до об'єктів наносвіту належать ті, чиї характерні розміри перебувають у діапазоні від 1 до 100 нм. Загалом таке розмірне обмеження є достатньо умовним, адже головна особливість нанооб'єктів полягає в тому, що через їх малість вони характеризуються особливими властивостями, проте у багатьох випадках ці властивості можуть виявлятися і тоді, коли розміри нанооб'єктів перевищують умовно встановлену межу 100 нм.

Таким чином, приставка «*нано*» – це, швидше, узагальнене відображення об'єктів досліджень, прогнозованих явищ, ефектів і способів їх опису, аніж просто характеристика протяжності базового структурного елемента.

*Наночастинки* займають своє особливе місце в ієрархії поділу між об'ємним матеріалом і світом атомів та молекул. На мономолекулярному рівні нанотехнології дозволяють отримувати якісно нові результати: наприклад, розбиття суцільного матеріалу на наночастинки збільшує загальну площу поверхні в мільйони разів. У свою чергу, велика площа поверхні означає підвищену реактивну здатність. Наноматеріали плавляться, запалюються й абсорбують значно легше за їх суцільні масивні аналоги. При цьому критичний розмір наночастинок визначається як точка перетину при переході від вихідного матеріалу до такого, чиї фізико-хімічні та фізико-механічні властивості залежать від розмірів частинок у той спосіб, що їх зміна може призвести й до змінювання певних фізичних параметрів: розчинності, точки плавлення, абсорбції світла тощо.

На базі концепції ієрархії структурних рівнів неорганічних матеріалів саме визначним українським вченим *В. В. Скороходом* було запропоновано основні принципи їх структурної інженерії [1–3]. Згідно з цією ієрархією, структура неорганічного матеріалу розглядається у контексті існування т.зв. семи структурних рівнів, а саме: електронного, атомно-молекулярного, кластерно-дефектного, нанокристалічного, мікроскопічного, мезоскопічного і макроскопічного. При цьому особливості структури кожного рівня впливають на відповідні фізико-хімічні та фізико-механічні властивості матеріалу і, як наслідок, на його експлуатаційні характеристики. Саме тому запропонований у рамках вищевказаної концепції термін «структурна інженерія» включає в себе знання про принципи управління різними ієрархічними рівнями структури неорганічних матеріалів – починаючи з електронної структури атомів елементів та сполук і закінчуючи кінцевою структурою матеріалу (з урахуванням спадковості та послідовності структурних станів) – які у своїй сукупності й визначають задані цьому останньому функціональні властивості [1–3].

Отже, згідно з ієрархією структурних рівнів неорганічних матеріалів, саме електронна структура є початковою характеристикою матеріалів, яка послідовно впливає на формування нижчих рівнів у цій ієрархії, зумовлюючи їхні структурно-залежні властивості. У цілому принципи структурної інженерії і концепція ієрархії структурних рівнів неорганічних матеріалів дозволяють розглянути з єдиного погляду багатofакторний вплив особливостей електронної і кристалічної структури різних речовин та матеріалів на їх основі як на їхні фізичні, так і функціональні властивості, і зокрема на термоелектронну емісію, діелектричні проникність та втрати, а також на процеси масопереносу за високих температур і в НВЧ-полях [4].

Дослідження закономірностей процесів формування та еволюції структурно-фазових перетворень у матеріалах на кожному структурному рівні є однією з найважливіших і актуальних проблем, які на сьогодні стоять перед порошковою металургією, причому як із погляду розвитку фундаментальних знань у галузях фізики твердого тіла, хімії та матеріалознавства, що стосуються властивостей композиційних матеріалів, так і з прикладного погляду, оскільки вищевказані процеси фактично визначають рівень розвитку сучасних технологій у цілому. У цьому контексті саме методи порошкової металургії найбільш гнучко дозволяють розробити науково-технологічні основи керування кінцевою структурою та функціональними властивостями матеріалів як на основі металів і оксидних систем, так і неметалевих сполук.

Так, *електронний структурний рівень* (масштаб – 0,05–0,1 нм) характеризується електронною структурою атомів твердого тіла, яка визначає енергію і тип хімічного зв'язку речовини та визначає макроскопічні властивості матеріалів – емісійні, діелектричні, електропровідні, магнітні, оптичні, теплофізичні тощо [4].

У свою чергу, *атомно-молекулярному рівню* (масштаб – 0,1–1,0 нм) притаманні просторове взаємне розташування атомів та іонів один відносно одного (за класом симетрії і сингонією кристалів відповідно), а також такі дефекти кристалічної структури, як вакансії та їхні комплекси, міжвузлові атоми і краудіони й дефекти упаковки. Від структури кристалів тут залежать фізико-механічні властивості – теплота плавлення, модуль пружності, теплоємність, електропровідність, теплопровідність тощо, причому всі кристали за характером міжатомного зв'язку поділяють на молекулярні, ковалентні, металеві й іонні (проте такий поділ є умовним, оскільки можуть діяти і декілька типів зв'язку одночасно) [4].

Зі свого боку, *кластерно-дефектний рівень* (масштаб – 0,5–5,0 нм) становлять макромолекули, кластери, дислокації, дисклінації тощо. Тут від дефектної структури кристалів залежать рівень пружності, межа плинності, твердість, дифузійні та низка інших важливих супутніх характеристик системи.

Наноструктурні ж системи є окремим світом, в якому діють притаманні лише йому закони [5]. *Наноструктурний рівень* характеризує структуру матеріалу в масштабі від 1 до 100 нм, і саме для нього, на відміну від трьох попередніх структурних рівнів, властива залежність фізичних властивостей твердих тіл від їхніх лінійних розмірів. Наноматеріали, відповідно до розмірів своїх структурних елементів, можуть змінювати електронну структуру так, що типова для об'ємних матеріалів безперервна густина електронних станів в енергетичній зоні переходить до набору дискретних рівнів, причому як у нанокластерах, так і в атомах (і при цьому, як відомо, в атомно-молекулярному масштабі існують відмінності між енергіями адатомів і атомів в об'ємі кристалу, зумовлені їх різними координаціями на його поверхні та безпосередньо в об'ємі).

А *мікроскопічний рівень* є об'єднанням окремих кристалів і фаз матеріалу в єдине ціле у масштабі 0,1–100 мкм. Основними параметрами мікроструктури матеріалів є відповідні об'ємні частки і розміри зерен її фаз та наявність міжфазної поверхні, великокутові межі між зернами, а також співвимірний розмір блоків мозаїки, розділених дислокаційними малокутовими межами. Усі вони в комплексі визначають структурно-залежні властивості матеріалу – міцність, пластичність, дифузійні та цілу низку його інших базових характеристик [4].

Макроструктура ж притаманна структурним складовим матеріалу на *макроскопічному рівні*, коли масштаб становить понад 100 мкм (це, зокрема, раковини, тріщини й сегрегації).

І, крім того, у деяких випадках доцільно говорити про *мезоскопічний рівень* – мезоструктуру, яка може займати проміжне місце (наприклад, між мікро- і макрорівнями).

Таким чином, є всі підстави трактувати структурну інженерію неорганічних матеріалів як конструювання того чи іншого матеріалу, яке поєднує основні ланки матеріалознавчої парадигми «хімічний склад–технологія–багаторівнева структура–властивості». Зокрема, концепція структурної інженерії матеріалів відіграє провідну роль при створенні композиційних матеріалів функціонального призначення і вказує шляхи проектування певного необхідного типу мікроструктури таких матеріалів задля забезпечення їм конкретно заданих властивостей [1–4].

При цьому головними є:

- *мікросвіт* (атомний та субатомний масштаби), в якому діють закони квантової механіки;
- *мезосвіт* (все, що нас оточує – від піщинок до планет), де діють закони класичної механіки;
- *макросвіт* – світ космічних масштабів, зірок і галактик та могутніх гравітаційних сил, в якому діють закони теорії відносності.

*Наноструктурні системи*, у свою чергу, займають проміжне місце між мікро- і мезосвітами. У них виявляються в явному вигляді наслідки дискретної атомної будови, звичайні фізичні константи стають змінними величинами, а фізичні (й особливо фізико-хімічні) процеси набувають специфічних ознак. Але головне, що саме на основі наноструктурних систем створюються нові нанокристалічні та нанофазні матеріали як органічної, так і неорганічної природ з особливими властивостями, використання яких у сучасній техніці можна розглядати як чергову технічну революцію.

На практиці найпоширенішими є *твердотільні наноматеріали* – спеціально приготовані зразки, які характеризуються певними конструктивними ознаками. Найхарактернішими особливостями наноматеріалів є:

- поява нетрадиційних видів симетрії структури та особливих видів поєднання меж поділу фаз;
- провідна роль у структуроутворенні процесів самоорганізації, які домінують над процесами штучного впорядкування;
- висока польова активність і каталітична вибірковість поверхонь наночастинок та їхніх ансамблів;

- особливий характер проходження процесів, яким притаманні низьке енергоспоживання, висока швидкість і наявність синергетичних ознак процесів передачі енергії, заряду та конформаційних змін.

До числа основних причин вияву вищенаведених особливостей наноматеріалів і наносистем на сьогодні відносять: значну питому поверхню і пов'язану з нею високу енергетичну активність наночастинок; підвищену роль розмірних ефектів, що виявляється – як в індивідуальних наночастинках, так і в їхніх ансамблях – через значну площу меж поділу. Все це знаходить своє відображення у механізмах впорядкування наночастинок і властивостях їх самих та їхніх ансамблів, а також у закономірностях тих чи інших різноманітних процесів.

Із поняттям «наноматеріали» тісно пов'язане поняття «наносистеми», під яким у фізиці, хімії та біології розуміють сукупність матеріальних об'єктів, що характеризуються, відповідно, фізичними, хімічними чи біологічними властивостями, а також взаємозв'язками фізичної, хімічної або ж біологічної природ відповідно. Так, у *фізиці* – це квантово-механічні системи, тобто нуклідоелектронні системи, дискретні значення енергії яких визначаються набором квантових чисел, у *хімії* – системи хімічних реагентів, а в *біології* – системи біокомпонентів, які утворюють органи рослин і тварин та беруть участь у їх життєзабезпеченні.

У практичній діяльності особливо важливу роль відіграють функціональні системи, а саме такі системи матеріальних об'єктів, які володіють тими чи іншими функціональними властивостями, що й визначають галузі їх практичного використання. Зазвичай вони є пристроями, конструкція яких визначається конфігурацією, розмірами, просторовим розташуванням і взаємозв'язком їхніх складових компонентів.

Функціональні наносистеми, подібно до наноматеріалів, характеризуються нанометровим масштабом розмірів хоча б в одному з трьох вимірів. Властивості цих наносистем, як і властивості наноматеріалів, можуть виявлятися у вельми незвичний спосіб саме через притаманний їм нанометровий масштаб розмірів.

Такі системи знаходять своє практичне застосування у медицині, біології та фармакології, причому найефективніше розвиваються дослідження у царині створення терапевтичних та діагностичних наночастинок, флуоресцентних нанобіологічних міток, наноконтейнерів для спрямованої доставки ліків і біологічно активних речовин та сенсорів для визначення патогенних мікроорганізмів, а також інжинірингу кісткових тканин і руйнування ракових пухлин (у т.ч. із використанням гіпертермії) тощо.

Більшість із нас регулярно користуються досягненнями нанотехнологій, навіть не підозрюючи про це. Так, сучасна мікроелектроніка вже не «мікро-», а давно «нано-», оскільки нинішні транзистори – основа всіх електронних схем – мають розміри до 100 нм. Саме це дозволило як розмістити у процесорі комп'ютера близько 100 млн. транзисторів, так і зберігати інформацію та виконувати логічні операції. Виготовлені за допомогою нанотехнологій схеми вже продемонстрували здатність зберігати інформацію і виконувати логічні операції, а, отже, й замінити собою транзистори [6].

У наш час процесор «Itanium» компанії «Intel» містить мільярди логічних елементів. Висока щільність розміщення цих елементів на кристалі досягається передусім за рахунок успіхів у поліпшенні розрішувальної здатності літографії. Вже нині розрішення на рівні 130 нм визнається рядовим досягненням, бо існують вироби з розмірами елементів 65 і 43 нм, в які вкладається ланцюжок зі 300 і 200 атомів відповідно.

На сьогодні вчені спільно з інженерами вищезгаданої «Intel» планують перейти межу 20 нм. Тож зменшення розмірів компонентів триває, причому гранична межа буде досягнута дуже швидко, а саме тоді, коли *розмір логічного елемента на кристалі зрівняється з розміром атома*.

І хоча нові ефекти від застосування нанотехнологій пов'язані не лише зі зменшенням розмірів відповідних системних компонентів, проте саме завдяки більш малим розмірам вчені сподіваються вийти на якісно вищий рівень напівпровідникової електроніки та створити принципово нові покоління процесорів.

Нині, зокрема, при створенні мікропроцесорів застосовується *фотолітографія*. Ця технологія базується на принципі фотодруку, коли завдяки використанню світла топологія електричної схеми проектується на кремнієву підкладку. У цілому ж *літографія* – це, по суті, технологічний процес реплікації креслення мікросхеми на підкладку, причому як переваги, так і недоліки цього процесу визначають продуктивність та вартість тих чи інших конкретних мікросхем. Літографія включає такі етапи, як створення маски та експозиції, нанесення і вияв фоторезистентності, травлення кремнію тощо. Скорочення чи підвищення ефективності будь-якого з цих етапів дозволяє зменшити вартість створених мікросхем.

Одним із найважливіших обмежувальних чинників у галузі літографії є *довжина хвилі світла*. Чим коротшою є довжина хвилі, тим менші витравлені на підкладці елементи топології схеми і вища щільність транзисторів. Сучасні кремнієві чипи створюються з використанням

ультрафіолетового світла з дуже короткою довжиною. Нині провадяться інтенсивні дослідження можливостей застосування літографії на основі екстремального ультрафіолетового світла з довжиною хвилі близько 10–15 нм. Завдяки цьому світлу можна настільки збільшити щільність транзисторів у мікропроцесорах, щоб вони стали потужнішими майже у 100 разів. А чим вища щільність транзисторів, тим більшою є обчислювальна потужність мікропроцесора: саме з цієї причини процесор «Intel Pentium-4» містить 42 млн. транзисторів, тоді як процесор «Intel Pentium-3» – лише 28 млн.

Деякі наноматеріали зі зменшенням розмірів (до рівня менше за довжину хвилі видимого світла) стають *прозорими*. Завдяки цьому ефекту вчені навчилися передавати світло через такі початково непрозорі матеріали, як, наприклад, кремній.

Інші ж матеріали, у свою чергу, стають надзвичайно *міцними*. Наприклад, вуглецеві нанотрубки володіють дуже високою міцністю і гнучкістю, оскільки їх атомарна структура – це структура алмазу.

Наноматеріалознавство набуло особливого значення в останні роки, коли завдяки зусиллям вчених із різних галузей науки стали з'являтися нові напрями, і зокрема з використання наноматеріалів і нанотехнологій у медицині та біології.

Розвиток наноматеріалів відбувається у тісному взаємозв'язку з розвитком нанотехнологій, які є сукупністю методів і засобів, що дозволяють контролювано створювати наноматеріали, а також оперувати ними, застосовуючи їх за тим чи іншим призначенням. Отже, *нанотехнології* загалом забезпечують вирішення таких трьох взаємопов'язаних завдань, як:

- отримання наноматеріалів із заданою структурою і властивостями;
- застосування цих матеріалів за певним призначенням з урахуванням їхніх структури і властивостей;
- контроль (дослідження) структури і властивостей наноматеріалів як під час їх одержання, так і застосування.

Науковим фундаментом розвитку наноматеріалів і технології їх одержання є *нанонаука* – систематизоване знання закономірностей і механізмів поведінки речовини у нанометровому масштабі розмірів. Нанонаука базується на фізиці, хімії та біології, і передусім на тих розділах цих наукових дисциплін, в яких вивчаються об'єкти, що складаються зі зліченного числа атомів чи молекул, – тобто такі об'єкти, в яких значною мірою виявляються сильна залежність властивостей від розмірів, дискретна атомно-молекулярна структура речовини та квантові закономірності її поведінки.

## 1.2. Основні морфологічні та структурні особливості нанооб'єктів

Властивості будь-якого матеріалу насамперед визначаються хімічним складом і структурою – сукупністю елементів зі сталими взаємозв'язками, з яких він складається і які забезпечують цілісність і збереженість цих властивостей у цілому. У зв'язку з цим наноматеріали за ступенем структурної складності поділяють на *наночастинки* та *наноструктурні матеріали*, а ці останні за характером взаємозв'язку наночастинок поділяються на *консолідовані наноматеріали* і *нанодисперсії* (рис. 1.1) [7].



Рис 1.1. Структурні характеристики наноматеріалів

Так, зокрема, серед *нанокластерів* виокремлюють *упорядковані* (характеризуються наявністю певного порядку розташування атомів чи молекул і сильними хімічними зв'язками) та *невпорядковані*, які характеризуються, відповідно, відсутністю порядку в розташуванні атомів або ж молекул і слабкими хімічними зв'язками.



У свою чергу, *нанокристали* (*кристалічні наночастинки*) характеризуються впорядкованим розташуванням атомів (молекул) і сильними хімічними зв'язками – подібно до масивних кристалів (макротристалів).

Зі свого боку, *фулерени* складаються з атомів вуглецю (чи інших елементів), які утворюють структуру в формі сфероподібного каркасу.

*Нанотрубки* складаються з атомів вуглецю (або ж інших елементів), що формують структуру в формі закритого з торців каркасними куполами циліндричного каркасу.

*Супермолекули* складаються з «молекули-хазяїна» із просторовою структурою, в порожнині якої вміщується «молекула-гість».

*Біомолекули* є складними молекулами біологічної природи, які характеризуються полімерною будовою (це, зокрема, ДНК і білки).

*Мицели* складаються з молекул поверхнево-активних речовин, що утворюють сфероподібну структуру.

І, нарешті, *ліпосоми* складаються з молекул особливих органічних сполук – фосфоліпідів, які утворюють сфероподібну структуру.

Наноструктурні матеріали є ансамблями наночастинок. У таких матеріалах ці частинки відіграють роль структурних елементів. Зокрема, *консолідовані наноматеріали* – це компактні твердофазні матеріали, що складаються з наночастинок, які мають фіксоване просторове розташування в об'ємі матеріалу та жорстко пов'язані безпосередньо один з одним.

До консолідованих наноматеріалів належать:

- *нанокристалічні матеріали*, що складаються з нанокристалів, які зазвичай називають нанозернами чи нанокристалітами;
- *фулерити*, які складаються з фулеренів;
- фотонні кристали, що складаються з просторово впорядкованих елементів, які порівнянні за розмірами (в одному, двох чи трьох напрямках) із напівдовжиною світлової хвилі;
- *шаруваті нанокомпозити* (надгратки), які складаються з шарів різноманітних матеріалів нанорозмірної товщини;
- *матричні нанокомпозити*, що складаються з твердофазної основи – матриці, в об'ємі якої розподілені наночастинки чи нанодропи;
- *нанопористі матеріали*, які характеризуються наявністю нанопор;
- *наноаерогелі*, що містять прошарки нанорозмірної товщини, які розділяють пори.

При цьому наносуспензії, наноемульсії та наноаерозолі є нанодисперсними системами, які розрізняються за агрегатним станом дисперсних фаз і дисперсійних середовищ, що їх утворюють. Так, у *наносуспензіях* дисперсною фазою є нанорозмірні частинки твердої

речовини, а дисперсійним середовищем – рідина, а це означає, що наносуспензії є зависими нанопорошків у рідинах. Наносуспензії з розмірами частинок менше 100 нм також називають колоїдними розчинами чи *золями*. Дисперсна фаза наносуспензій, окрім твердих наночастинок, може складатися з міцел.

У свою чергу, в *наноемультсіях* дисперсна фаза і дисперсійне середовище є взаєморозчинними чи поганорозчинними рідинами, причому дисперсна фаза утворюється нанорозмірними крапельками.

Зі свого боку, в *наноаерозолях* дисперсною фазою є нанорозмірні частинки твердої речовини чи нанорозмірні краплі рідини, а дисперсійним середовищем – газ.

Наносуспензії, наноемультсії і наноаерозолі характеризуються седиментаційною та агрегативною стійкостями.

Так, *седиментаційна стійкість* – це здатність зберігати незмінним у часі розподіл наночастинок (нанокрапель) за об'ємом дисперсійного середовища, а саме спроможність протистояти дії сил тяжіння, які намагаються викликати осадження цих частинок (крапель). Зазвичай наносуспензії, наноаерозолі та наноемультсії володіють вельми високою седиментаційною стійкістю.

*Агрегативна стійкість* – це здатність зберігати незмінним у часі ступінь дисперсності, а саме розміри наночастинок (нанокрапель) та їх індивідуальність. При порушенні ж агрегативної стійкості відбувається утворення більш великих агрегатів із: наночастинок – як результат їх злипання (коагуляції); нанокрапель – внаслідок їх злиття (коалесценції). При цьому порушення агрегативної стійкості наносуспензій призводить і до втрати їх седиментаційної стійкості, оскільки наночастинки, збільшуючись у розмірах, виявляють меншу активність у броунівському русі. У зв'язку з цим для підвищення, зокрема, агрегативної стійкості до наносуспензій вводять високомолекулярні речовини, які утворюють на поверхнях наночастинок адсорбційний шар, що перешкоджає їх злипанню, у процесі якого наносуспензії можуть піддаватися структуруванню.

Наносуспензії одержали значно більше розповсюдження порівняно з наноемультсіями та наноаерозолями. Серед них особливо цікавими з практичного погляду є змашувальні, магнітні та лікарські наносуспензії.

Близько 90% лікарських препаратів, що випускаються на сьогодні, є кристалічними речовинами, більшість з яких погано розчиняються у воді та інших розчинниках. Наслідком такої поганої розчинності ліків є їхні малі біоактивність і ступінь засвоєння (всмоктування) організмом, а це суттєво знижує їх терапевтичну дію. Радикальним вирішенням проблеми є приготування таких ліків у вигляді наносуспензій. При цьому

дисперсність є найважливішою характеристикою таких суспензій, і особливо у випадку їх застосування для внутрішньовенної ін'єкції: зі зменшенням розмірів частинок не лише збільшується ефективність їх засвоєння організмом, а й знижується небезпека виникнення тромбів (через забивання частинками кровоносних судин). Разом з тим, слід пам'ятати, що твердження типу «чим менші частинки ліків, тим кращий продукт» загалом є неправомірними. Існує низка специфічних вимог до властивостей лікарських наносуспензій, відповідно до яких розміри частинок мають бути спеціально підібрані з урахуванням досяжної терапевтичної мети. Так, у випадку, коли потребується дуже швидке всмоктування, перевага надається розмірові близько 100–200 нм. Якщо ж бажане триваліше розчинення, то середній діаметр частинок має перебувати у вищому нанометровому діапазоні (наприклад, 800–1000 нм).

### **1.3. Статистичний аналіз геометрії хаотичних пакувань у просторі**

Як вже зазначалося вище, на основі концепції ієрархії структурних рівнів може бути здійснене проектування сучасних функціональних матеріалів для досягнення високого рівня необхідних властивостей. Проектування того чи іншого матеріалу ґрунтується на побудові ієрархічної моделі його структурних рівнів із чітко виділеними структурними елементами, встановленні взаємозв'язків між рівнями та умовами його експлуатації і розробці алгоритмів керованої технології виготовлення. Водночас, послідовність ієрархічного підпорядкування структурних рівнів залежить від багатьох чинників, і передусім від складу та структури матеріалів саме на стадії виготовлення, а потім ще й від умов експлуатації – що, в свою чергу, викликає необхідність систематизації структурних елементів і визначення конкретної динаміки процесів, що проходять на різних вищенаведених масштабних рівнях [2, 3]. При цьому, розглядаючи концепцію ієрархії структурних рівнів із позицій згаданого вище мезоскопічного рівня, слід окремо зазначити, що він асоціюється із зерненою структурою, тоді як дислокації тут відіграють роль мікроскопічного структурного рівня.

Актуальна у вищевказаному контексті проблема статистичного аналізу геометрії хаотичних (випадкових) пакувань тотожних сфер у просторі була предметом досліджень багатьох вчених протягом останніх десятиліть [4], більша частина яких пов'язана з якнайнайщільнішими пакуваннями або ж близькими до них моно- і полідисперсними сферичними частинками (водночас, слід пам'ятати, що ці розрахунки хоча й важливі, але для реальних технологічних процесів, і особливо тих, що

пов'язані з нанодисперсними середовищами, мають достатньо обмежене значення). Головний алгоритм утворення таких пакувань – це насипання порошку шляхом вільного падіння частинок в обмежений об'єм і їх подальше пакування у гравітаційному полі. Ці процеси можна змодельовати на комп'ютері, причому в двовимірному просторі середня щільність пакування може регулюватися величиною кута внутрішнього тертя між частинками. У певний період еволюції тієї чи іншої відповідної системи в ній можуть співіснувати частинки з будь-якими значеннями координативних чисел, причому характерна особливість їхніх підвищених значень полягає в тому, що для їх досягнення частинки принципово мають групуватися в кластери. Саме тому вже на початковій стадії ущільнення в системі спостерігаються флуктуації щільності, призводячи до появи зародків *мезоелементів*, що й розглядаються як кластери складної будови. Ці останні мають щільне ядро, яке формують частинки з відносно великими координативними числами, і пухнасту оболонку, де розташовані частинки з низькими значеннями координативних чисел.

За подальшого ж ущільнення такі системи зменшуються за рахунок розпушених оболонок, але з одночасним зростанням об'ємів їхніх ядер. При цьому з погляду субмезоструктури відповідна система є однорідною сумішшю частинок, які розрізняються за їхніми координативними числами. Враховуючи, що у кожній частинки координативне число – ціле, то й кожне значення цього числа повторюється для багатьох частинок і їх можна згрупувати в підсистеми з однаковою координативністю, причому повний об'єм системи складається з суми об'ємів ущільненої та розпушеної компонент.

Мезоскопічний рівень структури нанодисперсних систем відіграє важливу роль у їх подальшій еволюції під впливом температури, зовнішнього тиску та хімічних процесів: наприклад, первинні кластери можуть стати зародками локального ущільнення (при спіканні) або ж утворення міцних агрегатів зерен при синтезі.

#### **1.4. Фрактали і фрактальні структури у нанодисперсних системах**

Фрактали і фрактальні структури належать до складніших форм. Маючи багаторівневу розгалужену структуру, вони краще характеризують реальні нанодисперсні системи. Такі структури широко розповсюджені серед природних органічних і неорганічних об'єктів, але особливого значення вони набувають у випадку наноструктурних систем, у яких схильність до агрегування і розгалуження закладена в їх фізико-хімічній природі. Встановлено, що для формального опису таких структур

найпридатнішим є розділ геометрії, який вивчає т.зв. *фрактали* – складні багаторівневі геометричні фігури, що формуються за певними законами.

Головною кількісною характеристикою фракталу є *фрактальна розмірність*  $D$ , що визначає залежність між числом структурних одиниць  $N_R$  у межах сфери радіуса  $R$  (для двовимірного простору – кола) і, власне, самим цим радіусом.

Загалом ця залежність має вигляд ступеневої функції  $N_R = CR^D$ , де  $C$  – константа. В евклідовому просторі  $D$  приймає значення 1, 2 або 3 відповідно для одно-, дво- або ж тривимірних структурних елементів. У випадку фракталів  $D$  може приймати нецілочисельні значення, причому  $1 < D < 2$  для плоских фракталів і  $2 < D < 3$  – для об'ємних.

Інша важлива властивість фракталу полягає у залежності його середньої щільності (ступеня заповненості простору) від масштабу – при збільшенні розмірів поля усереднення щільність монотонно падає. При цьому просторова модель фракталу асоціюється з образом стійкої піни, що утворюється з безлічі наповнених газом бульбашок.

Дуже схожі структури спостерігаються у твердих нанодисперсних продуктах таких хімічних реакцій, як відновлення металів з оксидів, розклад солей та синтез тугоплавких сполук. Про ці об'єкти кажуть, що вони мають фрактальну структуру. Їх загальною особливістю є те, що вони утворюються в далеких від рівноваги умовах, причому фрактальні структури інваріантні стосовно зміни лінійного масштабу.

Деякі риси фрактальної структури можна спостерігати і при розгляді хаотичних пакувань частинок у просторі. За спонтанного утворення кластерів на рівні мезоструктури вони заповнюють весь об'єм системи, причому внаслідок взаємодії між розпушеним компонентом і ядром кластера і за наявності мезоскопічних флуктуацій щільності можуть утворюватися порівнянні з кластерами значні пустоти.

Так утворюється другий рівень структури, в якому вже кластерам відводиться роль субмезоскопічних елементів, з яких утворюються гіперкластери (завдяки чому можна спостерігати просторову структурування). А, отже, тут ми маємо справу з *просторовою фрактальною структурою*.

## **1.5. Медико-біологічні підгалузі нанотехнологій. Наночастинки у біотехнології та медицині**

Повний перелік потенційних застосувань нанотехнологій (НТ) у біології та медицині дуже великий, але, поза сумнівом, однією з найбільших цінностей НТ є розробка нових ефективних напрямків діагностики та упередження і лікування захворювань. При цьому йдеться

про такі напрямки, стосовно яких не буде притаманних сучасній молекулярній діагностиці обмежень і які дозволять перейти до *персоналізованої медицини*. Так, основні напрямки застосування НТ (в онкології тощо) стосуються візуалізації, діагностики та спрямованої доставки ліків, а також протипухлинної та генної терапій.

Зокрема, флуоресцентні біологічні зонди широко використовують у біології завдяки їх інертним властивостям і здатності візуалізувати чимало клітинних реакцій (хоча при застосуванні низки органічних зондів й існують обмеження, пов'язані з їх розмірами). Динамічний діапазон наночастинок (НЧ) із діаметром менше 100 нм, застосованих у якості зондів із приєднаними до них молекулами пептидів, антитіл або нуклеїнових кислот, робить їх ідеальним зряддям для візуалізації та кількісної оцінки молекулярних і клітинних змін, що відбуваються *in vitro* та *in vivo*.

Зонди з використанням НЧ мають високі рівні яскравості й фотостабільності та коефіцієнт адсорбції у широкому діапазоні частот. І, понад те, можливість покривати НЧ антитілами, колагеном та іншими макромолекулами робить їх біосумісними під час детектування та діагностики.

Серед іншого, на сьогодні доведено, що саме застосування імунофлуоресцентних зондів на основі квантових кристалів для мічення онкомаркера, поверхневих рецепторів клітин-мішеней, цитоскелету, ядерних антигенів та внутрішньоклітинних органел набагато ефективніше за використання традиційних флуорохромів. При цьому відомі як квантові точки напівпровідникові частинки яскраво демонструють залежність у нанообласті їхніх фізичних і хімічних властивостей від того чи іншого розмірного діапазону. Однією з властивостей цих частинок є зміна, разом із розміром, кольору флуоресценції, яка дозволяє використовувати їх як фотостабільні флуоресцентні проби. Майже всіма зазначеними властивостями володіють і наночастинки, створені на основі квантових точок. Притаманні їм унікальні оптичні властивості дозволяють використовувати їх у ролі оптичних «міток»-маркерів, а не менш унікальні фізичні властивості роблять їх ідеальним засобом надчутливої багатокольорової реєстрації біологічних об'єктів та медичної діагностики (рис. 1.2) [8].

Світлова хвиля має впливати на нанооб'єкти так само, як і будь-яке електромагнітне поле. Наприклад, світло, потрапивши на напівпровідникову наночастинку, може своїм електричним полем відірвати від її атома один із валентних електронів. Цей електрон на певний час стане електроном провідності, а потім знову повернеться «додому», випромінивши при цьому квант світла, що відповідає ширині

«забороненої зони», а саме мінімальній енергії, необхідній для того, щоб валентний електрон став вільним.



**Рис. 1.2.** Флюоресценція зависей колоїдних частинок CdTe різних розмірів (від 2 до 5 нм; напрям – *зліва направо*; всі колби освітлюються згори *синім* світлом однакової довжини хвилі) [8]

Таким чином, навіть нанорозмірні напівпровідники мають відчувати світло, що на них потрапляє, зі свого боку випромінюючи світло меншої частоти. При цьому вони можуть ставати флуоресцентними, випромінюючи світло строго визначеної частоти, яка відповідає ширині «забороненої зони». Частота світла, що випромінюється цими частинками, зменшується зі збільшенням їхніх розмірів. У свою чергу, зменшення розмірів кристалітів також призводить до зсуву спектрів люмінесценції у короткохвильову область, характерним прикладом якого (і для ізольованих наночастинок, і для консолідованих наноматеріалів) є ZnO, ZnS, CdS і CdSe.

І ще одна особливість прояву квантових ефектів полягає у немонотонній залежності електричних властивостей наноматеріалів від розмірів кристалітів. Отже, очевидно є можливість модифікації, порівняно з крупнокристалічними напівпровідниками, електронних властивостей наноматеріалів.

Точний розмір квантової точки можна визначити за кольором, який вона випромінює після освітлення. Шляхом фіксування квантових точок різних розмірів на біологічних молекулах пухлинної клітини одночасно можна відстежити не лише її локальну поведінку, а й шлях і місце розповсюдження метастаз. Зокрема, з метою кращої візуалізації трансформованих клітин та мікрометастаз на нинішньому етапі активно впроваджується використання колоїдного золота та феромагнітних

наночастинок для підсилення чіткості ядерно-магнітно-резонансного (ЯМР) зображення. Підсилюючи ЯМР-сигнал, вже сьогодні можна виявляти пухлину серед 100 тис. клітин, тоді як стандартні методи дозволяють виявити пухлину серед не менш як 1 млрд. клітин. У подальшому інформація про стан біомаркерних молекул дозволить відстежувати не лише специфічність та стадійність розвитку онкологічного процесу, а й моніторити його розповсюдженість і можливі рецидиви захворювання та оцінювати ефективність протоколів медикаментозного лікування онкохворих. Усе це свідчить про те, що інтерес клінічних онкологів до можливостей нанотехнологій не лише дозволить підвищити рівень знань про перебіг патогенетичних процесів, а й заохотить науковців до створення *мультимодальних наночастинок*, які оптимізують алгоритми візуалізації пухлин та наблизять перспективи індивідуалізації молекулярної терапії раку.

Завдяки маленьким розмірам наночастинок можуть проникати безпосередньо через шкіру, органи дихання і травлення та отвори клітинних мембран або ж транспортні механізми клітин та розподілятися в усьому організмі. Особливості ж дії наночастинок на організм людини зумовлені зміною їхніх фізичних і фізико-хімічних властивостей. Йдеться, зокрема, про те, що у наночастинок більшість атомів перебувають на їхніх поверхнях наноструктур, а це зумовлює їх виразнішу активність – завдяки можливості легко проникати в організм людини через мембрани (це явище отримало назву «*феномен активності поверхневих атомів наноматеріалів*»).

Беручи ж до уваги, що наночастинок швидко захоплюються всіма типами клітин, вони також можуть використовуватися для *доставки ліків*: не дарма у фармакології термін «наночастинок» зазвичай пов'язують із полімерними наночастинками чи субмікронними частинками, які переносять лікарські засоби, а також магнітними частинками субмікронного розміру, що використовують як допоміжний засіб при *сепарації клітин*. Зокрема, вищезгадане колоїдне золото (яке має й альтернативну назву – «дисперсія золотих наночастинок») застосовують у медицині протягом багатьох десятиліть і навіть століть: так, із 1950-их років було розпочато роботи з його використання у радіоактивному стані саме для лікування раку.

## 1.6. Наномедицина

Національний інститут здоров'я США (*NIH*) визначив наномедицину як одну з п'яти найпріоритетніших галузей розвитку медицини XXI століття. Ця галузь останнім часом розвивається швидкими темпами і



привертає загальну увагу в глобальному масштабі не лише суто науковими досягненнями її представників, а й соціальною значущістю їхніх досліджень і конкретних розробок. При цьому на сьогодні під *наномедициною* розуміють широкий комплекс практичних аспектів застосування нанотехнологій за такими напрямками, як профілактика, діагностика, а також моніторинг і лікування різних захворювань (із подальшим контролем за біологічною активністю та фармакологічним і токсикологічним впливами отриманих продуктів і медикаментів) [9–11].

Здійснювана під час застосування наномедичних технологій наноструктуризація в будь-якому разі гарантує зменшення розмірів профільних пігулок і, одночасно, збільшення вмісту в крові тієї чи іншої відповідної лікувальної речовини.

Подальший же розвиток наномедицини тісно пов'язаний із нинішніми революційними досягненнями у галузях геноміки та протеоміки, які дозволяють цілій низці вчених із різних країн і континентів впритул наблизитися до розуміння базових молекулярних основ будь-якої хвороби [12]. У зв'язку з цим слід зазначити, що наномедицина – молода наука, яка застосовує результати нанотехнологій у медичному приладобудуванні при створенні різних пристроїв та препаратів, а також для обробки контрольних даних про стан здоров'я і з питань діагностики (з використанням біосенсорів), доставки ліків, відновлення біологічних структур та боротьби з раковими клітинами тощо.

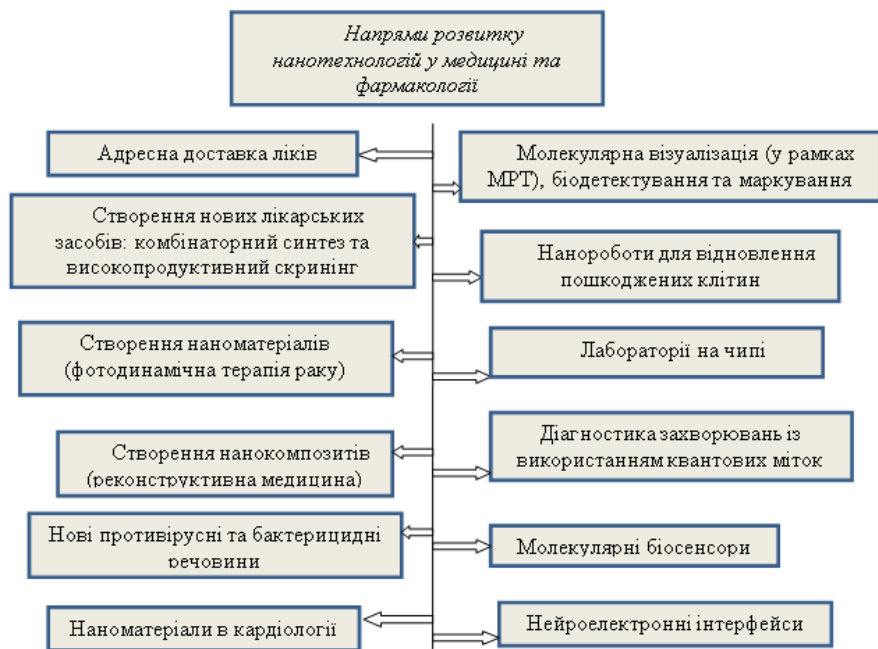
На сьогодні виокремлюють такі *основні напрями застосування нанотехнологій у медицині*:

- використання нанотехнологій у медичному приладобудуванні;
- створення і використання імплантатів та інших штучних органів;
- проведення діагностики *in vivo* та *in vitro*;
- забезпечення доставки і вивільнення біоактивних лікарських речовин;
- використання нових методів і засобів лікування на нанометровому рівні.

Так, наприклад, використання ДНК у діагностичних цілях є безпечним методом, тому що пацієнти лише надають зразки біологічного матеріалу і уникають безпосереднього контакту з наночастинками. Крім того, дослідники вивчають можливість використання квантових міток для отримання даних про стан пухлин і лімфатичних вузлів (водночас, застосування цих міток може становити загрозу для пацієнтів у зв'язку з тим, що вони, найчастіше, містять важкі метали і здатні порушити функції клітин).

На біологічну активність наноматеріалів впливають такі чинники, як їхні фізико-хімічні властивості, розмір та площа поверхні. Так, наночастинки виявляють властивості, відмінні від звичайних макророзмірних матеріалів. Зокрема, наноматеріали є поверхнево-активними речовинами.

На рис. 1.3 наведено основні напрями розвитку нанотехнологій у медицині та фармакології [10, 13].



**Рис. 1.3.** Напрями розвитку нанотехнологій у медицині та фармакології

### 1.6.1. Основні шляхи розвитку біофармакології

Як відомо, перспективи розвитку, зокрема, фармацевтичних технологій визначаються вимогами сучасної фармакотерапії, які передбачають створення максимально ефективних із лікувального погляду медичних препаратів і мінімізацію вмісту в них лікарських субстанцій та їх побічної дії. В основі вирішення цих завдань покладено принципи *біофармації*, що базуються на оптимальному підборі складу і виду лікарської форми та використанні для цього відповідних – так само найоптимальніших – технологічних процесів [14]. Актуальністю

окресленої проблематики і пояснюється широке розповсюдження й поглиблення біофармацевтичних досліджень у багатьох країнах світу.

Разом з тим, вивчення практичних біофармацевтичних аспектів отримання і подальшого використання медичних препаратів у лікувальному процесі, а також дослідження «долі» лікарських засобів в організмі – це лише перший етап вирішення вищесформульованих завдань. Подальші ж зусилля мають бути спрямовані на застосування одержаних даних у процесі вдосконалення виробництва і використання медпрепаратів з метою усунення таких їхніх недоліків, як: короткий термін дії; нерівномірне надходження лікувальних речовин до джерела патології; недостатня стабільність тощо.

При цьому лише ті ліки можуть вважатися раціональними, які забезпечують оптимальну біологічну доступність діючих речовин. Зокрема, до першочергових завдань *фармацевтичної технології* слід віднести: підвищення розчинності важкорозчинних лікувальних речовин у воді та ліпідах; підвищення стабільності як гомогенних, так і гетерогенних лікарських систем; подовження часу дії медичних препаратів; створення ліків спрямованої дії із заздалегідь заданими фармакологічними властивостями та ін.

Разом з тим, фармакокінетична поведінка наночастинок різних типів потребує подальших детальних досліджень. Загалом за своїм призначенням *фармакологія* (з грецької – «наука про лікувальні засоби») саме й вивчає дію лікарських та інших біологічно активних речовин на організми людей і тварин. Зокрема, видатний український вчений *О. Черкес* дав їй таке визначення: «Фармакологія – це наука про фізіологічні та біохімічні механізми дії лікарських засобів, їхні фізико-хімічні властивості, шляхи введення в організм, розподіл, перетворення, виведення й дозування, а також про всі аспекти взаємодії лікарських засобів з організмом». Тож виходячи з цих базових завдань, при вивченні фармакологічної дії (ФД) тих чи інших наночастинок на організм людини слід визначити, які саме зміни відбуваються у живому організмі під їхнім впливом, а також встановити можливість їх перетворення в ньому та виявити відповідну залежність між хімічною будовою, фізико-хімічними властивостями і безпосередньо ФД [15].

Так, серед пріоритетних завдань, які стоять перед сучасною фармакологією нанорозмірних матеріалів (НМ), є: створення на основі цих останніх нових високоефективних лікувальних засобів; забезпечення всебічного використання у лікувальних цілях сировини природного походження (рослин, тканин і органів тварин, мінералів, продуктів життєдіяльності мікроорганізмів, грибів тощо) та новітніх генно-інженерних технологій, а також опрацювання механізмів дії таких

лікувальних засобів і технологій та шляхів їх подальшого впровадження у медичну практику. Триває на сьогодні й робота зі створення бази даних про пов'язані з проникненням різних наночастинок ризику для здоров'я людини (із визначенням відповідних цільових органів, тканин та клітин).

Фармакологічні дослідження нині проводять на біологічних системах різної складності – організмі в цілому, окремих клітинах, субклітинних утвореннях, рецепторах, ферментах, клітинних мембранах, окремо взятих молекулах тощо. При цьому враховується, що зміни у процесах функціонування тих чи інших біосистем тут є виявом біологічної дії (активності) НМ, які потрапляють в організм або з лікувальною метою, або ж у довільний спосіб, тож часто при вирішенні питання застосування певного конкретного препарату стоїть складне завдання – вибрати з великого арсеналу лікарських засобів не лише найефективніший, а й найменш токсичний, максимально знизивши ризик його негативного впливу на організм. Усе це потребує належного усвідомлення тієї неспростовної істини, що одна й та сама речовина за неоднакових умов може мати ефект або лікувальний, або токсичний (їдеться, наприклад, про різницю у дозах, чинники зовнішнього середовища, стан організму тощо). Відповідній проблематиці присвячено цілу низку досліджень у рамках двох напрямів, а саме:

- *фізико-хімічної фармакології*, яка вивчає відповідні процеси (комплексоутворення, адсорбцію й каталіз), що є базовими для взаємодії і самих лікарських речовин, і засобів їх доставки із біомембранами та біосередовищами живого організму;
- *фізіологічної фармакології*, у рамках якої здійснюється аналіз функціональних змін в органах і системах, що виникають під впливом лікувальних речовин і засобів їх доставки на основі НМ (найчастіше такі дослідження проводять на тваринах, вивчаючи певні структури організму), метою якого є розкриття суті механізмів їхньої дії та прогнозування можливих побічних ефектів від них [16].

Застосовуються у сучасній фармакології й біохімічні методи з використанням чинників активності ферментів і аналізу стану обміну білків, вуглеводнів, ліпідів та ін. І також до фармакологічного напрямку належать дослідження впливу таких, наприклад, об'єктів, як нанопорошки з композицій на основі вуглецю, на лікування осіб похилого і старечого віку та профілактику характерних для цього віку захворювань тощо.

На сьогодні накопичено значну кількість інформації про зв'язок між хімічною структурою і біологічною (фізіологічною) дією різних хімічних речовин. Узагальнюючи й конкретизуючи цю інформацію, наномедицина, що містить у своєму арсеналі різноманітні молекулярні інструменти та характеризується поглибленим розумінням архітектури клітин і

біохімічних процесів, які у них виникають, сприятиме підвищенню ефективності відповідних препаратів до такого рівня, коли вони вже майже не чинитимуть побічного впливу [13, 17–19]. Зокрема, принцип *моделювання* сполук із різною спрямованістю фармакологічного впливу нині став значним кроком уперед порівняно з емпіричним шляхом пошуку ефективних лікарських засобів. Використовуючи у т.ч. й сучасні комп'ютерні методи та квантово-хімічні розрахунки, фармакологи разом із хіміками намагаються на основі накопичених даних про залежність між структурою і дією створити принципово нові сполуки із заданими фармакологічними властивостями. Так, створення відповідних високоефективних знеболювальних, психотропних, протипухлинних, гормональних і протимікробних лікарських засобів вже суттєво посприяло розвиткові новітніх технологій в анестезіології, психіатрії й ендокринології, а також підвищенню ефективності хіміотерапії за онкологічних, інфекційних та низки інших профільних захворювань.

Разом з тим, слід пам'ятати, що різні системи організму завжди генетично детерміновані й скоординовані з його імунною системою, тож застосування того чи іншого препарату може певною мірою впливати на імунітет – в імуностимулюючому або ж, навпаки, імунодепресивному напрямках.

Отже, вдосконалення рівнів регульованості та спрямованості впливу біологічно активних речовин, лікарських засобів та діагностичних агентів, які вибірково діятимуть на органи та клітини організму людини, є основним напрямом розвитку фармацевтичних технологій. Зокрема, вже розроблені на сьогодні лікарські системи з регульованим вивільненням діючих речовин дозволяють швидко досягти лікувального ефекту і тривалий час підтримувати на постійному рівні задану для них терапевтичну концентрацію у плазмі крові. Як показала практика, використання таких лікарських систем дає можливість зменшити призначувану в рамках лікувального курсу дозу, упередити подразнювальну дію і передозування лікувальних речовин та зменшити частоту проявів побічних ефектів.

Так, наприклад, наноматеріали розробляють для лікування та діагностики цілої низки соціально значущих захворювань, і в т.ч. серцево-судинних, протимікробних, гастроентерологічних, онкологічних, неврологічних тощо. При цьому саме наночастинки є перспективним знаряддям цільової доставки лікарських засобів, зокрема, у кардіології – що пов'язано з такими їхніми властивостями, як: підвищена адгезія до уражених судин і ендотелію; здатність до нековалентного приєднання певних сполук; покращення рівня захоплення і подальшого засвоєння лікарських засобів клітинами чи тканинами та ін. [13, 17].

Найвищими ж темпами розвиваються нанотехнології у галузі профілактики й лікування онкологічних захворювань. Зокрема, за останні 5 років сама лише кількість відповідних публікацій зросла на 95%. На сьогодні профільні засоби і пристрої, серед іншого, представлені нановекторами для цільової доставки і вивільнення протиракових лікарських засобів та контролюючих агентів візуалізації, а також розробленими з метою виявлення передракових станів і злоякісних новоутворень нанопровідниками і наноконсолями. Завдяки використанню цих та цілої низки інших новітніх нанопристроїв вже найближчим часом передбачається досягти принципового прориву на характерному як своїми успіхами, так і невдачами довготривалому шляху боротьби з онкологічним «бичем людства» [12].

Нанотехнології теоретично дозволяють доправляти лікарські засоби безпосередньо до невеликого клону злоякісних клітин, причому те саме стосується й контрастних агентів візуалізації. Більшість сучасних дослідників вірять, що саме нанотехнології можуть стати гігантським кроком людини до реалізації поставленої у цій галузі мети, а тому енергійно шукають засоби і методи, які змусять наночастинки у такий спосіб працювати в інтересах людства – яке, до речі, вже не раз переконувалося, що на перший погляд фантастичні ідеї часто та швидко стають реальністю.

Так, за минулі роки науковці вивчили та розробили різноманітні технології виготовлення наноструктур, на нинішньому ж етапі активно досліджують їхні різноманітні властивості та перспективи потенційного практичного застосування. При цьому, якщо в попередні десятиліття з метою вивчення властивостей тих чи інших конкретних матеріалів фахівці спеціалізувалися за вузькими напрямками наукової діяльності, то з виникненням нанотехнологій відповідні напрями почали стрімко інтегруватися. За останні роки сформувалася профільна мультидисциплінарна наука з чітко визначеними завданнями, у рамках якої для вирішення сучасних нанотехнологічних завдань дослідники дедалі частіше користуються, зокрема, досягненнями фізики конденсованого стану, матеріалознавства, хімії та медицини одночасно.

Отже, безперечним є той факт, що наночастинки (полімерні, неорганічні, ліпосомні тощо) як лікарські засоби та їхні носії у подальшому відіграватимуть дедалі важливішу роль завдяки своїм унікальним хімічним, біологічним, фармацевтичним і фізичним якостям. За їх використання лікувальні препарати або інкапсулюються у наночастинки, або ж уже й виготовляються у вигляді таких частинок, а, крім того, поверхні цих останніх можуть бути модифіковані різноманітними покриттями, шарами чи зв'язками, покликаними

забезпечити кращі біосумісність, спрямованість дії і здатність до розпізнавання форми та участь у задалегідь заданому біологічному взаємозв'язку [13, 20, 21].

Зокрема, за декілька минулих десятиліть завдяки магнітному резонансу та комп'ютерній томографії візуалізація стала «королевою» локалізації злоякісних пухлин, а в подальшому нанотехнологи обіцяють сягнути *клітинного* та *молекулярного* рівнів візуалізації – що дозволить ідентифікувати в організмі пацієнта специфічний молекулярний профіль та анатомічні особливості злоякісної пухлини. Подальший же розвиток молекулярної візуалізації дозволить виявляти порушені саме на молекулярному рівні ланки у патогенетичному ланцюзі розвитку хвороби. Так, наприклад, у серійне виробництво вже запущено наночастинки селеніду кадмію, що використовуються як мітки квантових точок білків та нуклеїнових кислот: після додавання мітки до досліджуваного зразка в ультрафіолетовому світлі на характерній довжині хвилі випромінюється флуоресцентне світіння, яке дозволяє аналізувати процеси конформації тих чи інших білкових молекул [13, 22, 23].

Стрімкий розвиток нанотехнологій, який збагачується новими гранями завдяки подальшому розширенню фундаментальних досліджень, відкриває перспективу для якісно нового рівня терапії онкологічних захворювань. Можна стверджувати, що протягом останнього часу медикаментозна терапія перебуває на стадії «нового народження», адже саме проблема створення новітніх протипухлинних засобів є однією з найактуальніших у сучасній онкології. Відсутність вибірковості дії відомих препаратів, а також висока загальна токсичність зумовлюють як подальший пошук відповідних нових сполук, так і вдосконалення лікарських форм існуючих медикаментозних засобів, спрямовані на підвищення селективності та безпечності цих останніх. Сучасні нанотехнології дозволяють не лише вирішити це завдання, а й досягти багатовекторності механізмів протипухлинної дії наноконструктивів.

Дослідники, які залучені до розробки відповідних препаратів, вже давно зрозуміли, що цілеспрямована доставка активних профільних агентів є фундаментальною складовою такої розробки. Ціла низка систем доставки того чи іншого препарату покликана вдосконалити його стабільність та терапевтичну концентрацію у тканинах-мішенях, а також керувану абсорбцію і вплив на такі молекулярні мішені. У більшості випадків при розробці відповідних наноконструктивів включають складові, які вже самі по собі є відомими засобами або фармакологічної корекції, або ж прямої цитостатичної дії. І, крім того, у деяких випадках композиційна перебудова структури вже відомих препаратів за участю тих чи інших наночастинок може вдосконалювати процеси спрямованого

накопичення таких препаратів при пероральному шляху введення: так, введення наночастинок із заздалегідь заданими властивостями може забезпечити як захист від деградації у середовищах організму з високою лужністю самих цих препаратів, так і слизової оболонки шлунково-кишкового тракту.

### 1.6.2. Адресна доставка ліків

До обов'язкових критеріїв, якими зумовлюється можливість застосування того чи іншого фармацевтичного препарату в клінічній практиці, є його ефективність, безпечність і якість, які оцінюються за результатами відповідних досліджень (біоеквівалентності, фармакологічних, токсикологічних і клінічних випробувань та досліджень *in vitro* тощо). Зокрема, ефективність і безпечність лікарського засобу оцінюються за ефективністю його дії на ту чи іншу клітинну мішень та ступенем збереження високого рівня медикаментозної активності при застосуванні *in vivo*. Бурхливий розвиток наук, і особливо в галузі нанотехнологій, дозволив фармакотехнологам у співпраці з фахівцями інших профільних напрямів створювати *ліки принципово нового типу*, які мають спрямовану медикаментозну дію та заздалегідь задані кінетичні властивості. Ці ліки, на відміну від традиційних, характеризуються пролонгованою дією, контрольованим вивільненням діючих речовин та їх цільовим транспортуванням до органу-мішені [24–27].

На жаль, раніше тривалий час при розробці нових препаратів невикористовувалося мало уваги приділялося питанням доставки діючої речовини до мішені. Водночас, на сьогодні вже цілком зрозуміло і не викликає сумнівів, що успіх може мати лише препарат, який одночасно характеризується високою активністю *in vitro*, біодоступністю та специфічністю. При цьому слід зазначити, що сучасні знання про механізми внутрішньоклітинного транспортування і молекулярної організації клітинної поверхні вже дають можливість розробляти нові, ефективніші технології спрямованої доставки лікарських субстанцій. Використання саме таких підходів має на меті підвищення специфічності лікувального впливу кожного конкретного препарату і, завдяки цьому, зниження його токсичності та зменшення концентрації в ньому тієї чи іншої діючої речовини [28, 29].

Йдеться, зокрема, про використання *систем спрямованої доставки* – лікарських форм, які доправляють лікувальну речовину до ураженої ділянки організму (органу, тканини, клітини-мішені) в точно відрегульованих кількостях і забезпечують подальше кероване вивільнення активної субстанції. У системах доставки лікарська речовина



взаємодіє з іншими речовинами або ж із пристроєм для її введення. Внаслідок вибіркового накопичення лікувальної субстанції в осередку патології підвищується ефективність такої субстанції, зменшуються витрати цієї останньої та усуваються можливі небажані ефекти її впливу на здорові органи і тканини.

Отже, специфічна молекулярно-спрямована доставка терапевтичних агентів є дуже важливою для підбору ефективних доз та контролю за тим чи іншим захворюванням, і особливо в онкології, де хіміотерапевтичні засоби є високотоксичними, а часто й генотоксичними. Така доставка ліків завдяки наночастинкам ефективніша також і в сенсі біодоступності, мінімізації побічних ефектів, зменшення токсичності для інших органів та зниження вартості лікування.

Якщо говорити, зокрема, про такий важливий у цьому контексті процес, як *ендоцитоз*, то (залежно від механізму поглинання клітиною різних макромолекул і частинок) серед його різновидів виокремлюють *конститутивний (рідиннофазний)* та *рецепторно-опосередкований*.

У першому випадку має місце невибірковий процес, за якого концентрація речовин, що поглинаються у складі *везикул* (маленьких внутрішньоклітинних органодів – мембрано захищених сумок, в яких запасуються і транспортуються такі речовини), відповідає концентрації речовин у позаклітинній рідині.

У другому ж випадку опосередкований рецепторами ендоситоз є виключно вибірково концентрувальним механізмом, що дає можливість клітинам захоплювати великі кількості специфічних *лігандів* (пов'язаних ковалентним зв'язком атомів) без поглинання великого об'єму позаклітинної рідини [30–33] – коли поглинаються лише ті макромолекули, для яких на *плазмалемах* (мембранах, які відділяють вміст будь-якої клітини від зовнішнього середовища, забезпечуючи, зокрема, її цілісність та регулюючи обмін між нею та цим середовищем) наявна обмежена кількість зв'язувальних ділянок. Відповідні рецептори мають високу спорідненість із тими чи іншими конкретними речовинами, вибірково поглинаючи їх із клітинного середовища і надалі концентруючи. При цьому рідина і розчинені в ній сторонні молекули, які не зв'язуються з рецепторами, майже не поглинаються. Таким чином, забезпечується ефективне надходження до певних клітин специфічних молекул. Везикули, які утворюються за цього різновиду ендоситозу, формуються у місцях *інвагінацій* (вгинів стінок) плазмалем, що з боку цитоплазми вкриті таким волокнистим матеріалом, як мембранний білок клатрин. На цих мембранах, зокрема, формуються облямовані клатрином ямки, що можуть займати до 2% поверхонь деяких клітин. Завдяки перебуванню у таких ямках певних профільних рецепторів

інтерналізуються як ціла низка речовин (наприклад, ліпопротеїни низької густини), так і чинники зростання та гормони тощо [28].

Активно розробляються на сьогодні й декілька альтернативних варіантів підвищення специфічності доставки ефективних доз препаратів із використанням ліпосом, полімерних міцел, дендримерів, керамічних наночастинок, оксиду заліза і білків.

### **1.6.2.1. Застосування наноконтейнерів у медицині. Пакування ліків у ліпосомі**

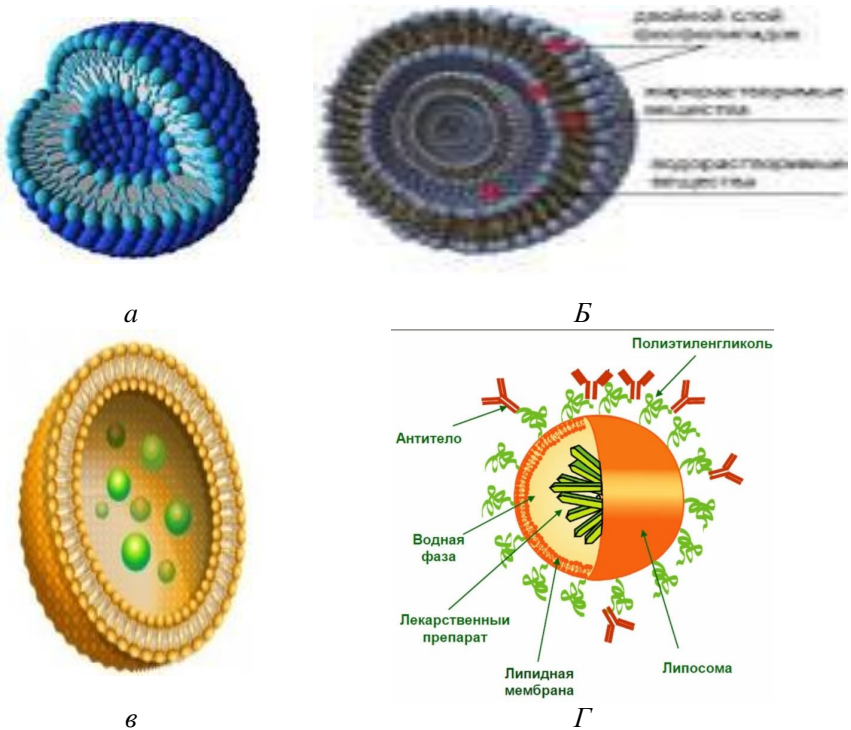
Фармакологія вже нині має у своєму арсеналі наночастинки, які можуть містити лікарські препарати і доправляти їх до клітин. Йдеться про сферичні двошарові мембрани-ліпосомі – замкнені пухирці-везикули, які у довільний спосіб утворюються завдяки змішуванню фосфоліпідів із водою (рис. 1.4). Вперше їх було виявлено (на електронних мікрофотографіях вони мають вигляд замкнених мембранних оболонок із захопленою ними частиною довколишнього водного розчину) саме під час досліджень фосфоліпідів, які й є основними компонентами клітинних мембран. Оболонки ліпосом сформовані з одного чи декількох подвійних шарів молекул фосфоліпідів (здебільшого це фосфатидилхолін), причому моноамелярні ліпосомі, що складаються лише з одного подвійного шару фосфоліпідів, мають нанометрові розміри.

Фармакотерапевтичні переваги ліпосом зумовлені низкою чинників, серед яких – природна біосумісність, вибірковість депонування впливу на клітини, що перебувають у стані гіпоксії, а також можливість регулювати ліпідний склад, завдяки цьому змінюючи клітинні фармакокінетику і фармакодинаміку.

Застосування ліпосом як засобів доставки в одних випадках дозволяє істотно підвищити біодоступність, а в інших, навпаки, упередити надмірне збільшення концентрації певного препарату в крові, тим самим знизивши небезпеку передозування і зменшуючи побічні ефекти [34]. Ліпосомі – одні з найдослідженіших наночастинок, що розглядаються як сучасні та ефективні засоби доставки різноманітних лікувальних речовин, які на сьогодні широко застосовуються у клінічній практиці. Враховуючи особливості транспортування та транслокації цих останніх через гістогематичні бар'єри і клітинні мембрани, а також їхні метаболічні трансформації, ліпосомальні фармакологічні препарати володіють унікальними властивостями, пов'язаними передусім з особливостями їх фармакокінетики [35].

Зокрема, цільова доставка лікарських засобів до зони ураження інфарктом міокарда забезпечується їх приєднанням до поверхонь лігандів

(а саме антитіл до міозину), а в ділянку тромбозу (йдеться про молекули аргінін-гліцин-аспарагінової кислоти, антиагреганти, антикоагулянти і відповідні протизапальні засоби) – шляхом приєднання до глікопротеїнів. Окрім того, ліпосоми можуть конкурентно відтіснити від зв'язку з глікопротеїновими (GP-) рецепторами природній ліганд фібриноген – що, в свою чергу, призводить до антиагрегантного ефекту.



*a* – моноламелярні; *б* – мультиламелярні;  
*в, г* – контейнери лікарських речовин

**Рис. 1.4.** Різновиди ліпосом

У свою чергу, відкриття явища пасивного транспортування частинок ~100-нанометрових розмірів до пухлин і вогнищ запалення [36] теж стало імпульсом для бурхливого розвитку досліджень у галузі розробки систем доставки ліків. На сьогодні застосування нанотехнологій вже є загальновизнаною у світі стратегією пошкваллення фармацевтичного виробництва на найближчі десятиліття. Так, вміщення ліків у біосумісні полімерні або ж супрамолекулярні носії зменшує концентрацію вільних препаратів у кровотоці та перешкоджає їх швидкому виведенню нирковою

системою – а це, в свою чергу, дозволяє зменшити загальну токсичність і збільшити терапевтичний індекс (ТІ, характеризує кількість лікарського засобу, що викликає терапевтичний ефект, порівняно з тією його кількістю, яка є токсичною) за рахунок поліпшення процесів фармакокінетики і біорозподілу. Накопичення ж нанорозмірних носіїв у пухлинах і вогнищах запалення здійснюється завдяки дефектній архітектурі судинної системи, яка формується, та підвищеній проникності її ендотелію.

Разом з тим, високий інтерстиціальний тиск у солідних (твердих) пухлинах не дозволяє утримуватися в них частинкам із розмірами менше 30–40 нм, а оптимальний розмір носіїв, здатний забезпечити пасивне транспортування ліків, перебуває в інтервалі 50–150 нм. При цьому саме *ліпосоми*, поряд із *ліпідними наносферами*, є найбільш біо- та гемосумісними носіями, придатними для системного введення в організм.

### 1.6.2.2. Головні переваги ліпосом

Які ж якості ліпосом створюють їм переваги перед іншими носіями ліків? Передусім це *спорідненість* із природними мембранами клітин за хімічним складом: відомо, що ліпіди, які входять до складу мембран, займають від 20 до 80% їх маси. Саме тому за правильного підбору компонентів ліпосом їх введення в організм не викликає негативних реакцій [37].

Ще однією важливою властивістю ліпосом є *універсальність*. Завдяки їх напівсинтетичній природі можна широко варіювати їхніми розмірами, характеристиками та складом поверхні, а це дозволяє використовувати ліпосоми для перенесення широкого кола фармакологічно активних речовин (протипухлинних і протимікробних препаратів, гормонів, ферментів та вакцин тощо), а також як додаткові джерела енергії для клітини та генетичний матеріал.

Крім того, ліпосоми порівняно легко руйнуються в організмі, вивільнюючи доправлені речовини – проте одночасно вони на заданому їм шляху, самі будучи позбавленими властивостей антигенів, надійно упереджують контакт свого вантажу з імунною системою, а, отже, *не викликають* як захисних, так і алергійних реакцій організму в цілому.

Важливу роль відіграє також характер *взаємодії* ліпосом із клітинами, що може приймати різні форми, з яких найпростішою є та, коли ліпосоми адсорбуються (прикріплюються) на клітинній поверхні [38]. На цьому процес або може закінчитися, або триватиме, і тоді ліпосому поглине клітина (цей процес «заковтування» і є ендоцитозом), а разом із нею всередину останньої потраплять ті речовини, які вона

доправила. І, нарешті, ліпосоми здатні зливатися з мембранами клітин і ставати їхніми частинами, причому в цьому випадку можуть змінюватися властивості клітинних мембран: наприклад, їхні в'язкість і проникність та величина електричного заряду. Може також збільшуватися або ж зменшуватися й кількість каналів, що проходять через мембрани. Таким чином, саме завдяки ліпосомам з'являється новий спосіб спрямованого впливу на клітину, який на сьогодні називають «*мембранною інженерією*».

Загалом серед *форм* взаємодії ліпосом із мембраною клітини можна виокремити такі [37]:

- ліпосома збільшує проникність мембрани, викликавши утворення додаткових каналів;
- вона прикріплюється до мембрани (адсорбується);
- клітина поглинає ліпосому після потрапляння до неї доправленої цією останньою лікувальної речовини;
- клітинна мембрана і ліпосома обмінюються ліпідами (іноді), а в інших випадках їхні мембрани зливаються.

Залежно ж від *розмірів* частинок і *числа* ліпідних шарів, що їх утворюють, розрізняють такі ліпосоми:

1) малі моноламельярні, які утворені одиночним ліпідним бішаром, із діаметром 20–50 нм;

2) великі моноламельярні, що також сформовані одиночним бішаром і мають діаметр 50–200 нм і вище;

3) багат шарові (мультиламельярні), які нараховують до декількох десятків і навіть сотень ліпідних бішарів, із діаметром до 5000–10000 нм.

Для приготування ліпосоми зазвичай використовують фосфоліпіди. Багат шарові ліпосоми легко утворюються шляхом струшування водної дисперсії набухлого ліпіда. Як результат, одержуємо завись ліпосоми з широким розподілом частинок за розмірами, причому порівняно гомогенну ліпосомну дисперсію можна отримати, пропустивши ліпосому через полікарбонатні фільтри із заданими розмірами пор. При цьому відстань між сусідніми ліпідними бішарами зазвичай складає 2–3 нм, але за наявності заряджених бішарів може зростати до 20 і більше нанометрів.

На 1 моль ліпіда *багат шарові* ліпосоми вміщують 1–4 літри води, володіючи властивостями ідеального *осмометра* (приладу для вимірювання осмотичного тиску або ж концентрації осмотично активних речовин) та змінюючи об'єм у відповідь на зміну концентрації речовин у навколишньому водному середовищі [38].

У свою чергу, *малі моноламельярні* ліпосоми одержують із багат шарових шляхом обробки цих останніх ультразвуком, впорскування спиртового розчину ліпідів у водне середовище, продавлювання під

великим тиском водно-ліпідних дисперсій через невеликий отвір, а також видалення солюбілізуючого ліпід детергента завдяки діалізу або ж гелі-фільтрації. Такі ліпосоми містять 0,2–1,5 л води на 1 моль ліпіда, не володіють осмотичною активністю і не коагулюють протягом тривалого часу.

Зі свого боку, *великі моноламельарні* ліпосоми мають значний внутрішній об'єм води (8–14 л на 1 моль ліпіда) і володіють осмотичною активністю. Зазвичай їх одержують завдяки видаленню солюбілізуючого детергента шляхом контрольованого діалізу або ж впорскування розчину ліпіда в легколеткому розчиннику (діетиловий ефір, петролейний ефір, пентан) у підігріту до 60 °С воду. І також великі одношарові ліпосоми можуть бути одержані з малих шляхом їх злиття під впливом  $\text{Ca}^{2+}$  або ж завдяки термотропному фазовому переходові.

Змінюючи склад ліпідів у ліпосомах, можна цілеспрямовано змінювати властивості мембран. Так, завдяки вміщенню мембранних білків у ліпідний бішар одержують т.зв. *протеоліпосоми*, які використовують для моделювання різноманітних ферментативних, транспортних і рецепторних функцій клітинних мембран.

Також ліпосоми застосовують в *імунологічних* дослідженнях, вводячи до них антигени чи ковалентно приєднуючи антитіла. Крім того, ліпосоми є зручною *моделлю* для вивчення дії на мембрани багатьох лікарських засобів та інших біологічно активних речовин. А ще у внутрішній водний об'єм ліпосом (у т.ч. полімерних) можна вміщувати ліки, пептиди, білки та нуклеїнові кислоти, створюючи можливості для практичного застосування тієї чи іншої ліпосоми як засобу *доставки* різних речовин у певні органи і тканини [37].

Зокрема, переваги ліпосом як носіїв *ліків* є очевидними: одержані з природних фосфоліпідів ліпосоми, на відміну від полімерних систем доставки лікарських засобів, є повністю біодеградовними і біосумісними та придатними для вміщення в них багатьох фармакологічних агентів, і у т.ч. ферментів, гормонів, вітамінів, антибіотиків, імуномодуляторів та цитостатиків тощо.

Вміщені у ліпосоми лікувальні речовини стають стійкішими в організмі, оскільки ізольовані ліпідною мембраною від пошкоджуючих впливів зовнішніх умов, і зокрема від руйнування у шлунково-кишковому тракті, – а, отже, ці речовини меншою мірою чинять загальний токсичний вплив на організм. При цьому унікальною особливістю ліпосом є можливість доставки лікарських препаратів всередину клітин, з якими вони взаємодіють шляхом злиття чи ендоцитозу. Модифікуючи мембрану ліпосом молекулами, що забезпечують розпізнавання клітини або ж

органа-мішені, якраз і можна здійснювати спрямоване транспортування ліків.

Крім того, за наявності нанопрепаратів у ліпосомному вигляді збільшується вкрай важлива для належного медикаментозного ефекту розчинність цілої низки лікарських речовин, а також, завдяки ліпосомній оболонці, зменшується їх токсичність [37]. Завдяки цим властивостям ліки починають діяти лише тоді, коли доходять до клітини-мішені, залишаючись в активній формі та не деградуючи по дорозі. Усе це дозволяє знизити *обсяги* ефективних доз ліків, що є особливо важливим, наприклад, для онкологічних хворих при проходженні ними курсів *хіміотерапії*.

Важливою перевагою ліпосом як засобу доставки ліків є їх *захисна* функція: вміщені у ліпосоми речовини захищені від впливів ферментів, а це підвищує ефективність тих із них, які піддаються біодеструкції у біологічних рідинах. Крім того, ліпосоми забезпечують поступове вивільнення введених до них ліків і, відповідно, збільшують тривалість дії цих останніх.

Водночас, ліпосоми самі можуть містити ферменти і за певний заданий час розпадатися й їх вивільнювати задля забезпечення виконання ними певних функцій: наприклад, каталізу процесів травлення тощо [37].

Вивільнення препарату відбувається за рахунок руйнування ліпосом: наприклад, під дією температури, яка зазвичай є близькою до температури тіла. Водночас, такий підхід є не дуже зручним, тому що ліпосоми можуть почати руйнуватися ще до того, як потраплять у потрібне місце, а через це так важливо, з одного боку, визначити шлях і час потрапляння ліпосом у вогнище ураження і, з іншого, – відтермінувати вивільнення ліків із ліпосом після їх надходження в потрібне місце. При цьому вивільнення вмісту ліпосом можна дослідити з використанням флуоресцентних барвників.

Під час проведення профільних досліджень також застосовувалася стандартна *екструзія* через калібровані ядерні мембрани, завдяки якій було отримано стабільні ліпосоми з середнім діаметром 100 нм на основі природних фосфоліпідів і ліпофільних проліків таких широко застосовуваних на сьогодні хіміотерапевтичних засобів, як метотрексат і мелфалан. Такі ліпосоми довели свою ефективність при системному введенні мишам із наявними у них експериментальними пухлинами. Зокрема, фармакокінетика *метотрексату* в плазмі крові мишей засвідчує переваги його використання у вигляді ліпофільного препарату.

При цьому слід зазначити, що саме *ліпосоми*, які є носіями синтетичних речовин у хіміотерапії, були схвалені до застосування в лікуванні раку ще в середині 1990-х років і зараз в основному

використовуються для розчинення лікувальних речовин – що, в свою чергу, сприяє вищій концентрації медикаментозних засобів, аніж у випадку *вільних речовин* [39] (але, водночас, варто пам'ятати, що ліпосоми не можуть впливати на час, який потребується для вивільнення лікувальної речовини, і в більшості випадків не забезпечують ефективне внутрішньоклітинне надходження молекул ліків, а, отже, самообмежують можливість їх застосування при лікуванні різновидів раку, стійких до чималої кількості профільних медикаментозних засобів).

Типовим прикладом успішного протионкологічного застосування ліпосом є *доксил* (ліпосомальний доксорубіцин виробництва компанії «OrthoBiotech») – поліетиленгліколь-ліпосома, що містить цитотоксичну речовину доксорубіцин і спочатку була схвалена як медикаментозний засіб при саркомі Капоші у хворих на вірус імунодефіциту, а зараз використовується і для лікування раку яєчників та плазмацитоми. Вищезгадана речовина циркулює в організмі як наночастинка, причому період її напіввиведення приблизно в 100 разів довший, ніж у *вільного* доксорубіцину. В свою чергу, в клінічній практиці головною перевагою наведеної вище речовини є зниження кардіотоксичності порівняно зі «звичайним» доксорубіцином [40].

У свою чергу, вдосконалені новітні наносистеми відзначаються, порівняно з раніше схваленими, вищим ступенем багатofункціональності (і, зокрема, здатністю до повільного виведення та/або наявністю направлених ліганд) та нижчим, ніж у доксилу, рівнем токсичності.

### 1.6.2.3. Препарати на основі ліпосом

Ліпосоми привернули увагу як потенційні системи доставки ліків ще понад 30 років тому. Новий же імпульс відповідні дослідження одержали після розробки технології отримання ліпосом *Stealth®* [41]. Поверхні таких ліпосом захищені від *опсонізації* (адсорбції білків плазми) та передчасного виведення з кровотоку клітинами імунної системи завдяки *екрануванню* прищепленими високогідратованими залишками поліетиленгліколю. Препарати на основі *Stealth®*-ліпосом застосовуються у клінічній практиці вже понад 10 років: це, наприклад, ліпосоми з доксорубіцином (*Doxil®*, *Caelix®* та низка інших як вітчизняного виробництва, так і з США, країн ЄС тощо) для лікування саркоми Капоші та раку яєчників [42]. Разом з тим, створення таких конструкцій для широкого спектру водорозчинних засобів виявилось неможливим, оскільки застосовуваний при їх виробництві метод активного завантаження придатний лише для обмеженого кола ліків, що мають природу слабких амфіфільних кислот чи основ (наприклад, для



антибіотиків антрациклінового ряду типу доксорубіцину). У свою чергу, такий альтернативний лабораторний спосіб, як формування ліпосом у водно-сольовому розчині ліків з їх подальшим відділенням від агента, що в кінцевому підсумку до них не входить, – є нетехнологічним.

Виходячи із вищезазначеного, перспективнішим видається спосіб, що полягає у вміщенні ліків до ліпідного бішару ліпосом у вигляді таких ліпідних похідних, як *ліпофільні проліки*, що розщеплюються внутрішньоклітинними ферментами з подальшим вивільненням вихідного препарату [43]. Такий підхід спрощує технологію одержання лікувальних ліпосом і робить її універсальною. Крім того, порівняно з інкапсулюванням ліків у водний об'єм ліпосом, вміщення їх у бішар дозволяє поліпшити фармакологічні властивості системи доставки в цілому завдяки зменшенню втрат ліків як у кровотоку, так і під час взаємодії відповідної ліпосоми з тєю чи іншою клітиною. При цьому також є очевидним, що ліпідні похідні здатні до прямого трансмембранного перенесення, а це кардинально змінює механізм ендцитозу та внутрішньоклітинного трафіку препарату і полегшує процес розвантаження ліпосом (для порівняння: щоб забезпечити вихід ліків із водного об'єму *Stealth*®-ліпосом після їх потрапляння в ендосоми клітини-мішені, на сьогодні пропонується використовувати рН-чутливі молекулярні тригери, і в т.ч. пептидні, фосфоліпідні тощо; водночас, низька ефективність внутрішньоклітинного розвантаження, яка зумовлена жорсткістю ліпідного бішару (з температурою його фазового переходу понад 60 °C) і його утрудненим злиттям із клітинними мембранами – один із суттєвих недоліків *Stealth*®-ліпосом).

На сьогодні вже відпрацьовано механізми синтезу *ліпідних похідних* таких широко застосовуваних у клініці хіміотерапевтичних засобів, як мелфалан та метотрексат [44, 45]. Так, цитотоксик *мелфалан* є діючим незалежно від стадії клітинного циклу алкілюючим агентом і використовується у хіміотерапії майже 50 років. У свою чергу, цитостатик *метотрексат* є антиметаболітом фолієвої кислоти і також давно використовується для лікування онкологічних та аутоімунних захворювань (наприклад, ревматоїдного артрити, коли він, як і раніше, залишається «ліками номер один»). У будь-якому разі, слід пам'ятати, що зв'язок між ліками і частиною-залишком молекули проліків має легко гідролізуватися всередині клітини. А оскільки естерази (ферменти, що каталізують у клітинах гідролітичне розщеплення складних ефірів на спирти й кислоти за участю молекул води (гідроліз)) володіють меншою специфічністю, ніж амідази (група ферментів, які каталізують гідроліз речовин типу амідів кислот із відщепленням азоту у вигляді аміаку), і широко представлені в усіх органах та тканинах, перевагу слід надавати

складнофірному зв'язку, а не амідному, і, крім того, при розробці молекулярних структур ліпідних кон'югатів треба враховувати необхідність забезпечення їх якнайбільшої відповідності упаковці ліпідного бішару ліпосом (рис. 1.5).

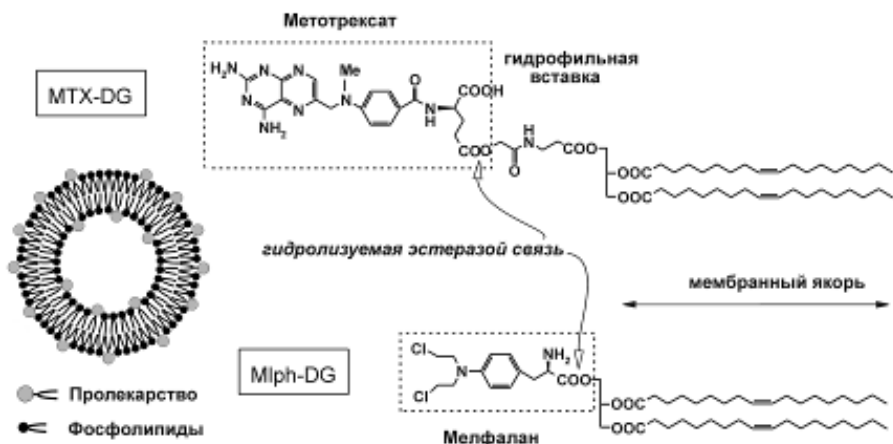


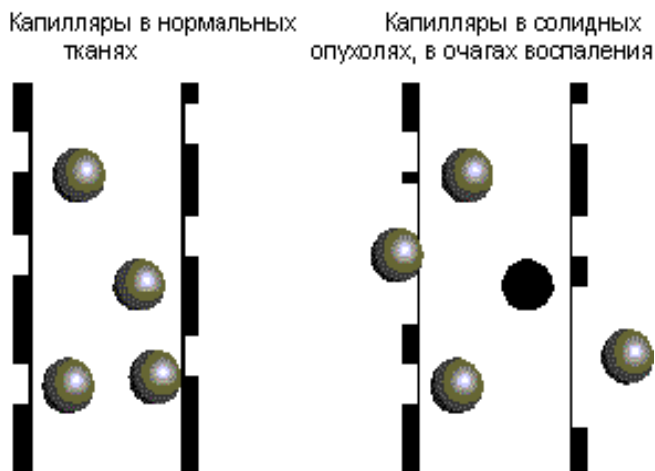
Рис. 1.5. Молекулярні структури ліпідних кон'югатів ліків і схематичне зображення лікувальної ліпосоми [46]

Особливо ж ефективно ліпосоми використовують для доставки протиракових препаратів. Це зумовлено співвідношенням розмірів ліпосом  $R$  і діаметру пор капілярів  $D$ , які постачають кров'ю органи і тканини та якими разом із кровотоком переміщуються ліпосоми. У нормальних органах і тканинах капіляри достатньо вузькі ( $R > D$ ), тому ліпосоми погано проникають через капілярні пори у такі органи і тканини та, як наслідок, токсична дія препарату на них зменшується. І, навпаки, на ділянках солідних пухлин і осередків запалення капіляри розширені ( $R < D$ ), а тому ліпосоми вільно проходять крізь пори, концентруючись в уражених місцях організму і тим самим забезпечуючи цілеспрямовану доставку препаратів у «гарячі точки». Це явище отримало назву «пасивне націлювання» (рис. 1.6).

В основі прицільної доставки нанопрепаратів до клітин-мішеней два механізми. Першим є вищезгадана здатність до пасивного націлювання, коли у капілярах на ділянці запалення розширюються пори і ліпосоми проходять крізь них, потрапляючи саме туди, куди треба. Другим же є активне транспортування до рецепторів на мембранах клітин-мішеней завдяки приєднанню до наночастинок молекулярних адрес.

У вітчизняній практиці відомо досить багато прикладів застосування ліпосомних препаратів [39, 47, 48]. Зокрема, це харківський препарат

*Ліподокс*® для хіміотерапії раку, чия ліпосомна форма діє у кілька разів ефективніше за простий розчин.



**Рис. 1.6.** Проходження ліпосом кровеносними капілярами

Іншим прикладом є препарат на основі *бетулінової кислоти* для боротьби з *меланомою*: ліпосомна форма істотно збільшує його розчинність (максимальним цей показник є за наявності *нанокристалів*), причому мічені наночастинки кислоти проникають до клітин меланоми, найімовірніше, за механізмом ендоцитозу. Розроблено на сьогодні й ліпосомну форму *протипаркінсонічної* субстанції «ДОФА»: у крові вона швидко деградує і лише 20% введених ліків досягають гематоенцефалічного бар'єру, полегшенню проходження через який і сприяють ліпосоми (ефективна доза нейромедіатора дофамін – а саме його концентрації не вистачає клітинам мозку при хворобі Паркінсона – зменшується вдесятеро за одночасного збільшення тривалості дії вдвічі-втричі). І ще одним сучасним нанопрепаратом є ліпосомний ранозагоювач *Баларпан*®, який відновлює рогівку ока при *кератинопатії* (доведено, що за використання ліпосом міцність загоєного рубця на рогівці збільшується у п'ятеро).

Також вже розроблено ліпосомний препарат зі взаємодіючих з імунними клітинами наночастинок на основі екстракту березової кори із широким спектром таких біологічних активностей, як *антиоксидантна*, *імунomodуюча*, *антимутагенна* тощо. Крім того, на сьогодні проходять різні стадії випробувань та впровадження у виробництво такі нанопрепарати, як *протигіпоксичний* «Ліпін», *гепатопротекторний* «Ліюлів», *протипухлинні* «Цисплатин», «Фторурацил» і «Фотосом»,

антигеморагічний «Антиліпошок», протизапальний «Хлорофіліпт», протигемолітичний «Амінофосфатид», антимеланомний «Бетусом» і протитуберкульозний «Ізоціанід» та низка інших антиканцерогенних і антибактеріальних препаратів, вакцин та засобів генної терапії тощо [12, 39, 49].

Загалом поєднання різноманітних матеріалів задля поліпшення властивостей кожного з них викликає величезну зацікавленість фахівців у галузі *біомедицини*: так, наприклад, створення мереж із полімерних ланцюжків фосфоліпідних пухирців (це й є ліпосоми) та заповнених молекулами води наночастинок *гідрогелю*. Саме таке поєднання призводить до утворення *гібридної* нанорозмірної частинки, яка, цілком імовірно, зможе досягати заздалегідь визначених (наприклад, пухлинних) клітин, легко проходити через їх мембрани, а потім повільно випускати лікувальні речовини. При цьому наночастинок гідрогелю більш стабільні та володіють властивостями контрольованого виділення лікарських препаратів (завдяки чому є можливість здійснювати точне налаштування дозування того чи іншого медикаменту з урахуванням відповідних часових рамок), але, водночас, схильні до розкладання і збирання у конгломерати. Саме тому метою вчених і стало створення вищезгаданих наночастинок, що поєднували обидва компоненти (ліпосомний і гідрогелевий), аби можна було використовувати сильні сторони кожного з відповідних матеріалів, одночасно мінімізувавши слабкі [46].

При цьому саме ліпосоми відіграють істотну роль у приготуванні *вакцин* – препаратів, що складаються з мікроорганізмів і продуктів їх життєдіяльності. Важливою складовою вакцин є *антигени* – речовини, які володіють ознаками генетичної чужорідності та при введенні в організм викликають специфічний імунний відгук.

Вакцини застосовують для *імунізації* – створення штучного імунітету, і саме у випадку застосування ліпосомальних вакцин імунний відгук посилюється через те, що асоційовані з ліпосомами антигени потрапляють безпосередньо в *антигенпредставницькі* клітини (інша назва – *антигенпрезентативні клітини*), *АПК*; англ. *antigen-presenting cell, APC*), які експонують чужорідний антиген у комплексі з молекулами головного комплексу гістосумісності (англ. *MHC*) на своїх поверхнях. Процес імунізації тут полягає в тому, що *T*-лімфоцити організму розпізнають такі молекулярні комплекси завдяки *T*-клітинним рецепторам (англ. *TCR*), а, зі свого боку, антигенпредставницькі клітини, процесуючи антигени, представляють їх цим *T*-клітинам.

Прикладом такого використання антигенів є, зокрема, вакцини проти гепатиту А, причому зазвичай у ліпосому включають, окрім антигену f, ще й білки, які сприяють злиттю мембран ліпосом і клітин (утворені у такий

спосіб конструкції називають *віросомами*). У цілому ж ліпосоми дають можливість достатньо просто створювати вакцини *багатофункціонального* призначення: наприклад, одночасно проти декількох штамів грипу, гепатиту А і В, дифтерії, правця тощо.

Загалом же характерні для процесів розвитку пухлин та запалення тканин патофізіологічні та анатомічні зміни можуть бути використані для доставки й вибіркової локалізації цілої низки нанотехнологічних продуктів, перевага яких перед звичайними полягає у подовженні часу циркуляції в організмі необхідного препарату та їхньої здатності не втрачати ефективності й бути представленими в необхідній концентрації у тому чи іншому конкретно заданому місці. Так, включення доксорубіцину саме в ліпосоми у 300 разів подовжує період циркуляції та покращує фармакокінетику порівняно з вільним доксорубіцином, а підвищення, завдяки їм та подібним наносистемам, судинної проникності (з одночасним послабленням лімфатичного дренажу) дозволяє збільшити тривалість ефекту дії цих систем у пухлинах або ж тканинах із запальним процесом.

Особливу зацікавленість викликає і можливість *перорального* застосування ліпосомальних білкових препаратів – адже їхні ін'єкційні лікувальні форми швидко деградують у шлунку. І хоча механізм всмоктування ліпосомальних препаратів у шлунково-кишковому тракті до кінця не ясний, літературних даних про ефективність саме їх перорального прийому на сьогодні достатньо багато.

Використання ліпосом також є оптимальним варіантом за наявності необхідності спрямованого транспортування лікувальної речовини до органів ретикулоендотеліальної системи (селезінка, печінка тощо). На сьогодні вже ретельно розроблено і систему застосування й лікування вміщеними у ліпосомах антибактеріальними препаратами т.зв. «інфекції ретикулоендотеліальної системи (РЕС)». Доведено й ефективність цих препаратів при таких захворюваннях, як лейшманіоз, сальмонельоз, черевний тиф, бруцельоз, малярія та ін., а також з'явилися роботи з питань використання ліпосомальних противірусних препаратів при герпесі, вірусному гепатиті, лихоманці та ВІЛ-інфекції (в експериментах на тваринах). При цьому за умови *парентерального* введення розподіл ліпосом в організмі залежить від складів ліпосомальних мембран, їхніх розмірів, зарядів та інших хімічних і фізичних параметрів везикул й іммобілізованих у них речовин, а також від конкретного способу такого введення (проте, в будь-якому разі, саме *місцеве* введення ліпосомальних препаратів є оптимальним способом їх доставки у регіонарні лімфовузли).

Так, наприклад, після *підшкірного* введення основна кількість ліпосом депонується у місці введення та елімінується звідти переважно

лімфогенним шляхом. У свою чергу, при *внутрішньом'язовому* введенні ліпосоми спроможні створювати депо препарату в місці введення, а подальша швидкість елімінації з депо залежить від розмірів та властивостей ліпосом і складає від декількох годин (якщо ліпосоми дрібні) до кількох днів (коли вони великі). При цьому дрібні бішарові ліпосоми, на відміну від великих, за *внутрішньочеревного* або ж *внутрішньом'язового* введення значно швидше проникають у кровоносне русло, а це засвідчує обмежену, в цьому випадку, здатність великих ліпосом проходити через капіляри та мембрани судин. І навпаки, за *внутрішньовенного* введення дрібні ліпосоми виводяться з кровотоку повільніше за великі.

Для адресної доставки до ендотеліїв артерій різних лікарських засобів також застосовують нанорозмірні ліпосоми [50]. Крім того, ліпосомальні препарати, порівняно з такими традиційними лікарськими формами для зовнішнього застосування, як мазі та гелі, володіють більшою здатністю проникати у шкіру і волосся, а тому вони доступніші для живих клітин-мішеней. Так, встановлено, що ліпосоми інтенсифікують процеси взаємодії активних речовин зі шкірою за лікувальної зовнішньої терапії, а це є прямою причиною підвищення терапевтичної ефективності іммобілізованих у них лікувальних речовин.

Найімовірніше, такий ефект викликаний злиттям ліпосом із ліпідними *ламелями* (не доходячи до базального шару) та подальшим вивільненням їх внутрішнього вмісту: рухомі ліпіди ліпосом вбудовуються у ліпідні ламелі, таким чином збільшуючи «рідинність» бар'єру, а, отже, й поліпшуючи *проникність*.

Іншим важливим шляхом проникнення ліпосом та їх вмісту вглиб шкіри є волосяні *фолікули*. І також ефективність трансдермального ліпосомального перенесення лікувальних речовин можна посилювати, використовуючи методи *іонофорезу* та *фонофорезу*. А, крім того, одним із перспективних підходів виявилось розроблення композицій ліпосома–антифіброгенові антитіла, покликаних вивільнювати речовини під дією акустичного подразника [51].

### 1.6.3. Дендримери як синтетичні засоби доставки ліків

*Дендримери* – це новий тип високомолекулярних сполук у вигляді тривимірних суперрозгалужених полімерів і олігомерів. Найчастіше вони виглядають як крихітні сферичні молекули з великою площею внутрішньої поверхні та здатністю послідовно розгалужуватися й утворювати різноманітні конструкції з різними за розмірами порожнинами – а, отже, дендримери ідеально підходять для розміщення агентів із

доставки ліків, різних білків та флуоресцентних маркерів. Вони також добре сполучаються з молекулами ДНК, причому є свідчення можливості з'єднання двох молекул дендримерів одним ДНК-ланцюжком, коли одна з цих молекул (*флуоресцентний маркер*) призначається для пошуку хворих клітин, а інша – містить відповідні *ліки*: отже, одночасно можна, наприклад, діагностувати ракові захворювання та, в подальшому, їх лікувати [52, 53].

На сьогодні проводяться активні роботи, спрямовані на синтез дендримерів, які самостійно вивільнюватимуть свій вміст лише за присутності відповідних пускових молекул у тканинах та органах, що потребують лікувального впливу. І також дендримери, з метою посилення їх стабільності й лабільності та корекції термочутливості, можуть бути модифіковані додатковими полікатіонними амфіфільними і ліпофільними молекулами – а це дозволяє максимально сконцентрувати протипухлинний препарат у клітині з одночасним збереженням його активності [54].

Синтез дендримерів проводять так, щоб у процесі росту полімерної молекули не відбувалося ані сполучення зростаючих відгалужень, ані об'єднання молекул одна з одною, і щоб вони відповідали певній логічній схемі, коли кожна група не може вступати у реакцію з подібною до себе. Спочатку в реакційне середовище вміщують центри майбутніх дендримерів, а потім до них додають реагенти і проводять ту саму полімеризацію, яка застосовується при синтезі білків і нуклеїнових кислот із заданою послідовністю амінокислот і нуклеотидів. По завершенні першої стадії полімеризації на кінцях відгалужень виявляються вільні групи, кожна з яких здатна вступати у реакцію з двома додатковими мономерами, і у цей спосіб формується дендример першого покоління. Водночас, таких послідовних стадій може нараховуватися лише певне скінченне число (оскільки у певний момент утворюється щільне пакування з мономерів, яке перешкоджає подальшому перебігу полімеризації), причому діаметр молекули складає  $\sim 10$  нм.

На сьогодні вчені навчилися утримувати, використовуючи хелатні групи, іони металів на поверхнях дендримерів. Такі дендримерні «мітки» на основі гадолінію і магнію активно застосовуються як контрасти при проведенні досліджень методом ядерного магнітного резонансу (ЯМР), уможливаючи, наприклад, легке відстеження «долі» введених в організм піддослідної тварини стовбурових клітин та їх міграції – а це особливо важливо за наявності підсаджених у мозок клітин.

Завдяки ж стичним «гілкам» розгалуженої молекули утворюються внутрішні порожнини, в яких можуть знаходитися різні невеликі молекули, хімічно не пов'язані з дендримером. До таких порожнин

можуть вводитися різноманітні лікарські препарати, а це дозволяє забезпечувати їх тривалу медикаментозну дію. І також дендримери можуть утримувати речовини з радіоактивними мітками, які застосовні у діагностиці широкого спектру захворювань організму.

Серед іншого, можливість прикріплення до дендримерів відразу ж декількох різних молекул знайшла своє застосування при лікуванні злоякісних пухлин. Як відомо, своєрідним «вітаміном» для будь-якої подільної клітини є *фолієва кислота*, що однаково необхідна і здоровим клітинам, і раковим – однак саме на мембранах цих останніх розташовується у тисячу разів більше рецепторів, спроможних приєднати таку кислоту, тож якщо одночасно з нею до «гілок» дендримерів прикріпити сильний протипухлинний препарат (наприклад, метотрексат або ж флюоресцентний барвник), то ракові клітини будуть значно активніше, ніж здорові, уловлювати і втягувати в себе такі наноліки. Це дозволяє, по-перше, здійснювати діагностику ракових захворювань на ранніх стадіях, а, по-друге, доставляючи препарат точно у ракову ділянку, мінімізувати побічні ефекти під час лікування онкологічних захворювань, зокрема, токсичним метотрексатом.

#### **1.6.4. Використання кон'югатів для доставки ліків у пухлини**

При розробці протиракових препаратів великого поширення набув підхід, за якого використовуються гібридні ковалентно зв'язані кон'югати типу «білковий вектор–хіміопрепарат». Вибірковість дії кон'югатів досягається або за рахунок наявності на поверхнях пухлинних клітин специфічних рецепторів, які розпізнаються векторним білком чи антитілом, або ж завдяки вищому рівню експресії рецепторів векторного білка на поверхнях цих клітин порівняно з нормальними. Зокрема, у низці публікацій наведено дані про успішне застосування створених на основі цитотоксичних антибіотиків і векторних молекул цитотоксичних кон'югатів, які забезпечують спрямовану доставку антибіотика в пухлинні клітини або ж ендотеліальні клітини судин відповідних пухлин [55]. Так, на сьогодні як вектори активно використовують онкофетальні білки, трансферин, моноклональні антитіла до специфічних пухлинних антигенів, гормоноподібні пептиди тощо. При цьому кон'югацію препарату з білковим вектором може бути здійснено кількома способами, і зокрема з використанням хімічного – у простому випадку це дисульфідний або ж тіоефірний зв'язок – зшивання, поліетиленгліколевого чи поліпептидного лінкерів, а також авідин-біотинової технології (детальніше методи біокон'югації описано в праці [56]). Спосіб кон'югації має відповідати двом основним критеріям, а саме



характеризуватися високою результативністю реакції на її виході та можливістю внутрішньоклітинного розщеплення (хоча остання вимога в низці випадків може й не виконуватися), причому «незалежність» того чи іншого препарату від вектора зумовлена суттєвою довжиною лінкерів, для створення яких зазвичай використовують полімер етиленгліколю – поліетиленгліколь (ПЕГ), маса якого може досягати 2–3 кДа [57].

У цілому як протипухлинні препарати зазвичай використовують цитотоксичні антибіотики, індуктори апоптозу та ін., причому, вочевидь, специфічність дії кон'югата визначається передусім структурою і типом білкового вектора. До наносистем для загальної протиракової терапії відносять також протеїни з певним вмістом поліетиленгліколю та його ж кон'юговані синтетичні молекули, що, будучи єдиними молекулами у розчині, можуть вважатися нановимірними засобами чи наночастинками, якщо в них відбувається реакція «полімер–полімер» – завдяки чому в загальній системі з'являється більш як один полімерний ланцюжок.

#### **1.6.4.1. Використання білкових векторів, специфічних до клітинних рецепторів. Трансферин-трансфериновий рецептор**

Як відомо, транспортування заліза  $Fe^{3+}$  в організмі здійснюється у комплексі з глобуліновим білком трансферином (*Trf*) і, зокрема, до клітини воно відбувається внаслідок ендоцитозу, опосередкованого взаємодією *Trf* зі своїм рецептором *TFRR* [58, 59]. Трансферин широко використовують як білковий вектор для спрямованої доставки протиракових препаратів, білків і генів до пухлинної клітини, для якої характерний підвищений рівень експресії *TFRR*. Така *Trf*-специфічна внутрішньоклітинна доставка досягається кон'югацією цього вектора з низкою протипухлинних препаратів (наприклад, доксорубіцином і даунорубіцином) та білкових токсинів (зокрема, *CRM107* та ріцином) [60]. Використання таких конструкцій дає можливість істотно зменшити токсичність хіміотерапії і певною мірою протистояти механізмам набутої резистентності ракових клітин.

##### **1.6.4.1.1. Гормони та їхні рецептори**

Як вектори не менш ефективно можуть бути використані й *пептидні гормони*, до яких є рецептори на поверхні клітини. Зокрема, встановлено, що для рецепторів декапептиду гонадоліберину спостерігається підвищена експресія у пухлинних клітинах під час розвитку раку молочної залози, яєчників і простати [61, 62], тож тому саме гонадоліберин може бути використаний для спрямованої доставки ліків до таких злоякісних

утворень. Так, у кон'югата, що складається з гонадоліберину, ПЕГ і камптотецину, виявлено високу протипухлинну активність на мишах. Ця конструкція є нетоксичною і відсутній її істотний фізіологічний вплив на репродуктивні функції випробовуваних тварин через підвищення концентрації гонадоліберину [61].

Великий інтерес становлять також *інсулінові рецептори*, виявлені практично у всіх тканинах організму [63]. Зокрема, чимало пухлинних клітин характеризуються високим ступенем експресії рецепторів до інсуліну [64–67].

Слід також зазначити, що у структурі кожного гормону можна виділити центри, відповідальні за взаємодію саме з клітинами-мішенями [68]. У зв'язку з цим можливе створення ліпосомального вектора, що базується на структурі тієї ділянки молекули інсуліну, яка відповідає виключно за взаємодію з рецептором [69–71].

#### **1.6.4.1.2. Онкофетальні білки**

Як молекулярний вектор для доставки препаратів у пухлинні клітини можуть бути використані також деякі онкофетальні білки, і зокрема  $\alpha$ -фетопротеїн (АФП). Перевага їх застосування полягає у відсутності імуногенних властивостей, а також у високих афінності до рецепторів і рівні експресії цих останніх на пухлинних клітинах [72, 73]. Також на сьогодні вже показано, що рецептори АФП експресуються на поверхнях переважної більшості таких клітин незалежно від типу пухлини, тоді як у нормальних клітинах організму їх нема або вони наявні у незначних кількостях [74]. Високою протипухлинною активністю характеризуються й кон'югати АФП із доксорубіцином, а їх цитотоксична активність щодо резистентних до антибіотика пухлинних клітин у багато разів перевищує цей показник для вільного доксорубіцину [74–76].

#### **1.6.4.1.3. Моноклональні антитіла та імуноліпосоми**

Найчастіше як вектори використовуються моноклональні антитіла (МКАТ) до різних рецепторів на поверхнях ракових клітин (*TRFR*, рецептори чинника зростання епітелію, *CD*-рецептори). Формування таких МКАТ є основою дії онковакцин. Крім того, іноді використовують радіомічені МКАТ, які зв'язуються з клітиною і викликають її загибель за рахунок наявності в їхніх структурах радіонуклідів. Також МКАТ часто кон'югуються з цитотоксичними антибіотиками та іншими біологічно активними речовинами завдяки різним лінкерам (авідин-біотин, ПЕГ тощо) [77].

Використання кон'югатів до рецепторів на основі МКАТ часто буває ефективнішим, ніж використання векторів як природних лігандів. Так, наприклад, *Tfr* характеризується обмеженою здатністю проникати через гематоенцефалітний бар'єр, а це не дає можливості використовувати його в терапії онкологічних захворювань мозку – тоді як антитіла до *TRFR* безперешкодно проникають до різних мозкових тканин [78].

Оригінальним напрямком у галузі створення систем цілеспрямованої доставки лікарських препаратів є використання *імуноліпосом*, які є ліпосомами з прикріпленими МКАТ [79], покликаними забезпечувати специфічне зв'язування ліпосом з антигенпозитивними клітинами – тоді як власне ліпосоми є носіями відповідного гідрофобного або ж гідрофільного хіміотерапевтичного препарату [80] й ефективніше порівняно зі звичайними ліпосомами (що підтверджують і тести *in vitro*, й *in vivo*) доправляють ліки до клітин-мішеней [81]. Разом з тим, зв'язування імуноліпосом із клітинами-мішенями *in vivo* виявилось складнішим (зокрема, вивчення імуноліпосом *in vivo* показало, що прикріплення до них антитіл посилює ступінь їх захоплення мононуклеарами ретикулоендотеліальної системи (РЕС), причому ефективність скріплення імуноліпосом із клітинами-мішенями залежить від щільності антитіл на імуноліпосомних поверхнях).

Захоплення імуноліпосом клітинами РЕС та ендотеліальний бар'єр, який відділяє судинне русло від пухлинної тканини, спонукали дослідників до створення нового типу цих ліпосом, а саме конструювання стерично стабілізованих імуноліпосом із подовженим періодом циркуляції в крові [82]. Вони зберігають можливість довготривалої циркуляції, проте їхня взаємодія з клітинами-мішенями пригнічується через блокаду з боку ПЕГ [83].

На сьогодні, зокрема, вже описано декілька потенційно перспективних для застосування в онкологічній практиці препаратів-імуноліпосом [45, 84–86].

#### 1.6.4.1.4. «Троянські» пептиди

До останнього часу використання поліпептидів і олігонуклеотидів було обмеженим у зв'язку з їх низькою проникністю через біомембрани та відносно швидкою деградацією всередині клітини. Саме тому відкриття пептидів, здатних проникати в клітину за відсутності мембранних білків і здійснювати внутрішньоклітинне транспортування зв'язаних із ними білкових фрагментів та олігонуклеотидів, стало новим етапом розвитку як біології, так і медицини. Такі пептиди дістали назву «*cell penetrating peptide*» – пептидів, які проникають у клітину (ППК) [87, 88]. Іноді їх ще

називають «*троянськими*» пептидами. ППК виділяють із білків різних організмів – від вірусів (зокрема *ВІЛ-1*, герпесу і грипу) до хребетних (це, наприклад, кайман). Деякі «троянські» пептиди (серед них, у тому числі, *TAT* і *VP22*) здатні проникати через внутрішньоклітинні мембрани та накопичуватися у клітинному ядрі. Відповідно, ці пептиди можуть забезпечувати транспортування фізіологічно активних ділянок макромолекул у цитоплазму і навіть до ядра клітини [89, 90].

### 1.6.5. Наночастинки у кардіології

Застосування нанорозмірних об'єктів розширює можливості впливу на субклітинні структури. Зокрема, у кардіології, як і при лікуванні раку, перспективним є застосування ліпосом, квантових міток, аквасом, дендримерів, наночастинок золота та низки інших металів, а також полімерних і магнітних наночастинок [10, 91, 92]. Говорячи ж загалом про основні напрями застосування нанотехнологій у медицині, можна виділити молекулярну діагностику ішемії, інфаркту, запалення, апаптозу тощо, причому основою такої молекулярної візуалізації є модифікація фізичних і хімічних властивостей наночастинок шляхом приєднання до їхніх поверхонь лігандів, які в подальшому взаємодіють із біологічною мішенню [10]. Слід також виокремити цільову доставку лікарських препаратів, яка дозволяє знижувати їхні дози, не знижуючи ефективність і запобігаючи розвиткові побічних реакцій. Не менш важливою є й інтервенційна коронарна реваскуляція з використанням антитромботичних нанопокриттів (наприклад, у випадку стентів). Крім того, серед нових напрямів треба відзначити тканинну інженерію, і зокрема при створенні штучних судин, клапанів і міокарда з використанням стовбурових клітин [93]. А також під час, наприклад, оперативних втручань на серці й судинах дуже важливим є використання кровозамінників на основі наноструктур, які дозволяють заміщувати функції крові у хворих [94]. У зв'язку з цим серед матеріалів, які вже були апробовані, слід передусім назвати полімери, і зокрема поліметилметакрилат, що використовується у т.ч. при пластиці грудної аорти [95].

Враховуючи ж той факт, що за будь-якого введення у живий організм стороннього матеріалу (як у випадку з металевим стентом тощо) постає питання його біосумісності, дуже цікавим видається підхід, який полягає в наданні, наприклад, поверхні стента такої біосумісної нановпорядкованої структури, в якій лікарська речовина могла би зберігатися, а в подальшому вивільнюватися й діяти на навколишні тканини, і зокрема на стінки судин та кров [91]. За цим напрямом вже

відомі спроби нанесення на стент поверхні з неіржавної сталі шляхом конденсації парів тонкого шару алюмінію та його подальшої анодизації й перетворення на оксид алюмінію із порами з розмірами 5–10 нм. Дослідження на тваринах механізму дії таких пористих стентів показали, що вони мають гарну біологічну сумісність і, отже, можуть застосовуватися як системи доставки лікарських засобів [96].

Відомі також роботи з нанесення на титанові стенти покриттів із функціоналізованих лізином розеткових нанотрубок із циліндричною шаруватою структурою з діаметром 3,5 нм [97]. І також як носії лікарських засобів (що, одночасно, запобігають рестенозу у стенті) застосовують ліпосоми, полімери та гелеві наночастинки.

### **1.6.6. Характерні ознаки терапії наночастинками при лікуванні раку**

Наночастинки, залежно від розмірів і поверхневих властивостей, можуть бути запрограмованими на тривалий або ж короткий час колообігу в крові, а також спрямованими на певні типи клітин у тих чи інших органах (як, наприклад, гепатоцити – на клітини Купфера у печінці) [98]. Водночас, незважаючи на те, що й такі, зокрема, типи лікувальних засобів від раку, як молекулярні кон'югати (кон'югати антитіл) також можуть відповідати відображеним нижче у цьому розділі мінімальним вимогам, саме спрямовані наночастинки додатково володіють щонайменше п'ятьма нижченаведеними властивостями, що відрізняють їх від інших протиракових ліків [99].

*По-перше*, наночастинки спроможні переносити великі навантаження у вигляді лікарських засобів, захищаючи ці останні від розпаду. Так, наприклад, наночастинка з розміром 70 нм містить близько 2 тис. маленьких інтерферувальних молекул рибонуклеїнової кислоти, тоді як кон'югати антитіл – менше десяти [100]. Подібні навантаження можуть переносити й інші типи речовин, і зокрема синтетичні чи пептидні речовини. І понад те, всі навантаження наночастинок сконцентровані у них самих, а різновиди цих навантажень та їхня кількість не впливають на фармакокінетичні властивості та біорозподіл таких частинок. На відміну ж від цих останніх, у молекулярних кон'югатах різновид і кількість терапевтичної речовини, прикріпленої до такого направленої ліганду, як антитіло, суттєво змінює властивості такого кон'югата в цілому.

*По-друге*, наночастинки мають достатньо великі розміри для того, щоб у них можна було вміщувати численні спрямовані ліганди, а це, у свою чергу, сприяє їх багатовалентним зв'язкам із рецепторами на поверхнях клітин-мішеней. При цьому зв'язок наночастинок із такими

клітинами забезпечується завдяки схожості спрямованих агентів та їхній щільності (така багатовалентність, крім того, може призвести до появи ще ефективніших властивостей за умови використання низькоафінних лігандів) [101]. Таким чином, склад використовуваних як спрямовані агенти молекул суттєво розширюється, оскільки чимало *низькоафінних лігандів*, які не можуть застосовуватися в якості молекулярних кон'югатів, відтепер прикріплюються до наночастинок, забезпечуючи вищу спорідненість саме завдяки багатовалентному зв'язку з рецепторами на поверхнях клітин.

*По-третє*, наночастинкам притаманні достатньо великі розміри, завдяки яким вони здатні переносити найрізноманітніші типи молекул. При цьому одночасно ті самі частинки можуть піддаватися численним регульованим терапевтичним маніпуляціям, а за використання чималोї кількості поєднаних всередині такої частинки різновидів лікувальних речовин її фармакокінетичні властивості не змінюються залежно від кількості лікувальної речовини.

*По-четверте*, динаміка вивільнення молекул такої речовини з наночастинок може бути врегульована у той спосіб, щоб відповідати механізму тієї чи іншої медикаментозної дії: наприклад, такі інгібітори топоізомерази типу I, як ліки для хіміотерапії на основі камптотечину, є реверсивними зв'язковими ферменту, а, отже, механізм дії цих ліків на ферменти вищезгаданої топоізомерази передбачає підвищення їх ефективності за тривалого медикаментозного впливу, забезпечуючи повільний вихід речовини з частинки.

*По-п'яте*, наночастинки володіють спроможністю долати механізми стійкості до ліків (прикладом прояву такого механізму є, зокрема, такий поверхнево-клітинний протеїн, як Р-глікопротеїн), оскільки ці частинки проникають у клітини шляхом ендоцитозу.

Узагальнюючи, слід зазначити, що регульоване поєднання усіх вищенаведених властивостей завдяки правильному *конструюванню* наночастинок може звести до мінімуму побічні ефекти протиракових ліків – з одночасним суттєвим посиленням їх ефективності [99].

### 1.6.7. Наночастинки без спрямованих ліганд

Триваліший, порівняно з вільними лікувальними речовинами, період напіввиведення наночастинок допомагає поліпшити ступінь їх проникнення до пухлини, причому, зокрема, полімерні міцели (з розмірами менше 100 нм) легше нею засвоюються, аніж великі ліпосоми, а рух частинки всередині пухлини також залежить від її розміру. Так, вважається, що наночастинки з розмірами менше 100 нанометрів, але

більше 10 нм (аби уникнути їх виведення з нирок) є оптимальними для проникнення у пухлину. Таким чином, ретельний контроль за розмірами частинок важливий для фармакокінетики, біорозподілу, проникнення до пухлини і накопичення у ній [99].

Деякі з тих наночастинок, що проходять зараз клінічні випробування, також володіють механізмом, який дозволяє їм контролювати вивільнення лікувальної речовини. Відповідні методики базуються на розірванні хімічного зв'язку між частинкою і тією чи іншою профільною речовиною шляхом гідролізу за участю ферментів, що знаходяться всередині й довкола клітин (наприклад, лізоциму чи естерази), або ж тих, які розташовуються винятково всередині клітин: це, зокрема, катепсин В [99].

### **1.6.8. Противірусні та бактерицидні речовини**

Наночастинки таких металів, як срібло, цинк, мідь і діоксид кремнію, мають широкий спектр протимікробної та противірусної дій. Їх застосовують для створення препаратів на основі наночастинок для ефективного загоєння ран, аерозолів для очищення повітря, знезаражувальних вугільних фільтрів із наночастинками, тканин для одягу з напиленнями із цих частинок тощо [102, 103].

При цьому, як відомо, передусім наносрібло характеризується непересічною антибактеріальною та противірусною діями і (на відміну від антибіотиків, які, діючи на шкідливі мікроби чи віруси, впливають і на клітину) впливає вибірково й лише на віруси, не пошкоджуючи здорові клітини. Механізм дії наносрібла на мікробні клітини полягає в тому, що іони срібла сорбуються клітинною оболонкою, яка виконує захисну функцію. При цьому, завдяки їхній розмірності, наночастинки Ag використовують всюди, де потрібні чистота й гігієна, – починаючи з косметичних та індивідуальних гігієнічних засобів і до побутових технічних приладів та одягу [103–107].

У свою чергу, наночастинки ZnO не лише мають високі антибактеріальні властивості, а й здатні поглинати широкий спектр електромагнітного випромінювання (ультрафіолетового, мікрохвильового, інфрачервоного та радіочастотного). Ця їхня властивість, зокрема, може надати склу, пластмасам, синтетичним волокнам та фарбі нової функції із захисту від ультрафіолетового випромінювання у сонцезахисних окулярах, кремах, мазях тощо. І також матеріал на основі наночастинок ZnO можна використовувати в інфрачервоних датчиках [105].

Встановлено, крім того, що наночастинки міді й оксиду Си наділені вираженою антибактеріальною дією щодо грампозитивних та

грамнегативних бактерій і в 7 разів менш токсичні за солі цього самого металу. Виявляють ці наночастинки і кардіопротекторну дію, підвищуючи на 40% рівень виживаності при інфаркті міокарда. І також наномід регулює рівень холестерину, глюкози і сечової кислоти в крові, підтримує баланс мікрофлори кишечника (гальмуючи зростання дріжджових мікроорганізмів), бере участь у формуванні структур білків сполучних тканин, впливає на функції печінки, селезінки і лімфатичної системи, регулює жировий обмін, підвищує стійкість організму до гіпоксії, стимулює його імунітет тощо [104, 108].

Також важливу роль відіграє діоксид кремнію. При нанесенні наночастинок  $\text{SiO}_2$  на будь-який матеріал вони приєднуються до його молекул та дозволяють поверхні відторгати воду і бруд. Такі наночастинки наносять на дерево, скло, плитку, камінь, тканину та ін., не даючи брудові проникнути через поверхню всередину та уможливлючи воді легке стікання з поверхні й забирання бруду з собою [102, 109].

### **1.6.9. Композиційні матеріали на основі ГАП + антибіотик + наносрібло**

Розробка композиційних матеріалів для спрямованої доставки ліків вимагає вивчення кінетики їх розчинення у середовищах живого організму. І важливо також знати, як впливає додаток срібла на розчинення ГАП та в якій кількості і як довго  $\text{Ag}$  виділяється з нього.

Зокрема, у проведених в Інституті проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України (ІПМ НАНУ) дослідженнях це розчинення оцінювали за ступенем виділення кальцію у буферні розчини, причому щодня здійснювали заміну 40 об.% буферного розчину, аби щоразу моделювати метаболізм організму.

#### **1.6.9.1. Адсорбційна активність гранул кісткового кальційфосфатного імплантату щодо антибіотиків та срібла**

Не менш цікавими є й праці, пов'язані з порівнянням впливу відомих ліків із дією срібла. Так, наприклад, у низці наших робіт було досліджено як дію ліків і срібла окремо, так і їхній одночасний спільний вплив у випадку, коли в якості носіїв використовували кальційфосфатні та магнітні матеріали на основі оксидів заліза.

Зокрема, якщо говорити про носії для локальної доставки ліків у кістки, то їх можна умовно розподілити на *нерозчинні* й *розчинні* у середовищах організму. Найвідоміший представник першої категорії – навантажений гентаміцином поліметилметакрилат, який виробляється



промислово [110, 111]. В якості ж розчинних носіїв ліків застосовують колаген, склокерамічні матеріали, ГАП, полімери та співполімери на основі полілактиду, полігліколіду, полідіоксанону тощо [112–114].

Головною перевагою розчинних в організмі носіїв порівняно з нерозчинними є відсутність потреби видалення їх хірургічним шляхом після того, як лікарський препарат виділився з них повністю (зазвичай – через чотири тижні). ГАП є найперспективнішим у цьому сенсі матеріалом, і не лише завдяки своїй винятковій біосумісності з кістковою тканиною, а й тому, що продуктами його розчинення є іони кальцію та фосфору, які організм здатен поступово перетворювати на кісткову тканину.

Для навантаження ліками матеріалів-заповнювачів кісткових порожнин переважно застосовують антибіотики широкого спектру протимікробної дії – цефазолін, гентаміцин, даптоміцин тощо [115, 116], оскільки, зокрема, остеомієліт часто викликають піогенні (тобто ті, що призводять до утворення гною) бактерії. Такі матеріали вже досліджують на лабораторних тваринах, причому з позитивними результатами, які на сьогодні вселяють оптимізм [117, 118]. Разом з тим, дефекти у кістках можуть бути спричинені, наприклад, і такою важкою інфекцією, як туберкульоз (це, як відомо, взагалі одне з найзагрозливіших інфекційних захворювань у масштабах планети, чию розповсюдженість пов'язують зокрема й із пандемією СНІДу [119], однак присвячених створенню носіїв протитуберкульозних ліків для локальної терапії кісток робіт нині не надто багато [120]).

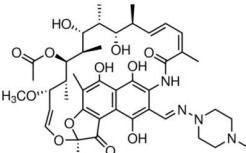
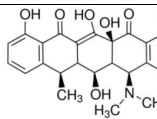
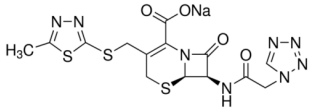
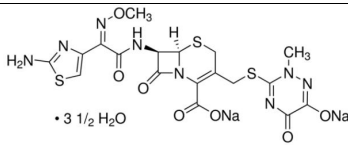
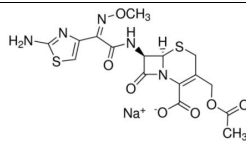
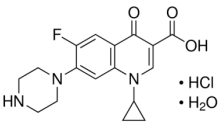
Отже, проблем і завдань чимало, і одним із головних серед них для дослідників є розробка композиційних матеріалів із контрольованим виділенням лікарських речовин, коли лікар знає, скільки ліків виділиться з композиційного матеріалу в організмі й протягом якого часу це відбуватиметься. А ще до таких магістральних проблем належить звикання мікроорганізмів до дії антибіотиків, і одним зі шляхів її подолання може бути введення у композиційний матеріал додаткового компонента з антимікробною дією (наприклад, наносрібла, наноміди тощо). Нижче у зв'язку з цим буде розглянуто і порівняно композиції типів ГАП/срібло, ГАП/антибіотик і ГАП/срібло/антибіотик, які саме завдяки таким поєднанням уможливають створення матеріалу з широким спектром антимікробної дії і подовженою терапевтичною активністю.

Зокрема, в ІПМ НАНУ срібло у ГАП вводили шляхом додавання нітрату Аg до реакційної суміші під час синтезу ГАП- $\beta$ -трикальційфосфат (ТКФ), причому авторами відповідних досліджень було встановлено, що, наприклад, додавання 0,03–0,07 мас.% срібла зменшує питому поверхню

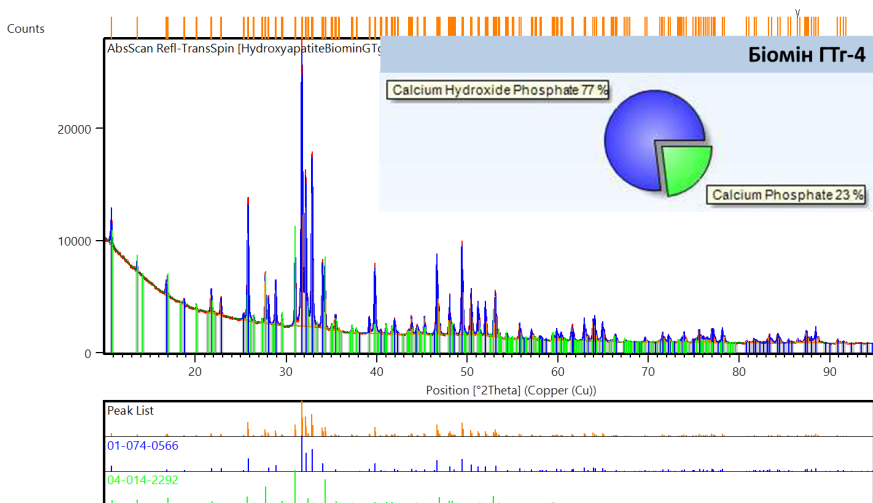
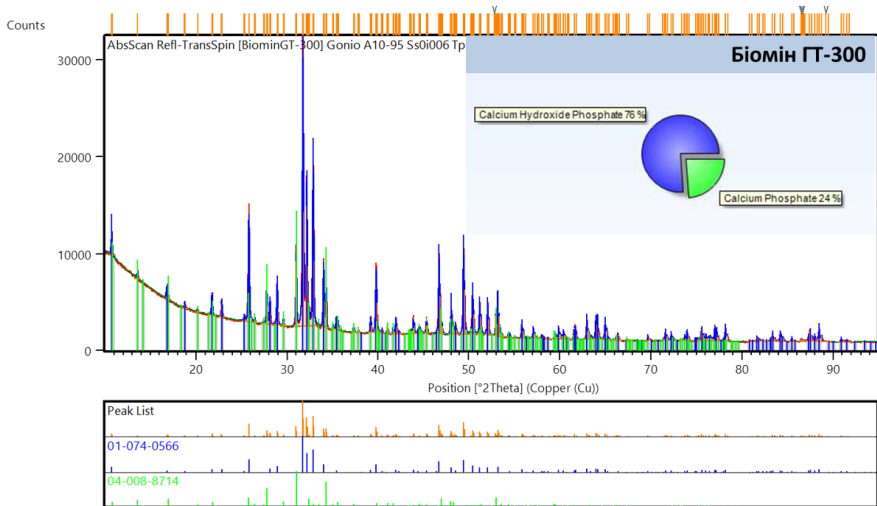
ГАП-зразків (частинок) гранул кісткового імплантату «Біомін» з 52 до 40 м<sup>2</sup>/г та збільшує розмір відповідної області когерентного розширення з 51 до 54 нм [121–125].

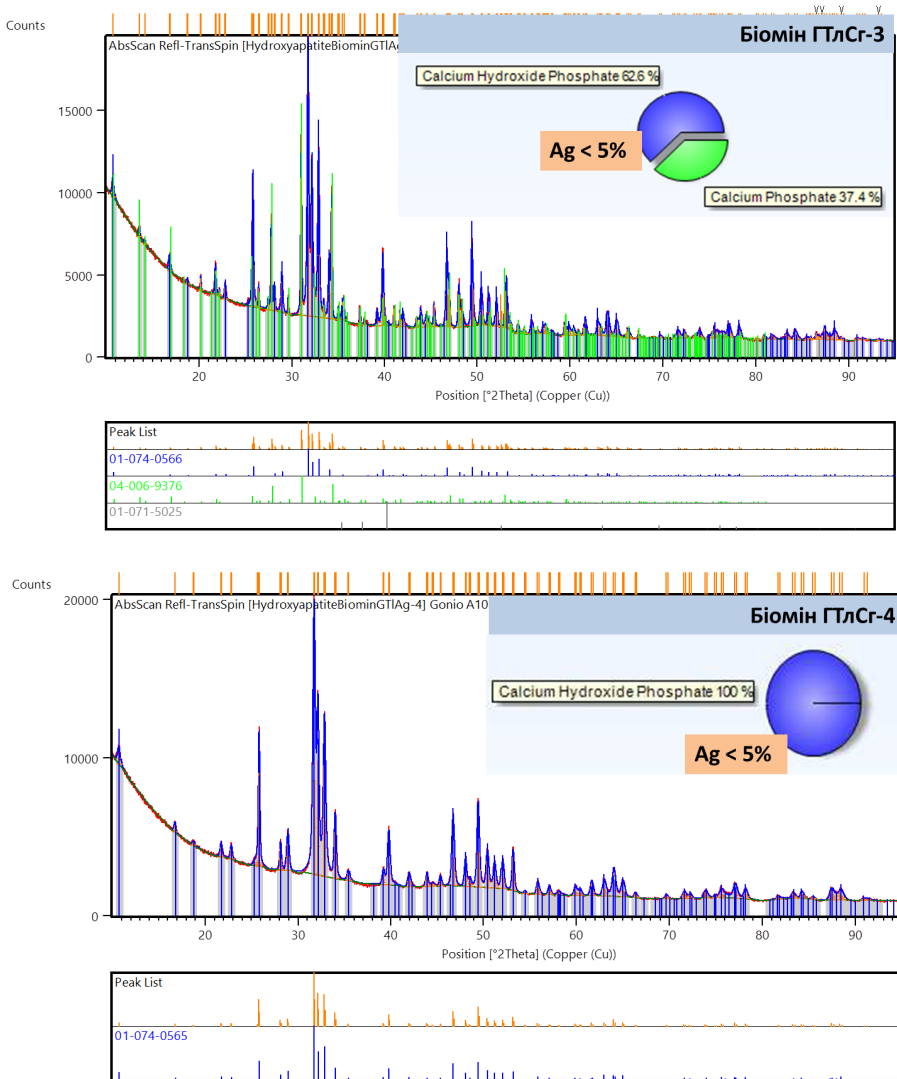
Крім того, з метою дослідження адсорбційної активності гранул синтетичного кісткового імплантату разом із доданим сріблом в ІПМ застосовували шість антибіотиків від вітчизняних виробників із різних фармацевтичних груп (їхні хімічні та структурні формули наведено у табл. 1.1) [126]. Активність цих гранул щодо антибіотиків і срібла визначали за різницею концентрацій розчинів кожного конкретного антибіотика та Ag до та після їх взаємодії з кістковим імплантатом.

**Таблиця 1.1.** Хімічні та структурні формули антибіотиків

Антибіотик	Фармакологічна група	Хімічна формула	Структурна формула
Рифампіцин	Похідні рифаміцину	$C_{43}H_{58}N_4O_{12}$	
Доксициклін (доксицикліну гідрохлорид)	Тетрацикліни	$C_{22}H_{25}ClN_2O_8$	
Цефазолін (цефазоліну натрієва сіль)	Цефалоспорицини	$C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$	
Цефтріаксон (цефтріаксону натрієва сіль)	Цефалоспорицини	$C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3$	
Цефотаксим (цефотаксиму натрієва сіль)	Цефалоспорицини	$C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$	
Ципрофлоксацин (ципрофлоксацину гідрохлорид)	Флуорохінолони	$C_{17}H_{21}ClFN_3O_4$	

У табл. 1.1 і на рис. 1.7 наведено рентгенограми, фазовий склад та кристалічні структури гранул кісткових імплантатів різних марок, досліджених в ПМ на предмет їх адсорбційної активності стосовно вищенаведених антибіотиків.





**Рис. 1.7.** Рентгенограми та фазовий склад гранул кісткового імплантату марок «Біомін ГТ-300», «Біомін ГТГ-4», «Біомін ГТЛСг-3» та «Біомін ГТЛСг-4»

З рис. 1.7 видно, що головною фазою у всіх випадках є ГАП (синій колір ліній). Лінії фосфату кальцію позначені зеленим кольором, срібла –

помаранчевим, а відсотковий вміст  $\beta$ -трикальційфосфату в досліджених у ПІМ зразках чітко видно за співвідношенням *синього* і *зеленого* кольорів у колі.

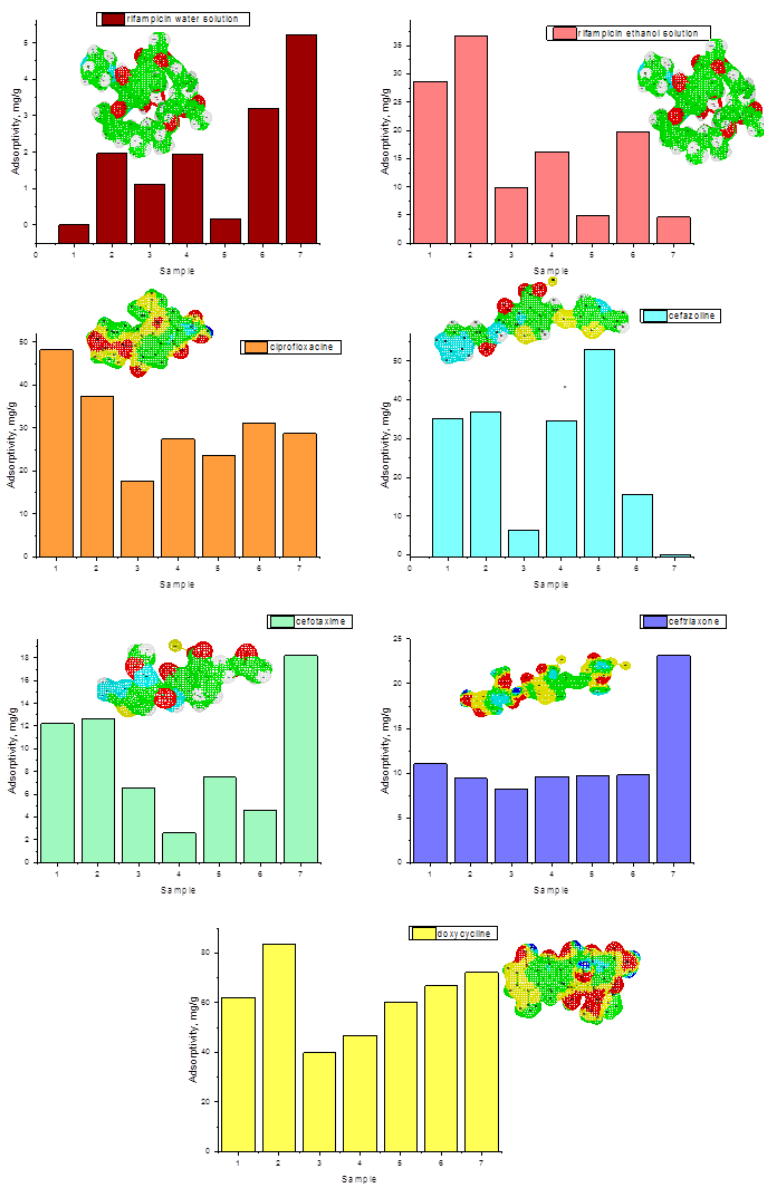
Всі досліджені в ПІМ зразки (відповідно до бази даних «ICDD-PDF4 PLUS–2012») склалися з двохфазних фосфатів кальцію ГАП– $\beta$ -ТКФ у різних співвідношеннях, а до складу зразків «Біомін ГТлСг-3» та «Біомін ГТлСг-4» входило ще й срібло. При цьому ГАП мав гексагональну будову кристалу, а  $\beta$ -ТКФ – ромбоedrичну [122, 127, 129] (рис. 1.7; табл. 1.2).

**Таблиця 1.2.** Фазовий склад та кристалічні структури гранул кісткового імплантату марок «Біомін ГТ-300», «Біомін ГТг-4», «Біомін ГТлСг-3» та «Біомін ГТлСг-4»

Назва фази	Хімічна формула	Просторова група	Будова кристалу
Гідроксиапатит	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	<i>P63/m</i>	Гексагональна
Фосфат кальцію	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	<i>R3c</i>	Ромбоedrична
Срібло	Ag	<i>P63/mmc</i>	Гексагональна

У свою чергу, на рис. 1.8 наведено гістограми визначеної у рамках проведених в ПІМ робіт адсорбційної активності гранул синтетичного кісткового імплантату щодо всіх досліджених антибіотиків. Як видно з цих даних, адсорбційна активність для всіх них неоднозначно залежить від типу адсорбату та його хімічного складу і структури: так, наприклад, водний розчин рифампіцину (чию структурну формулу див. у табл. 1.1) найкраще адсорбується за наявності ГАП, тоді як у присутності фосфату кальцію він адсорбується менше.

Також у рамках проведених в ПІМ досліджень було встановлено, що адсорбційні властивості кісткового імплантату стосовно спиртового розчину рифампіцину змінюються: так, кількість адсорбованого з розчину етанолу рифампіцину збільшується більш як на порядок у тих зразках, до складу яких входить фосфат кальцію, тоді як на чистому ГАП, і особливо у присутності добавок срібла, адсорбційна здатність хоч і вища, ніж у випадку водного розчину, але менша за адсорбційну здатність зразків із фосфатом кальцію. Для усіх же інших антибіотиків їхня адсорбційна активність також сильно залежить від складу адсорбенту (рис. 1.8).



**Рис. 1.8.** Гістограма адсорбційної активності гранул синтетичного кісткового імплантату щодо антибіотиків

У цілому результати досліджень в ПІМ адсорбційної активності гранул кісткового імплантату щодо всіх досліджених антибіотиків вказують на той факт, що найкраще адсорбується доксициклін (його максимальна величина адсорбції складає 83,41 мг/г), а загалом величина адсорбції зростає у ряді рифампіцин (водний розчин) < цефтріаксон і цефотаксим < рифампіцин (спиртовий розчин) < цефазолін < ципрофлоксацин < доксициклін.

Також було визначено, що низька адсорбція рифампіцину з водних розчинів порівняно зі спиртовими пояснюється чотириразовою різницею між їхніми концентраціями, пов'язаною з тим, що розчинність рифампіцину в спирті приблизно вчетверо вища, ніж у воді. У цілому ж невисока адсорбційна активність щодо рифампіцину спричинена властивостями електростатичної поверхні молекули цього останнього: при розчиненні його молекула іонізується й утворюються негативно заряджені ділянки поверхні, які не виявляють високої спорідненості з поверхнею імплантату.

Крім того, було встановлено, що високу адсорбційну активність стосовно доксицикліну і ципрофлоксацину (порівняно з, відповідно, низькою – щодо цефазоліну, цефтріаксону та цефотаксиму) можна пояснити з погляду електростатичної взаємодії поверхні кісткового імплантату з розчинами антибіотиків: оскільки доксициклін і ципрофлоксацин є гідрохлоридами, тоді як цефазолін, цефтріаксон та цефотаксим – натрієвими солями, то, вочевидь, краще адсорбуються антибіотики катіонного типу, які складаються з визначального для їхніх властивостей масивного катіону та аніону, у складі якого є один або декілька хімічних елементів.

А з іншого боку, визначено, що антибіотики аніонного типу (цефазолін, цефтріаксон та цефотаксим) адсорбуються значно гірше, і це засвідчує: поверхня кісткового імплантату має зумовлений присутністю груп  $\text{OH}$  та  $\text{PO}_4^-$  переважно негативний заряд.

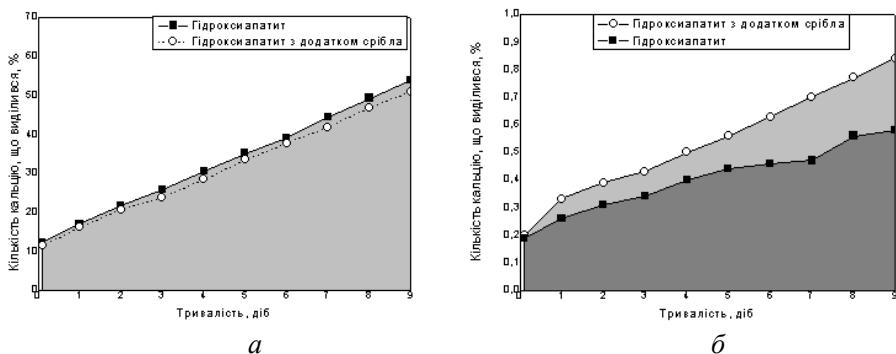
Таким чином, проведені в ПІМ дослідження показали, що для одержання насиченого антибіотиком кісткового імплантату доцільно використовувати антибіотики у вигляді катіонних солей.

### **1.6.9.2. Кінетика виділення кальцію та срібла з ГАП**

Розробка композиційних матеріалів для спрямованої доставки ліків вимагає вивчення кінетики їх розчинення у середовищах живого організму. Як приклад дослідження кінетики з вищезгаданого списку антибіотиків нижче буде наведено тільки одну систему, а саме ГАП + срібло і ГАП + срібло + рифампіцин. При цьому, зокрема, під час

проведення досліджень в ППМ важливо було знати, як впливає додавання срібла на розчинення ГАП та в якій кількості і як довго Ag виділяється з нього (в ППМ це розчинення оцінювалося за ступенем виділення кальцію у буферні розчини [130], причому щодня здійснювали заміну 40 об.% буферного розчину і таким чином щоразу моделювали метаболізм організму).

У зв'язку з цим на рис. 1.9 наведено дані щодо кінетики виділення кальцію без і в присутності наносрібла. Як бачимо, процес виділення кальцію починається відразу ж після контакту з буферним розчином (за  $pH = 4$ ), а в цілому виокремлення його іонів з обох зразків ГАП є доволі стабільним процесом: зокрема, під час досліджень в ППМ вміст кальцію у буферному розчині (БР), незважаючи на щоденну заміну частини БР, залишався приблизно на одному й тому самому рівні протягом 9 днів – і це означає, що як тільки таку частину відбирають і доливають свіжу порцію, баланс кальцію відновлюється (й імовірно, що кальцій виділяється аж до насичення БР).



**Рис. 1.9.** Кількість виділеного кальцію (у % від його вмісту в наважці) за  $pH = 4$  (а) та  $pH = 7$  (б) із порошків ГАП (■) та ГАП + Ag (○)

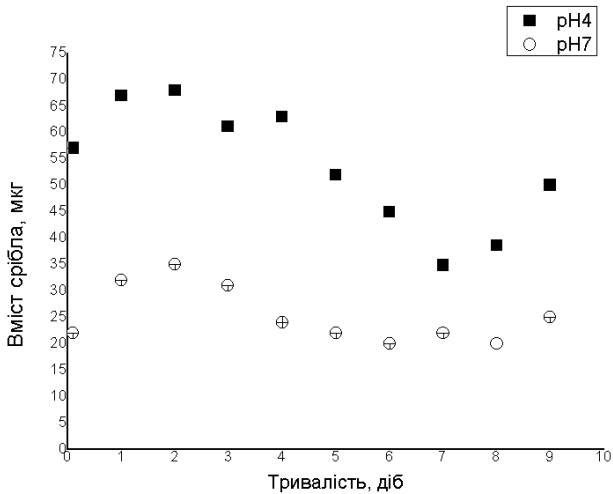
У свою чергу, виділення кальцію з обох зразків ГАП за  $pH = 7$ , як було встановлено під час досліджень в ППМ, проходить менш інтенсивно, ніж за  $pH = 4$ : кількість кальцію у першому випадку виявилася на два порядки меншою, ніж у другому (див. рис. 1.9). І також обидва зразки ГАП за  $pH = 7$  виявили подібний характер розчинення, а саме наявність максимальних величин через добу після початку експерименту та їх подальше зниження до достатньо стабільного рівня. При цьому, незважаючи на щоденний відбір частини БР та її заміну на свіжу, вміст кальцію у розчині за такого  $pH$  залишався доволі стабільним із 3-го по 9-ий день експерименту, середній же його вміст у БР щодня був на рівні



0,25 ± 0,07 мг для ГАП та 0,37 ± 0,06 мг для ГАП + Ag. За таких умов експерименту в ПІМ, відповідно, було встановлено, що ГАП + Ag розчиняється трохи краще, ніж ГАП.

Отже, виділення кальцію відбувається інтенсивніше за рН = 4, ніж за рН = 7, і цей результат закономірний, адже відомо, що ГАП добре розчиняється у кислих середовищах. Коли ж рН = 7, то ГАП + Ag розчиняється дещо краще, ніж ГАП (разом з тим, під час дослідження в ПІМ було встановлено, що обидва зазначені зразки виявляють подібний характер розчинення, а саме його максимум після доби взаємодії).

Аби ж, у свою чергу, дослідити бактерицидний ефект срібла, також слід знати швидкість його виділення в буферні розчини. Зокрема, під час досліджень в ПІМ було встановлено, що процес виділення срібла з ГАП + Ag відбувається активніше за рН = 4, ніж за рН = 7 (рис. 1.10).



**Рис. 1.10.** Кінетика виділення срібла з ГАП + Ag у БР за рН = 4 і 7

І також слід зазначити, що в ПІМ виділення срібла починалося в перші дві години експерименту (це – з великою імовірністю – означає, що відповідний зразок виявлятиме антимікробну дію одразу після імплантації), найвищий вміст Ag в обох БР фіксували через 2 години після початку експерименту, а потім рівень срібла знижувався. При цьому середній вміст Ag у БР за рН = 4 щодня становив 50 мкг, а за рН = 7 складав 26 мкг (це доводить, що срібло виділяється вдвічі активніше за першого з наведених значення рН).

Отже, виділення срібла (як і, про що йшлося вище, кальцію) проходить активніше у БР із рН = 4, хоча інтенсивність виділення Ag

залежить від рН розчину менше, ніж у випадку Са. І справді, завдяки запропонованому в ІІМ методу введення срібла при синтезі ГАП, Ag входить до структури гідроксиапатиту і рівномірно розподіляється в його об'ємі, а, в свою чергу, виділення срібла залежить від виділення кальцію (тобто під час досліджень в ІІМ встановлено, що у середовищі, в якому активно виділяється Са, виділятиметься й Ag).

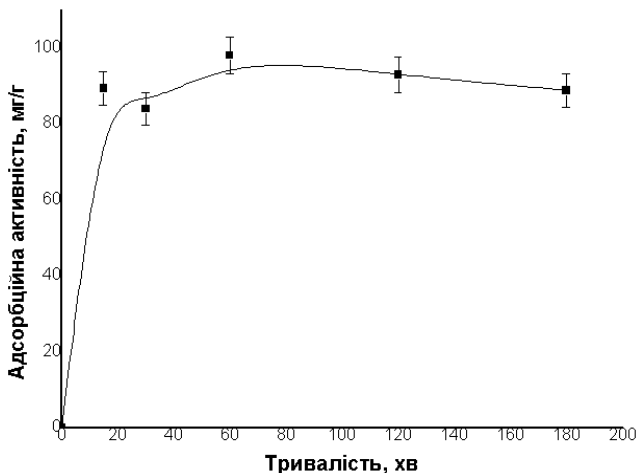
А, крім того, у контексті проведених в ІІМ досліджень слід відзначити важливий момент: срібло виділяється вже на початку експерименту в перші дві години (а, отже, виявлятиме антимікробну дію також і у перші – найважливіші – години після відповідної медичної операції). Встановлено, що кількість виділеного Ag є найбільшою протягом 2 діб, а потім знижується за обох вищенаведених значень рН: так, згідно з результатами експерименту, за масового співвідношення ГАП/БР на рівні 1/100 щоденний вміст срібла становить як мінімум 0,7 мг/л і максимум 1,36 мг/л за рН = 4 та, відповідно, 0,4 та 0,7 мг/л за рН = 7 (причому, як відомо [18, 36], мінімальна бактерицидна концентрація срібла становить 0,1 мг/л, а його цитотоксична концентрація – 1,6 мг/л). Таким чином, в ІІМ було визначено, що за обох згаданих вище рівнів рН Ag виділяється у достатній для виявлення бактерицидного ефекту кількості, але водночас – і це найважливіше – за таких умов срібла недостатньо для виявлення цитотоксичного ефекту.

### 1.6.9.3. Композиційні матеріали ГАП/рифампіцин та ГАП/срібло/рифампіцин

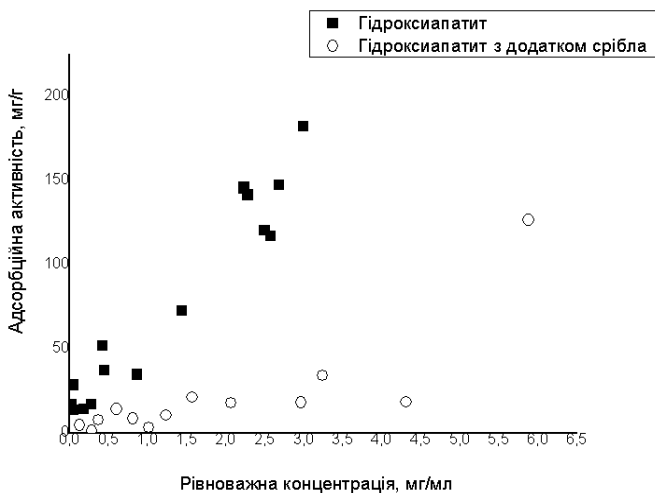
Введення рифампіцину до зразків ГАП під час досліджень в ІІМ проводили методом адсорбції з розчинів, причому було встановлено, що саме дослідження кінетики адсорбції дає змогу визначити необхідну для досягнення й підтримання *адсорбційної рівноваги* у системі в цілому тривалість взаємодії адсорбату й адсорбенту: така рівновага виникає у системі ГАП↔спиртовий розчин рифампіцину досить швидко – протягом 15 хв ( рис. 1.11) [121]. В усіх же подальших дослідженнях тривалість адсорбційної взаємодії ГАП із розчином вищезгаданого антибіотика становила 60 хвилин, а цього теж достатньо для утримання системної адсорбційної рівноваги.

Якщо ж говорити про *адсорбційну активність*, то під час досліджень в ІІМ було встановлено, що у ГАП стосовно рифампіцину (рис. 1.12) вона є досить високою порівняно з ГАП + Ag і сягає 170 мг/г. Так, початкова ділянка кривої на рис. 1.12 свідчить про спорідненість між рифампіцином і ГАП, тоді як введення срібла в ГАП суттєво знижує його адсорбційну активність стосовно рифампіцину. Коли ж концентрація розчину

рифампіцину близька до насичення, така активність у ГАП (імовірно, внаслідок багаточислової адсорбції), навпаки, зростає. І, в будь-якому разі, адсорбція рифампіцину з боку ГАП + Ag теж відбувається, а, отже, створення композиції ГАП/срібло/антибіотик цілком можливе.

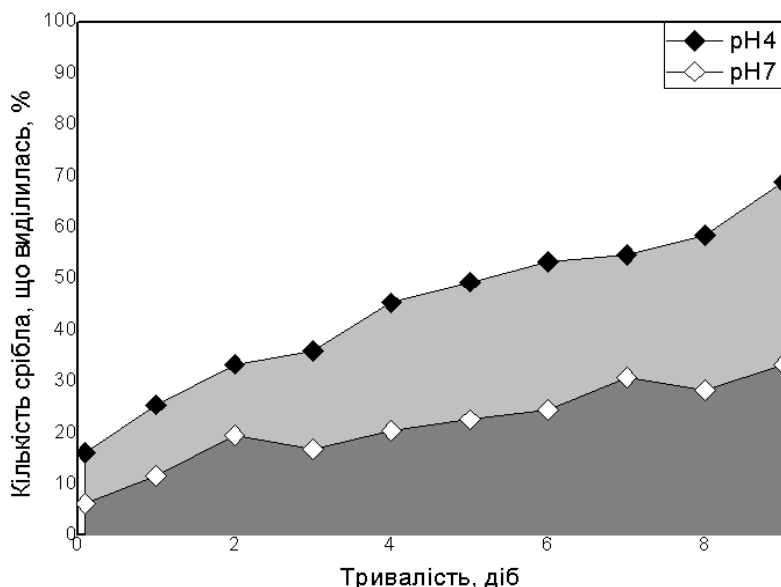


**Рис. 1.11.** Кінетика адсорбції рифампіцину гідроксиапатитом у спиртових розчинах



**Рис. 1.12.** Адсорбційна активність ГАП (■) і ГАП + Ag (○) стосовно рифампіцину

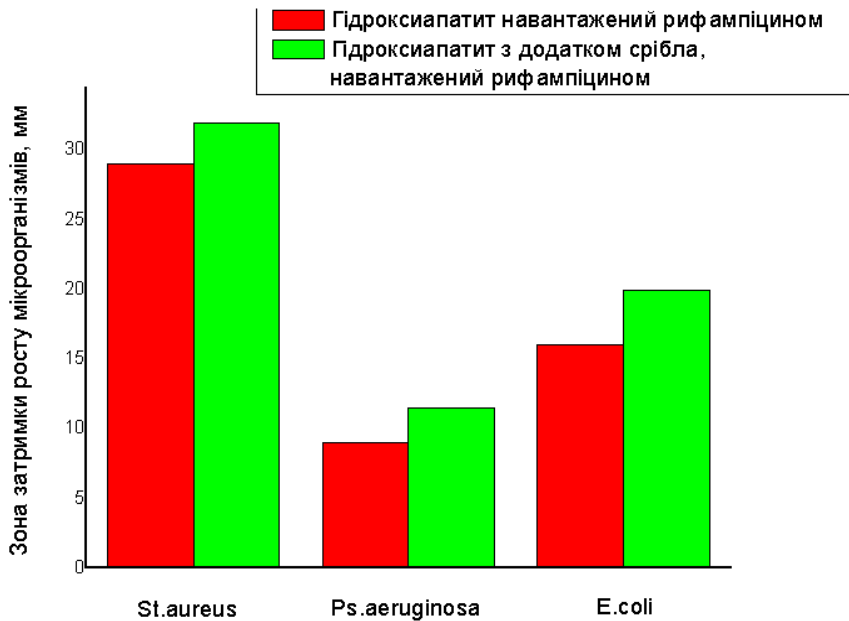
А, в свою чергу, на рис. 1.13 наведено результати проведених в ІПМ досліджень кінетики виділення Ag (у перерахунку на відсотки в співвідношенні до кількості срібла у ГАП).



**Рис. 1.13.** Кінетика виділення срібла з порошку ГАП+Ag (у відсотках відносно до вмісту срібла в ГАП) за рН = 4 (■) та рН = 7 (○)

У такий спосіб в ІПМ було обчислено, що за 9 днів виділяється близько 33 мас.% срібла за рН = 7 і приблизно 70 мас.% – за рН = 4. На основі цих розрахунків можна припустити, що за рН = 4 срібло виділяється повністю за 15 діб і за рН = 7 – за 33 доби, а, отже, порошок ГАП + Ag виявляє антимікробну дію протягом 15-ти (за рН = 4) чи більше (коли рН = 7) діб після хірургічного втручання. Й імовірно також, що введення незначної кількості срібла пролонгує антимікробні властивості ГАП.

Проведені ж в ІПМ дослідження антимікробної активності навантажених рифампіцином зразків ГАП та ГАП + Ag *методом агарових пластин* показали [122], що вже через добу інкубації ГАП + Ag виявляє більшу антимікробну активність, ніж ГАП, стосовно всіх досліджуваних культур, причому вміст рифампіцину в зразку ГАП + Ag складає 112,4 мг/г, а в зразку ГАП – 188,2 мг/г і, отже, за меншого вмісту антибіотика зразок ГАП + Ag виявляє більший антимікробний ефект (рис. 1.14).



**Рис. 1.14.** Антимікробна активність навантажених рифампіцином ГАП та ГАП + Ag стосовно стандартних штамів культур *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Escherichia coli*

В цілому ж, як бачимо з результатів проведених в ПІМ досліджень, введення срібла у ГАП знижує його адсорбційну активність стосовно рифампіцину, адсорбційне закріплення якого на поверхні ГАП та ГАП + Ag може відбуватися двома шляхами: *електростатичною взаємодією* фенольних груп рифампіцину з іонами кальцію ГАП та/або *завдяки утворенню слабких водневих зв'язків* між амідними групами рифампіцину та гідроксильними групами ГАП.

Якщо ж говорити про антимікробну активність, то за меншого, ніж у зразку ГАП, вмісту рифампіцину ГАП + Ag виявляє більшу антимікробну активність стосовно стандартних штамів *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Escherichia coli*, а, отже, створення композицій ГАП/срібло/рифампіцин є не лише цілком можливим, а й перспективним як засіб упередження розвитку запалень і безпосередньо під час хірургічних операцій, і після них.

#### 1.6.9.4. Адсорбційна активність композиційних магнітних порошків на основі оксидів заліза стосовно антибіотиків та наносрібла

Одним із напрямків розвитку нанотехнологій у фармакології є використання наночастинок магнітних матеріалів для створення фармацевтичних препаратів із магнітокерованими властивостями з метою діагностики та лікування широкого спектру різноманітних захворювань [131–132]. При цьому основною перевагою тут є можливість безконтактного керування, завдяки застосуванню зовнішнього магнітного поля, процесами переміщення таких наночастинок в організмі. На сьогодні найрозповсюдженішими у медицині є такі наночастинки на основі оксидів заліза, як магнетит, магеміт тощо.

Так, введення до складу магнетиту катіонів інших металів призводить до утворення частинок із новими властивостями. Зокрема, у складі магнітокерованих лікарських засобів можливе використання феритів різного складу, а також їхніх сумішей і, відповідно, властивості цих засобів будуть безпосередньо пов'язані з магнітними параметрами, розмірами та структурою наночастинок феритів. При цьому під час створення магнітокерованих фармацевтичних препаратів для внутрішнього застосування важливо спрогнозувати поведінку магнітних наночастинок в умовах агресивного кислотного середовища шлунково-кишкового тракту [133, 134].

Говорячи ж про галузі застосування магнітних наночастинок у медицині, слід окремо виділити *адресну доставку ліків*, до основних переваг якої, зокрема, належить можливість суттєвого зменшення токсичної дії ліків на органи й системи організму, а також спрямовувати і утримувати в певному місці наночастинки з ліками завдяки магнітному полю та візуалізувати їх методами магнітно-резонансної томографії. При цьому важливою властивістю магнітних наночастинок є можливість здійснювати їх локальне нагрівання високочастотним магнітним полем з метою ініціювання механізму десорбції/декапсулювання ліків чи створення передумов для проведення магнітної гіпертермії. І також у зв'язку з цим слід зазначити, що при адресній доставці ліків як магнітні носії зазвичай використовують суперпарамагнітні частинки, оскільки по завершенні впливу магнітного поля вони не агломеруються (однак відбувається й зниження потужності дії такого поля, а це, в свою чергу, ускладнює перенесення і утримання частинок у безпосередній близькості від цільового об'єкта лікувального впливу).

Вкриті біосумісними молекулами магнітні наночастинки (декстран, полівініловий спирт, фосфоліпіди), до яких «пришиті» антитіла до

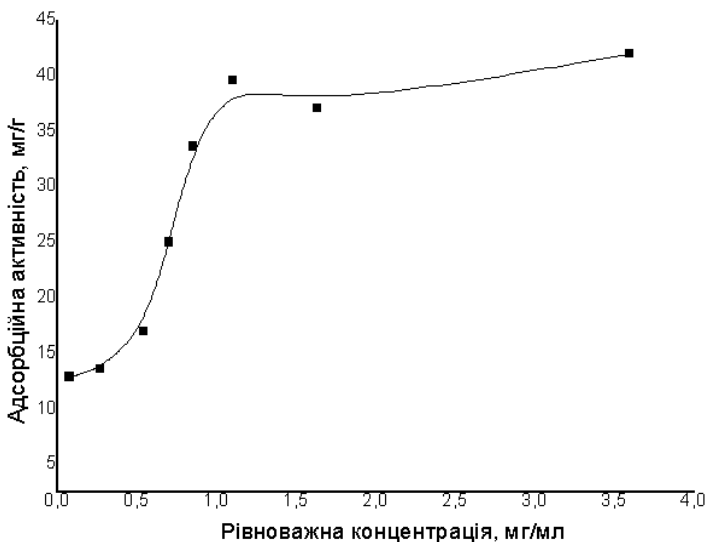
специфічних антигенів, використовують також і у технології магнітного сепарування. Так, наприклад, ці частинки, будучи покритими імуноспецифічними агентами, можуть швидко зв'язуватися з червоними кров'яними клітинами, бактеріями або ж раковими клітинами. Методика поділу (сепарації) клітин тут полягає у додаванні суспензії імуномодифікованих магнітних наночастинок безпосередньо до зразка біологічної рідини. Після 10–20-хвилинної інкубації пробірку зі зразком вміщують у магнітний сепаратор, де зв'язані з магнітними частинками клітини вловлюються магнітом, а надосадова рідина видаляється. Використання для цих цілей феритів різного складу з розмірами частинок на рівні декількох нанометрів якраз і дозволяє одержувати магнітокеровані лікарські препарати [135].

Водночас, слід зазначити, що ідея спрямованої доставки ліків до хворого органу завдяки використанню магніту з'явилася ще у 60-ті рр. минулого століття. І хоча на сьогодні чимало публікацій присвячено розробці методів цієї доставки [138–142], вона досі нашоветується на технологічні труднощі при реалізації, зокрема, таких завдань, як: синтез нанорозмірних і однорідних за розмірами магнітних частинок; запобігання їх агломерації; закріплення ліків на поверхні частинок у достатній для терапевтичної дії кількості; вибір методу стерилізації та способу зберігання тощо.

Разом з тим, нижче представлено деякі результати дослідження адсорбції ліків та наносрібла на поверхні композиційного магнітного матеріалу на основі заліза, синтезованого термохімічним методом, що базується на розкладенні оксалату заліза у середовищі вуглеводнів і отриманні багатозафазних нанопорошків (вони містять, окрім фази  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , також  $\alpha$ - та  $\gamma$ -залізо; їх магнітне насичення –  $79 \text{ Ам}^2/\text{кг}$ , коерцитивна сила –  $7,8 \text{ кА/м}$ , а залишкова намагніченість –  $0,04 \text{ Т}$ ) [143]. Всі ці порошки перед проведенням дослідів з адсорбції ліків проходили операції з деагломерування й активації їхніх поверхонь у різних середовищах [123, 144]. Було встановлено [143, 145], що синтезовані термохімічним методом порошки повільно (порівняно з порошками з чистого заліза) розчиняються у плазмі крові, а, отже, імовірність їх отруйної дії на організм мінімальна – причому повільне розчинення порошку в середовищі організму означає, що носій ліків після виконання своєї функції не залишається в організмі як довічний протез, а поповнює запаси заліза в ньому і запобігає виникненню залізодефіцитної анемії. При цьому для дослідження адсорбції використовували два вітчизняні антибіотики (їх формули наведено вище) – рифампіцин із протитуберкульозною активністю виробництва Борцагівського хіміко-фармацевтичного заводу та доксорубіцин із протипухлинною дією виробництва ПАТ «Київмедпрепарат».

#### 1.6.9.4.1. Закріплення рифампіцину на поверхнях частинок порошків на основі заліза

Під час проведених в ІПМ експериментів було встановлено, що порошок оксиду заліза(ІІІ) виявляє невисоку адсорбційну активність стосовно рифампіцину (рис. 1.15), а багатофазний порошок на основі Fe вступає у реакцію з розчинами рифампіцину, про яку свідчить різка зміна їх забарвлення. Таким чином, пряма посадка рифампіцину на багатофазний порошок на основі заліза неможлива, бо його поверхню необхідно модифікувати шляхом збільшення кислотних груп на поверхнях частинок задля підвищення рівня електростатичної взаємодії між молекулами рифампіцину, який має аміногрупи, та частинками згаданого порошку.



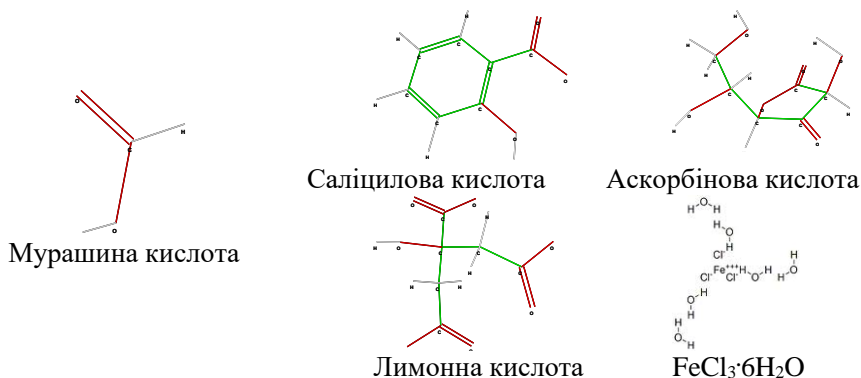
**Рис. 1.15.** Адсорбційна активність порошку оксиду заліза(ІІІ) стосовно рифампіцину

Задля вирішення вищенаведеної проблеми порошки обробляли 0,1 М-ними розчинами слабких кислот, причому підбирали такі кислоти, які широко використовуються у медицині та харчовій промисловості, а саме мурашину, саліцилову, аскорбінову й лимонну. Для обробки ж також використовували, в якості кислоти Льюїса, хлорид заліза(ІІІ) (рис. 1.16).

Також проведене в ІПМ дослідження адсорбційної активності обробленого розчинами кислот порошку оксиду заліза(ІІІ) стосовно



рифампіцину показало, що ця активність зростає вдвічі після обробки саліциловою кислотою, в 2,5 разу – після обробки аскорбіновою кислотою та в 3,5 разу – після обробки хлоридом заліза(III). При цьому кількість карбоксильних груп у кислоті не впливає на адсорбційну активність: так, трьохосновна лимонна кислота менше впливає на адсорбцію, ніж одноосновна саліцилова (табл. 1.3).



**Рис. 1.16.** Структурні формули органічних кислот та хлориду заліза(III) з кислотними властивостями

**Таблиця 1.3.** Адсорбційна активність обробленого кислотами порошку оксиду заліза (III) стосовно рифампіцину [123]

Концентрація розчину рифампіцину, мг/мл	Адсорбційна активність (мг/г) стосовно рифампіцину порошку оксиду заліза(III), обробленого у:				
	лимонній кислоті	саліциловій кислоті	мурашиній кислоті	аскорбіновій кислоті	хлориді заліза(III)
0,3	24,29	23,02	20,12	22,95	25,80
0,6	24,36	24,39	24,23	26,18	15,54
1,2	23,71	42,15	33,18	40,93	60,75
1,5	24,00	69,02	38,11	48,86	91,35
1,8	24,43	70,30	42,62	63,95	100,20
2,4	41,32	74,90	48,81	72,79	129,02
3,0	49,42	79,54	33,59	97,99	149,22

Найкращі результати серед усіх досліджених розчинів показала обробка хлоридом заліза(III), а в цілому ці результати свідчать про те, що закріплення рифампіцину на поверхнях порошоків на основі заліза відбувається за участю аміногруп. І, водночас, було встановлено, що реакційно-активне  $\alpha$ -залізо, яке входить до складу багатофазного

порошку, погіршує адсорбційну здатність цього останнього стосовно рифампіцину [123].

#### 1.6.9.4.2. Адсорбційна активність порошків стосовно доксорубіцину

Під час досліджень в ПІМ виявилось також, що доксорубіцин добре адсорбується як багатофазним порошком, так і порошком оксиду заліза(III) (табл. 1.4), причому адсорбційна активність другого з них у 1,2 разу більша, ніж у першого.

**Таблиця 1.4.** Адсорбційна активність порошків на основі заліза стосовно доксорубіцину

Концентрація розчину доксорубіцину, мг/мл	Адсорбційна активність (мг/г):	
	оксиду заліза (III)	багатофазного порошку
0,015	1,41	1,24
0,025	1,96	1,91
0,04	3,11	2,41
0,05	4,03	3,44

Оскільки ж доксорубіцин також має аміногрупу, то підвищити адсорбційну здатність порошків на основі заліза теж намагалися шляхом обробки кислотами. Як виявилось, обробка порошку оксиду заліза(III) мурашиною кислотою майже не впливає на його адсорбційну активність стосовно доксорубіцину (табл. 1.5), тоді як той самий порошок, будучи обробленим саліциловою кислотою, вступає у реакцію з розчинами доксорубіцину і, отже, ця остання кислота тут неприйнятна.

**Таблиця 1.5.** Адсорбційна активність обробленого кислотами порошку оксиду заліза(III) стосовно доксорубіцину

Концентрація розчину доксорубіцину, мг/мл	Адсорбційна активність (мг/г) стосовно доксорубіцину порошку оксиду заліза(III), обробленого у:	
	мурашиній кислоті	хлориді заліза(III)
0,014	1,32	1,32
0,02	1,93	2,34
0,04	3,09	3,54
0,05	4,47	4,57

Порошок же оксиду заліза(III), оброблений хлоридом Fe(III), збільшує адсорбційну активність згаданого порошку стосовно доксорубіцину на 13%. Таким чином, в ІПМ було встановлено, що обробка розчинами кислот порошку оксиду заліза(III) не дає такого підвищення адсорбційної активності стосовно доксорубіцину, як щодо рифампіцину.

Обробка ж розчинами кислот багатофазного порошку впливає на адсорбційну активність стосовно доксорубіцину інакше, ніж у порошку оксиду заліза(III) (табл. 1.6): так, обробка розчином саліцилової кислоти не впливає на адсорбційну активність стосовно доксорубіцину, а обробка мурашиною кислотою та хлоридом заліза(III) погіршує адсорбційну здатність багатофазного порошку щодо нього.

**Таблиця 1.6.** Адсорбційна активність обробленого кислотами багатофазного порошку стосовно доксорубіцину

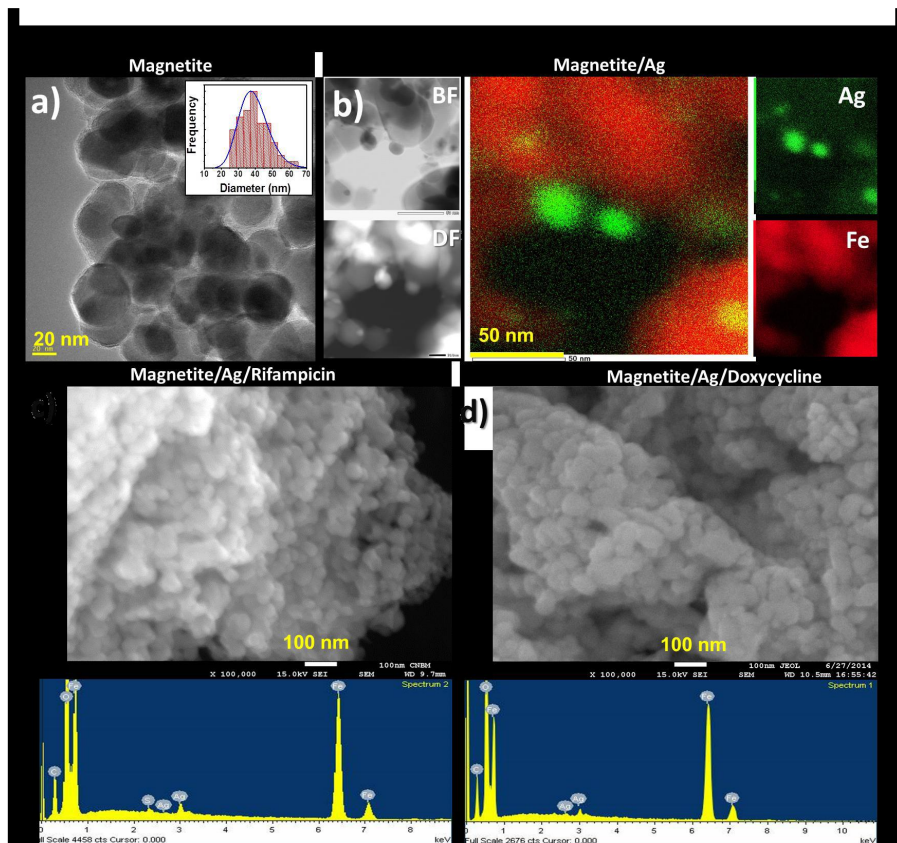
Концентрація розчину доксорубіцину, мг/мл	Адсорбційна активність (мг/г) стосовно доксорубіцину багатофазного порошку, обробленого у:		
	саліцилової кислоти	мурашиній кислоти	хлориді заліза(III)
0,014	1,45	1,12	1,14
0,02	2,36	1,83	1,57
0,04	3,01	2,15	1,82
0,05	3,50	2,19	1,56

Такі результати свідчать про те, що адсорбція доксорубіцину на поверхнях обох порошоків – як оксиду заліза(III), так і багатофазного – проходить за участю не аміногруп, а, імовірно, ОН-груп, і що фаза  $\alpha$ -заліза у складі порошку зменшує адсорбційну здатність порошку як стосовно рифампіцину, так і доксорубіцину.

У свою чергу, в нашій роботі [146] було проведено дослідження процесів вивільнення ліків та наносрібла з поверхонь вищенаведених магнітних порошоків. Актуальність таких досліджень пов'язана з тим, що, як відомо, під час проведення хірургічних втручань для лікарів найцікавішим є питання швидкості вивільнення ліків і таких бактерицидних добавок, як наносрібло, оскільки саме відповідь на нього дає можливість визначитися, яка доза є найефективнішою та як впливають на процеси вивільнення препаратів рН того чи іншого середовища і конкретний характер такого вивільнення [147–149]. Отже, окрім виділення власне антибіотиків, не менш важливим є й забезпечення виділення

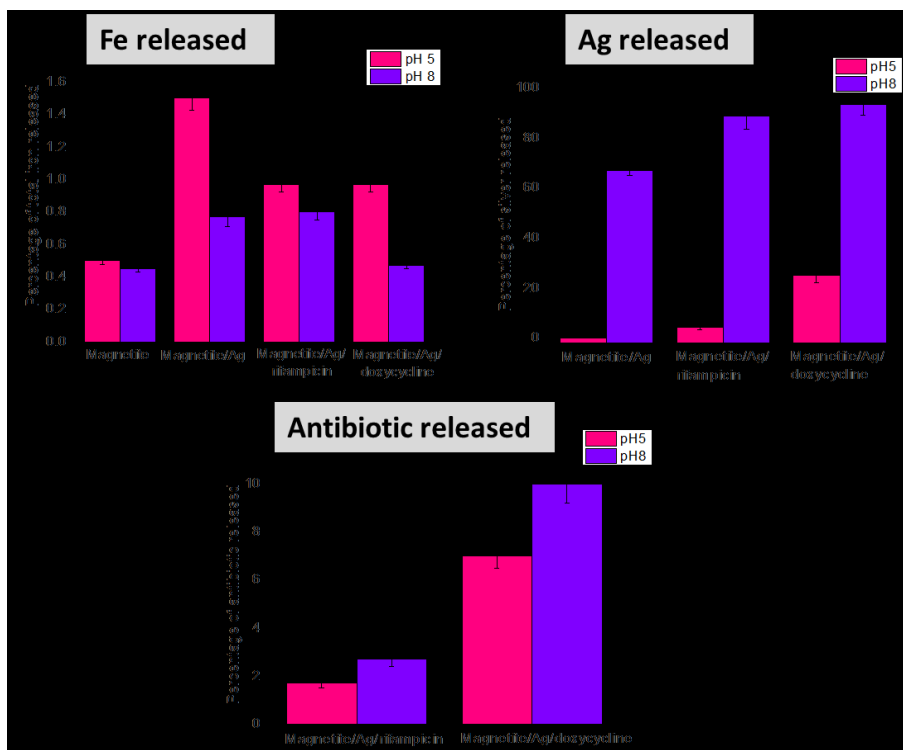
бактерицидної добавки з наносрібла, а швидкість цього виділення якраз і залежить від розмірів частинок, температури та рН середовища.

На рис. 1.17 наведено дані електронно-мікроскопічних досліджень використаних порошків і їхніх композицій зі сріблом та антибіотиками [146].

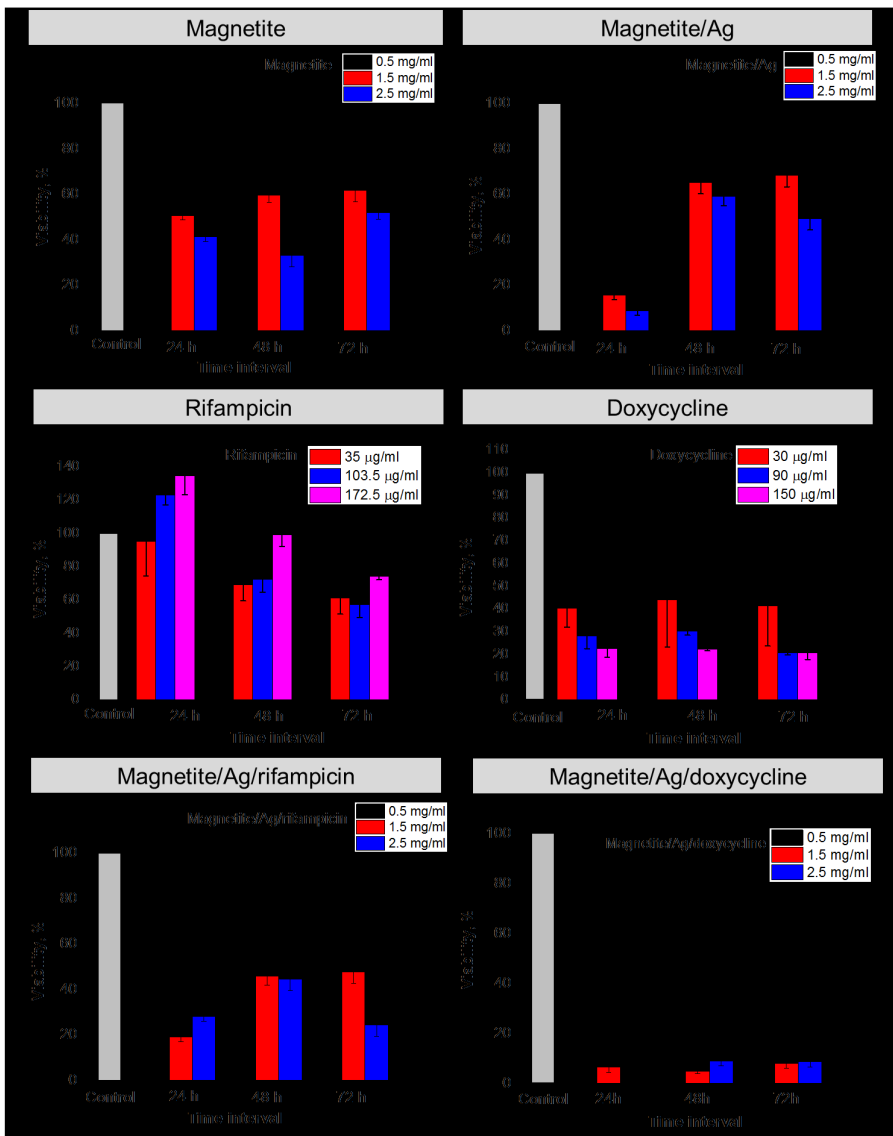


**Рис. 1.17.** HR-TEM- та HR-TEM-EDX-зображення: магнетиту (a); магнетиту з наночастинками срібла (b) в світлому (BF) і темному (DF) полях, а також карти елементів Fe і Ag (b); SEM-EDX-зображення для систем магнетит/Ag/рифампіцин та магнетит/Ag/доксциклін (c)

У свою чергу, на рис. 1.18 продемонстровано вивільнення всіх складових, а саме заліза, срібла та антибіотиків, у тих самих вищезгаданих системах, а на рис. 1.19 – їхні бактерицидні характеристики.



**Рис. 1.18.** Порівняльні характеристики вивільнення Fe(II, III)- і Ag(I)-іонів та антибіотиків із порошків магнетиту й систем магнетит/Ag, магнетит/Ag/рифампіцин і магнетит/Ag/доксидциклін після 4-х годин витримання у буферних розчинах за pH = 5 і 8 (результати наведено у відсотках вмісту заліза, срібла та антибіотиків у зразках)



**Рис. 1.19.** Життєздатність клітин HEK293T після 24, 48 і 72 годин інкубації з нанопорошками магнетиту, системою магнетит/Ag, рифампіцином, доксицикліном та системою магнетит/Ag/антибіотик

З наведених даних можна зробити висновок, що осадження срібла й антибіотиків на поверхню магнетиту впливає на вивільнення іонів

металів, а саме осадження Ag активізує вивільнення заліза. Це можна інтерпретувати з електрохімічного погляду, враховуючи той факт, що буферний розчин доречно розглядати як електроліт, який перебуває у контакті з біметалевою системою. Отже, адсорбований на поверхні системи магнетит/Ag антибіотик відіграє подвійну роль у процесі гальванічної корозії: як інгібітор корозії – для оксидів заліза, а як промотор – для срібла.

При цьому життєздатність клітин після взаємодії з системою магнетит/Ag/рифампіцин на ~30% нижча порівняно з нанопорошком магнетиту, а життєздатність клітин після інкубації в системі магнетит/Ag/доксидциклін – нижча за 10%. Такі результати засвідчують наявність комбінування токсичної дії заліза іонів срібла та антибіотиків, а, отже, йдеться про стимулювання росту відповідних клітин в організмі.

### 1.6.10. Фотодинамічна терапія

Успіхи в клітинній біології, поряд із застосуванням методів комп'ютерного аналізу, створили передумови для покращення ефективності й достовірності систем медичної візуалізації та біофотоніки [102, 150]. Зокрема, в біофотоніці при застосуванні у візуалізації та маніпулюванні біологічними матеріалами використовуються світлові пучки (фотони), причому завдяки нинішнім масштабам використання ще й наноматеріалів доставка фотосенсибілізаторів стає досконалішою – а це, в свою чергу, сприяє подальшому розвитку і власне біофотоніки, і фотодинамічної терапії [150, 151].

Так, у випадку, коли молекулярний маркер чутливий до певного визначеного захворювання, контрастуюча речовина накопичується в уражених тканинах та застосовна як при діагностиці, так і у гіпертермічному лікуванні [19, 23].

Протягом декількох останніх десятиліть активно розроблялися різні форми використання *гіпертермії* як способу лікування раку (шляхом підвищення температури з 41 до 45 градусів Цельсія), покликаною надати онкологічним клінікам якнайефективніші сучасні технології усунення злоякісних пухлин.

У більшості з відповідних варіантів використовуються різні наночастинки, і зокрема вуглецеві нанотрубки (застосування яких *in vivo*, водночас, обмежене через наявність явища самоасоціації, коли вони прилипають одна до одної).

Разом з тим, нещодавні дослідження також показали, що пакування у ДНК саме *багатостінних вуглецевих нанотрубок* робить їх достатньо диспергованими, одиничними, розчинними у воді та здатними

ефективніше за неупаковані нанотрубки виробляти тепло, а також що *одноланкова ДНК* збільшує розчинність таких багатостінних трубок.

Пакування цих останніх у молекули ДНК суттєво збільшує й кількість виділюваного ними тепла, що є відгуком на опромінювання інфрачервоними хвилями ближнього ІЧ-спектра.

Також було показано, що створюваного упакованими нанотрубками тепла достатньо для того, щоб точково й повністю знищити пухлинні маси, не спричинюючи значної токсичної шкоди довколишнім тканинам.

Зазвичай ще нещодавно дослідження ж у такій новітній галузі, як *фотодинамічна терапія*, зосереджувалися на питаннях, пов'язаних із використанням одностінних вуглецевих нанотрубок, коли під впливом ближнього інфрачервоного випромінювання ці трубки нагрівалися, а ракові клітини гинули.

Разом з тим, на сьогодні вже здійснено заміну вуглецевих нанотрубок *пористим кремнієвим наноматеріалом*, а це дало можливість додатково генерувати значно меншу, ніж раніше, кількість активних форм кисню.

Крім того, нині розроблено теорію використання *золотих наночастинок*, яка ґрунтується на тих їхніх властивостях, що визначаються формою кульок або ж прутків, які сучасні вчені вміють приєднати до різноманітних біомолекул (і зокрема антитіл).

Метод, який опрацьовується на основі цієї теорії, покликаний посприяти ідентифікації ракових клітин на ранніх стадіях онкозахворювань.

Йдеться про те, що введений в організм препарат, який складається із золотих наночастинок, що містять антитіла до ракових клітин, міцно прикріплює ці частинки до клітин-мішеней.

При цьому наночастинок майже не впливають на функціонування клітин, але роблять їх чутливими до дії зовнішнього акустичного поля (і зокрема ультразвукового випромінювання), завдяки чому з'явилася можливість підібрати такі речовини, наночастинок яких можуть формуватися в ракових клітинах у набагато більшій кількості, ніж у здорових тканинах.

Так, досягнуто результатів, коли під час 10-хвилинного впливу ультразвукового випромінювання на пухлинні тканини надалі протягом тижня об'єм пухлини зменшився на 80% [18, 20, 102, 152].



### 1.6.11. Спрямована нанотерапія злоякісних пухлин ультразвуком

На сьогодні вчені вже дослідили практичні аспекти спрямованого хіміотерапевтичного впливу на тверді пухлини завдяки використанню ультразвуку та навантажених доксорубіцином і паклітекселем емульсій перфторпентану [153–156]. Суть цього методу полягає у накопиченні нанокрапель емульсій у пухлині шляхом спрямованого транспортування до неї хіміотерапевтичних засобів (*пасивного таргетингу*), а надалі, під дією напрямленого на пухлину терапевтичного ультразвуку, перетворення нанокрапель на парові мікропухирці.

Навантажені медикаменти міцно закріплюються *in vivo*, а потім їх викидають у пухлинні тканини під час закипання під дією ультразвуку – на чому й завершується процес ефективної спрямованої доставки ліків у пухлину.

Разом з тим, вчені зараз працюють над наступною супутньою проблемою, стикнувшись із тим, що піддані вищезгаданому лікуванню злоякісні новоутворення ефективно регресують, але потім спостерігається певний рецидив і вторинні пухлини більш резистентні до повторного лікування, аніж первинні. Аналіз шляхів подолання цієї резистентності триває.

### 1.6.12. Фулерени як засіб лікування розсіяного склерозу

На сьогодні ціла низка вчених, і зокрема в США, намагаються створити препарат нового покоління для лікування розсіяного склерозу, який би базувався на застосуванні молекул фулеренів [157].

Цим останнім властива висока концентрація вуглецю і вони здатні функціонувати як стимулюючі антиоксиданти, що стимулюють активну життєдіяльність нейронів головного мозку.

Слід також зазначити, що величезний потенціал фулеренів і нанотрубок, які зв'язують вуглець, дозволяє використовувати їх у *датчиках* та *електронних пристроях*, й у т.ч. при створенні максимально мініатюризованих і швидких процесорів.

Крім того, науковці з ізраїльського Тель-Авівського університету вже запатентували принципово новий спосіб лікування, за якого фулерени запрограмовані на зв'язок із тими чи іншими *рецепторами мозку* – причому синтезований цими вченими антиоксидант призначений лікувати саме ушкоджені мозкові нейрони.

Створено на сьогодні й *біомедичну молекулу* в формі футбольного м'яча, робота якої також ґрунтується на дії C<sub>60</sub>-фулерену.

### 1.6.13. Рідкі емульсійні наночастинки

Вчені з американського Каліфорнійського університету на сьогодні вже отримали унікальні *олійні нанокрапельки*, які за розмірами набагато менші за клітини людського організму і можуть використовуватися для доставки фармакологічних препаратів до тих чи інших хворих клітин [158]. Характерною ознакою цих крапельок є те, що вони, перебуваючи у водному середовищі, містять всередині себе крапельки води ще менших розмірів. Ця система дуже перспективна як із погляду конфігурації (фактично вона є подвійною емульсією), так і через можливість одержання наночастинок, що містять у собі інші наночастинки.

Якщо раніше було проблемою отримати крапельки молекул із розмірами *менше 100 нм* і при цьому зберегти їхню стабільність, то завдяки останнім хімічним дослідженням встановлено, що це можна зробити, використовуючи саме структуру *емульсії*: нанокрапельки виявилися стабільними за наявності подвійної незмішуваної (вода в олії та олія у воді) структури емульсійного стабілізуючого середовища. Такий результат було одержано вперше, оскільки якщо раніше вдавалося отримати нанокрапельки подібних розмірів, то вони завжди залишалися нестабільними й достатньо швидко руйнувалися.

Станом на сьогодні вже приготовано наноемульсії з мільярдами *подвійних* нанокрапельок, причому доведено, що всередину такої крапельки може бути введено медикаментозний вміст незалежно від можливості/неможливості його розчинності у воді – а, отже, як нерозчинні, так і розчинні лікарські препарати можуть бути вміщені всередину нанокрапельки й доставлені за потрібною «адресою» в організмі. Крім того, подвійна емульсія дозволяє комбінувати різні медикаменти в одній і тій самій упаковці тоді, коли існує потреба введення одночасно двох і більше ліків (у певній пропорції) до однієї й тієї самої ділянки організму. Такий *комплекс медикаментів* вміщується у нанокрапельку, а вже вона безпосередньо вводиться в клітину чи доправляється до неї в інший спосіб.

Також нині потребують вирішення проблемні аспекти як забезпечення нешкідливості проникнення нанокрапельки до клітини, так і подальшого вдосконалення механізму доставки до неї наномедпрепарату, причому на сьогодні особлива увага, у зв'язку з цим, приділяється саме тим речовинам-вантажам, які нанокрапелька має донести до клітини.

Важливим напрямом відповідних досліджень є вдосконалення методів боротьби з раковими пухлинами. Так, передбачається, що одним із різновидів профільного вантажу може стати, наприклад, протеїновий токсин, який сприяє знищенню клітини-мішені. Один із варіантів його

застосування полягає в одночасному використанні протиракового медикаменту в олійній нанокрапельці, а токсину-протеїну – у водяній. Таке залучення до справи знищення ракової клітини двох засобів одночасно виправдане тим, що до одного виду ліків ця клітина може виробити опірність, тоді як до двох – малоімовірно.

#### **1.6.14. Подолання наночастинками гематоенцефалічного бар'єру і посилення їх фагоцитозу раковими клітинами**

Терапевтична цінність багатьох нових препаратів для лікування захворювань *мозку* знижується внаслідок існування гематоенцефалічного бар'єру, який надійно відмежовує мозок від препаратів, що циркулюють у кров'яному руслі. І саме завдяки нанотехнологіям стає можливим використання тих перспективних препаратів, які зазвичай не застосовуються у клінічній практиці через проблему неподолання гематоенцефалічного бар'єру. Серед іншого, наночастинки суттєво покращують селективність доставки до мозку біологічно активних сполук та підвищують ефективність і знижують токсичність протипухлинних препаратів [159].

У свою чергу, *модифікація* поверхонь суперпарамагнітних наночастинок етиленгліколем або фолієвою кислотою виявилася ефективною при забезпеченні посилення їх фагоцитозу раковими клітинами, а це є перспективним для діагностики та терапії раку. У дослідженнях на тваринах на сьогодні вже доведено переваги візуалізації та спрямованої молекулярної терапії раку, що базуються на використанні напівпровідникових квантових кристалів. Так, у підконтрольних тварин зафіксовано поглинання, накопичення та розповсюдження в організмі наночастинок переважно в печінці, селезінці, мозку, серці, нирках та легенях (хоча, водночас, у безтисимних мишей із раком передміхурової залози ці частинки накопичувалися переважно в клітинах пухлини та давали яскраве помаранчево-червоне забарвлення).

Також модифікація поверхонь наночастинок дозволяє задавати або ковалентний, або ж нековалентний зв'язки між широким спектром різноманітних сполук, а це важливо у випадку приєднання гідрофобних векторів для запобігання захопленню активних агентів клітинами ретикулоендотеліальної системи.

Крім того, при модулюванні нових лікарських форм протипухлинних засобів теж можуть застосовуватися наносистеми і, знову ж таки, або для пасивного, або ж для активного накопичення цих засобів. Так, наприклад, властивість наносистем специфічно локалізуватися у клітинах ретикулоендотеліальної системи створює чудову можливість для

пасивного накопичення активних агентів за необхідності впливу на первинні чи вторинні пухлини печінки та селезінки.

Як активні наносистеми для цілеспрямованого впливу можуть успішно застосовуватися фолати, а також моноклональні до поверхневих білків пухлинних клітин та/або інтегринів антитіла.

Такі системи дозволяють композиту вступати в реакцію з молекулами як на поверхні клітини, так і на рівні внутрішньоклітинних каскадів передачі сигналів, а також брати участь у нормалізації порушених сигнальних шляхів. Низка таких нанорозмірних систем транспортування лікарських засобів вже проходить перші клінічні випробування, причому до найдослідженіших об'єктів слід віднести, разом із вищеописаними ліпосомами, також і *дендримери*.

### 1.7. Наноматеріали у мікроелектромеханічних системах (MEMS)

*Мікроелектромеханічні системи* – це безліч мікро- та нанопристроїв якнайрізноманітніших (залежно від їх призначення) конструкцій, які виготовляються методами мікро- та наноелектроніки. До них належать: мініатюрні деталі (гідравлічні та пневмоклапани, струминні сопла, принтери та ін.); мікроінструменти (скальпелі та пінцети для роботи з об'єктами із мікро- і нанорозмірами); мікромашини (мотори, насоси, турбіни); мікророботи та мікродатчики тощо. MEMSi виконують на напівпровідниковій підкладці (в якості напівпровідників використовують кремній і полімери). Вони поділяються на два типи: *вимірювальні* (переводять ті чи інші фізичні дії на електричний сигнал) та *актуатори* – виконавчі пристрої, що, навпаки, переводять сигнал у будь-яку дію. MEMSi в майбутньому зможуть охоплювати всі аспекти життєдіяльності людського організму і, зокрема, вже протягом найближчих 10–20 років з'являться нові можливості для:

застосування *нанобіологічних процесорів*, а саме пристроїв, покликаних програмувати складні біологічні реакції на чипі. Такі біологічні реакції імітуватимуть ті чи інші відповідні реакції людського організму, дозволяючи різко поліпшити стан діагностики й лікування багатьох сучасних захворювань;

використання *наноімплантованих пристроїв*, створення яких стане результатом об'єднання зусиль нано- і біотехнологів довкола, наприклад, здійснення молекулярного протезування, заміни непрацюючих клітинних елементів тощо;

проведення наномедичних досліджень і оперативних втручань, і зокрема *операцій із використанням нанороботів*. Такі клінічні операції відкривають принципово новим різновидам хірургії шлях у повсякденну

медичну практику – за одночасного підвищення рівня традиційних лікувальних операцій;

використання *нейроінтерфейсів із комп'ютерами*, коли буде забезпечено прямі зв'язки між нервовими тканинами й електронікою і безпосередній контроль за станом механічних, електронних та віртуальних об'єктів вже як за власними органами людського організму (з метою руйнування просторово-часових меж між різними лікарськими діями та кардинального розширення можливостей всебічного контролю людини за станом свого здоров'я).

Зокрема, саме лікування онкопухлин є одним із багатообіцяючих напрямів застосування нанотехнологій. Водночас, хоча останнім часом досягнуто певного прогресу в цій галузі, ще залишається низка складних проблем, що потребують подолання ще до того, як високодиференційована й прицільна протипухлинна терапія стане доступною для *щоденного клінічного застосування*. Складовими такого застосування, зокрема, мають стати:

можливість молекулярного відображення щонайменших проявів наночастинок на клітинному рівні;

наявність ефективного механізму молекулярного прицілювання після ідентифікації тих чи інших клітинних маркерів;

застосування вже розробленої нині технології знищення ідентифікованих як злоякісні клітин, що ґрунтується на фотодинамічному ефекті та його поєднанні із введенням відповідних протипухлинних препаратів;

наявність технології моніторингу одержаного терапевтичного ефекту.

На жаль, на сьогодні ці елементи ще використовуються окремо один від одного і не чинять належного довершеного впливу.

Виходячи з потреби вирішення цієї проблеми, вчені зробили спробу *об'єднати* вищенаведені методики *in vitro* і вже одержали значно вищий терапевтичний ефект. Суть відповідного інтегрованого методу полягає у застосуванні *молекулярного прицілювання* до специфічних профільних поверхневих рецепторів та подальшому *фототепловому руйнуванню* пухлинних клітин [13, 160, 161].

Повний перелік потенційних застосувань нанотехнологій у медицині дуже великий, але, поза сумнівом, однією з найбільших їхніх переваг є розробка нових ефективних напрямків діагностики, упередження та лікування захворювань, що не матимуть тих обмежень, які притаманні сучасній молекулярній діагностиці, й дозволять перейти до персоналізованої медицини [162–165].

При цьому основні напрями застосування нанотехнологій, і зокрема в онкології, – у царинах візуалізації, діагностики, цілеспрямованої доставки ліків, протипухлинної та генної терапій тощо [166].

### **1.7.1. Робота синтетичних ДНК-наномашин всередині клітин організму**

Подібно до інших біологічних макромолекул (РНК, білків), ДНК володіє строгою організацією на нанорозмірному рівні. Цю особливість можна використовувати як потужний інструмент для конструювання наноструктур і нановиробів «знизу вгору». При цьому з погляду нанотехнології важливими якостями молекули ДНК є її спроможність розпізнавати і зв'язувати комплементарні основи, а також відносна стабільність подвійної спіралі ДНК. Біотехнологи ж цікавляться передусім біологічними функціями ДНК як носія і регулятора генетичної інформації.

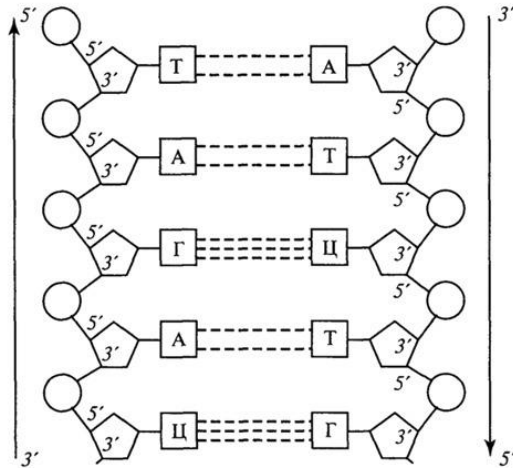
Науковим підґрунтям ДНК-нанотехнології слугують роботи *С. Недріана*, започатковані ще близько 30 років тому [167], коли здавалося, що завдяки правильно підібраним ланцюгам ДНК можна скласти фігуру будь-якої складності, яка відповідатиме, знову-таки, будь-яким цілям. У цілому реальність не обманула очікувань вчених і на сьогодні можна виділити дві істотні галузі використання ДНК у нанотехнології, а саме: ДНК як структурний елемент для створення складних конструкцій і ДНК в якості функціонального елемента у наномашинах [168–174].

Світ ДНК виглядає логічним, строгим і заледве не математично правильним: двоє антипаралельних ланцюгів ДНК, обвиваючись довкола один одного, формують подвійну спіраль (*дуплекс*). Навпроти кожної азотистої основи одного ланцюга знаходиться строго визначена азотиста основа другого: аденін (А) навпроти тиміну (Т), а гуанін (Г) – навпроти цитозину (Ц) (рис.1.20).

Із хімічного ж погляду ДНК – це довга полімерна молекула, що складається з повторюваних блоків-нуклеотидів, кожен з яких, у свою чергу, формується з азотистої основи, цукру (дезоксирибози) і фосфатної групи, причому зв'язки у ланцюгу між такими нуклеотидами утворюються саме за рахунок дезоксирибози та фосфатної групи.

При цьому достатньо важливим виявляється склад ланцюга ДНК: так, багата на гуанін ділянки схильні формувати, замість подвійної спіралі, стабілізовані іоном того чи іншого металу гуанінові *квадруплекси*. За умов, що відрізняються від фізіологічних (при зміні рН та іонної сили), В-форма ДНК може переходити в А-форму або ж, за певного нуклеотидного складу, в Z-форму, причому довжина подвійної спіралі

зменшується чи збільшується, змінюючи число нуклеотидів, яке припадає на один виток. Жива клітина – теж у певному сенсі нанотехнолог: вона використовує різні стани молекули ДНК, щоб регулювати активність генів, зробивши ті чи інші ділянки доступнішими або ж, навпаки, недоступнішими для ферментів, реплікації і транскрипції. Вчені-нанотехнологи використовують механізми, відточені клітиною, і, користуючись усією широтою накопичених знань, конструюють наноструктури чи наномашини для власних дослідницьких цілей.



А – аденін; Г – гуанін; Т – тимін; Ц – цитозин

**Рис. 1.20.** Схематичне зображення первинної структури фрагмента двохланцюгової молекули ДНК

Уся ж складність використання ДНК як структурного елемента полягає у народженні самої відповідної ідеї, тоді як подальший підбір олігонуклеотидних послідовностей здійснюється програмно – причому синтез також не є проблемою, тож якщо ці етапи пройдені без помилок, то самозбірка відбудеться без ускладнень. У цьому випадку кожен із чотирьох ланцюгів ДНК, які утворюють таку структуру, комплементарний відразу ж двом ланцюгам, а саме по одному ланцюгу зі свого та сусіднього дуплекса – завдяки чому точка перетину не є строго визначеною і може зміщуватися в той чи інший бік. При цьому нанотехнологи не покладаються на волю випадку і підбирають олігонуклеотиди так, щоб точка перетину була чітко заданою.

Яскравою ілюстрацією запрограмованої збірки ДНК у певні паттерни слугує метод ДНК-орігамі, запропонований *П. Ротмундом*, коли

одна довга одноланцюгова (наприклад, вірусна) ДНК укладається певним чином завдяки відносно коротким олігонуклеотидним ДНК-скріпкам, які з'єднують ділянки довгої ДНК і створюють строго заданий рисунок [175].

Масиви ДНК можуть бути пов'язані як з органічними, так і неорганічними молекулами чи частинками. У зв'язку з цим можуть реалізовуватися різні цілі: ДНК задля зручності подальших маніпуляцій можна модифікувати (наприклад, тіольними групами), а також можна надати відповідним молекулам, завдяки використанню барвників і білків, додаткової функціональності та задати те чи інше геометричне розташування певних конкретних елементів таких ДНК-масивів.

У свою чергу, використання ДНК як функціонального елемента в наномашинах базується, знову-таки, на комплементарній взаємодії, а також на спроможності одноланцюгової ДНК витіснити один із ланцюгів дуплекса за умови, що ланцюг, який витісняє, утворює більше комплементарних взаємодій, аніж той, що витісняється.

Цю прикметну спроможність було продемонстровано у 2000 р. *Б. Юрке* та його колегами [176]: йдеться про те, що достатньо залишити на одному з ланцюгів дуплекса декілька нуклеотидів (і зокрема той «липкий кінець», що виступає) і при додаванні одноланцюгової ДНК, яка повністю комплементарна довшому ланцюгові, така ДНК спочатку зв'яжеться з вільним одноланцюговим фрагментом, надалі витіснивши з дуплекса коротший ланцюг. Виходячи з цієї властивості, було розроблено молекулярні перемикачі [177] і навіть логічні схеми [178].

Синтетичні молекули ДНК є наномашинами, що змінюють свою молекулярну форму у відповідь на впливи зовнішнього середовища, до яких, зокрема, можна віднести зміни рН, а також приєднання низькомолекулярних ефекторів, білків чи ниток ДНК.

На сьогодні групою індійських дослідників вже розроблено конструктивну *ДНК-нанотехнологію*, яка довела свою ефективність в експериментальних умовах: було штучно створено ДНК-наномашини всередині живих клітин і показано, що ці машини так само ефективно працюють у таких клітинах (реєструючи зміни рН у просторі й часі), як і в пробірці [179].

*Чутливу до рівня рН* у діапазоні значень 5,5–6,8 (зміна якого всередині клітин дозволяє отримати інформацію, що доповнює дані низькомолекулярних рН-зондів) ДНК-наномашину було названо «I-Switch». На відміну від згаданих рН-зондів, вона є *сенсором*, робота якого базується на резонансному перенесенні енергії флюоресценції – а це дозволяє йому блискуче функціонувати як за фізіологічних, так і кислотних значень рН.



При цьому найважливішим є те, що pH-зонди, чия робота базується на зелених флюоресцентних білках чи низькомолекулярних речовинах, мають обмежену сферу застосування через постійність довжини хвилі у них, тоді як «I-Switch», будучи штучно розробленою ДНК-структурою, спроможна взаємодіяти з будь-якою підходящою парою білків при проведенні Фьорстерівського резонансного перенесення енергії (FRET), а тому може використовуватися для одночасного спостереження за декількома білками, кожен з яких має свою характерну FRET-пару.

Таким чином, це робить «I-Switch» ефективним зондом для дослідження внутрішньоклітинного розподілу речовин та процесів їх переміщення. І також важливо, що, як і клітинні структури, штучно розроблені ДНК-наномашини реагують на молекулярні подразники, а, отже, можуть вбудовуватися у клітинне середовище й при цьому ізольовано працювати у переповненому іншими структурами внутрішньому просторі клітин. А це, відповідно, означає, що функції ДНК-наномашин із нанорозмірного рівня можуть ефективно переходити у клітинні масштаби.

Молекули ДНК часто використовують у виробничих нанотехнологіях як будматеріал, причому проведені на сьогодні дослідження доводять, що – завдяки суттєвій складності архітектури, досягнутій при застосуванні цих молекулярних наночастинок самостійної збірки в якості будівельних блоків – можна виготовляти з простих ДНК *багатогранники* і сполуки таких форм, як *куб*, *октаедр* і *тетраедр*.

Зокрема, багатогранники ДНК – завдяки притаманній їм значній структурній інформації – можуть застосовуватися як інтелектуальні системи спрямованої доставки інкапсульованих лікарських засобів.

Відповідні дослідження тривають, зокрема у групі хімічної біології індійського Національного центру з біологічних досліджень. Останні з них демонструють великі функціональні можливості багатогранника ДНК, у якому 3d-рамки сконструйовані з подвійних ДНК-спіралей, а побудований *ікосаедр* – завдяки своєму унікальному модулю – демонструє значну функціональність при його включенні у капсулу золота з лікувальною метою.

Перевага створеної технології полягає в тому, що відповідні багатогранники було одержано у надзвичайно великих обсягах, причому встановлено, що з кожним подальшим етапом ці модулі дедалі більше починають згинатися, утворюючи структури у формі чашок. На завершальному ж етапі два напівікосаедри цієї форми з'єднуються, формуючи цілісний ікосаедр, який ефективно вкладає в капсулу будь-яку речовину. Саме така модульна стратегія демонструє широкі можливості *вантажної герметизації* багатогранників ДНК.

### 1.7.2. Лабораторія на чипі

З метою здійснення мініатюризації та автоматизованого аналізу різних біохімічних процесів, що відбуваються в живому організмі, на базі накопичених результатів нових досліджень у галузі нанобіотехнологій зараз розробляється новий клас біочипів – т.зв. *лабораторія на чипі (lab-on-chip)*, до складу якої входять нанооптичні, механічні та електронні процесори, здатні забезпечувати проходження найрізноманітніших реакцій, а також розподілення та детектування об'єктів на єдиній платформі [13, 180–182].

Таке вдосконалення технологій наночипів відкриває нові шляхи для підвищення їх чутливості, покращення біосумісності обладнання та зменшення витрат часу й енергії при проведенні комплексного аналізу стану людини. При цьому лабораторія на чипі здатна видати повноцінний аналіз з однієї краплі крові за декілька хвилин: лічильник-аналізатор крові розподіляє та ідентифікує такі її окремі компоненти, як еритроцити, лейкоцити, ліпіди, білки, ферменти та кисень [23, 183].

Разом з тим, знання складних внутрішньоклітинних процесів також має велике значення за необхідності проведення генетичних тестувань, ранньої діагностики онкологічних захворювань, вивчення ефективності трансфекцій клітин і генних експресій, визначення кількості білків та при вирішенні багатьох інших супутніх питань, що стоять перед відповідними галузями [184, 185].

### 1.7.3. Супрамолекулярні асоціати як електронні прилади різнофункціонального призначення

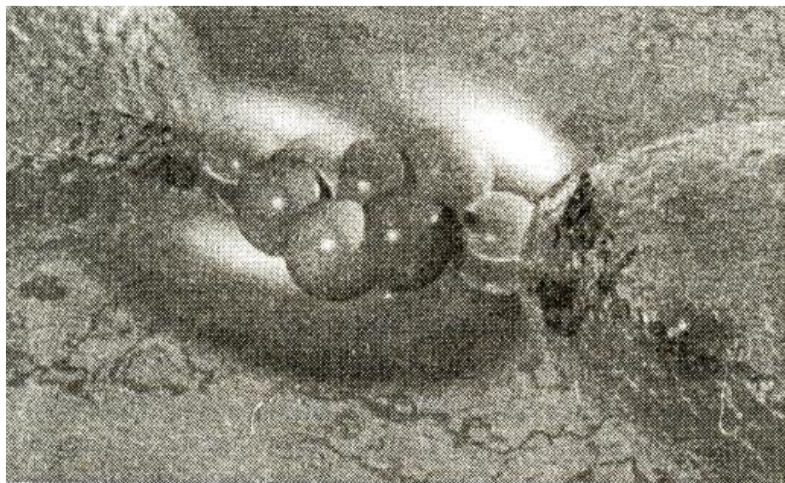
До молекулярних наноструктур (і передусім молекул органічних сполук) відносять як індивідуальні молекули, так і їхні ансамблі, що зазвичай мають складну просторову конфігурацію.

Найрозповсюдженішими серед них є супрамолекулярні асоціати, що складаються з різних за хімічною природою типів молекул, з яких один включається у просторову конфігурацію іншого, утворюючи систему під назвою «гість–хазяїн» [186].

Особливий практичний інтерес викликає створення на основі молекулярних наноструктур електронних приладів різного функціонального призначення (наприклад, молекулярних перемикачів), коли стають можливими два різні стани перемикача, які відповідають різним конфігураціям молекул.

Принцип дії перемикача полягає в тому, що молекула спочатку є непровідною, а при докладанні такої напруги, за якої спостерігається пік струму, одержує електрон (утворюючи радикальний іон) і стає провідною.

На рис. 1.21 показано одиночну молекулу, забезпечену такими металевими нанодротями електродами, завдяки яким її можна вбудовувати в електричний ланцюг, надалі вимірюючи вольт-амперні характеристики [187].



**Рис. 1.21.** Простий електронний прилад типу «забезпечена нанодротями Au-електродами молекула бензол-1-, -4-дітіолу» [187]

### **1.8. Хірургія без шрамів – завдяки нанотехнологіям**

У випадках, коли внутрішні органи сильно пошкоджені, лікування шляхом звичайного зшивання може бути технічно утрудненим і ненадійним, а, крім того, внутрішні шрами іноді можуть призводити до небезпечних зрощень, коли ділянки тканини, які в нормі мають бути розділені, з'єднуються між собою рубцевою тканиною. Разом з тим, зараз вчені працюють над новими клеєподібними біоматеріалами та біологічними наноплівками для перев'язування ран, передбачаючи, що такі матеріали повинні як володіти великою силою адгезії, щоб вкрити пошкоджену ділянку (подібно до того, як це забезпечують, наприклад, плівкові структури), так і, водночас, бути здатними взаємодіяти з ураженою ділянкою саме як клієподібні структури. Тож, безперечно, спосіб закриття хірургічних надрізів завдяки використанню таких

наноплівок замість загальноприйнятих на сьогодні швів і лігатур потребує розробки досконалих плівкових *біосумісних* матеріалів [188].

Значну увагу дослідників нанотехнологій привертають питання розробки таких довільно функціонуючих ультратонких плівок. Прикладами таких систем, які розробляються для різних галузей, є фільтрувальні *наномембрани* та *наносенсори* для електрохімічних і фотохімічних пристроїв. Крім того, японські вчені вже розробили допоміжну *тонку* (завтовшки 20 нм) *плівку*, що піддається біологічному розкладанню і здатна замінити хірургічні нитки. Плівка виготовлена шляхом звичайного комбінування процесу центрифугування і техніки відшаровування з використанням полівінілового спирту. І також було встановлено, що *ультратонке полілактатне волокно* гарно запечатує надрізи шлунка, будучи перев'язувальним матеріалом, а, до того ж, ще й не потребує прикріплювальних компонентів. Цей підхід дуже перспективний (як заміна загальноприйнятому на сьогодні накладанню швів і лігатур) та покликаний зменшити ступінь інвазивності хірургічного втручання й скоротити термін відновлення здоров'я пацієнтів у післяопераційний період.

Також науковці нині працюють над створенням нових *клеткоподібних біоматеріалів* і біологічних *наноплівок* для перев'язування ран. Вищезгадана японська наноплівка повністю відповідає цим вимогам, відзначаючись високими адгезивністю, гнучкістю і проникністю.

Раніше полілактати та інші поліестери вже застосовувалися у медичній практиці як засоби доставки ліків і нитки, що біологічно розкладаються, але при цьому не йшлося про їх використання як *нанолистів*, чії механічні властивості відрізняються від притаманних широко розповсюдженим на сьогодні й зробленим з аналогічних компонентів тонким плівкам.

Нині, зокрема, вже досягнуто успіхів у створенні нанолистів, причому двох типів, а саме:

- з площею мікропорядку та завтовшки близько кількох нанометрів (для використання таких листів як засобів транспортування ліків);
- із сантиметровою площею та товщиною декілька нанометрів (для застосування як хірургічних матеріалів).

Необхідні ще кілька років, щоб вищеописані технології розпочали належним чином розвиватися і дійшли до стадії клінічних випробувань. Японські вчені (*К. Такеока* та ін.) сподіваються, що вже в близькому майбутньому нанолисти використовуватимуться не лише як заміна загальноприйнятих хірургічних матеріалів, а й у пластичній хірургії, при проведенні ендоскопічних операцій та в регенеративній медицині.

## 1.9. Нанотехнологічні біокоректори і сорбенти для медицини

На сьогодні, зокрема, вже розроблено вітчизняні інтракорпоральний біокоректор «ІКББ» та магнітоспрямовані сорбенти «МУС-Б» і «Мікромаг-Б». Основою цих препаратів є колоїдні частинки магнетиту  $Fe_3O_4$  із розмірами від 6 до 12 нм, причому наявність адсорбційного шару забезпечує цим частинкам високу сорбційну активність. Сумарна площа їхніх сорбційних поверхонь – 800–1200 м<sup>2</sup>/г, а напруженість індукованого кожною такою частинкою магнітного поля – 300–400 кА/м. Застосовуваний при цьому метод *екстракорпоральної гемокорекції* із використанням магнітоспрямованих сорбентів має суттєві переваги перед іншими відомими методами детоксикації.

Відповідна – і також вітчизняна – пероральна форма «Мікромаг-Б» вже зареєстрована МОЗ України як біологічно активна добавка, в основі лікувальної дії якої – вплив процесу адсорбції та оточуючого колоїдну частинку магнетиту постійного магнітного поля як на клітинні, так і субклітинні структури, де точкою прикладання є *поверхневі білки* мембран клітин, а згадані колоїдні частинки змінюють склад білкових молекул, впливаючи на транспортування відповідних необхідних речовин до тієї чи іншої конкретної клітини. Препарат є унікальним засобом неспецифічної модуляції обмінних процесів, який викликає підвищення адаптаційно-приспосувальних механізмів і можливостей клітинних органел, а також прискорює репаративні процеси на рівнях і мембран, і макромолекул.

### 1.9.1. Нанопористі (нанопоруваті) матеріали

До них відносять такі консолідовані матеріали, в яких наявність пор відіграє визначальну роль у керуванні властивостями виробів. Нанопоруваті матеріали на сьогодні вже займають одне з провідних місць при виготовленні виробів медичного призначення. Це, передусім, використовувані для дезінтоксикації організму адсорбенти, а також нанопористі мембрани, чиєю напевно, найважливішою властивістю є *напівпроникність*, яка уможливорює їх ефективне використання у процесі роз'єднання рідких і газових сумішей із різним ступенем проникності їхніх складових компонентів.

Особливостями структури нанопоруватих матеріалів є наявність у них високої концентрації нанопор і можливість утворювати каркасну структуру з прошарками нанометрової товщини. При цьому об'єм пор співрозмірний із тим, що зайнятий каркасом (у наноаерогелях перший із цих показників суттєво перевищує другий), а саме тонкими плівками, пронизаними каналами нанорозмірної товщини. Серед

найрозповсюдженіших у медицині нанопоруватих матеріалів слід відзначити кремній та оксид алюмінію, а також *цеоліти* – природні (або ж синтетичні) кристалічні алюмосилікати з унікально високими адсорбційними і каталітичними властивостями.

До нанопоруватих матеріалів належать і *мембрани* – плівки, пронизані дрібними (розміром не більше 10 нм) каналами [7]. Такі наноплівки є яскравим прикладом мімікрійних матеріалів, чийм прообразом слугують живі речовини. Зокрема, у клітинах рослин і тварин мембрани за рахунок вибіркової проникності регулюють обмін речовин: впускають ті, що необхідні для життєдіяльності організму, і випускають відпрацьовані.

Серед іншого, штучні мембрани в медицині використовують у діалізі для виведення з організму різних шкідливих домішок (ультрафільтрації). Так, за принципами діалізу та ультрафільтрації працює штучна нирка, в якій проводять видалення з плазми крові отруйних речовин – причому особливу увагу при створенні штучної нирки приділяють кількості й розмірам мембранних пор, які мають перебувати у просторовому діапазоні значень 1–10 нм.

Як матеріали ж для мембран у медицині часто використовують полімери: поліуретан, полівініловий спирт, полівінілкарбонат, поліамід, поліетилен і складні ефіри целюлози та ін. Є на сьогодні й спроби аналізувати причини виникнення цілої низки серцевих, судинних та онкозахворювань теж із використанням біологічних мембран, а також розробляти методи лікування цих захворювань, паралельно поліпшуючи технології створення відповідних штучних органів у трансплантології, імунології, ембріології тощо.

## 1.9.2. Властивості поверхні

Під «*поверхнею*» розуміють межу поділу двох фаз (твердого тіла, рідини, газу), яка обернено пропорційна діаметрові частинок. Для порівняння різних об'єктів використовують питому площу поверхні, яка дорівнює співвідношенню загальної (сумарної) поверхні речовини та її маси чи (рідше) об'єму. Питома поверхня матеріалів змінюється у широких межах (від одиниць до тисяч квадратних метрів на грам) залежно від розмірів частинок, шорсткості поверхонь та пористості, причому до прямих методів визначення такої поверхні для твердих тіл належать низькотемпературна адсорбція інертних газів (*БЕТ*) та динамічний хроматографічний метод теплової десорбції. За величиною питомої поверхні (з певною приблизністю) можна оцінити середні розміри частинок порошку або ж – для поруватих систем – пор.

Для твердого тіла характер поверхневих міжатомних сил відрізняється від того, який наявний у його об'ємі, а це, зокрема, зумовлює появу в поверхні притаманних лише їй особливих властивостей. Так, у загальному вигляді її можна схарактеризувати за складом, шорсткістю, зарядом, енергією, легкістю вивільнення іонів тощо, оскільки ж стан поверхні визначає характер багатьох хімічних реакцій, адгезії та розсіювання світла й чималої кількості інших фізичних і хімічних явищ, а також умови адсорбції й десорбції таких визначальних компонентів живого організму, як білки, то важливо, щоб взаємодія на межі біоматеріалу з тканиною не викликала небажаних ефектів для оточуючого середовища – що й пояснює підвищений інтерес до досліджень топографії та енергетики поверхні у сучасному матеріалознавстві біоматеріалів.

Найважливішим же параметром для характеристики фізики поверхні є *поверхнева енергія*. Від неї й залежить адгезія клітин до поверхні біоматеріалу, яка є визначальною для його інтеграції у тіло. З іншого боку, існують завдання протилежного плану – як не допустити такої самої взаємодії, наприклад, при введенні синтетичних судин.

Наразі питання контролю за *біоадгезією*, який уможлиблював би потрібну адгезію клітин-хазяїв і, одночасно, не допускав її для інфекційних бактерій (як головну причину невдач при імплантації), – є визначальним при впровадженні тих чи інших конкретних біоматеріалів у різних галузях медицини.

Не менш важливою є й поверхнева енергія *на межі* рідини з твердим тілом. І також важливою характеристикою поверхні, яка може бути використана для управління біохімічними процесами, є *поверхневий заряд* (так, негативний заряд сприяє адсорбції позитивно заряджених молекул лікарських препаратів – і зокрема таких, як ензими та протеїни). З високою точністю на сьогодні поверхневий заряд вимірюють методом лазерного розсіювання, а завдяки використанню рентгенівської фотоелектронної спектроскопії вже ідентифіковано хімічні групи у покриттях на наносферах.

У свою чергу, *топографія* поверхні біоматеріалу – також одне з базових питань, яким займається сучасна наука про біоматеріали. Існує чимало свідчень впливу цієї топографії на поведінку клітини (йдеться про вплив – на рівні мікромасштабних пазів, ямок, каналів, пор, циліндрів, кульок, трубок і складок – на фібро- та остеобласти, макрофаги, лейкоцити, нервові, епітеліальні й ендотеліальні клітини). Особливе ж значення у медицині приділяється *модифікації* поверхні, яка здійснюється трьома методами: *in situ* за синтезу наночастинок, а також адсорбцією на попередньо синтезованих частинках (можуть відбуватися або фізична, або ж хімічна модифікації).

Зі свого боку, визначальна для відповідної взаємодії *хімія* поверхні може, водночас, відрізнятись від хімії об'єму тіла. У багатьох випадках це пов'язано з наявністю тонких шарів забруднювачів або ж пояснюється цілеспрямованою модифікацією поверхні. Відіграють свою роль і механічні властивості (й особливо за процесів прикріплення клітин, які надійніше фіксуються саме на жорстких поверхнях). Так чи інакше, для надання синтетичним наноматеріалам додаткових функцій (наприклад, здатності зв'язуватися зі специфічними білками в організмі, захищатися від агрегації, краще розчинятися у воді тощо) часто використовують саме метод хімічної модифікації поверхонь наночастинок.

При цьому в контексті конкретного біоматеріалу хімія поверхні визначає механізм початкової взаємодії з протеїнами через іонні й водневі зв'язки, а також подальші гідрофобні та специфічні взаємодії (завдяки наявності лігандів поверхневого зв'язку). Цільову ж зміну хімії поверхні біоматеріалу здійснюють задля підсилення або ж надання поверхні певних властивостей (зазвичай це здатність до адсорбції протеїнів і фіксації клітин).

Про роль же поверхневих явищ у *напівпровідниках* відомо давно. Наявність у них дефектів (сторонніх атомів та екситонів) призводить до виникнення енергетичних рівнів у забороненій зоні, причому той чи інший стан поверхні твердого тіла також може прирівнюватися до таких дефектів, а поверхневі сторонні атоми у напівпровідниках – викликати як появу, так і зникнення певних особливих станів.

Таким чином, нанотехнології – це основний інструмент для досліджень у галузі біомедицини, що створюють технологічну основу для її розвитку, будучи дієвим знаряддям вивчення як біологічної системи у цілому, так і кожного з індивідуальних наноконпонентів зокрема. Відомі на сьогодні методи застосування нанотехнологій дозволяють встановлювати механізми фундаментальних біологічних процесів і усвідомити принципи й закономірності роботи клітин, а також визначити відповідні динаміку загалом та конкретні механічні властивості зокрема. Це, в свою чергу, дозволяє проводити прямі дослідження молекулярних моторів, реакцій ензимів та динаміки протеїнів, пізнаючи внутрішній хімічний склад клітин, завдяки чому – розширити можливості медичної діагностики, лікування та заміни цілої низки ушкоджених ділянок живого організму.

Тож вже нині на нанорівні стало можливим розпізнавати й надалі детально вивчати молекулярні явища, створювати біосенсиори на основі квантових точок та маркери біологічних процесів, а також запобігати неспецифічній адсорбції (завдяки капсулюванню наночастинок у біосумісні шари) тощо.



### 1.9.3. Метод ентеросорбції

Запропонований на початку 80-их років минулого століття метод *ентеросорбції* (який базується на зв'язуванні та виведенні зі шлунково-кишкового тракту з лікувальною або ж профілактичною метою ендогенних і екзогенних сполук, надмолекулярних структур та клітин) отримує дедалі ширше застосування у різних галузях медицини. Так, дослідження останніх часів довели, що ентеросорбція є дієвим засобом детоксикації організму, який покращує функціональний стан печінки та обмін речовин, а також модифікує ліпідно-амінокислотний спектр кишкового тракту.

Успішне використання цього методу в лікуванні пов'язаних з обміном речовин, функціями печінки і синдромом ендогенної інтоксикації багатьох гострих і хронічних захворювань сприяє також і його подальшому використанню як геропротекторного засобу для подовження тривалості життя, а, крім того у цьому контексті, для корекції притаманних «хворобам віку» поліморфних метаболічних порушень.

Разом з тим, процеси, що відбуваються при старінні (порушення метаболізму ліпідів і ліпопротеїнів), не є ізольованими і щільно пов'язані зі змінами інших важливих гомеостатичних систем і процесів. Зокрема, достатньо важливим чинником, який погіршує прогноз, є порушення функції печінки у хворих літнього і старечого віку. Встановлено, що тривалість життя визначається взаємодією двох процесів: старіння (руйнівного) та вітакту (підвищує життєздатність організму та надійність його функціонування і не лише передбачає відновлення після ушкоджень, але й значною мірою зумовлений відповідною «профілактикою» через потребу їх упередження).

І серед, безперечно, важливих аспектів комплексної терапії атеросклерозу, серцево-судинних та інших вікових захворювань слід виділити, зокрема, використання ентеросорбції для корекції дисліпопротеїнемій, усунення гіперхолестеринемії, зниження вмісту атерогенних ліпопротеїдів та покращення функціонального стану печінки і шлунково-кишкового тракту в цілому тощо.

Вибираючи ж конкретний потрібний вид ентеросорбенту, варто оцінювати його сорбційні та кінетичні властивості, й особливо селективну дію на усунення різних патологічних порушень. При цьому ефективність методу сорбційної детоксикації під час лікування дисліпопротеїнемій за умов старіння та при наявності серцево-судинної патології слід оцінювати як експериментально, так і на рівні клінічних досліджень.

### 1.9.3.1. Вуглецеві сорбенти медичного призначення

Молекулярні рецептори можуть ковалентно прикріплюватися до поверхонь наночастинок як біосумісного оксиду металу, так і органічного полімеру. В першому з цих випадків наявний тип взаємодії «акцептор/донор» між ароматичними кільцями зв'язаного рецептора і токсину, а в другому – наявна комплексна дія ліофільного токсину всередині зв'язаного циклодекстрину.

Активованій вуглець відомий в якості адсорбента токсинів понад 3 тис. років і досі залишається найпотужнішим та найпоширенішим адсорбентом завдяки розвиненій пористій структурі й великій площі питомої поверхні.

Особливістю більшості з одержаних із синтетичних полімерів очищених активованих форм вуглецю є їхня зразкова біосумісність. У зв'язку з цим слід зазначити, що, як відомо, пористі вуглецеві сорбенти використовують для очищення різних біологічних рідин (наприклад, крові від інфекційних збудників) за наявності імунних хвороб або сепсису – кров'яного отруєння, яке зустрічається у 18 мільйонах випадків щороку і досі не має ефективної терапії з використанням звичайних ліків.

Найважливіша роль при оцінюванні сорбційного потенціалу адсорбентів та їх придатності для вирішення тих чи інших відповідних завдань відводиться пористій структурі, яка складається з мікро-, мезо- і макропор із ефективним радіусом кривизни  $\sim 1,6$ ;  $\sim 1,6\text{--}200$  і  $\sim 200\text{--}1\cdot 10^5$  нм відповідно. Ефективний радіус мікропор порівняний із розмірами низькомолекулярних метаболітів: креатиніну, сечової кислоти, амінокислот тощо. У свою чергу, розміри більшості токсичних сполук, які підлягають видаленню, не перевищують значення діаметра мезопор (перехідних пор), тож наявність добре розвиненої мезопористості може задовольнити більшість завдань із сорбційного очищення організму. При цьому мезо- та макропори виконують, головним чином, функцію транспортних каналів і за наявності сорбції з рідких середовищ сполук із високою молекулярною масою (білків, бактерій і продуктів їх життєдіяльності та ін.) сумарна транспортна пористість має достатній вплив на кінетику адсорбції, бо для таких об'єктів мікро- і частина мезопор недоступні. У цілому ж за адсорбції з рідкої фази значну роль відіграють співвідношення об'ємів пор усіх розмірів  $V_{\text{мі}}/V_{\text{ме}}/V_{\text{ма}}$ , геометрична будова пор та характер їхнього взаємозв'язку, а також наявність відповідності між розмірами молекул речовини, що сорбується, і використовуваною пористою структурою адсорбенту.

У зв'язку з вищенаведеним слід зазначити, що вуглець належить до сумісних із клітинними елементами крові матеріалів. Він не впливає на

протеїни плазми і не змінює активність ферментів крові. Одним із пояснень такої сумісності є той факт, що він адсорбує протеїни крові без зміни їхніх структурних властивостей. Саме тому вуглецеві адсорбенти широко використовують для виведення з плазми крові як органічних, так і неорганічних токсинів.

До числа сорбентів, що відповідають цим вимогам, відносять гранульоване вугілля марки «СКН» і вуглецево-волокнисті матеріали типу АВВМ. Існує, зокрема декілька модифікацій СКН-вугілля, які відрізняються між собою за сорбційними властивостями структури. Так, вони мають високі хімічну стабільність і механічну міцність гранул у широкому діапазоні добре розвиненої пористості, а це визначає їх підвищену сорбційну ємність щодо сполук різної молекулярної маси за їх сорбції з чистих розчинів і біологічних рідин.

### **1.9.3.2. Активовані вуглецеві волокнисті матеріали**

Серед відомих на сьогодні в Україні адсорбентів на основі вуглецю можна виокремити активований вуглецевий волокнистий матеріал на основі природного полімеру (гідратцелюлози) АВВМ «Дніпро-МН», вже згаданий вище синтетичний пірополімер сферичної грануляції на основі полівінілпіролідону (СКН) і кісточкове активоване вугілля (КАВ). Вибір найкращого з цих матеріалів визначається передусім тими їхніми властивостями, які необхідні для використання у тій чи іншій конкретній галузі клінічної практики, неспецифічністю дії та потенційною можливістю створення на його основі комбінованого ентеросорбенту, який дозволив би якнайкраще виявляти особливості дії кожної зі складових обраного для використання матеріалу.

При цьому пористість є однією з найважливіших характеристик, яка визначає структурно-сорбційні та кінетичні властивості адсорбентів. Всі вищенаведені вуглецеві сорбенти мають різну пористу структуру.

Так, АВВМ представлений розвинутою мікро- і супермікропористістю (з незначною кількістю мезо- і практичною відсутністю макропор). На відміну від АВВМ, вугілля КАВ і особливо СКН мають розвинені макро- і мезопористу структури (транспортні пори). Позитивним є й результат мікроскопічного дослідження комбінованих сорбентів складу АВВМ:СКН та АВВМ:КАВ. Наявність же такої зв'язкової речовини, як крохмаль, що найчастіше використовується для створення зручної фармацевтичної форми (таблетки), через його низький вміст не перешкоджає дії сорбційних пор окремих сорбентів на сорбовані речовини.

На сьогодні у цьому контексті більше уваги приділяють вуглецевим матеріалам волокнистої й тканинної структур із такими важливими фізико-хімічними характеристиками, які безпосередньо впливають на поведінку АВВМ при контакті з біологічними середовищами. Зокрема відомо, що ентеросорбенти на основі джгутових і диспергованих вуглецевих волокон перевищують карболен у 1,5–3 рази і кращі за кінетику сорбції та сорбційної ємності щодо екзотоксинів.

Належні сорбційні властивості гранульованого (СКН) та волокнистого (АВВМ) сорбентів якраз і визначають на сьогодні перспективність їх успішного використання для сорбції біологічно активних сполук і метаболітів із молекулярною вагою від декількох десятків до кількох тисяч дальтон.

### 1.9.3.3. Комбіновані сорбенти

Особливості пористої структури адсорбентів визначають специфіку їхніх сорбційних і кінетичних характеристик – що особливо важливо для створення комбінованих ентеросорбентів, чия сорбційна поверхня доступна не лише для низькомолекулярних метаболітів (креатинін, сечова кислота та ін.), але й високомолекулярних сполук (білки та їхні фрагменти, бактерії тощо) [189].

При цьому слід зазначити, що існує тісний взаємозв'язок між старінням і цілою низкою захворювань людини, одним із доказів якого є різке зростання кількості хвороб (атеросклероз, серцево-судинна патологія, злякисні новоутворення, діабет та ін.) саме у похилому віці.

Серед значної кількості чинників, що зумовлюють розвиток, зокрема, атеросклерозу і серцево-судинних захворювань, особливе місце займають дисліпопротеїнемії, які характеризуються змінами у складі й співвідношенні окремих ліпідів і ліпопротеїнів крові.

У зв'язку з цим варто наголосити, що однією з найважливіших характеристик сорбентів медичного призначення є їхня сорбційна ємність щодо різних класів біологічно активних сполук. У більшості профільних робіт на сьогодні показано, що вуглецево-волокнисті сорбенти з розвиненими поверхнями і достатньою кількістю функціональних груп мають у 3–5 разів більшу сорбційну активність стосовно екзогенних токсинів, ніж гранульовані.

Враховуючи ж той факт, що найважливішим у патогенезі атеросклерозу є порушення ліпідного обміну, особлива увага нині приділяється вивченню кінетики сорбції ліпофільних речовин із модельних розчинів гранульованими (СКН і КАВ) та волокнистими

(АВВМ) матеріалами, а також комбінованими ентеросорбентами (КЕС) різного композиційного складу.

У табл. 1.7 наведено порівняння сорбційних властивостей різних вуглецевих сорбентів медичного призначення.

**Таблиця 1.7.** Сорбційні властивості вуглецевих сорбентів медичного призначення

Назва сорбенту	Початкова швидкість адсорбції, мг/г за хвилину:		Максимальна сорбційна ємність, г/г сорбенту	
	холестерину	ліпідів	холестерину	ліпідів
АВВМ	38,8	30,8	222	202
КАВ	2,0	0	136	154
СКН	25,2	2,8	280	182
АВВМ:СКН (1:1)	29,6	25,2	262	239
АВВМ:СКН (2:1)	34,4	48,2	272	286
АВВМ:СКН (9:1)	34,4	45,4	232	251
АВВМ:КАВ (1:1)	23,6	30,8	192	211
АВВМ:КАВ (2:1)	18,0	43,2	228	267
АВВМ:КАВ (9:1)	33,2	35,8	210	240

Сорбенти медичного призначення на основі природних волокнистих матеріалів і синтетичних смол демонструють різні кінетичні властивості стосовно сорбції ліпідів, що дозволяє створювати комбіновані ентеросорбенти з оптимальними властивостями (табл. 1.8).

**Таблиця 1.8.** Вплив ентеросорбції на рівень ліпідів у крові хворих на атеросклероз літнього та старечого віку (М ± м)

Показник	До лікування	Після лікування
ТГ, г/л	2,14 ± 0,11	1,65 ± 0,09
ЗХС, г/л	2,83 ± 0,21	2,35 ± 0,11
ХС ЛПВЩ, г/л	0,46 ± 0,04	0,48 ± 0,28
ХС ЛПНЩ+ЛПДНЩ, г/л	2,38 ± 0,09	1,86 ± 0,08
Апо-В ЛП, г/л	6,10 ± 0,21	4,90 ± 0,12
Апо-В, г/л	1,93 ± 0,08	1,30 ± 0,07

У табл. 1.9 представлено дані щодо впливу ентеросорбенту СКН на вміст ліпідів у крові хворих на ішемічну хворобу серця літнього і старечого віку.

**Таблиця 1.9.** Вплив ентеросорбенту СКН на вміст ліпідів у крові хворих на ішемічну хворобу серця літнього і старечого віку

Показник	Курси лікування	До лікування	Після лікування
ЗХС, г/л	1 курс	2,77 ± 0,23	2,17 ± 0,11
	2 курс	2,36 ± 0,22	2,07 ± 0,08
	3 курс	2,17 ± 0,17	1,72 ± 0,07
Коефіцієнт атеросклерозу	1 курс	5,28 ± 0,34	3,90 ± 0,18
	2 курс	4,01 ± 0,23	2,83 ± 0,21
	3 курс	3,45 ± 0,21	2,51 ± 0,19
ТГ, г/л	1 курс	2,28 ± 0,11	1,74 ± 0,11
	2 курс	2,01 ± 0,13	1,64 ± 0,11
	3 курс	1,69 ± 0,09	1,42 ± 0,08
Апо-В ЛП, г/л	1 курс	6,2 ± 0,15	4,81 ± 0,13
	2 курс	5,23 ± 0,11	4,67 ± 0,12
	3 курс	4,76 ± 0,12	3,71 ± 0,14
Апо-В, г/л	1 курс	1,95 ± 0,07	1,26 ± 0,06
	2 курс	1,34 ± 0,05	1,18 ± 0,07
	3 курс	1,19 ± 0,06	1,15 ± 0,05

#### 1.9.4. Алмазні сорбенти

Як відомо, алмаз має унікальні адсорбційні властивості, і зокрема на фізико-хімічні характеристики, зокрема, нанодисперсного алмазного порошку прямо впливає цільова модифікація його поверхні – тоді як головним недоліком, наприклад, вуглецевих наноматеріалів є недостатня можливість захисту від руйнування саме їхніх поверхонь (що, в свою чергу, потенційно може призводити до неприпустимого забруднення крові). І також, на відміну від вуглецевих адсорбентів, нанодисперсний алмазний порошок хімічно інертніший, стійкіший і легше відновлюваний.

Відомі на сьогодні й експерименти на нанодисперсних алмазних плівках, причому модифікація типу поверхні адсорбенту в цьому випадку помітно впливає на селективну природу адсорбції.

Так, завдяки *тепловій* обробці з активних поверхневих центрів видаляються атоми та їхні домішкові групи і поверхня алмазу набуває гідрофобних властивостей. А, в свою чергу, *електрохімічна* обробка також очищує поверхню алмазного адсорбенту (через взаємодію між активним киснем і аніонами  $\text{ClO}^{-1}$ ) та сприяє її активному насиченню гідроксильними групами – сама ж поверхня набуває гідрофільних властивостей. Обидві ці обробки суттєво покращують адсорбційну здатність алмазу.

І, крім того, алмазні адсорбенти характеризуються селективним адсорбційним механізмом: спочатку поверхня адсорбує переважно катіони важких металів, тоді як ставши гідрофільною – органічні молекули.

### 1.10. Біомедичні нанотехнології у регенеративній медицині

Найбільше застосовують біомедичні нанотехнології у галузях клінічної (при розв'язанні проблем доставки ліків) та регенеративної медицини. Зокрема, наночастинки дозволяють доправляти ліки точно до ураженого місця, одночасно збільшуючи їх ефективність та мінімізуючи побічні ефекти, а також створюючи дедалі нові можливості для контрольованого виведення терапевтичних речовин. Крім того, наночастинки можуть використовуватися для стимулювання вроджених механізмів *регенерації*, до основних завдань якої належать штучна активація та управління дорослими *стовбуровими клітинами*. Отже, одним із напрямів швидкого впровадження досягнень медичних нанотехнологій є їх інтеграція з новими клітинними технологіями, які вже посіли вагоме місце у клінічній медицині.

Так, *тканинна інженерія* останнім часом досягла значного прориву завдяки розширенню можливостей управління регенерацією та ангіогенезом тканини, а також малоінвазивному біоконструюванню форм тканинних протезів із новітніх *біополімерних* матеріалів 4-го покоління, які для стовбурових клітин є живильним середовищем і яким задаються певні властивості й час біодеградації (при цьому враховується додатковий вплив ростових і живильних чинників та заздалегідь визначаються ті чи інші конкретні властивості об'єму тривимірної структури). Зокрема, застосування у зв'язку з цим аутологічних ендотеліоцитів і чинників зростання судин та нових біополімерних каркасів вже відкрило необмежені властивості для *васкуляризації* відновленої тканини. На сьогодні вже розроблено і біодеградовні матеріали (як твердих, так і рідких форм), і відповідні полімери американського та канадського виробництв тощо, причому тканинне оточення тут є визначальним чинником диференціації стовбурових клітин. А, в свою чергу, завдяки нещодавнім американським та італійським дослідженням було доведено, що стовбурові клітини нервів, потрапляючи в організмі у відповідне оточення, перетворюються на спеціалізовані нейрони та формують потрібного типу синапси (зокрема, у кістковому мозку перетворюючись на клітини крові).

На сьогодні запатентовано вже декілька *малоінвазивних* технологій тканинної інженерії. Так, при пошкодженнях головного і спинного мозку

ця інженерія на основі нанотехнологічних клітинно-біополімерних нейроендопротезних систем стає базовою при впровадженні бінарних імуноліпосомних технологій, і зокрема *претаргетингу* чинників зростання нерва. Такий претаргетинг дозволяє в десятки разів підвищити ефективність зростання пошкоджених аксонів і посилити регенеративний потенціал центральної нервової системи людського організму. І ще однією важливою складовою цього технологічного напрямку є можливість застосування аутологічних *гемопоетичних* стовбурових клітин (CD34+) і транспортних імуноліпосомальних наноконтейнерів із вміщеними в них протипухлинними хіміопрепаратами, причому як для терапії гліальних пухлин мозку, так і претаргетингу бінарних *наноімуноліпосомальних* систем, визначальних для діагностики і лікування пухлин як головного, так і спинного мізків.

Нині у низці країн вже запатентовано нові біоінженерні технології як *трансплантації* гемопоетичних стовбурових клітин, так і створення для них біополімерних конструкцій-матриксів (це, зокрема, «Сферогель» тощо), які дозволяють сформувати в ушкодженому мозку штучну нервову тканину. Завдяки такому використанню нанотехнологій для виробництва клітинно-біополімерної нейроендопротезної системи стало можливим створення у цьому імплантаті імунохімічного якора зі специфічних антитіл, на які спрямовано наводяться імуноліпосоми з біологічно активними препаратами (чинниками зростання нервів, адаптогенами тощо). Відповідні протипухлинний засіб на основі імуноліпосомальної біологічної конструкції та спосіб його отримання і векторної доставки в центральну нервову систему при пухлинному процесі вже запатентовано.

### **1.10.1. Головні вимоги до технологій одержання наноматеріалів медичного призначення. Їх використання у регенеративній медицині**

Всі відомі на сьогодні відповідні технології мають як свої переваги, так і деякі недоліки. При цьому головними вимогами до будь-якої такої технології є:

- здатність контролювати розмір частинок, їх форму та розподіл за розмірами;
- відсутність шкідливих домішок та залишків вихідної фази або ж розчинника.

Перелік же вимог до порошків медичного призначення доповнюється в кожному конкретному випадку (залежно від того чи іншого напрямку їх використання). Це, зокрема:

- для носіїв ліків – корозійна стійкість у біосередовищах, біосумісність, здатність адсорбувати та десорбувати ліки тощо;



- для сенсорів – біоінертність;
- при реконструкції кісток і тканин – біорезорбція, яка прискорює утворення нових кісток і зв'язок.

У випадку ж медичного використання саме наноматеріалів додатковою вимогою може бути їх стерильність.

Слід зазначити, що на сьогодні, і зокрема у рамках *регенеративної медицини*, розробляються методи лікування широкого спектру захворювань. На сьогодні найістотніші результати помітні на таких лікувальних напрямках, як боротьба з:

- діабетом;
- серцево-судинними хворобами;
- захворюваннями, пов'язаними з нервовими розладами;
- хворобами очей;
- облісінням.

## **1.11. Можливість шкідливого впливу наночастинок на організм людини**

Наночастинкам (НЧ) приділяють велику увагу, по-перше, завдяки їх використанню у біомедицині, а, по-друге, через їхній вплив на здоров'я людини й довкілля. Так, ціла низка спостережень доводить наявність шкідливої дії НЧ на організм та навколишнє середовище. Відходи виробництва таких наночастинок можуть призводити до їх надмірної концентрації у природних об'єктах, тому існує суттєва імовірність, що людина зазнає відповідного впливу НЧ унаслідок їх потрапляння у тіло через органи дихання й травлення або ж шкірний покрив.

### **1.11.1. Дослідження впливу нанопорошків на здоров'я людини в умовах їх виробництва**

Як встановлено шляхом гігієнічних досліджень [123, 190, 191], при одержанні особливо дрібнодисперсних і нанопорошків тугоплавких сполук основним небезпечним виробничим чинником є утворення аерозолів: спочатку тих, чий хімічний склад відповідає вихідним компонентам, а потім і пилу (із його складом з одержуваних у процесі виробництва порошків). У технологічних приміщеннях утворення аерозолів відбувається за умов подрібнення й змішування компонентів шихт, завантаження й розвантаження барабанів, просіювання порошків, розкриття реакторів та всіх інших технологічних операцій. Вплив аерозолів на організм людини може посилюватися й за підвищених

температур. У табл. 1.10 та 1.11 наведено приклади концентрації аерозолів у робочій зоні під час одержання тугоплавких порошків і покриттів.

**Таблиця 1.10.** Концентрація аерозолів у повітрі робочої зони при одержанні порошку карбонітриду титану і виробів на його основі [192]

Операції	Концентрації, мг/м <sup>3</sup> :		
	мінімальна	максимальна	середня
Завантаження вихідних матеріалів у човники	5,0	25,5	11,7
Вивантаження з човників	6,6	30,2	12,4
Протирання порошку на станку	14,0	48,0	31,1
Змішування	1,0	14,0	6,3

**Таблиця 1.11.** Концентрація аерозолів у повітрі робочої зони при детонаційному нанесенні захисних покриттів із використанням нанопорошків [192]

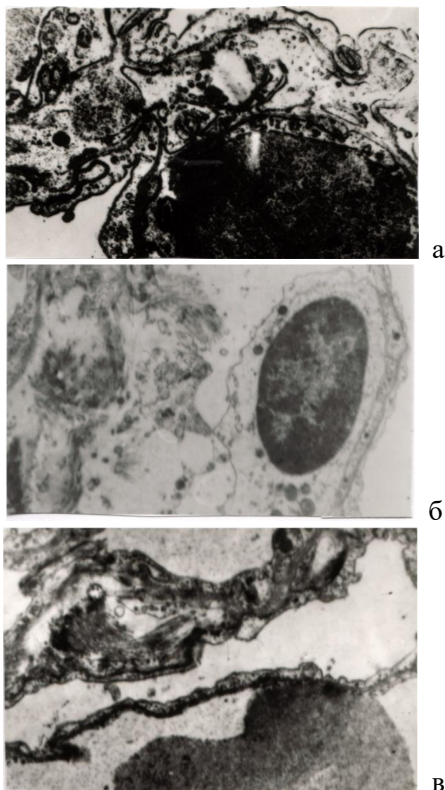
Напилюваний порошок і час відбору проб	Концентрація, мг/м <sup>3</sup>
<u>Карбід хрому за увімкненої вентиляції:</u>	18,0 ± 4,0
через 5 хв після напилення	5,7 ± 1,3
через 10 хв	2,5 ± 0,8
<u>Карбід хрому за вимкненої вентиляції:</u>	–
через 5 хв після напилення	14,7 ± 1,7
через 10 хв	14,0 ± 1,4
<u>Порошок нікелю за увімкненої вентиляції:</u>	13,0 ± 2,8
через 5 хв після напилення	1,2 ± 0,1
через 10 хв	2,5 ± 0,8
через 20 хв	0,4 ± 0,05

На основі наведених результатів, а також цілого комплексу профільних досліджень, проведених *І. Т. Брашновою* з її співробітниками [192], на сьогодні зроблено висновок про те, що головною небезпекою при всіх виробництвах нанопорошків (НП) і подальшій роботі з ними є наявні у повітрі відповідних приміщень їхні аерозолі.

При дослідженні стану здоров'я людей, які працювали з НП [21], було виявлено хвороби верхніх дихальних шляхів (подразнення слизової оболонки, суб- і атрофічні ринофарингіти, прояви астмоїдного бронхіту і пневмоконіозу – захворювання респіраторного тракту), у серцево-судинній системі помірні патології спостерігали також після тривалого контакту з НП, а у крові пацієнтів помічено помірну – до 9% еозинofilію

(рентгенографічні знімки відобразили невеликі посилення і деформацію легеневого рисунка).

Дослідами ж на щурах, яким вводили інгаляційно НП аморфного бору, боридів титану, цирконію і хрому, встановлено, що вміст оксипроліну в легеневій тканині через 3 місяці після початку експерименту підвищувався на 36% (за посиленого біосинтезу аскорбінової кислоти), а через 6 міс. було досягнуто позначки 171,6%. У легневих же тканинах спостерігалися скупчення значної кількості аерозолів у міжальвеолярних перегородках, альвеолах та перібронхіальних лімфатичних вузлах, а внаслідок цього – помірний дифузний фіброз навколо бронхів. Подібні явища спостерігали і при введенні білим щурам НП нітридів кремнію (рис. 1.22) [189, 193].



*а* – через один місяць (x10000); *б* – через 3 міс. (x7000);  
*в* – через півроку (x7000)

**Рис. 1.22.** Структура легеневої тканини білого щура після введення плазмохімічного нанопорошку нітриду кремнію

Таким чином, за результатами чималої кількості профільних досліджень встановлено, що головним наслідком впливу дисперсного пилу виробничих приміщень у вигляді аерозолів малорозчинних неорганічних сполук [192, 194–196] є розвиток пневмоконіотичних змін, що характеризуються розростанням у легенях з'єднувальних тканин і порушеннями дихання та інших функцій організму.

Загалом аерозолі нанорозмірних (50–60 нм) порошків володіють значно більшою, порівняно зі звичайними порошками тих самих сполук, токсичністю [192]. Їхній вплив на організм людини не лише залежить від хімічного складу, а й визначається електронною структурою і міцністю хімічних зв'язків та їх дисперсністю.

Відповідно, за характером загальнотоксичного і пневмоконіотичного впливів аерозолі НП тугоплавких сполук (ТС) поділяють на 3 групи [192].

Першу з них складають аерозолі нанопорошків ТС *d*-перехідних металів, що утворюються внаслідок електронного обміну між атомами металів і неметалів (карбіди вольфраму й молібдену, карбонітрид хрому тощо) з поліморфною мікроструктурою частинок. Ці аерозолі характеризуються переважно хронічною токсичною дією, пов'язаною з порушеннями білкового і нуклеїнового обмінів та окисно-відновних процесів, дистрофічними змінами у печінці, порушеннями функцій ендокринних та інших органів, а також розвитком пневмоконіозу (із зумовленою порушеннями колагеноутворення пониженою фіброгенною активністю).

До другої групи відносять аерозолі НП таких сполук, як карбіди бору і кремнію та нітриди кремнію й алюмінію з поліморфною октаедричною мікроструктурою частинок, зумовленою утворенням *sp*- і *sp*<sup>3</sup>-конфігурацій. Таким аерозолям приатаманні слабкі загальнотоксичний та фіброгенний впливи, помірні запально-проліферативні реакції та утворення клітково-пилових вузлів у легенях на ділянках аерозольної локалізації.

Третю ж групу складають аерозолі НП сполук неметалів із міцними ковалентними зв'язками, зумовленими утворенням стабільних *sp*<sup>3</sup>-конфігурацій із волоконно-голчастою мікроструктурою частинок (SiC, TiB<sub>2</sub>, V<sub>4</sub>C–TiB<sub>2</sub>, Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>). Ці аерозолі викликають ураження бронхолегеневого апарату, і передусім за рахунок механічної дії на слизову оболонку бронхів та альвеол й утворення поліпів і аденом (тобто вони чинять канцерогенний вплив).

Під впливом же гідридів *d*- і *f*-перехідних металів спостерігаються порушення вмісту РНК і ДНК у легенях і печінці. Водночас, слід зазначити, що токсичність гідридів *d*-перехідних металів зменшується зі збільшенням вмісту стабільних електронних *d*<sup>5</sup>-конфігурацій [197].

Особливе місце серед тугоплавких сполук належить селенідам перехідних металів. Згідно з роботою [198], низка сполук селену (включно з аморфним) володіє значним токсичним ефектом і може викликати гострі й хронічні отруєння: за селенової інтоксикації спостерігаються симптоми ураження нервової системи (дратівливість, головний біль, порушення сну) і запалення легенів, а також бронхіти й порушення діяльності серцево-судинної та ендокринної систем.

Головними показниками токсичності НМ є порушення стану білкового і нуклеїнового обмінів. Відповідні метаболічні процеси у живому організмі розглядаються залежно від електронної донорно-акцепторної взаємодії головних хімічних елементів клітинних структур, причому основним акцептором тут є вуглець, який взаємодіє із киснем, утворюючи СО–ОН-групу [199]. Крім того, слід зазначити, що клітина має значну кількість вільних електронів, які можуть бути донорами при проходженні донорно-акцепторних реакцій, тоді як акцепторів у вигляді СО-групи мало, а також що у білку в кожному пептиді є СО- та NH<sub>2</sub>-групи і згаданий донорно-акцепторний механізм взаємодії молекул включає в якості складової перенесення зарядів.

Елементи С, N, H, O для організму є попередниками і будівельними блоками, що надходять до нього ззовні у вигляді діоксиду вуглецю, води та атмосферного азоту, а вже з цих блоків, натомість, створюються різні білки та нуклеїнові кислоти. Кількісні зміни цих сполук у клітинах призводять, порівняно з нормальною кількістю, до патології і супроводжуються порушеннями ієрархії молекулярної організації [192].

Одним із найважливіших будівельних блоків у біосистемах є вода. За рахунок гідратації та участі у виникненні міцел колоїдних розчинів вона утворює структурні елементи, цементує водневі зв'язки між окремими частинками й елементами клітин, збуджує молекули органічних речовин, забезпечує електронну провідність та рух електронів і забезпечує потрібне рН середовища, від якого залежить робота різних біологічних систем (білків, ферментів, буферних систем тощо) [200].

Існує багато експериментів, у яких проаналізовано проникнення мікро- і нанорозмірних частинок усередину клітини. Це явище властиве клітинам ендотелію, епітелію легень і шлунку, макрофагів, нервових та низки інших клітин [201], причому наночастинки можуть просто абсорбуватися на поверхнях клітинних мембран, метаболізувати у клітинах і деградувати, спричинюючи цитотоксичний ефект.

Частинки нанометрового діапазону можуть потрапляти до організму людини, окрім вдихання через пил, також і через шлунок та кишечник. Припускають, що деякі частинки можуть глибоко проникати у шкіру. Відмінності ж у поглинанні залежать від величини та поверхневих

властивостей НЧ, а також від точок контакту в шлунку, кишечнику та на шкірі, причому після проникнення розподіл частинок в організмі значною мірою залежить від їхніх поверхневих характеристик [202].

Процес поглинання НЧ супроводжується відповідними змінами у механічних властивостях клітин [203]. У досліджах як *in vivo*, так й *in vitro* показано, що ендотеліальні клітини кровеносних судин змінюють свої морфологічні та біохімічні показники у відповідь на механічний стрес. При цьому відбуваються також значні деформації клітинних мембран.

Як виявилось, механічні сили (у т.ч. й ті, що притаманні процесам взаємодії з НЧ) змінюють не лише цитологічні, а й біохімічні властивості тканин і клітин, до яких їх прикладено. Встановлено, що ціла низка клітин містить спеціальні іонні канали, які, відповідно, активуються або ж інактивуються механічною напругою мембрани, причому їхня активність, можливо, пов'язана зі змінами у клітинній біохімії [204]. Окрім того, у підданих дії механічної напруги клітинах спостережено збільшення концентрації циклічного аденозин-3'-, 5'-монофосфату (цАМФ) [205]. Доведено також, що безпосередньо відповідає за передачу механічного сигналу через клітинну мембрану до цитоскелету аденилатциклаза [206].

Епідеміологічні ж дослідження підтверджують, що НЧ можуть діяти як важливий чинник ризику з боку довкілля, який викликає смертність від кардіопульмонологічних захворювань [201]. Підвищений ризик таких захворювань при використанні наноматеріалів (НМ) потребує специфічних досліджень, які необхідно проводити стосовно кожної з новостворених НЧ. Дослідники вважають, що не існує універсальної НЧ, яка вбудовувалася б в організм у всіх випадках однаково, тож кожен НМ вивчають індивідуально, визначаючи ступінь ризику його впливу на здоров'я людини. Перед промисловістю ж, яка виробляє НМ для медицини, стоїть завдання створити відповідні тести для аналізу НЧ на предмет оцінки ступеню ризику їх практичного використання, причому особливої уваги потребують наночастинки, створені для доставки ліків до організму людини або ж як компоненти їжі.

При цьому ані токсичність, ані її відсутність не повинні вважатися універсальною особливістю НМ. Дослідники одностайні в тому, що ця проблема потребує подальшого опрацювання. Слід розробляти нові експериментальні пристрої на стику біології і матеріалознавства, а також необхідно визначити найважливіші параметри ідентифікації токсичності та її рівня і методи точного встановлення одержаної дози токсинів. Відібрані ж для тестування на токсичність проби мають бути специфіковані за такими параметрами, як: хімічний склад для усіх компонентів, що мають вміст понад 0,1 мас.%; питома площа поверхні;

текстура; рівень кристалічності. Результати такого тестування враховуватимуться у процесі удосконалення технологій виробництва НМ.

І також слід зазначити, що сукупність процесів, які зумовлюють взаємодію лікарської речовини й організму, визначають як систему «організм –лікарський засіб». Вивчення цієї системи у комплексі з її взаємодією із навколишнім середовищем якраз і є методологічною основою сучасної фармакології.

### **1.11.2. Швидкі методи оцінювання можливої реакції організму на наночастинки**

У зв'язку з розвитком нових галузей виробництва НМ виникла необхідність у створенні методів швидкої оцінки і прогнозування токсичності різних сполук при їх потраплянні в організм, а також у розробці відповідних способів детоксикації. До таких швидких методів попередньої оцінки можливої реакції живого організму на НЧ, які потрапляють до нього, можна віднести експерименти *in vitro* з дослідження процесів взаємодії НЧ із середовищами живого організму та наближеними до них за параметрами неорганічними середовищами.

#### **1.11.2.1. Порівняння процесів взаємодії ГАП різної дисперсності з плазмою крові**

Як біологічні середовища для дослідження процесів взаємодії ГАП із середовищами живого організму, зокрема, у роботах [193, 207–213] було використано:

- плазму крові людини, яка складається з 90–91% води та 9–10% сухого залишку, що містить до ~7% білків (4–4,5% альбуміну, 2,8–3,1% глобуліну й 0,1–0,4% фібриногену) та ~0,9% неорганічних солей, решту ж складають небілкові органічні сполуки (глюкоза, ліпіди, жироподібні речовини тощо);
- модельний розчин шлункового соку (ШС), виготовлений із консервованого 0,03–0,04% саліцилової кислоти ШС людини, в якому адсорбентами осаджено в'язкі речовини (виробник – вітчизняне ТОВ «Біофарма»). Цей розчин містить усі складові шлункового соку в необхідних концентраціях: соляну кислоту – 160 ммоль/л (0,3–0,5%); бікарбонати  $\text{HCO}_3^-$  – 45 ммоль/л, а також ферменти пепсин і пепсиноген.

Як неорганічні середовища використано дистильовану воду і фізіологічні розчини різного сольового складу: 0,9% NaCl; розчин Рінгера (у г/л): NaCl – 8,6; KCl – 0,3; CaCl<sub>2</sub> – 0,33; розчин Рінгера–Локка (г/л):

натрію хлориду – 9,0; натрію гідрокарбонату, кальцію хлориду та калію хлориду – по 0,2; глюкози – 1; розчин Рінгера–Тіроде (г/л): NaCl – 7,89; KCl – 0,3; CaCl<sub>2</sub> – 0,28; MgCl<sub>2</sub> – 0,2; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,63; глюкози – 1,98. У деяких дослідах в якості неорганічних середовищ застосовано розчини NaOH (рН = 7,4 і відповідає рН плазми крові) та HCl (рН = 2,0, відповідаючи рН шлункового соку). Згідно з результатами цих проведених в ІПМ експериментів, для порошоків ГАП було встановлено різні характери взаємодії нанопорошків і крупнодисперсного порошку з плазмою крові (у табл. 1.12 представлено дані щодо взаємодії з нею порошоків ГАП різної дисперсності) [214].

**Таблиця 1.12.** Вміст кальцію і фосфору в зразках після 100 годин взаємодії порошоків ГАП із плазмою крові людини

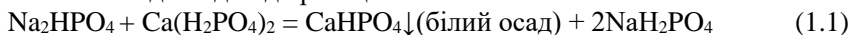
Питома поверхня порошку $S_{\text{питт}}$ , м <sup>2</sup> /г	Середній розмір частинок, нм	Концентрація у плазмі крові після взаємодії, ммоль/л:	
		кальцію*	фосфору**
0,2	500	3,0	1,22
18	120	2,0	0,81
30	60	1,0	0,49
110	15	1,0	0,46

\* концентрація кальцію у плазмі крові – 2,5 ммоль/л

\*\* концентрація фосфору у цій самій плазмі – 0,85 ммоль/л

Згідно з даними табл. 1.12, у результаті взаємодії порошку ГАП ( $S_{\text{питт}} = 18 \text{ м}^2/\text{г}$ ) у фільтраті плазми крові кількість кальцію зменшилася на 0,5 ммоль/л, а фосфору – на 0,04 ммоль/л, тоді як після взаємодії з нанопорошками ( $S_{\text{питт}} = 30$  і  $110 \text{ м}^2/\text{г}$ ) – на 1,5 ммоль/л кальцію та 0,36 і 0,39 ммоль/л фосфору відповідно. Водночас, крупнодисперсний порошок ( $S_{\text{питт}} = 0,2 \text{ м}^2/\text{г}$ ) частково розчинився у плазмі крові: з навески цього порошку, навпаки, перейшло у розчин 0,5 ммоль/л кальцію та 0,37 ммоль/л фосфору.

Як відомо ж із роботи [217], наявна у слабколужному розчині плазми крові (рН = 7,35–7,47) суміш гідрофосфату натрію Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> з NaOH є класичною буферною системою, що забезпечує певну концентрацію іонів H<sup>+</sup> (кислотність середовища). А оскільки вихідне значення рН у такій системі дорівнює 11,5, зсув кислотно-лужної рівноваги в утвореній іонами HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> і HPO<sub>4</sub><sup>-</sup> фосфатній буферній системі за наявності іонів Ca<sup>2+</sup> має здійснюватися відповідно до реакції:



За тривалого витримування осад CaHPO<sub>4</sub> стає кристалічним і утворюються позбавлені кольору частинки. Незворотна реакція (1.1)

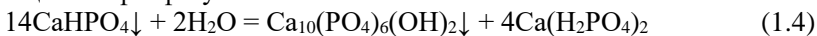


спричинює збільшення у плазмі крові вмісту  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ -іонів за рахунок зниження концентрації  $\text{HPO}_4^{2-}$ -іонів, а в кінцевому підсумку це призводить до значного зменшення рН внаслідок істотної різниці між величинами констант дисоціації  $K_1$  і  $K_2$  ( $K_1 \gg K_2$ ):



Таким чином, осад  $\text{CaHPO}_4$  утворюється у значних кількостях на частинках нанопорошків ГАП і зовсім не формується у випадку 100-годинної взаємодії із плазмою крові крупнодисперсного порошку з  $S_{\text{пит}} = 0,2 \text{ м}^2/\text{г}$ .

Існує й термодинамічна імовірність поступового розкладу водою солі двозаміщеного фосфату кальцію (з утворенням ГАП), а також його однозаміщеного фосфату:



Таким чином, під час проходження вищерозглянутих хімічних реакцій принципово можливим є перехід додаткових кількостей кальцію та фосфору у розчин за рахунок утворення добре розчинної сполуки  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ .

Утворення шару гідрофосфату кальцію  $\text{CaHPO}_4$  на поверхні нанокристалічних порошків ГАП засвідчує, окрім зростання маси наважки (див. вище табл. 1.12), ще й зміни в інфрачервоному ІЧ-спектрі НП унаслідок тривалої взаємодії з плазмою крові.

Як видно з наведеної на рис. 1.23 спектрограми [216], на вихідному зразку ГАП наявні смуги поглинання у діапазонах частот:

$\nu = \sim 3700\text{--}3300 \text{ см}^{-1}$  для валентних О–Н-коливань;

$\nu = \sim 1600\text{--}615 \text{ см}^{-1}$  – деформаційних О–Н-коливань,

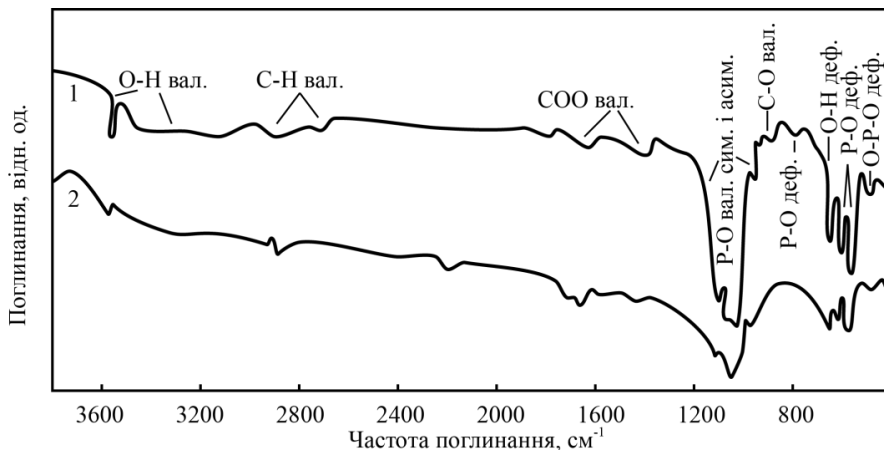
а також інтенсивні смуги поглинання в області  $\nu = \sim 1200\text{--}900 \text{ см}^{-1}$ , які належать до валентних – відповідно, анти- і симетричних – коливань зв'язків Р–О у фосфатній групі (тоді як смуги в області  $\nu = \sim 700\text{--}400 \text{ см}^{-1}$  відповідають аналогічним деформаційним колюванням). Окрім того, на поверхні спостерігаються адсорбовані С–Н- і С–О-групи.

Для зразка ж після взаємодії бачимо падіння інтенсивності смуг поглинання ГАП (що пов'язано з утворенням сполуки  $\text{CaHPO}_4$  після взаємодії з плазмою крові), а також зникає смуга в області  $1065 \text{ см}^{-1}$ , характерна для коливань іону  $\text{PO}_4^{3-}$ , зв'язаного з кальцій-іоном.

При цьому саме завдяки утворенню на поверхні частинок ГАП шару  $\text{CaHPO}_4$  суттєво зменшується інтенсивність смуги інфрачервоного спектру в області  $575 \text{ см}^{-1}$ , яка характеризує деформаційні О–Р–О-колювання молекули  $\text{CaHPO}_4$  (рис. 1.23).

Різний характер взаємодії нанопорошку (НП) і крупнодисперсного порошку ГАП із плазмою крові – і, зокрема, утворення на поверхні

нанодисперсних частинок  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  своєрідного «покриття» з гідрофосфату кальцію  $\text{CaHPO}_4$  – пояснюється підвищеною активністю НЧ.



1 – вихідний; 2 – після взаємодії з плазмою крові людини

**Рис. 1.23.** Інфрачервоні спектри нанопорошку ГАП із питомою поверхнею  $110 \text{ м}^2/\text{г}$

Це, вочевидь, відбувається за рахунок підвищеної дефектності цих частинок та відповідного часткового розупорядкування структури ГАП.

У результаті фільтрування розчинів, після 100 годин взаємодії чотирьох вищенаведених типів порошоків ГАП із плазмою крові та проведення хімічних аналізів на вміст кальцію і фосфору (причому як осадів, так і фільтратів), а також після багаторазового промивання відповідних осадів дистильованою водою в ПІМ НАН України було встановлено, що на поверхні НП (за  $S_{\text{пит}} = 18, 30$  і  $110 \text{ м}^2/\text{г}$ ) на зовнішньому шарі  $\text{CaHPO}_4$  утворюється плівка кальцію.

І також було встановлено, що зовнішній шар тут містить сполуки лимонно-жовтого кольору з великою молекулярною масою, тоді як порошок із  $S = 0,2 \text{ м}^2/\text{г}$  практично зберігає морфологію вихідного зразка і характеризується дещо меншим середнім розміром частинок (~400 нм).

Проведений в ПІМ із використанням електрофорезу аналіз білків плазми крові (з розподілом на такі їхні фракції, як альбуміни, група глобулінів та фібриноген) довів відсутність альбумінів у розчині після взаємодії цієї плазми з нанодисперсними порошками. А, водночас, встановлено наявність усіх вищезгаданих білкових фракцій у плазмі після взаємодії з крупнодисперсними порошками ГАП [215].

Альбуміни – як основні білки плазми крові, що складають 55–60% усієї білкової маси і мають вільну сульфгідрильну (-SH) групу, –

зв'язуються із  $\text{Ca}^{2+}$ -іонами цієї плазми завдяки каталітичному впливу поверхневого шару  $\text{CaHPO}_4$ . Водночас, механізм такого селективного каталізу вельми складний (передусім через характер механізму забезпечення кислотно-лужної рівноваги на межі контакту між багатошаровим нанопорошком та біосередовищем).

Таким чином, знання процесів взаємодії нанопорошків ГАП із плазмою крові людини має практичну цінність у зв'язку з необхідністю вирішення однієї з важливих проблем створення порошкових матеріалів біомедичного призначення – виявлення механізму розростання та диференціації на ГАП остеобластичних клітин.

### 1.11.2.2. Дослідження взаємодії нанодисперсного ГАП і КАП із фізрозчинами

Відомо, що з метою наближення складових імплантаційного матеріалу до натурального складу кістки до ГАП додають карбонатапатит (КАП) типу А.

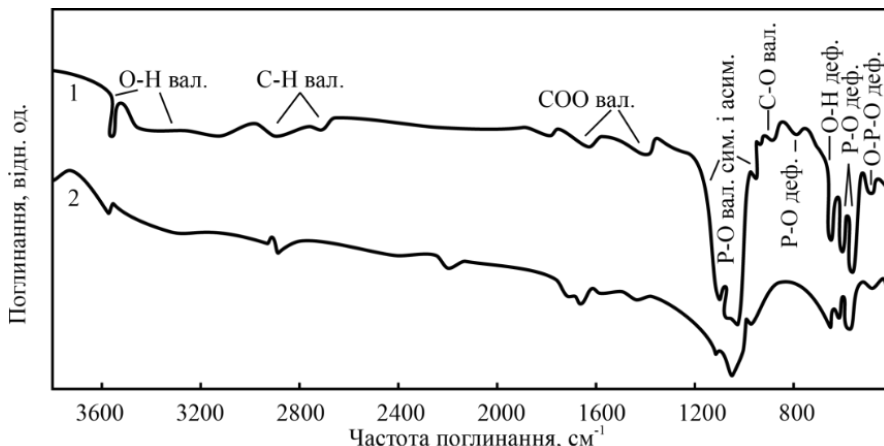
Саме тому, аби мати змогу ефективно оцінити переваги того чи іншого складу матеріалу імплантату, доцільно дослідити взаємодію ГАП і КАП із середовищами живого організму, й зокрема з розчинами Рінгера-Локка та Тіроде (див. відповідні дані у табл. 1.13) [214].

**Таблиця 1.13.** Взаємодія ГАП і КАП із фізіологічними розчинами

Тип зразка	Розчин	$S_{\text{питг}}$ ГАП, $\text{м}^2/\text{г}$	Концентрація у фізіологічних розчинах після взаємодії, ммоль/л:		Фазовий склад продуктів взаємодії
			кальцію	фосфору	
ГАП	Рінгера-Локка	30	0,50	0,38	ГАП, $\text{CaCO}_3$ , $\text{CaHPO}_4$
ГАП	Рінгера-Локка	110	0,50	0,41	ГАП, $\text{CaCO}_3$ , $\text{CaHPO}_4$
КАП	Рінгера-Локка	110	1,50	0,25	КАП, $\text{CaCO}_3$ , $\text{CaHPO}_4$ , $\text{Ca}(\text{OH})_2$
ГАП	Тіроде	30	0,50	0,22	ГАП, $\text{CaCO}_3$ , $\text{CaHPO}_4$
ГАП	Тіроде	110	0,25	0,50	ГАП, $\text{CaCO}_3$ , $\text{CaHPO}_4$
КАП	Тіроде	110	3,50	0,20	КАП, $\text{CaHPO}_4$ , $\text{Ca}(\text{OH})_2$

А, в свою чергу, на рис. 1.24 представлено одержані ІЧ-спектри вихідних порошків ГАП і КАП ( $S_{\text{питг}}=110 \text{ м}^2/\text{г}$ ), а також ГАП, що вступили

у взаємодію з розчином Тіроде, та КАП після взаємодії з розчинами Рінгера–Локка і Тіроде [214].



**Рис. 1.24.** ІЧ-спектри: вихідних порошків ГАП (1) і КАП типу А (3); ГАП після взаємодії з розчином Тіроде (2); КАП після взаємодії з розчином Рінгера–Локка (4)

Як свідчать наведені на рис. 1.24 дані, витримування порошків КАП у розчині Тіроде спричинює утворення на їхніх поверхнях  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , тоді як інші смуги практично не змінюються.

Таким чином, при взаємодії з фізіологічними розчинами, що не містять органічних компонентів (полісахаридів і білків), в експерименті одержано дані про ступені руйнування речовини кістки (більшою мірою КАП) за контакту її поверхні з тканинними рідинами організму. Це порушення цілісності кістки, яке, по-суті, моделює явище остеопорозу, має (як видно з табл. 1.13) супроводжуватися також і небажаним відкладенням кальційвмісних солей ( $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaHPO}_4$ ). Оскільки ж у клінічній практиці воно має місце лише за патологічного (чи вікового) порушення обмінних процесів в організмі, то й однією з головних причин патології міжклітинної речовини кісткової тканини, поза сумнівом, є послаблення дії як інгібіторів із боку полісахаридів і білків, що разом з електролітами входять до складу тканинних фізіологічних рідин.

У зв'язку з цим у роботі [214] робиться припущення, що зазвичай у живому організмі має місце інгібування процесу руйнування (розчинення) як ГАП, так і КАП полісахаридами й білками, що відбувається за рахунок практично повного блокування поверхні кістки шаром високомолекулярних органічних речовин.

### 1.11.3. Дослідження процесів взаємодії порошків заліза різної дисперсності з фізіологічними розчинами

Залізо є важливим елементом, необхідним для розвитку організмів людини і тварин, а його дефіцит викликає зниження як ваги, так і формування і розвитку розумової діяльності у дітей, а також пригнічує працездатність дорослих людей. На сьогодні третина населення Землі страждає від різного типу анемії. Одним зі шляхів вирішення цієї проблеми є введення препаратів на основі заліза у якості дрібнодисперсного порошку в харчові продукти щоденного користування.

У світовій практиці в якості харчових добавок використовують карбонільне, електролітичне та відновлене залізо [216], причому безпосередньо в останні роки великий інтерес викликає питання дослідження процесів засвоєння різних форм заліза організмом людини [217] і вироблено два основні методи оцінювання його біологічної активності:

*in vivo* (дослідження проводять на лабораторних тваринах, у яких моделюють анемію, або ж на хворих людях);

*in vitro* (досліджують стійкість залізного порошку в розведеній соляній кислоті у якості аналогу ШС).

Цим методом користуються такі відомі світові фірми з випуску харчових добавок, як «OMG» (США), «Höganäs» (Швеція), «OMP» (Канада) та «Industrial Metal Powders» (Індія).

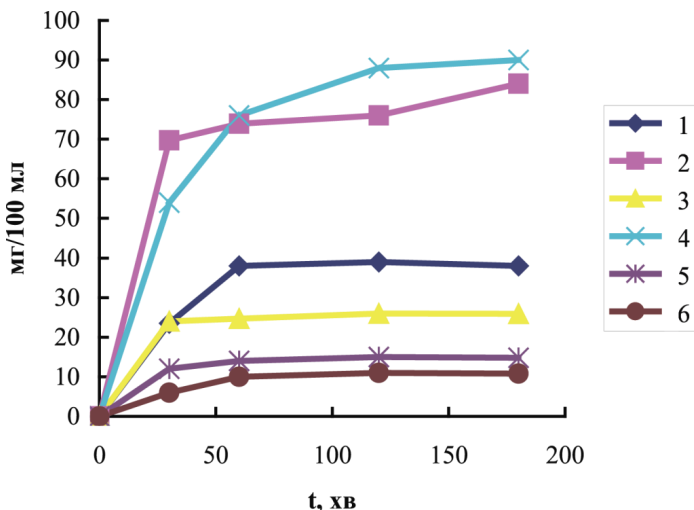
Зокрема, у роботі [211] проаналізовано поведінку порошків заліза за різних методів їх виготовлення і рівнів дисперсності у модельних розчинах ШС із метою подальшого використання в якості харчових добавок.

У зв'язку з цим у табл. 1.14 і на рис. 1.25 наведено дані про досліджувані порошки та їхню розчинність за різних температур і часу витримування у модельному розчині ШС, що містить 5,5 г/л соляної кислоти та 1,25 г/л свиного пепсину, а також у 0,01%-у розчині HCl та дистильованій воді.

Авторами роботи [211] встановлено, що у дистильованій воді стійкими були і синтезований за температури 830 °C порошок, і марки АНС 100.29, тоді як у 0,01%-му HCl і модельному розчині ШС обидва вони повільно розчинялися протягом 180 хв (рис. 1.25, криві 5, 6), причому інтенсивність розчинення порошків, одержаних методом розкладання/відновлення оксалатних солей, вища порівняно із запропонованими фірмою «Höganäs».

**Таблиця 1.14.** Загальний вміст заліза у фільтраті біологічних і неорганічних середовищ після взаємодії з досліджуваними порошками

Порошок: фазовий склад, мас. %; питома поверхня, м <sup>2</sup> /г	Середовище	Кількість заліза у фільтраті, мг/100 мл			
		30 хв	60 хв	120 хв	180 хв
марка АНС 100.29; 99,96 α-Fe; 0,9 м <sup>2</sup> /г	H <sub>2</sub> O <sub>дисг</sub>	0	0	0	0
	0,01% НСІ	9,3	11,08	12,4	11,6
	модельний розчин шлункового соку	5,01	8,7	10,65	10,69
96,2 α-Fe + 3,8 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ; 1,0 м <sup>2</sup> /г	H <sub>2</sub> O <sub>дисг</sub>	0	0	0	0
	0,01% НСІ	12,51	14,02	15,01	5,5
	модельний розчин шлункового соку	6,12	10,05	11,24	11,93
93 α-Fe + 7 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ; 7,22 м <sup>2</sup> /г	H <sub>2</sub> O <sub>дисг</sub>	0	0	0	0
	0,01% НСІ	23,45	39,27	38,58	37,66
	модельний розчин шлункового соку	69,7	73,92	75,07	89,81
20 α-Fe + 80 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ; 8,26 м <sup>2</sup> /г	H <sub>2</sub> O <sub>дисг</sub>	0,35	0,35	0	0
	0,01% НСІ	24,02	24,72	26,25	25,98
	модельний розчин шлункового соку	54,51	76,23	79,36	79,51



**Рис. 1.25.** Кінетика розчинення порошків у 0,01%-му НСІ (криві 2, 3) і модельному розчині ШС (криві 1, 4–6); криві: 1, 2 – синтезований за температури 390 °С порошок (H<sub>2</sub>); 3, 4 – 300 °С (H<sub>2</sub>); 5 – одержаний за 830 °С (вуглецьвмісне середовище); 6 – порошок марки «АНС 100.29»

Так, загальний вміст заліза у фільтраті модельного розчину ШС після взаємодії з синтезованими за 830 °С із солей Fe-оксалатів порошками складає: через 60 хв – 10,05 мг/100 мл; 120 хв – 11,24 мг/100 мл. У порошок марки «АНС 100.29» він дорівнює 8,7 і 10,65 мг/100 мл відповідно (табл. 1.25).

Не менш важливою проблемою, що пов'язана з використанням магнітних матеріалів на основі заліза в якості носіїв для спрямованої доставки медичних препаратів, є вивчення їх взаємодії з кров'ю (так, у табл. 1.15 наведено дані щодо такої взаємодії НП на основі заліза з плазмою крові та водою) [207].

**Таблиця 1.15.** Загальний вміст заліза у фільтратах плазми крові та у воді

Порошок: фазовий склад (мас.%); питома поверхня, м <sup>2</sup> /г	Середовище	Питома поверхня S <sub>пит.</sub> , м <sup>2</sup> /г	Кількість загального заліза у фільтраті, мг/100 мл
93 α-Fe + 7 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ; 7,22 м <sup>2</sup> /г	H <sub>2</sub> O <sub>дист</sub>	7,22	0,45
	плазма крові	7,89	135,71
20 α-Fe + 80 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ; 8,26 м <sup>2</sup> /г	H <sub>2</sub> O <sub>дист</sub>	8,26	0,22
	плазма крові	8,45	84,34
96,2 α-Fe + 3,8 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ; 1,0 м <sup>2</sup> /г	H <sub>2</sub> O <sub>дист</sub>	1,0	0,57
	плазма крові	1,6	187,53
Розпилений порошок заліза: α-Fe; 0,22 м <sup>2</sup> /г	H <sub>2</sub> O <sub>дист</sub>	0,22	7,39
	плазма крові	0,26	130,25
Карбонільне залізо: α-Fe особливо чисте; 0,75 м <sup>2</sup> /г	H <sub>2</sub> O <sub>дист</sub>	0,75	7,32
	плазма крові	1,8	183,13

Як видно з даних табл. 1.15, у воді сильно окиснюються лише порошки карбонільного заліза та розпилені (з питомою поверхнею до 1 м<sup>2</sup>/г). Найстійкішим же у плазмі крові людини є НП із фазовим складом (у мас.%) 20 α-Fe і 80 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> та питомою поверхнею 8,26 м<sup>2</sup>/г. Більш активно ж взаємодіють з плазмою крові порошки з підвищеним вмістом заліза, але механізм цієї взаємодії може бути різним.

У роботі [36] у зв'язку з цим припускається, що НП на основі Fe легко зв'язуються з білками крові (феритином і трансфериним), утворюючи залізо-білкові комплекси. Для крупнодисперсних же порошоків марки ПЖРВ 3.200.26 і карбонільного Fe переважають процеси корозії з утворенням гідратних форм оксидів заліза Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·nH<sub>2</sub>O і [(FeO·Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)·nH<sub>2</sub>O] – із подальшим гідролізом та утворенням Fe(OH)<sub>3</sub>.

На пояснення цього у роботі [211] робиться припущення, що на поверхні НЧ порошку наявні оксиди (а, можливо, й карбіди заліза або вуглецева оболонка), з якими пепсин і соляна кислота вступають у реакції, утворюючи солі. При цьому в неорганічних розчинах, які містять лише соляну кислоту, можливі два паралельні процеси: розчинення Fe соляною кислотою та утворення гідратних форм оксидів заліза  $Fe_2O_3 \cdot nH_2O$  і  $[(FeO - Fe_2O_3) \cdot nH_2O]$  з подальшим утворенням, під час гідролізу,  $Fe(OH)_3$ . Такий гідроксид є достатньо нестійкою сполукою, яка швидко втрачає воду і переходить у  $Fe_2O_3$  (не захищаючи поверхню цього останнього від подальшого окиснення). У цілому ж окисні процеси проходять повільніше порівняно із взаємодією Fe з соляною кислотою (СК), а наявний у модельному розчині ШС протеолітичний фермент пепсин активується за наявності СК й активно взаємодіє з Fe-порошками, утворюючи солі заліза.

Таким чином, синтезовані за 390 і 300 °C у середовищі водню НП значно активніше (порівняно з порошками марки АНС 100.29) взаємодіють із модельним розчином ШС, а це робить їх перспективними при створенні харчових добавок на основі порошоків заліза. Так, терапевтична доза розроблених із метою профілактики залізодефіцитних анемій таких порошоків має бути практично вдвічі нижчою, ніж у марки АНС 100.29. Крім того, за даними рентгенофазового аналізу, при взаємодії з біологічними і неорганічними середовищами у твердих залишках порошоків не утворюються шкідливі для організму людини побічні продукти.

Порошок, одержаний методом розкладання/відновлення солей оксалатів заліза за 390 °C у середовищі водню (з фазовим складом, у мас. %: 93  $\alpha$ -Fe і 7  $Fe_3O_4$ ) було досліджено в якості потенційної кормової добавки в експерименті *in vivo*. Аналіз проводили на курчатах-бройлерах класу «Хаберт» на базі експериментального пташника Харківської державної зооветеринарної академії [211]. Порошок змішували з комбікормом у кількостях 1 і 20 мг на кілограм корму, а птиці контрольної групи отримували комбікорм без додавання феромагнетика. Тривалість експерименту становила 38 днів.

Досліджували клінічний стан, виживаність і приріст живої маси, гематологічні та деякі біохімічні показники курчат-бройлерів, а після забою – стан внутрішніх органів, ветеринарно-санітарні оцінки стану білого та червоного м'яса й дані щодо вмісту Ca, P і Fe. При цьому використовувалися загальноприйняті у ветеринарній медицині методи досліджень.

Динаміка середньодобового приросту (в грамах) живої маси піддослідних курчат-бройлерів порівняно з контрольною групою засвідчила активний вплив добавок НП на приріст живої маси протягом



усього часу проведення експерименту. У птиці, що отримувала з їжею НП феромагнетика в концентрації 1 мг на 1 кг комбікорму, збільшення приросту ваги за 15 днів становило 1,19 разу; з 15 до 30 днів – 1,04; в останній період – 1,17 (на 7,8% вище порівняно з контрольною групою), а у курчат, що одержували той самий НП у концентрації 3 мг на 1 кг комбікорму, цей показник перевищував попередній ще на 3,1%.

Результати гематологічних і біохімічних досліджень засвідчили залежність проаналізованих показників від концентрації НП у кормових добавках. У піддослідних курчат-бройлерів мала місце тенденція до збільшення кількості еритроцитів у 1,3 разу і зменшення в 1,4 разу чисельності лейкоцитів (за відсутності істотних змін у лейкоцитарній формулі), а також підвищення в 1,2 разу – порівняно з птицею контрольної групи – вмісту в сироватці крові сечової кислоти. Додавання ж НП у кількості 1 мг/кг корму також підвищує концентрацію таких мікроелементів, як залізо, фосфор і кальцій, у крові курчат та вирівнює фізіологічно виправдане співвідношення між вмістом кальцію та фосфору (на рівні 1:1).

Водночас, збільшення концентрації НП феромагнетика в кормі до 20 мг/кг призвело до негативного впливу на процес формування у крові птиці імунних комплексів – їхня концентрація знизилася на 23% за одночасного збільшення вмісту сіркомуюквідів на 56% (при  $P \leq 0,05$ ), а інтенсивності перекисного окиснення – на 20%. Оксидна ж активність плазми крові зменшилася на 32%.

Отже, така, зокрема, корисна добавка, як залізо, в одній концентрації може мати позитивний ефект, а за її певного збільшення – негативний.

Таким чином, підбираючи склад і дисперсність порошків на основі магнітних фаз заліза та магнетиту, можна цілеспрямовано створювати носії для доставки ліків, при цьому беручи до уваги, який саме з процесів корозії або ж утворення залізо-білкових комплексів є переважаючим.

Слід також згадати дослідження, які протягом останніх кількох років здійснювалося у рамках спільних проектів Інституту медицини праці Національної академії медичних наук України та низки профільних інститутів Національної академії наук України і були присвячені вивченню впливу нанодисперсного кремнезему на зменшення токсичності чинників зовнішнього середовища. Зокрема, було доведено, що кремнезем знижує токсичність таких протитуберкульозних препаратів, як доксорубіцин, ізоніазид, піразинамід та етамбутол, за рахунок зв'язування білків і мікроорганізмів, а також зменшення рівня перекисного окиснення й знешкодження низькомолекулярних токсинів.

Так, на основі аморфного нанодисперсного кремнезему вже створено препарат «Силікс» і його аналог у формі суспензії «Аквасил» з

адсорбційно-детоксикаційним впливом на гострі кишкові захворювання, вірусні гепатити, атеросклероз, гостру ниркову недостатність, інтоксикації різної генези й алергійні реакції. Місцево вищезгадані препарати застосовуються за гнійно-септичних процесів і ран, у стоматології – для лікування гінгівітів, стоматитів та пародонтиту, а офтальмологами – коли наявні опіки рогівки і запальні захворювання очей.

Виправдали надії вчених і наноемульсії та антибактеріальні нанопрепарати, бактерицидна дія яких істотно пролонгується за рахунок наночастинок срібла. І також не має аналогів нанокаталізатор, призначений забезпечувати виготовлення вуглецевих нанотрубок однакового розміру й збирати їх у структуру, що нагадує килим і змінює колір за наявності різних хімічних сполук, маючи чітко виражені протимікробні властивості (у зв'язку з цим експериментально доведено, що, наприклад, *E.coli* гине протягом години). У зв'язку з цим прогнозується, що самозбірні пептидні нанотрубки стануть дієвим засобом боротьби зі стійкими до антибіотиків мікроорганізмами і, зокрема, вже нині, в Інституті біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України тощо проводяться дослідження з вивчення фізико-хімічних та фармакологічних властивостей синтезованих за оригінальною методикою наночастинок відповідних металів [9, 92].

## **РОЗДІЛ 2. МАГНІТОЧУТЛИВИ НАНОКОМПОЗИТИ З ФУНКЦІЯМИ МЕДИКО-БІОЛОГІЧНИХ НАНОРОБОТІВ: ОДЕРЖАННЯ, ОСНОВНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ І ПЕРСПЕКТИВНІ НАПРЯМИ ВИКОРИСТАННЯ**

В основу розділу покладено результати новітніх наукових досліджень, виконаних в Інституті хімії поверхні ім. О. О. Чуйка Національної академії наук України (ІХП НАН України) в галузі розробки магнітокерованих лікарських засобів хіміо-, імуно-, радіологічної, гіпертермічної, фотодинамічної, терапевтичної та діагностичної дій. Початок досліджень за окресленою тематикою сягає грудня 2002 р., коли за розпорядженням видатного українського вченого, академіка НАН України, засновника та на той час незмінного директора Інституту Олексія Олексійовича Чуйка було розпочато науковий проект із метою створення магнітокерованих носіїв для спрямованої доставки лікарських засобів\*. У наступні роки цей проект трансформувався в новий науковий напрям, концепцією якого було створення нанокомпозитів із функціями медико-біологічних нанороботів. Наукову розробку цього напрямку всебічно підтримував і постійно приділяв йому належну увагу керівник академічних програм із нанотематики, видатний вчений, академік НАН України *Анатолій Петрович Шпак*.

### **2.1. Загальні дані**

У найближчому майбутньому застосування нанотехнологій вирішить основні проблеми людства, медичні нанороботи здолають невиліковні хвороби і забезпечать безсмертя — подібні повідомлення легко знайти в Інтернеті і ЗМІ. Сенсації про створення нанороботів, здатних знищувати ракові клітини, вже не дивують. На жаль, у цих повідомленнях відсутні дані, що підтверджують їх вірогідність, проте безперечними залишаються своєчасність і актуальність порушеного питання [1].

Згідно з «Вікіпедією», нанороботам притаманні функції руху, обробки й передачі інформації, виконання певних програм. Їхні розміри становлять ~10 нм.

Проблема створення нанороботів і наномашин, зокрема для застосування в медицині та біології, є актуальною [1–11]. На початкових етапах пошуку шляхів її розв'язання значне місце відводиться завданням визначення перспективних фізичних принципів і способів практичного

---

\* Магія поверхні // Дзеркало тижня. – 2002. – № 50 (425). – С. 17.

забезпечення контрольованих механічних переміщень нанооб'єктів у біологічних середовищах [1–13].

Для організації таких переміщень і конструювання нанороботів використовують фрагменти молекул ДНК, м'язові нановолокна [8, 9], фотозбуджені та метастабільні стани наночастинок, асиметричний розподіл електричних полів у напрямку руху, флуктуаційні процеси молекулярної й електричної природи [12, 13], кільцеподібні біомолекули, «нанізані» на лінійний «місток» з амінокислот [10, 11] тощо.

Слід зауважити, що практична реалізація таких способів руху нанороботів і механічних маніпуляцій із їх складовими частинами з метою, наприклад, спрямованого транспортування лікарських засобів або виконання інших корисних функцій залишається доволі проблематичною перспективою [8–13].

Втім, нинішній рівень розвитку нанотехнологій дає змогу створювати унікальні засоби для медицини і біології [2, 4, 14, 15]. Впровадження таких технологій на практиці є основою сучасного прогресу в сферах діагностики і терапії захворювань, і зокрема на клітинному й генному рівнях [1].

Останніми роками як альтернативний і найперспективніший із погляду практичного використання напрям пріоритет отримали роботи в галузі створення «наноклінік» – багаторівневих магніточутливих нанокомпозитів, яким притаманний комплекс характерних для нанороботів функцій, що включає розпізнавання специфічних мікробіологічних об'єктів у біологічних середовищах, цільову доставку лікарських засобів до органів- і клітин-мішеней, діагностику й терапію захворювань на клітинному чи генному рівнях, адсорбцію продуктів розпаду клітин після дії терапевтичного препарату або гіпертермії, їх видалення з організму за допомогою магнітного поля тощо [2, 4, 14].

Так, автори роботи [2] отримували магніточутливий нанокомпозит багатостадійним золь-гель-синтезом у міцелярній системі. Поверхня нанокомпозитів функціоналізувалася з метою забезпечення розпізнавання і досягнення специфічних клітин. Такими нанокомпозитами є магніточутливі носії в кремнеземних оболонках розміром до 50 нм, в яких можуть бути інкапсульовані різні оптичні, магнітні або електричні датчики, терапевтичні агенти. Нанокомпозити цілеспрямовано доправляються в клітину і застосовуються для діагностики або зміни її функцій у заздалегідь заданому напрямі, а також для створення гіпертермічних зон. Використання локальної гіпертермії принципово уможливорює терапію онкозахворювань без застосування хімічних препаратів.

Слід зазначити, що інтерес до магнітних матеріалів для медицини виник давно і не слабшає в наші дні. Увага дослідників до магнітних наночастинок (особливо до магнетиту, який має біогенну природу і задовільну біодеградацію) зумовлена, зокрема, тим, що вони мають специфічні властивості, нехарактерні для масивного магнітного матеріалу. Так, у наноматеріалах спостерігаються нові явища, пов'язані з відмінностями до сотень градусів у температурах *Кюрі* або *Нееля*, виникненням гігантського магнітоопору, аномального магнітокалориметричного ефекту тощо [16].

У сучасній медицині магнітні лікарські засоби на основі магнетиту широко використовують як рентгеноконтрастні. Наприклад, у роботі [17] описано рентгеноконтрастний препарат, що містить магнетит із рідким носієм – *тетрадеканом*, а в [16] – обґрунтовано ефективність гемостатичного засобу на основі водного колоїдного розчину магнетиту. Іншим застосуванням наносистем є візуалізація біологічних тканин, що складаються з апоферитину, в порожнину якого включено кристали магнетиту. До перспективних напрямів використання магнітних матеріалів із розвинутою поверхнею належить створення сорбентів [18–20] і магніточутливих нанокомпозитів для спрямованого транспортування лікарських засобів [21, 22]. Так, магнетити характеризуються низькою токсичністю, високим рівнем мутагенної безпеки, відсутністю негативних реакцій організму при внутрішньовенних, внутрішньоартеріальних і внутрішньом'язових введеннях магніточутливого колоїду. Крім того, на поверхні нанодисперсного магнетиту можлива іммобілізація терапевтичних агентів із різними механізмами їх дії.

Наявність лікарського засобу в складі магнітних терапевтичних форм [23] не завжди є обов'язковою. У цьому випадку терапевтичний ефект досягається або внаслідок впливу постійного магнітного поля, джерелом якого слугує сама магнітна лікарська форма, або ж у результаті гіпертермічної обробки за впливу на магнітну лікарську форму зовнішнього високочастотного магнітного поля [2, 14].

Зміною розмірів, форми, складу й будови наночастинок у певних межах можна керувати магнітними характеристиками композитів. Проте контролювати ці чинники під час синтезу наночастинок удасться далеко не завжди, тому властивості навіть однотипних матеріалів можуть сильно відрізнятися і зокрема має місце сильна залежність магнітних властивостей феромагнетиків від розмірів частинок, з яких вони виготовлені [3, 24, 25].

Застосувавши відповідну попередню підготовку поверхні магнітних носіїв з метою збільшення їх сорбційної ємності (наприклад,

модифікуванням  $\text{SiO}_2$ ), можна зібрати продукти клітинного розкладу й вивести їх з організму за допомогою магнітного поля.

При розробці магнітокерованих фармацевтичних препаратів потрібно вирішити низку завдань, пов'язаних із синтезом ефективних нанорозмірних носіїв, модифікуванням їх поверхні, іммобілізацією лікарських засобів, капсулюванням та ін. Важливо теоретично оцінити умови транспортування і виконати розрахунки параметрів носіїв задля їх оптимізації [14, 26–28].

Так, під час модифікування поверхні носіїв біосумісними полімерами слід оптимізувати функції полімерної складової. Полімерні молекули можуть виконувати роль утримувача терапевтичного або діагностичного препарату й визначати важливі характеристики ліків: розчинність, біодоступність, пролонгованість дії в результаті повільної десорбції лікарських засобів із полімерної матриці, термін зберігання та ін. Способи закріплення фармакологічно активних речовин на поверхні полімеру також можуть бути різними, що визначається призначенням ліків і клінічною патологією, в умовах якої їх застосовують [29].

Слід враховувати також, що хіміотерапевтичні протипухлинні лікарські засоби у живому організмі викликають порушення обміну нуклеїнових кислот, процесів біосинтезу, функції ДНК, пригнічують кровотворення, травлення, є кардіо-, нейро- і нефротоксичними [23]. Тому завдання спрямованого транспортування лікарського засобу в клітини пухлини за допомогою магнітних носіїв вкрай актуальне. Їх фіксація і депонування магнітним полем у зоні пухлини дає змогу істотно зменшити дозу препарату і, як наслідок, мінімізувати токсико-алергічні реакції організму.

Використання моноклональних антитіл в онкологічній практиці відносять до методів пасивної імунотерапії [30, 31]. Клінічні дані підтвердили, що пасивна імунотерапія, безумовно, ефективна і за результатами зрівнюється з хіміотерапією, а рівень її токсичності значно нижчий. Комбінування цих методів вважають найперспективнішим, оскільки воно істотно розширює можливості лікування сучасними засобами, сприяє підвищенню їх ефективності.

Одним із різновидів радіотерапії ракових пухлин є *нейтронозахопна терапія* (НЗТ) [32] – терапія раку, яка використовує випромінювання, що виділяється внаслідок перебігу реакції захоплення нуклідами  $^{10}\text{B}$  або  $^{157}\text{Gd}$  теплових нейтронів, попередньо накопичених у клітинах пухлин [33, 34]. Результатом взаємодії ізотопів із тепловими нейтронами є виникнення значного цитотоксичного ефекту, зумовленого впливом продуктів ядерної реакції на ракові клітини.

Незважаючи на значно більший переріз захоплення нейтронів нуклідами  $^{157}\text{Gd}$  порівняно з  $^{10}\text{B}$ , використанню гадоліній нейтронозахопної терапії (гадолінійНЗТ) заважала токсичність вільних, тобто незв'язаних іонів гадолінію. Інтерес до гадолінійНЗТ загострився наприкінці 1980-х років із введенням у практику універсальних гадолінійвмісних препаратів для магнітно-резонансної контрастної діагностики (МРТ).

Запропоновані на сьогодні препарати для НЗТ мають молекулярну форму і, відповідно, низку недоліків. Серед них виділяють неможливість їх адресної доставки в пухлину та керованого накопичення, незначний вміст бору чи гадолінію, неможливість зміни контрасту при візуалізації процесу НЗТ у реальному часі та ін.

Цим недолікам можна запобігти, скориставшись нанокompозитами на основі магніточутливих наночастинок магнетиту, модифікованих сполуками бору та гадолінію [35, 36]. Такі нанокompозити можуть бути придатними для створення нових типів високоефективних лікарських засобів нейтронозахопної терапії з додатковими функціями магнітокерованої спрямованої доставки до органів-мішеней або клітин-мішеней і депонування, гіпертермії, комбінованої T1-, T2-МРТ-діагностики і терапії в режимі реального часу.

Дослідження, спрямовані на розробку магнітокерованих лікарських засобів комплексної хіміо-, імуно-, радіотерапевтичної, гіпертермічної та діагностичної дій, є пріоритетними у розвинених країнах світу. Особливо актуальні напрями, пов'язані з ранньою діагностикою і терапією онкозахворювань на клітинному рівні.

Ці обставини зумовили обрання наукової проблематики, відображеної у цьому розділі, де узагальнено результати досліджень з метою обґрунтування концепції та методології хімічного конструювання магніточутливих нанокompозитів із багаторівневою ієрархічною архітектурою та функціями медико-біологічних нанороботів [37]: розпізнавання мікробіологічних об'єктів у біологічних середовищах; цільової доставки лікарських засобів до клітин- та органів-мішеней, їх депонування; комплексної терапії хіміо-, імуно-, радіо-, гіпертермічними методами та діагностики в режимі реального часу; адсорбції решток клітинного розкладання та їх видалення з організму за допомогою зовнішнього магнітного поля.

## 2.2. Аналіз умов транспортування та утримання магніточутливих носіїв лікарських засобів із використанням магнітного поля

Умови транспортування й утримання магніточутливих носіїв лікарських засобів із використанням магнітного поля було проаналізовано авторами за участю *Л. Г. Гречко* та *Л. Б. Лермана* під час виконання роботи [3].

Виконання функцій цільової доставки і депонування лікарських засобів до клітин та органів-мішеней медико-біологічними магніточутливими нанокompозитами (нанороботами) полягає в створенні у відповідному місці організму необхідної для виявлення терапевтичного ефекту концентрації лікарського засобу й пролонгації його дії. Способом вирішення такого завдання може бути магнітокерована адресна доставка лікарського засобу та його утримання протягом певного часу. Тому в останні роки дослідженню можливості використання магнітних носіїв як засобів транспортування лікарських засобів приділяється значна увага. Передусім це пов'язано з очікуваним істотним розширенням сфер застосування хіміотерапії, і зокрема в результаті мінімізації небажаних токсико-алергічних ефектів. Оскільки терапія здійснюється в локалізованій ділянці організму, загальна доза препарату при цьому може бути мінімальною. Зовнішнє статичне магнітне поле має впливати на рух частинок і запобігти вимиванню носіїв з органа-мішені. Водночас, широкого застосування цей метод досі не знайшов у зв'язку зі складнощами, що виникають у процесі його практичної реалізації.

Вимоги до магнітних носіїв доволі жорсткі. Їх розміри мають бути меншими за 1 мкм, щоб запобігати агрегації в магнітному полі й закупоренню капілярних судин. Водночас, сила, зумовлена дією прикладеного зовнішнього магнітного поля, що утримує носій у кровотоці, пропорційна характерному розмірові частинки в третьому степені та кількості магнітного компонента в ній, а протидійна гідродинамічна сила, що прагне винести з органа-мішені носій, пропорційна розмірові носія лише у другому степені. Отже, для ефективного утримання носія розміри частинок і вміст магнітного матеріалу потрібно збільшувати. Крім вирішення цього протиріччя, під час створення магнітних носіїв слід враховувати й такі чинники, як скорочення часу затримання носіїв (як сторонніх предметів), зниження впливу зовнішнього магнітного поля на організм тощо.

Для утримання препарату в заданій обмеженій ділянці треба створити зону ефективної дії неоднорідного магнітного поля, під впливом якого значна частина носіїв, а то й усі, мають залишитися в органі-мішені. Через ці обставини потрібно вирішити такі завдання:



- розрахувати силу, з якою неоднорідне магнітне поле діє на окремих носіїв;
- визначити необхідні умови (градієнт магнітного поля, ступінь намагніченості носія, розподіл за розмірами та ін.) для кількісного оцінювання параметрів із метою встановлення можливості утримання контейнерів із медичним препаратом на стінці судини;
- проаналізувати рух магнітних носіїв у в'язкій рідині (крові) під дією неоднорідного магнітного поля для отримання критерію можливості їх доставки до стінок судин.

Деякі аспекти окреслених вище питань викладено у працях [38–41].

Розглянуто технологічні аспекти створення магнітокерованих носіїв лікарських засобів. Аналіз цих робіт показав складність побудови як фізико-математичних моделей таких явищ, так і відповідних обчислювальних методів і алгоритмів. Отже, особливу увагу було приділено вдосконаленню моделей і відпрацюванню численних методів, що адекватно описують експериментальні результати [3].

Наведемо розрахункові формули для обчислення магнітної сили, що діє на окремих носіїв з урахуванням їх розподілу за розмірами. Розрахунок розподілу магнітного поля у просторі пов'язаний з вирішенням конкретних завдань магнітостатики. Найприйнятнішими є джерела, що мають вісь симетрії [38]. Вони створюють аксіальносиметричні поля і в цьому випадку векторний потенціал має тільки одну, відмінну від нуля, складову  $A_\varphi$ , яка має відповідати скалярному рівнянню Пуассона, а саме:

$$\Delta A_\varphi = -4\pi\mu_0 j_\varphi, \quad (2.1)$$

де:  $\Delta$  – оператор Лапласа;  $j_\varphi$  – об'ємна густина кільцевого електричного струму;  $\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7}$  Гн/м – магнітна стала.

Розв'язок рівняння (2.1) можна подати таким об'ємним потенціалом:

$$A_\varphi = \frac{\mu_0}{4\pi} \iiint_V \frac{\varphi}{R} dV, \quad (2.2)$$

де:  $R = \sqrt{r^2 + \rho^2 - 2r\rho \cos(\varphi - \theta) + (z - \zeta)^2}$ ; інтегрування виконують по області  $V$ , яку займають джерела струму;  $r, \varphi, z$  – циліндричні координати довільної точки у просторі;  $\rho, \theta, \zeta$  – циліндричні координати точки, що належить області  $V$ .

Вектор магнітної індукції визначають за формулою  $B = \text{rot}A$ .

Магнітні носії (окремі наночастинки або їх агрегати) можна розглядати як магнітні диполі. У загальному випадку на диполь діють сила  $F$  і механічний момент  $M$ , які визначають із залежностей:

$$F = -\nabla(mB); M = [m \times B], \quad (2.3)$$

де:  $m$  – вектор ефективного магнітного моменту окремого носія або агрегатів наночастинок;  $B$  – вектор магнітної індукції;  $\nabla$  – оператор градієнта.

Під дією механічного моменту вільні диполі орієнтуються по полю, тож  $M = 0$ . Повороти диполів відбуваються доволі швидко, тому можна вважати, що вони завжди орієнтовані по полю. Сила магнітної взаємодії визначається не лише зміною магнітного поля, а й варіаціями магнітного моменту носія. Якщо ці величини сталі в просторі, то  $F = 0$ . Звідси випливає, що для отримання необхідних величин сил магнітне поле має змінюватись у просторі.

Зазначимо, що:

$$\nabla(m \cdot B) = |\nabla(m \cdot B)|n, \quad (2.4)$$

де  $n$  – одиничний вектор зовнішньої нормалі до силових ліній поля  $\varphi = \nabla(m \cdot B)$ .

Виходячи з цього, похідна у довільному напрямку  $e$  становитиме:

$$\frac{\partial \varphi}{\partial e} = e \nabla \varphi = |\nabla(m \cdot B)| \cos(e, \nabla \varphi),$$

де:

$$|\nabla(m \cdot B)| = \sqrt{\left(\frac{\partial(m \cdot B)}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\partial(m \cdot B)}{\partial y}\right)^2 + \left(\frac{\partial(m \cdot B)}{\partial z}\right)^2}. \quad (2.5)$$

Розглянемо неоднорідне одновимірне поле з індукцією  $B = B(y)$ , що діє вздовж осі  $y$ . Якщо знехтувати зміною магнітного моменту в просторі, то вираз для визначення магнітної сили згідно з рівнянням (2.4) набуде вигляду:

$$F_y = V \frac{d(m(H)B)}{dy}, \quad (2.6)$$

де:  $V$  – об'єм частинки;  $H$  – напруженість поля, пов'язана з магнітною індукцією співвідношенням  $B = \mu_0 H$ ;  $m(H)$  – середнє значення магнітного моменту, що відповідає одиниці об'єму частинки.

Ефективний магнітний момент наночастинок та агрегатів залежить від їхніх розмірів, форми, намагніченості, температури, деяких інших фізичних чинників і наперед невідомий. Для феромагнетиків намагніченість є функцією модуля вектора напруженості магнітного поля і для малих значень напруженості середній магнітний момент одиниці об'єму  $m(H)$  пропорційний модулю вектора напруженості магнітного поля  $H$ , тобто  $m(H) = \kappa H$ , де  $\kappa$  – коефіцієнт пропорційності). З рівняння (2.6) випливає, що сила, з якою магнітне поле діє на частинку довільної форми, пропорційна її об'єму і добутку модуля напруженості на градієнт модуля індукції (така закономірність зберігається тільки до тих значень

напруженостей, за яких намагніченість частинок далека від насичення). Отже, рівняння (2.6) можна записати й у такому вигляді:

$$F_y = \kappa V \frac{d(HB)}{dy}. \quad (2.7)$$

Значення коефіцієнта пропорційності  $\kappa$  залежить від форми частинки. Для суцільних еліпсоїдів обертання з різними співвідношеннями довжини  $L$  та діаметра  $D_p$  значення  $\kappa$  наведено нижче:

$L/D_p$	0,0	0,1	0,25	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
$\kappa = m/H$	1,0	1,19	1,45	1,9	3,0	5,75	12,5	18,0

Як бачимо, співвідношення  $L / D_p$  (фактор форми) істотно впливає на величину магнітного моменту частинки, який у випадку частинки з магнітним ядром і оболонкою у формі еліпсоїда в зв'язку з існуванням аналогії між задачами електро- і магнітостатики можна обчислити за методом, запропонованим у праці [40] для розрахунку поляризованості шаруватого еліпсоїда.

За високих рівнів напруженості полів для феромагнетиків намагніченість досягає насичення, тобто  $m(H) \rightarrow m_{\text{sat}}$ , де  $m_{\text{sat}}$  – магнітний момент одиниці об'єму при досягненні матеріалом намагніченості насичення. У цьому разі:

$$F_y = \kappa V m_{\text{sat}} \frac{dB}{dy}, \quad (2.8)$$

а, отже, рівень напруженості поля перестає впливати на силу і вона залежить тільки від градієнта модуля індукції. Ці закономірності діятимуть і для довільного розподілу поля у просторі, якщо вважати, що вісь  $y$  збігається з напрямком вектора магнітної індукції.

Оскільки сила істотно залежить від геометричних параметрів частинки, треба враховувати розподіл наночастинок або їхніх агрегатів за розмірами. Щільність розподілу частинок за розмірами (діаметром, об'ємом) багато в чому визначається технологією виготовлення. Так, у роботі [39] досліджено розподіл наночастинок за розмірами із використанням даних, отриманих трьома різними методами. Встановлено, що для магнітних носіїв найвідповіднішим є логарифмічно нормальний розподіл, густину вірогідності якого  $\rho(D_p)$  для частинок сферичної форми описує вираз:

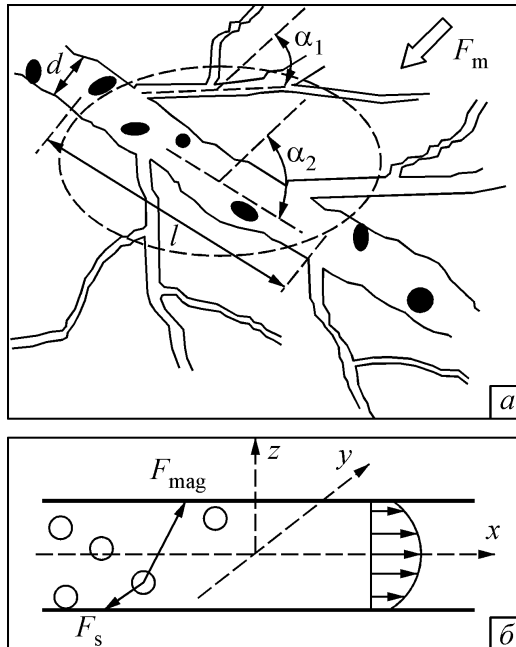
$$\rho(D_p) = \frac{1}{D_{m\sigma} \sqrt{2\pi}} \exp\left\{-\ln^2(D_p / D_m) / (2\sigma^2)\right\}, \quad (2.9)$$

де:  $D_p, D_m$  – відповідно, діаметр і найвірогідніший діаметр (математичне очікування) частинки;  $\sigma$  – середньоквадратичне відхилення від середнього значення.

З урахуванням закону розподілу за розмірами, обчислюємо середнє значення (математичне очікування  $M$ ) сили, що діє на сферичні частинки об'ємом  $V = \pi D^3/6$ , за формулою:

$$F_m = M[F_y] = \frac{\pi}{6} \kappa m_{\text{sat}} \frac{dH}{dy} \int_{-\infty}^{\infty} D_p^4 \rho(D_p) dD_p. \quad (2.10)$$

Для розрахунку характеристик руху як окремих магнітних носіїв, так і їхніх агрегатів під дією магнітного поля наведемо деякі теоретичні оцінки параметрів у завданні з транспортування носіїв кровоносними судинами. На рис. 2.1 схематично зображено розгалужену структуру судин в органі-мішені, а також наведено розрахункову схему руху носіїв на ділянці горизонтальної судини кінцевої довжини (пунктирною лінією позначено зону активної дії магнітного поля; кожне  $j$ -те відгалуження основної судини органа утворює певний кут  $\alpha_j$ ).



**Рис. 2.1.** Схема судинного середовища (а) та розрахункова схема руху магнітних носіїв на ділянці судини (б)

Розглянемо рух окремого носія (магнітної частинки або нанокомпозиту) на ділянці судини, яку вважатимемо циліндричною трубкою з жорсткими стінками. Оскільки рух носія поступальний, то частинку вважатимемо матеріальною точкою. Опишемо рух частинки у декартовій прямокутній системі координат  $x, y, z$ : вісь  $x$  спрямуємо вздовж осі судини, осі  $y$  та  $z$  – перпендикулярно до  $x$  так, щоб вони утворили праву трійку (при цьому вісь  $y$  спрямована вздовж лінії максимального зростання поля). Початок координат розмістимо на осі судини. На частинку діятимуть зовнішні сили: тяжіння  $G = mg$  (де:  $m$  – маса частинки;  $g$  – прискорення вільного падіння);  $F_A$  – Архімеда;  $F_m$  – магнітна;  $F_s$  – опору руху). Оскільки маса частинок незначна ( $10^{-11}$ – $10^{-10}$  г), силами тяжіння, Архімеда та інерційною можна знехтувати.

Під час детального вивчення руху крові експериментально і теоретично встановлено, що він має ламінарний характер як у тонких судинах, так і на ділянках значної кривизни.

У зв'язку з цим можна вважати, що в довільній частині судини рух носія біля стінки судини практично припиняється. Частинки можуть ковзати по стінках судин, проте швидкість їх переміщення у цьому випадку буде значно меншою, ніж у середній частині.

Спочатку розглянемо умови зупинки носіїв магнітним полем на внутрішній стінці судини. На утримуваний магнітним полем носій у потоці крові діє сила *Стокса*, коли:

$$F_s = 3\pi D_g v \eta_1 \quad (2.11)$$

де:  $D_g$  – гідродинамічний діаметр носія (з урахуванням оболонки);  $v$  – швидкість потоку крові;  $\eta_1$  – в'язкість крові.

Оскільки рух крові в судині ламінарний, то зупинити носій найлегше біля стінки, де швидкість потоку  $v$  мінімальна і за порядком величини пропорційна параметру  $\gamma$ , який має розмірність кутової швидкості.

Нехай магнітне поле з градієнтом напруженості  $\nabla H$  локалізоване на ділянці завдовжки  $l$  усередині судини діаметром  $d$  (див. рис. 2.1, а).

У наближенні пуазейлівського (параболічного) розподілу швидкостей за перерізом судини, яку прийнято вважати круглою циліндричною трубкою, має місце такий закон розподілу швидкостей за радіальною координатою  $r$ :

$$v = \frac{P_1 - P_2}{4\eta_1 l} (d^2 / 4 - r^2) \quad (2.12)$$

де  $P_1, P_2$  – тиски, відповідно, на вході і виході ділянки активної дії магнітного поля завдовжки  $l$ .

Середню швидкість руху рідини  $\bar{U}$  визначасмо за виразом:

$$\bar{U} = \frac{\rho_1 - \rho_2}{\eta_1 l} \frac{d^2}{128} \quad (2.13)$$

тоді об'ємну витрату крові (кровотік)  $Q$ , виражену через середню швидкість, встановлюємо за формулою  $Q = \pi d^2 \bar{U}$ .

Прирівнявши силу Стокса до осрової компоненти магнітної сили [41], коли:

$$F = m \nabla H \cos \alpha \quad (2.14)$$

отримуємо умову утримання носіїв магнітним полем на стінці судини, а саме:

$$m \nabla H \cos \alpha \geq 6 \pi r_g^2 \gamma_1 \eta_2 \quad (2.15)$$

де:  $m$  – магнітний момент носія;  $\alpha$  – кут між напрямком напруженості поля  $H$  і віссю судини;  $r_g = D_g / 2$  – гідродинамічний радіус;  $\eta_2$  – в'язкість крові у пристінковому шарі;  $\gamma_1$  – визначають за виразом [41]

$$\gamma_1 = \frac{32Q}{\pi d^3} = \frac{8\bar{U}}{d}.$$

Якщо об'ємна частка феромагнітного матеріалу з питомим магнітним моментом  $m_0$  у носіїві дорівнює  $k$ , а об'єм носія становить  $(4/3)\pi r^3$  (тут і далі  $r = r_g$ ), то:

$$m = \frac{4}{3} \pi r^3 m_0 \chi k, \quad (2.16)$$

де  $\chi$  – намагніченість [41].

Із точністю, достатньою для оцінних розрахунків, припустимо, що для магнітних полів з напруженістю  $H < H^*$  насичення феромагнетика  $\chi = H / H^*$ , а для  $H > H^*$  маємо  $\chi = 1$ .

Рівняння передумови зупинки носія на внутрішній стінці судини набуває такого вигляду [41]:

$$k_1 = \frac{9}{2} \frac{\gamma \eta_2}{\mu_0 \chi r \nabla H \cos \alpha}. \quad (2.17)$$

Рівняння (2.17) визначає такий вміст у носіїві феромагнітного матеріалу  $k_1$ , за якого для середньої швидкості руху крові  $\bar{U}$  в судині діаметром  $d$  магнітне поле з параметрами  $\mu_0$  і  $\nabla H$  може зупинити його біля стінки судини.

Надалі виходитимемо з характеристик руху крові в організмі людини [41], значення яких наведено у табл. 2.1.

**Таблиця 2.1.** Деякі характеристики кровотоку людини [41]

Тип судини	Діаметр судини $d$ , см	Середня швидкість кровотоку в судинах $\bar{U}$ , см/с	Середнє значення параметра $\gamma_1 = 8\bar{U}/d$ , с <sup>-1</sup>
Аорта	1,6–3,2	30–60	300–600
Великі артерії	0,6–0,1	20	270–1600
Артеріоли	0,1–0,02	10–0,2	800
Капіляри	0,0005–0,001	0,05–0,07	500–800
Венули і малі вени	0,02–0,2	0,1–1	40–200
Великі вени	0,5–1,0	10–20	160
Порожністі вени	2,0	50	200–300

Розглянемо вплив неоднорідного магнітного поля на частинки у довільній судині та оцінимо умови для доставки носіїв до стінки цієї судини у зоні ефективної дії магнітного поля з характерною довжиною  $l$  (див. рис. 2.1). Рівень поля вважатимемо таким, за якого намагніченість носіїв досягає насичення. Аналіз рівнянь руху частинки у в'язкій рідині за деяких спрощень дає змогу оцінити час, потрібний для досягнення цієї частинкою стінки судини [40]. Для довільної ж частинки з радіусом-вектором  $r$ , що рухається у напрямку, протилежному до місцерозташування тієї ділянки, де розміщений магніт, можна оцінити модуль швидкості її руху.

Визначаємо швидкість руху частинки в цьому напрямку [38] за формулою:

$$v_r = \frac{\kappa m_{\text{sat}} G}{\rho f(D_g)} \left[ 1 - e^{-f(D_g)t} \right], \quad (2.18)$$

де:  $f(D_g) = 3\pi\eta / (\beta\gamma D_g^2)$  – функція ефективного діаметра частинки  $D_g$ ;  $\rho$  – щільність частинки;  $\kappa$  – коефіцієнт, що залежить від форми частинки;  $G$  – градієнт модуля магнітної індукції, який у перерізі тонкої судини можна вважати сталим.

Із рівняння (2.18) випливає, що під дією магнітного поля швидкість частинки стрімко усталюється внаслідок її малої маси, тож швидкість руху  $v_r$  щодо потоку крові за певної концентрації магнітних носіїв і градієнта поля уздовж осі  $y$  визначаємо за формулою:

$$v_r = \frac{\kappa m_{\text{sat}} G}{\rho f(D_g)}. \quad (2.19)$$

Оцінимо час руху носіїв до стінки судини. Позначивши як  $\tau$  час перебування носіїв у судині органа, а як  $t$  – час, потрібний для досягнення стінки судини усіма носіями, умову успішної доставки препарату в орган-

мішень запишемо як нерівність  $t \leq \tau$ , виконання якої є основним критерієм успішної доставки препарату.

Для подальших оцінних розрахунків також скористалися середньою швидкістю потоку  $\bar{U}$  (див. табл. 2.1): час перебування носіїв у судині органа за відсутності поля  $\tau = l / \bar{U}$ , де  $l$  – зона активної дії магнітного поля (див. рис. 2.1).

У загальному випадку вектор магнітної сили і вісь судини можуть утворювати деякий кут  $\alpha$  ( $0 < \alpha < \pi$ ). Час перебування носія у судині залежить від величини цього кута, оскільки до середньої швидкості  $\bar{U}$  руху уздовж осі судини додається проекція відносної швидкості на цей напрямок. Час  $t$  і  $\tau$  обчислюють як:

$$t = \frac{d}{v_r \sin \alpha}; \quad \tau = \frac{l}{\bar{U} + v_r \cos \alpha} \quad (2.20)$$

з чого випливає, що за умови  $0 < \alpha < \pi/2$  час перебування носія у судині скорочується, а за  $\pi/2 < \alpha < \pi$  – подовжується. При цьому мінімальний час перебування препарату в судині, вочевидь, дорівнює  $\tau_1 = l / (\bar{U} + v_r)$ , максимальний —  $\tau_2 = l / (\bar{U} - v_r)$ .

Найнесприятливішим є випадок, коли частинка знаходиться біля протилежної стінки і через це максимально можлива відстань, яку їй треба здолати, дорівнює діаметрові судини, тож, з урахуванням рівняння (2.20), критерій успішної доставки препарату описуємо нерівністю:

$$v_r (\sin \alpha - \frac{d}{l} \cos \alpha) \geq \frac{d}{l} \bar{U}, \quad (0 \leq \alpha \leq \pi), \quad (2.21)$$

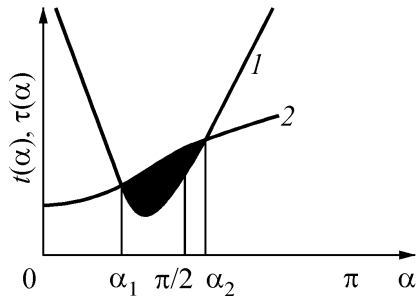
з якої випливає, що за певних значень кутів вираз у дужках може бути від'ємним. Отже, виконання умови рівняння (2.16) за певного граничного кута  $\alpha_{\text{lim}} = \arctg(d/l)$  стає неможливим. Таким чином, частина судин, для яких кути між осями і напрямком дії магнітного поля потрапляють в інтервал  $0 \leq \alpha \leq \alpha_{\text{lim}}$ , не відповідають критерію успішної доставки препарату.

У загальному випадку формальний розв'язок нерівності (2.21) має вигляд  $\alpha_1 \leq \alpha \leq \alpha_2$ , де:

$$\alpha_1 = \arctg \frac{d}{l} + \arcsin \frac{d}{l} + \arcsin \frac{d}{\sqrt{d^2 + l^2}} \frac{\bar{U}}{v_r};$$

$$\alpha_2 = \pi + \arctg \frac{d}{l} + \arcsin \frac{d}{l} - \arcsin \frac{d}{\sqrt{d^2 + l^2}} \frac{\bar{U}}{v_r} \quad (2.22)$$





$$1 - t(\alpha) = d / (v_r \sin \alpha) ; 2 - \tau(\alpha) = d / (\bar{U} + v_r \cos \alpha)$$

**Рис. 2.2.** Графічна ілюстрація нерівності (2.21)

Розв'язок рівняння (2.22) існує за умови, що  $\frac{d}{\sqrt{d^2 + l^2}} \frac{\bar{U}}{v_r} \leq 1$ , інакше його не існує.

Графічно ж нерівність (2.21) ілюструє рис. 2.2, де схематично показано залежності  $t(\alpha)$  і  $\tau(\alpha)$  за фіксованих значень довжини й діаметра судин та середніх швидкостей.

Слід також мати на увазі, що для більшості кровоносних судин співвідношення діаметрів до довжини активної зони дії поля малі, тому й граничний кут буде малим. Наприклад, для судини зі співвідношенням  $d/l = 0,1$  граничний кут  $\alpha_{\text{lim}} \approx 6^\circ$ . Оскільки кут  $\alpha$  можна вважати випадковою величиною, рівномірно розподіленою у вказаному інтервалі кутів, то вірогідність потрапляння судин у цей інтервал буде малою і в розглянутому прикладі дорівнюватиме лише 0,03. Для тонших судин ця ймовірність ще менша, тому з дуже високою вірогідністю припустимо вважати, що нерівність  $\alpha > \alpha_{\text{lim}}$  виконується, причому для малих співвідношень  $d/l$  придатне наближення  $\alpha_{\text{lim}} \approx d/l$ .

Ділянка існування розв'язків нерівності обмежена значеннями кутів  $\alpha_1 < \alpha < \alpha_2$  (для наочності на рис. 2.2 її затемнено). Для різних довжини і діаметра судини та швидкостей цей інтервал може бути різним (у тому числі й порожнім, якщо криві не перетинаються). Довжина інтервалу  $A = \alpha_2 - \alpha_1$  має такий сенс: для всіх судин, осі яких утворюють з вектором магнітної сили кути, що потрапляють у цей інтервал, гарантована доставка препарату до їхніх стінок. Оскільки ж кути можуть набувати довільних значень в інтервалі  $[0, \pi]$  і при цьому розподілені рівномірно, співвідношення  $\lambda = A/\pi$  показує, в яку саме частину довільно орієнтованих у просторі судин органа може бути доставлений препарат.

Відповідно до введених нами позначень отримали таку нерівність:

$$v_r \geq \bar{U} \frac{\sin \alpha_{\text{lim}}}{\sin(1-\lambda)\pi/2} \approx \bar{U} \frac{d}{l \cos(\lambda\pi/2)}, \quad (2.23)$$

яка дає змогу повністю вирішити поставлене завдання з визначення потрібних значень швидкостей і характеристик поля. Ця нерівність пов'язує швидкість відносного руху, яку має забезпечити прикладене магнітне поле, із середньою швидкістю потоку крові в судині, геометричними параметрами судин і часткою використаних судин органамішени. Нижче наведено значення параметра  $\lambda = (\alpha_2 - \alpha_1) / \pi$  за різних значень критичних  $v_r / v_{\text{cr}}^{\text{min}}$ , де  $v_{\text{cr}}^{\text{min}} = \bar{U}d / l$ :

$\lambda, \%$	30	50	70	90
$v_r / v_{\text{cr}}^{\text{min}}$	1,12	1,41	2,20	6,39

Із цих даних випливає, що навіть за незначного збільшення мінімальної критичної швидкості  $v_{\text{cr}}^{\text{min}} = \bar{U}d / l$ , яка є фіксованою характеристикою конкретної судини, можна досягти 50%-го успіху в доставці препарату до стінки судини. За цими даними для будь-якої судини можна оцінити необхідні швидкості за наявності відповідних характеристик.

Виходячи з наведених вище (у рамках спрощеної моделі одновимірного поля) виразів, отримуємо нерівність-оцінювання необхідних середніх рівнів градієнтів у судинах:

$$G \geq \frac{\bar{U}d}{l \cos(\pi\lambda/2)} \frac{\rho f(D_0)}{\kappa m_{\text{sat}}}. \quad (2.24)$$

Цей оцінний критерій дає змогу визначити для конкретного органа потрібні швидкості руху магнітних носіїв та оцінити необхідні рівні полів і градієнтів. Точніше ж вирішення цих завдань потребує додаткових досліджень і вдосконалення моделей опису руху носіїв у судинах.

Утримати всі носії, які потрапляють у велику судину, можна лише тоді, коли характерний розмір ділянки локалізації магнітного поля  $l = b\bar{U}\tau - d \text{ctg } \alpha$ , де:  $b$  – коефіцієнт, що становить порядку одиниці;  $\tau = d / V_{\perp}$  – час перетину носієм судини під дією поперечної складової магнітної сили, яку визначають за формулою:

$$V_{\perp} = \frac{\mu \nabla H \sin \alpha}{6\pi r \eta_1}. \quad (2.25)$$

Виразивши  $\mu$  через  $k$ , визначимо умову доставки 100 % носіїв до стінки судини на потрібній ділянці за дії магнітного поля (тут і далі  $r$  – гідродинамічний радіус):

$$k_2 = \bar{U}d\eta_1 [br^2\mu_0 \nabla H \sin \alpha (l + d \text{ctg } \alpha)]^{-1}. \quad (2.26)$$

Порівнявши цей вираз зі значенням умови зупинки носіїв біля стінки судини за  $\alpha = 45^\circ$ ,  $b = 4/3$ ,  $l \gg d$  і  $\eta_1 / \eta_2 \sim 2$ , отримуємо:

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{1}{18} \frac{d^2}{rl} \quad (2.27)$$

Для 100%-ї доставки носіїв до стінки за умови, що  $d > \sqrt{18rl}$ , потрібний більший вміст у них феромагнітного матеріалу, ніж для зупинки їх біля стінки, тоді як у випадку  $d < \sqrt{18rl}$  – навпаки.

Якщо вміст феромагнетика в контейнері становить  $k_1 / k_2 = 0,01$ , то для реалізації 100%-ї доставки носіїв до стінки судини та їх зупинки у судинах різного діаметра потрібне магнітне поле напруженістю  $H \geq 20$  кЕ (насичувальне поле) і  $\nabla H \geq 7$  кЕ/см для вен за  $\bar{U} = 0,1$  см/с, або ж  $\nabla H \geq 28$  кЕ/см для артерій за  $\bar{U} = 0,4$  см/с.

Зазначимо низку обставин, важливих для практичного використання отриманих теоретичних результатів. Для конкретного феромагнітного матеріалу носіїв існує певна напруженість магнітного поля, після досягнення якої подальше її збільшення не приводить до зміни сили. При цьому як для слабких, так і сильних полів магнітна сила пропорційна зайнятому магнітною речовиною частинки об'єму ядра й істотно залежить від її форми. Визначальним чинником слугує також градієнт модуля вектора магнітної індукції зовнішнього поля. Тільки за швидкої зміни поля у просторі можливе досягнення ним сили, необхідної для утримання частинок у потрібній ділянці капілярно-судинного середовища.

В конкретних випадках під час розрахунку конфігурації магнітних полів слід враховувати тип магнітного носія та розміщення органа-мішені й конструювати такі носії з урахуванням типу цього органа, конкретних ліків і механізму їх терапевтичної дії.

У дрібних судинах (де  $d < \sqrt{18rl}$ ) можна реалізувати доставку всіх носіїв, що знаходяться в зоні активної дії магнітного поля, до стінки судини та їх подальше утримання.

В свою чергу, у великих судинах ( $d > \sqrt{18rl}$ ) забезпечити 100%-у доставку ліків практично неможливо, оскільки необхідні для цього градієнти створити технічно складно (проте деяка частина розміщених ближче до магніту носіїв все ж утримуватиметься магнітним полем).

У судинах же діаметром понад 3 см добитись 100%-го осадження носіїв складно, бо для цього потрібен градієнт напруженості магнітного поля  $10^4$ – $10^5$  кЕ/см за  $k = 1$  – однак це не унеможливує зупинки на внутрішніх стінках великих судин частини магнітних носіїв, які досягли поверхні за час «прольоту» ділянки локалізації зовнішнього магнітного поля.

З отриманих у цій роботі результатів випливає, що в разі застосування оптимальних магнітних систем можливе утримання контейнерів з ліками навіть у великих магістральних судинах. Подальші

дослідження підтвердили ефективність розроблених підходів, проте слід особливо підкреслити, що проведені розрахунки і встановлені рівні градієнтів вказують на реальну можливість доставки й утримання магнітних носіїв в органі-мішені. Водночас через складність цієї проблеми у контексті транспортування лікарських засобів із наведених вище даних можна зробити висновок, що вирішення конкретних терапевтичних завдань за допомогою магнітних носіїв потребує як виконання всебічних теоретичних досліджень на модельних системах, так і проведення необхідних попередніх експериментів, у тому числі на клітинних культурах і тваринах.

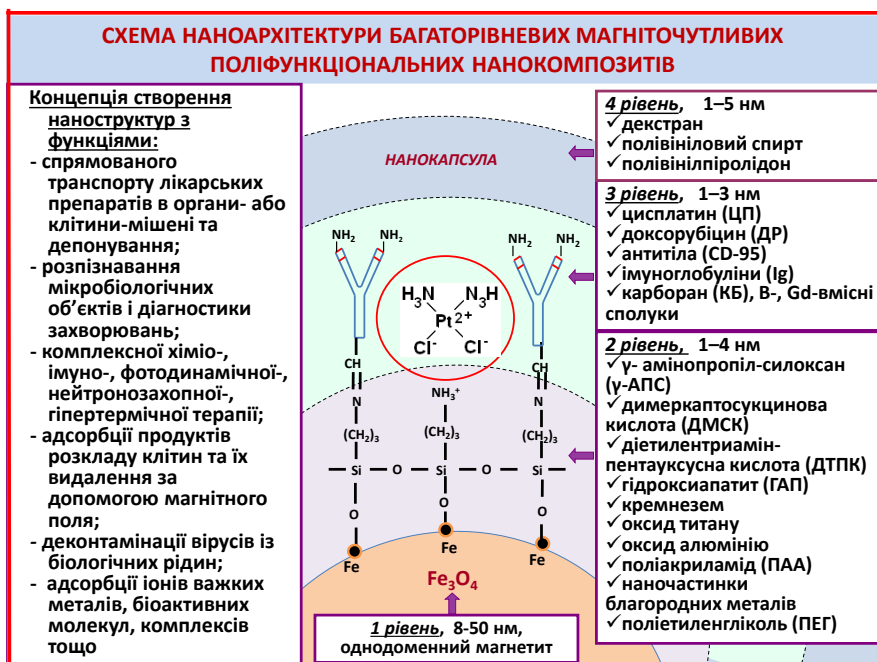
### **2.3. Синтез магніточутливих поліфункціональних нанокompatитів медикобіологічного призначення та дослідження їхніх властивостей**

#### **2.3.1. Схема хімічного конструювання нанокompatитів із функціями нанороботів**

Розглянемо схему хімічного конструювання багаторівневої ієрархічної наноархітектури поліфункціональних магніточутливих нанокompatитів із властивостями нанороботів [5, 14], виходячи з концепції, сформульованої, експериментально відпрацьованої за всіма основними етапами, реалізованої та всебічно перевіреної на функціональність (рис. 2.3).

За перший рівень ієрархічної наноструктури – вихідний матеріал для хімічного конструювання нанокompatитів – нами було обрано монодомений магнетит із розміром частинок 8–50 нм. Відомо, що магнетит має біогенну природу і задовільно виводиться з організму. У цій схемі він може виконувати функції: магніточутливого носія лікарських засобів; перетворювача енергії високочастотного магнітного поля зовнішнього джерела на теплову енергію з метою створення гіпертермічних зон; наночастинки з реакційноздатною поверхнею, що дає змогу реалізувати подальший дизайн заданої ієрархічної архітектури поліфункціонального нанокompatиту.

Другий же ієрархічний рівень наноструктури (1–4 нм) може мати складну будову. Він забезпечує стабілізацію нанорозмірного носія модифікуванням його поверхні біосумісним покриттям (поліакриламід, кремнезем, гідроксиапатит тощо). Шар модифікатора зберігає високу питому поверхню наночастинки й уможливорює здійснення необхідної хімічної функціоналізації, наприклад гідроксильними, карбоксильними, тіольними та аміногрупами.



**Рис. 2.3.** Схема хімічного конструювання багаторівневої ієрархічної наноархітектури поліфункціональних магніточутливих нанокомпозитів із властивостями нанороботів

Біофункціоналізація нанокомпозиту відбувається на третьому рівні (1–3 нм) шляхом іммобілізації хіміо- (цисплатин, доксорубіцин), імунно- (антитіла), радіотерапевтичних (бор- та гадолінійвмісні нейтронозахопні агенти), діагностичних ( $T_1$ -,  $T_2$ -контрастні агенти, наночастинки благородних металів) препаратів, а також сенсорів, що розпізнають специфічні мікробіологічні об'єкти.

Слід зазначити, що, наприклад, наночастинки благородних металів через наявність плазмонного резонансу можуть виконувати функції як сенсорів (оптичні мітки), так і терапевтичних агентів (термальна і фотодинамічна терапія).

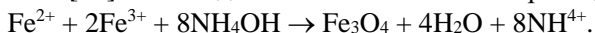
Функції ж четвертого ієрархічного рівня пов'язані з капсулюванням нанокомпозитів, викликаним необхідністю зберегти їхні властивості та пролонгувати дію лікарських засобів. Таке нанокапсулювання здійснювали декстраном, желатином, полівініловим спиртом (ПВС), полівінілпіролідонем (ПВП).

Нижче наведено результати експериментального відпрацювання всіх основних етапів хімічного конструювання поліфункціональних

нанокомпозитів із властивостями нанороботів, а також досліджень їхніх властивостей та перевірки функціонального стану.

### 2.3.2. Магніточутливі носії

На початковому етапі досліджень синтез магніточутливого нанорозмірного носія – нанодисперсного магнетиту – здійснено за методикою роботи [42] співосадженням солей заліза за реакцією:



Виконану на дифрактометрі «ДРОН-4-07» рентгенівську дифрактограму синтезованого магнетиту наведено на рис. 2.4 (визначений за формулою Шерера середній розмір кристалітів  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  становить 10 нм).

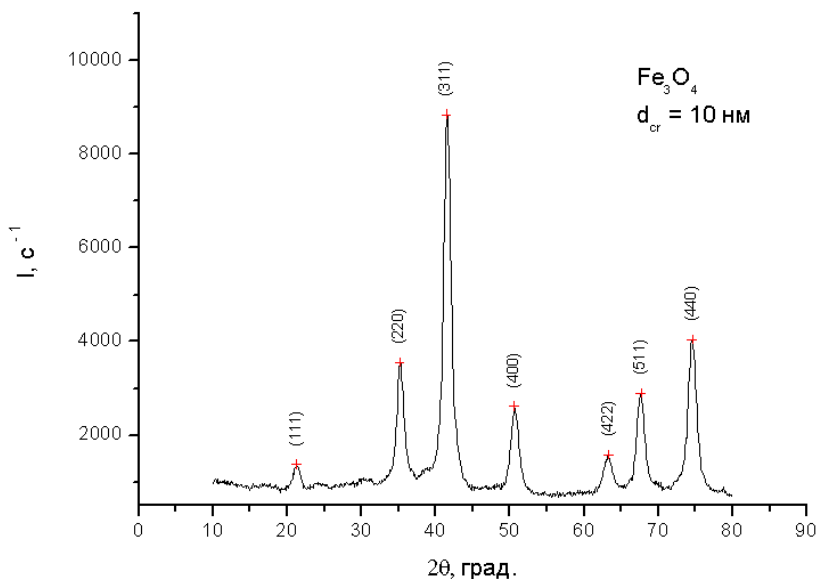


Рис. 2.4. Дифрактограма нанодисперсного магнетиту

Визначена за тепловою десорбцією аргону питома поверхня синтезованого магнетиту становила  $90\text{--}180 \text{ м}^2/\text{г}$ .

У результаті вивчення ІЧ-спектрів поверхні магнетиту виявлено функціональні групи ОН, концентрація яких, розрахована за даними термогравіметричного аналізу, дорівнювала  $2,2 \text{ ммоль/г}$  або  $24 \text{ мкмоль/м}^2$  за  $S_{\text{птг}} = 90 \text{ м}^2/\text{г}$ .

Криві намагнічування зразків вимірювали вібраційним магнітометром на частоті  $228 \text{ Гц}$  за кімнатної температури (дані

результатів вимірювань наведено нижче при розгляді відповідних наноструктур). Досліджували сухі розмагнічені високодисперсні зразки.

Дослідження морфології наночастинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  методами силової атомної мікроскопії засвідчило, що значна кількість наночастинок у висушеному стані формує агрегати розміром до 500 нм.

Нанокompозити виготовляли з фракції частинок магнетиту із середнім розміром 8-50 нм, які, згідно з експериментальними даними, є монодоменними.

Поверхню магнетиту стабілізували олеїною кислотою у розчині гексану. У стабілізованому магнетиті вміст вуглецю становив 2,00 %; водню – 1,50 %. У роботі [43] показано, що стабілізуюче покриття на поверхні магнетиту формується з двох шарів щільноупакованої олеїнової кислоти (переважно в іонізованій формі). Це підтверджує наявність в ІЧ-спектрах характеристичних смуг поглинання груп  $\text{COO}^-$ . Дифузна смуга поглинання відповідає валентним коливанням  $\text{Fe-OH}$ .

За допомогою растрової електронної мікроскопії (РЕМ) високої роздільної здатності та атомної силової мікроскопії (АСМ) встановлено, що частинки магнетиту розмірами 20–50 нм мають еліпсоїдну форму.

Згідно з методикою роботи [42] отримують магнетит із широким розподілом частинок за розмірами й низьким виходом монодоменних частинок певної фракції, тому необхідна додаткова операція з фракціонування.

Частинки магнетиту для медичних цілей мають відповідати низці вимог [43], а саме:

- розмір частинок має не перевищувати ~60 нм, аби вони могли вільно проходити крізь капіляри й не викликали емболізації;
- частинки повинні мати значний сумарний магнітний момент у технічно-досяжних полях, аби утримуватись у потоці крові за відповідних фізіологічних параметрів (для магнітних наночастинок це значення збігається з теоретично оціненим найдрібнішим магнітним доменом, причому частинки магнетиту в монодоменному стані мають найбільшу коерцитивну силу: розмір сферичних монодоменних частинок магнетиту за температури 300 °С становить ~30 нм [43]);
- носії мають бути здатними містити необхідний набір хіміотерапевтичних агентів, причому лікарська речовина має займати значну частку об'єму препарату;
- поверхневі властивості носіїв мають забезпечувати максимальну біосумісність й мінімальну антигенність;

- магнітні носії після виконання ними заданих функцій мають біодеградувати, а продукти розкладу швидко виводитися з організму або бути мінімально токсичними.

3 метою реалізації цих умов та отримання стабільних і прогнозованих результатів було розроблено кріохімічну методику гетерогенного синтезу магнетиту на межі поділу двох фаз: твердої (замороженого розчину солей) і рідкої (розчину аміаку фіксованої концентрації) [3].

Під час танення розчину солей на тонкій міжфазній межі підтримується (у першому наближенні) сталий градієнт концентрацій: з одного боку, це взятий у надлишку розчин аміаку, а з другого, у міру танення твердої фази, вивільнюється й вступає в реакцію розчин, що має задану сталу концентрацію реакційних компонентів.

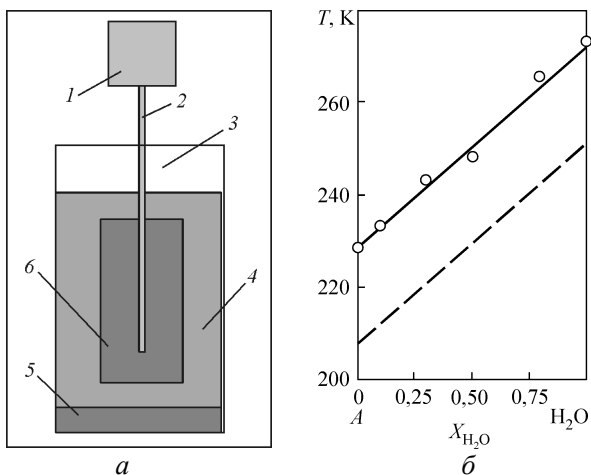
На відміну від гомогенного синтезу, зростання наночастинок на деякій відстані від поверхні замороженого розчину солей припиняється через відсутність солі заліза. Це дає змогу запобігти зростанню новоутворених частинок і зберегти їхні первісні розміри.

Унаслідок перебігу ендотермічної реакції плавлення розчину солей встановлюється стала температура, яка сприяє утворенню нанорозмірних частинок із близькими розмірами, причому низька температура реакційної суспензії заважає процесам утворення агрегатів із близьких до критичних за своїми параметрами зародків та їх рекристалізації, а це, в свою чергу, може призводити до утворення великих і не кращим чином структурованих частинок.

Реактор для кріохімічного синтезу (рис. 2.5, *a*) складається зі склянки 3 з аміачним розчином 4, в якій опущено фторопластовий стрижень 2, що обертається, із замороженим у формі циліндра сольовим розчином 6 певного складу. В нижній частині склянки осідає магнетит 5, що утворюється в результаті реакції.

Наночастинки магнетиту синтезовано за такою методикою. Стехіометричну кількість хлориду тривалентного заліза нагрівали до 315 °C і вливали, перемішуючи, в перший розчин – розчинений у мінімальній кількості води сульфат заліза  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (26,3 г  $\text{FeSO}_4$  на 100 г  $\text{H}_2\text{O}$  за 293 К). Отримували концентрований розчин солей заліза *A*. Заздалегідь вставивши стрижень 2, розбавлений водою розчин *A* охолоджували до температури, на ~20 °C нижчої за точку його кристалізації (рис. 2.5, *б*, штрихова лінія). Стрижень 2 прикріплювали до ротора мотора 1 й опускали циліндр із сольового розчину в розчин аміаку відповідної концентрації (швидкість обертання стрижня становила ~3,2 об/с).

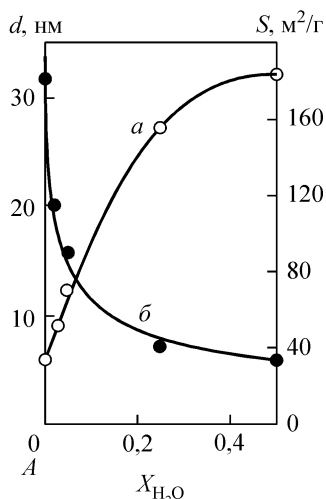




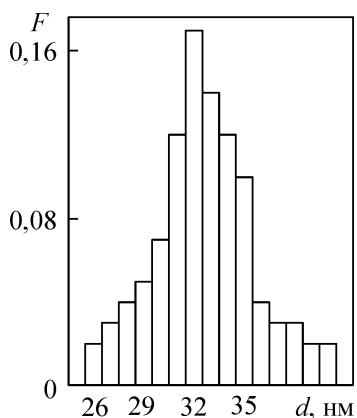
**Рис. 2.5.** Блок-схема реактора для кріохімічного синтезу монодисперсного магнетиту (а); залежність температури  $T$  замерзання сольового розчину  $A$  від об'ємної частки води  $X_{H_2O}$  (б)

Заморожений розчин солей заліза, що розтанув, вступав у реакцію хімічної конденсації з розчином аміаку із утворенням високодисперсного магнетиту, який осаджували з використанням неоднорідного магнітного поля, а розчин відділяли методом декантації. Осад багаторазово промивали – до повного видалення з нього аніонів.

За кріохімічною методикою отримали зразки нанокристалічного магнетиту. Досліджена методом адсорбції аргону площа поверхні висушеного порошку, залежно від ступеня розбавлення водою початкового розчину  $A$ , плавно змінювалася – від  $\sim 40$  до  $180 \text{ м}^2/\text{г}$  (рис. 2.6). Розмір частинок, залежно від умов синтезу, становив, із досить вузьким інтервалом розподілу,  $6\text{--}50 \text{ нм}$  (рис. 2.7).



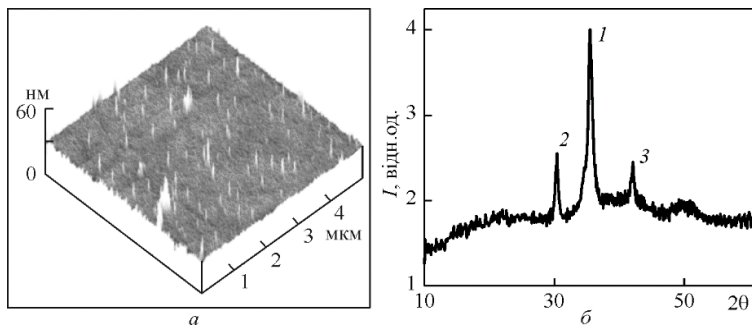
**Рис. 2.6.** Залежність усередненого діаметра (1) та площі поверхні частинок магнетиту (2) від ступеня розбавлення водою розчину  $A$  ( $X_{H_2O}$  – об’ємна частка  $H_2O$ )



**Рис. 2.7.** Розподіл наночастинок магнетиту за діаметрами

Визначили умови отримання монодоменого магнетиту за контролю *in situ* розміру частинок силовим наноскопом «Digital Instruments NanoScope» (рис. 2.8, *a*).

Згідно з рентгенівськими дослідженнями, отримані за цією методикою зразки мали не повністю сформовану кристалічну ґратку. На дифрактограмі зразка (рис. 2.8, *б*) є лише три характерні для магнетиту найінтенсивніші піки: 1 ( $2\theta = 35,5^\circ$ ); 2 ( $30,4^\circ$ ); 3 ( $42,1^\circ$ ).

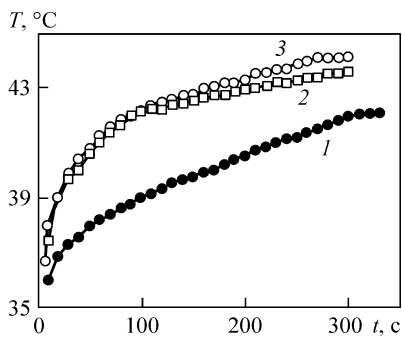


**Рис. 2.8.** АСМ-зображення частинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  на полірованій поверхні монокристалічного кремнію (а); дифрактограма зразка нанорозмірного магнетиту (б)

Переваги запропонованої методики полягають у тому, що вона дає змогу безпосередньо в процесі синтезу отримувати монодоменні частинки магнетиту з високим виходом і спрощує процес подальшого виділення високодисперсного продукту (сепарації).

### 2.3.3. Дослідження гіпертермічного ефекту

Для з'ясування можливості створення гіпертермічних зон досліджено нерезонансний (тепловий) вплив електромагнітного випромінювання ( $\lambda = 3$  см) на модельні м'язові тканини тварин *in vitro*, в які ін'єктували високодисперсний магнетит (рис. 2.9) [22]. Маса зразків тканин становила 5 г.



1 – початковий стан; 2, 3 – з ін'єкціями магнетиту

**Рис. 2.9.** Залежність температури зразків м'язової тканини від тривалості обробки

Тканини 2 і 3 відрізнялися за вмістом незначної кількості жирової складової. Площа опромінення становила  $\sim 2 \text{ см}^2$ . Встановлено, що в разі введення в м'язові тканини частинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (мас. частка 0,1 %) поглинання електромагнітного випромінювання зростало, а швидкість нагрівання збільшувалася від 2–3 до 4 град/хв за потужності випромінювання 0,5 Вт.

## 2.4. Хімічне модифікування поверхні магнетиту

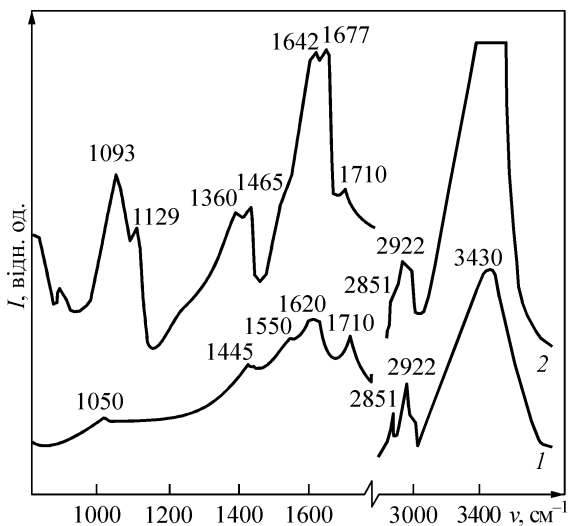
### 2.4.1. Модифікування поверхні магнетиту поліакриламідом

З метою підвищення біосумісності наночастинок, а також функціоналізації поверхні потрібними реакційноздатними групами для подальшої іммобілізації біоактивних компонентів на поверхні нанодисперсного магнетиту було сформовано полімерне поліакриламідне покриття. Шар поліакриламід (ПАА) на поверхні частинок магнетиту отримували полімеризацією акриламід у  $\text{N}$ -,  $\text{N}'$ -метилен-*bis*-акриламідом у плазмі тліючого ВЧ-розряду [3, 44, 45]. Аналіз кінетичних кривих титрування подвійних вуглець–вуглецевих зв'язків підтвердив, що повна полімеризація шару поліакриламідів відбувається за 120 с.

У результаті вивчення ІЧ-спектрів вихідного магнетиту і його ж із поліакриламідним покриттям на їхніх поверхнях встановлено наявність, відповідно, реакційноздатних  $-\text{OH}$  і  $-\text{NH}_2$  функціональних груп. ІЧ-Фур'є-спектри зразків магнетиту вихідного та модифікованого поліакриламідним шаром наведено на рис. 2.10.

Для вихідного  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  смуга поглинання при  $3428 \text{ см}^{-1}$  відповідає валентним коливанням  $-\text{OH}$ -груп на поверхні магнетиту, що асоціюються з водневими зв'язками та валентними коливаннями адсорбованих молекул води [46]. Смуги поглинання при  $2851$  і  $2922 \text{ см}^{-1}$  належать до симетричних і асиметричних валентних коливань  $\text{CH}_2$ -груп стабілізуючого покриття, при  $1710 \text{ см}^{-1}$  – смуга відповідає валентним коливанням карбонільної групи олеїнової кислоти, не сполученої водневими зв'язками [47], при  $1620 \text{ см}^{-1}$  – деформаційним коливанням адсорбованих поверхнею магнетиту молекул води, при  $1445$  і  $1550 \text{ см}^{-1}$  – смуги характеризують симетричні й асиметричні коливання зв'язків –  $\text{COO}$ -груп стабілізуючого покриття.

В ІЧ-Фур'є-спектрі магнетиту з поліакриламідним покриттям з'являються смуги поглинання модифікатора. Інтенсивна смуга при  $3428 \text{ см}^{-1}$  зумовлена валентними коливаннями зв'язку  $\text{N}-\text{H}$ , смуги при  $2851$  і  $2922 \text{ см}^{-1}$  – симетричними та асиметричними коливаннями  $\text{CH}_2$ -груп ПАА, при  $1677 \text{ см}^{-1}$  – коливаннями до  $\text{C}=\text{O}$ -амідних груп, низькочастотне крило яких при  $1642 \text{ см}^{-1}$  пов'язане з деформаційними коливаннями  $\text{NH}_2$ -груп ПАА [46].



**Рис. 2.10.** ІЧ-Фур'є-спектри магнетиту вихідного (1) і з поліакриламідним покриттям (2); таблетки КВг

Смуги при 1360 і 1465  $\text{см}^{-1}$  слід віднести до симетричних і асиметричних коливань  $\text{CH}_2$ -груп ПАА, при 1120  $\text{см}^{-1}$  – до  $\text{C-N}$ -деформаційних коливань амідної групи. У цій самій ділянці можуть реєструватися смуги поглинання заряджених форм атомарного і молекулярного кисню ( $\text{O}^{2-}$ ,  $\text{O}^-$  та ін.), виникнення яких можливе у процесі полімеризації в плазмі ВЧ-розряду [48].

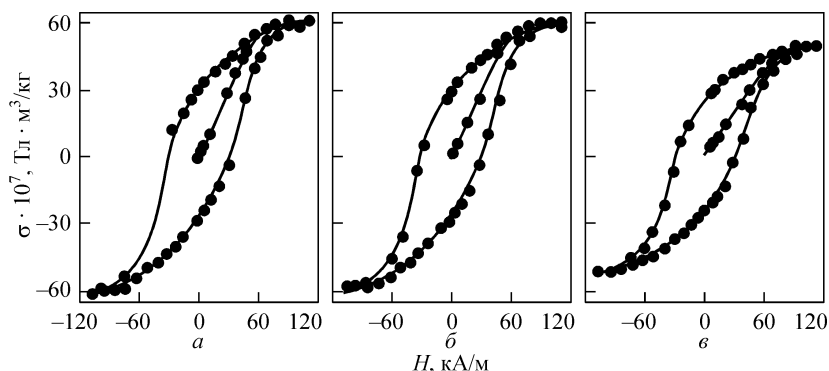
Також досліджено магнітні характеристики частинок магнетиту та з'ясовано вплив на них поліакриламідного покриття. Масу покриття змінювали з 5 до 50% загальної маси частинок магнетиту. За експериментальними результатами розраховано питому намагніченість зразків  $\sigma_i$  та побудовано залежності  $\sigma_i = f(H)$ , згідно з якими визначено граничну намагніченість за умови насичення  $\sigma_s$ , залишкову намагніченість  $\sigma_r$  і коерцитивну силу  $H_c$  [49].

На рис. 2.11 наведено залежності питомої намагніченості від напруженості магнітного поля для високодисперсного магнетиту без покриття і з різним вмістом покриття на поверхні. З аналізу даних випливає, що зміна маси покриття з 0 до 10% не призводить до помітної зміни початкових магнітних характеристик магнетиту:

$$\sigma_s = (61,5 \dots 62,0) \cdot 10^{-7} \text{ Тл} \cdot \text{м}^3 / \text{кг};$$

$$H_c = 30,94 \dots 29,31 \text{ кА/м};$$

$$\sigma_r = 30,1 \cdot 10^{-7} \text{ Тл} \cdot \text{м}^3 / \text{кг}.$$



**Рис. 2.11.** Залежність питомої намагніченості частинок магнетиту від напруженості магнітного поля: *a* – без покриття; *б*, *в* – з полімерним покриттям (*б* – 10, *в* – 50 % загальної маси зразка)

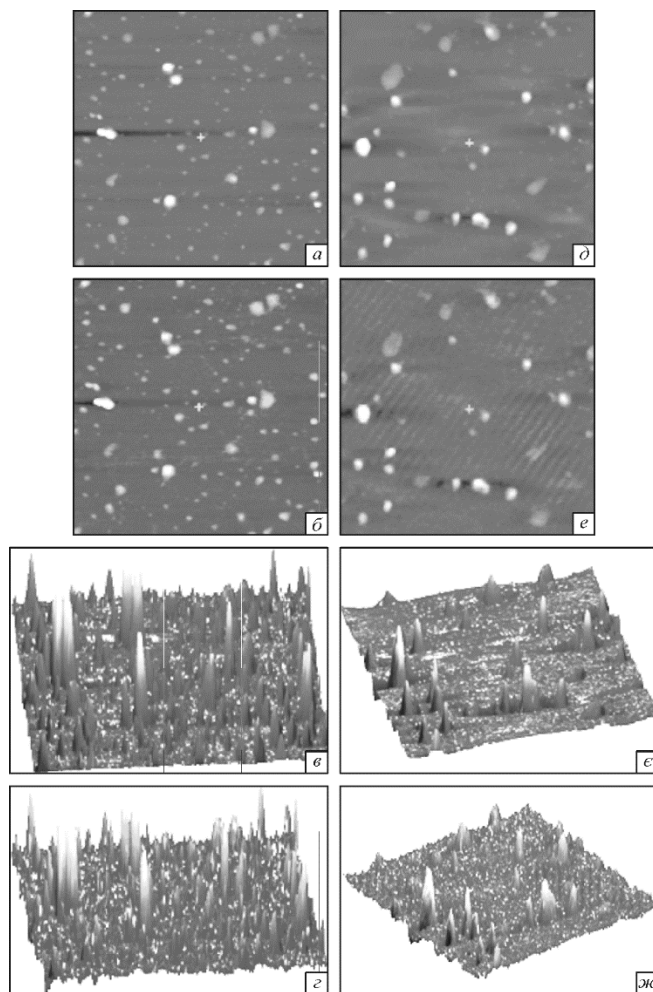
За подальшого збільшення маси покриття до 50 % значення  $\sigma_s$  зменшуються до  $51,1 \cdot 10^{-7}$  Тл·м<sup>3</sup>/кг,  $\sigma_r$  – до  $24,0 \cdot 10^{-7}$  Тл·м<sup>3</sup>/кг,  $H_c = 29,31$  кА/м.

Ці результати свідчать, що приріст маси поліакриламідного покриття на поверхнях частинок магнетиту до 50 % не чинить істотного впливу на магнітні характеристики.

Зразки ж нанокompatивів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА досліджували методами атомно-силової та магнітно-силової наноскопії. На рис. 2.12 наведено зображення масивів нанокompatивів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/поліакриламід і Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/амінопропілсилосан (АПС) у форматах 2d- і 3d-, отримані методами атомно-силової та магнітно-силової мікроскопії. Використовували висушені порошкоподібні зразки з широким розмірним діапазоном частинок та їхніх агрегатів (від 8 нм до 1 мкм).

Отримані вищезгаданими методами зображення нанокompatивів відповідали одне одному, а це свідчить про координацію магнітних і «силових» фаз, незначну товщину та рівномірний розподіл зшитого ПАА навколо частинок.

Подібний висновок можна зробити і щодо структур магнетит/амінопропілсилосан: магнітні й «силоі» фази збігаються, а шар  $\gamma$ -АПС розподілений навколо частинок магнетиту достатньо рівномірно і має незначну товщину.

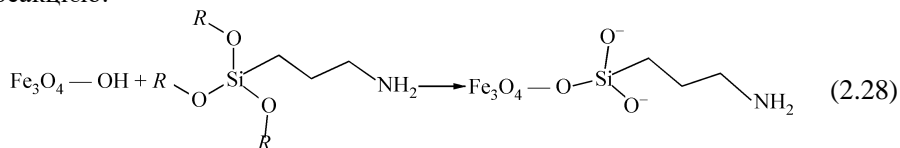


**Рис. 2.12.** Зображення масивів нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  (а–г) і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  (д–ж) у форматах 2d- (а, б, д, е, є) і 3d- (в, з, жс), отримані методами атомно-силової (а, в, д, є) і магнітно-силової (б, з, е, жс) мікроскопій

#### 2.4.2. Хімічне модифікування поверхні магнетиту $\gamma$ -амінопропілсилоксаном

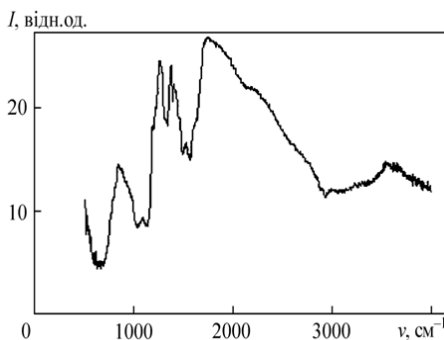
З метою функціоналізації нанодисперсного магнетиту активними аміногрупами проведено синтез  $\gamma$ -амінопропілсилоксанового покриття на поверхнях наночастинок магнетиту, модифікованих рідиннофазним

способом, а саме  $\gamma$ -амінопропілтриетоксисиланом у толуолі [50] за реакцією:



У підсумку поверхня магнетиту набула основних властивостей унаслідок приєднання  $\gamma$ -амінопропільних груп. Надалі модифіковані зразки досліджували методами дериватографії, рентгеноструктурного аналізу, ІЧ-Фур'є-спектроскопії та атомно- і магнітно-силової мікроскопії [50].

Після модифікування магнетиту приєднанням до його поверхні  $\gamma$ -амінопропільних груп структурні перетворення магнетиту, за даними рентгенофазового аналізу, не відбувалися. При цьому вміст амінопропільних груп визначали за втратою маси в інтервалі 450–1010 К з урахуванням наявності в пробі фізично адсорбованої води. Концентрація амінопропільних груп становила 24 мкмоль/м<sup>2</sup>. ІЧ-Фур'є-спектр модифікованого  $\gamma$ -АПС магнетиту (рис. 2.13) містив смуги поглинання при 3280 і 3370 см<sup>-1</sup>, які пов'язані із симетричними та асиметричними валентними коливаннями NH<sub>2</sub>-груп амінопропільного радикала.



**Рис. 2.13.** ІЧ-Фур'є-спектр модифікованого  $\gamma$ -амінопропілсиліоксаном магнетиту

Смуги поглинання при 2861 і 2920 см<sup>-1</sup> зумовлені симетричними й асиметричними коливаннями СН<sub>2</sub>-груп амінопропільного радикала, при 1625 см<sup>-1</sup> – деформаційними коливаннями молекул адсорбованої на поверхні магнетиту води, при 1550 см<sup>-1</sup> – симетричними деформаційними коливаннями протонуваних аміногруп [–NH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, поява яких в ІЧ-Фур'є-



спектрі пов'язана з перенесенням протона гідроксильних груп поверхні до атомів азоту амінопропільного радикала, а при  $1542\text{ см}^{-1}$  – деформаційними коливаннями  $\text{NH}_2$ -груп [51, 52].

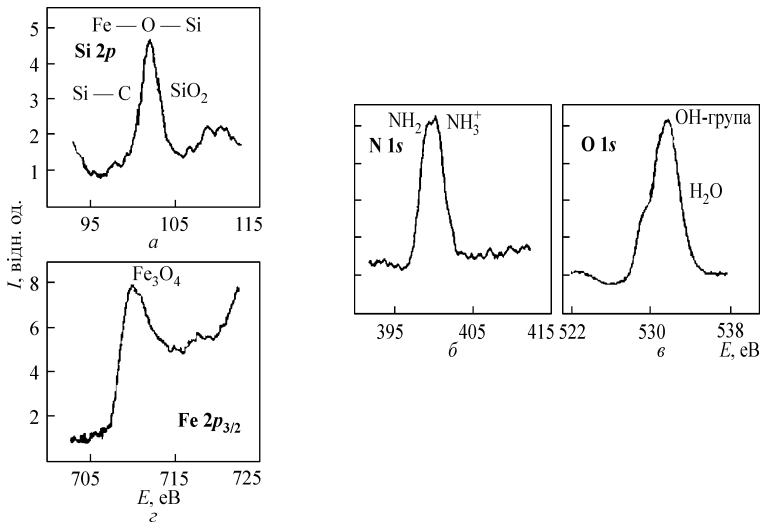
Інтенсивний дублет смуг поглинання при  $1052$  і  $1108\text{ см}^{-1}$  свідчить про утворення полімерної структури з доволі високим ступенем полімеризації, коли на поверхні магнетиту відбувається гідролітична поліконденсація молекул модифікатора із формуванням полімерної структури прищепленого шару цього останнього.

В результаті дослідження полідиметилсилоксанів  $[\text{HO}(\text{CH}_3)_2\text{SiO}]_n$  [53] встановлено, що зафіксована в ІЧ-Фур'є-спектрі смуга поглинання  $\nu\text{Si}-\text{O}$  зміщується при зміні  $n$  із 4 до 7 на  $\Delta\nu = 20\dots30\text{ см}^{-1}$ . Для полідиметилсилоксанів із вищими значеннями  $n$  реєструються дві смуги поглинання однакових інтенсивностей зі сталим значенням  $\Delta\nu$ , що становить  $70\text{ см}^{-1}$ .

Розщеплення смуги свідчить про зміну надмолекулярної структури у модифікувальному шарі. В процесі формування полімерного шару на поверхні магнітних частинок на межі поділу магнетит–полімерний шар є всі умови для утворення зв'язків між атомами заліза, що знаходяться на поверхнях магнітних частинок, та атомами азоту амінопропільного радикала. В ІЧ-Фур'є-спектрі зв'язок  $\text{Fe}-\text{N}$  виявляється у формі спектра поглинання низької інтенсивності за  $1150\text{--}1280\text{ см}^{-1}$ .

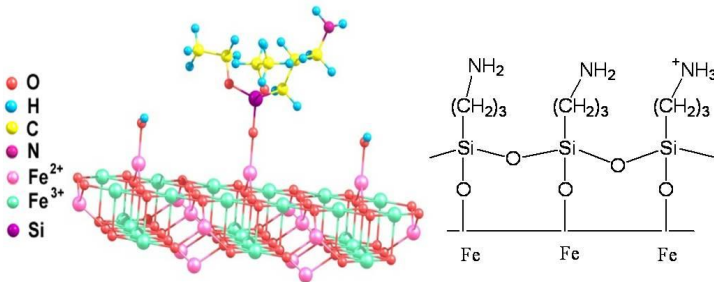
Результати досліджень зразків модифікованого  $\gamma$ -АПС високодисперсного магнетиту методами рентгенофотоелектронної спектроскопії [3, 5, 54] наведено на рис. 2.14, *a–z*. Так, спектр  $\text{Si } 2p$  (рис. 2.14, *a*) містить піки, що належать фотоелекtronom груп покриття модифікатора. Компонент з  $E = 101\text{ eV}$  відповідає групам, які містять  $\text{Si}-\text{C}$ -зв'язок, а з  $E = 102,5\text{ eV}$  – групам зі зв'язком  $\text{Si}-\text{OH}$ . У спектрі  $\text{N } 1s$  є два компоненти (рис. 2.14, *b*): пік з енергією зв'язку  $399,2\text{ eV}$  вказує на наявність на поверхні зразка  $\text{NH}_2$ -груп, а з  $400\text{ eV}$  –  $[-\text{NH}_3]^+$ -груп.

У свою чергу, спектр  $\text{O } 1s$  (рис. 2.14, *в*) свідчить про наявність на поверхнях досліджуваних високодисперсних частинок різних форм кисню:  $528\text{--}530\text{ eV}$  – атомів кисню в оксидній матриці;  $532\text{ eV}$  – цих атомів у складі  $\text{OH}$ -груп;  $534\text{ eV}$  – їх же у складі фізично зв'язаної води. Пік  $710,1\text{ eV}$  (див. рис. 2.14, *z*) належить основній фазі поверхні зразка – магнетиту, тобто на поверхні не виявлено хімічних зв'язків, які б відповідали іншим оксидним фазам заліза.



**Рис. 2.14.** Рентгенофотоелектронні спектри високодисперсного магнетиту, модифікованого  $\gamma$ -амінопропілсілоксаном

На підставі аналізу отриманих результатів запропоновано модель поверхні частинок модифікованого  $\gamma$ -АПС високодисперсного магнетиту (рис. 2.15).



**Рис. 2.15.** Модель поверхні високодисперсного магнетиту, модифікованого  $\gamma$ -амінопропілсілоксаном

Згідно з цією моделлю, на поверхнях частинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  утворюється моношар оксиду кремнію, в якому атоми кремнію, з одного боку, через кисневі містки хімічно зв'язані з атомами заліза, а з іншого – утримують амінопропільні групи. Концентрація цих груп становить 2,2 ммоль/г або 24 мкмоль/м<sup>2</sup> за  $S_{\text{птг}} = 90 \text{ м}^2/\text{г}$ , що відповідає концентрації гідроксильних груп на поверхні вихідного магнетиту. Отже, на поверхні магнетиту

формується полімерне покриття Si–O–Si з високим ступенем полімеризації, яке, у свою чергу, може бути використане для надання магнітним носіям певних хімічних чи біохімічних властивостей, а також для виготовлення магнітокерованих адсорбентів.

#### **2.4.3. Модифікування поверхні магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою**

Перспективними модифікувальними агентами [55] поверхонь нанорозмірних частинок медико-біологічного призначення є сполуки з тіольними функціональними групами. Так, використання мезо-2,3-димеркаптосукцинової кислоти (ДМСК) для формування капсули з магніточутливих частинок вирішує проблему забезпечення стабільності колоїдної системи у водному середовищі та біосумісності матеріалу, уможливує іммобілізацію необхідних сполук через тіольні й карбоксильні функціональні групи поверхні.

Виконані дослідження свідчать про здатність тіольних груп утворювати зв'язки з іонами важких металів і залишками цистеїну в молекулах білків крові [56] та полегшено виводитись з організму [57]. Тіольні групи ДМСК також формують дисульфідні містки між адсорбованими молекулами й утворюють міцну полімерну нанокапсулу [56–58].

Сформовані з використанням ДМСК покриття містять як тіольні, так і карбоксильні групи, придатні для ковалентного приєднання сенсорних молекул і лікарських засобів [57, 59].

Сенсорні молекули іммобілізують за допомогою фізичної адсорбції, а також із залученням крос-лінкерних агентів (типу амінореакційноздатного сульфо-SMCC – сульфосукцинімідилу, який швидко реагує з первинними амінами). Надалі maleimidні групи взаємодіють із реакційноздатними сульфогідрильними групами покриття з подальшим утворенням специфічних кон'югатів. Циклогексановий місток надає maleimidній групі додаткової стабільності, що, в свою чергу, робить сульфо-SMCC ідеальним крослінкерним агентом під час maleimidного активування протеїнів.

Отже, відкриті ДМСК частинки є перспективними носіями у контексті подальших медико-біологічних досліджень. Так, при вивченні *in vivo* кінетики покриття клітинної мембрани магнітними наночастинками з оболонками на основі ДМСК було отримано дані [60, 61], що підтверджують підвищення (до 32,5%) рівня фагоцитозу цих останніх такими клітинами імунної системи, як макрофаги і нейтрофіли.

### 2.4.3.1. Методика синтезу магнітної суспензії на основі мезо-2,3-димеркаптосукцинової кислоти

Також під час досліджень наважки 0,249 г  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  і 0,751 г  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  розчиняли в 11,4 мл дистильованої води у реакторі в середовищі азоту [53]. Температуру розчину підвищували до 80 °С і, перемішуючи, повільно доводили його концентрацію до 1,4 мл 25%-го водного розчину аміаку. Випадав осад  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  чорного кольору. До реакційної суміші додавали 0,29 г ДМСК на 2 мл води та підвищували температуру суміші на 30 хв до 94 °С. Чорний осад швидко перетворювався на стабілізовану водну суспензію червонуватого забарвлення. Отриману реакційну суміш очищували діалізом, використовуючи 2 л дистильованої води.

Надалі характеристики наноколоїдних магнітних суспензій досліджували фізичними і хімічними методами:

- ІЧ-Фур'є-спектроскопії (виробництва «Perkin Elmer», модель «1720X») у діапазоні 400–4000  $\text{cm}^{-1}$ ;

- рентгенівської фотоелектронної спектроскопії на електронному спектрометрі «ЕС-2402» (з енергоаналізатором «PHOIBOS-100\_SPECS», де  $E_{\text{MgK}\alpha} = 1253,6 \text{ eV}$ ;  $P = 200 \text{ Вт}$ ;  $p = 2 \cdot 10^{-7} \text{ Па}$ ), оснащеному іонною гарматою «IQE-11/35» і джерелом повільних електронів «FG-15/40» (для компенсації заряду поверхні діелектриків). Його спектри  $S_{2p}$ -рівнів розкладали на незалежні компоненти методом Гаусса–Ньютона (їх ширина на половині висоти становила  $\Delta E = 0,9 \text{ eV}$ ), а площу компонент визначали після обчислення фону методом Ширлі [61];

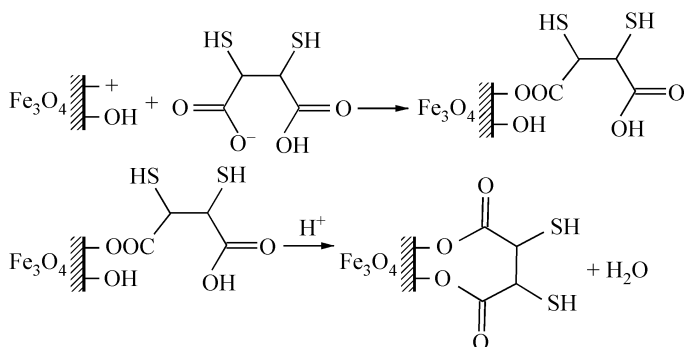
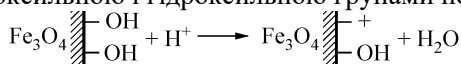
- кількісного аналізу функціональних SH-груп, коли наважки отриманого нанокompозиту (0,03 г) розчиняли у 20 мл диметилсульфоксиду, доливали 50 мл 0,1 н розчину йоду. Паралельно готували контрольний розчин. Суміш ретельно перемішували і залишали на деякий час для забезпечення повноти перебігу реакції. Надлишок йоду титрували 0,1 н розчином тіосульфату натрію (за наявності крохмалю). Вміст тиольних груп розраховували за формулою:

$$(V_1 - V_0)NM - 100/g \cdot 1000, \quad (2.29)$$

де:  $V_1$ ,  $V_0$  – об'єми розчину тіосульфату натрію, витрачені на титрування, відповідно, контрольного розчину і проби, мл;  $N$  – рівень нормальності розчину тіосульфату натрію;  $M$  – молярна маса тіолу;  $g$  – наважка нанокompозиту, г.

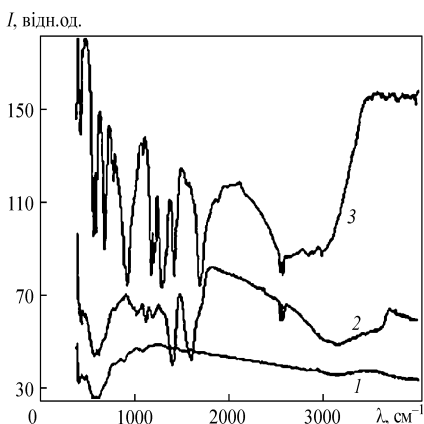
Дзета-потенціал і середній розмір частинок утвореної магнітної рідини визначали з використанням динамічного світлорозсіювання на приладі «Zetasizer» компанії «Malvern». Виміряли й розподіл частинок магнітної рідини  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ –ДМСК/вода за дзета-потенціалом.

ДМСК приєднувалася до оксиду заліза – з утворенням зв'язку між карбоксильною і гідроксильною групами поверхні – за реакцією:



Отриманий водний золь вкритих ДМСК наночастинок був стабільним у широких межах рН (3–11) у фосфатних буферних системах. При цьому також підтвердили, що агрегація частинок суспензії неістотна, а вільні карбоксильні групи надають наночастиці гідрофільних властивостей.

На рис. 2.16 наведено ІЧ-Фур'є-спектри магнетиту, нанокompозиту з ДМСК-поверхнею (2) і самої ДМСК.

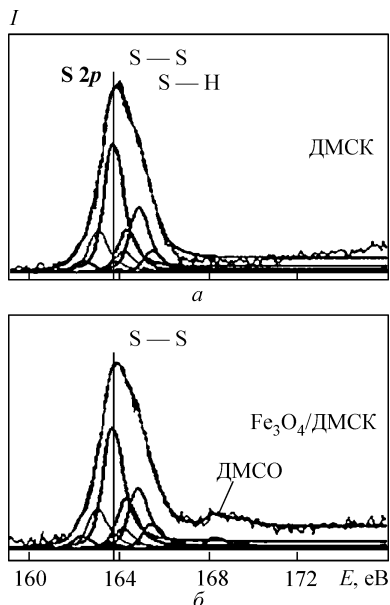


**Рис. 2.16.** ІЧ-Фур'є-спектри магнетиту (1), нанокompозиту з ДМСК-поверхнею (2) і мезо-2,3-димеркаптосукцинової кислоти (3)

Спостерігали 3 основні групи смуг при  $\sim 550 \text{ cm}^{-1}$ ;  $\sim 1400$  і  $\sim 1630 \text{ cm}^{-1}$ ;  $2505$  і  $2510 \text{ cm}^{-1}$ , що відповідали S-S-, C=O- і S-H-зв'язкам у ДМСК-покритті на поверхнях магнетиту й оболонки. Незважаючи ж на те, що

характеристична смуга S–S перетиналася зі смугою Fe–O при 593 і 606  $\text{см}^{-1}$ , незначне зміщення у бік менших енергій і збільшення інтенсивності піка при 550  $\text{см}^{-1}$  на ІЧ-Фур'є-спектрі засвідчили утворення S–S-зв'язку між молекулами ДМСК [57].

Рентгенівські фотоелектронні спектри S 2*p*-рівнів наночастинок магнетиту з оболонкою ДМСК і розкладених на компоненти S 2*p*-спектрів зразків ДМСК наведено на рис. 2.17 та у табл. 2.2.



**Рис. 2.17.** Розкладені на компоненти S 2*p*-спектри зразків ДМСК (а) і наноконкомпозиту з оболонкою ДМСК (б)

**Таблиця 2.2.** Енергії зв'язку (*E*) максимумів компонент S 2*p*-спектрів та інтегральні інтенсивності компонент *I*

<i>E</i> S 2 <i>p</i> , eV	<i>I</i> Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ДМСК, %	<i>I</i> ДМСК, %
162,3	5,27	4,97
163,0	16,68	18,47
163,7	51,81	57,5
164,3	21,39	19,06
168,3	4,85	–

Як бачимо, у спектрах початкового зразка ДМСК є сигнали від трьох нееквівалентних станів іонів сірки. Домінуюча компонента на ділянці  $E = 163,7$  еВ відповідає фрагменту зв'язку  $\text{H-S-C}$  в ДМСК [61].

Із результатів розкладання на компоненти спектра поверхні модифікованого магнетиту видно (рис. 2.17, а), що кількість і співвідношення компонент порівняно з початковим зразком ДМСК практично не змінюються. Це вказує на формування на поверхні магнетиту шару саме з ДМСК.

Характерною ж ознакою за  $E = 168,4$  еВ є слабкий сигнал ( $\sim 4\%$ ), який можна пояснити наявністю слідів ДМСК. Оскільки  $E$   $S$  2 $p$ -рівня атомів сірки у фрагменті  $-\text{S-S}-$  [61] знаходиться в тому самому інтервалі енергій, що й фрагмента  $\text{S-H}$  в ДМСК, зміну внесків двох нееквівалентних станів атома сірки не зафіксовано, тоді як компоненти з енергіями зв'язку  $E = 163,0$  і  $164,3$  еВ можна зіставити зі сполуками проміжних етапів синтезу ДМСК як основної речовини.

У свою чергу, хімічні методи визначення функціональних груп в органічних сполуках широко застосовують, незважаючи на розвиток інструментальних методів аналізу. Так, тіолі можна розглядати як похідні сірководню, в яких заміщений один  $\text{H}$ -атом, що й зумовлює подібність їхніх та водню хімічних властивостей.

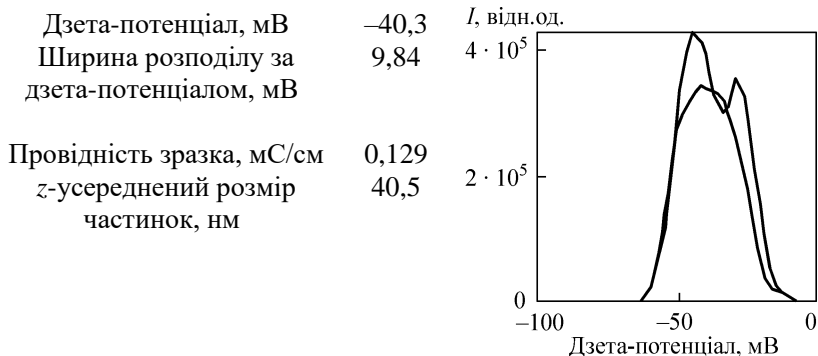
Відомо кілька методів кількісного визначення  $\text{SH}$ -груп, а саме: аргентометричний, що включає амперо- й алкаліметричне потенціометричні титрування; методи, які ґрунтуються на окисненні йодом та іонами міді. У наших дослідженнях було обрано метод титрування Кімбола–Крамера–Ріда, що базується на реакції окиснення [14, 15]:



Надалі було встановлено, що кількість  $\text{SH}$ -груп у нанокompозитах становить  $2,4$  ммоль/г, а за  $S_{\text{птг}} = 130$  м<sup>2</sup>/г –  $19$  мкмоль/м<sup>2</sup>. Для порівняння визначили кількість  $\text{SH}$ -груп у ДМСК і з'ясували, що вона складає  $17$  ммоль/г.

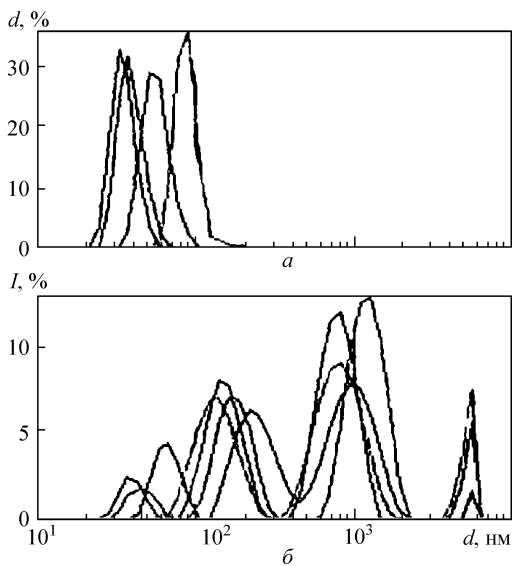
Дзета-потенціал та усереднений розмір частинок зразків магнітної рідини встановили методом динамічного світлорозсіювання. Потім провели дві серії вимірювань розподілу частинок магнітної рідини  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ –ДМСК/вода за дзета-потенціалом (рис. 2.18) та отримали такі результати:

Як бачимо, на рис. 2.18 зафіксовано розміри найдрібніших частинок, тоді як наведені на рис. 2.19 дані вказують на наявність у складі нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ –ДМСК агрегованих частинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Такі агрегати помітні навіть у незначних кількостях, оскільки інтенсивність динамічного світлорозсіювання дуже сильно зростає зі збільшенням розмірів частинок.



**Рис. 2.18.** Розподіл частинок магнітної рідини  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -ДМСК/вода за дзета-потенціалом. Дзета-потенціал та усереднений розмір частинок  $z$  магнітної рідини  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -ДМСК/вода згідно з даними світлорозсіювання

Методом динамічного світлорозсіювання також досліджено (у 4-х вимірах) розподіл частинок магнітної рідини  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -ДМСК/вода залежно від їхніх розмірів та інтенсивності світлорозсіювання (рис. 2.19).



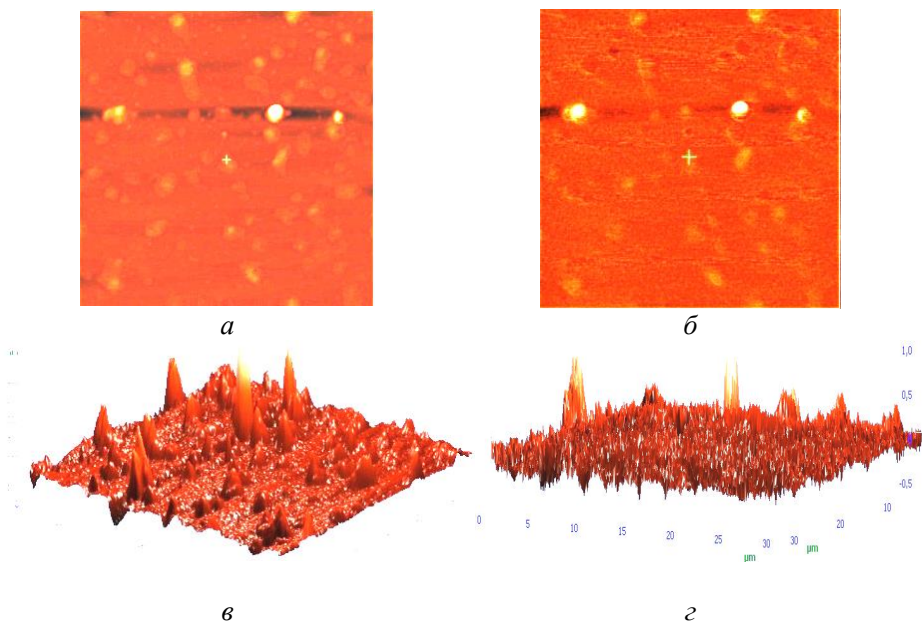
**Рис. 2.19.** Розподіл кількості  $d$  частинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -ДМСК у воді за розмірами ( $a$ ) та інтенсивністю динамічного світлорозсіювання ( $b$ )

Вимірюванням дзета-потенціалу магнітних наночастинок у водному середовищі за  $\text{pH} = 7$  встановлено, що вони мають доволі високий



негативний потенціал і характеризуються сильним електростатичним відштовхуванням, яке заважає агрегації частинок у воді, тоді як зі зростанням рН дзета-потенціал зменшується внаслідок підвищення ступеня іонізації функціональних COOH- і SH-груп [59].

Зразки нанокompозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДМСК досліджували також методами атомно-силової та магнітно-силової мікроскопії (рис. 2.20). Результати досліджень дають підставу стверджувати, що у зразках містяться як наночастинки розміром ~8 нм, так і агрегати (до 100 нм), причому зображення нанокompозитів, отриманих згаданими методами, свідчать про незначну товщину і досить рівномірний розподіл ДМСК навколо частинок магнетиту.



**Рис. 2.20.** Зображення масивів нанокompозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДМСК (*a–г*) у форматах 2d (*a, б*) і 3d (*в, г*), отримані методами атомно-силової (*a, в*) та магнітно-силової (*б, г*) мікроскопії

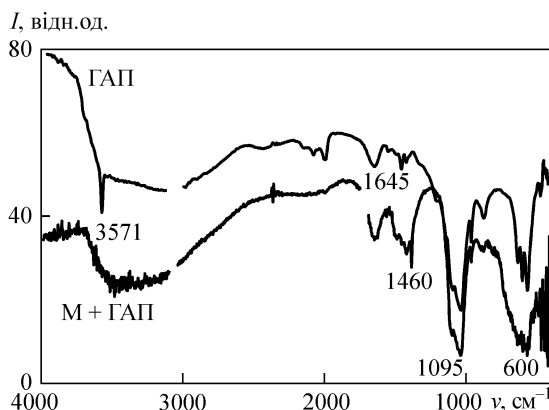
Розроблена авторська методика синтезу нанокompозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДМСК придатна для отримання медико-біологічних нанокompозитів з іммобілізованими сенсорними молекулами й біоактивними сполуками, яким притаманні функції розпізнавання мікробіологічних об'єктів.

#### 2.4.4. Модифікування поверхні магнетиту гідроксиапатитом

З метою надання магніточутливим носіям високої біосумісності також розроблено методику синтезу нанокompatитів на основі нанокристалічного магнетиту і гідроксиапатиту. Вихідний магнетит синтезували рідиннофазним і твердофазним способами. Синтез ГАП на поверхні магнетиту здійснювали теж двома способами. Зокрема, основою першого способу [62, 63] синтезу покриття з ГАП була реакція:



Отримані зразки досліджено методами ІЧ-Фур'є-спектроскопії, рентгеноструктурного аналізу та рентгенівської фотоелектронної спектроскопії, а також вивчено їх склад і структуру (ІЧ-Фур'є-спектри ГАП і нанокompatиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  наведено на рис. 2.21).



**Рис. 2.21.** ІЧ-Фур'є-спектри гідроксиапатиту і нанокompatиту магнетит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$

Із порівняння даних, отриманих з ІЧ-Фур'є-спектрів, із літературними [64–67] можна зробити висновок, що смуга поглинання у спектрі вихідного гідроксиапатиту (див. ГАП на рис. 2.21) на ділянці  $3569\text{ см}^{-1}$  належить валентним коливанням координованих катіоном ОН-груп, яким також відповідає широка смуга в інтервалі  $3700\text{--}2800\text{ см}^{-1}$ , що свідчить про наявність водневих зв'язків. Смуга ж поглинання при  $1645\text{ см}^{-1}$  характеризує деформаційні коливання молекул адсорбованої на поверхні ГАП води.

Про валентні коливання груп  $\text{CO}_3^{2-}$  у структурі ГАП свідчить смуга при  $1455\text{ см}^{-1}$ , ділянці  $1095\text{ см}^{-1}$  – відповідають коливання груп  $\text{PO}_4^{3-}$  і

$\text{HPO}_4^{2-}$  структури ГАП, а в інтервалі  $800\text{--}400\text{ см}^{-1}$  валентні коливання зумовлені деформаційними коливаннями тетраєдрів  $\text{PO}_4^{3-}$ .

Широка смуга поглинання при  $3500\text{ см}^{-1}$  (див. М + АП на рис. 2.21) відповідає валентним коливанням ОН-груп поверхні нанокompозиту, а відсутня у спектрі магнетиту широка смуга при  $1380\text{ см}^{-1}$  – коливанням зв'язків Р–О. Смуга ж поглинання при  $1645\text{ см}^{-1}$  характеризує деформаційні коливання адсорбованих на поверхні нанокompозиту молекул води, тоді як смуга поглинання при  $1460\text{ см}^{-1}$  належить деформаційним коливанням ОН-груп та вказує на наявність у структурі зразка груп  $\text{CO}_3^{2-}$ , а смуга в інтервалі  $1095\text{--}1100\text{ см}^{-1}$  належить коливанням груп  $\text{PO}_4^{3-}$  і  $\text{HPO}_4^{2-}$  структури ГАП, тоді як при  $800\text{--}500\text{ см}^{-1}$  – деформаційним коливанням Fe–ОН-груп магнетиту. Під час термообробки водневі зв'язки руйнуються і фізично адсорбована вода видаляється, однак – через високу термічну стійкість зв'язків ОН-груп із катіоном у ГАП – інтенсивність пов'язаних із цією групою смуг поглинання не знижується.

За даними рентгенівської дифракції (рис. 2.22), досліджені зразки містили магнетит (найінтенсивніші рефлекси на дифрактограмі) та ГАП (рефлекси при кутах  $2\theta = 30,2; 33,7; 37,1; 37,6; 38,4; 39,8; 46,6; 54,8^\circ$ ). Середні розміри кристалітів магнетиту й ГАП розраховували, відповідно, за рефlekсами (311) та (002) згідно з формулою Шерера.

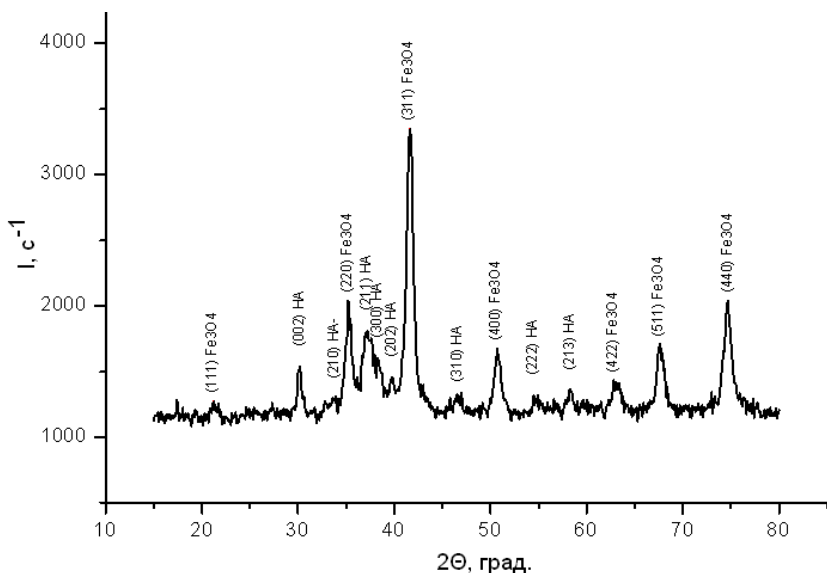


Рис. 2.22. Дифрактограма нанокompозиту магнетит  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ /ГАП

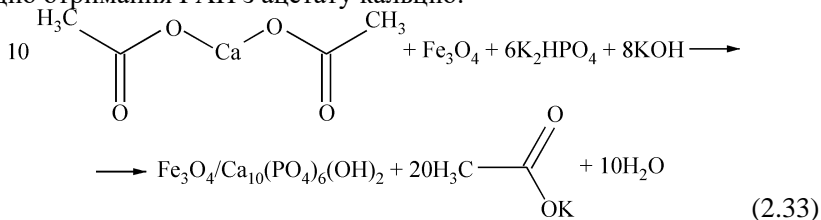
Встановлено також, що фаза ГАП характеризується співвідношенням Ca/P = 1,67 (це відповідає стехіометрії реакції утворення гідроксиапатиту).

Товщина шару ГАП на поверхні наночастинок магнетиту, визначена за співвідношенням площ Fe 2p-/Fe 3p-ліній, дорівнювала ~4 нм – за приросту маси нанокompозиту на рівні ~30% (фазовий склад і середні розміри кристалітів досліджених фаз наведено у табл. 2.3).

**Таблиця 2.3.** Середні розміри кристалітів у структурі нанокompозитів магнетит Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/гідроксиапатит

Тип зразка	Фазовий склад	Середній розмір кристалітів, нм
1	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	15 20–25
2	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	35–40 20–25

В основу ж другого із вищезгаданих способів [68] покладено реакцію отримання ГАП з ацетату кальцію:



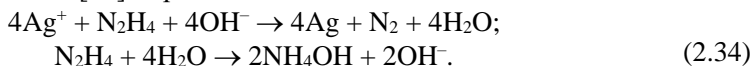
Синтезовані нанокompозити надалі було досліджено методами рентгенофазового аналізу (з підтвердженням їх раніше заданих складу і структури).

Встановлено, що оскільки ацетат калію – абсолютно безпечний для організму супутній продукт синтезу ГАП-покриття з використаних реагентів, то, на наш погляд, саме цей спосіб створення покриттів із ГАП на поверхнях магнітних носіїв при медикобіологічному застосуванні доцільніший.

#### 2.4.4.1. Синтез нанокompозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП/Ag

Як магнітні носії у наших дослідженнях було використано фракцію частинок монодоменого магнетиту розмірами 20–50 нм. Синтезували нанокompозит Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП за описаною вище методикою роботи [63]. Питома поверхня ( $S_{\text{пит}}$ ) досліджених зразків становила 105 м<sup>2</sup>/г.

У свою чергу, зразок нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  модифікували наночастинками срібла з 0,005 н розчину  $\text{AgNO}_3$ . Кількість срібла, введеного в реакційну суміш, становила 1% маси цього зразка  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , причому іони срібла відновлювали 0,005%-им гідразин-гідратом за нагрівання й перемішування згідно з методикою роботи [69] за реакціями:



Визначили, що  $S_{\text{плт}}$  нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{Ag}$  дорівнює  $104 \text{ м}^2/\text{г}$ , а наявність срібла на поверхні підтвердили рентгенофазовим аналізом на рентгенівському дифрактометрі «ДРОН-УМ 1» із фокусуванням рентгенівських променів за Бреггом–Брентано (Со К $\alpha$ -випромінювання анода;  $\lambda = 0,179021 \text{ нм}$ ; фільтр – Fe; промені – відбиті). Обчислений за формулою Шерера середній розмір наночастинок Ag становив  $\sim 10 \text{ нм}$ .

При цьому, як вже зазначалося, в складі магніточутливих нанокompозитів наночастинок благородних металів можуть виконувати функції сенсорів (оптичні мітки), терапевтичних агентів (термальна та фотодинамічна терапія), спейсерних ділянок для зв'язування моноклональних антитіл тощо [70].

#### 2.4.5. Нанокompозити $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$

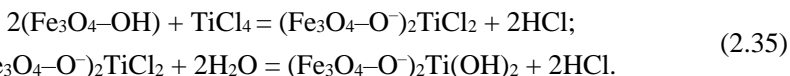
У наших дослідженнях нанокompозити  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$  синтезували методом рідиннофазного молекулярного нашарування [82]. Ідея методу полягає у послідовному нарощуванні моношарів заданого хімічного складу на поверхні твердого носія.

Наважку попередньо висушеного за  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  до сталої маси високодисперсного магнетиту обробляли ультразвуком і вміщували у скляний реактор з мішалкою і зворотним холодильником. Додавали  $\text{CCl}_4$  і перемішували до моменту утворення стійкої суспензії. Потім додавали триразовий надлишок  $\text{TiCl}_4$ , кількість якого розраховували, виходячи з того, що поверхня синтезованого магнетиту має містити  $0,0017 \text{ моль/г ОНгруп}$ , а густина  $\rho (\text{TiCl}_4)$  – дорівнювати  $1,73 \text{ г/см}^3$ . Надалі за даними диференціального термогравіметричного аналізу обчислювали концентрацію ОН-груп.

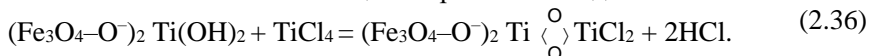
Синтез проводили протягом 4 год за температури кипіння  $\text{CCl}_4$ . Після охолодження суміш фільтрували і промивали  $\text{CCl}_4$  до моменту негативної реакції на  $\text{Ti}^{4+}$ -іони (за пероксидом водню). Оскільки  $\text{TiCl}_4$  на повітрі легко піддається гідролізу й перетворюється на  $\text{TiO}_2$ , зразки залишали в ексікаторі у середовищі насиченої водяної пари на кілька

годин, аби переконатися, що в осадженому шарі всі  $\text{Cl}^-$ -іони заміщені на  $\text{OH}$ -групи.

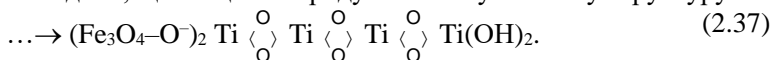
Реакції на поверхні відбувалися за такими схемами:



З метою ж подальшого нанесення другого шару зразок спочатку висушували за  $120^\circ\text{C}$  для видалення адсорбованої води й потім повторно обробляли  $\text{TiCl}_4$  за описаною вище авторською методикою:



Послідовно наносили чотири шари. Подальший аналіз результатів досліджень засвідчив, що кінцевий продукт синтезу має таку структуру:



Було синтезовано чотири типові серії зразків модифікованого  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  з числом моношарів від одного до чотирьох. Спектрометричними і рентгенографічними дослідженнями продуктів молекулярного нашарування, зокрема, підтвердили наявність на поверхнях наночастинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  діоксиду титану, а також формування у першому–третьому шарах цих поверхонь аморфної структури і – за наявності не менш як чотирьох шарів – кристалічної фази анатазу.

Отже, можна зробити висновок, що в разі поступового нарощування шару діоксиду титану на поверхні магнетиту притаманна анатазу структура, напевно, утворюється лише тоді, коли на ній з'являються чотири атоми титану, яких достатньо для створення елементарної комірки  $\text{TiO}_2$ . Для цього, відповідно, потрібні чотири цикли молекулярного нашарування, які забезпечують – у масштабі сталої ґратки  $\text{TiO}_2$  – координацію цих 4 атомів.

Також встановлено, що термічне відпалювання зразків призводить до кристалізації анатазу вже під час нанесення першого шару покриття та що модифікування поверхонь частинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  шарами  $\text{SiO}_2$  і  $\text{TiO}_2$  сприяє підвищенню (порівняно з властивостями вихідного магнетиту) термостабільності нанокмполімерів.

#### 2.4.6. Рідиннофазне модифікування поверхні магнетиту ізопропілатом алюмінію

З метою створення магнітокероаного нанокмполімеру із поверхнею, вкритою моношаром гідроксиду алюмінію, було розроблено методику хімічного модифікування (рідиннофазним методом) поверхонь наночастинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ізопропілатом алюмінію в ізопропіловому спирті [83].

Попередньо ізопропілат алюмінію висушували перегонкою за  $T = 138\text{ }^\circ\text{C}$  і  $p = 1,47\text{ кПа}$ . У результаті синтезу утворюється моношар гідроксиду алюмінію за схемою:  $-\text{OH} + (\text{C}_3\text{H}_7\text{O})_3\text{Al} \rightarrow -\text{O}-\text{AlO}(\text{H}) + 3\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$ , а поверхня набуває амфотерного характеру за рахунок  $\text{Al}-\text{O}(\text{H})$ -груп.

Методами ІЧ-Фур'є-спектроскопії, рентгенофазового аналізу та рентгенівської фотоелектронної спектроскопії вивчили й функціональний склад модифікованої поверхні та її структуру.

Встановили, що в результаті синтезу на поверхнях нанорозмірних частинок магнетиту утворюється фаза гідроксиду алюмінію, а після відпалювання зразка за  $460\text{ }^\circ\text{C}$  кристалічний магнетит частково перетворюється на  $\alpha\text{Fe}_2\text{O}_3$  і з'являється фаза  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

Незважаючи на зменшення намагніченості насичення у відпаленому зразку, магнітний момент у нанокompозитах зберігається. Це означає, що перехід  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  відбувається, як підтверджують дані рентгенофазового аналізу та рентгенівської фотоелектронної спектроскопії, неповністю.

Синтезовані нами нанокompозити придатні для створення магнітокерованих лікувальних засобів шлунково-кишкової терапії та сорбентів.

## **2.5. Біофункціоналізація магнітокерованих нанокompозитів**

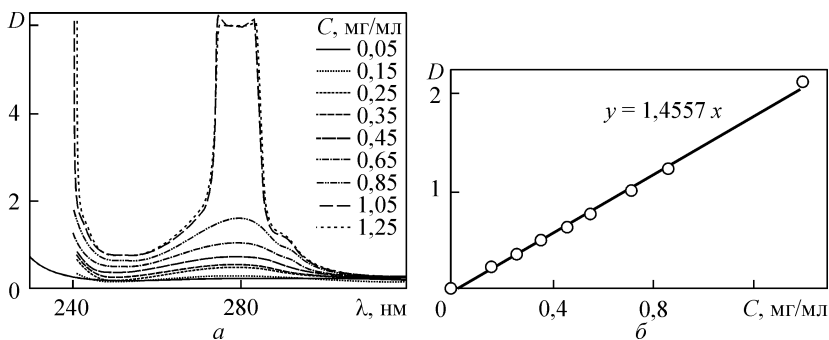
### **2.5.1. Імобілізація нормального імуноглобуліну людини на поверхнях нанокompозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$**

Одним із найважливіших етапів створення поліфункціонального нанокompозиту є іммобілізація на його поверхні біологічно активних молекул, і зокрема імуноглобулінів (Ig) [63]. Така функціоналізація поверхні сприяє доставці лікарського засобу виключно у цільові клітини організму. Отже, важливою частиною досліджень є моделювання умов і вивчення механізму іммобілізації антитіл на поверхні магніточутливого носія.

У результаті проведених досліджень нами розроблено методики іммобілізації сенсорних молекул на поверхнях нанокompозитів як органічної, так і неорганічної природи – на прикладі нормального Ig людини [71], який, зокрема, було іммобілізовано на функціоналізованій аміногрупами поверхні.

Безпосередньо перед осадженням на поверхню нормальний Ig людини з концентрацією  $100\text{ мг/г}$  очистили діалізом із використанням  $2\text{ л } 0,02\text{ М}$ -ацетатного буфера на основі фізіологічного розчину протягом доби [4]. З очищеного Ig виготовили серію розчинів для побудови

калібрувального графіка. Оптичну густину  $D$  та спектри поглинання Ig виміряли на спектрометрі «Lambda 35 UV/vis» (виробництва «Perkin Elmer Instruments») за  $\lambda = 280$  нм (рис. 2.23).



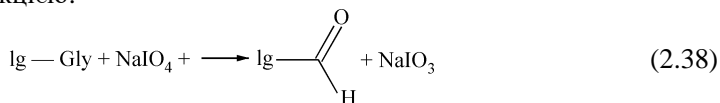
**Рис. 2.23.** Спектри поглинання (а) та калібрувальний графік (б) визначення концентрації нормального імуноглобуліну людини у середовищі фізіологічного розчину

Імобілізацію антитіл двох типів проводили методами фізичної адсорбції і ковалентного зв'язування.

По 100 мг наважок нанокompatитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  заливали розчинами нормального Ig людини (після діалізу) різної концентрації.

Адсорбцію Ig проводили в середовищі фізіологічного розчину протягом 2 год у динамічному режимі за кімнатної температури. Кількість адсорбованої речовини на поверхні нанокompatитів визначали спектрофотометричним вимірюванням концентрації Ig у контактних розчинах до і після адсорбції (за  $\lambda = 280$  нм згідно з калібрувальним графіком).

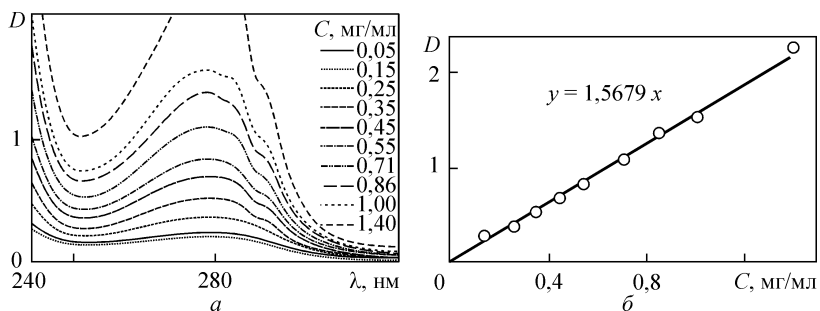
Хімічну іммобілізацію антитіл на поверхнях нанокompatитів забезпечували шляхом ковалентної взаємодії реакційноздатних аміногруп з альдегідними функціональними групами окисненого Ig [71]. Очищений нормальний Ig людини окиснювали 0,1 М  $\text{NaO}_4$  в ацетатному буфері (за  $\text{pH} = 5,0$ ) за реакцією:



Окиснений Ig очищували діалізом за використання 2 л 0,02 М ацетатного буфера ( $\text{pH} = 5,0$ ). Розчин окиснених антитіл після діалізу доводили (до  $\text{pH} = 8-9$ ) 0,06 М-карбонатним буфером на основі фізіологічного розчину із  $\text{pH} = 9,5$ .

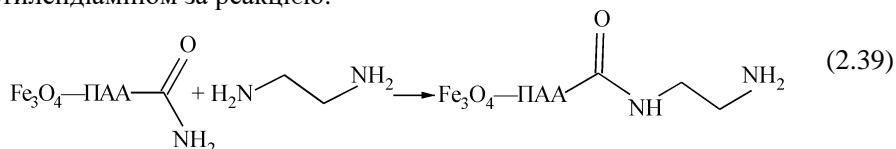


Для побудови калібрувального графіка виготовляли серію еталонних розчинів окисненого Іg. Вимірювали оптичну густину  $D$  (за  $\lambda = 280$  нм) і спектри поглинання Іg (рис. 2.24).

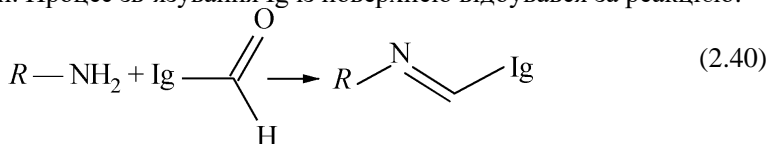


**Рис. 2.24.** Спектри поглинання окисненого імуноглобуліну людини (а) та калібрувальний графік визначення концентрації нормального імуноглобуліну людини, окисненого  $\text{NaIO}_4$  (б)

Оскільки аміногрупи на поверхні  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  через стеричні перешкоди не є реакційноздатними, їх додатково активували етилендіаміном за реакцією:



Ковалентне зв'язування Іg на нанокompозитах  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  проводили в 0,06 М-карбонатному буфері (за  $\text{pH} = 9,0$ ) на основі фізіологічного розчину протягом 2 год у динамічному режимі за кімнатної температури. Процес зв'язування Іg із поверхнею відбувався за реакцією:



Кількість іммобілізованих антитіл на поверхнях нанокompозитів визначали шляхом вимірювання концентрацій Іg у контактних розчинах до і після адсорбції методом спектрофотометрії (УФ-поглинання за  $\lambda = 280$  нм) по калібрувальному графіку.

Отримані ізотерми неспецифічної адсорбції (табл. 2.4; рис. 2.25, а) та ковалентного приєднання Іg (табл. 2.5; рис. 2.25, б) у наведених нанокompозитів не мали виходу на насичення, тож надалі провели їх лінеаризацію відповідно до рівняння  $y = Ex$  і визначили коефіцієнти

розподілу  $E$  (мл/г) імуноглобуліну між поверхнею нанокompозиту і розчином.

**Таблиця 2.4.** Ізотерми неспецифічної адсорбції нормального людюни на поверхнях нанокompозитів  $Fe_3O_4/$  ПAA та  $Fe_3O_4/\gamma$ -АПC

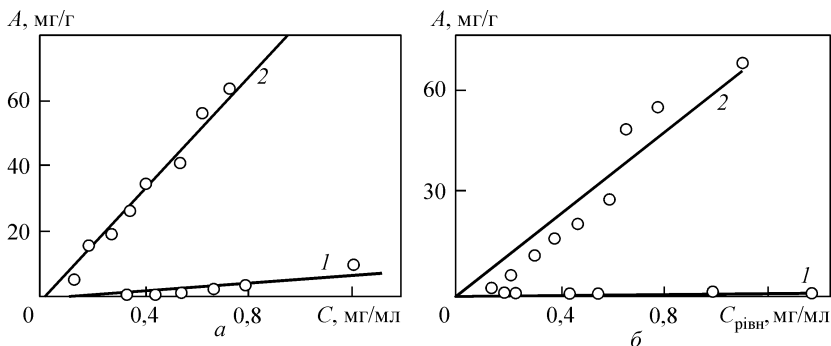
$C_0$ , мг/мл	$D$ (280 нм)	$A_{физ}$ , мг/г
<u><math>Fe_3O_4/</math>ПAA</u>		
0,35	0,485	0,84
0,45	0,629	0,90
0,55	0,776	0,85
0,71	0,966	2,32
0,86	1,153	3,40
1,40	1,762	9,48
<u><math>Fe_3O_4/\gamma</math>-АПC</u>		
0,15	0,249	0,0
0,25	0,305	0,00
0,45	0,607	0,64
0,55	0,745	0,66
0,71	0,964	0,80
0,86	1,178	0,568
1,00	1,361	0,97
1,40	1,911	1,18

**Таблиця 2.5.** Ізотерми ковалентного приєднання окисненого імуноглобуліну людюни на поверхнях нанокompозитів  $Fe_3O_4/$  ПAA та  $Fe_3O_4/\gamma$ -АПC

$C_0$ , мг/мл	$D$ (280 нм)	$A_{физ}$ , мг/г
<u><math>Fe_3O_4/</math>ПAA</u>		
0,15	0,201	5,07
0,25	0,288	15,52
0,35	0,42	19,14
0,45	0,528	26,48
0,55	0,630	34,59
0,71	0,841	40,57
0,86	0,974	55,79
1,00	1,144	63,04
1,40	1,416	116,00
<u><math>Fe_3O_4/\gamma</math>-АПC</u>		
0,15	0,282	2,42
0,25	0,352	6,14
0,35	0,468	12,07
0,45	0,594	16,67
0,55	0,723	20,70
0,71	0,924	28,08
0,86	1,025	48,19
1,00	1,207	53,71
1,40	1,742	67,41

Ковалентне приєднання антитіл до амінофункціоналізованих нанокompозитів виконували так. Розміщені на поверхнях нанокompозитів аміногрупи вступали у реакцію з альдегідними функціональними групами, сформованими на молекулах Ig шляхом періодатного окиснення карбогідратних Ig-залишків. При цьому утворювались основи Шиффа (іміни). Ковалентне приєднання антитіл до поверхонь носіїв за цим методом має перевагу перед іншими методами іммобілізації і полягає в орієнтованому прикріпленні молекул антитіла Fc-фрагментом до

поверхні, тоді як Fab-фрагмент залишається незмінним і орієнтованим назовні.



**Рис. 2.25.** Ізотерми неспецифічної адсорбції нормального імуноглобуліну людини (1) і ковалентного приєднання окисненого імуноглобуліну (2) до нанокompatитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  (а) та  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  (б); за неспецифічної адсорбції  $E = 5,40$  (а),  $0,92$  (б) мл/г; за ковалентного приєднання  $E = 83,53$  (а),  $59,51$  (б) мл/г

Обчислені коефіцієнти розподілу  $E$  і кількості іммобілізованого на поверхнях нанокompatитів  $I_g$  (за максимальної концентрації його вихідного розчину  $C = 1,40$  мг/г) наведено у табл. 2.6. При цьому слід зазначити, що в разі ковалентного приєднання коефіцієнти розподілу більш як на порядок перевищують їхні аналоги для неспецифічної адсорбції – а це, в свою чергу, відображає процес зміщення рівноваги у бік іммобілізації речовини на поверхні.

**Таблиця 2.6.** Кількість імуноглобуліну людини, іммобілізованого на поверхнях нанокompatитів різної хімічної природи

Нано-композит	$A_{\text{фіз}}$ , мг/г	$E_{\text{фіз}}$ , мл/г	$A_{\text{ков}}$ , мг/г	$E_{\text{ков}}$ , мл/г
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$	9,48	6,1	116,00	83,53
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$	1,18	0,92	67,41	59,51

За ковалентного приєднання  $I_g$  до поверхонь нанокompatитів значна його кількість (64–80 %) залишається у розчині, оскільки реакція з утворення основ Шиффа відбувається як у прямому, так і в зворотному напрямках (табл. 2.7, 2.8).

**Таблиця 2.7.** Параметри обчислених кінетичних кривих вивільнення ковалентно зв'язаного імуноглобуліну людини  $y = y_0 + A e^{-x/t}$  для нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА

Параметр	$y_0 = 55,8$ мг/г	$y_0 = 40,6$ мг/г	$y_0 = 34,6$ мг/г	$y_0 = 19,1$ мг/г	$y_0 = 15,6$ мг/г
$y_0$	$49,77 \pm 3,25$	$30,40 \pm 41,22$	$25,94 \pm 0$	$11,09 \pm 0$	$0 \pm 0$
$A$	$2,76 \pm 5,62$	$11,35 \pm 0$	$8,65 \pm 0$	$8,05 \pm 0$	$12,06 \pm 3,97$
$t$	$0,27 \pm 1,45$	$1,80 \pm 19,54$	$2,64 \pm 1,24$	$4,37 \pm 1,35$	$12,18 \pm 17,68$

**Таблиця 2.8.** Параметри обчислених кінетичних кривих вивільнення ковалентно зв'язаного імуноглобуліну людини  $y = y_0 + A e^{-x/t}$  для нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС

Параметр	$y_0 = 48,2$ мг/г	$y_0 = 28,1$ мг/г	$y_0 = 12,1$ мг/г
$y_0$	$28,69 \pm 3,89$	$9,13 \pm 0$	$0 \pm 0$
$A$	$17,60 \pm 4,89$	$18,93 \pm 3,11$	$12,06 \pm 3,97$
$t$	$60,15 \pm 55,12$	$14,93 \pm 8,03$	$12,18 \pm 17,68$

Встановлено також, що природа поверхні нанокompозиту впливає на фізичну і ковалентну іммобілізації Ig, причому кількості іммобілізованого Ig і коефіцієнти розподілу вищі для нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА.

Дослідження ж десорбції фізично адсорбованого Ig показало, що після промивання нанокompозитів у 5 мл фізіологічного розчину практично весь Ig переходить у цей розчин протягом 1–2 хвилин.

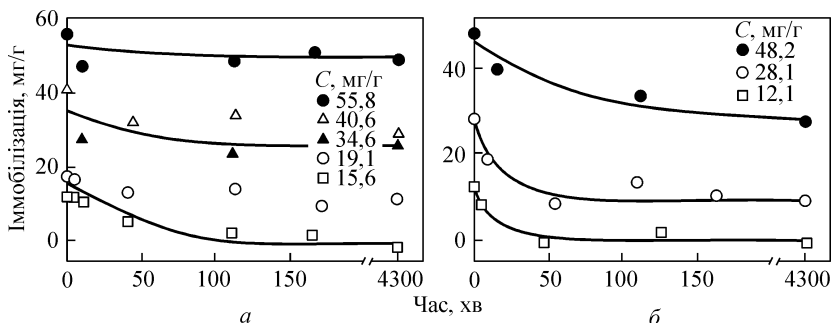
Вивільнення ковалентно іммобілізованого Ig у модельне середовище – фізіологічний розчин – досліджували на зразках Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ ПАА і Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС (кінетику вивільнення ковалентно зв'язаного Ig ілюструє рис. 2.26). При цьому параметри кінетичних кривих обчислювали згідно з методом найменших квадратів за рівнянням:

$$y(x) = y_0 + A e^{-x/t}. \quad (2.41)$$

де:  $y_0$  – кількість зв'язаного Ig, яка за цих умов не переходить у модельне середовище;  $A$  – кількість зв'язаного Ig, що вивільнюється у модельне середовище;  $1/t$  – параметр, що характеризує швидкість вивільнення Ig і визначає кривизну кінетичної кривої.

З отриманих кінетичних кривих видно, що відносне вивільнення Ig зменшується зі збільшенням кількості імуноглобуліну, іммобілізованого на поверхнях обох нанокompозитів. За кількостей іммобілізованого Ig 55,8 мг/г (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА) і 48,2 мг/г (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС) протягом перших 10–15 хв десорбуються, відповідно, 16 і 18% Ig. За малих же кількостей

імобілізованого Ig – 15,5 мг/г ( $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПAA}$ ) і 12,1 мг/г ( $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$ ) – вже упродовж перших 5–10 хв десорбується до 30% Ig.



**Рис. 2.26.** Кінетика десорбції окисненого імуноглобуліну людини з  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПAA}$  (а) та  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$  (б) (справа наведено початкові адсорбовані кількості окисненого імуноглобуліну людини)

Вивільнення імобілізованого за допомогою ковалентних зв'язків імуноглобуліну відбувається повільніше і меншою мірою, ніж за неспецифічної імобілізації.

### 2.5.2. Імобілізація малеїмідактивованих імуноглобулінів на поверхні $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$

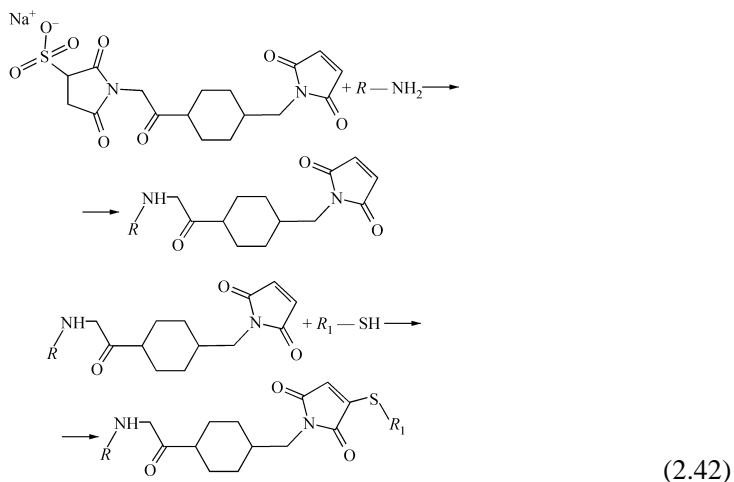
Нами було проведено біофункціоналізацію антитілами нанокompatитів на основі нанодисперсного магнетиту, поверхня якого модифікована мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою. Хімічну імобілізацію антитіл на поверхні нанокompatитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$  здійснювали шляхом взаємодії реакційноздатних сульфогруп носія з малеїмідними функціональними групами, тобто заздалегідь активованого сульфо-SMCC імуноглобуліну [14, 15].

Встановлено, що сульфосукцинімідил-4-(N-малеїдометил) циклогексан-1-карбоксилат (сульфо-SMCC) – реактив для синтезу стабільних малеїмідактивованих глікопротеїнів, що безпосередньо вступають у реакцію з сульфогідрильними групами. При цьому NHS-естери сульфо-SMCC реагують з імуноглобулінами й перетворюють їх на реакційноздатні малеїміди. Ці відносно стабільні малеїмідактивовані інтермедіати можуть бути ліофілізовані та зберігатися для подальшого зв'язування з носієм [72–75].

Сульфо-SMCC – розчинний у воді, стійкий, мембранонепроникний крослінкер (молекулярна формула –  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_9\text{SNa}$ , молекулярна маса –

436,37 Да, довжина спейсера – 0,83 нм (9 атомів)) [75]. Він містить амінореакційноздатну N-гідроксисукцинімідну групу (NHS-естер) і сульфогідрилреакційноздатну малеїмідну групу. NHS-естери вступають у реакцію з первинними амінами за рН = 7–9 і утворюють стабільні амідні зв'язки. Малеїмід реагує з сульфогідрильною групою за рН = 6,5–7,5 з утворенням стабільного тіоестерного зв'язку. Малеїмідні групи сульфо-SMCC надзвичайно стабільні до рН = 7,5 через наявність циклогексанового містка в спейсерному фрагменті. Гідрофільна сульфонільна група забезпечує розчинність сульфо-SMCC у воді та інших водних буферах [76].

Із сульфо-SMCC синтезують наноконізати типу антигіло–носії. Схему цього двостадійного процесу ілюструє реакція зв'язування Іg і носія з реакційноздатними сульфогрупами сульфо-SMCC:



Спочатку Іg, що містить аміногрупу, вступає у реакцію з надлишком крослінкера. Після закінчення реакції надлишок реактиву видаляють діалізом. При введенні в реакційну суміш сульфогідриловмісного носія він зв'язується з малеїмідними групами комплексу антигіло–спейсер і утворюються специфічні комплекси носій–антигіло.

За вищенаведеною методикою з використанням спейсерних молекул сульфо-SMCC нами вивчено ізотеру іммобілізації Іg людини на поверхні наноконізату Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДМСК. Адсорбція Іg становила 92,15 мг/г за його концентрації C = 1,40 мг/г. Результати дослідження наведено у табл. 2.9.

Нами вивчено процес вивільнення іммобілізованого Іg з поверхонь наноконізатів магнетит/ДМСК у модельне середовище, яким слугував фізіологічний розчин.

**Таблиця 2.9.** Ізотерма іммобілізації активованого сульфo-SMCC імуноглобуліну людини на поверхні нанокomпозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДМСК

<i>C</i> <sub>0</sub> , мг/мл	<i>D</i> (280 нм)	<i>A</i> , мг/г
0,25	0,37	7,92
0,45	0,62	20,43
0,86	1,45	67,32
1,40	1,87	92,15

Отримані результати показали, що протягом 24 год десорбуються 8–12% імуноглобуліну. Вивільнення іммобілізованого (з використанням спейсера сульфo-SMCC) Ig відбувається повільніше і меншою мірою, ніж за неспецифічної іммобілізації на інших полімерних поверхнях.

### 2.5.3. Іммобілізація імуноглобуліну на поверхні нанокomпозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП

Створення на поверхнях модифікованих магніточутливих носіїв ділянок зі спейсерами для зв'язування моноклональних антитіл є одним із вирішальних етапів синтезу біофункціоналізованих нанокomпозитів, і в т.ч. із функціями нанороботів) [62]. Такими ділянками зі спейсерними властивостями можуть бути наночастинки благородних металів. Так, використання срібла і золота у сучасних технологіях виготовлення лікарських форм [70] зумовило доцільність їх вибору в наших дослідженнях, і зокрема при отриманні нанокomпозитів срібло у нанорозмірному вигляді наносять на поверхню носія, а це мінімізує витрати.

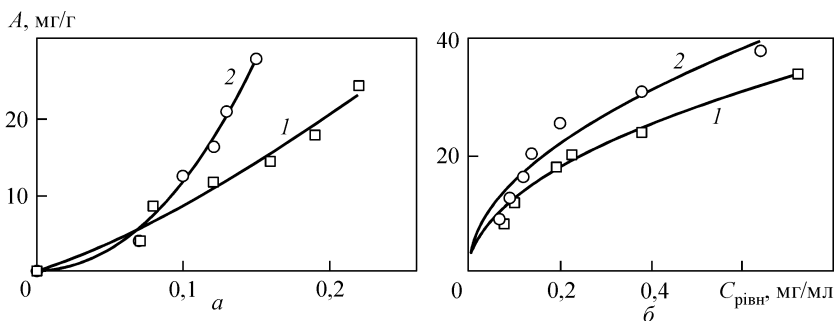
У роботі [77] вивчено взаємодію іонів Ag<sup>+</sup> та атомів Ag з дендримерами поліамідоамінів, які широко використовують у біології і медицині. Визначено константи стійкості продуктів, стехіометричні співвідношення, коефіцієнт дифузії комплексів та ступінь адсорбції Ag<sup>+</sup> на дендримери. Вивчено взаємодію Ag<sup>+</sup> з альбуміном людини, доведено утворення зв'язків Ag–S та Ag–N. Наведені дані підтверджують можливість використання срібла як спейсера для міцного закріплення протеїнів на поверхні магнітокерованого носія як неорганічної, так і органічної природи.

Метою досліджень було вивчення процесів адсорбції/десорбції Ig (як моделі антитіла) на поверхні нанокomпозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ ГАП і Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП/Ag для їх подальшого використання при цілеспрямованому створенні багатофункціональних біосумісних нанокomпозитів медико-біологічного призначення.

Нормальний Ig людини очищували діалізом за допомогою 0,02 М ацетатного буфера на основі фізіологічного розчину. Адсорбцію Ig проводили у заданому середовищі протягом 2 год у динамічному режимі за кімнатної температури. Кількість адсорбованої речовини на поверхні нанокompatитів визначали вимірюванням концентрації Ig у контактних розчинах до і після адсорбції. Вимірювали оптичну густину і знімали спектри поглинання Ig у фосфатному буфері (за pH = 7,0) та фізіологічному розчині на приладі «Spectrometer Lambda 35 UV/vis» («Perkin Elmer Instruments») за  $\lambda = 280$  нм.

Вивільнення Ig у модельне середовище (фізіологічний розчин) досліджували на зразках Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП і Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП/Ag, які містили Ig, іммобілізований із різних буферних систем (фосфатний буфер, фізіологічний розчин). Відповідні концентрації десорбованої речовини  $C_{\text{дес}}$  розраховували за графіками ізотерм десорбції.

Адсорбція протеїнів на ГАП включає як аніонний, так і катіонний обміни. Активні центри Ca<sup>2+</sup> взаємодіють із карбоксильними функціональними групами Ig, тоді як PO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-центри — з основними ділянками молекули. Визначено, що форма отриманих ізотерм адсорбції імуноглобуліну неоднакова для різних буферних систем (рис. 2.27).



**Рис. 2.27.** Ізотерми адсорбції нормального Ig людини на поверхні нанокompatитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП (1) та Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ ГАП/Ag (2) із фосфатного буфера й фізіологічного розчину (б)

Так, ізотерми адсорбції Ig у середовищі фосфатного буфера (рис. 2.27) мають специфічну форму внаслідок виникнення конкуренції між адсорбтивом і фосфат-іонами розчинника за адсорбційні центри адсорбенту.

Згідно з літературними даними [78], такі форми кривих властиві системам, в яких взаємодія адсорбованих молекул сильніша за взаємодію розчинених сполук та адсорбенту. Імуноглобуліни зазвичай адсорбуються



за низьких концентрацій (10–20 мМ) на поверхні носія з фосфатного буфера, хоча деякі кислі протеїни адсорбуються лише у водному середовищі, розчинах солей або нефосфатних буферах.

Коефіцієнт розподілу  $I_g$  між поверхнею нанокompозиту і розчином  $E$  становить 111,36 мл/г для  $Fe_3O_4/ГАП$  і 186,67 мл/г для  $Fe_3O_4/ГАП/Ag$ . При адсорбції з фізіологічного розчину для  $Fe_3O_4/ГАП$   $E = 47,2$  мл/г, для  $Fe_3O_4/ГАП/Ag$  – 59,4 мл/г. Адсорбція  $I_g$  на поверхні нанокompозиту з наночастинками срібла перевищує адсорбцію на поверхні магнетит/ГАП в обох буферних системах. Це означає, що наночастинки срібла на поверхні композиту слугують додатковими адсорбційними центрами.

Хімічна природа поверхні нанокompозиту також впливає на адсорбцію  $I_g$ . Про це свідчать результати досліджень ізотерм адсорбції  $I_g$  (табл. 2.10) нанокompозитами з активними  $NH_2$ -групами поверхні:  $Fe_3O_4/ПAA$  і  $Fe_3O_4/\gamma$ -АПС [3, 4, 14].

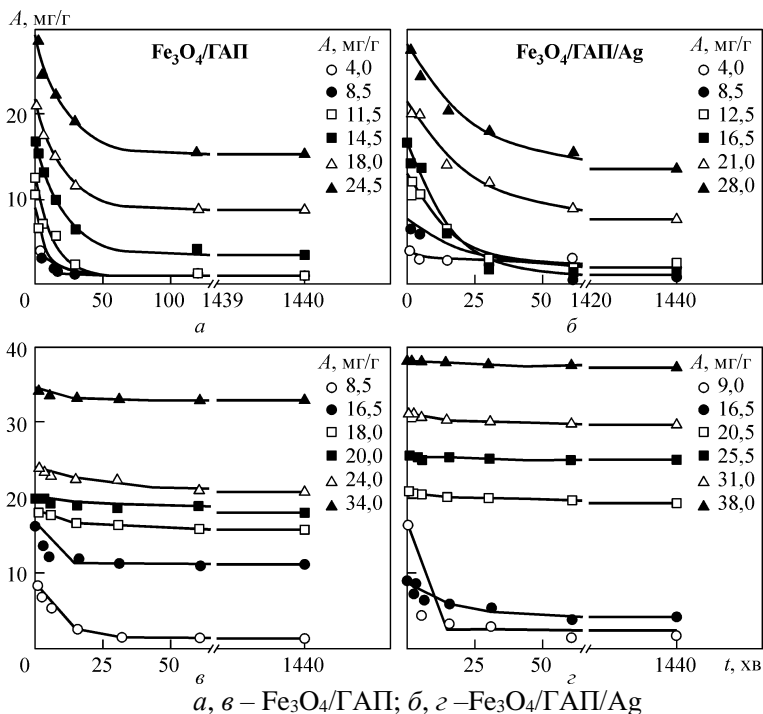
**Таблиця 2.10.** Адсорбція імуноглобуліну людини і коефіцієнти розподілу для нанокompозитів із різною хімічною природою поверхні в середовищі фізіологічного розчину

Нанокompозит	$A$ , мг/г	$E$ , мл/г
$Fe_3O_4/ГАП$	34,0	47,2
$Fe_3O_4/ГАП/Ag$	38,0	59,4
$Fe_3O_4/ПAA$	9,48	6,1
$Fe_3O_4/\gamma$ -АПС	1,18	0,92

Згідно з даними праць [79, 80], збільшення кількості біомолекул у розчині до рівня, вищого за їх кількість в адсорбованому моношарі, сприяє впорядкуванню біомолекул й утворенню щільної упаковки. Для антитіл їх орієнтація (переважно) перпендикулярна до поверхні.

З урахуванням високої адсорбції ( $A = 34...38$  мг/г)  $I_g$  порівняно з адсорбцією на поверхнях функціоналізованих аміногрупами нанокompозитів ( $A = 1,18...9,48$  мг/г) логічно припустити, що на поверхнях модифікованих ГАП і сріблом нанокompозитів утворюється компактна упаковка з адсорбованих антитіл.

Кінетику десорбції іммобілізованого  $I_g$  у модельне середовище (фізіологічний розчин) досліджено на зразках  $Fe_3O_4/ГАП$  і  $Fe_3O_4/ГАП/Ag$  (рис. 2.28). Отримані кінетичні криві свідчать про зниження десорбції  $I_g$  зі збільшенням кількості імуноглобуліну, іммобілізованого на обох поверхнях нанокompозитів у фосфатному буфері. За низької адсорбції у перші 10–15 хв десорбується до 50%  $I_g$ , тоді як за високої протягом того самого часу – близько 10–20%  $I_g$ .



**Рис. 2.28.** Кінетика десорбції імуноглобуліну людини з поверхні нанокompatивів (на вставках наведено початкову адсорбцію імуноглобуліну з фосфатного буферу (*a*, *б*) та з фізіологічного розчину (*в*, *з*))

Вивільнення іммобілізованого з фізіологічного розчину Ig за його високих концентрацій ( $A = 17...38$  мг/г) не відбувається. Відомо [80], що великі біомолекули (у тому числі антитіла) не десорбуються в разі розбавлення тим самим буфером, в якому відбувалась адсорбція, природа адсорбенту також істотно впливає на здатність адсорбованих біомолекул до десорбції. Саме такі тенденції характерні для досліджуваних поверхонь.

Отже, вивчено процеси іммобілізації Ig людини на поверхні нанокompatивів магнетит/ГАП і магнетит/ГАП/срібло у фосфатному буфері й фізіологічному розчині. Експериментальна залежність спільної адсорбції від концентрації адсорбенту свідчить про особливості механізму адсорбції у цих буферних системах, а саме про ймовірність конкуренції між молекулами імуноглобуліну і фосфат-іонами на активних центрах адсорбенту в фосфатному буфері. Встановлено, що наночастинки срібла є

додатковими активними центрами адсорбенту, а також що іммобілізовані на поверхні нанокompatитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{Ag}$  антитіла характеризуються слабкою десорбцією у модельному середовищі й за низьких рівнів адсорбції відбувається інтенсивніше вивільнення іммобілізованого з фізіологічного розчину Ig.

Важливими напрямками застосування біофункціоналізованих імуноглобулінами магнітних наноматеріалів є видалення збудників інфекційних захворювань з крові та інших біологічних рідин, діагностика захворювань (контрастування й візуалізація), розпізнавання мікробіологічних об'єктів (за допомогою специфічних антитіл) і терапія на клітинному рівні.

#### **2.5.4. Іммобілізація моноклональних антитіл CD95 на поверхнях нанокompatитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ і $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$**

Наступним завданням наших досліджень було відпрацювання методики створення нанокompatитів з імунотерапевтичними властивостями (йдеться про вміст у них моноклональних антитіл) та функціями розпізнавання специфічних клітин.

Як відомо, тканина пухлини характеризується низкою особливостей, які відрізняють її від нормальної тканини – від порушень мікроциркуляції до експресії антигенних детермінант і рецепторів (саме комплексне вивчення останніх заклало основу для розробки методів так званої спрямованої терапії – з використанням відповідних специфічних клітин як мішеней). У таких випадках здатні в специфічний спосіб зв'язуватися з цими рецепторами ліганди ковалентно (або ж нековалентно) приєднуються до наночастинок, які є носіями того чи іншого протипухлинного засобу, що, в свою чергу, не лише підвищує концентрацію препарату біля клітини-мішені, а й знижує ступінь його токсичного впливу на живий організм.

Вивчено також неспецифічну (фізичну) адсорбцію і ковалентне приєднання моноклональних антитіл до нанокompatитів із модифікованою поверхнею:  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ . Сенсорними молекулами слугувало моноклональне мишаче антитіло CD 95 [3, 4, 14].

Було виготовлено чотири типи зразків, у яких маса наважок дорівнювала по 0,03 г, а об'єми розчинів CD 95 та окисненого  $\text{CD}_{\text{окисн}}$  на один зразок – відповідно 1,0 і 1,7 мл:

- 1)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  + CD 95;
- 2)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  + CD 95;
- 3)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  + CD 95<sub>окисн</sub>;
- 4)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  + CD 95<sub>окисн</sub>.

Адсорбцію (фізичну) моноклональних антитіл CD 95 ( $C = 20$  мкг/мл) на нанокompозитах  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$  і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  (відповідно зразки 1 і 2) проводили у фізіологічному розчині (1 мл) протягом 2 год у динамічному режимі за кімнатної температури.

Імобілізацію моноклональних антитіл CD 95 здійснювали ковалентним приєднанням окиснених антитіл до амінофункціоналізованих нанокompозитів. Встановлено, що аміни реагують з альдегідними групами, утвореними у молекулах антитіл шляхом періодатного окиснення їхніх карбогідратних залишків (із подальшим формуванням основ Шиффа). Ковалентне приєднання антитіл цим методом до поверхні носіїв має перевагу порівняно з іншими методами, яка полягає в орієнтованому закріпленні молекули антитіла на поверхні. Результати ковалентного приєднання моноклонального антитіла CD 95 ілюструють дані табл. 2.11.

**Таблиця 2.11.** Імобілізація моноклональних антитіл CD 95 на поверхні магніточутливих нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$  і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$

Нанокompозит	$C_0$ , мкг/мл	$D$	$C_{\text{рівн}}$ , мкг/мл	$A$ , мкг/г
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC} + \text{CD 95}$	20,00	0,73	19,96	1,2
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА} + \text{CD 95}$	20,00	0,72	19,93	2,3
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC} + \text{CD 95}_{\text{окисн}}$	3,88	0,44	1,45	137,7
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА} + \text{CD 95}_{\text{окисн}}$	3,88	0,42	1,00	163,2

*Примітка.*  $C_0$  – початкова концентрація антитіл;  $D$  – оптична густина;  $C_{\text{рівн}}$  – рівноважна концентрація антитіл при адсорбції;  $A$  – адсорбція CD 95 на поверхнях нанокompозитів

Моноклональні антитіла CD 95 окиснювали 0,1 М  $\text{NaIO}_4$  в ацетатному буфері за pH 5,0. Окиснений CD 95 очищували діалізом за допомогою 0,02 М-го ацетатного буфера (pH 5,0). Розчин окиснених антитіл після діалізу доводили 0,06 М-им карбонатним буфером на основі фізіологічного розчину (pH = 9,5) до pH = 8–9. Початкова концентрація моноклональних антитіл CD 95 після діалізу становила 13 мкг/мл.

Ковалентне зв'язування моноклонального антитіла CD 95 на нанокompозитах  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}$  та активованого етилендіаміном  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  (відповідно зразки 3 і 4) проводили в 0,06 М карбонатному буфері (pH 9,0) на основі фізіологічного розчину протягом 2 год у динамічному режимі за кімнатної температури. Надосадовий розчин відділяли в полі постійного магніту, концентрацію глікопротеїну вимірювали на комбінованому ридері для мікропланшета «Synergy HT», модель «SIAFRTD», серійний номер 202993 («Bio-Tek»).

Кількісний вміст антитіла у пробах визначали за методом Бредфорда [81], в основу якого покладено зміщення спектра поглинання барвника Кумасі (Coomassie Blue) G-250 за довжини хвилі 595 нм й освітлення ним комплексу з білком. Концентрацію CD 95<sub>окисн</sub> визначали за калібрувальним графіком і розраховували адсорбцію моноклональних антитіл на поверхні досліджуваних наноконкомпозитів.

Моноклональні антитіла CD 95 окиснювали за описаною вище методикою. Початкова концентрація цих антитіл після діалізу становила 13 мкг/мл. Їх ковалентне зв'язування (за  $V = 1,7$  мл при  $C = 3,88$  мкг/мл) на поверхні наноконкомпозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС і Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА (маси наважок по 0,03 г) здійснювали протягом 1,5 год у динамічному режимі за кімнатної температури. Отримані зразки відділяли в полі постійного магніту.

Наноконкомпозити з ковалентно приєднаними моноклональними антитілами (адсорбція CD 95 для Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС становила 137,7 мг/г, для Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА – 163,2 мг/г) заливали 10 мл розчину цисплатину концентрацією 1,0 мг/г. Адсорбцію проводили у динамічному режимі впродовж 4 год за вищеописаною методикою. Осад відділяли в полі постійного магніту. Адсорбція для Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γАПС становила 98,3 мг/г, для Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА – 128 мг/г.

Отримані результати вказують на істотні переваги ковалентного приєднання антитіл порівняно з неспецифічною адсорбцією: ускладнення десорбції (через повільний гідроліз основ Шиффа), підвищення термодинамічної і кінетичної стійкості шару (імобілізованого внаслідок утворення ковалентного зв'язку) [4, 14].

### **2.5.5. Імобілізація цитотоксичного препарату цисплатину на поверхнях наноконкомпозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА і Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП**

Цисплатин – протипухлинний засіб, що містить платину й серійно випускається промисловістю у вигляді розчину. Механізм протипухлинної дії похідних платини пов'язаний зі здатністю до біфункціонального алкілювання ланцюгів ДНК, яке призводить до подальшого пригнічення біосинтезу нуклеїнових кислот та апоптозу клітин. Цисплатин погано проникає крізь гематоенцефалічний бар'єр, без участі ферментів швидко перетворюється на неактивні метаболіти. Зв'язування з білками (у вигляді метаболітів) становить 90%. У початковій фазі період напіввиведення лікарського засобу з крові  $\tau_{1/2}$  дорівнює 20–49 хв, у кінцевій (за нормальної видільної функції нирок) – 58–73 год, за анурії – 240 год. Виводиться нирками на 27–43% за 5 діб, хоча платину можна виявити у тканинах протягом 4 міс після її введення [82, 83].

Встановлено [3, 4], що цисплатин, незважаючи на ідентичність активної речовини, має істотну перевагу в разі застосування у складі наноконкомпозитів порівняно з іншими препаратами платини. Наприклад, якщо цитотоксична активність розчинів платидіаму протягом доби знижувалась на 80%, то аналогічна активність цисплатину мало змінювалась і за місяць (що можна пояснити нестійкістю ліофілізатної форми платидіаму).

Адсорбцію цитотоксичного препарату на поверхні наноконкомпозитів проводили протягом 18 год із розчину цисплатину концентрацією 1,0 г/м<sup>3</sup>. Концентрацію розраховували за платиною. Адсорбцію цисплатину здійснювали при перемішуванні протягом 18 год за 293 К системи ( $V = 50$  мл), що містила нанодисперсний магнетит з відповідним покриттям (200 мг).

Кількість адсорбованої речовини визначали вимірюванням концентрації Pt<sup>2+</sup>-іонів в аликвотах контактних розчинів (5 мл) до і після адсорбції цисплатину. Вимірювання проводили на однопроменевому двоканальному атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 М1 з полумєним атомізатором, дейтерієвим коректором фону і цифровою реєстрацією. Використовували лампу з порожнистим катодом на платину (аналітична лінія – 265,9; паливно-окисна система ацетилен–повітря).

Адсорбцію обчислювали за формулою:

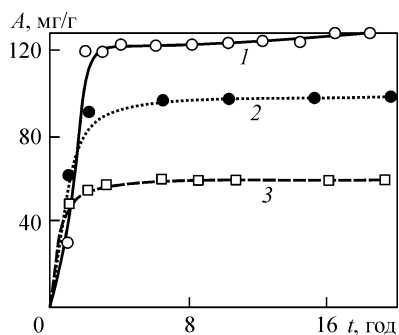
$$A = [(C_0 - C_1)V]/g, \quad (2.43)$$

де:  $A$  – адсорбція Pt<sup>2+</sup>, мг/г;  $C_0$  – концентрація вихідного розчину Pt<sup>2+</sup>, мг/м<sup>3</sup>·10<sup>3</sup>;  $C_1$  – концентрація розчину після адсорбції Pt<sup>2+</sup>, мг/м<sup>3</sup>·10<sup>3</sup>;  $V$  – об'єм розчину, мг/м<sup>3</sup>·мкл/м<sup>3</sup>;  $g$  – наважка магнетиту з покриттям, г.

Стабільність розчинів цитостатика досліджували вимірюванням його активності до живильного середовища через кожні 10, 20 і 30 діб. Встановлено, що активність розчину цисплатину залишалась незмінною протягом 1 міс.

Досліджено кінетику адсорбції цисплатину на поверхні магнітокерованих наноконкомпозитів (рис. 2.29).

Показано, що кількість адсорбованого цисплатину (за Pt<sup>2+</sup>) на поверхні наноконкомпозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА становила 128 мг/г, на Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС – 98,3 мг/г, на Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП – 60,1 мг/г. Основна частина цитостатика адсорбувалась протягом 2–3 годин.



**Рис. 2.29.** Кінетичні криві адсорбції цисплатину на поверхнях наноконкомпозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  (а),  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  (б) і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  (в)

### 2.5.5.1. Вивчення впливу наноконкомпозитів на життєздатність клітин

Нижче наведено результати авторських досліджень біологічної активності синтезованих магніточутливих наноконкомпозитів [4, 5, 14].

Метою досліджень було порівняння цитотоксичної дії адсорбованого на наноконкомпозитах із різною хімічною природою поверхні цисплатину та його стандартизованого лікарського засобу в культуральному середовищі.

Моделі магніточутливих лікарських засобів на основі синтезованих наноконкомпозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  + цисплатин,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  + цисплатин і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  + цисплатин досліджено *in vitro* в Інституті експериментальної патології, онкології і радіології ім. Р.Є. Кавецького (ІЕПОР) НАН України. Проаналізовано цитотоксичну дію синтезованих наноконкомпозитів на клітинні лінії MCF-7 карциноми молочної залози людини та епітеліальної карциноми яєчника людини А 2780 з банку клітинних культур ІЕПОР.

Клітини лінії MCF-7 (за концентрації  $10^5$  клітин/мл в об'ємі 100 мкл) розміщували у 96-ямоквих пластикових планшетах. Клітини культивували у модифікованому середовищі *Dulbecco-ISCOV* (виробництва «Sigma») з додаванням 10% ембріональної телячої сироватки та антибіотика гентаміцину концентрацією 40 мкг/мл у стандартних умовах за  $37^\circ\text{C}$  і 5%-го насичення повітря  $\text{CO}_2$ . Після 24-годинної адаптації клітин до умов культивування добавляли досліджувані проби для тестування (кожна у трьох паралельних дослідах по 100 мкл) та інкубували в тих самих умовах. Цитотоксичність визначали через 24 год.

Ефективність оцінювали за МТТ-колориметричним тестом. В основу методу покладено здатність мітохондріальних ферментів живої клітини перетворювати 3-[4,5-диметилтіазол-2-іл]-2,5-дифенілтетразоліум бромід (МТТ) – сіль жовтого кольору – на кристалічний МТТ-формазан лілового

кольору. Для цього у ямки 96-ямоквого планшета вносили по 20 мкл розчину МТТ (5 мг/мл фосфатно-сольового буфера) й інкубували протягом 3 год. Після центрифугування планшета (1500 об/хв протягом 5 хв) супернатант видаляли.

Задля розчинення кристалів формагану в кожну ямку добавляли по 100 мкл диметилсульфоксиду (виробництва «Serva»). Оптичне поглинання розчину вимірювали за допомогою мультіямоквого спектрофотометра «MultiScan MCC 340» за довжини хвилі 540 нм (ОП = 540).

За описаною методикою вивчено цитотоксичну дію синтезованих наноконкомпозитів на клітини епітеліальної карциноми яєчника людини лінії А2780 з банку клітинних культур ІЕПОР НАН України. Досліджено такі зразки: стандартизований препарат цисплатину; магнітокерований наноконкомпозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ ; магнітокерований наноконкомпозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  + цисплатин.

Використано розчини цисплатину концентрацією 2 мкг/мл у дозах  $\text{IC}_{50}$ , які викликали загибель 50 % клітин. Результати дослідження цитотоксичної дії синтезованих наноконкомпозитів на клітини епітеліальної карциноми яєчника людини лінії А2780 наведено нижче:

#### **Вплив цисплатину на життєздатність клітин лінії А2780**

Зразок	$\text{IC}_{50}$
	Кількість клітин, що загинули, %
Цисплатин	52
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$	2
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ +цисплатин	65

З аналізу наведених результатів видно, що розчин цисплатину концентрацією 2 мкг/мл у відповідній дозі  $\text{IC}_{50}$  викликав загибель 52 % клітин лінії А2780. Наноконкомпозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  – магніточутливий нанорозмірний носій із біосумісним полімерним покриттям – практично не пригнічував клітини (що свідчить про його біосумісність зі згаданою клітинною лінією у використаних дозах).

Водночас, магнітокерований наноконкомпозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  + цисплатин, створивши відповідну концентрацію цисплатину (2 мкг/см<sup>3</sup>), викликав загибель 65% клітин і на 13% перевищував ефект дії вільної форми препарату.

Отже, наноконкомпозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  + цисплатин збільшує цитотоксичний ефект цисплатину в культуральному середовищі. Це можна пояснити травматичною дією магніточутливих наноконкомпозитів на клітинну мембрану, що сприяє проникненню цисплатину в онко-клітини.

Результати досліджень впливу синтезованих наноконкомпозитів на життєздатність клітин карциноми молочної залози людини лінії MCF-7 наведено у наступному розділі.



## 2.6. Наноккомпозити комплексної дії (моделі нанороботів)

Цитотоксичність синтезованих наноккомпозитів комплексної (хіміо- та імунотерапевтичної) дії (моделей нанороботів) вивчали на клітинах карциноми молочної залози людини лінії MCF-7 в ІЕПОР НАН України.

### 2.6.1. Моделі нанороботів на основі наноккомпозитів $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ , $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ та $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$

З метою вивчення впливу магніточутливих наноккомпозитів, здатних розпізнавати специфічні клітини й виконувати комплекс хіміо- та імунотерапевтичних функцій, на життєздатність онкоклітин виготовляли зразки, які містили іммобілізований цитостатик (зразки 2, 5, 7), моноклональні антитіла (1, 4, 8) та складніші магніточутливі структури, модифіковані цисплатином і кон'юговані моноклональними антитілами (моделі нанороботів 3, 6, 9), а саме:

- 1)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  + CD95;
- 2)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  + цисплатин;
- 3)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  + CD95 + цисплатин;
- 4)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  + CD95;
- 5)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  + цисплатин;
- 6)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  + CD95 + цисплатин;
- 7)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  + цисплатин;
- 8)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  + CD95;
- 9)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  + цисплатин + CD95.

Наноккомпозити 1–7 виготовляли за наведеними вище методиками.

При створенні моделей нанороботів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  + CD 95 + цисплатин;  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  + CD 95 + цисплатин (зразки 3, 6) спочатку до поверхні наноккомпозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  та активованого  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$  ковалентно приєднували окиснені моно-клональні антитіла CD 95, потім адсорбували цитостатик.

З метою оптимізації методики виготовлення наноккомпозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  + CD95 (зразок 8) досліджено адсорбцію моноклонального антитіла CD95 на поверхні наноккомпозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$ .

Адсорбцію моноклональних антитіл CD95 ( $C = 20$  мкг/мл,  $V = 1$  мл) на наноккомпозитах (маса наважок по 0,03 г) проводили у фізіологічному розчині протягом 2 год у динамічному режимі за кімнатної температури. Концентрацію антитіл вимірювали на комбінованому ридері для мікропланшетів «Synergy HT», модель «SIAFRTD», серійний номер 202993 (виробництва «Bio-Тек»). Вміст глікопротеїну в пробах визначали за методом Бредфорда [81].

Отримані результати (табл. 2.12) вказують на значну адсорбцію антитіл на поверхні нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП.

**Таблиця 2.12.** Параметри адсорбції моноклональних антитіл CD 95 на поверхні магніточутливих нанокompозитів

Нанокompозит	C <sub>0</sub> , мкг/мл	A, мкг/г, фізична адсорбція	A, мкг/г, ковалентна іммобілізація
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ГАП	20	590	–
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА	20	2,3	163,2
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС	20	1,2	137,7

*Примітка.* C<sub>0</sub> – початкова концентрація антитіл; A – адсорбція антитіл на поверхні нанокompозиту

Дані стосовно інших нанокompозитів (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС) також свідчать, що природа їх поверхні істотно впливає на адсорбцію антитіл. Фізична адсорбція глікопротеїну на поверхні ГАП істотно перевищує адсорбцію не лише фізично, а й ковалентно іммобілізованих антитіл на поверхні функціоналізованого аміногрупами Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

Високу адсорбційну смість поверхні Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП можна пояснити складним механізмом адсорбції глікопротеїнів: Ca<sup>2+</sup>-центри взаємодіють із карбоксилатними залишками молекул поверхні антитіла; PO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-центри – з оснóвними ділянками молекули.

Згідно з даними роботи [80], на механізм адсорбції значно впливає рН середовища, з якого відбувається адсорбція. Кореляція рН середовища з ізоелектричними точками адсорбтиву (нижче за рI) зумовлює конформацію переважно адсорбованих молекул.

Збільшення концентрації біомолекул у розчині до рівня, вищого ніж в адсорбованому моношарі, сприяє впорядкуванню й утворенню щільнішої упаковки на поверхні.

Врахувавши високу адсорбцію антитіл на поверхні Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП порівняно з їх адсорбцією на поверхні функціоналізованих аміногрупами нанокompозитів, можна припустити утворення щільної й сприятливо орієнтованої упаковки з молекул CD 95 на поверхні модифікованого ГАП нанокompозиту.

Це підтверджено результатами проведених в ІЕПОР НАН України досліджень імунотерапевтичного впливу біофункціоналізованих нанокompозитів на клітинні лінії. Їх цитотоксична дія перевищує вплив контрольних доз антитіл у 2,7 разу. Крім того, іммобілізовані на поверхні ГАП антитіла слабо десорбуються в модельних біологічних середовищах.

Моделі нанороботів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП} + \text{цисплатин} + \text{CD95}$  (зразок 9) виготовляли так. Наноккомпозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  з адсорбованим цисплатином при  $A = 60,1$  мг/г за  $\text{Pt}^{2+}$  (зразок 7) заливали розчином моноклонального антитіла CD95 ( $C = 20$  мкг/мл,  $V = 1$  мл). Імобілізацію проводили адсорбційним методом у фізіологічному розчині протягом 2 год у динамічному режимі за кімнатної температури.

Для вивчення впливу наноккомпозиту з адсорбованим цитостатиком та іммобілізованим моноклональним антитілом (зразок 9) на культуральне середовище вміст цисплатину розраховували так, щоб його концентрація відповідала біологічному еквіваленту ефективності  $\text{IC}_{25}$ , тобто становила 25 % концентрації  $\text{IC}$  і давала змогу повністю знищити клітини.

Попередніми дослідженнями встановлено, що  $\text{IC}_{50} = 5$  мкг/мл, тому ми в експериментах використовували концентрацію  $\text{IC}_{25} = 2,5$  мкг/мл, причому концентрація антитіл CD 95 становила 0,2 мкг/мл (за терапевтичної дози 10–30 мкг/мл).

## **2.6.2. Біоактивність наноккомпозитів**

### **2.6.2.1. Взаємодія наноккомпозитів, що містять ПАА, $\gamma$ АПС, цисплатин та антитіла, з клітинами лінії MCF-7**

Результати досліджень цитотоксичного впливу магніточутливих наноккомпозитів (що містили ПАА,  $\gamma$ -АПС, цисплатин та іммобілізовані моноклональні антитіла) на життєздатність клітин лінії MCF-7 наведено в табл. 2.13.

З отриманих даних видно, що використання магніточутливих наноккомпозитів (з адсорбованим цисплатином і з удвічі нижчою за терапевтичний рівень концентрацією), кон'югованих моноклональними антитілами CD95 з майже на порядок нижчою концентрацією, призводить до загибелі 46–57% пухлинних клітин – із перевищенням рівня впливу контрольного зразка на ~50%. Виявлений при цьому синергічний ефект можна пояснити так. По-перше, через наявність на поверхні пухлинних клітин відповідних рецепторів реалізовано цільову доставку до цих клітин комплексу цитостатик/моноклональне антитіло. Ефективному цитотоксичному впливу цисплатину сприяє травматична дія наноккомпозиту на клітинну мембрану (адже істотно підвищується ступінь проникнення лікарських засобів крізь мембранний бар'єр). Біфункціональні продукти взаємодії (т.зв. ДНК-аддукти) блокують реплікацію, транскрипцію і, як наслідок, клітинну проліферацію. По-друге, система ліганд–рецептор відіграє важливу роль в апоптозі

злюкисних клітин. Зв'язавшись зі своїм рецептором, антитіло запускає систему передачі сигналів, яка й призводить до апоптозу.

**Таблиця 2.13.** Вплив магніточутливих нанокompatитів з адсорбованим цисплатином, кон'югованих моноклональними антитілами, на життєздатність клітин лінії MCF-7

Контроль порівняння	Кількість загиблих клітин, %						
	Дія контрольного зразка	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС + цисплатин	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС + CD95	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /γ-АПС + цисплатин + CD95	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА + цисплатин	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА + CD95	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА + цисплатин + CD95
Цисплатин, C = 2,5 мкг/мл	25	31	–	–	38	–	–
Антитіло CD95, C = 0,2 мкг/мл	10	–	20	–	–	21	–
Цисплатин + CD 95	38	–	–	46	–	–	57

### 2.6.2.2. Цитотоксичність нанокompatитів на основі магнетиту та гідроксиапатиту

Досліджено цитотоксичну активність нанокompatиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП (з адсорбованим цисплатином), кон'югованого моноклональним антитілом CD95, на клітинах карциноми молочної залози людини (лінія MCF-7) [68]. Для порівняння досліджено цитотоксичну активність нанокompatитів з окремо адсорбованими цисплатином і моноклональними антитілами.

Як контрольні зразки використано чисте поживне середовище, цисплатин із C = 2,5 мкг/мл (відповідає четвертинній дозі IC) і моноклональне антитіло CD95 із C = 0,2 мкг/мл. Досліджено на біосумісність із лінією MCF-7 і вихідний магнетит та нанокompatит Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП.

Результати досліджень цитотоксичного впливу магніточутливого нанокompatиту наведено в табл. 2.14. Експериментально доведено, що вплив на онкоклітини MCF-7 магнітокерованих нанокompatитів (нанороботів), до складу яких входять протипухлинний препарат і

моноклональні антитіла CD 95, відзначається високою ефективністю і синергізмом.

**Таблиця 2.14.** Вплив магніточутливих нанокompatитів з адсорбованим цисплатином, кон'югованих моноклональними антитілами, на життєздатність клітин лінії MCF-7

Контроль порівняння	Кількість загиблих клітин, %			
	Дія контрольного зразка	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ГАП+ цисплатин	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ГАП+ CD95	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ГАП + цисплатин+ CD95
Цисплатин, 2,5 мкг/мг	25	48	-	-
Антитіло CD95, 0,2 мкг/мл	10	-	27	-
Цисплатин + CD95	38	-	-	57

Результати експериментальних досліджень свідчать, що поліфункціональні магніточутливі нанокompatити дають змогу реалізувати на практиці розпізнавання специфічних клітин, досягти цитотоксичного ефекту того чи іншого медичного препарату за нижчих концентрацій лікарських засобів, зокрема створивши умови для зменшення токсико-алергійного впливу хімотерапевтичних препаратів на організм у цілому.

## 2.7. Наноматеріали та магніточутливі нанокompatити для біосепарації

Нами також було проведено дослідження, присвячені вирішенню такого актуального завдання сучасної медицини, як створення біомагнітних сорбентів, здатних видаляти вірусні частинки з біологічних рідин, і зокрема з плазми та сироватки крові людини. Роботи виконано спільно з фахівцями Інституту гематології та трансфузіології НАМН України [3, 14, 84, 85].

### 2.7.1. Деконтамінація вірусів із використанням високодисперсних оксидів

Для запобігання трансфузійній передачі інфекційних агентів, що спричиняють тяжкі вірусні захворювання (серед яких особливе місце посідають посттрансфузійні гепатити), потрібні високоякісні препарати. Основним структурним компонентом вірусної частинки (віріону) є білковий капсид, в якому міститься нуклеїнова кислота. Капсиди

складаються із зібраних за відносно простими геометричними принципами білкових субодиноць [86].

Чимало вірусів (крім нуклеокапсиду) мають зовнішні оболонки з білків, ліпідів і вуглеводів. Їх індивідуальність передусім визначається амінокислотним складом, а також вторинною і третинною білковими структурами. Структурні білки вірусів зазвичай містять нейтральні й дикарбонові та (в меншій кількості) двоосновні амінокислоти, причому у вірусних білках число кислотних залишків більше за число аміногруп.

У зв'язку з цим вірусні точки  $pI$  розміщені у кислотній зоні [87]. Білки та амінокислоти є амфолітами, причому білки зв'язують як катіони, так і аніони. Коли  $pH = pI$ , числа позитивних і негативних зарядів у білку однакові, адже в ізоелектричній точці сили електростатичного відштовхування мінімальні. За будь-якого відхилення  $pH$  від  $pI$  білки набувають позитивного або негативного заряду, а їх розчинність збільшується. Наявність солей у розчині може збільшити чи зменшити розчинність білка [88].

Встановлено [86], що віруси людини і тварин здатні приєднуватись до зарядженої поверхні таких речовин, як силікагелі, гелі фосфату кальцію, похідні целюлози. Імовірно, що електростатична взаємодія на початковому етапі відіграє головну роль у забезпеченні адсорбції вірусних частинок. Ефективність приєднання вірусів до клітин (як і до поверхні речовин (сорбентів)) залежить від іонної сили розчину та його  $pH$  [86]. Роль іонної сили розчину залишається нез'ясованою [89].

Механізм адсорбції білків остаточно не встановлений. Найбільш аргументованим є припущення щодо існування двох (крайніх) типів білків, які відрізняються за механізмом їх адсорбції на твердій поверхні – «жорсткі» та «м'які». Адсорбція «жорстких» білків, у молекулах яких внутрішньомолекулярні зв'язки сильні (наприклад, рибонуклеаза), визначається електростатичними і гідрофобними взаємодіями, а також дегідратацією поверхні та білкових молекул. За адсорбції «м'яких» білків (наприклад, альбуміну) виникає пов'язана зі структурними змінами молекул білка додаткова адсорбційна рушійна сила, яка може перевищити внесок електростатичного відштовхування, тому «м'які» білки (на відміну від «жорстких») здатні адсорбуватись на гідрофільній поверхні з однойменним зарядом. Незворотність цього процесу пояснюється лише багаточетривим механізмом адсорбції білків [90].

Для біосепарації (деконтамінації) небажаних білкових домішок використовують неорганічні адсорбенти – оксиди, нерозчинні гідроксиди і фосфати. Однією з істотних переваг цих матеріалів, особливо за умов широкомасштабного (зокрема промислового) їх застосування, є економічність [80]. Вивчено також антимікробні властивості  $TiO_2$ ,  $SnO_2$  і

встановлено, що кількість мікроорганізмів після зв'язування з цими сорбентами зменшується на 40–85 %: допування металами збільшує швидкість такого зв'язування, а число мікроорганізмів, що вижили, зменшується.

Білки дуже швидко адсорбуються в разі введення сорбенту в розчин [78]. Цей метод дає змогу оперативно обробити великі об'єми матеріалу. Адсорбенти зі зв'язаним на їхніх поверхнях білком відділяють осадженням (центрифугуванням) або фільтруванням. Процес відділення можна модифікувати за допомогою магнітокерованих сорбентів і магнітних штативів чи сепараторів. Саме тому метою наших досліджень був добір оптимальних адсорбентів для деконтамінації вірусів із подальшою розробкою інактивувальних магнітокерованих адсорбентів (нанокомпозитів).

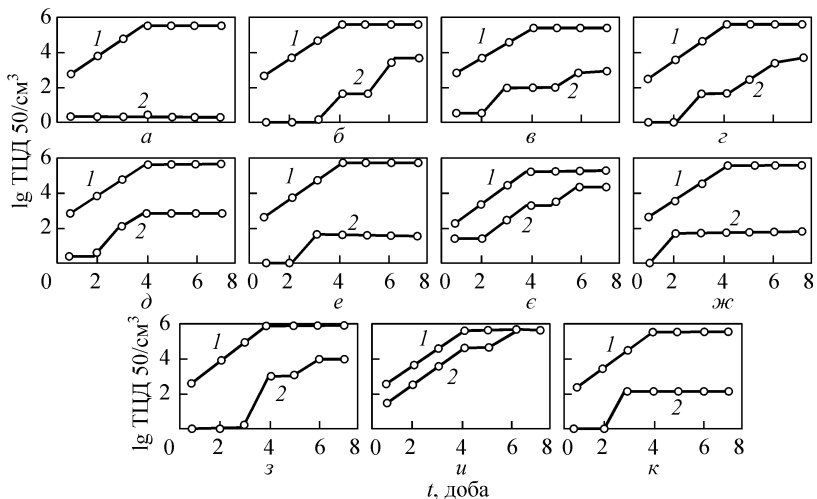
Як модельний оболонковий для досліджень було обрано вірус везикулярного стоматиту (ВВС), а саме штам *Індіана*. Моделями слугували адсорбенти на основі оксидів заліза, кремнію, титану, алюмінію, магнію, хрому, марганцю й цинку (табл. 2.15). Інфекційну активність розраховували за методикою роботи [91].

**Таблиця 2.15.** Характеристики деяких високодисперсних оксидів

Оксид	Питома поверхня $S_{\text{пит}}$ , м <sup>2</sup> /г	Середній розмір частинок $d$ , нм	pH	Примітка
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	90–180	30–50	6–8	Синтезовано авторами
TiO <sub>2</sub> (анатаз)	30	50	3,6	–
1% Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /A-300	205	10	3,6	–
ВДК ДА-300 (А-300)	300	5–20	3,6–4,3	ГОСТ 14922-77
Титанокремнезем (вміст TiO <sub>2</sub> – 25,1%)	200	5–40	3,6	ТУ 88 УРСР-251-01-08
Алюмокремнезем (вміст Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> – 3,07%)	200–300	5–40	3,6	ТУ 88 УРСР-251-02-84
Алюмокремнезем (вміст Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> – 1,94%)	200–300	5–40	3,6	ТУ 88 УРСР-251-02-84
Титанокремнезем (вміст TiO <sub>2</sub> – 11,27%)	200	5–40	3,6	ТУ 88 УРСР-251-01-08
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (пірогенний)	200	20	7	ГОСТ 8136-85
MgO	1	50	7	ГОСТ 4526-75
Mn <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1	50	7	ГОСТ 4470-79
ZnO	5	65	7	ГОСТ 10262-73

Інфекційна активність вірусу (в  $\lg$  ТЦД =  $50/\text{см}^3$ ) у початковій вірусомісній рідині становила 5,7. Через 7 діб у культуральній рідині після контакту з  $\text{Mn}_2\text{O}_3$  вміст вірусу не змінився, що свідчило про відсутність адсорбції вірусу на цьому оксиді. За контакту вірусомісної культуральної рідини з  $\text{ZnO}$  значення  $\lg$  ТЦД =  $50/\text{см}^3$  зменшилось на одиницю після експозиції з  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ; з алюмокремнеземом  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$  (3,07%) – на два; з алюмокремнеземом  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$  (3,07%) – на три; після експозиції з  $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$  (11,27%),  $\text{MgO}$  – на чотири.

Повна інактивація (адсорбція ВВС) спостерігалася після контакту з магнетитом і діоксидом титану. Слід зазначити, що чим меншою була концентрація  $\text{Al}_2\text{O}_3$  і  $\text{TiO}_2$  на поверхні кремнезему, тим вищою – адсорбційна здатність цих нанокompatитів відносно ВВС, результати титрування якого після контакту вірусомісної рідини з різними наноматеріалами за  $T = 293^\circ\text{C}$  наведено на рис. 2.30.



*a* –  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  і  $\text{TiO}_2$ ; *б* –  $\text{SiO}_2$ ; *в* –  $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$  (25,1%); *г* –  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$  (3,07%);  
*д* –  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$  (1,94%); *е* –  $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$  (11,27%); *є* –  $\text{ZnO}$ ; *жс* –  $\text{MgO}$ ;  
*з* –  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (пірогенний); *и* –  $\text{Mn}_2\text{O}_3$ ; *к* –  $\text{Cr}_2\text{O}_3/\text{A-300}$

**Рис. 2.30.** Інфекційна активність вірусу везикулярного стоматиту ( $\lg$  ТЦД =  $50/\text{см}^3$ ) до (1) і після (2) контакту вірусомісної рідини з наноматеріалами

Раніше при дослідженні елементного складу поверхні нанокompatитів  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$  і  $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$  нами було показано, що за збільшення концентрації  $\text{Al}_2\text{O}_3$  до 3% практично весь алюміній знаходився на поверхні наночастинок кремнезему [92], а це призводило до утворення на поверхні



кислотних алюмосилоксанових містків Al–O(H)–Si, які й визначали адсорбційні властивості поверхні. Збільшення загального вмісту Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> до 8–30% спричинювало зменшення концентрації алюмінію у приповерхневому шарі та збільшення концентрації кремнію. Для зразків із загальним вмістом TiO<sub>2</sub> до 20% концентрація титану на поверхні вища, ніж у його об'ємі, а за загального вмісту TiO<sub>2</sub> 20–80% поверхня нанокompозиту збіднена на титан порівняно з його об'ємом [93].

Слід зазначити, що рН початкової вірусовмісної рідини після добавляння дисперсного MgO змінювався до 10–11. Імовірно, основна частина ВВС у лужному середовищі руйнується, а сорбція у такому діапазоні рН зазвичай не відбувається. Інтенсивність адсорбції сироваткових білків залежить від рН і пов'язана з електростатичною взаємодією адсор-бент-білок. За значень же рН, вищих за ізоелектричну точку, на білковій молекулі з'являються негативні заряди, що призводить до зниження рівня адсорбції внаслідок відштовхування однойменних зарядів. За рН 8 білок і поверхня сорбенту заряджені негативно, адсорбція припиняється [90] і віруси з розчину не видаляються [84].

Отримані дані свідчать про перспективність використання Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> і TiO<sub>2</sub> для створення магнітокерованих нанокompозитів, придатних для деконтамінації оболонкових вірусів із біологічних рідин.

## 2.7.2. Магнітні нанокompозити для біосепарації

З метою вирішення одного з актуальних завдань сучасної медицини — створення біомагнітних сорбентів, здатних видаляти вірусні частинки із сироватки крові людини, проведено дослідження з виділення із сироваток реконвалесцентів (після гострого вірусного гепатиту В (ВГВ) і гепатиту С (ВГС, ГС)) специфічних глобулінів, які надалі використовували як молекули-вектори (ліганд) [85].

Для їх зміцнення імуноглобуліни Ig ковалентно зв'язували з магнетитом, інкапсульованим матрицею, що несла на своїй поверхні амінопропільні групи. Вивчено динаміку сорбції Ig на магнітокерованому носіїві. Позитивні у полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) та імуоферментному аналізі (ІФА) сироватки випробовували з метою сепарації вірусів імуномагнітними сорбентами.

Згідно з результатами ПЛР, досягнуто повної вірусної деконтамінації сироватки, тоді як результати ІФА свідчать про наявність у досліджених зразках сироватки поверхневого антигена HBsAg, що може бути пов'язано, зокрема, із вмістом значної кількості дефектних вірусних частинок.

### 2.7.3. Сироватки

Досліджено сироватки крові хворих у стадії реконвалесценції після гострого ВГВ і ГС, а також на початку ремісії після хронічного ВГС. Усі сироватки пройшли скринінг молекулярно-генетичним методом ПЛР («Амплі-Сенс HCV 240/ВКО-440», «Амплі-Сенс HBV») та ІФА («DIA-HCV», «DIA-HBV», «DIA-HB-core», «Anti-HBsAg Vitrotest»). Негативні у ПЛР та ІФА (HBsAg) сироватки було відібрано для виділення специфічних імуноглобулінів (Ig-ВГС, Ig-ВГВ), позитивні у ПЛР-аналізі – використовували у подальшій роботі з видалення вірусів.

Ig-ВГС виділяли із пулів сироваток з оптичною густиною в ІФА від 2 відн. од. і вище, Ig-ВГВ – від 15 до 400 мМЕ/мл.

### 2.7.4. Імуноглобуліни

Специфічні імуноглобуліни людини виділяли з високоактивних сироваток шляхом преципітації риванолом і сульфатом амонію, потім діалізували у фізіологічному розчині, концентрували за допомогою ПЕГ-40000 і знову діалізували. Визначали рівень Ig в ІФА, спектр антитіл — імуноелектроосмофорезом (ІЕОФ), концентрацію білка — методом Лоурі. В подальшому такі імуноглобуліни застосовували для отримання імуномагнітного сорбенту.

### 2.7.5. Інактивація вірусів магнітокерованими нанокompозитами

Біомагнітний сорбент отримували з високодисперсного магнетиту, модифікованого золь-гель- методом силіка- $\gamma$ -амінопропілсилоксаном. Співвідношення мас  $\text{SiO}_2:\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{O}_3$  у нанесених сорбентах у композиті становила 2:0,5, у композиті – 2:1. Питома поверхня частинок дорівнювала відповідно 31 і 36 м<sup>2</sup>/г.

Зразки легко суспендували і швидко осідали під дією зовнішнього магнітного поля, причому враховувалось, що для запобігання десорбції Ig із поверхні носія у процесі використання магнітокерованого сорбенту вирішальну перевагу мало хімічне зв'язування [85].

Зразки магнетиту несли на поверхні функціональні  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3$ -групи, а зв'язувальним агентом для силіка- $\gamma$ -амінопропілсилоксану і глобулінів слугував глутаральдегід (25% «Merck-820603»).

Функціоналізовані магнітні носії стерилізували озоном і диспергували ультразвуком (комплекс озонування й ультразвуковий диспергатор «УЗДН-2»).

Розчини Ig стерилізували із використанням фільтрів із діаметром пор 0,22 мкм («Sarstedt») [94]. Для дослідницьких цілей зазвичай брали 100 мг функціоналізованих магнітних носіїв [95]. За відомими масою і питомою поверхнею визначали потрібну для біофункціоналізації кількість імуноглобуліну (з розрахунку, що на 1 мм<sup>2</sup> поверхні треба 2,5 нг антитіл) [96].

Підготовлені зразки суспендували в 0,1М-фосфатному буфері за рН 7,4, доливали такий самий об'єм 5%-го розчину глутаральдегіду, приготованого з 25%-го глутаральдегіду в 0,1М-фосфатному буфері. Отриману суміш м'яко перемішували протягом 3 год. Глутаральдегід, який не вступив у реакцію, 5 разів відмивали 0,1М-фосфатним буфером. До активованих частинок додавали розраховану кількість Ig й суміш знову перемішували протягом 17–20 год.

Для вивчення сорбційної динаміки Ig на магнітних нанокompозитах під час сорбції відбирали проби імуноглобуліну. Після завершення сорбційного етапу зв'язані з антитілами нанокompозити відмивали 0,1 М фосфатним буфером і суспендували в 0,2М-розчині гліцину з метою «блокування» функціональних альдегідних груп, які не вступили у реакцію.

Суспензію перемішували протягом 30 хв, зв'язані з антитілами носії відмивали 0,1М-фосфатним буфером та етанолом, потім (двічі) цим буфером із 0,2%-м бичачим сироватковим альбуміном (БСА), цим же буфером далі із 0,05%-м «Tween-20».

Отриманий у такий спосіб імуномагнітний сорбент використовували для вірусної деконтамінації сироватки.

## **2.7.6. Дослідження деконтамінації вірусних частинок**

До імуномагнітного сорбенту додавали вірусовмісну (ГВ або ГС) сироватку відомої активності, залишали її у стані м'якого перемішування, через 3, а потім через 18–20 год відбирали проби сироватки для наступного тестування. Активність сироваток перевіряли ПЛР та ІФА.

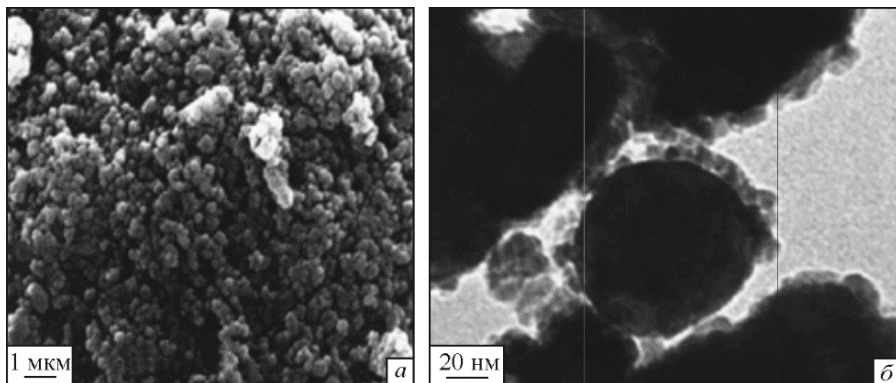
## **2.7.7. Експериментальні результати та обговорення**

Зразки магнітних наночастинок і нанокompозитів вивчали методами растрового й трансмісійного електронно-мікроскопічних аналізів (рис. 2.31) із використанням приладів «JSM 6060 LA», «TEM 1230» («JEOL», Японія).

Із рис. 2.31, *a* видно, що висушені зразки високодисперсного магнетиту, модифікованого синтезованим золь-гель-методом силіка- $\gamma$ -амінопропілсілоксаном, складаються з частинок та агрегатів.

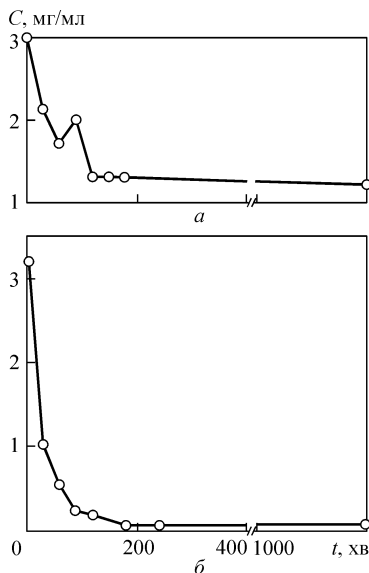
При цьому трансмісійним електронно-мікроскопічним аналізом виявлено, що магнітні частинки характеризуються незначним розкидом розмірів і представлені округлою, еліпсоїдною (рідше – геометрично неправильною) формами.

Такий же розкид спостерігався й після обробки поверхні частинок силіка- $\gamma$ -амінопропілсілоксаном із наступним нанесенням функціональних  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3$ -груп (див. рис. 2.31, *b*).



**Рис. 2.31.** Отримані шляхом растрового (*a*) і трансмісійного (*b*) електронно-мікроскопічних аналізів зображення частинок магнетиту, які утримують на своїй поверхні синтезований золь-гель-методом силіка- $\gamma$ -амінопропілсілоксан

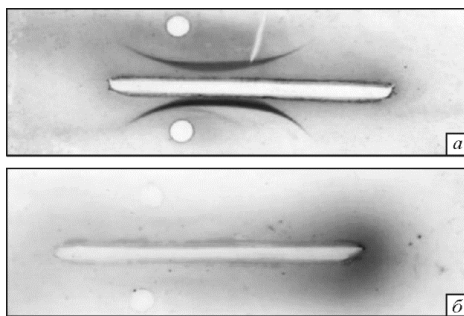
Згідно з даними трансмісійного електронно-мікроскопічного аналізу, основна частина функціоналізованих частинок мала розміри 50–200 нм, причому 80% частинок – близько 200 нм. У відібраних по ходу приготування імуносорбенту пробах Ig концентрацію встановлювали методом Лоурі, у кінцевих пробах визначали активність ІФА та ІЕОФ. Динаміку сорбції Ig ілюструє рис. 2.32.



**Рис. 2.32.** Динаміка поверхневого зв'язування з частинками функціоналізованого магнетиту Ig-ВГВ (а) та Ig-ВГС (б)

Як видно з наведених графіків, ефективність ковалентного зв'язування специфічних Ig на функціоналізованих силіка- $\gamma$ -амінопропілсилоксаном магніточутливих сорбентах становила 60% для Ig-вірусу ГВ і 97% – для Ig-вірусу ГС.

На рис. 2.33 наведено результати ІЕОФ вихідних зразків специфічних імуноглобулінів до і після біофункціоналізації сорбенту.



**Рис. 2.33.** Оцінювання сорбції специфічних імуноглобулінів людини на функціоналізованому силіка- $\gamma$ -амінопропілсилоксаном магнетиті методом ІЕОФ

У ямки вносили підготовлений для сорбції на функціоналізованому магнетиті розчин специфічних імуноглобулінів людини (рис. 2.33, а). Той самий розчин після завершення сорбції – через 18–20 годин – ілюструє рис. 2.33, б.

У канавки вносили антисироватку до сироватки крові людини.

Сорбційна ємність (кількість зв'язаного білка, мкг/мг носія) є важливою характеристикою імуномагнітних мікросфер, яка помітно впливає на ефективність сепарації [94]. Під час вибору методу зв'язування потрібно враховувати структуру активної сполуки, що закріплюватиметься на поверхні, а також умови, за яких препарат використовуватиметься після іммобілізації.

Обробка поверхні аміноорганокремнеземів глутаровим альдегідом, запропонована *Р. Робінсон* та ін., набула якнайбільшого поширення при створенні активованих матриць [97]. Типи зв'язку матриці й антитіл або антигенів визначаються їх функціональними або реактивними групами, які, у свою чергу, визначають вибір зв'язувального агента [98].

Після зв'язування Ig з матрицею не виключена наявність вільних для глікопротеїнів сайтів на її поверхні. Як уже зазначалося вище, з метою їх «блокування» застосовували найпоширеніший і доступний для цього БСА. Можливе використання сироваткового альбуміну людини (найчастіше – для імуномагнітних мікросфер, ціллю яких є сепарація клітин крові) [94]. Знизити рівень неспецифічної сорбції можна також внесенням у готовий імуномагнітний біосорбент декстрану лейконостоку [99] та казеїну.

Як правило, отримані у такий спосіб імуносорбенти у той самий день випробовували на вірусовидалення, проте допускається їх консервація і зберігання. Сироватка, що містить вірус гепатиту С, не змінювала свою активність і до, і після контакту з імуносорбентом (результати ПЛР), хоча поверхнєве зв'язування матриці та Ig-ВГС було максимальним (97%). Такі результати можна пояснити, по-перше, відсутністю кількісного методу обліку (якісна ПЛР), а, по-друге, реальною відсутністю нейтралізації ВГС імуносорбентом (з огляду на те, що чимало його віріонів асоційовані з ліпопротеїнами сироватки (β-ліпопротеїнами низької і дуже низької густини), які екранують вірусні антигени і захищають вірус гепатиту С від антитіл) [100].

Сироватка, що містила вірус гепатиту В, після контакту з імуносорбентом була негативною в ПЛР і позитивною в ІФА (HBsAg), але оптична густина виявилась нижчою, ніж початкової сироватки. Вміст неповних вірусних форм («порожнистих» дефектних) у сироватці зазвичай істотно перевищував концентрацію повних віріонів, а в деяких сироватках чисельність таких форм перевищувала кількість віріонів у 10 тис. і більше разів [101].

На кожен виявлений інтактний вірус гепатиту В (частинку Дейна) припадали сотні «порожнистих» оболонки, що пояснюється циклом розвитку вірусу гепатиту В [102]. Неінфекційні порожнисті частинки HBs-антиген з невеликим вмістом преS2-антиген імовірно є продуктами паралельної експресії вбудованих у клітинний геном вірусних генів [103]. Ми також спостерігали подібне явище: у 20 % HBsAg позитивних сироваток методом ПЛР ДНК-ВГВ не виявлено [104].

У результаті виконаної роботи отримано зразки імуномагнітних сорбентів на основі силіка- $\gamma$ -амінопропілсилоксану та специфічні до вірусів гепатитів В і С Ig-ліганди. Імуноглобуліни ефективно зв'язуються з поверхнею матриці. Специфічний щодо вірусу гепатиту В імуномагнітний сорбент здатний видаляти повноцінний інфекційний вірус із сироватки крові людини. Проте, незважаючи на високу сорбційну ємність, при отриманні специфічного щодо вірусу гепатиту С імуномагнітного сорбенту не вдалося досягти ефекту вірусної нейтралізації у сироватці крові людини.

Отже, проведені дослідження показали можливість створення імуномагнітного біосорбенту, здатного видаляти вірусні частинки з такої складної біологічної рідини, як сироватка крові.

## **2.8. Синтез магніточутливих нанокompatитів для нейтронозахопної терапії**

Розробка наукових підходів до вирішення проблеми впровадження магнітокерованих поліфункціональних нанокompatитів у нейтронозахопну терапію (НЗТ) є, безперечно, доцільним та актуальним завданням, оскільки вони можуть стати основою для створення нових типів малотоксичних селективних лікарських засобів із додатковими функціями магнітокерованої спрямованої доставки до органів- або клітин-мішеней і депонування, гіпертермії та комбінованої  $T_1$ -,  $T_2$ - МРТ-діагностики у режимі реального часу [1, 105–113].

У роботах [110–113] розроблено методики синтезу та досліджено властивості нових типів нанокompatитів на основі монодоменого магнетиту, зокрема:

1)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС/ДТПК/Gd}$  – ковалентною іммобілізацією на поверхні  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  діетилентриамінпентаоцтової кислоти (ДТПК) у комплексах з іонами  $\text{Gd}^{3+}$ ;

2)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК/Gd}$  – модифікуванням поверхні магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою, до карбоксильних і сульфогідрильних функціональних груп якої приєднано іони  $\text{Gd}^{3+}$ ;

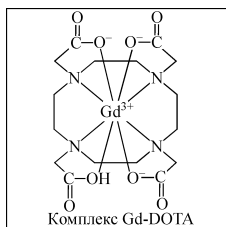
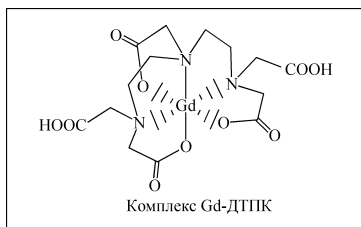
3)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{карборан}$  – модифікуванням поверхні магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою з подальшою функціоналізацією орто-тіокарбораном за реакцією тіол-дисульфідного обміну;

4)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GdBO}_3$  – модифікуванням поверхні магнетиту боратом гадолінію  $\text{GdBO}_3$ , що утворюється в результаті взаємодії іонів  $\text{Gd}^{3+}$  із гідратованими аніонами бору  $[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4]^-$ , із подальшим гідролізом до  $\text{GdBO}_3$ ; наноккомпозити цього типу одночасно містять бор і гадоліній, можуть поєднувати функції неорганічного скінтілятора й нейтронозахопного агента.

Наноккомпозити синтезовано з компонентів, що характеризуються задовільною біосумісністю. Їх будову і властивості вивчено комплексом фізико-хімічних методів. Результати відображених у роботах [110–113] досліджень наведено нижче.

### 2.8.1. Магніточутливі наноструктури з хелатованими іонами $\text{Gd}^{3+}$ на поверхнях

Наявність іонів гадолінію і заліза у складі наноккомпозитів у принципі дає змогу використовувати їх для комбінованої діагностики у магнітно-резонансній томографії та нейтронозахопній терапії. Іони  $\text{Gd}^{3+}$  є токсичними за концентрацій, необхідних для виконання лікувально-діагностичних процедур, але токсичність вільних іонів  $\text{Gd}^{3+}$  можна різко знизити їх координуванням з лігандами, покликаними забезпечити відповідний міцний зв'язок. Так, аніонні комплекси гадолінію з діетилентриамінпентаоцтовою ( $\text{Gd}$ -ДТПК, «Magnevist®») і гадотерою ( $\text{Gd}$ -DOTA, «Dotarem®») кислотами, структурні формули яких наведено нижче, першими використано у клінічній практиці, на сьогодні вони є зразками для порівняння при розробці та оцінюванні нових контрастувальних агентів [109]:



Приєднання похідних ДТПК до супрамолекулярних структур може бути одним з ефективних шляхів сповільнення їх обертального руху, що, в свою чергу, істотно поліпшить якість діагностики цих комплексів у МРТ.

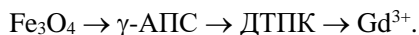


Швидкість релаксації протонів води ( $s^{-1}$ ) в контрастувальному агенті на одиницю зміни його концентрації (мМ) у розчинах, що містять змішані міцели, в які інкорпоровано амфіфільні *bis*-алкіламідні похідні ДТПК, вища, ніж для гідрофільного комплексу Gd-ДТПК (через зниження його рухової активності). Ці дані потрібно враховувати при створенні нових ефективніших засобів для МРТ [107–109].

## 2.8.2. Імобілізація комплексів Gd–ДТПК на поверхні модифікованого магнетиту

З урахуванням наведених даних ми запропонували методику імобілізації комплексу Gd-ДТПК на поверхні модифікованого спейсером ( $\gamma$ -амінопропілсилоксаном) магнетиту. Хімічно сконструювали наноструктури на основі високодисперсного  $Fe_3O_4$ . Архітектура синтезованих нанокompatитів характеризувалась наявністю магніточутливого «ядра»-носія, поверхня якого була модифікована біосумісним покриттям неорганічної або органічної природи.

Розроблено методику синтезу нанокompatиту з пошаровою наноархітектурою:



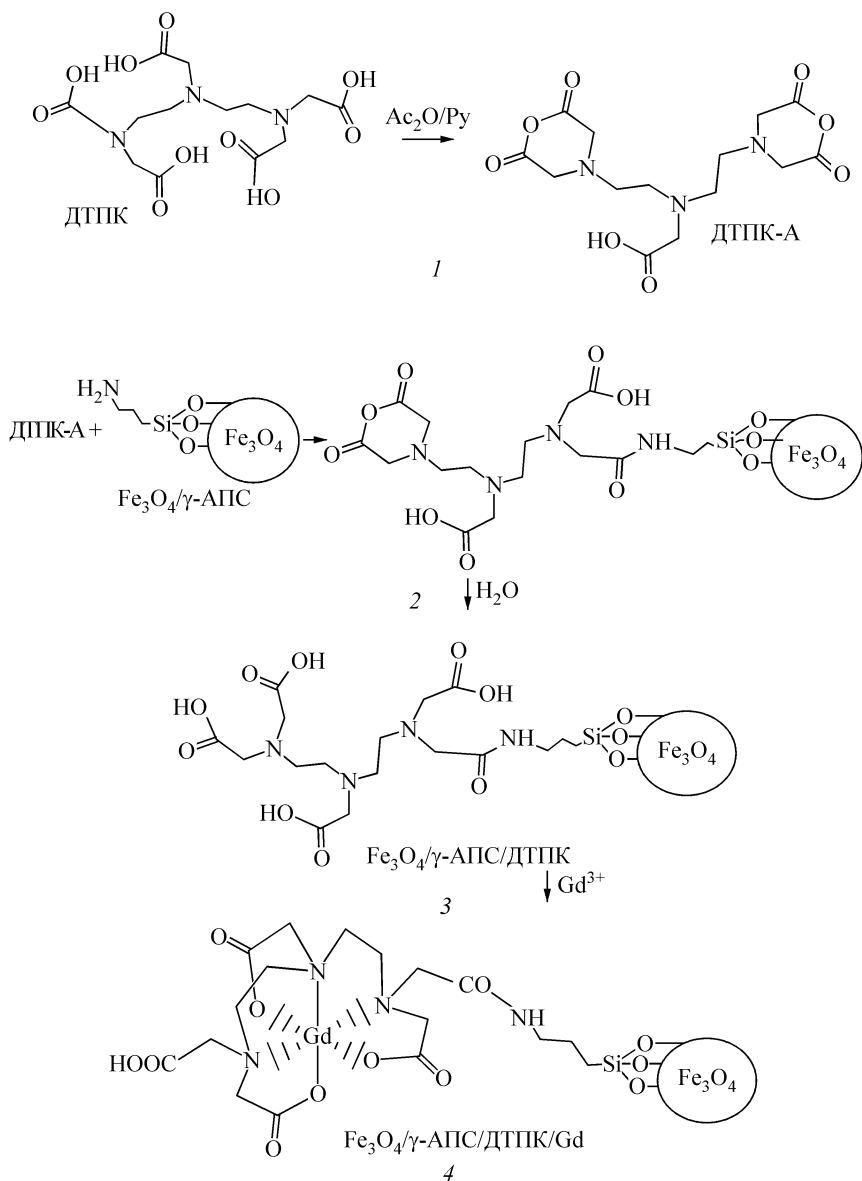
Досліджено комплексоутворення іонів  $Gd^{3+}$  з хелатами поверхні нанокompatиту. Вивчено ізотерми адсорбції  $Gd^{3+}$  на нанокompatиті з модифікованою ДТПК поверхнею.

Діетилтриамінпентаоцтова кислота утворює міцний стабільний комплекс із парамагнітним іоном гадолінію ( $Ig K = 22\dots23$ ). Функціональні групи  $-NH_2$  взаємодіють з ангідридами кислот, тому магнетит модифікували  $\gamma$ -АПС для отримання вільних аміногруп на поверхні, а ДТПК переводили в ангідрид відповідної кислоти. Синтез здійснювали у кілька стадій.

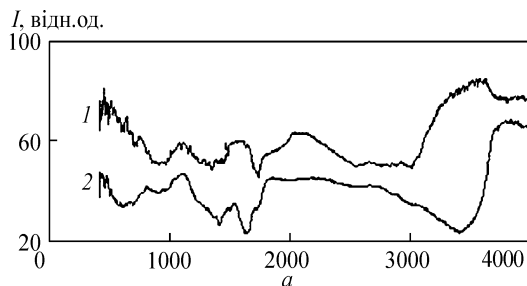
### 2.8.2.1. Синтез *bis*-ангідриду ДТПК

Синтезували ангідрид при нагріванні ДТПК ( $75^\circ C$ ) з оцтовим ангідридом у піридині в колбі зі зворотним холодильником (рис. 2.34, стадія I).

Утворювався осад коричневого кольору. Колір осаду та ІЧ-Фур'є-спектральні дослідження (зміщення смуги поглинання карбонільної групи від  $1730$  до  $1636\text{ см}^{-1}$ , відповідність коливанням C–N-зв'язків: смуга поглинання –  $3017\text{--}2900\text{ см}^{-1}$ ) підтверджували утворення ангідриду ДТПК-А (рис. 2.35, а).



**Рис. 2.34.** Схема хімічного синтезу нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-APS}/\text{DTPK}/\text{Gd}$



**Рис. 2.35.** ІЧ-Фур'є-спектри: ДТПК (1); ДТПК-А (2); продуктів послідовного синтезу нанокмпозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}-\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК-А}$  (3);  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}$  (4);  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$  (5);  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  (6)

### 2.8.2.2. Синтез нанокмпозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$

Ангідрид ДТПК взаємодіє з первинними амінами (з подальшим утворенням амідів). Цю реакцію використано на стадії 2 (рис. 2.34) запропонованої нами методики. Аміногрупи, які містяться на поверхні модифікованого  $\gamma$ -амінопропілсилоксаном магнетиту, взаємодіяли з ангідридом ДТПК в етиловому спирті за кімнатної температури за наявності концентрованої оцтової кислоти. Отримували нанокмпозити  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК-А}$ .

На стадії 3 (рис. 2.34) нанокмпозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК-А}$  кип'ятили протягом 3 год у воді до повного гідролізу всіх ангідридних груп, утворювався нанокмпозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}$ .

Нанокмпозити  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$  отримували в результаті взаємодії  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}$  з іонами гадолінію у водному розчині сульфату гадолінію (рис. 2.34, стадія 4).

Утворювались ковалентні зв'язки між  $\text{Gd}^{3+}$  й карбоксильними групами та координаційні зв'язки між атомами азоту й закріпленою на поверхні магніточутливого носія ДТПК.

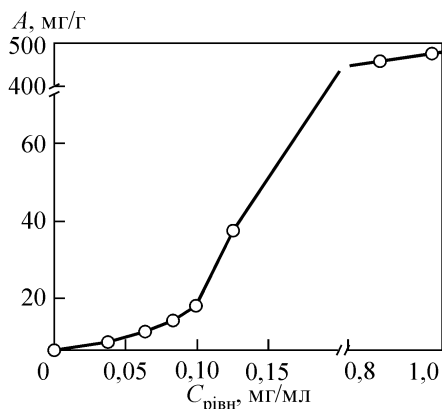
На рис. 2.35, б наведено ІЧ-Фур'є-спектри продуктів послідовного синтезу нанокмпозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$  і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ .

Дублет смуг поглинання при  $1130$  і  $1060\text{ см}^{-1}$  свідчить про наявність на поверхні носія просторової полімерної сітки  $\text{SiO}_2$ . Зміщення смуг поглинання на  $36\text{ см}^{-1}$  за  $1410\text{ см}^{-1}$ , що належать карбоксильним групам та атомам азоту, відповідає утворенню комплексів гадолінію у структурі нанокмпозиту.

### 2.8.2.3. Адсорбція іонів $Gd^{3+}$ на поверхні нанокompозиту $Fe_3O_4/\gamma$ -АПС/ДТПК

Процеси адсорбції іонів  $Gd^{3+}$  досліджували на синтезованих нанокompозитах  $Fe_3O_4/\gamma$ -АПС/ДТПК. Кількість іонів гадолінію, адсорбованих на поверхні нанокompозиту, визначали спектрофотометричним методом його комплексів у розчині за допомогою реагенту арсеназо-3 в уротропіновому буфері.

Адсорбцію іонів  $Gd^{3+}$  проводили у водному середовищі протягом 2 год у динамічному режимі за кімнатної температури. Для визначення кількості адсорбованої речовини на поверхні нанокompозитів вимірювали концентрацію іонів  $Gd^{3+}$  в розчинах, що контактували до і після адсорбції за допомогою спектрофотометра ( $\lambda = 583$  нм) за калібрувальним графіком. Ізотерма адсорбції  $Gd^{3+}$  на поверхні нанокompозиту  $Fe_3O_4/\gamma$ -АПС/ДТПК мала S-подібну форму (рис. 2.36), маса адсорбованих іонів гадолінію становила 490,8 мг/г.



**Рис. 2.36.** Ізотерма адсорбції іонів  $Gd^{3+}$  на поверхні нанокompозиту  $Fe_3O_4/\gamma$ -АПС/ДТПК

Фізико-хімічні процеси, що визначають комплексоутворення на поверхні твердого тіла, можуть бути складними (формування як моно-, так і полішарів адсорбованих речовин, взаємодія комплексів адсорбат-адсорбент тощо). Ці процеси залежать від будови і складу сорбенту, відносних та абсолютних концентрацій речовин, що сорбуються у розчині, його кислотності й стійкості комплексів на поверхні та ін. Тому інтерпретація результатів експериментів за участю реакцій комплексоутворення на поверхні може бути складною і не завжди приводити до однозначних висновків.

### 2.8.3. Електронна структура нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПC/ДТПК/Gd

Електронну структуру нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПC/ДТПК/ Gd досліджували методом рентгенівської фотоелектронної спектроскопії (РФС) електронним спектрометром з енергоаналізатором «PHOIBOS-100 SPECS». Джерелом випромінювання слугувала рентгенівська гармата з магнієвим анодом ( $E_{MgK\alpha} = 1253,6$  eВ;  $P = 300$  Вт).

У спектрі N 1s є дві компоненти (рис. 2.37). Максимум з енергією зв'язку 399,2 eВ вказував на наявність на поверхні зразка NH<sub>2</sub>-груп, з енергією 400 eВ – іонів NH<sub>3</sub><sup>+</sup>.

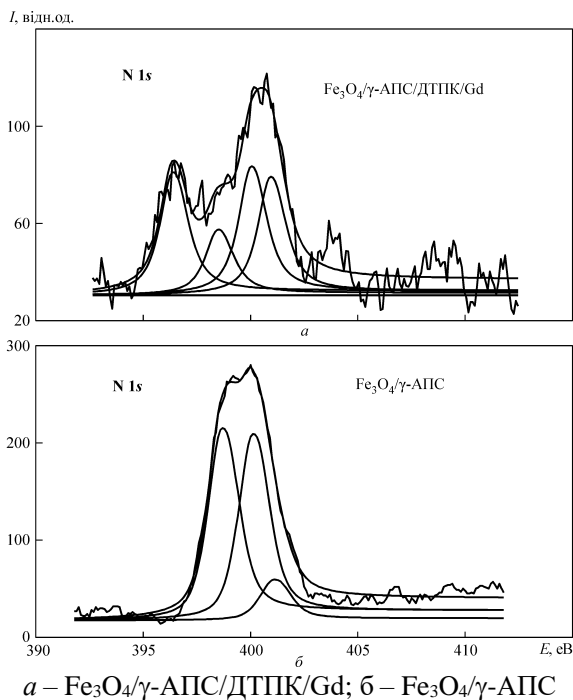
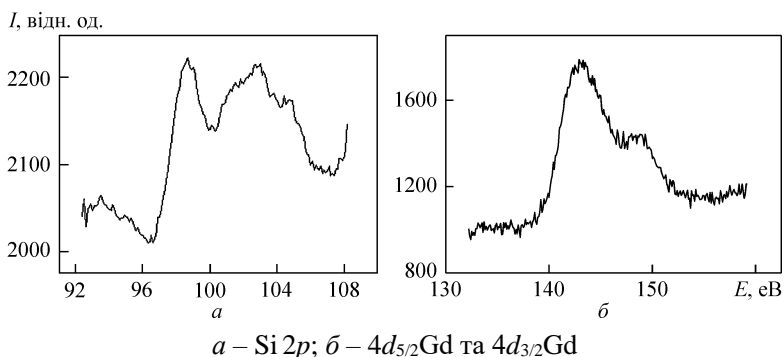


Рис. 2.37. Спектри N 1s нанокompозитів

Поява додаткової смуги поглинання у спектрі N 1s за 396,5 eВ пов'язана з відтягуванням електронної густини з атома азоту внаслідок його зв'язування з атомом вуглецю карбоксильної групи молекули ДТПК (це відповідає літературним даним).

Спектр Si 2p (рис. 2.38, a) містить максимуми, що відповідають сигналу від груп покриття модифікатора. Компоненти з  $E_{зв} = 101$  eВ співвідносяться із Si–C-зв'язками, а з  $E_{зв} = 102,5$  eВ – із Si–OH-



**Рис. 2.38.** Спектри нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$

Максимум за 101–103 еВ пов'язаний із  $\text{SiO}_2$ . У спектрі  $\text{Si } 2p$  спостерігали лінію з максимумом за 98,60 еВ, яка (за даними бази «NIST X-ray Photoelectron Spectroscopy Database») може бути віднесена до сполуки  $\text{GdSi}$  або  $\text{Gd}_5\text{Si}_3$ . Утворення силіцидів гадолінію за таких умов малоімовірно, тому цю лінію слід віднести до іонів гадолінію, адсорбованих на поверхні ґратки шару  $\text{SiO}_2$ .

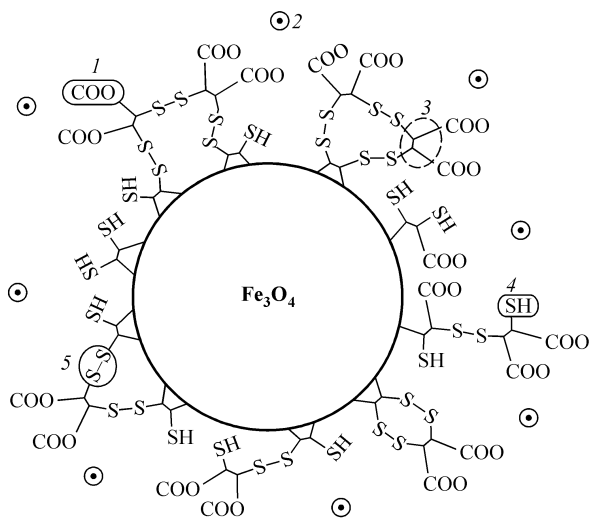
Максимум же за 143,2 еВ (див. рис. 2.38, б) належав рівню  $4d_{5/2}$ , а за 148,9 еВ –  $4d_{3/2}$  атома  $\text{Gd}$ .

З наведених авторських експериментальних даних можна зробити висновок щодо перспективності нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПC}/\text{ДТПК}/\text{Gd}$ , які можуть поєднувати властивості нейтронозахопного агента і контрастного засобу для МРТ. На практиці це дає можливість використовувати синтезовані нанокompозити у нейтронозахопній терапії пухлин з одночасною їх МРТ-діагностикою.

#### **2.8.4. Синтез гадолінійвмісних нанокompозитів на основі магнетиту, модифікованого мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою**

Перспективними модифікувальними агентами є сполуки з тільними функціональними групами (оскільки утворення міжмолекулярних дисульфідних містків істотно збільшує міцність покриття). Використання ДМСК для формування капсули магніточутливої частинки (рис. 2.39) вирішує проблеми стабільності колоїдної системи у водному середовищі та біосумісності матеріалу, дає змогу іммобілізувати необхідні сполуки через тільні та карбоксильні функціональні групи поверхні [55].

Композит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}$  синтезували модифікуванням магнетиту мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою з подальшим адсорбуванням іонів  $\text{Gd}^{3+}$ .



1 – вільна карбоксилатна група; 2 – негативний заряд; 3 – ДМСК;  
4 – вільна тіольна група; 5 – дисульфідний місток

**Рис. 2.39.** Схема будови нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$

З метою вивчення процесів адсорбції іонів  $\text{Gd}^{3+}$  на поверхні нанокompозиту його наважки (масою по 0,02 г) заливали розчинами  $\text{Gd}_2(\text{SO}_4)_3$  різних концентрацій. Адсорбцію проводили у водному середовищі уротропінового буферу в динамічному режимі за кімнатної температури протягом 1 год. Отримано нанокompозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}$ .

Кількість адсорбованого  $\text{Gd}^{3+}$  визначали спектрофотометричним вимірюванням концентрації контактувальних розчинів до і після адсорбції за допомогою 0,05%-го арсеназо-3 згідно з калібрувальним графіком.

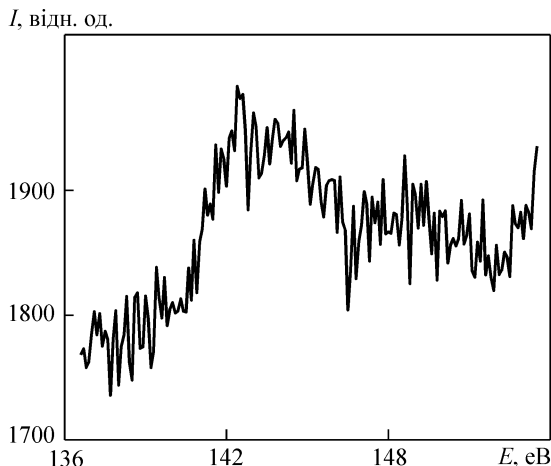
Для підтвердження достовірності результатів кількість адсорбованого  $\text{Gd}^{3+}$  також визначали з використанням високошвидкісного атомно-емісійного спектрометра «Shimadzu ICPE-9000» із індуктивно зв'язаною плазмою.

Згідно з розрахунками, адсорбція гадолінію за  $C_0 = 20$  мг/мл становила 474,5 мг/г за арсеназо-3 і 490,8 мг/г – за даними атомно-емісійної спектрометрії. Близькі значення отриманих двома незалежними один від одного методами кількостей гадолінію у складі нанокompозиту підтвердили їх вірогідність.

Структуру нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}$  досліджували методами ІЧ-Фур'є- та рентгенівської фотоелектронної спектроскопій. За даними ІЧ-Фур'є-спектрів, смуги поглинання вільних карбоксильних груп на поверхні нанокompозиту за 1550 та 1450  $\text{cm}^{-1}$  змістились відповідно на

$-10$  та  $-80 \text{ см}^{-1}$ , що свідчить про їх хімічне зв'язування з атомами гадолінію.

Згідно з даними рентгенівської фотоелектронної спектроскопії, максимум за  $142,26 \text{ eV}$  можна віднести до рівня  $4d_{5/2} \text{ Gd}$ , а максимум за  $148,5 \text{ eV}$  – до електронного рівня  $4d_{3/2}$  атома  $\text{Gd}$  (рис. 2.40). РФ-спектри  $S 2p$ -рівнів було розкладено на незалежні компоненти, причому їх ширина на половині висоти дорівнювала  $\Delta E = 0,9 \text{ eV}$  (рис. 2.40). Розкладання проводили методом Гаусса–Ньютона. Площу компонент визначали після розрахунку фону за методом Ширлі.



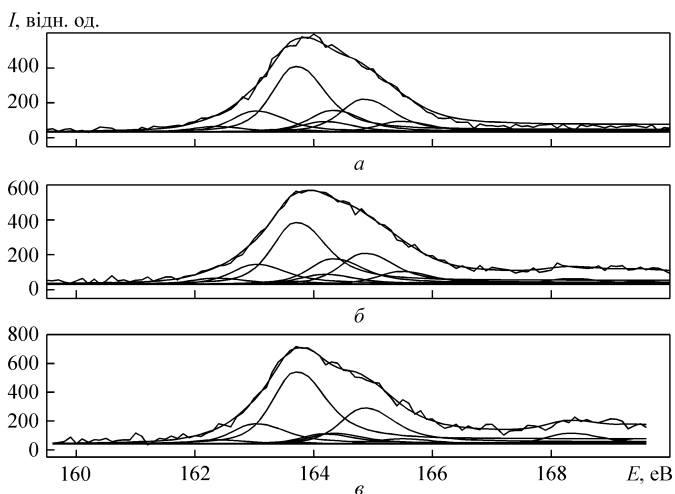
**Рис. 2.40.** Рентгенівські фотоелектронні спектри рівнів атома гадолінію  $4d_{5/2}$  та  $4d_{3/2}$

Результати розкладання на компоненти рентгенівських фотоелектронних спектрів (РФЕ-спектрів)  $S 2p$ -рівнів зразка порівняння ДМСК і наночастинок магнетиту з оболонками ДМСК та ДМСК/ $\text{Gd}$  представлено в табл. 2.16 і на рис. 2.41.

**Таблиця 2.16.** Енергії зв'язку ( $E$ , eV) максимумів компонент  $S 2p$ -спектрів та інтегральні інтенсивності компонент  $I$  (%)

$E_{\text{комп}}, S 2p, \text{ eV}$	ДМСК, $I, \%$	$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}, I, \%$	$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}, I, \%$
162,3	5,0	5,3	3,8
163,0	18,5	16,7	17,8
163,7	57,5	51,8	63,2
164,4	19,1	21,4	9,6
168,3	–	4,9	5,7





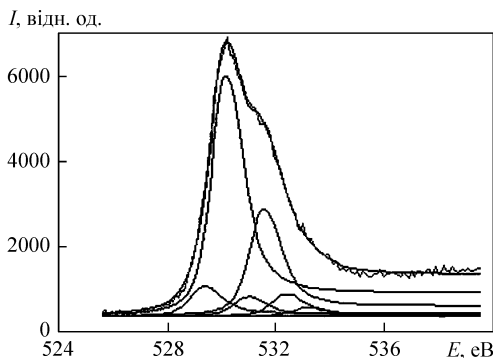
*a, б* – зразки порівняння ДМСК і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$  відповідно;  
*в* – наноккомпозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}$

**Рис. 2.41.** Рентгенівські фотоелектронні спектри S  $2p$ -рівнів

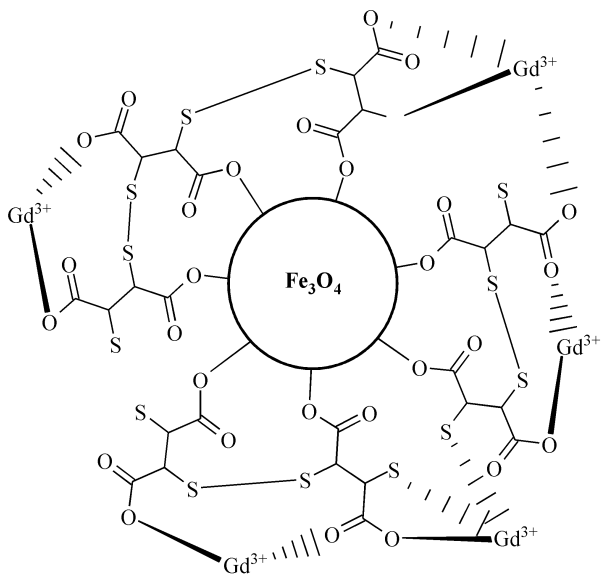
У спектрах вихідного ДМСК (рис. 2.41, *a*) видно сигнали від трьох нееквівалентних станів іонів сірки. Домінуюча компонента в ділянці  $E_{\text{зв}} = 163,7 \text{ eV}$  і відповідає фрагменту зв'язку H–S–C у ДМСК. За результатами розкладання на компоненти спектру поверхні модифікованого магнетиту бачимо (рис. 2.41, *б*), що кількість і співвідношення компонент порівняно з початковим зразком ДМСК (див. рис. 2.41, *a*) практично не змінюються. Це однозначно вказує на формування на поверхні магнетиту шару саме з ДМСК. Зменшення інтенсивності максимумів SH-груп з енергією зв'язку S  $2p_{3/2} = 164,40 \text{ eV}$  у зразку  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/\text{Gd}$  свідчить про часткове зв'язування  $\text{Gd}^{3+}$  з атомами сірки.

Характерний для всіх зразків ДМСК спектр O  $1s$ -рівня, який наведено на рис. 2.42, свідчить про наявність на поверхні досліджуваних високодисперсних частинок різних форм кисню в інтервалах: 528–530 eV – кисню в оксидній матриці; 531–532,5 eV – кисню у складі OH-груп; 533,3 eV – кисню в молекулі фізично зв'язаної води.

Отже, виходячи з цих даних, які підтверджують утворення зв'язків  $\text{Gd}^{3+}$  як із карбоксильними, так і з сульфогідрильними групами, пропонуємо схему поверхні наноккомпозиту (рис. 2.43).



**Рис. 2.42.** Рентгенівські фотоелектронні спектри O 1s-рівня нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДМСК/Gd



**Рис. 2.43.** Структура ДМСК/Gd<sup>3+</sup> на поверхні магнетиту

Встановлено функціональні групи на поверхні магнетиту, модифікованого ДМСК, що беруть участь в утворенні координаційних зв'язків. Як свідчать дані РФС та ІЧ-Фур'є-спектроскопії, комплексоутворення іонів Gd<sup>3+</sup> з поверхнею ДМСК відбувається як із карбоксильними, так і сульфогідрильними групами на поверхні нанокompозиту. Визначені незалежними методами величини адсорбції

мають близькі значення і становлять 474,5 мг/г для «Арсеназо III» і 490,8 мг/г за даними атомно-емісійної спектроскопії.

Синтезовані й досліджені магніточутливі нанокompозити належать до нового класу перспективних лікарських засобів – тераностиків (речовин комплексної терапевтичної та діагностичної дії). Прикладом їх застосування може бути візуалізація пухлин за допомогою МРТ-діагностики та НЗТ у режимі реального часу. Крім того, наявність суперпарамагнітного ядра (магнетит) та парамагнітного поверхневого шару ( $Gd^{3+}$ ) дає змогу використовувати такі нанокompозити як біомодальні  $T_1/T_2$ -контрастувальні агенти.

### **2.8.5. Синтез гадолінійвмісних нанокompозитів на основі магнетиту, модифікованого памідреновою кислотою**

З метою подальшого розвитку хімічних підходів до синтезу наноматеріалів з ієрархічною архітектурою розроблено нову методику [114] іммобілізації комплексу ДТПК–Gd на поверхні нанокompозиту  $Fe_3O_4$ /гідроксиапатит.

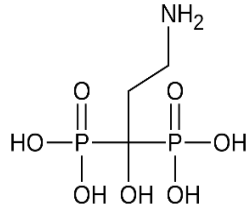
Вибір об'єкту модифікування, а саме нанокompозиту  $Fe_3O_4$ /ГАП, обумовлений притаманною гідроксиапатиту високою біологічною сумісністю, завдяки чому він став необхідним компонентом при створенні матеріалів для кісткової пластики в стоматології і ортопедії, ефективним матеріалом для очистки білків тощо. Такі композити з біосумісною і біоактивною модифікованою поверхнею, в поєднанні з магнітними властивостями магнетиту, можуть бути носіями лікарських та діагностичних засобів, мікробіологічних та сенсорних об'єктів тощо [62, 63].

Важливим етапом у розробці шляху модифікування є підбір спейсера, здатного зв'язуватись з гідроксиапатитом. Молекула-спейсер повинна відповідати таким критеріям:

- селективно зв'язуватися з поверхнею ГАП,
- мати вільні  $NH_2$ -групи після закріплення на поверхні ГА,
- характеризуватись біосумісністю.

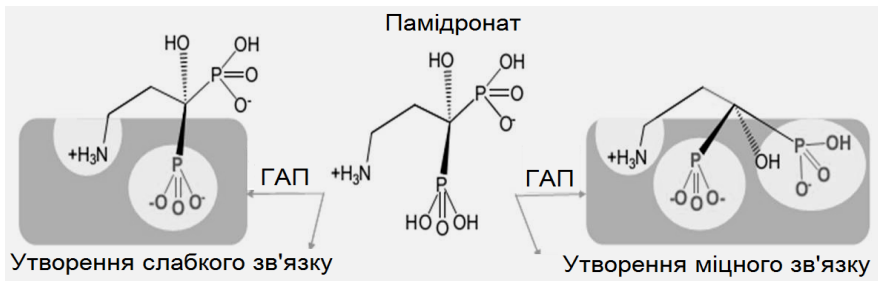
Усім трьом критеріям відповідає добре вивчений клас органічних сполук – амінобісфосфонати. Відомо, що амінобісфосфонати використовуються для профілактики та лікування остеопорозу, оскільки вони пригнічують резорбцію кісткової тканини.

Завдяки наявності фосфонових груп, препарати цього класу міцно зв'язуються з ГАП та чинять терапевтичний ефект [115]. Для досліджень була обрана одна з найпростіших і комерційно доступних сполук цього класу – памідренова кислота (ПК):



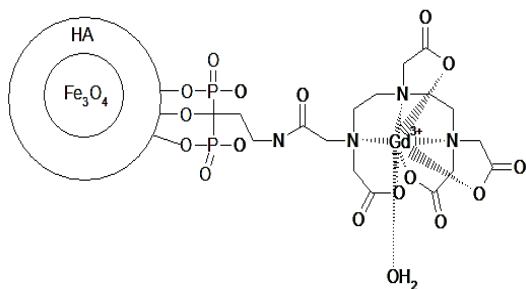
Адсорбція памідронату на поверхні гідроксиапатиту відбувається за рахунок утворення водневих зв'язків між протонами аміногруп і гідроксильних груп на поверхні та координування атома кальцію і фосфатних груп. Тому, у памідронату спостерігається висока спорідненість і міцний зв'язок із поверхнею гідроксиапатиту і отриманий нанокompозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ПК}$  може бути надійною основою для подальшого закріплення необхідних лігандів.

Схематично модель поверхні модифікованого памідроновою кислотою гідроксиапатиту наведено на рис. 2.44.



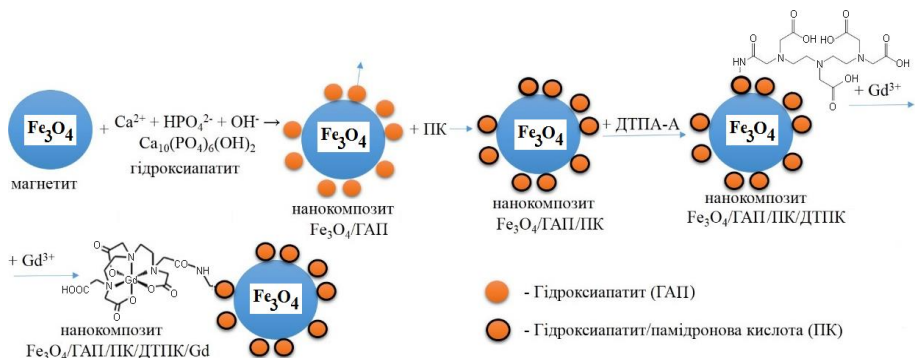
**Рис. 2.44.** Модель поверхні гідроксиапатиту, модифікованого памідроновою кислотою

Внаслідок реакції між групами  $-\text{NH}_2$  памідронової кислоти та ангідридом ДТПК одержували нанокompозит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ПК}/\text{ДТПК}$ , а в подальшому вільні карбоксильні групи на поверхні нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ПК}/\text{ДТПК}$  утворювали міцні комплекси з йонами гадолінію з утворенням нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ПК}/\text{ДТПК}/\text{Gd}^{3+}$  (рис. 2.45).



**Рис. 2.45.** Схема нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ПК}/\text{ДТПК}/\text{Gd}^{3+}$

Загальну схему утворення нанокompозиту наведено на рис. 2.46.



**Рис. 2.46.** Схема утворення нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ПК}/\text{ДТПК}/\text{Gd}^{3+}$

Проведено дослідження біосумісності нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ПК}/\text{ДТПК}/\text{Gd}^{3+}$ . Біосумісність оцінювали за впливом нанокompозиту на життєздатність клітин хлібпекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Життєздатність клітин визначали цитохімічним методом [116, 117]. Експериментальні результати свідчать про високу біосумісність клітин дріжджів з нанокompозитом  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ПК}/\text{ДТПК}/\text{Gd}^{3+}$ . Після 5 діб витримки життєздатність дріжджів у дослідних суспензіях знаходилась на рівні 98 %.

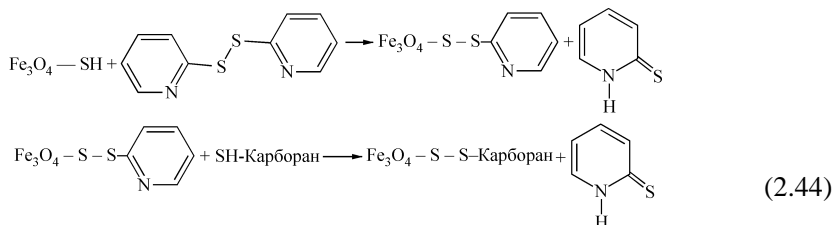
Структуру нанокompозиту досліджено комплексом фізико-хімічних методів на всіх стадіях його синтезу. Синтезований нанокompозит може бути перспективним для використання у нейтронозахопній терапії, мультимодальної МРТ-діагностики та у їх комбінаціях як засіб для цільової доставки в органи-мішені, накопичення та утримання в організмі за допомогою зовнішнього магнітного поля.

Одержані дані можуть бути використані для створення новітніх магніточутливих нанокompatитів з функціями медико-біологічних нанороботів – направленої доставки, розпізнавання мікробіологічних об'єктів, комплексної терапевтичної та діагностичної дії.

### 2.8.6. Нанокompatити на основі хімічно модифікованого карборанами функціоналізованого магнетиту

Актуальним напрямком створення нанокompatитів для НЗТ є іммобілізація боровмісних сполук (зокрема, карборанів) на поверхні модифікованих біосумісним покриттям із необхідними функціональними групами магніточутливих нанокompatитів.

Хімічне конструювання нанокompatитів проводили в два етапи:

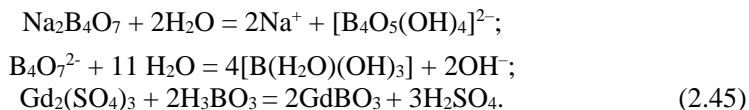


На першому етапі здійснювалась реакція тіолдисульфідного обміну сульфогідроловмісної поверхні магнетиту з дипіридилдисульфідом з утворенням піридилсульфідної поверхні. Відхідна група – піридин-2-тіон не вступала в реакції з поверхнею наночастинок. На другому етапі піридилсульфідний залишок на поверхні обмінювався з тіоловмісною молекулою в розчині, а саме з орто- і тіокарбораном [55, 109, 113].

Використання ДМСК для формування капсули магніточутливих частинок вирішує проблему стабільності колоїдної системи у водному середовищі та біосумісності матеріалу й уможливорює іммобілізацію необхідних сполук через тіольні та карбоксильні функціональні групи поверхні.

### 2.8.7. Синтез комбінованих боро- і гадолінійвмісних нанокompatитів

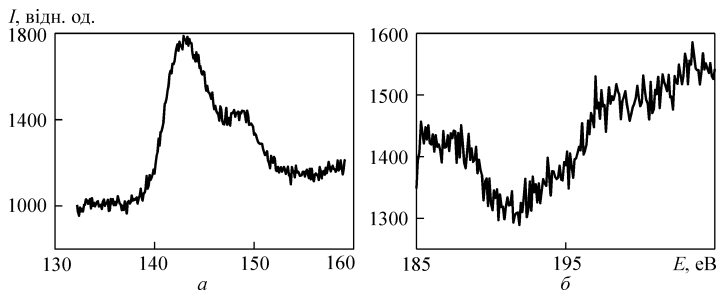
Використання бору є ефективним у НЗТ, а його наявність у складі нейтронозахопного агента одночасно з гадолінієм є додатковим активатором процесу цієї терапії. Під час синтезу комбінованого В-Gd-вмісного препарату хімічна реакція відбувається за схемою:



При розчиненні тетраборату натрію у воді відбувається дисоціація солі з утворенням гідратованих аніонів  $[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4]^{2-}$ . Гідратовані тетраборат-іони мають складну будову. Два з чотирьох атомів бору в них знаходяться у тетраедричному оточенні ( $sp^3$ -гібридизація атомних орбіталей), інші два – у плоскотрикутному ( $sp^2$ -гібридизація). За подальшої взаємодії з водою цей складний аніон перетворюється на чотири молекули  $\text{B}(\text{OH})_3$ .

Магніточутливі Fe–B–Gd-вмісні нанокompозити  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GdBO}_3$  отримували шляхом осадження борату гадолінію на поверхні магнетиту.

РФЕ-спектри  $4d$ -рівня Gd для зразків  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GdBO}_3$  наведено на рис. 2.47, а. Максимуми при 143,2 та 148,9 Ев належать відповідно внутрішнім  $4d_{5/2}$  і  $4d_{3/2}$  рівням атомів гадолінію. У РФЕ-спектрах В  $1s$ -рівня (див. рис. 2.47, б) інтенсивність сигналу бору невисока і дає змогу ідентифікувати його наявність, однак унеможливило визначення хімічного стану атома.



**Рис. 2.47.** Рентгенівські фотоелектронні спектри Gd  $4d$ - (а) та В  $1s$ - (б) рівнів композитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GdBO}_3$

Як підсумок синтезу, у вигляді аморфної фази утворюється борат гадолінію. З метою надання йому достатнього для визначення методом РФА ступеня кристалічності зразки чистого  $\text{GdBO}_3$  були відпалені за  $950^\circ\text{C}$  протягом 6 годин. Після відпалювання у зразку ідентифіковано основну фазу  $\text{GdBO}_3$  («JCPDS 13-0483»).

Застосований метод синтезу нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GdBO}_3$  може бути перспективним у контексті створення нанорозмірного неорганічного скінтілятора на поверхні B–Gd-вмісного магніточутливого носія.

Як відомо, унікальні властивості боратних матеріалів на сьогодні забезпечили їх різноманітне застосування, адже їм притаманні широка заборонена зона, прозорість у вакуумній ультрафіолетовій ділянці спектра, винятково високі оптичні пороги ушкодження тощо. При цьому серед боратних люмінофорів одним із найліпших є активований європієм ітрійгадолінієвий борат (Y,Gd)  $\text{BO}_3:\text{Eu}^{3+}$ , який використовують для отримання первинного зображення червоного кольору в плазмових дисплеях, а в люмінофорах типу  $\text{GdBO}_3:\text{Tb}^{3+}$  і  $\text{GdBO}_3:\text{Yb}^{3+}$  унаслідок використання  $\text{Ce}^{3+}$  як кодопанта можливе досягнення рекордних значень квантового виходу [118].

## 2.9. Адсорбційні властивості магніточутливих наноструктур

У роботі [119] проаналізовано роботи в галузях синтезу і дослідження властивостей магніточутливих адсорбентів важких металів, білків, протипухлинних препаратів, що дають змогу оцінити сучасний стан, проблеми та перспективи розвитку вищезазначеного актуального науково-технічного напрямку. Основну увагу приділено отриманню адсорбентів на основі наноматеріалів і нанокompatитів, хімічному модифікуванню і функціоналізації їх поверхні, опису застосувань і характеристик, можливості використання сучасних фізико-хімічних підходів до синтезу новітніх сорбційних матеріалів.

Нижче наведено основні результати досліджень, здійснених задля реалізації концепції хімічного конструювання магніточутливих нанокompatитів із багаторівневою ієрархічною архітектурою та функціями (у частині, що стосується адсорбційних властивостей) медико-біологічних нанороботів.

Як відомо, явище адсорбції є основою багатьох способів розподілу речовин, дія яких базується на вибірному концентруванні компонентів газової або рідкої фаз на поверхні твердого тіла-адсорбенту [120]. Цей метод дієвий у багатьох випадках, особливо коли інші розподільні технології (наприклад, із застосуванням перегонки, абсорбційних систем або мембранних технологій) є неефективними чи економічно недоцільними. І саме тому завдання з удосконалення відомих і вивчення нових адсорбційних процесів набуває дедалі важливішого значення при створенні сучасних інноваційних технологій, вирішенні проблем захисту довкілля тощо. У цьому зв'язку відкриваються й нові можливості для використання магніточутливих нанокompatитів.

Розвиток промислових технологій, як і медицини, біології та біотехнології, стимулює пошук і впровадження у практику виробництва також нових сорбентів і сорбційних процесів. Так, використання сорбентів



із магнітними властивостями істотно полегшує завдання з розподілу та збирання речовин і мікробіологічних об'єктів [121, 122]. Застосування нанотехнологій, модифікування і функціоналізація поверхні сорбентів дасть змогу пристосувати їх до експлуатації в різних фізичних, хімічних і біологічних умовах, керувати селективністю сорбції [3–7, 14–15, 123–125].

В останні роки з'явилося багато публікацій і, відповідно, цікавих підходів, спрямованих на створення нових ефективних сорбційних матеріалів широкого функціонального призначення, що характеризуються унікальними властивостями [119]. Однак, як свідчать результати огляду наукової та патентної літератури, актуальним завданням залишається створення ефективних сорбентів іонів платини, зокрема з рідких середовищ. Як відомо, платина – один із найдорожчих металів, тож її збір і концентрування з технологічних відходів економічно вигідні.

Одним із актуальних напрямів використання сполук платини є виготовлення медичних препаратів цитотоксичної дії, що застосовуються у багатьох схемах сучасної онкотерапії. На сьогодні якнайширшого застосування в онкології набули протипухлинні засоби на основі *цис*-дихлордіамінплатини: цисплатин та його аналоги, які серійно випускаються в різних країнах у вигляді розчинів і ліофілізованих форм, причому діючою речовиною в них є сіль Пейроне,  $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$  та, власне, *цис*-дихлордіамінплатину(II).

Важливо зазначити, що побічними ефектами терапії препаратами на цій основі є виникнення токсико-алергічних реакцій організму. Саме тому пошук шляхів адсорбційного вилучення іонів платини з метою детоксикації організму й утилізації лікарських засобів, термін придатності яких вичерпано, є особливо актуальним як у науковому, так і прикладному аспектах.

### **2.9.1. Адсорбція комплексів *цис*-дихлордіамінплатини нанокompозитами $Fe_3O_4$ /ДМСК, $Fe_3O_4$ /ГАП, $Fe_3O_4$ /γ-АПС, $Fe_3O_4$ /ПАА**

Було також проведено авторські дослідження адсорбції комплексів *цис*-дихлордіамінплатини на поверхнях нанорозмірного магнетиту й нанокompозитів із такими варіантами складу:  $Fe_3O_4$ /ДМСК;  $Fe_3O_4$ /ГАП;  $Fe_3O_4$ /γ-АПС;  $Fe_3O_4$ /ПАА.

Нашими завданнями були синтез нанорозмірного монодоменого магнетиту, хімічне модифікування його поверхні, дослідження адсорбційних властивостей магнетиту і нанокompозитів із різною хімічною природою поверхні щодо комплексів платини.

До особливостей монодоменого стану магнітних частинок належать однорідність намагніченості за будь-яких значень напруженості і

напрянків поля  $H$ , можливість існування не лише у феро- і феримагнітних сплавах та сполуках – твердих тілах, а й у рідинах (суспензіях), які отримують диспергуванням відповідних монодомених частинок у рідких середовищах (детальніше див. нижче у цьому розділі). Для намагнічування (до рівня насичення) зразків суспензій монодомених феромагнітних частинок, які розподілені у діамагнітних матрицях, потрібні поля значно меншої напруженості, ніж у випадку багатодомених. Створення у таких системах магнітної текстури, за якої осі легкої намагніченості частинок орієнтовані в одному напрямку (вісь текстури), спричинює збільшення як, власне, намагніченості, так і коерцитивної сили (конкретні методики синтезу, структура, властивості й дані стосовно функціональних біосумісності та груп поверхні досліджених наноструктур тощо було висвітлено вище).

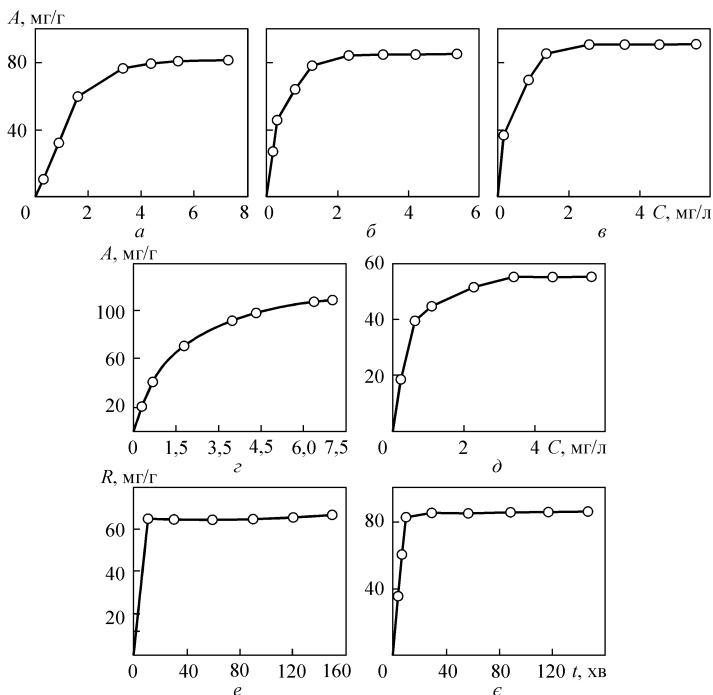
Адсорбцію на поверхні нанорозмірного магнетиту й нанокompatитів таких складів, як  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ , здійснювали з розчинів *цис*-дихлордіамінплатини у фізіологічному розчині. Адсорбційну ємність наноструктур і концентрації розчинів розраховували за вмістом  $\text{Pt}^{2+}$ -іонів.

Розчини *цис*-дихлордіамінплатини готували у діапазоні концентрацій  $\text{Pt}^{2+}$  від 10 до 200 мг/л. Адсорбцію здійснювали у динамічному режимі за pH 7,1 та кімнатної температури. До 0,1 г сорбенту доливали 0,03 л розчину *цис*-дихлордіамінплатини і струшували протягом 3 год на шейкері.

Адсорбційну ємність  $A$  на поверхнях вихідного й модифікованого магнетиту визначали вимірюванням концентрації іонів  $\text{Pt}^{2+}$  у розчинах до і після адсорбції із застосуванням атомно-абсорбційного аналізу з використанням спектрофотометра «С-115 М» у полум'яній суміші ацетилен–повітря. Вимірювання проводили за довжини хвилі 265,7 нм. Коефіцієнти розподілу  $E$  (л/г) іонів  $\text{Pt}^{2+}$  між поверхнею нанокompatиту й розчином розраховували за формулою:  $E = A/C_p$ . Ступінь вилучення  $R$  (%) =  $[(C_0 - C_p)/C_0]100$ .

Отримані результати (рис. 3.48) свідчили про залежність адсорбційних властивостей синтезованих зразків від хімічної природи їх поверхні. У цілому з експериментальних даних видно, що підвищення рівноважної концентрації останньої спричинює адсорбційне насичення моношару поверхні адсорбентів (рис. 2.48, *a-ε*). Така форма ізотерм може бути описана рівнянням Ленгмюра, яке справедливе для адсорбентів з енергетично еквівалентними адсорбційними центрами.

Слід зазначити й доволі істотну адсорбційну активність нанорозмірного немодифікованого магнетиту (так, для  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  за 298 К  $A_{\text{max}} = 80,1$  мг/г (рис. 2.48, *a*), ступінь вилучення – 66,2 %).



**Рис. 2.48.** Ізотерми адсорбції комплексів *цис*-дихлордіамінплатини нанорозмірними нанокомпозитами  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ПАА}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  та кінетика вилучення комплексів монодоменим  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  і нанокомпозитом  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$

Модифікування поверхні магнетиту ДМСК,  $\gamma$ -АПС, ПАА та ГАП по-різному змінює його адсорбційні показники стосовно комплексів *цис*-дихлордіамінплатини. Так, поява на поверхні  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  тіольних функціональних груп після його модифікування мезо-2,3-димеркаптосукциновою кислотою збільшує адсорбційну ємність магнетиту. Для  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$   $A_{\text{max}} = 83,4$  мг/г (рис. 2.48, б), ступінь вилучення досягає 85,4%. Саме ці функціональні групи підвищують рівень іммобілізації *цис*-дихлордіамінплатини на поверхні композиту.

Утворення на поверхні  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  активних  $\text{NH}_2$ -груп у результаті його модифікування  $\gamma$ -АПС спричинює зростання адсорбційної ємності магніточутливих нанокомпозитів (рис. 2.48, в). Отримане з відповідної ізотерми адсорбції для композиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-АПС}$  значення  $A_{\text{max}}$  за 298 К становило 84 мг/г (за ступеня вилучення 93,8%).

Ще більша інтенсивність адсорбції *цис*-дихлордіамінплатини спостерігалась на поверхні нанокompatитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА. Отримане з відповідної ізотерми адсорбції для композиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА значення  $A_{\max}$  становило 109,5 мг/г за ступеня вилучення 99,9% (рис. 2.48, з).

Наведені експериментальні дані свідчать про поліпшення адсорбційних показників магнетиту після утворення на його поверхні (внаслідок модифікування) тіольних та аміногруп.

Модифікування магнетиту ГАП (на відміну від ДМСК,  $\gamma$ -АПС та ПАА) зменшує адсорбційну активність нанокompatитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП відносно комплексів *цис*-дихлордіамінплатини (рис. 2.48, д). Як свідчать експериментальні дані, адсорбція комплексів зменшується до  $A_{\max} = 54$  мг/г за ступеня вилучення 64,8%. Можливо, це відбувається внаслідок зменшення (порівняно з поверхнею вихідного магнетиту) кількості гідроксильних груп на поверхні нанокompatиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП.

Кінетичні дослідження адсорбційного вилучення комплексів *цис*-дихлордіамінплатини нанорозмірним Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> та нанокompatитами Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДМСК (рис. 2.48, е, є), Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ $\gamma$ -АПС, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП, а також кінетика вилучення комплексів монодоменим Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> і нанокompatитом Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДМСК свідчать про те, що відповідні характеристики за якісним змістом є аналогічними й основна частина *цис*-дихлордіамінплатини адсорбується вже за перші 10–30 хв. У табл. 2.17 наведено значення адсорбційної ємності наноструктур ( $A$ , мг/г; за катіонами Pt<sup>2+</sup>) з різною хімічною природою поверхні, а також коефіцієнти розподілу ( $E$ , л/г) та ступінь вилучення ( $R$ , %) за максимальної концентрації вихідного розчину  $C_0 = 200$  мг/л й маси наважки 0,1 г. Видно, що кожна поверхня нанокompatиту дає різні значення адсорбції та коефіцієнти розподілу  $E$ .

**Таблиця 2.17.** Адсорбція *цис*-дихлордіамінплатини наноструктурами з різною хімічною природою поверхні

Тип наноструктури	Адсорбційна ємність $A$ , мг/г	Коефіцієнт розподілу $E$ , л/г	Ступінь вилучення $R$ , %
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	80,10	2,16	66,20
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ДМСК	83,40	4,77	85,40
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> / $\gamma$ -АПС	84,00	12,92	93,80
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ПАА	109,5	16,2	99,90
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ГАП	54,00	1,08	64,80

Так, у разі модифікування магнетиту ДМСК, АПС та ПАА коефіцієнти розподілу істотно перевищують відповідні значення як для вихідного Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, так і для модифікованого ГАП й відображають зміщення

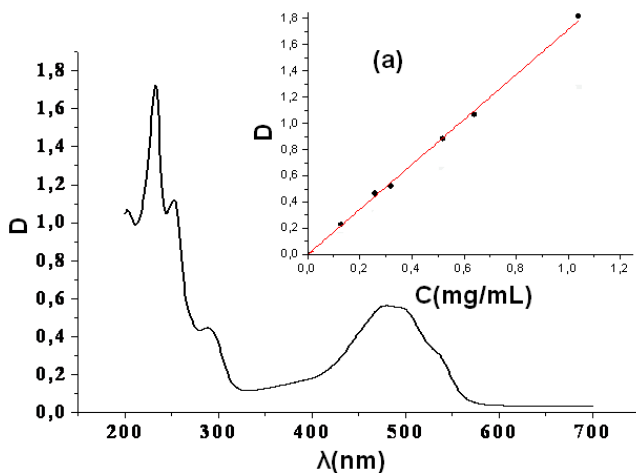
рівноваги в бік іммобілізації речовини на поверхні, що може свідчити про активну участь введених функціональних тіольних та аміногруп у процесах адсорбції комплексів *цис*-дихлордіаміноплатини. Найліпші адсорбційні параметри спостерігались у нанокompозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА та Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/γ-АПС. Можливо, це пов'язано зі здатністю аміногруп до утворення комплексів з іонами платини. Як відомо, наявність гідроксильних груп на поверхні наноструктур може спричинити іонообмінний механізм адсорбції, тоді як поверхневі аміногрупи здатні до комплексоутворення [126]. При цьому найвищі параметри адсорбції зафіксовано на композитах Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПАА, що може бути зумовлено наявністю характерної для обраного способу полімеризації об'ємної пористої структури поліакриламідного покриття.

У зв'язку з цим слід зазначити, що адсорбцію саме комплексів *цис*-дихлордіаміноплатини на поверхні синтезованих наноструктур підтверджено експериментально спектральними методами та дослідженнями цитотоксичності адсорбованої речовини на клітинних лініях [127]. Наведені результати свідчать про перспективність використання нанорозмірного магнетиту і нанокompозитів на його основі для створення магніточутливих адсорбентів *цис*-дихлордіаміноплатини, зокрема, медикобіологічного призначення (безпосередньо дослідженням адсорбції важких металів та біологічних молекул на поверхні магніточутливих наноструктур із різною поверхневою природою на основі магнетиту присвячено відповідно праці [128, 129]).

### **2.9.2. Адсорбція доксорубіцину нанокompозитом магнетит/гідроксиапатит**

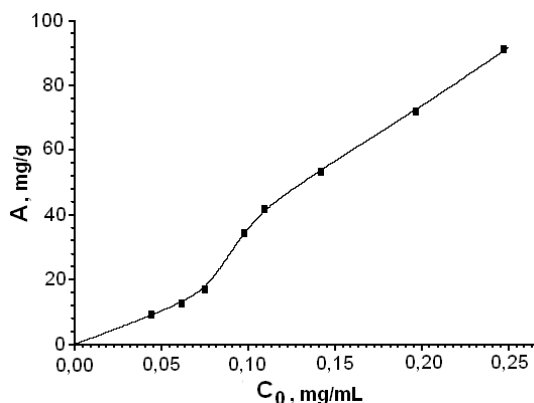
Адсорбцію доксорубіцину нанокompозитом магнетит/гідроксиапатит досліджено у роботі [130]. Доксорубіцин (ДР) – протипухлинний антибіотик антрациклінового ряду, широко використовується в сучасній онкотерапії. Механізм дії полягає в взаємодії з ДНК, утворенні вільних радикалів і прямому впливі на мембрани клітин з придушенням синтезу нуклеїнових кислот. Характеризується вираженою антипроліферативною дією. Вимірний у середовищі фізіологічної рідини спектр поглинання ДР наведено на рис. 2.49.

Спектр має декілька максимумів: 204, 233, 254, 290, 480 см<sup>-1</sup>, кут нахилу лінії калібрувального графіка для доксорубіцину в середовищі *ФР* був оптимальним для довжини хвилі  $\lambda = 480$  нм (рис. 2.49, *a*), на якій здійснювали кількісні вимірювання концентрації доксорубіцину.



**Рис. 2.49.** Спектр поглинання доксорубіцину у середовищі ФР

Дослідження ізотерми адсорбції ДР на поверхні нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  проводили в діапазоні рівноважних концентрацій  $C_0 = 0,1 - 1,04$  мг/мл. Отримані авторами експериментальні результати (рис. 2.50) засвідчили, що зростання рівноважної концентрації ДР не призводить до адсорбційного насичення поверхні адсорбенту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$ .



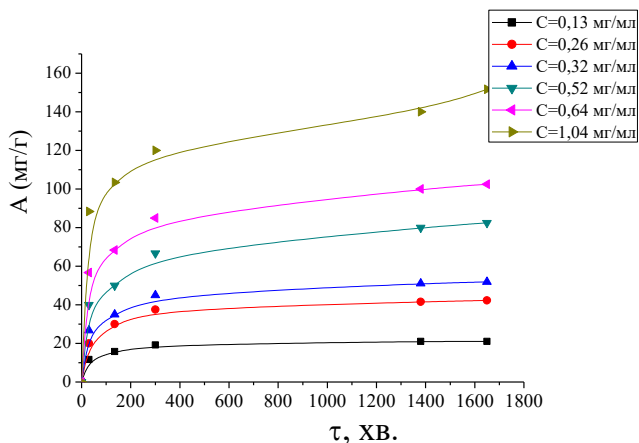
**Рис. 2.50.** Ізотерма адсорбції доксорубіцину на поверхні нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$

Увігнутість (S-подібність) початкової ділянки ізотерми відносно осі концентрацій та відсутність насичення в дослідженому інтервалі рівноважних концентрацій можуть бути пов'язані з полімолекулярним характером адсорбції і незначною пористістю поверхні нанокompозиту.

Крім того, S-подібність ізотерми може бути викликана, певною мірою, сумісною адсорбцією хлориду натрію, оскільки адсорбція ДР здійснювалась з фізіологічного розчину.

Коефіцієнт розподілу ( $E$ , мл/г) доксорубіцину між поверхнею нанокompозиту та розчином становив 366,8 мл/г при  $A = 91,7$  мг/г.

Дослідженнями ж адсорбції ДР на поверхні нанокompозиту  $Fe_3O_4$ /ГАП залежно від часу (рис. 2.51) встановлено, що протягом перших двох годин адсорбується 60–70% речовини, а протягом доби адсорбція проходить майже повністю (93–97%), причому це відноситься до всього діапазону досліджених концентрацій ДР.



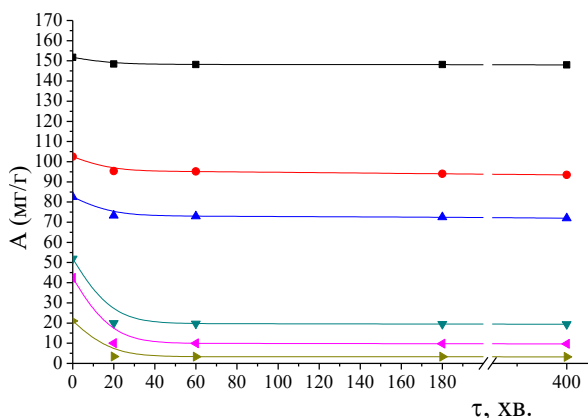
**Рис. 2.51.** Залежність від часу адсорбції доксорубіцину на поверхні нанокompозиту  $Fe_3O_4$ /ГАП у «ФР» (справа у вставці наведено вихідні концентрації розчинів ДР)

Залежність ступеня вилучення ( $R$ , %) доксорубіцину від концентрації розчинів та часу адсорбції наведено у табл. 2.18.

Результати дослідження залежності десорбції ( $A_D$ , мг/г) від часу та відсоток десорбованої речовини ( $A_D$ , %) наведено на рис. 2.52 та у табл. 2.19. Зокрема, експериментальні залежності десорбції від часу доводять, що вивільнення доксорубіцину зменшується зі зростанням його кількості на поверхні нанокompозиту. За кількості адсорбованого доксорубіцину 20–50 мг/г, десорбуються його 80–60% відповідно, тоді як за наявності великих кількостей адсорбованого ДР (100–150 мг/г) вивільнення майже не відбувається.

**Таблиця 2.18.** Ступінь вилучення ДР ( $R$ , %) на поверхні нанокompозиту  $Fe_3O_4/ГАП$  залежно від концентрації розчинів та часу адсорбції

$C_0$ , мг/мл	$R$ , %				
	30 хв	135 хв	300 хв	1380 хв	1620 хв
0,13	53,8	73,1	88,5	97,0	97,0
0,26	46,2	69,2	86,5	95,8	97,7
0,32	50,0	65,6	84,4	95,6	97,2
0,52	46,2	57,7	77,0	92,3	95,2
0,64	53,1	64,0	79,7	93,8	96,1
1,04	49,0	59,6	69,2	80,8	87,5



**Рис. 2.52.** Залежність від часу  $\tau$  десорбції доксорубіцину  $A_D$  з поверхні нанокompозиту  $Fe_3O_4/ГАП/ДР$  у середовищі  $\Phi P$  за різних початкових кількостей адсорбційно-імобілізованого ДР

**Таблиця 2.19.** Залежність від часу десорбції доксорубіцину  $A_{D\tau}$ , %, з поверхні нанокompозиту  $Fe_3O_4/ГАП/ДР$  у середовищі  $\Phi P$  за різних початкових кількостей  $A$  адсорбційно-імобілізованого ДР

$A$ , мг/г	$D$ , %			
	20 хв	60 хв	180 хв	400 хв
21,0	83,8	84,3	84,3	84,8
42,3	76,4	76,6	76,8	77,0
51,9	61,5	62,1	62,4	62,6
82,5	11,6	11,5	12,1	12,7
102,5	7,0	6,1	8,3	8,7
151,7	2,2	2,3	2,3	2,4



Подібна ситуація може бути пояснена особливостями взаємодії та виникненням досить сильних зв'язків між певними функціональними групами поверхні ГАП та молекул доксорубіцину [131]: гідроксильні та карбонатні групи поверхні нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  можуть утворювати міцний водневий зв'язок із гідроксильними та аміногрупами ДР, а за десорбції у зразках із меншою концентрацією доксорубіцину лікарський препарат десорбується швидше через часткову дисоціацію водневих зв'язків.

Було встановлено, що основна кількість ДР десорбується протягом перших 20 хвилин для всіх досліджених концентрацій.

Таким чином, завдяки вивченню процесів адсорбції доксорубіцину на поверхні нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  із розчину у фізіологічній рідині нами встановлено, що зростання рівноважної концентрації ДР у діапазоні  $C_0 = 0,1\text{--}1,04$  мг/мл не призводить до адсорбційного насичення поверхні адсорбенту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}$  та виявлено, що вивільнення ДР у фізіологічний розчин зменшується зі зростанням його кількості на поверхні цього нанокompозиту.

Отримані результати можуть бути використані при розробках як нових форм магнітокерованих лікарських засобів спрямованої доставки, так і адсорбентів на основі нанокompозитів із багаторівневою наноархітектурою.

### **2.9.3. Адсорбція катіонів $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ та $\text{Pb}^{2+}$ нанокompозитами на основі однодоменного магнетиту**

Як свідчать літературні дані [119], катіони важких металів залишаються одними з найнебезпечніших токсичних забруднювачів, а проблема їх вилучення не втрачає актуальності та потребує подальших досліджень. Саме тому метою висвітлених нижче наших досліджень було визначено синтез та вивчення властивостей магніточутливих нанокompозитів медичного, екологічного та технічного використання у частині адсорбції ними іонів важких металів за умов значної зміни рН середовища та наявності іонних сумішей різної хімічної природи [132].

Для модифікування поверхонь наночастинок магнетиту використовували покриття, здатні забезпечити біосумісність нанокompозитів із середовищем живого організму, і зокрема тетраетоксисилан, *n*-бутилортотитанат та ізопропілат алюмінію, а з метою дослідження адсорбційних характеристик поверхонь нанокompозитів синтезовано зразки  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$  і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ . При цьому синтез нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$  здійснювали методом адсорбційного модифікування поверхні, а  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$  – методом

хімічного модифікування поверхні магнетиту ізопропілатом алюмінію  $(C_3H_7O)_3Al$ .

Модифікування поверхонь синтезованих зразків також підтвердили методом інфрачервоної спектроскопії з Фур'є-накопиченням (спектрометр «Perkin Elmer», модель «1720X», діапазон  $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ ).

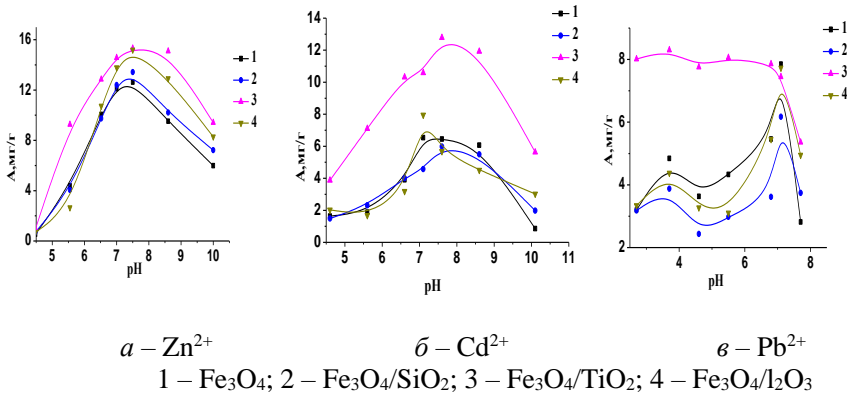
Адсорбцію  $A$  (мг/г) та ступінь вилучення  $R$  (%) на поверхнях вихідного та модифікованого магнетитів щодо катіонів визначали вимірюванням концентрацій іонів у розчинах до і після адсорбції із застосуванням атомно-абсорбційного методу (спектрофотометр «С-115 М», полум'яна суміш ацетилен-повітря).

Для побудови ізотерм використовували розчини солей  $ZnCl_2$ ,  $CdCl_2$  та  $Pb(NO_3)_2$  із концентраціями, мг/л:  $Zn^{2+} = 10\text{--}200$ ;  $Cd^{2+} = 2\text{--}250$ ;  $Pb^{2+} = 5\text{--}250$ . Адсорбцію здійснювали у динамічному режимі за кімнатної температури в ацетатно-аміачному буфері ( $g = 0,03\text{ г}$ ,  $V = 5\text{ мл}$ ).

Оцінювання біосумісності магнетиту та нанокompatитів  $Fe_3O_4/SiO_2$ ,  $Fe_3O_4/TiO_2$  і  $Fe_3O_4/Al_2O_3$  здійснювали за їх впливом на життєздатність клітин хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Життєздатність клітин визначали за динамічною методикою реєстрації  $CO_2$ , виділеного в процесі анаеробного дихання (бродиння) після взаємодії клітин із синтезованими наноструктурами, а також цитохімічним методом. Використовували водні суспензії клітин та наноматеріалів (наважка дріжджів – 1 г, концентрація кожного наноматеріалу – 28 мг/мл, час витримування – від 1 до 5 діб, температура –  $\sim 25\text{ }^\circ C$ ). Цитотоксична дія магнетиту спостерігалася за його граничної концентрації 0,01 мас.% та життєздатності клітин дріжджів на рівні 98–99%, а за вищих (0,05 мас.%) концентрацій магнетиту ця остання знижувалася до  $\sim 90\%$  – тоді як її зменшення у присутності нанокompatитів  $Fe_3O_4/SiO_2$ ,  $Fe_3O_4/TiO_2$  і  $Fe_3O_4/Al_2O_3$  в умовах експерименту не зафіксоване.

Встановлено також, що магнітні властивості синтезованих наноструктур визначаються суперпарамагнетизмом однодоменого магнетиту – ядра нанокompatиту, тоді як наявність оболонкових структур  $SiO_2$ ,  $TiO_2$  та  $Al_2O_3$  практично не впливає на магнітні властивості цього композиту.

Дослідження ж залежності від рН адсорбції катіонів на поверхнях синтезованих нанокompatитів здійснювали у динамічному режимі за кімнатної температури в ацетатно-аміачному буфері: рН-потенціометричні вимірювання проводили на приладі «I-160M» (результати наведено на рис. 2.53, а–в).



**Рис. 2.53.** Залежність від рН адсорбції катіонів металів на поверхнях синтезованих композитів

Максимальні значення адсорбції  $\text{Zn}^{2+}$  спостерігаються за  $\text{pH} = 7,0-7,6$ , тоді як на поверхні  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$  діапазон рН ширший і становить 7,0–9,0.

Для всіх поверхонь максимальна адсорбція іонів  $\text{Cd}^{2+}$  наявна за  $\text{pH} = 7,0-8,5$ , причому при зсуві рН у кислий або лужний бік спостерігається зменшення адсорбційної ємності, а поверхня композиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$  відзначається значною перевагою адсорбції щодо катіонів  $\text{Cd}^{2+}$ .

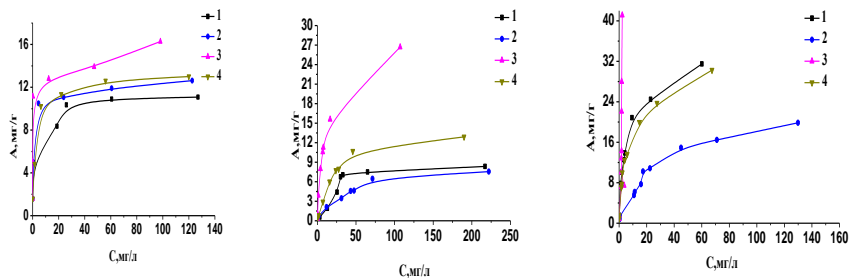
Максимальна адсорбція іонів  $\text{Pb}^{2+}$  для всіх поверхонь спостерігається за  $\text{pH} = 7,1$ , причому для поверхні  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$  характерні високі показники адсорбційної ємності у широкому діапазоні рН. Характерне ж збільшення адсорбційної ємності в діапазоні  $\text{pH} = 3-4$  властиве для адсорбції іонів свинцю, а зростання рН до рівня вище 7,5 призводить до утворення  $\text{Pb}(\text{OH})_2$ , який існує в розчині у вигляді колоїду (саме тому досліджувати адсорбцію іонів  $\text{Pb}^{2+}$  у діапазоні рН вище 7,5–8,0 недоцільно).

Кінетичні дослідження свідчать, що суттєва зміна швидкості насичення поверхні щодо катіонів  $\text{Zn}^{2+}$  спостерігається у композитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$ . Максимум ємності на модифікованих поверхнях досягається вже протягом перших 15 хвилин, тоді як насичення немодифікованого магнетиту досягається за 90–120 хв. Щодо катіонів  $\text{Cd}^{2+}$  адсорбція на поверхнях  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$  та  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  відбувається тривалий час, а поверхня  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$  насичується в інтервалі 90–120 хв.

Максимуми адсорбції катіонів  $\text{Pb}^{2+}$  досягаються за 15 хвилин (крім поверхонь композитів, модифікованих тетраетилортосилікатом (ТЕОС)).

Ізотерми адсорбції катіонів  $\text{Zn}^{2+}$  на поверхнях усіх композитів демонструють, що зростання рівноважної концентрації  $\text{Zn}^{2+}$ -іонів призводить до адсорбційного насичення адсорбентів. Така форма ізотерм

може бути описана рівнянням Ленгмюра, яке справедливе для адсорбентів з енергетично еквівалентними адсорбційними центрами (рис. 2.54, а).



а – Zn<sup>2+</sup>, pH = 7,4      б – Cd<sup>2+</sup>, pH = 7,5      в – Pb<sup>2+</sup>, pH = 7,0

1 – Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; 2 – Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>; 3 – Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub>; 4 – Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

**Рис. 2.54.** Ізотерми адсорбції катіонів металів на поверхнях КОМПЗИТІВ

Як бачимо з рис. 2.54, модифікування поверхні збільшує адсорбційну ємність. Так, у нанокompозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub> максимальна адсорбція  $A_{\max} = 16,3$  мг/г (без виходу на насичення в межах досліджуваних концентрацій). Також високі показники виявила поверхня композиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, де  $A_{\max}$  складає 13,0 мг/г, причому з виходом на насичення. На ізотермах адсорбції катіонів Cd<sup>2+</sup> спостерігається аналогічна тенденція, а найвищі показники адсорбційної ємності – на поверхні композиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub>:  $A_{\max}$  дорівнює 26,5 мг/г (без виходу на насичення в межах дослідних концентрацій). Ізотерми ж іонів Pb<sup>2+</sup> за цих концентрацій виявляють високі адсорбційні властивості немодифікованого магнетиту та поверхні нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub> (рис. 2.54, в, криві 1, 3).

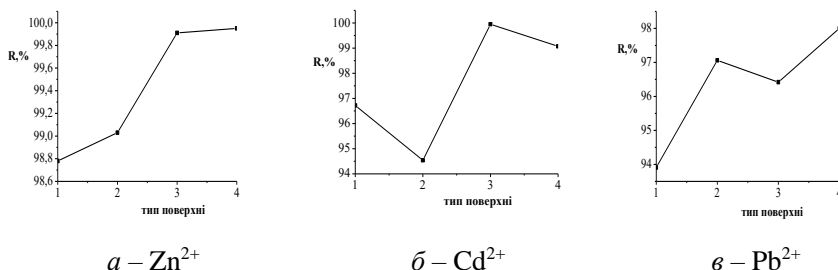
Високі адсорбційні показники поверхні Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub> щодо всіх дослідних катіонів можна поєднати з гідрофобними властивостями покриття. Їхні подібні між собою ізотерми відзначаються високою спорідненістю адсорбату з поверхнею адсорбенту. Вони спостерігаються за значної енергії адсорбції та в області низьких концентрацій можуть перетинатися з віссю ординат. З кривих ізотерм нами було обчислено значення адсорбції  $A$ , мг/г (за катіонами Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>) та ступінь вилучення ( $R$ , %) наноструктур із різною хімічною природою поверхні.

Розрахунки ступеня вилучення продемонстрували залежність природи поверхні від катіонів та концентрації розчинів. Так, у межах

концентрацій до 75 мг/л високий (95–99%) відсоток вилучення катіонів  $Zn^{2+}$  показують усі модифіковані поверхні, вилучення іонів  $Cd^{2+}$  із таким відсотком спостерігається тільки на поверхні композиту  $Fe_3O_4/TiO_2$ , а відсоток вилучення іонів  $Pb^{2+}$  дуже значний на всіх поверхнях навіть за високих концентрацій. Результати наших досліджень підтверджують вплив поверхні композиту на адсорбцію іонів металів, а найвищі показники притаманні адсорбенту  $Fe_3O_4/TiO_2$ .

Вивчення ж процесів десорбції катіонів із поверхонь нанокompозитів у дистильовану воду показало, що вивільнення катіонів  $Zn^{2+}$  проходить повільно і за тривалий час, із поверхні  $Fe_3O_4/TiO_2$  – це ~30% за 3 год, десорбція іонів  $Cd^{2+}$  практично не відбувається протягом години, а іони  $Pb^{2+}$  – зовсім не десорбуються. У свою чергу, адсорбційну активність поверхні кожного синтезованого композиту вивчали за розчином солей за одночасного вмісту іонів  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  і  $Cd^{2+}$ . Адсорбцію кожного катіону на поверхні композитів досліджували за концентрацій, що відповідають максимальним ступеню вилучення і показнику адсорбції.

На рис. 2.55, а, б, в показано залежність ступеню вилучення  $R$  від хімічної природи поверхонь композитів (проте у всіх випадках його значення перебувають у діапазоні 95–99%). Дослідження процесів адсорбції показало, що синтезовані адсорбенти мають високий (до 99%) ступінь вилучення іонів важких металів як за одиночного, так і спільного перебування в розчинах у межах концентрацій до 75 мг/л за умовами нашого експерименту ( $g = 0,05$  г,  $V = 5$  мл), але, водночас, конкуруючий вплив доданих іонів знижує  $R$  на деяких поверхнях до 94%.



а –  $Zn^{2+}$

б –  $Cd^{2+}$

в –  $Pb^{2+}$

1 –  $Fe_3O_4$ ; 2 –  $Fe_3O_4/SiO_2$ ; 3 –  $Fe_3O_4/TiO_2$ ; 4 –  $Fe_3O_4/I_2O_3$

**Рис. 2.55.** Залежність ступеня вилучення  $R$  (%) катіонів від хімічної природи поверхні композиту

У цілому результати досліджень підтверджують вплив поверхонь магніточутливих нанокompозитів на адсорбцію іонів важких металів, причому найвищі показники вилучення іонів за наявності конкуруючих

добавок притаманні поверхні нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$ . Одержані результати можуть бути використані при розробці адсорбентів медико-біологічного, технічного й екологічного призначень, і зокрема для вилучення катіонів  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  та  $\text{Pb}^{2+}$ .

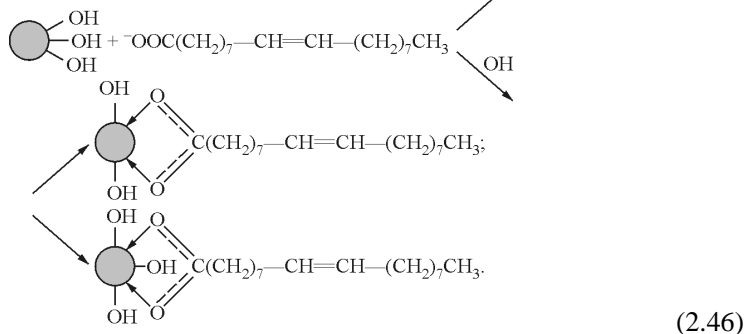
## 2.10. Нанорозмірний магнетит та нанокompозити на його основі у складі магнітних рідин

Нанорозмірний магнетит у складі магнітних рідин широко використовують у медицині (гіпертермія [133, 134], МРТ [135], спрямована доставка лікарських засобів [136, 137] тощо), причому дослідження властивостей магнітних рідин та їхніх дисперсних компонентів активно розвиваються й на сьогодні [138–140].

Як дисперсну фазу магнітних рідин застосовують частинки феро-або феримагнетиків, які є сильномагнітними речовинами і намагнічуються у порівняно слабких полях ( $H = 1 \dots 100 \text{ E}$ ). Для запобігання коагуляції частинок через вплив як ван-дер-ваальсових, так і магнітних (через наявність сильного зовнішнього поля) сил використовують поверхнево-активні речовини, які адсорбуються на поверхнях дисперсних частинок і утворюють захисну оболонку – структурно-механічний бар'єр. Стійкість магнітних рідин визначається розміром частинок  $d$ , намагніченістю, щільністю дисперсного наповнювача, температурою, в'язкістю, а також властивостями поверхнево-активних речовин. За оцінками *Фертмана*, *Розенцвейга* і *Шліоміса* [26, 141, 142], магнітна рідина, що містить стабілізовані шаром молекул олеїнової кислоти частинки магнетиту, є системою, стійкою щодо седиментації у полі сили тяжіння, а також магнітної і ван-дер-ваальсової агломерації частинок та їх осадження у неоднорідному полі зовнішнього магнітного джерела: наприклад, типового лабораторного постійного магніту ( $H = 8 \cdot 10^4 \text{ A/m}$ ) за температури 298 К та  $d < 10 \text{ нм}$ . Такі магнітні рідини не розшаровуються і зберігаються як колоїдні системи практично необмежений час.

У наших дослідженнях для виготовлення магнітних рідин як високодисперсний наповнювач використовувалися вищеписані наночастинки магнетиту й нанокompозити на його основі. Зокрема, ці останні характеризувалися структурою типу ядро–оболонка і містили модифікатор на поверхні  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  та лікарські засоби, цитостатики (цисплатин та доксорубіцин) або ж нейтронозахопні агенти, а як дисперсну фазу магнітних рідин застосували дистильовану воду, фізіологічний розчин та фосфатний буфер. Стабілізатором же поверхонь наночастинок і нанокompозитів слугував олеат натрію  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COONa}(\text{Ol.Na})$ . Згідно з нашою методикою, на 10 г

твердої магнітної фази витрачали 7,5 г олеату натрію, молекули якого зв'язувалися з атомами заліза через гідроксильну групу:



Площа, яку займають молекули Ol.Na, становить близько 0,36 нм<sup>2</sup> [143].

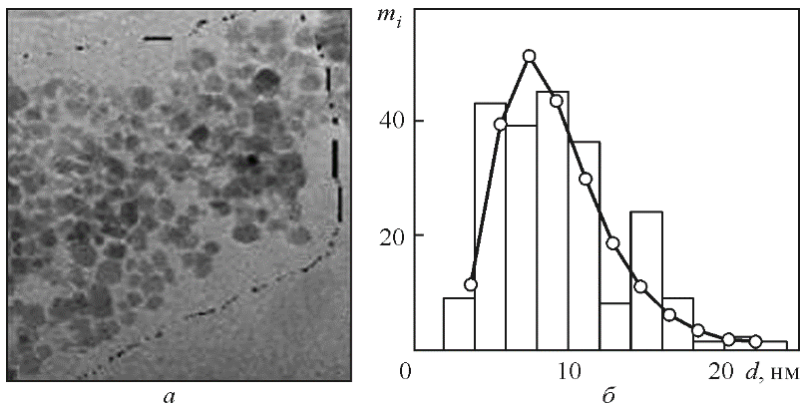
Синтезовані магнітні рідини очищували діалізом, використовуючи 3 л води. Розміри і форму частинок у зразках вивчали методом електронної мікроскопії на трансмісійному електронному мікроскопі «JEOL-2010». Методами ж рентгенофазового аналізу, рентгенівської фотоелектронної спектроскопії, просвітлювальної електронної мікроскопії й вібраційної магнітометрії дослідили залежність магнітних характеристик від архітектури нанокompозиту та іммобілізованих на ньому лікарських засобів.

### 2.10.1. Магнітні рідини на основі монодоменового магнетиту

При виготовленні магнітних рідин витримували оптимальне співвідношення масових часток магнетиту та Ol.Na – 1:0,75. Оскільки поверхнева концентрація олеату натрію у досліджуваному нами ансамблі (рис. 2.46, *a*) становила  $c_{\text{Ol.Na}}^{\text{mac}} = 0,23 \pm 0,06$ , то й співвідношення масових часток магнетиту і молекул Ol.Na поверхневого шару дорівнювало 1:(0,30±0,12).

Отже, олеат натрію у системі Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>–Ol.Na–H<sub>2</sub>O розподіляється так: дві його частини зв'язуються з поверхнями частинок магнетиту, а інші три – залишаються в об'ємі води. На рис. 2.46, *a* наведено TEM-зображення масиву частинок магнетиту, а на *b* – гістограму розподілу за розмірами *N* частинок, які знаходяться у виділеній ділянці з середньоарифметичним значенням розміру в ансамблі  $d_0 = 9,38$  нм і середньоквадратичним відхиленням від середнього розміру  $\sigma_d = 3,38$  нм.

При цьому крива логарифмічно нормального розподілу  $l_n$  має такі параметри: математичне очікування розміру  $M(d) = 9,38$  нм;  $\sigma_d = 3,38$  нм.



**Рис. 2.46.** ТЕМ-зображення масиву частинок магнетиту (*a*) та гістограма їх розподілу за розмірами і крива логарифмічно нормального розподілу (*б*)

Теоретичну частоту  $m_i$  наявності в ансамблі з таким розподілом частинок розміру, який належить  $i$ -му інтервалу і припадає на його середину, обчислювали за формулами:

$$m_i = Nhf(d_i); \quad (2.47)$$

$$f(d_i) = \frac{1}{d_i \sigma_{\ln d} \sqrt{2\pi}} e^{-[\ln d_i - M(\ln d)]^2 / 2\sigma_{\ln d}^2}, \quad (2.48)$$

де:  $h = (\ln d_{\max} - \ln d_{\min})/11$  – ширина інтервалу;  $M(\ln d)$  і  $\sigma_{\ln d}$  – відповідно, математичне очікування і середньоквадратичне відхилення логарифма розміру;  $N = 217$ .

У роботі [144] показано, що умова абсолютної монодоменності (однорідної намагніченості за всіх значень перемагнічувального поля) частинки магнетиту за температури 300 К справедлива, коли  $d < 50$  нм. Отже, частинки дослідженого ансамблю розмірами 3–23 нм є абсолютно монодоменними. На основі аналізу наявних у літературі даних щодо питомої намагніченості насичення  $\sigma_s$  монодисперсій магнетиту з різними діаметрами частинок нами отримано таку емпіричну залежність:

$$\sigma_s = a - \frac{b}{1 + e^{\left(\frac{d}{c} - 2,1\right)}}, \quad (2.49)$$

де сталі  $a$ ,  $b$  і  $c$  становлять, відповідно, 82,0 Гс·см<sup>3</sup>/г, 92,2 Гс·см<sup>3</sup>/г і 3 нм.



За цією залежністю можна обчислити  $\sigma_s$  частинки діаметром  $d$  (нм) у розмірному діапазоні 4–42 нм.

У свою чергу, характерний для магнітного моменту монодоменної частинки з однією анізотропією час теплових флуктуацій  $\tau_N$  визначали (за умови, що  $KV/k_B T \geq 1$ ) за формулою Ніеля [145]:

$$\tau_N = \tau_0 \exp(KV/k_B T), \quad (2.50)$$

де:  $\tau_0 = 10^{-9} \dots 10^{-13}$  с;  $K$  – густина енергії магнітної анізотропії;  $V$  – об'єм частинки;  $k_B$  – стала Больцмана;  $T$  – температура.

Встановлено, що час флуктуацій швидко зростає зі збільшенням об'єму частинки. Наприклад, за  $\tau_0 = 10^{-9}$  с,  $K = 1,4 \cdot 10^5$  ерг/см<sup>3</sup> (для магнетиту [130]) і  $T = 300$  К  $\tau_N$  дорівнює  $4,4 \cdot 10^{-9}$ ,  $2,0 \cdot 10^{-3}$  і  $10,0$  с для сферичних частинок із діаметрами, відповідно, 9,4, 20,0 і 23,4 нм.

Зі свого боку, температура блокування  $T_b$  відповідає умові  $t_{\text{вим}} = \tau_N$ , де  $t_{\text{вим}}$  – час вимірювання магнітних характеристик. Якщо  $t_{\text{вим}} = 10$  с, а  $\tau_0 = 10^{-9}$  с, то  $KV/k_B T \approx 23,0$  і  $T_b \approx KV/23 k_B$ . Так,  $T_b$  для дослідженого ансамблю частинок ( $d_0 = 9,38$  нм) становить 135–150 К за напруженості намагнічувального поля близько 100 Е, а частинки магнетиту з  $d > 23,4$  нм блокуються за  $\sim 300$  К і відповідають за гістерезис (рис. 3.46, а).

Рівноважна намагніченість таких ансамблів досягається за нієлівським механізмом релаксації магнітних моментів частинок.

З метою отримання справедливих для ансамблю однакових суперпарамагнітних частинок співвідношень користувалися класичним законом Ланжевена, виведеним для намагніченості ансамблю молекул парамагнітного газу [141]:

$$\frac{\bar{m}}{m} = \text{cth}\alpha - \alpha^{-1} \equiv L(\alpha), \quad (2.51)$$

де:  $\bar{m}$  – компонента середнього магнітного моменту частинки вздовж напрямку поля напруженістю  $H$ ;  $m$  – абсолютна величина магнітного моменту частинки;  $L(\alpha)$  – функція Ланжевена;  $\alpha = mH/(k_B T)$ .

Виходячи з цього, для монодисперсної колоїдної магнітної рідини:

$$\frac{\bar{m}}{m} = \frac{M(H)}{\phi M_d} = \frac{M(H)}{M_s} = L(\alpha); \quad \alpha = \frac{\pi}{6} \frac{M_d H d^3}{k_B T}, \quad (2.52)$$

де:  $M(H)$  – намагніченість магнітних рідин у полі  $H$ ;  $M_d$  і  $M_s$  – намагніченість насичення відповідно твердого магнетика і магнітної рідини;  $\phi$  – об'ємна частка твердої фракції.

У свою чергу, для полідисперсної колоїдної магнітної рідини на основі магнетиту [141]:

$$\frac{M(H)}{\varphi M_d} = \frac{\sum_i n_i (d_i - d_s)^3 L \left( \frac{M_d H}{k_B T} \frac{\pi}{6} (d_i - d_s)^3 \right)}{\sum_i n_i d_i^3}; \quad M(H) = n \bar{m}; \quad M_s = n m, \quad (2.53)$$

де:  $d_i$  – зовнішній діаметр частинки;  $d_i - d_s$  – діаметр магнітного ядра;  $n$  – кількість усіх частинок;  $n_i$  – кількість частинок  $i$ -го діаметра в одиночному об'ємі магнітної рідини;  $M_d = \rho_{\text{Fe}_3\text{O}_4} \sigma_{\text{Fe}_3\text{O}_4} \approx 5,24 \text{ г/см}^3 \approx 92,0 \text{ Гс} \cdot \text{см}^3/\text{Г} \approx 482,1 \text{ Гс}$ . Виявлено [141], що для узгодження експериментальної кривої намагнічування з теоретичною слід припустити, що частинки мають слабкомагнітний шар завтовшки  $d_s/2 = 0,83 \text{ нм}$  (стала ґратки магнетиту за 300 К становить 0,824 нм) – виникнення якого раніше вважали результатом хімічної взаємодії частинки зі стабілізуювальною поверхнево активною речовиною [142], однак за результатами вимірювань месбауерівських спектрів колоїдних частинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  його не зафіксовано [26].

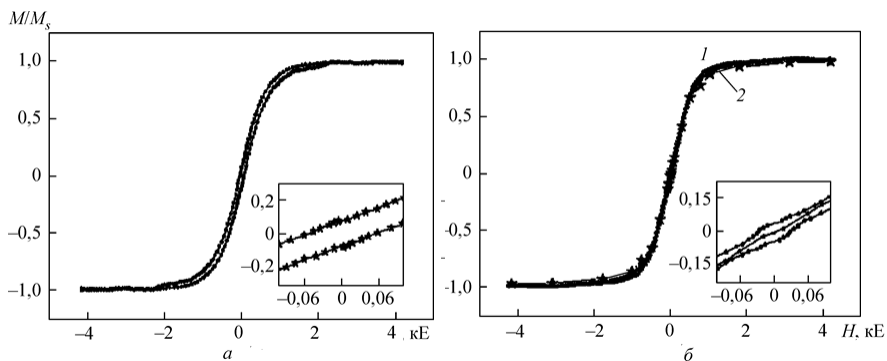
З урахуванням вищезазначеного, узгодження згаданих кривих нами досягнуто завдяки припущенню, що  $M_d$  залежить від діаметра частинки і дорівнює  $\rho_{\text{Fe}_3\text{O}_4} \sigma_s$ , де значення  $\sigma_s$  розраховується за формулою (2.49). Тоді:

$$\frac{M(H)}{M_s} = \frac{\sum_{i=1}^{11} m_i d_i^3 \sigma_s(d_i) L \left( \frac{\rho \sigma_s(d_i) H}{k_B T} \frac{\pi}{6} d_i^3 \right)}{\sum_{i=1}^{11} m_i d_i^3 \sigma_s(d_i)}, \quad (2.54)$$

де  $m_i$  обчислено за формулою (2.47).

Петлі гістерезису магнітного моменту зразків вимірювали за допомогою вібраційного магнітометра на частоті 228 Гц за кімнатної температури (опис цієї установки і методику вимірювань викладено в роботі [146], у якій досліджували сухі розмагнічені високодисперсні зразки).

На рис. 2.47, а наведено криву магнітного гістерезису ансамблю наночастинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  із поверхнево, модифікованою олеатом натрію. Таке модифікування покликане запобігти агрегуванню наночастинок магнетиту: як засвідчили результати експериментальних досліджень, воно практично не впливає на ступінь намагніченості окремих частинок.



**Рис. 2.47.** Криві магнітного гістерезису ансамблю модифікованих наночастинок  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}$  (а) та магнітної рідини  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na} + \text{H}_2\text{O}$  (б);  $M_s$  – намагніченість насичення наночастинок у матриці

Нами встановлено, що у багатьох важливих із практичного погляду випадках виконання функцій і наночастинками, і нанокompatитами на їх основі таких функцій, як спрямоване транспортування лікарських засобів до органів- і клітин-мішеней, розпізнавання й деконтамінація вірусів тощо, забезпечується в рідких середовищах, причому саме рідина є найпоширенішою формою введення в кровоносну систему організму магніточутливих лікарських засобів [7].

У магнітних рідинах наночастинки здійснюють броунівський поступальний та обертальний рухи, а їх рівноважної намагніченості у прикладеному магнітному полі можна досягти шляхом обертання самих частинок відносно до дисперсійного середовища. Такий механізм релаксації намагніченості характеризується броунівським часом обертальної дифузії  $\tau_b$ , який визначається об'ємом частинки, в'язкістю середовища  $\eta$  та температурою. Для магнітної рідини на водній основі ( $\eta = 0,07 \text{ г/(с·см)}$ ) за наявності сферичних частинок із розмірами  $d = 6$  і  $34 \text{ нм}$   $\tau_b$  дорівнює, відповідно,  $10^{-6}$  і  $10^{-4} \text{ с}$ , причому за  $t_{\text{вим}} = 10 \text{ с}$  рівноважна намагніченість магнітної рідини встигає встановитись і  $\sigma(H)$  характеризується значно меншим гістерезисом (рис. 2.47, б). На цьому ж рисунку наведено польові залежності нормованої намагніченості магнітної рідини складу  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na} + \text{H}_2\text{O}$ : криві 1 (експериментальна) та 2 (теоретична). Їх майже повний збіг засвідчує, що використані теоретичні підходи дають змогу добре описати магнітні властивості таких складних систем, як магнітні рідини, та що за експериментально вимірним розподілом наночастинок в ансамблі можна на їх основі розрахувати криву намагнічування цих рідин.

## 2.10.2. Наноккомпозити у складі магнітних рідин

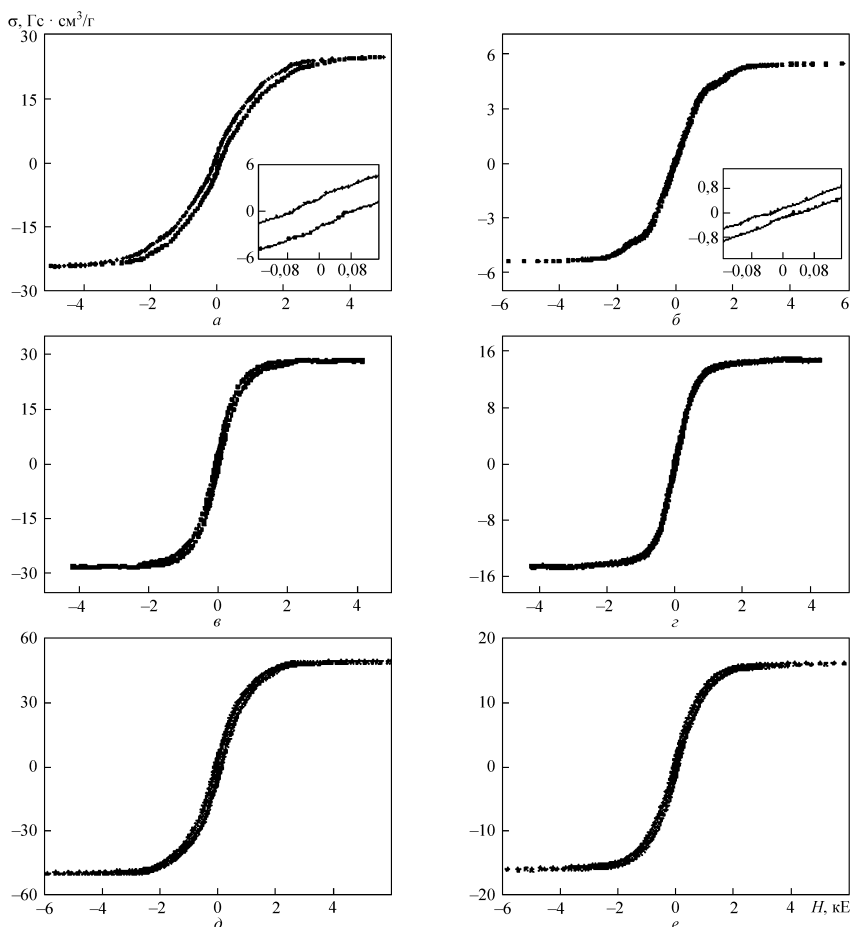
Нами експериментально встановлено, що наявність шарів ДМСК, ГАП, АПС та ПАА на поверхні магнетиту практично не впливає на магнітні властивості вихідного магнетиту – ядра наноккомпозиту.

На магнітометрі з вібруючим (283 Гц;  $t_{\text{вим}} \approx 100$  с) зразком за  $t = 290$  К було виміряно параметри петель гістерезису модифікованих олеатом натрію наночастинок магнетиту, а також відповідних наноккомпозитів, які містили ГАП, олеат натрію, цисплатин (0,5 мг), доксорубіцин 0,5 мг та їхні водні суспензії – магнітні рідини (табл. 2.20, рис. 2.48).

**Таблиця 2.20.** Густина  $\rho$ , питома намагніченість насичення  $\sigma_s$ , масова частка магнетиту в структурі  $m_{\text{Fe}_3\text{O}_4}/m_{\text{комп'}}$ , намагніченість насичення  $M_s$ , коерцитивна сила  $H_c$ , питома залишкова намагніченість на ноккомпозитів  $M_r/M_s$

Номер зразка	Нано-структура	$\rho$ , г/см <sup>3</sup>	$\sigma_s$ , Гс·см <sup>3</sup> /Г	$m_{\text{Fe}_3\text{O}_4}/m_{\text{комп'}}$	$M_s$ , Гс	$H_c$ , Е	$M_r/M_s$
1	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	5,24	69,31 (68,8±2,0)	–	362,9 360,5	46,0	0,16
2	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /Ol.Na+ H <sub>2</sub> O (MP)	1,127	7,3±0,2	0,106±0,006	8,2	0,0	0,00
3	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /Ol.Na	2,290	25,0±0,8	0,363±0,018	57,1	69,0	0,08
3a	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /Ol.Na+ H <sub>2</sub> O (MP)	1,130	5,5±0,2	0,080±0,005	6,2	22,0	0,02
4	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /Ol.Na/ ЦП	3,320	29,8±0,9	0,433±0,026	98,9	56,0	0,11
4a	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /Ol.Na/+ H <sub>2</sub> O (MP)	1,560	15,1±0,5	0,219±0,013	23,6	19,0	0,13
5	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ГАП/ ДР	1,143	49,4±1,6	0,718±0,043	56,5	81,0	0,13
5a	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /ГАП/ДР+ H <sub>2</sub> O (MP)	1,057	16,4±0,5	0,238±0,014	17,3	50,0	0,09

*Примітка.* Тут, а також на рис. 2.48 і далі за текстом: ЦП – цисплатин; ДР – доксорубіцин

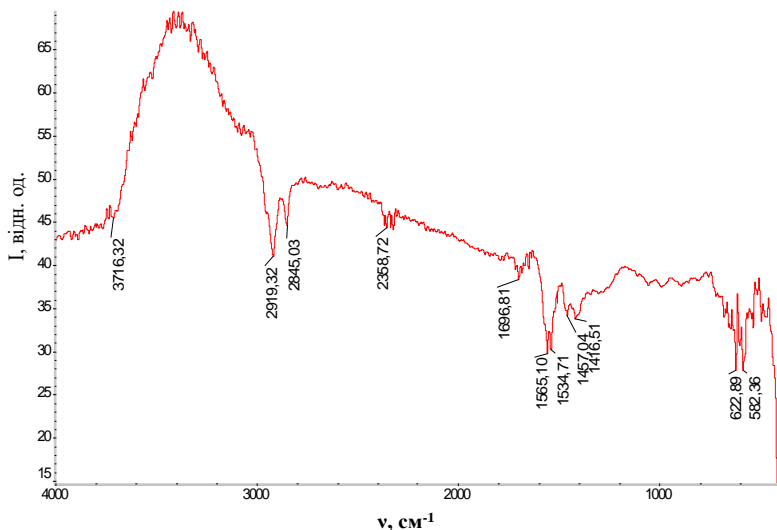


**Рис. 2.48.** Петлі гістерезису модифікованих нанокompatитів складу  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}$  (а),  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{OI.Na}/\text{ЦП}$  (б),  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{OI.Na}/\text{ДР}$  (д) та, відповідно, їхніх магнітних рідин (б, з, е)

Синтезовані магнітні рідини досліджували методами ІЧ-Фур'є-спектроскопії (рис. 2.49–2.51). З метою підтвердження необхідності модифікувань методами ідентифікації хімічних груп здійснювали порівняльні дослідження таких колоїдних систем:  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.Na}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.Na}/\text{ЦП}$  та  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.Na}/\text{ПЕГ}$ .

ІЧ-Фур'є-спектр зразка нанокompatиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.Na}$  наведено на рис. 2.49. Пік при  $582 \text{ cm}^{-1}$  відноситься до  $\text{Fe-O}$ -вібраційних коливань  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , максимуми при  $2919$  та  $2845 \text{ cm}^{-1}$  – до валентних коливань  $-\text{CH}_2-$  та

–CH<sub>3</sub>- груп олеату натрію, пік при 1696 см<sup>-1</sup> можна віднести до валентних коливань С=О-групи ОI.Na, максимум при 1565 см<sup>-1</sup> відноситься до С=C-груп, а смуга, що спостерігається при 1457 та 1416 см<sup>-1</sup>, – до валентних коливань груп –CH (рис. 2.49). Усе це свідчить про адсорбцію олеату натрію на поверхнях наночастинок Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.



**Рис. 2.49.** ІЧ-Фур'є-спектр зразка нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ол.Na

На ІЧ-Фур'є-спектрі нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ол.Na/ЦП спостерігається наявність смуг поглинання, характерних для діамінодихлорплатини (рис. 2.50). Так, мультиплетний сигнал в області 3180–3051 см<sup>-1</sup> обумовлений валентними асиметричними (3100 см<sup>-1</sup>) та симетричними (3051 см<sup>-1</sup>) коливаннями аміногруп. Деформаційні коливання Н-Н-Н характеризуються сигналами при 1646 (асиметричні) та 1370 см<sup>-1</sup> (симетричні). Площинні коливання NH<sub>3</sub> груп обумовлюють максимум при 970 та 882 см<sup>-1</sup>. Наявні також валентні Pt–N (530, 516 см<sup>-1</sup>) та деформаційні N–Pt–N (516 см<sup>-1</sup>) коливання.

Також проведено дослідження зразку нанокompозиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ол.Na/ПЕГ (рис. 2.51). На спектрі наявні смуги, характерні для компонентів архітектури – магнетиту, олеату натрію та поліетиленгліколю. Зокрема, підсилення інтенсивності смуг, що відповідають валентним коливанням –CH<sub>2</sub>- груп олеату натрію при 2922–2851 см<sup>-1</sup> перекриваються із аналогічними максимумами для ПЕГ. Деформаційні коливання –CH<sub>2</sub>- груп полі етиленгліколю характеризуються максимумами при 1345, 1278 та 1230 см<sup>-1</sup>. Інтенсивна

смуга при  $1109\text{ см}^{-1}$  зумовлена наявністю ефірної ланки  $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_2-$  у ПЕГ.

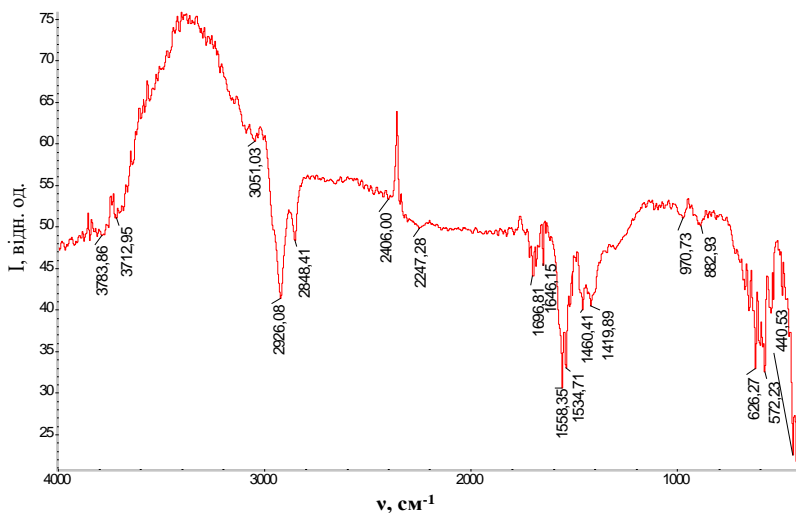


Рис. 2.50. ІЧ-Фур'є-спектр зразка нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На/ЦП}$

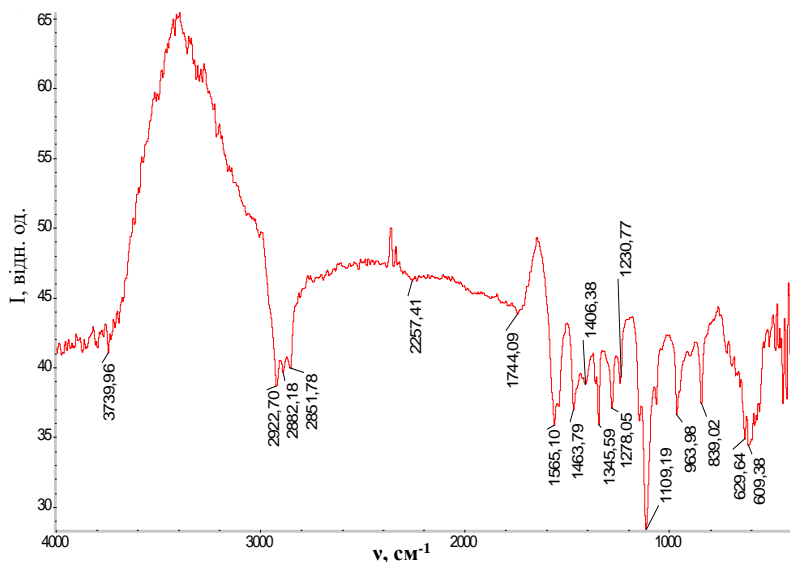
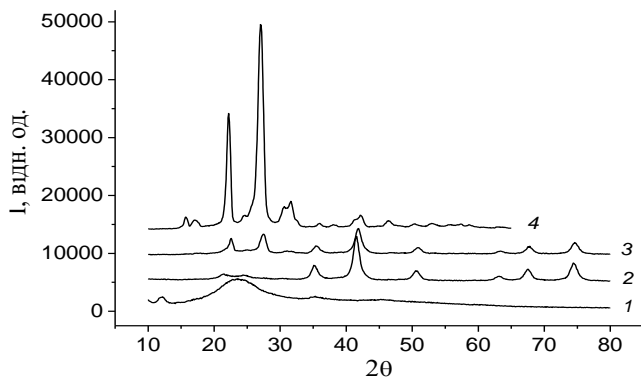


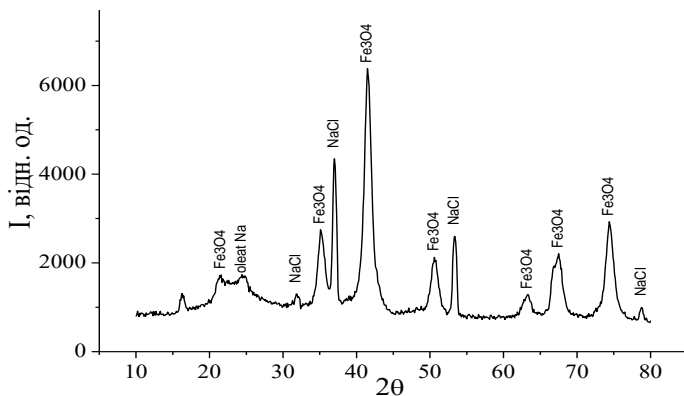
Рис. 2.51. ІЧ-Фур'є-спектр зразка нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ол.На/ПЕГ}$

Дифрактограми зразків стабілізуючих та модифікуючих агентів і сухих залишків магнітних рідин наведені на рис. 2.52. Присутність на дифрактограмах магнетиту (криві 2, 3) рефлексів, що відносяться до фаз  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (JCPDS N 88-315), аморфного олеату натрію і ПЕГ (JCPDS N 50-2158) підтверджує збереження фази  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  і утворення стабілізуючої фази олеату Na та поліетиленгліколю у складі магнітної рідини.



**Рис. 2.52.** Дифрактограми: олеату натрію (1); магнетиту, стабілізованого олеатом натрію (2); магнетиту, стабілізованого і модифікованого ПЕГ-2000 (3) та ПЕГ-2000 (4)

Імобілізація комплексів платини на поверхні магнетиту, стабілізованого олеатом натрію, не призводить до зміни фазового складу наноконструкції, про що свідчить аналіз дифрактограм, наведених на рис. 2.53).



**Рис. 2.53.** Дифрактограма магнетиту, стабілізованого олеатом натрію, з адсорбованим цисплатином



Також вивчали залежність магнітних характеристик від наноархітектури нанокомпозиту, і зокрема за наявності адсорбованих комплексів платини. Досліджували вплив концентрації ПЕГ та іонів  $Pt^{2+}$  на магнітні і розмірні характеристики колоїдних систем  $Fe_3O_4/ол.Na$  і  $Fe_3O_4/ол.Na/ПЕГ$ . Виміряли й петлі гістерезису (польові залежності питомої намагніченості  $\sigma = M/\rho$ , де  $M$  і  $\rho$  – намагніченість і механічна густина відповідно) частинок магнетиту, модифікованого різними полімерами [105, 144] та встановили, що значення коерцитивної сили  $H_c$  залежить від розмірів і форми частинок магнетиту, а також від сили магнітної взаємодії між ними, і що у більшості випадків взаємодія між частинками призводить до зменшення  $H_c$ .

І визначено також, що збільшення концентрації ПЕГ в композитах призводить до зменшення їх питомої намагніченості (табл. 2.21).

**Таблиця 2.21.** Вплив концентрації ПЕГ на магнітні й розмірні характеристики колоїдних систем  $Fe_3O_4/ол.Na$

№	Матеріал	$H_c$ , Е	$\sigma_s$ , Гс·см <sup>3</sup> /Г	$D_{рФА}$ , нм
1	$Fe_3O_4$	$54,0 \pm 0,5$	$54,2 \pm 0,2$	$10,7 \pm 2,9$
2	$Fe_3O_4/ол.Na$	54,0	50,7	13,7
3	$Fe_3O_4/ол.Na + 18$ мг ПЕГ	50,0	48,9	15,7
4	$Fe_3O_4/ол.Na + 36$ мг ПЕГ	50,0	45,2	15,8
5	$Fe_3O_4/ол.Na + 180$ мг ПЕГ	50,0	25,5	17,5
6	$Fe_3O_4/ол.Na + 360$ мг ПЕГ	50,0	24,8	18,7

Згідно з одержаними експериментальними даними, спостерігається збільшення намагніченості насичення  $\sigma_s$  зразків при адсорбції малих кількостей (0,5 мг) комплексів платини. При збільшенні концентрації дисплатину (1,5 мг)  $\sigma_s$  композиту зменшується (табл. 2.22).

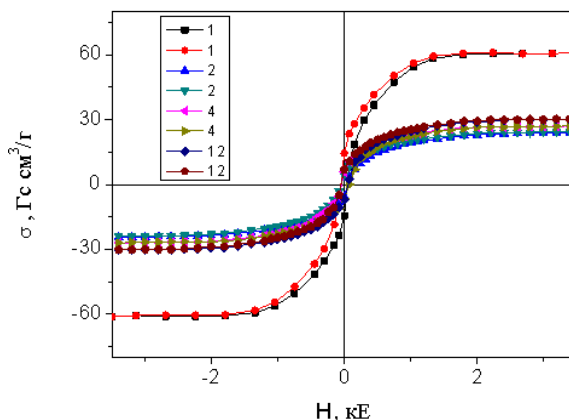
**Таблиця 2.22.** Вплив концентрації ЦП на магнітні і розмірні характеристики колоїдних систем  $Fe_3O_4/ол.Na$  і  $Fe_3O_4/ол.Na/ПЕГ$

Матеріал	$H_c$ , Е	$\sigma_s$ , Гс·см <sup>3</sup> /Г	$D_{рФА}$ , нм
$Fe_3O_4$	$54,0 \pm 0,5$	$54,2 \pm 0,2$	$11,0 \pm 2,9$
$Fe_3O_4/ол.Na$	56,0	50,7	11–17
$Fe_3O_4/ол.Na + 0,5$ мг ЦП	50,0	54,1	11–17
$Fe_3O_4/ол.Na + 1,5$ мг ЦП	50,0	43,9	11–17
$Fe_3O_4/ол.Na/ПЕГ + 0,5$ мг ЦП	50,0	51,8	$16,0 \pm 3,0$

Цей ефект проявляється в обох системах –  $Fe_3O_4/ол.Na$  і  $Fe_3O_4/ол.Na/ПЕГ$ . Можна припустити, що малі феримагнітні частинки мають дві спінові підсистеми, утворені атомами, що знаходяться на

поверхні і в об'ємі частинок. Не виключений вплив атомів Pt на спінову підсистему частинки, пов'язану з поверхневими атомами магнетиту таким чином, що намагніченість частинки зростає.

Згідно з експериментальними кривими (рис. 2.54)  $H_c$  концентрованих водних колоїдів модифікованих наночастинок магнетиту складів  $Fe_3O_4/ол. Na$ ,  $Fe_3O_4/ол. Na/ЦП$  і  $Fe_3O_4/ол. Na/ЦП/ПЕГ$  становлять 15–20 Е, НЧМ, розподілені у твердій немагнітній матриці і сухі залишки МР характеризуються  $H_c = 35–40$  Е. З іншого боку, розрахункові усереднені часи релаксації для частинок діаметрів 2–22 нм складають  $\tau_N \approx 10^{-8}$  с і  $\tau_B \approx 10^{-5}$  с (рис. 2.54). Це означає, що вищезазначені системи не мали б проявляти гістерезис, так як  $t_{вим} = 10–60$  с.



1 –  $Fe_3O_4$ ; 2 –  $Fe_3O_4/ол. Na$ ; 4 –  $Fe_3O_4/ол. Na + 18$ мг ПЕГ;  
12 –  $Fe_3O_4/ол. Na/ПЕГ + 0,5$ мг цисплатину

**Рис. 2.54.** Криві намагнічування зразків

Залишкова намагніченість, ймовірно, обумовлена або незначною кількістю досить великих частинок (діаметр – 25–40 нм) або/та агрегатами частинок, об'єднаних диполь-дипольною взаємодією.

### 2.10.3. Дослідження *in vivo* магнітних рідин, модифікованих цисплатином

Зразки синтезованих магнітних рідин на основі нанокompatитів з іммобілізованим цисплатином та додатково модифікованих поліетиленгліколом було досліджено в ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Визначено цитотоксичну дію (на асцитній Ерліха та солідній

Герена карциномах) таких наноконкомпозитних магнітних рідин, як:  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}$  ( $\bar{N}_{\text{Fe}_3\text{O}_4} = 3 \text{ мг/мл}$ );  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}/\text{цисплатин}$ .

### 2.10.3.1. Дослідження цитотоксичної дії магнітних рідин на асцитній карциномі Ерліха

Дослідження проведено на мишах-самцях-гібридах (лінія «С57В1/6хДВА/21»). Тваринам внутрішньочеревно перещеплювали асцитну карциному Ерліха у кількості по  $2 \cdot 10^6$  клітин на кожну мишу. Доза  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  становила 2 мг/кг маси їх тіла, цисплатину – 2 мг/кг.

Надалі протипухлинну активність магнітних рідин визначали за середнім числом діб, які прожили піддослідні миші (порівняно з контрольними).

Відсоток гальмування росту ( $\gamma$ , %) асцитної пухлини Ерліха оцінювали за формулою:  $\gamma = (\alpha/\beta)100$ , де:  $\alpha$  – різниця між числами прожитих діб тваринами контрольної та піддослідної груп;  $\beta$  – число діб, прожитих тваринами контрольної групи.

А як видно з наведених нижче даних (табл. 2.23), різницю між середніми числами діб, прожитих тваринами контрольної групи, й тими, яким внутрішньочеревно вводили магнітну рідину  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}$ , ще остаточно не встановлено.

**Таблиця 2.23.** Протипухлинна активність *in vivo* магнітної рідини щодо клітин асцитної карциноми Ерліха

Група тварин	Тривалість життя, діб
Контроль (фізрозчин)	17,0±1,4
ЦП**	23,0±1,0*
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}$	18,2±1,1
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}/\text{ЦП}$	24,8±1,2*

*Примітка.* \* Достовірність –  $<0,05$  порівняно з контрольною групою тварин; \*\* цисплатин

Водночас, ті самі дані засвідчили, що у мишей, які отримували цисплатин та магнітну рідину  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}/\text{цисплатин}$ , на достовірній основі виявлено збільшення тривалості життя, відповідно, на 35 і 46% (порівняно з контрольною групою тварин).

Отже, нами експериментально доведено ефективність використання магнітної рідини  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}/\text{цисплатин}$  для лікування пухлин асцитної карциноми Ерліха.

### 2.10.3.2. Дослідження цитотоксичної дії магнітних рідин на солідній карциномі Герена

Наше дослідження проведено на лабораторних щурах-самцях лінії «Вістар» масою тіла  $120 \pm 5$  г. Піддослідним тваринам перещеплювали підшкірно на спину 25%-у суспензію пухлинної тканини карциноми Герена у фізіологічному розчині (по 0,4 мл суспензії на кожного щура). Протипухлинну активність *in vivo* магнітної рідини  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}/\text{цисплатин}$  щодо клітин карциноми Герена ( $n = 10$ ) порівняно з цисплатином залежно від впливу маси пухлини характеризують дані табл. 2.24.

**Таблиця 2.24.** Протипухлинна активність *in vivo* магнітної рідини щодо клітин солідної карциноми Герена

Група тварин	МП, г
Контроль (фізрозчин)	$31,8 \pm 2,4$
ЦП**	$23,4 \pm 2,5^*$
ЦП+МП	$19,6 \pm 2,9^*$
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}/\text{ЦП}$	$19,2 \pm 2,1^*$
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}/\text{ЦП}+\text{магнітне поле}$	$13,4 \pm 1,7^*$

*Примітка.* \* Достовірність –  $<0,05$  порівняно з контрольною групою тварин; \*\* цисплатин

Встановлено, що цисплатин (зразок порівняння) гальмує ріст пухлини за масою на 26,4%. Показано, що у тварин, яким вводиться МР  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}/\text{цисплатин}$ , маса пухлини зменшується на 40,2% порівняно з контрольною групою тварин. Найбільший відсоток відповідного гальмування встановлено у щурів, яким вводили магнітну рідину  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}/\text{цисплатин}$  (у комбінації з постійним магнітним полем): у цих піддослідних тварин маса пухлин зменшувалась на 57,9% порівняно з тваринами контрольної групи.

Отже, експериментально доведено ефективність використання магнітної рідини  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OI.Na}/\text{ПЕГ}/\text{цисплатин}$  (у комбінації з постійним магнітним полем) для лікування пухлин карциноми Герена.

### 2.10.3.3. Особливості цитотоксичної дії нанокompatитів на основі магнетиту і цисплатину

У роботі [147] *in vitro* та *in vivo* доведено переваги застосування магніточутливих нанокompatитів на основі магнетиту і цисплатину порівняно з традиційним використанням цисплатину. Виявлено, що

найвища цитотоксична активність нанокompозиту спостерігається у резистентній лінії MCF-7/CP і що це пояснюється більш ефективним накопиченням наночастинок оксиду заліза в клітинах за рахунок високого рівня рецепторів трансферину та порушення системи антиоксидантного захисту резистентних клітин (підвищення ролі активних форм кисню та важких і легких ланцюгів заліза). Експериментально встановлено, що нанокompозит здатний викликати в клітинах резистентної лінії більш виражені, порівняно з клітинами чутливої лінії, цитоморфологічні зміни і генотоксичні ефекти. На дослідах *in vivo* показано, що нанокompозит здатен гальмувати на 41% ріст резистентної до цисплатину карциноми Герена. Отримані дані засвідчують вищу терапевтичну ефективність нанокompозиту та вибірковість дії стосовно резистентних пухлин і вказують на перспективність його використання з метою подолання медикаментозної резистентності до цисплатину. При цьому встановлено, що прояви побічної дії нанокompозиту на організм тварин і токсичність щодо життєво важливих органів є толерантнішими, ніж у випадку дії цисплатину. По суті, вперше *in vitro* досліджено механізми впливу нанокompозиту на чутливі та резистентні до цитостатику пухлинні клітини MCF-7. Встановлено, що в механізмах реалізації апоптичної програми під впливом нанокompозиту суттєву роль відіграють порушення обміну ендогенного заліза. Під впливом нанокompозиту в клітинах раку молочної залози людини MCF-7 спостерігається значне підвищення рівня «вільного заліза», яке сприяє утворенню активних форм кисню та спричинює оксидативний стрес (реакція Фентона). Наслідками цього останнього, як і впливу нанокompозиту в резистентних клітинах, є індукція апоптозу та посилення процесів перекисного окиснення ліпідів. На сьогодні доведено, що нанокompозит здатен ініціювати апоптичну програму в клітинах резистентної лінії мітохондріальним шляхом, а також визначено, що він може викликати структурно-функціональні перебудови біологічних мембран та знижувати інвазивні властивості клітин із фенотипом медикаментозної резистентності до цисплатину [147].

## 2.11. Дослідження біосумісності та біоактивності нанокompозитів на основі доксорубіцину

Для досліджень синтезували нанокompозити: Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДР, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/ДР, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub>/ДР, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП/ДР. Синтез вихідного однодоменого магнетиту та нанокompозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП здійснювали за описаними раніше методиками. Імобілізацію ДР на поверхнях магнетиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> та наноструктур Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub>,

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП здійснювали адсорбційним методом із середовища фізіологічного розчину.

Дослідження біосумісності нанокompatитів здійснювали за їх впливом на життєздатність клітин хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Життєздатність клітин визначали цитохімічним методом [116, 117] із використанням камери Горяєва та застосуванням методу оптичної мікроскопії (біологічний мікроскоп «Bresser Erudit») і барвника метиленового синього шляхом реєстрації зміни їх концентрації при розмноженні в суспензіях за температури 22 °С із вмістом нанокompatитів, клітин дріжджів, мінімального синтетичного живильного середовища (МСЖС) [148] та фізіологічного розчину (ФР). Чисельно життєздатність  $K$  оцінювали за формулою:  $K = M_1 / (M_1 + M_2) \cdot 100\%$ , де:  $M_1$  – кількість живих клітин,  $M_2$  – кількість загиблих клітин. Отримані дані порівнювали з результатами досліджень контрольних зразків.

Біоактивність модифікованих ДР нанокompatитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП оцінювали за їх цитотоксичним впливом на клітини *Saccharomyces cerevisiae* [149, 150] та зниженням темпу проліферації клітин [148]. Ці ефекти зумовлені, зокрема, участю доксорубіцину в редокс-циклічних реакціях та відповідним збільшенням кількості вільнорадикальних молекул, індукуванням оксидативного стресу і затримками клітинного циклу в G<sub>1</sub>- та S-фазах. Концентрацію клітин  $n$  (мл<sup>-1</sup>) підраховували за формулою для камери Горяєва:  $n = N \cdot 2,5 \cdot 10^5$ , де  $N$  – кількість клітин над великим квадратом камери. Отримані дані порівнювали з результатами досліджень контрольних зразків (серій 1 і 2).

Загалом досліджено такі зразки суспензій:

- дріжджових клітин (початкова концентрація ( $n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$  мл<sup>-1</sup>) у фізіологічному розчині з МСЖС (серія 1);
- фізіологічного розчину та вихідного нанорозмірного однодоменого магнетиту (170 мкг/мл) із вмістом клітин дріжджів ( $n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$  мл<sup>-1</sup>) та МСЖС (серія 2);
- дріжджових клітин ( $n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$  мл<sup>-1</sup>) у фізіологічному розчині із вмістом МСЖС та нанокompatитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДР, причому маса іммобілізованого доксорубіцину в зразку  $M_{\text{ДР}}$  становила 0,7 мг (серія 3);
- фізіологічного розчину та нанокompatитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП/ДР ( $M_{\text{ДР}} = 0,6$  мг) із клітинами дріжджів ( $n_0 \approx 3,5 \cdot 10^7$  мл<sup>-1</sup>) та МСЖС (серія 4);
- фізіологічного розчину та нанокompatитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/ДР ( $M_{\text{ДР}} = 0,7$  мг) із клітинами дріжджів ( $n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7$  мл<sup>-1</sup>) та МСЖС (серія 5);

- фізіологічного розчину та нанокompatитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2/\text{ДР}$  ( $M_{\text{ДР}} = 0,8 \text{ мг}$ ) із клітинами дріжджів ( $n_0 \approx 3 \cdot 10^7 \text{ мл}^{-1}$ ) та МСЖС (серія б).

Всі досліджені зразки містили 1,3 мл фізіологічного розчину (0,9 % NaCl) та 1 мл МСЖС. Маса клітин дріжджів становила 0,5 мг (на аналітичних вагах «ВЛА-200»). Наночастинки магнетиту, нанокompatити та клітини дріжджів у суспензіях відповідних серій зразків спонукали до контакту шляхом струшування.

Кількість клітин для кожного із зразків відповідних серій підраховували методом світлової мікроскопії із застосуванням камери Горяєва: відразу ж після початку досліду і через 16 годин та 3,5 доби. Досліджували по три зразки кожної серії, причому щоб отримати статистично достовірні результати, підрахунок кількості клітин проводили у 5–7 великих квадратах камери, а результати усереднювали.

Концентрацію клітин  $n$  ( $\text{мл}^{-1}$ ) підраховували за формулою:  $n = N \cdot 2,5 \cdot 10^5$ , де  $N$  – кількість клітин над великим квадратом камери Горяєва.

При додаванні нанокompatитів у суспензії клітин спостерігали явища аглютинації нанокompatитів на поверхнях клітин та утворення агрегатів із нанокompatитних частинок. Після обережного струшування суспензії ставали однорідними. Дослідження проводили за  $t \approx 22 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Встановили, що за цієї температури в дослідних умовах у контролях відбувається відносно повільне розмноження дріжджів, яке сприяє підрахункам їх кількості (результати досліджень зміни концентрації дріжджів у зразках наведено на рис. 2.55–2.60).

При дослідженні біоактивності доксорубіцину було експериментально встановлено, що його розчин у фізіологічній рідині призводить до майже повної (на 95%) загибелі клітин дріжджів у концентрації 0,5 мг/мл за 3,5 доби. Оскільки ж згідно з методикою визначення цитотоксичності прийнято [14] користуватися дозою  $\text{IC}_{50}$ , за якої спостерігається загибель 50% клітин, то для цілей тестування біоактивності кількість нанокompatитного матеріалу  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ДР}$  (~20 мг), з іммобілізованим доксорубіцином (~50 мг/г), який використовувався для утворення суспензії, обирали з розрахунку, щоб концентрація вивільненого ДР у дослідних суспензіях становила ~0,25 мг/мл.

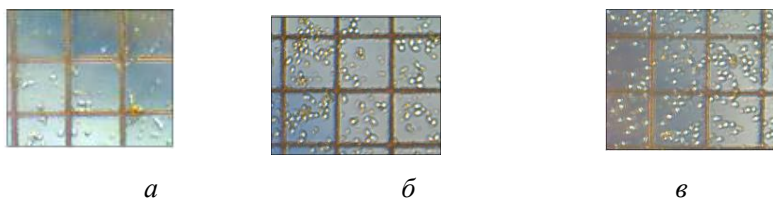
Аналіз даних досліджень (рис. 2.55) свідчить, що в суспензіях дріжджів ( $n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7 \text{ мл}^{-1}$ ) у фізіологічному розчині з МСЖС (контролі серії 1) спостерігається характерне для дріжджів [151] розмноження клітин, яке призводить до подвійного зростання їх концентрації через 16 годин ( $5 \cdot 10^7 \text{ мл}^{-1}$ ). В подальшому ж швидкість розмноження

уповільнюється (можливо, через зменшення поживної речовини), однак вже через 3,5 доби їх концентрація сягає  $\sim 10^8$  мл<sup>-1</sup>. Життєздатність же дріжджових клітин в експериментах серії 1 суттєво не змінюється і становить  $\sim 98$ – $99\%$ .



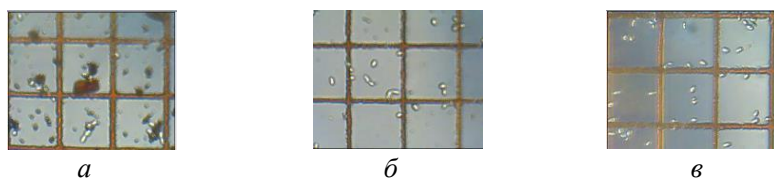
*a* – на початку досліджень; *б* – через 16 годин

**Рис. 2.55.** Зміна кількості дріжджів у контролях серії 1



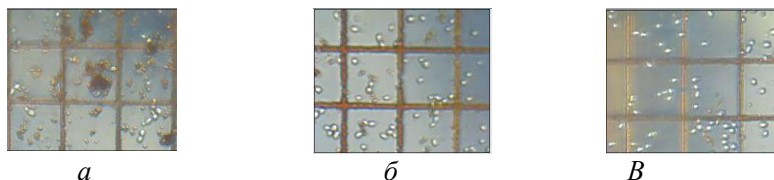
*a* – на початку досліджень; *б* – через 16 годин; *в* – через 3,5 доби

**Рис. 2.56.** Зміна кількості дріжджів у контролях серії 2



*a* – на початку досліджень; *б* – через 16 годин; *в* – через 3,5 доби

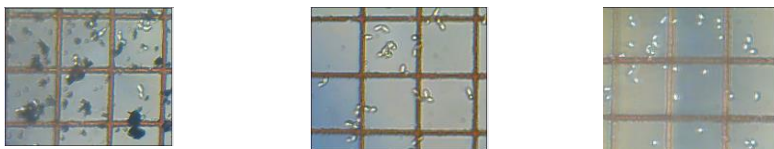
**Рис. 2.57.** Взаємодія нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДР}$  із клітинами дріжджів (серія 3)



*a* – на початку досліджень; *б* – через 16 годин; *в* – через 3,5 доби

**Рис. 2.58.** Взаємодія нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ДР}$  із клітинами дріжджів (серія 4)





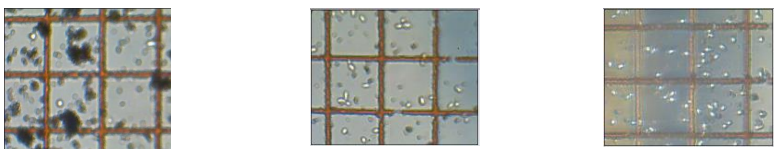
*a*

*б*

*в*

*a* – на початку досліджень; *б* – через 16 годин; *в* – через 3,5 доби

**Рис. 2.59.** Взаємодія нанокompatитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{ДР}$  із клітинами дріжджів (серія 5)



*a*

*б*

*в*

*a* – на початку досліджень; *б* – через 16 годин; *в* – через 3,5 доби

**Рис. 2.60.** Взаємодія нанокompatитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2/\text{ДР}$  із клітинами дріжджів (серія 6)

Аналіз наведених на рис. 2.56 даних досліджень свідчить, що в суспензії фізіологічного розчину та вихідного нанорозмірного однодомного магнетиту (170 мкг/мл), яка містить клітини дріжджів ( $n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7 \text{ мл}^{-1}$ ) та МСЖС (контролі серії 2), також спостерігається досить активний поділ, внаслідок якого концентрація дріжджів через 16 годин становить  $\sim 6,5 \cdot 10^7 \text{ мл}^{-1}$ , а через 3,5 доби перевищує  $10^8 \text{ мл}^{-1}$ . Життєздатність клітин, як і в попередньому випадку, на всіх стадіях досліджень зразків серії 2 становить  $\sim 98\text{--}99\%$ . Наведені нами дані підтверджують біосумісність нанорозмірного однодомного магнетиту відносно до клітин дріжджів в умовах експерименту (зазначимо, що форма клітин у дослідях зі зразками серій 1 та 2 є округлою, а поділ відбувається без особливостей).

Результати досліджень свідчать (рис. 2.57), що наявність нанокompatитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДР}$  (кількість іммобілізованого ДР в зразку 0,7 мг) у суспензіях дріжджових клітин ( $n_0 \approx 2,5 \cdot 10^7 \text{ мл}^{-1}$ ) у фізіологічному розчині з МСЖС (серія 3) призводить до істотного пригнічення клітинної проліферації. Так, через 16 годин концентрація клітин дріжджів практично не змінилася, лише через 3,5 доби їх кількість дещо зросла і становила  $\sim 3 \cdot 10^7 \text{ мл}^{-1}$ .

Дослідженнями взаємодії суспензії фізіологічного розчину зразків серії 4, нанокompatитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ГАП}/\text{ДР}$  (вміст ДР 0,6 мг), з клітинами

дріжджів (рис. 2.58) також встановлено істотне пригнічення клітинної проліферації. Концентрація клітин дріжджів на початку експерименту становила  $\sim 3,5 \cdot 10^7$  мл<sup>-1</sup> і практично не змінилася за 16 годин, лише через 3,5 доби їх кількість зросла до  $\sim 4 \cdot 10^7$  мл<sup>-1</sup>.

Подібне пригнічення проліферації клітин дріжджів спостерігалось також при їх взаємодії з нанокompозитами Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/ДР (вміст ДР 0,7 мг) та Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub>/ДР (вміст ДР 0,8 мг) у дослідах зі зразками серій 5 та 6 (рис. 2.59 та 2.60 відповідно). Зазначимо лише, що у випадку нанокompозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/ДР зростання кількості клітин дріжджів не спостерігалось навіть через 3,5 доби.

Характерним для дослідів із зразками серій 3–6 було також те, що життєздатність дріжджових клітин з плином часу зменшувалась і складала  $\sim 85$  та  $75\%$  відповідно, через 16 годин та 3,5 доби. Слід також зазначити, що при цьому спостерігалось зростання кількості значно збільшених клітин (аж до подвоєння розміру) видовженої форми, які не змогли поділитися, що свідчить про значні порушення клітинного циклу.

Наведені дані свідчать, що магніточутливі нанокompозити Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДР, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/ДР, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub>/ДР, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ГАП/ДР виявляють цитотоксичну та протипроліферативну активність щодо клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, механізм якої є характерним для такого антибіотика антрациклінового ряду, як доксорубіцин. На вибраних об'єктах відпрацьовано досить ефективну, надійну, безпечну та відносно недорогу методику контролю цитотоксичної активності нанокompозитів, яка може бути корисною для використання в розробках нових лікарських магнітокерованих засобів спрямованої доставки.

## 2.12. Синтез та дослідження нанокompозитів для фотодинамічної терапії

### 2.12.1. Основи методу

Фотодинамічна терапія (ФДТ) – метод лікування, що використовується в онкології, при лікуванні деяких захворювань шкіри та інфекційних захворювань і базується на застосуванні світлочутливих речовин-фотосенсибілізаторів (у т.ч. барвників), причому найчастіше – видимого світла певної довжини хвилі [152, 153].

Барвник вводиться в організм, як правило, внутрішньовенно, але може застосовуватися й аплікаційно або перорально. Речовини для ФДТ мають властивість вибіркового накопичення в пухлині чи інших цільових тканинах (клітинах), а потім уражені патологічним процесом тканини опромінують світлом із такою довжиною хвилі, яка відповідає максимуму

поглинання барвника. Як джерело світла використовуються лазерні установки, що дозволяють випромінювати світло певної довжини хвилі та високої інтенсивності. Поглинання молекулами фотосенсибілізатора квантів світла в присутності кисню призводить до фотохімічної реакції, в результаті якої молекулярний триплетний кисень перетворюється на синглетний, а також утворюється велика кількість високоактивних радикалів. Синглетний кисень і радикали викликають у клітинах пухлини і/або некроз чи апоптоз (це два варіанти загибелі клітин). ФДТ також призводить до порушення харчування та загибелі пухлини за рахунок пошкодження її мікросудин [152].

Розглянемо фотодинамічні процеси більш детально, зазначивши, що збуджений фотосенсибілізатор швидко повертається в основний стан, причому в цьому процесі відбувається перенесення його енергії збудження на інші молекули. Так, при передачі цієї енергії молекулі кисню (реакція II типу) утворюється атомарний кисень, який у подальшому взаємодіє з білками, нуклеїновими кислотами і ліпідними мембранами. Якщо збуджений фотосенсибілізатор передає енергію іншим сполукам (реакція I типу), можуть формуватися такі вільні радикали, як супероксид, гідроксил тощо. Ці високоактивні молекули викликають пошкодження клітин, в результаті яких і розвиваються апоптоз та/або некроз тканин. Клітини пухлини можуть відчувати прямий вплив, але також пошкодженням піддаються й ендотеліальні клітини, які вистилають кровоносні судини, – що призводить до формування тромбозів. При цьому фотодинамічний вплив на тканини не залежить від температури тканини-мішені, а це відрізняє його від традиційного методу термальної фотокоагуляції (і зокрема з використанням барвників).

Чинники впливу на ефективність цього фотосенсибілізатора численні й залежать від фотофізичних і фотохімічних властивостей, а його спектр поглинання визначає довжину хвилі випромінювання, яка використовується для ФДТ. Як правило, використовуються довжини хвиль, що відповідають максимуму поглинання фотосенсибілізатора, ефективна ж глибина penetрації ФДТ залежить від довжини хвилі світлового потоку і оптичних властивостей тканини. Зазвичай, ефективна глибина penetрації становить 2–3 мм за довжини хвилі випромінювання 630 нм і зростає до 5–6 мм при її збільшенні до 700–800 нм (ці значення змінюються шляхом варіювання біологічних і фізичних характеристик фотосенсибілізатора). У більшості випадків найефективнішими є ті фотосенсибілізатори, які поглинають світло за вищих довжин хвиль, а іншими важливими аспектами їх дії є ступінь метаболізму, рН і шлях введення.

Вже зазначалося, що, як правило, фотосенсибілізатори призначають внутрішньовенно, причому ключова роль при ФДТ належить їх здатності локалізуватися переважно у тканині-мішені, призводячи до її пошкодження при активації барвника світлом і зводячи до мінімуму супутнє ураження навколишніх тканин.

Внутрішньоклітинна локалізація фотосенсибілізаторів також може бути різною. Деякі препарати пошкоджують, головним чином, плазматичну мембрану і мітохондрії, тоді як інші впливають на ядро або ж лізосоми. Отже, саме характер локалізації визначає механізм пошкодження клітини: так, мітохондріальна локалізація у більшості випадків призводить до апоптозу, а не до некрозу, а локалізація в плазматичній мембрані чи лізосомах, як правило, спричинює некроз.

Незважаючи на дані про наявність прямого ураження пухлинних клітин, передбачається, що основним механізмом, який ініціює загибель пухлини, є оклюзія її судин, коли індуковані фотодинамічним впливом ураження, зокрема, ендотеліальних клітин призводять до адгезії тромбоцитів і дегрануляції (в результаті яких формується стаз), а також агрегації клітин крові та закупорювання судини.

Після проведення ФДТ відбувається викид ейкозаноїдів (включно з тромбоксаном і гістаміном), а також фактора некрозу пухлин, який може також вносити свій вклад у розвиток оклюзії судин.

Для проведення ФДТ можуть застосовуватися різні джерела світла – від ширококутового світла ламп розжарювання або ж дугових ламп і до монохроматичного світла лазерів, причому широка смуга світла при порушенні вторинних абсорбційних піків фотосенсибілізатора може посилювати фотодинамічний ефект, а застосування щільних пристроїв для подачі світла уможливує просторове обмеження цієї процедури.

Також для забезпечення селективності дії лазера в ФДТ важливо знати терапевтичні параметри, а саме дозу опромінення і густину потужності ( $\text{мВт}/\text{см}^2$ ), які й визначають тривалість його впливу: так, при лікуванні очної патології (як засвідчують і доклінічні, і клінічні дослідження з використанням різних типів фотосенсибілізаторів), найоптимальнішою є густина потужності  $600 \text{ мВт}/\text{см}^2$  тощо.

Час опромінення при проведенні ФДТ та період часу від моменту введення фотосенсибілізатора і до впливу світла також мають велике значення для селективності лікування. Зокрема, офтальмологія ідеально підходить для демонстрації просторової і тимчасової локалізацій фотосенсибілізатора завдяки використанню флюоресцентної ангіографії.

### 2.12.2. Фотосенсибілізатори для фотодинамічної терапії

На сьогодні до переліку фотосенсибілізаторів, які тестовані клінічними випробуваннями і найбільш широко відомі в якості фотодинамічних препаратів, входять [152]: похідний бензопорфірину (ПБП) – вертепорфін; етілетіопурпурин олова – пурлітин; *Lu-Tex* – тексафірин лютецію; похідні гематопорфірину (ПГП) та порфімер натрію (*Фотопрін*) тощо.

Так, фотодинамічна терапія із застосуванням ПГП проводиться за довжини хвилі світла 630 нм і має на меті збільшення тканинної пенетрації та зниження рівня поглинання інших тканинних хромофорів. Негативними ж властивостями цього препарату є його малоінтенсивний пік поглинання на цій довжині хвилі і тривала фотосенсибілізація шкіри, що триває протягом одного й більше місяців після відповідного лікування.

У свою чергу, порфімер натрію є частково очищеним компонентом ПГП, що характеризується значним обсягом дії і чинить менший токсичний вплив на шкіру, ніж сам ПГП. Його застосування практикується у низці країн для лікування деяких форм раку в людини.

Хлорини ж, бактеріохлорини і похідні бензопорфірину, використання яких для ФДТ розпочалося лише нещодавно, є похідними порфірину новітнього покоління і теж мають низку позитивних властивостей. Зокрема, такі похідні хлорину, як моноаспартиловий хлорин *еб* або ж *Нреб*, виявилися ефективними модельними фотосенсибілізаторами (на тваринах), а бактеріохлорин – похідний хлориду з піком поглинання 760 нм – характеризується вищим, порівняно з ПГП, коефіцієнтом молярної абсорбції.

Зі свого боку, вертепорфін – це ще один фотоактивний *in vivo* модифікований порфірин, максимум поглинання якого приблизно дорівнює 690 нм. Він є нетоксичною молекулою хлоринового типу, що містить двоє рівних просторових ізомерів із подібною фармакологічною дією. Препарат швидко й селективно накопичується в ендотелії новоутворених судин і не накопичується в навколишніх нормальних. Всередину ендотеліальної клітини він потрапляє шляхом піноцитозу, зв'язуючись із ліпопротеїнами низької густини. Вертепорфін швидко інактивується і виводиться з організму протягом 24 годин, не чинячи значного токсичного ефекту. Його використовують для дослідного лікування експериментально отриманих очних пухлин і неоваскуляризації, а також на сьогодні він є єдиним фотосенсибілізатором, застосування якого допускається в офтальмології.

А етіопурпурин олова (*SnET2*) – пурлітин має максимум поглинання 664 нм і також використовується у клінічних випробуваннях.

І ще одним класом фотосенсибілізаторів складають фталоціаніни, які характеризуються інтенсивним поглинанням (із піком на рівні 675 нм). Зокрема, такі центрально-розташовані метали, як цинк і алюміній, вводяться в їхню структуру задля підвищення стійкості триплетного стану фталоціаніну і збільшення виходу атомарного кисню, причому розчинність фталоціанінів та їх клітинна локалізація визначаються числом і зарядом їх бічних ланцюгів. Фталоціаніни мають вищу швидкість виведення і чинять значно менше токсичний вплив на шкіру, ніж ПГП, порфімер натрію або дигематопорфіріновий ефір (ДГЕ). Дія фталоціанінів вивчалася на експериментальних моделях очних пухлин, але ступінь безпечності їх застосування у людському організмі досі залишається невизначеним.

Тексафірини ж є синтетичними водорозчинними макроциклічними сполуками з центрально-розташованими іонами металів. Так, тексафірин лютецію з максимумом поглинання 732 нм, є стабільною, чистою і водорозчинною сполукою, яка швидко виводиться зі шкіри і не викликає її фотосенсибілізації.

Ефективність же тексафірину лютецію було продемонстровано при обробці експериментальних пухлин і атероматозних бляшок. Також дію *Lu-Tex* при ФДТ аналізували під час клінічних випробувань за участю хворих із метастатичними формами раку.

Також як фотосенсибілізатор при проведенні ФДТ використовується візудін, міжнародна непатентована вищезгадана назва якого – вертепорфін (його хімічну структуру наведено на рис. 2.61).

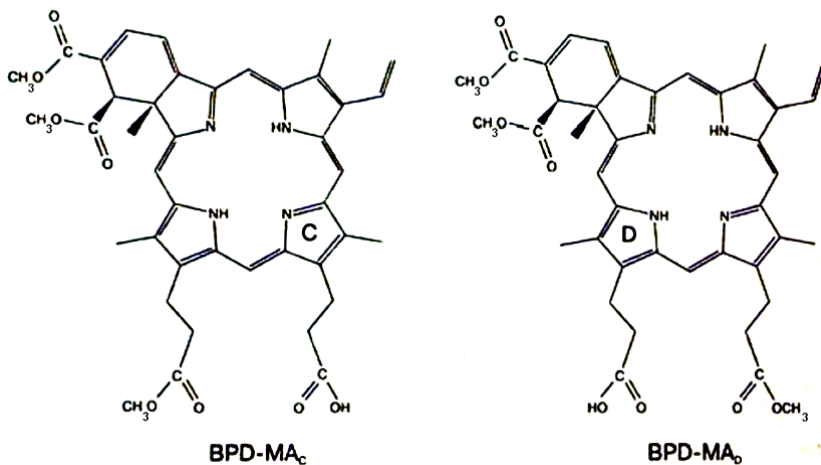


Рис. 2.61. Хімічна структура вертепорфіну

Він активно поглинає червоне світло з довжиною хвилі 689 нм, яке глибоко проникає в тканини, і зокрема проходить через кров, рідини, меланін та фіброзну тканину. При цьому низька потужність використовуваного джерела світла гарантує безпеку опромінюваних тканин.

*In vivo* вертепорфін швидко метаболізується в неактивні форми і виводиться протягом не більше 24 годин.

Випускається візудін у формі стерильного ліофілізованого порошку для ін'єкцій зеленого кольору на ліпідній основі й зберігається за кімнатної температури (20–25 °С) у захищеному від світла місці. Розчиняється він у 7 мл води для ін'єкцій: загальний об'єм розчину становить 7,5 мл за концентрації вертепорфіну 2,0 мг/мл.

Згідно з розрахунковими даними, необхідний об'єм цього розчину надалі змішують із 5%-м розчином глюкози й остаточний об'єм становить 30 мл, містячи 6 мг/м<sup>2</sup> діючої на поверхні тіла речовини. Потрапляння ж сонячного світла на препарат виключене.

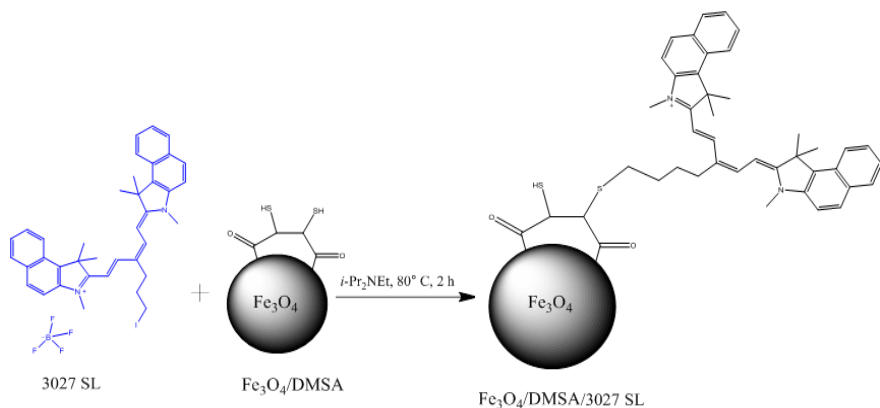
### **2.12.3. Синтез та властивості магніточутливих нанокompозитів для фотодинамічної терапії**

З метою створення магніточутливих нанокompозитів із багаторівневою ієрархічною наноархітектурою та функціями придатних для використання при ФДТ медико-біологічних нанороботів нами було синтезовано нанокompозити типу ядро–оболонка, що містять магнетит із модифікованою димеркаптосукциновою кислотою поверхнею (див. 2.4.3) та індоціанінові барвники ІБ3207 і ІБ3428 та досліджено їхні флуоресцентні властивості.

Як розчинник використовували ацетонітрил, а каталізатором реакції взаємодії барвника та композиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ДМСК слугував дізопропіламін.

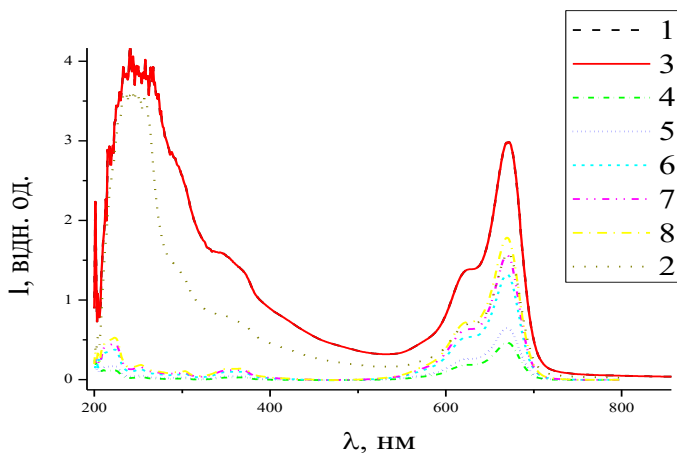
Суміш нагрівали до температури 60–80 °С, а осад відфільтровували на центрифугі (5,5 тис. обертів протягом 15 хв).

На рис. 2.62 наведено схему взаємодії поверхні композиту з барвником 3207.



**Рис. 2.62.** Схема модифікування нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$  барвником 3027

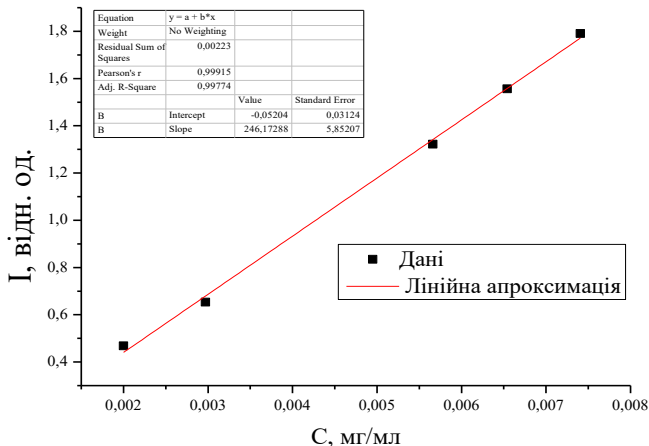
З метою визначення кількості барвника, що приєднується до поверхні композиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$ , нами було досліджено спектри залежності інтенсивності поглинання від концентрації барвника (рис. 2.63) та побудовано калібрувальний графік (рис. 2.64).



1 – 0,0017; 2 – 0,00148; 3 – 0,001; 4 – 0,002; 5 – 0,00297; 6 – 0,00566; 7 – 0,006542; 8 – 0,007407

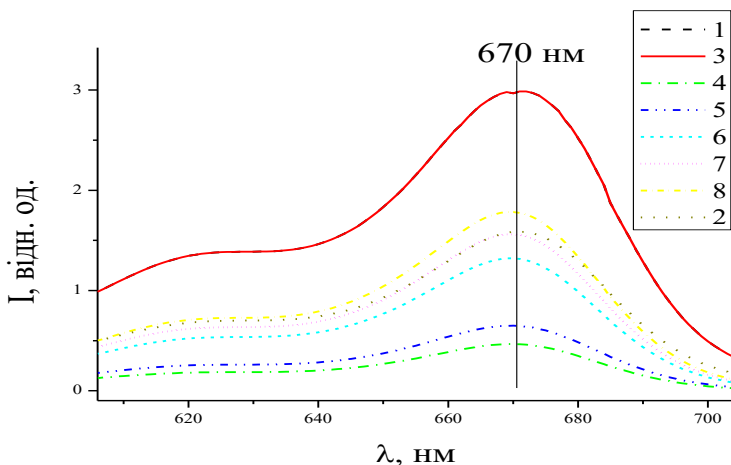
**Рис. 2.63.** Спектри поглинання розчинів барвника 3027 різних концентрацій, мг/мл





**Рис. 2.64.** Калібрувальний графік барвника 3207

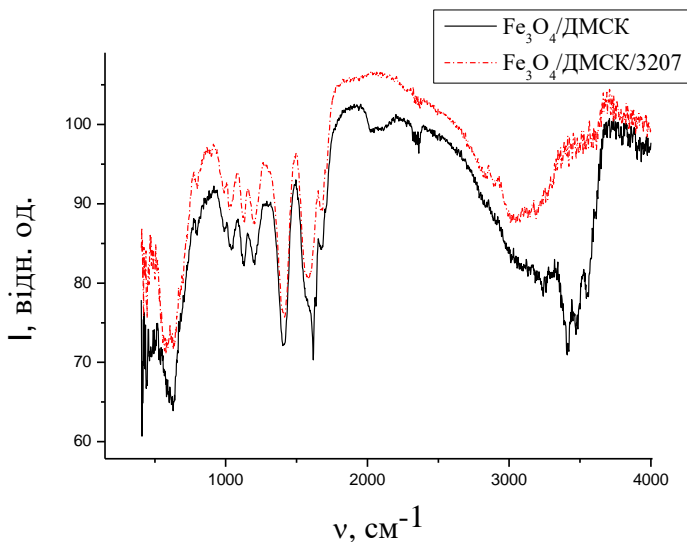
На рис. 2.65 наведено спектри поглинання барвника 3207 (фільтрату) після проведення реакції з модифікування композиту різними концентраціями цього барвника: виходячи з фактичної кількості останнього, визначали, яка його частина адсорбувалася на композиті.



1 – 0,0017; 2 – 0,00148; 3 – 0,001; 4 – 0,002; 5 – 0,00297; 6 – 0,00566;  
7 – 0,006542; 8 – 0,007407

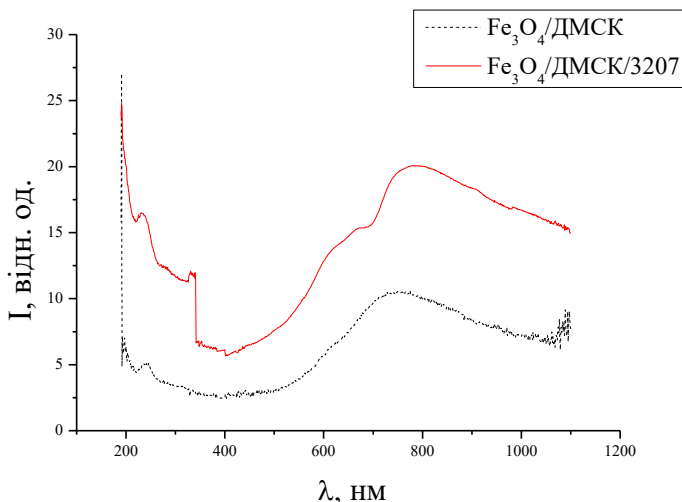
**Рис. 2.65.** Спектри поглинання барвника 3207 після модифікування нанокompозиту  $Fe_3O_4/DMCK$ , мг/мл

На рис 2.66 зображено інфрачервоний спектр розчину після модифікування барвником. З ІЧ-Фур'є-спектрів видно, що внаслідок приєднання барвника до поверхні магнетиту з'являються нові смуги поглинання (СП) в області 3220–3560  $\text{cm}^{-1}$ , які можна віднести до валентних коливань ОН-груп.



**Рис. 2.66.** Інфрачервоний спектр розчину барвника 3207 (фільтрату) після модифікування нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{DMCK}$

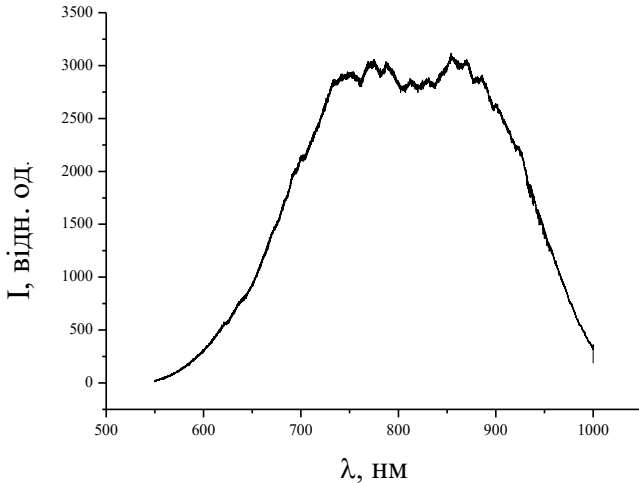
Разом з тим, з аналізу ІЧ-спектру нанокompозиту не можна зробити однозначного висновку про приєднання барвника до поверхні магнетиту. Це пов'язано з перекриттям СП барвника та композиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{DMCK}$ , а також, імовірно, низькою інтенсивністю смуг барвника в ІЧ-області. Тож задля підтвердження факту закріплення барвника на поверхні модифікованого ДМСК магнетиту нами було досліджено спектри дифузного відбиття високодисперсних нанокompозитних матеріалів складу  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{DMCK}/\text{B3207}$  (рис. 2.67) у видимій області, і саме СП зразків в області 690 нм засвідчили закріплення барвника на поверхні цього магнетиту, причому для порівняння дослідили й спектр дифузного відбиття вихідного композиту, в якому така смуга відсутня.



**Рис. 2.67.** Спектр дифузного відбиття композиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}$  та композиту з барвником  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/3207$

Задля ж підтвердження факту закріплення на поверхні модифікованого меркаптосиланом магнетиту барвника 3428 вивчили спектри дифузного відбиття наноструктур  $\text{Fe}_3\text{O}_4/(\text{CH}_2)_3\text{-SH}/\text{IB3428}$  у видимій області й визначили, що у досліджених зразках спостерігається СП, яка відповідає закріпленому барвнику ( $\lambda_{\text{макс}} = 780$  нм).

Також нами було експериментально встановлено, що у нанокompозиті складу  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{ДМСК}/3207$  спостерігається явище фотолюмінесценції. Так, за довжини хвилі збудження 514,5 нм відбувається інтенсивне випромінювання, пов'язане з активністю індоціанінового барвника (рис. 2.68).



**Рис. 2.68.** Спектр флюоресценції нанокompозиту  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{DMCK}/3207$  ( $\lambda$  збудження  $514,5$  нм;  $P = 100$  мВт)

Як видно з даних рис. 2.68, інтенсивність флюоресценції іммобілізованого на композиті барвника при збудженні лазером за довжини збуджуючої хвилі  $\lambda = 514,5$  нм становить 3030 в.од., а при використанні лазера з  $\lambda = 325,5$  нм інтенсивність флюоресценції є вкрай низькою – менше 10 в.од. Тож враховуючи спектри поглинання барвника 3207 у видимій області ( $\lambda_{\text{макс}} = 690$  нм), для досягнення максимального рівня флюоресценції видається логічним використовувати лазер з довжиною хвилі, більшою 600 нм, оскільки наявний при цьому Стоксів зсув характеризується зменшенням частоти випромінювання тіла порівняно з частотою поглинутого світла.

За даними фізико-хімічних досліджень синтезованих нанокompозитів можна зробити висновок про перспективність їх практичного застосування для спрямованої доставки терапевтичних та діагностичних лікарських засобів, агентів гіпертермічної терапії та фотосенсибілізаторів для фотодинамічної терапії, здатних до флюоресценції у ближній ІЧ-області спектру [154].

### 2.13. Напрями практичного впровадження результатів досліджень

З метою практичного використання отриманих результатів та впровадження відповідних розробок [37, 155–158] спільно з ІЕПОР

ім. Р. Є. Кавецького НАН України нами на сьогодні проводяться доклінічні дослідження нової магніточутливої лікарської форми онкологічного препарату. Розроблено тимчасовий технологічний регламент на виробництво речовини «Магнетит У» [159], яка є нанорозмірним монодоменим  $Fe_3O_4$  та може слугувати субстанцією для лікарських засобів на основі досліджених наноструктур. Регламент передано на Калуський дослідно-експериментальний завод ІХП НАН України.

Нижче наводимо авторську схему технології синтезу магнітної рідини на основі нанорозмірного магнетиту (містить лікарський препарат цитостатичної дії та є основою нової лікарської форми) відповідно до послідовності технологічних стадій і операцій та методів дослідження її властивостей, а також характеристизації і стандартизації параметрів [160].

Ця технологічна методика синтезу векторної системи – яка є магнітокерованою лікарською формою хіміотерапевтичної протионкологічної дії на основі магнітних рідин, що містять нанорозмірний однодомений магнетит із модифікованою поверхнею та лікарський цитостатичний препарат – складається з наведених на рис. 2.69 етапів, а саме:



**Рис. 2.69.** Схема технології одержання магнітокерованої лікарської форми [160]

Ефективність лікарської форми на основі магнітної рідини при застосуванні як *in vitro*, так і *in vivo* становить, порівняно з ефектом від традиційного використання цисплатину в терапевтичних дозах, ~ 150 – 200%.

На кожному етапі синтезу магнітної рідини на основі нанорозмірного  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  для нової форми цитостатичного лікарського засобу нами здійснювався контроль за фізико-хімічними і магнітними властивостями розроблених зразків колоїдних систем.

Для контролю за цими параметрами використовували методи рентгенофазового і термогравіметричного аналізів, рентгенівської фотоелектронної спектроскопії та трансмісійної електронної мікроскопії, вібраційної магнітометрії тощо.

### **2.13.1. Контроль за розподілом частинок за розмірами та реакційною здатністю магнетиту**

Нами також досліджено ансамблі наночастинок магнетиту (НЧМ), отримані при молярному співвідношенні іонів  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+} = 1/2$ .

Реакцію Елмора при зазначеному співвідношенні катіонів забезпечували за кімнатної температури і різних (від 0,05 до 0,25 М) фіксованих значень молярної концентрації іонів  $\text{Fe}^{2+}$  у розчині та отримували частинки  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  зі значенням середньої арифметичної діаметра  $d_0$  від  $10,0 \pm 2,8$  до  $14,6 \pm 3,2$  нм.

Надалі нами за фіксованих температур реакційного розчину 20 і 50 °С та молярної концентрації іонів  $\text{Fe}^{2+}$ , що приблизно дорівнює 0,1 М, було синтезовано зразки НЧМ-20 і НЧМ-50 із  $d_0$  10,8 і 9,8 нм відповідно [161].

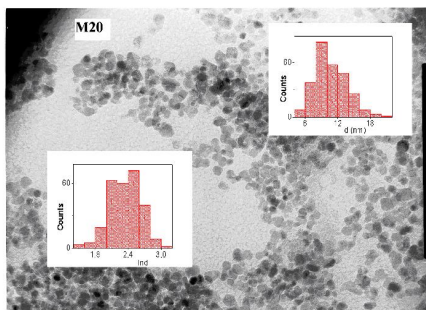
У табл. 2.25 наведені статистичні параметри ансамблів М20 (рис. 2.70, а) і М50 (рис. 2.70, в) зі зразків НЧМ-20 і НЧМ-50 відповідно.

Згідно з емпіричними функціями імовірності (рис. 2.70, б, г, криві 2), розподіл за діаметрами НЧМ-20 близький до логнормального (з нормальним розподілом логарифмів діаметрів частинок), а НЧМ-50 за діаметрами розподілений майже нормально.

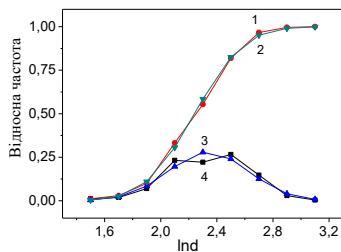
Отже, аналіз розподілів таких НЧМ може слугувати засобом перевірки гіпотез про характер їх росту в процесі хімічної конденсації.

У цій області розмірів частинки магнетиту за кімнатної температури перебувають у суперпарамагнітному стані й характеризуються практично нульовою залишковою намагніченістю  $M_r$ .

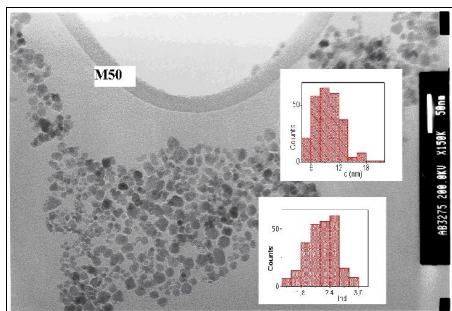
Така наявність суперпарамагнетизму є важливою для медико-біологічних застосувань: наприклад, при спрямованому транспортуванні лікарських препаратів кровоносними судинами малих діаметрів, коли агрегація наночастинок є вкрай небажаним явищем.



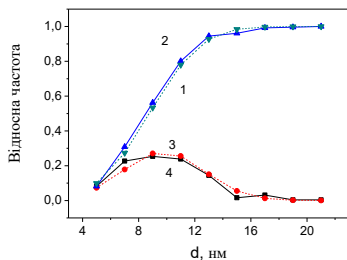
*a*



*б*



*в*



*г*

*a, в* – ПЕМ-зображення ансамблів M20 і M50 відповідно; *б, г*, криві 1) – нормальні функції імовірності, криві 2 – емпіричні функції імовірності, криві 3 – щільності імовірності, криві 4 – полігони частот логарифмів діаметрів частинок ансамблів M20 і M-50 відповідно

**Рис. 2.70.** Ансамблі НЧМ-20 і НЧМ-50 зі зразків НЧМ-20 та НЧМ-50

**Таблиця 2.25.** Статистичні параметри ансамблів наночастинок M20 і M50

Зразок/ансамбль	$N$	$d_0$ , нм	$\sigma_d$ , нм	$(\ln d)_0$	$\sigma_{\ln d}$
НЧМ-20/M20	271	10,78	2,93	2,34	0,28
НЧМ-50/M50	256	9,76	2,91	2,23	0,30

*Примітка.*  $N$  – кількість частинок в ансамблі;  $d_0$  і  $(\ln d)_0$  – середнє арифметичне діаметра і його логарифма відповідно;  $\sigma_d$  і  $\sigma_{\ln d}$  – відповідно, середньоквадратичне відхилення (СКВ) діаметра і його логарифма відповідно.

Дифракційні максимуми – 98% у НЧМ-20 і зразка порівняння  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  – відповідають кристалічній фазі магнетиту JCPDS No. 19-0629.

Статистичний аналіз ПЕМ-зображень НЧМ здійснювали з використанням функції нормального розподілу  $F(x)$  за законом Гаусса–Лапласа) і щільності її  $F$ -розподілу відповідно:

$$F(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^x e^{-\frac{t^2}{2}} dt, \quad F'(x) = f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{x^2}{2}}, \quad (2.54)$$

де  $t = [x - M(x)]/\sigma_x$ ;  $M(x)$  і  $\sigma_x$  – математичне очікування і СКВ величини  $x$  відповідно. Ця нормована випадкова величина  $t$  пов'язана з функцією помилок Лапласа співвідношенням  $F(t) = \text{Erf}(t/2^{0.5})$ .

Для забезпечення ж необхідної реакційної здатності нанорозмірного магнетиту концентрація хімічно активних гідроксильних груп на його поверхні має становити 19–24 мкмоль/м<sup>2</sup> (1,7–2,2 ммоль/г). Цих значень необхідно дотримати, аби забезпечити магнітному колоїдові необхідну стійкість.

З метою ковалентного приєднання необхідної кількості олеату натрію до хімічно активних гідроксильних груп поверхні магнетиту необхідно було їх кількісно визначити – що нами й здійснювалося методом термогравіметричного аналізу. А питому поверхню магнетиту контролювали методом термодесорбції азоту.

### **2.13.2. Стабілізація наночастинок магнетиту олеатом натрію**

Частинки магнетиту стабілізували олеатом натрію ( $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N} = \text{N}(\text{CH}_2)_7\text{CO} - \text{ONa}$ ) шляхом їх постійного перемішування за температури 80 °С протягом години. Стабілізація відбувалася за рахунок хемосорбції молекул олеату натрію на поверхні магнетиту.

Одержана магнітна рідина характеризується відповідними розмірами стабілізованих наночастинок, намагніченістю насичення, седиментаційною стабільністю, густиною та величиною динамічної в'язкості.

Необхідну ж для модифікування поверхні магнетиту кількість наважок олеату натрію розраховували з урахуванням концентрації гідроксильних груп на поверхні магнетиту.

### **2.13.3. Контроль за розподілом частинок за розмірами і об'ємами**

Важливість отримання заданого розподілу наночастинок магнітної рідини за розмірами обумовлена розмірною залежністю магнітних властивостей магнетиту. В [161] встановлено, що умовою знаходження наночастинок у суперпарамагнітному стані є обмеження їх діаметрів



розмірами:  $4 < d < 20$  нм. Наночастинки при цьому характеризуються практично нульовою залишковою намагніченістю ( $M_r$ ).

Одержані розподіли наночастинок за розмірами (рис. 3.70) дозволяють охарактеризувати синтезовану магнітну рідину на основі магнетиту, як полідисперсію з поверхневим шаром олеату натрію  $16,8 \pm 2,9$  нм.

Гіпсометричну висоту МР ( $L$ ), яка є мірою термодинамічної седиментаційної стійкості (ТСС) розраховували за методикою, наведеною в [161]. Для цього еталонні зразки МР, розведені водою у 10 та 20 разів, досліджували в процесі зберігання в скляному посуді за температури  $10\text{--}25$  °С (7–12 місяців). Визначено, що колоїдна система є стабільною, осадження не спостерігалось протягом року. Експериментальна величина  $L$  з відносною похибкою 10% збігається з розрахованими значеннями. Велика похибка, вірогідно, пояснюється малим часом спостереження, який  $\ll T_b$  (див. 2.10.1).

В'язкість ( $\eta$ ) концентрованих магнітних рідин визначали за допомогою лабораторного віскозиметра (час витікання рідини через скляний капіляр складав  $\approx 300$  с). В'язкість розбавлених МР розраховували за формулою Ейнштейна [161]:  $\eta/\eta_0 = 1 + 5\varphi/2$ , де  $\eta_0$  - в'язкість несучої рідини ( $\eta_0$  води становить 0,890 мПа·с при температурі 25 °С).

Густина магнітної рідини ( $\rho_{MR}$ ) визначали методом гідростатичного зважування; вона становила  $1,14$  г/см<sup>3</sup>  $\pm 1,0\%$ .

Результати контрольних вимірювань фізико-хімічних і магнітних властивостей на кожному етапі синтезу магнітної рідини для нової форми цитостатичного лікарського засобу стали основою її стандартизації.

Однак у подальшому необхідно виконати значний обсяг робіт, покликаних оптимізувати повний технологічний цикл виготовлення медико-біологічних нанокомпозитів та магнітних рідин на їх основі, завершити доклінічні й здійснити клінічні дослідження, вирішити комплекс питань, пов'язаних із токсикологічними аспектами, стандартизацією, виробництвом тощо. Для успішного розв'язання усіх цих проблем потрібні належні інвестиції.

#### **2.13.4. Впровадження результатів досліджень у навчальний процес**

Крім наукового, практичного та методологічного, дослідження з нанотематики мають ще й навчальне значення. Важливим завданням є підготовка профільних фахівців вищої кваліфікації [162]. Так, матеріали вищеокреслених досліджень були отримані за участю молодих науковців і

війшли в три кандидатські дисертації [163–165]. Видано навчальні посібники [15], [167], [168], які, по суті, відображають впровадження в освітній процес вітчизняної вищої школи (у т.ч. на кафедрі біоінформатики факультету біотехнології і біотехніки та на кафедрі біомедичної інженерії факультету біомедичної інженерії Національного технічного університету «КПІ імені Ігоря Сікорського» тощо) результатів новітніх наукових досліджень із нанотематики [3, 4, 14], виконаних у Національній академії наук України за відповідними напрямками, які успішно розвиваються [139, 140, 166–174]. Так, наприклад, головною метою посібника [15] були теоретичне висвітлення й опис основних експериментальних стадій створення біофункціоналізованих магніточутливих наноматеріалів і поліфункціональних нанокомпозитів, сприяння формуванню у студентів практичних навичок у галузі новітніх нанотехнологій. Посібник пройшов незалежну експертизу й отримав гриф Міністерства освіти і науки України. Він базується на найактуальніших прикладах синтезу, дослідження та застосування нанокомпозитів у галузях медицини, біології і біотехнології, а наведені в ньому наукові дані, цикл лабораторних робіт та методичні вказівки можуть бути використані викладачами і студентами провідних ВНЗ України у рамках навчальних програм за відповідними спеціальностями.

## 2.14. Висновки

Проблема створення нанороботів, і зокрема для медико-біологічних застосувань, на сьогодні є дуже актуальною і розробляється у провідних наукових лабораторіях світу. Відповідний науково-прикладний напрям – невід’ємна складова сучасного науковотехнічного прогресу, і в т.ч. у медицині, біології та біотехнології. Так, концепція хімічного конструювання магніточутливих нанокомпозитів із багаторівневою ієрархічною архітектурою та функціями нанороботів вже визнана беззаперечно перспективною й отримала належне експериментальне обґрунтування.

Матеріали відповідних наукових джерел і наведені у цьому розділі дані засвідчують, що вітчизняні дослідження за висвітленим вище напрямом у багатьох своїх аспектах перебувають на передових рубежах світової науки. Це стало можливим завдяки тісній творчій співпраці у відповідних міждисциплінарних галузях між дослідниками з НДІ НАН України (і зокрема з Інституту хімії поверхні ім. О. О. Чуйка, Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького, Інституту металофізики ім. Г. В. Курдюмова,

Інституту проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича та ін.), а також Інституту гематології та трансфузіології НАМН тощо.

Прикметно також, що відображені в цьому розділі дослідження було, зокрема, виконано у рамках базових цільових комплексних програм фундаментальних досліджень НАН України «Фундаментальні проблеми наноструктурних систем, наноматеріалів, нанотехнологій» та «Фундаментальні проблеми створення нових речовин і матеріалів хімічного виробництва».

На завершення розділу висловлюємо щиру подяку всім співробітникам ІХП НАН України та цілій низці інших колег, які брали участь у вищезокреслених дослідженнях, за плідну співпрацю.

## РОЗДІЛ 3. Біогенний наномагнетизм у біотехнології та медицині

### Вступ. Біомагнетизм і біогенні магнітні наночастинки

У 1791 р. *Л. Гальвані* відкрив, що м'язові скорочення кінцівок препарованої жаби можуть спричинятися електричним імпульсом. Це відкриття було першим поштовхом до виникнення сучасних уявлень про живі організми як біоелектричні системи, в яких електричні поля та електричні сили використовуються на всіх рівнях їх організації та функціонування – молекулярному, клітинному, організму в цілому (наприклад, при взаємодії заряджених біомолекул, виникненні біоелектричних потенціалів у тканинах та клітинах, передачі нервових імпульсів тощо). У зв'язку з цим виник термін *біоелектрика*, який охоплює широке розмаїття електричних явищ у живих організмах. На сьогодні очевидно, що біоелектричні явища генетично запрограмовані, з'явилися одночасно із зародженням життя і є невід'ємною складовою процесів метаболізму.

Разом з тим, магнітні поля, що супроводжують електричні процеси в організмах, надзвичайно малі, причому навіть порівняно з величиною магнітного поля Землі, а тому біомагнітні явища, пов'язані з власними магнітними полями живих організмів, раніше розглядали, на відміну від біоелектричних, переважно у зв'язку з розробленням тих чи інших засобів діагностики, але не з метою дослідження впливу цих явищ на метаболізм. Такий погляд на біомагнітні явища виник унаслідок як згаданої вище малої величини власних магнітних полів під час перебігу біоелектричних явищ в організмах, так і дуже слабкого відгуку тканин і організмів у цілому на магнітні поля [1, 2].

Цей стереотип зберігався ще впродовж чотирьох десятиліть навіть після відкриття *Р. Блекмором* у 1975 р. в бактеріях сильних природних внутрішньоклітинних нанорозмірних магнітів (біогенних магнітних наночастинок) [3], синтез яких, як виявилось, генетично запрограмований і здійснюється самими мікроорганізмами. Бактерії, які синтезують ланцюжки біогенних магнітних наночастинок, було названо *магнітотаксисними бактеріями* (з огляду на можливе функціональне призначення таких природних магнітів – таксис, а саме орієнтування руху бактерій у напрямку силових ліній геомагнітного поля аналогічно стрілки компаса).

Ідея про магнітотаксис була дуже прогресивною і сприяла тому, що в багатьох наукових центрах світу розпочалися інтенсивні дослідження цього явища в різних мікроорганізмах, і зокрема дослідження самого процесу створення таких природних магнітів, й у т.ч. на генетичному

рівні. Після того ж, як БМН було виявлено в багатоклітинних організмах [4, 5], ідею про магнітотаксис, як основну їх функцію, було трансформовано в ідею про важливу роль БМН у магніторецепції (відчутті організмами магнітних полів, і в т.ч. магнітного поля Землі). Цю останню ідею глибоко вивчали і продовжують вивчати, але однозначного експериментального підтвердження знайдено не було – навіть під час дослідження орієнтації перелітних птахів у геомагнітному полі [6], не кажучи вже про людину.

Разом з тим, у дослідженнях [7, 8] при з'ясуванні ролі БМН у живих організмах вперше було використано притаманну БМН, як сильним природним магнітам, властивість створювати в своєму околі магнітні поля, майже в 10 тисяч разів більші за магнітне поле Землі. Це дозволило обґрунтувати механізм впливу власного магнітного поля БМН на біохімічні процеси в клітинах і виявити генетичний механізм, який керує процесом біомінералізації БМН [7–9]. Цей генетичний апарат, єдиний у представників усіх царств живих організмів, ґрунтується на генах, які походять від спільного предка на зорі еволюції, ще до появи багатоклітинних організмів, і належить до ключових механізмів, що становлять основу функціонування всього живого.

Згідно з цією концепцією [8–10], альтернативною до гіпотези про магнітотаксис та магніторецепцію, біомагнітні явища, як і біоелектричні, є важливою складовою функціонування живих організмів. Це пояснює, зокрема, відомі дані про підвищену кількість БМН при нейродегенеративних [11–14] та онкологічних [15] захворюваннях і атеросклерозі [16], тому подальші дослідження в цьому напрямку є перспективними для діагностики й лікування цих та низки інших хвороб із застосуванням магнітних технологій, і в т.ч. із використанням природних магнітних властивостей живих організмів. Така концепція формує новий погляд на БМН та біомагнетизм із позицій існування єдиного генетичного механізму їх біомінералізації і, відповідно, важливих функцій БМН, що ґрунтуються на впливі їхніх власних магнітних полів на біохімічні процеси, мембранне транспортування та міжклітинну взаємодію у представників усіх царств живих організмів.

### **3.1. Біогенні магнітні наночастинки (БМН)**

Організми володіють генетично запрограмованою здатністю синтезувати широкий спектр мінералів та інших неорганічних матеріалів [17]. Зокрема, інтерес до біосинтезу залізовмісних біогенних магнітних наночастинок пов'язаний з їхніми магнітними властивостями. Так, у 1962 р. *Х. А. Ловенстам* вперше виявив біохімічно осаджений магнетит у

радулах хітонів і продемонстрував біологічне походження цього матеріалу [18, 19]. Об'єктом же інтенсивних досліджень біогенні магнітні наночастинки стали з 1975 р. коли вони вперше були виявлені у магітотаксисних бактеріях [3, 20]. З того часу БМН були виявлені у низці організмів, які належать до усіх трьох надцарств: прокариотів, архей та еукаріотів (табл. 3.1, 3.2). Зокрема, кристалічні БМН формуються в процесі біомінералізації та представлені нанокристаллами антиферомагнетиків або феритів – магнетиту, магеміту, грейгіту та ін. (табл. 3.1) [15, 17, 21, 22]. Численні публікації [17, 23–27] засвідчили, що БМН є нанокристаллами феритів, а саме магнетиту, магеміту, грейгіту та ін. Оскільки ферити – це мінерали (тобто неорганічні речовини з кристалічною структурою), то контрольований на генетичному рівні біосинтез цих сполук назвали *біомінералізацією БМН*.

З погляду магнітних властивостей, БМН існують у двох формах: без залишкової намагніченості (антиферомагнітні БМН і феритові БМН в суперпарамагнітному стані (SP)) та із залишковою намагніченістю (феритові БМН в однодоменному (SD) і багатодоменному (MD) станах). Як правило, феритові одно- та багатодоменні БМН не лише характеризуються дуже чутливим відгуком на прикладене зовнішнє магнітне поле, а й є постійними мікро- та наномагнітами – оскільки мають залишкову намагніченість у широкому діапазоні температур (табл. 3.1) і створюють поблизу себе, як вже зазначалося вище, неоднорідне магнітне поле величиною, приблизно на 4 порядки більшою за магнітне поле Землі.

**Таблиця 3.1.** Магнітні наночастинки в живих організмах [28]

№	Оксид	Хімічна структура	Магнітна структура	$T_C$ , К	$T_B$ , К	Намагн-ть насичення $A \cdot m^2 \text{ kg}^{-1}$	Посилання
1	Магнетит	$Fe_3O_4$	Феримагнітний	850		92–100	[23]
2	Магеміт	$\gamma\text{-}Fe_2O_3$	Феримагнітний	820		60–80, 56–74	[24]
3	Гематит	$\alpha\text{-}Fe_2O_3$	Феримагнітний	956		0,3–0,4	[25]
4	Феригідрит	$Fe_3HO_8 \cdot 4H_2O$	Суперантиферомагнітний	$\sim 350^{a, b, c}$	70	$1,19 \cdot 10^{-4}$	[26]
5	Акагеніт	$\beta\text{-}FeOFe(OH)$	Антиферомагнітний	$\sim 290^a$		3–14	[29]
6	Вюстит	$FeO$	Антиферомагнітний	$\sim 203^a$		~?	[29]
7	Грейгіт	$Fe_3S_4$	Феримагнітний	<625		59	[27]
8	Гетит	$FeOOH$	Парамагнітний				[17]

<sup>a</sup> –  $T_N$  (температура Нееля); <sup>b</sup> – температура двохлінійчастих частинок; <sup>c</sup> – 300 К

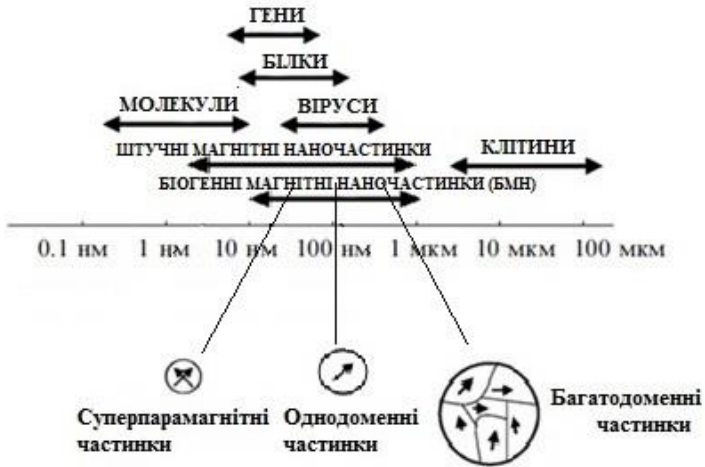
На сьогодні питання, які ще біологічні функції, крім навігації та магніторецепції, мають БМН як у магнітотаксисних бактерій, так і у інших організмів, є актуальним. Зокрема, у магнітотаксисних бактерій (МТБ) генетичне програмування біомінералізації БМН вивчено детально та виявлені білки, які контролюють процес біомінералізації [30, 31]. При цьому хімічний синтез магнітних наночастинок у лабораторних умовах, як вже зазначалося, можливий за умов високих температур і тисків, а також високих значень рН середовища [32].

Ще більші експериментальні труднощі при неорганічному синтезі пов'язані з отриманням магнітних наночастинок однакових форми і розміру. Водночас, для реакцій, що відбуваються у живих організмах, характерна висока специфічність, яка забезпечується структурно-функціональними особливостями ферментів, що їх каталізують. Цим зумовлена здатність таких організмів утворювати кристали БМН за кімнатної температури і нормального тиску та при значеннях рН середовища, близьких до нейтрального. І понад те, завдяки генетичному контролю за процесами активації і регуляції цих твердофазних реакцій, у низки організмів утворюються БМН із заданими розмірами і морфологією кристалів [17, 25, 27]. Особливості, пов'язані з хімічною, стерео- і кристалографічною специфічностями реакцій, що призводять до утворення кристалів в живих організмах, потребують вивчення і пояснення, оскільки дані про цю нову групу твердофазних реакцій можуть виявитися корисними при розробці та створенні нових матеріалів для біомедичного та технічного призначень.

Живі організми, збудовані з клітин, мають типовий розмір 10 мікрон. Водночас, об'єкти, що входять в клітину, є набагато меншими і мають розмір менше 1 мікрона. Важливим і суттєвим для медицини і біотехнології є те, зокрема, біогенні магнітні частинки мають керовані розміри в межах від часток до сотень нанометрів [3, 20, 33–36] та навіть до декількох мікрометрів. Такі біогенні частинки можна порівняти з розмірами біологічних об'єктів: клітин (10–100 мкм), вірусів (20–450 нм), протеїнів (5–50 нм) та генів (близько 2 нм у поперечному вимірі та 10–100 нм у довжину). БМН за своїми розмірами займають проміжне становище між окремими молекулами і клітинами (рис. 3.1) [37].

Понад 30 років увагу дослідників привертає фізіологічне походження БМН в органах та тканинах людини. Ця проблема є дуже важливою, оскільки підвищений рівень БМН пов'язаний із низкою захворювань людини (включно з нейродегенеративними розладами, онкологічними захворюваннями та атеросклерозом) [11, 16, 38, 39]. У зв'язку з цим актуальною задачею є розробка методів виявлення БМН, дослідження їх фізіологічного походження і властивостей, умов

підвищеної експресії генів біомінералізації БМН, локалізації у клітинах та їхніх функцій (як у нормі, так і при різних патологіях). Ця задача є особливо актуальною у зв'язку з недавнім відкриттям єдиного генетичного механізму біомінералізації БМН у представників всіх трьох надцарств живих організмів [8]: бактерій, архей та еукаріотів. Донедавна в літературі існувала лише одна гіпотеза щодо фізіологічного походження БМН, згідно з якою феригідрит ядра феритину є попередником біогенного магнетиту. І, дійсно, було експериментально доведено, що феригідрит у магнітосомних везикулах є перехідним мінералом для формування магнетиту в клітинах магнітотаксисних бактерій [40] і у хітонах [17]. Водночас, не було доведено експериментально, що феритин бере участь у біомінералізації БМН.



**Рис. 3.1.** Розміри біогенних магнітних частинок і деяких біооб'єктів

### 3.2. Фізико-хімічні властивості бмн

БМН виявлено в багатьох прокариотах, археях і еукаріотах (рис. 3.2, табл. 3.2) [3, 4, 18, 20–22, 41–45, 47].

БМН експериментально виявлено у водоростях і найпростіших [48], черв'яках [43], хітонах [18], равликах [49] мурахах і метеликах [50–52], медоносних бджолах [41, 51], термітах [42], омахах [53], тритонах [54], рибах [44, 55–60], морських черепахах [4, 61], птахах [62–65], кажанах [66], дельфінах і китах [5] та людині [15, 34, 67–72] (табл. 3.1). Крім того, БМН виявлено, наприклад, у сенсорних органах кажана [66], нюховому епітелії форелі [57] та антенах мурах [50].



## Дерево життя

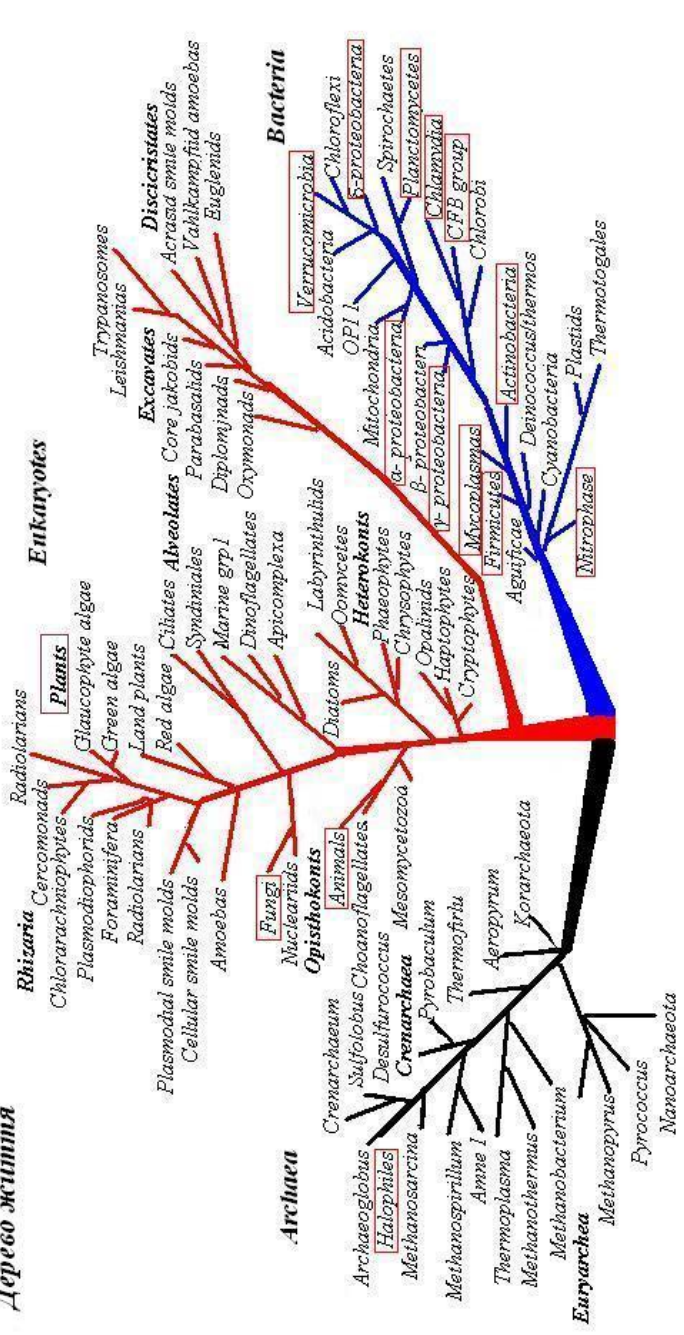


Рис. 3.2. Дерево життя (таксони, в яких експериментально виявлено БМН, обведені червоною рамкою (табл. 3.1) [3, 4, 17, 18, 20-22, 41-45, 47]

**Таблиця 3.2.** Властивості БМН в різних організмах [28]

№ з/п	Організм	Мінерал/ аморфний матеріал	Розмір, нм	Форма контро- льована(+) / інша(-)	Стан домену всередині(+) /ззовні(-)	Локалізація			Посилання
						Клітина: У лан- цюжку(+) /інша(-)	Зв'язана з мембраною(+) /інша(-)		
1	Магнітогак- сисні бактерії	Магнетит або грейт	10–40, 35–120	+	SD	+	+		[3, 20, 33–36]
2	Немагнітогак- сисні бактерії	Магнетит, грейт, ледідо- кротт, аморфний матеріал	–	–	SD, SPM	+, –	+, –		[45]
3	Археї	Магнетит	~100*	–	SPM	+	–		[45]
4	Водорості (найпростіші)	Магнетит			SD				[73]
5	Черви	Магнетит	~20		SPM				[43]
6	Хітони	Магнетит			SD				[74]
7	Равлики	Грейт			SD				[49]
8	Медоносні бджоли, метелики, мурахи	Магнетит	500*– 1000*	–	SD	+	–		[41, 51, 52]
9	Терміти	Магнетит	~10	–	SD, SPM		–		[42]
10	Омари	Магнетит			SD				[53]
11	Тритони	Магнетит			SD				[54]

12	Риби	Магнетит	25–60	–	SD		+		[44, 56, 75, 76]
13	Морські черепахи	Магнетит							[61]
14	Птахи	Магнетит, маггеміт	~1000*	+, –	SPM, SD	+	+, –	+	[4, 62, 77, 78]
15	Кажани	Магнетит			SD				[66]
16	Дельфіни, кити	Магнетит			SPM, SD, MD				[5]
17	Людина	Магнетит, маггеміт, гематит	<~1000	–	SPM, SD, MD	+	+	+	[67, 68, 69, 79]

\* цей символ означає, що розміри, наведені в таблиці, можна віднести не до окремих кристалів БМН, а до їхніх кластерів

### 3.2.1. БМН у магнітотаксисних бактеріях. Магнітосоми

На сьогодні БМН експериментально виявлено в низці МТБ (табл. 3.3). Такі магнітотаксисні бактерії синтезують магнітосоми, які містять наночастинки монокристалів магнетиту або грейгіту всередині ліпідного бішару – т.зв. магнітосомної везикули (рис. 3.3) [31, 80, 81], хоча на сьогодні вже відкрито штами МТБ, які здатні до біомінералізації внутрішньоклітинних магнетитових БМН, не вкритих ліпідною мембраною [82]. Магнітосоми в цих бактеріях представлені десятками окремих магнітних наночастинок, які формують ланцюжки вздовж довгої осі бактерій і прикріплені до бактеріальної мембрани [30]. Їхні розміри – від 10 до 40 нм [43], тоді як в інших магнітотаксисних бактеріях – від 35 до 120 [81] та від 10 нм до 135 нм [33, 34]. Як вже зазначалося, БМН зібрані в ланцюжки [3, 20, 21], а їхні форма та кількість у клітині змінюються залежно від роду бактерій [30, 83].

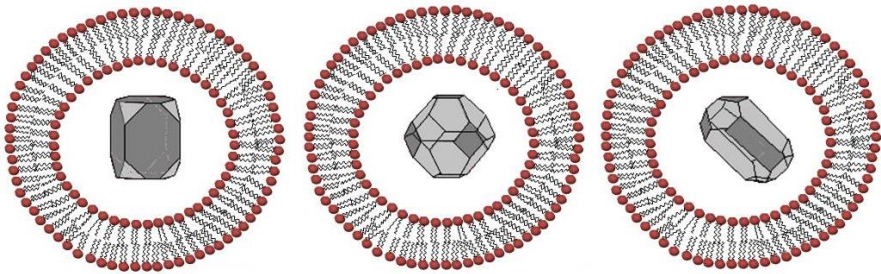
**Таблиця 3.3.** Магнітотаксисні бактерії, в яких БМН виявлено експериментально

№	Назва магнітотаксисної бактерії
1.	<i>Magnetospirillum magneticum AMB-1</i>
2.	<i>Magnetospirillum magneticum MGT-1</i>
3.	<i>Magnetovibrio MV-1</i>
4.	<i>Magnetococcus marinus MC-1</i>
5.	<i>Marine magnetic spirillum QH-2</i>
6.	<i>Magnetospirillum sp. WM-1</i>
7.	<i>Magnetospirillum magnetotacticum MS-1</i>
8.	<i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i>
9.	<i>Magnetotacticum bavaricum</i>

На сьогодні вже побудовано філогенетичне дерево для МТБ, які синтезують грейгітові та магнетитові наночастинки, і доведено [30], що обидва типи МТБ мають спільного предка. Водночас, досі невідомо, який тип магнітних наночастинок був первинним (або ж, можливо, вони існували одночасно).

Біомінералізація наночастинок у магнітосомах відбувається за рахунок накопичення іонів заліза та утворення неорганічних частинок із заданими розмірами та морфологією, які регулюються специфічними білками магнітосомної мембрани [85]. Зокрема, у бактеріях роду *Magnetospirillum* магнітосомна мембрана є бішаром фосфоліпідів, а також, крім них, вона містить низку магнітосом-асоційованих білків [86]. Серед іншого, такі білкові включення виявлено в бактеріях *Magnetospirillum*

*magnetotacticum* та *Magnetospirillum* sp. AMB-1. Магнітосом-асоційовані білки беруть участь у накопиченні іонів металів та утворенні нанокристалів і контролюють рН та окисно-відновний потенціал [86]. Подібні структури виявлено і в таких інших представниках класу магнітотаксисних бактерій, як *Desulfovibrio magneticus* [87], *Geobacter sulfurreducens* [88], *Geobacter metallireducens* GS-15 [89], *Magnetococcus marinus* MC-1 [90] тощо (табл. 3.3).



**Рис. 3.3.** Схематичне зображення БМН всередині магнітосомної везикули – ліпідний бішар і типові форми БМН у магнітотаксисних бактеріях [84]

Через велику кількість заліза, необхідного для біомінералізації магнетиту, МТБ притаманні різні ефективні механізми транспортування Fe. Так, до *M. gryphiswaldense* MSR-1 залізо надходить переважно в тривалентній формі у процесі енергозалежного транспортування через специфічні пермеази [91, 92]. Насичення шляхом поглинання клітинами МТБ заліза і максимальне формування магнетиту виявлені при позаклітинній концентрації заліза 15–20 мкм [93]. Встановлено, крім того, що маса поглинутого  $Fe^{3+}$  в процесі росту тісно пов'язана з мікроаеробною індукцією біомінералізації [94, 95], а також що клітини бактерій роду *Magnetospirillum* здатні накопичувати понад 2% заліза сухої ваги під час формування магнітосом [96].

Магнітотаксисні бактерії мають різну морфологію (форму) як клітин, так і самих біогенних магнітних наночастинок, які вони містять. В цілому їх можна чітко розподілити на дві групи: ті, які містять магнетит ( $Fe_3O_4$ ), і МТБ, що містять грейгіт ( $Fe_3S_4$ ) (і також існує невелика кількість бактерій, які одночасно містять магнетит та грейгіт) [36]. Перші з них зазвичай функціонують у киснево-безкисневій проміжній між багатим і бідним на кисень середовищами перехідній зоні (це мікроаерофільні умови існування), але спостерігаються і випадки, коли такі МТБ здатні до

біомінералізації в анаеробних умовах [89]. Друга група належить до строго визначених анаеробів [97]. А оскільки МТБ дуже чутливі до концентрації кисню, їх складно культивувати в штучних умовах, про що свідчить обмежена кількість чистих культур [98].

МТБ формують біогенні магнітні нанокристали різних форми, розміру та складу, причому найчастіше зустрічаються наночастинки сферичної або овальної форм в однодомному стані [83]. Водночас, безпосередньо ці фізико-хімічні характеристики залежать від виду мікроорганізму і строго регулюються на генетичному рівні всередині відповідного виду.

Для БМН, які продукуються МТБ, характерні такі властивості [83]:

- вузький діапазон розмірів та намагніченості;
- вузький діапазон форм (обмежене співвідношення ширини та довжини);
- хімічна чистота;
- незначні кристалографічні дефекти;
- усічена шести- або ж восьмигранна морфологія кристалів;
- формування приєднаного до мембрани клітини ланцюга з кристалів БМН.

На сьогодні існує декілька стабільних культур, які вдалося культивувати в лабораторних умовах, а саме *Magnetospirillum magnetotacticum* strain MS-1, *Magnetospirillum gryphiswaldense* та анаеробна сульфатредуюча бактерія *Geobacter sulfuredusens* RS-1. Широко вивчаються й дикі штами різних магнітотаксисних бактерій. Це, наприклад, *Magnetotacticum bavaricum*, яка є досить великою (8–10 мкм в довжину) паличкоподібною бактерією, що рухається зі швидкістю 40 мкм/с та містить 5 ланцюгів по 200 наночастинок магнетиту в кожному ланцюгу вздовж її довгої осі. Саме кількістю ланцюгів і частинок у них вона й відрізняється від всіх інших магнітотаксисних бактерій.

Бактерії, які виробляють грейгіт, часто зустрічаються у формі «багатоклітинного магнітного прокаріоту», який складається приблизно з 20 клітин *Magnetovibrio MV-1*. І також на сьогодні виявлено паличкоподібну магнітотаксисну бактерію значної довжини (8 мкм), що містить 2 ланцюги магнітосом по всій довжині своєї клітини [99].

### 3.2.2. БМН у немагнітотаксисних бактеріях та археях

Фенотипові прояви БМН в археях і немагнітотаксисних бактеріях (табл. 3.4, 3.5) та в багатоклітинних організмах відрізняються за низкою характеристик від їхніх аналогів у магнітотаксисних бактеріях. Ці

немагнітотаксисні мікроорганізми не належать до МТБ, оскільки вони не орієнтуються в магнітному полі Землі.

Розрізняють пряму і непрямую дії мікроорганізмів на сполуки тривалентного заліза. Перша притаманна лише деяким організмам (зокрема *Bacillus circulans* і *Pseudomonas*), а друга полягає в тому, що мікроорганізми виділяють продукти обміну: редуруючі сполуки – нітроредуктазу, феріредуктазу та дегідрогеназу, які діють тільки на розчинене залізо, що знаходиться в іонній або комплексній формах; органічні кислоти (масляну та ін.); розчинювальні гідрооксиди заліза; специфічні хелатоутворюючі сполуки, які сприяють вилученню заліза із стійких форм. При цьому серед мікобактерій відомі два типи хелатоутворювачів – водо- і ліпідорозчинні: перші виділяються з клітин, а другі – мікобактини – залишаються всередині клітини. *Хелатизація* – дуже важливий процес: у низці експериментальних робіт доведено утворення залізоорганічних комплексів з окисного та іонного закисного (відновлення Fe з лимоніту маслянокислими бактеріями і псевдомонадами) заліза.

Відновлення заліза супроводжується зміною забарвлення його сполук: охристі, помаранчеві й червонясті гідрооксиди заліза зникають і заміщуються сизо-сірими і оливково-зеленуватими закисними сполуками заліза, а змішані гідрооксиди заліза  $Fe_3(OH)_8$  мають зелено-сірий колір. Сірим є вуглекисле залізо – сидерит, фосфорнокисле залізо – віваніт має сизо-блакитний колір, а при відновленні в сірчановодневому середовищі з'являється чорне колоїдне сірчисте залізо – гідротроїліт (тонкодисперсний моносольфід заліза з адсорбованою водою).

Процес відновлення заліза у безсірчановодневому середовищі (складовими цього процесу є поява сизо-сірих і зеленуватих тонів, безструктурність та ін.) називають обглеюванням, а горизонти ґрунтів або ж порід, в яких виразними є його ознаки – глейовими. Ці останні хімічно індукуються підвищеним вмістом розчинного у воді закисного заліза, а при змінному окисно-відновлювальному режимі – наявністю аморфних форм окисного заліза. Обглеювання розвивається в перезволожених ґрунтах з поганою аерацією, причому максимальним воно є у болотяних ґрунтах, донних відкладеннях евтрофних озер із водозастійним режимом та у водоносних горизонтах. Крім того, у товщах осадових порід і древніх корах вивітрювання часто спостерігаються знебарвлені сизо-сірі або ж забарвлені у сизі й охристі тони горизонти – свідки того, що у минулому вони перебували під впливом бідних на кисень і з вмістом органічних речовин вод, у яких і розвивалися глейові процеси.

Встановити залежність між чисельністю залізоредуруючих бактерій із вмістом закисного заліза в природних умовах, за рідкісним винятком, не

вдається, оскільки в процесі відновлення беруть участь неспецифічні групи мікроорганізмів. Чимало їх є аеробами (наприклад, гриби, які можуть існувати, не відновлюючи залізо), тому в глейових горизонтах ґрунтів вони часто не утворюють значних скупчень. Встановлено, що для мікроценозів глейового ґрунту характерне переважання маслянокислих бактерій, мікрофлора у глейових горизонтах представлена переважно спороутворюючими бактеріями, а у верхніх горизонтах, що краще аеруються, активно розвиваються залізобактерії – *Gallionella* і дрібні паличкоподібні бактерії, клітини яких оточені потужними залізистими капсулами.

Окиснення й відновлення заліза і марганцю – взаємопов'язані біогеохімічні процеси: продукти одного служать джерелом розвитку іншого. У профілі обглених ґрунтів відновлення цих елементів періодично змінюється їх окисненням і сегрегацією навколо колоній залізомарганцевих бактерій: з'являються охристі й іржаві плями та трубочки навколо коренів, а також рихлі тяжі й щільні конкреції чорного, темно-сірого і бурого кольорів, різні за формою і розмірами (від 1–2 мм до 1–1,5 см і більше).

Мікробне відновлення Fe(III) може призводити до утворення декількох важливих Fe(II)-вмісних мінералів в осадових породах, причому найбільш вивчене утворення магнетиту [100], яке в процесі відновлення Fe(III) було вперше виявлено для Fe(III)-редуючої культури з ріки Потомак [101]. Разом з тим, слід зазначити, що магнетит у Fe(III)-редуючих культурах, напевно, спостерігався (хоча й не позиціонувався як магнетит) ще в 1913 р. [102]. У цьому ранньому дослідженні синтетичний гідроокис Fe(III) був перетворений на чорну речовину впродовж процесу бродіння пептону *Bacillus sp.* А в пізніші часи накопичення магнетиту спостерігалось у цілій низці як різних чистих культур [100, 103], так і консорціумів [104] Fe(III)-редуючих мікроорганізмів.

За відповідних умов магнетит є кінцевим продуктом усіх Fe(III)-редуючих мікроорганізмів, які були досліджені [103]. Виробництво магнетиту найбільше було вивчено в *Gs-15*. Так, великі кількості магнетиту накопичуються впродовж росту *Gs-15* в фосфатному буферному середовищі зі слабокристалічним оксидом Fe(III) як акцептором електронів [100, 101, 103].

Стехіометрія накопичення Fe(II) і збереження Fe(III) в культурах, що формують магнетит, дозволяє припустити, що *Gs-15* кількісно перетворює біднокристалічний окис (або оксид) Fe(III) у магнетит [103]. Відмінність же від магнетиту, що виробляється МТБ, тут у тому, що весь магнетит *Gs-15* є позаклітинним: у ньому відсутній клітинний матеріал [100, 105].



Кристали магнетиту *Gs-15* є овальними і зазвичай змінюються в діаметрі у діапазоні 6–50 нм та мають однодоменну та суперпарамагнітну компоненти [100, 105, 106]. Таким чином, магнетит є кінцевим продуктом метаболізму: як наслідок, *Gs-15* зазвичай виробляє в 5 тис. разів більше магнетиту, ніж МТБ [100]. Іншою важливою відмінністю є те, що МТБ виробляють магнетит тільки за мікроаеробних умов [107] або ж із  $N_2O$  як акцептора електронів [108], тоді як Fe(III)-редуючі мікроорганізми виробляють магнетит у строго анаеробних умовах [100, 103].

Утворення магнетиту впродовж відновлення Fe(III), можливо, пояснює низку важливих геологічних явищ. Так, відновлення Fe(III) мікроорганізмами відіграє важливу роль у розвитку ґрунтів та осадових порід [109]. І хоча на сьогодні ще виділено небагато організмів, здатних отримувати енергію для росту від окиснення органічних кислот із відновленням Fe(III), вони є дуже розповсюдженими [101, 110, 111]. Так, хоча дослідженням хімічного відновлення заліза присвячено багато робіт [109, 112], але відповідні неорганічні хімічні відновлюючі речовини є незначними компонентами ґрунтів; тоді як мікроорганізми, здатні до відновлення Fe(III), спостерігаються у кількості до  $10^5$  одиниць на грам сухої ваги сільськогосподарського ґрунту [113] – кількість же МТБ у ґрунті в тисячу разів менша [114]. Мікроорганізми, здатні до відновлення Fe(III) та здатні окиснювати солі оцтової кислоти, знайдено як глибоко (наприклад, на глибині 200 м на Приатлантичній низовині в США (*Atlantic Coastal Plain*) [115]), так і у різноманітних ґрунтах.

Відновлення окисних сполук заліза та марганцю в закисних формах – біохімічний процес, не пов'язаний з якоюсь специфічною фізіологічною групою мікроорганізмів. Редукційну здатність помічено у різноманітних бактерій і грибів, а найбільше вона проявляється у актиноміцетів. Цю властивість мають тіобактерії – як гетеротрофи, так і автотрофи. В анаеробних умовах за відсутності кисню вони, окиснюючі сірку, використовують тривалентне залізо і чотиривалентний марганець як окисники і відновлюють їх до двовалентного стану. Так, залізомарганцеві бактерії *Metallogenium* у культурі продукують перекис водню і каталазу, не лише відновлюючи чотиривалентний марганець перекисом водню, але й окиснюючі двовалентний марганець за присутності перекису і каталази. Цьому процесу відновлення-окиснення в мікронішах середовища надається велике значення при поясненні причин формування залізомарганцевих конкрецій в озерах і морях.

Завдяки низці досліджень [116–122] виявлено, що БМН немагнітотаксисних бактерій можуть накопичуватися мікроорганізмами зовнішньоклітинно, а це не характерно для МТБ. Так, нейтрофільні Fe-окиснюючі бактерії формують навколо клітини шар оксигідроксиду

заліза [116–118]. Низка ж бактерій виробляє позаклітинний матрикс, і саме в цьому матриксі формується оксид заліза [119]. Так, хемогетеротрофні нітрат-редуючі бактерії накопичують аморфний гідроксид заліза  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , утворений за межами зовнішньої мембрани клітини [120],  $\gamma$ - та  $\beta$ -протеобактерії (наприклад, *Thiomonas sp.* та *Acidithiobacillus ferrooxidans*) здатні накопичувати тривалентне залізо на поверхнях клітин [121], бактерії *Chlorobium ferrooxidans* та *Thiodictyon sp. strain F4* синтезують гетит (залізну руду  $\alpha\text{-FeOOH}$ ) і лепідокрокіт (мінеральний гідроксид заліза  $\gamma\text{-FeOOH}$ ) [122], а бактерії *P. ferrooxidans* SW2 спочатку утворюють низькокристалічну або й навіть аморфну  $\text{Fe}(\text{III})$ -фазу, яка накопичується виключно позаклітинно на полімерних волокнах клітин. При цьому концентрація таких мінералів зменшується з відстанню і з часом ці останні перетворюються на кристалічні структури вищезгаданих гетиту і лепідокрокіту [122].

Як правило, у немагнітотаксисних мікроорганізмах відсутня регуляція форми, розміру та інших властивостей БМН, а також ці мікроорганізми характеризуються відсутністю, в основному, магнітосомних везикул [45, 123]. Так, у роботі [45] показано, що виявлені в клітинах немагнітотаксисних мікроорганізмів структури можуть, як і у магнітотаксисних бактеріях, мати вигляд розташованих паралельно довгій осі клітини ланцюжків із розмірами від десятків до декількох сотень нанометрів. У клітинах фотосинтезуючих бактерій, гаулобактеріях, стафілококах, кисломолочних паличках та галофільних археях магнітні структури зазвичай мають сферичну або яйцеподібну форми [45]. В клітинах бацил БМН мають розмір близько 10 нм і розташовані з внутрішньої сторони мембрани клітини, а більші за розмірами структури виявлено на пізніх стадіях росту клітин або ж під час клітинного лізису [86]. У клітинах *Escherichia coli* VKM В-126 та *Pseudomonas aeruginosa* VKM В-552 і В-558 виявлено БМН, які мають вигляд сфер, розташованих уздовж довгої осі клітини та пов'язаних із мембраною, але неправильної форми, а БМН молочнокислих бактерій *Lactococcus lactis* VKM В-978 та *Lactobacillus plantarum* VKM В-2209 мають відносно невеликі розміри й різні форми і розташовані в цитоплазмі по всьому периметру клітини [45]. Якщо у магнітотаксисних бактерій БМН формуються у магнітосомах, то у немагнітотаксисних мікроорганізмах ці останні можуть бути відсутні, а БМН оточені шаром органічної природи різного складу. Так, у роботі [86] вимірювання із застосуванням трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) показали, що магнітосоми складаються із зон, різних за електронною густиною: у центрі наявна електронно-щільна зона (тобто власне БМН), оточена електронно-прозорим органічним матеріалом.

Ці структури суттєво відрізняються від магнітосом біогенних магнітних наночастинок МТБ наявністю лише однієї органічної структури (тоді як БМН магнітотаксисних бактерій мають три оболонки – внутрішню (1,7 нм) й зовнішню (2,2 нм) та мембрану клітинної стінки [86]). Рентгенівський мікроаналіз БМН, виділених із клітин *Escherichia coli* VKM B-126 та *Pseudomonas aeruginosa* VKM B-552 і B-558, показав, що БМН цих бактерій сформовані зі збагаченого залізом матеріалу [45].

**Таблиця 3.4.** Перелік немагнітотаксисних бактерій, які містять БМН

	Бактерії
1	<i>Alteromonas putrefaciens</i> sp. 200
2	<i>Bacillus cereus</i> VKM B-504 T
3	<i>Bacillus circulans</i>
4	<i>Bacillus megaterium</i>
5	<i>Bacillus thuringiensis</i> VKM B-439
6	<i>Bacteriodes</i>
7	<i>Caulobacter maris</i> VKM B-1510 T
8	<i>Clostridium</i>
9	<i>Desulfotomaculum</i>
10	<i>Ectothiorhodospira shaposhnikovii</i> VKM B-1525 T
11	<i>Escherichia coli</i> VKM B-126
12	<i>Gallionella</i>
13	<i>Geobacter metallireducens</i>
14	<i>Lactobacillus plantarum</i> VKM B-2209
15	<i>Lactococcus lactis</i> VKM B-978
16	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> VKM B-552
17	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> VKM B-588 T
18	<i>Pseudomonas ferrireducans</i>
19	<i>Pseudomonas putida</i> WB 9113
20	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> VKM B-1620 T
21	<i>Rhodopseudomonas rutilis</i> ATCC 17001 T
22	<i>Rhodopseudomonas</i> sp. strain Elf
23	RS-1
24	<i>Shewanella Putretaciens</i> 200
25	<i>Shewanella Putretaciens</i> MR1
26	<i>Shewanella Putretaciens</i> MR4
27	<i>Shewanella Putretaciens</i> ATCC 8071
28	<i>Staphylococcus</i> sp. strain MA
29	<i>Vidrio</i>

**Таблиця 3.5.** Перелік архей, які містять БМН

	<i>Археї</i>
1	<i>Haloarcula vallismortis</i> VKM B-1791 T
2	<i>Halococcus morrhuae</i> VKM B-1772
3	<i>H.salifodinae</i> VKM B-2108 T
4	<i>Halococcus sp. strain DeLim</i>
5	<i>Haloferax mediteranei</i> VKM B-1748 T
6	<i>H. volcanii</i> VKM B-1768 T
7	<i>Halorubrum sodomense</i> VKM B-1771 T

Таким чином, до залізоредакуючих мікроорганізмів належать певні штами різних видів бактерій [109]: *Bacillus*, *Clostridium*, *Bacteriodes*, *Desulfotomaculum*, *Vibrio sp.*, і в т.ч. *Bacillus megaterium*, *E. aerogenes*, *Spirillum itersonii* [124], *Staphylococcus aureus* [125], *Aquaspirillum magnetotacticum*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Shewanella Putrefaciens* 200, MR-1, MR-4, ATCC 8071, такі п'ять штамів *Pseudomonas*, як *Pseudomonas ferrireductans* (now *Shewanella putrefaciens strain* 200), *Alteromonas putrefaciens sp. 200* (synonyms *Pseudomonas putrefaciens*, *Shewanella putrefaciens* (Lee et al. 1981)), *Pseudomonas putida* WB9113, сульфат-редуюча бактерія *Pseudomonas aeruginosa* RS-1 [21, 126, 127] та ін.

### 3.2.3. БМН у багатоклітинних організмах

Як було зазначено вище, не лише прокаріоти, а й еукаріоти у складі клітин містять біогенні магнітні наночастинки. При цьому дослідження БМН в еукаріотах також пов'язані з гіпотезою про магніторецепцію, тому передусім вивчалися такі еукаріоти, як комахи (мурахи, бджоли, терміти), птахи, риби, кажани та ін. [41, 42, 44, 50, 62, 66, 128–134].

Так, у мурах *Pachycondyla marginata* виявили БМН у тканинах голови, антен, грудей і черевця (це частинки складу Fe/O разом із частинками складу Al/Si/O), а найбільшу кількість БМН виявлено в антенах [50]. Іншими представниками комах, у яких докладно вивчено БМН, є бджоли та терміти. Зокрема, дослідження органів бджіл проводили різними методами: СКВІД (від англ. *SQUID – superconducting quantum interference device* (надпровідний квантовий інтерферометр)); трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ); електронного парамагнітного резонансу (ЕПР); скануючої зондової мікроскопії (СЗМ). Використовували матеріал від 2 тис. комах. Узагальнені результати показали наявність біогенних магнітних частинок (із середнім розміром  $0,5 \pm 0,1$  мкм) такого складу: оксид заліза; фосфати та кальцій; концентрація БМН –  $1,25 \text{ г/см}^3$  [41]. Для дослідження БМН у термітів було

обрано два види комах: *Nasutitermes exitiosus* та *Amitermes meridionalis* [42]. БМН виявлено у тканинах голови, грудей і черевця термітів – розміром близько 10 нм та з чіткою кристалічною кубічною або гексоганальною структурами. При цьому концентрація частинок в тканинах *Amitermes meridionalis* виявилася більшою, ніж у представників *Nasutitermes exitiosus* [42].

БМН (розмір окремої частинки – порядку 21 нм) виявлено у ґрунтовому паразитичному гельмінті *Caenorhabditis elegans* класу *Nematoda*, який є важливим модельним організмом розміром близько 1 мм. Цей ґрунтовий паразит може рости в штучних умовах, харчуючись *Escherichia coli*. Він не володіє здатністю до магнітотаксису, а поштовхом для вивчення БМН у *Nematoda* стало виявлення групи білків теплового шоку, які реагують на слабкі електромагнітні поля. Дослідження БМН у нематодах проводили методами скануючої електронної мікроскопії (СЕМ) та СКВІД [43].

Подальші дослідження було сфокусовано на вивченні тварин, міграція яких, як вважалося, пов'язана з орієнтацією в геомагнітному полі (наприклад, птахів [129], рептилій [130], риб [45], ссавців [131, 135] та деяких безхребетних [133, 134, 136, 137]). Зокрема, у роботі [44, 55] досліджено ланцюжки однодомного магнетиту тихоокеанського лосося *Oncorhynchus*, які подібні до ланцюжків однодомного магнетиту мозку людини [67, 138]. При цьому у роботі [138] здійснено детекцію БМН у біологічних матеріалах із різними магнітними властивостями (із застосуванням магніторезонансної спектроскопії). Досліджено спектри решітчастої кістки лосося (мігруюча риба) та товстолобика (немігруюча риба) та показано наявність БМН як у мігруючої, так і немігруючої риб.

У роботі [62] із використанням оптичного мікроскопа досліджено дзьоби різних птахів: поштового голуба (*Columba livia*), європейського дрозда (*Erithacus rubecula*), очеретянки (*Sylvia borin*) та домашньої курки (*Gallus gallus domesticus*). Результати цих досліджень показали, що БМН у дзьобах різних птахів розташовані у вигляді ланцюжків або скупчень довжиною від 20 до 30 мм, які містять по 10–15 частинок із діаметром до 1 мм.

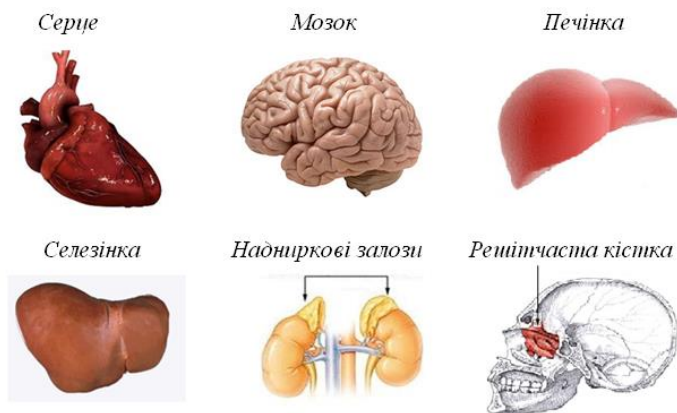
БМН виявлено й у інших представників царства тварин: рачків, акул, скатів, дельфінів, китів, собак та ін. [66, 131, 137]. Переважно БМН у багатоклітинних організмах мають залишкову намагніченість і однодомну фазу, але в деяких таких організмах виявлено, крім того, ще й багатодомну та/або суперпарамагнітні фази (табл. 3.1, 3.2) [19].

Характерний розмір переходу від суперпарамагнітної фази в однодомний стан для магнетиту становить близько 25–30 нм [23], а від однодомного стану до багатодомного – близько 70 нм [138].

Магнітостатичні ж взаємодії наночастинок магнетиту в ланцюжку зменшують розмір переходу суперпарамагнітної фази до однодоменого стану для ланцюжків однодомених кристалів, а також підвищують розмір переходу від однодоменої фази до багатодоменої, значно розширюючи спектр однодоменої фази [139]. При цьому поля магнітостатичних взаємодій є достатніми для того, щоб найбільші кристали біогенного магнетиту виявлені в різних організмах розміром до 250 нм зі співвідношенням сторін 0,84 [140] перебували в однодоменому стані [141], тоді як без таких взаємодій ці частинки будуть багатодоменими.

### 3.2.4. БМН в органах та тканинах людини (у нормі)

БМН виявлено у таких органах людини, як серце, печінка і селезінка [70], надниркові залози [71], решітчаста кістка [142] та головний мозок [15, 38, 67, 143, 144] (рис. 3.4). БМН у людини з'єднані в довгі ланцюжки, які містять від десятків до сотень частинок і міцно прикріплені до мембрани клітини [4, 44, 51].



**Рис. 3.4.** Перелік органів людини (в нормі), в яких виявлені БМН [15, 38, 67, 70, 71, 142–144]

Фенотиповий прояв БМН у людей відрізняється за низкою характеристик від магнітотаксисних бактерій. БМН у тканинах людини спостерігаються у вигляді як окремих одиничних кристалів БМН, так і їхніх кластерів досить неправильної форми, причому ці останні локалізовані в довгих ланцюжках, пов'язаних із мембраною [67, 72]. На відміну від магнітотаксисних бактерій, у людини існує широкий діапазон

розмірів і фаз росту БМН. Як результат, у людському організмі присутні як суперпарамагнітна й однодоменна, так і багатодоменна фази [15]. Таким чином у людини не існує генетичного регулювання форми, розміру та інших властивостей БМН, що повністю відповідає фенотиповому прояву. Так, у роботі [67] з використанням надчутливого надпровідного магнітометра показано, що феритові наночастинки є часткою великої кількості тканин мозку (кори головного мозку, мозочка та мозкових оболонок – мембран, що оточують головний мозок) у кількості від 5 до 100 млн. магнітних наночастинок на грам тканини м'якої і твердої оболонки мозку. Розподіл розмірів цих частинок має два максимуми: в діапазоні малих розмірів частинок – середній розмір  $33,4 \pm 15,2$  нм, а в діапазоні більших розмірів 90–200 нм. Обидві (суперпарамагнітна і однодоменна) компоненти присутні в тканинах мозку людини. Ці наночастинки магнетиту організовані в лінійні ланцюжки в декілька мікрометрів у довжину і до 80 зв'язаних із мембраною кристалів у такому ланцюжку [67]. І, крім того, у клітинах людини (як і в немагнітотаксисних бактеріях, археях та багатоклітинних організмах) відсутні везикули навколо БМН, а в околі БМН наявна органічна складова, що складається з білкових філаментів [123].

### **3.3. Генетичний контроль біомінералізації бмн у живих організмах**

#### **3.3.1. Ресурси бази даних NCBI, які використовувалися для встановлення гомології нуклеотидних та амінокислотних послідовностей різних організмів**

Для дослідження генетичного контролю біомінералізації БМН у живих організмах у роботах [28, 145] проводили вирівнювання геномів та протеомів досліджуваних організмів з нуклеотидними та амінокислотними послідовностями білків родини *Mam* магнітотаксисної бактерії *M. gryphiswaldense* MSR-1 (табл. 3.6), генетичний механізм біомінералізації БМН у якої вивчено найбільш докладно. Дані про нуклеотидні та амінокислотні послідовності, структуру, фізико-хімічні властивості та функції досліджуваних білків взяті з літературних даних [7, 33, 85, 86, 91–96, 146–158], а також із бази даних *NCBI* (Національного центру біотехнологічної інформації), заснованого в 1988 р. у м. Бетезда (штат Мериленд, США) як центральна інституція з обробки і зберігання даних молекулярної біології. База *NCBI* є частиною Національної медичної бібліотеки США (*United States National Library of Medicine, NLM*), що, в свою чергу, є підрозділом Національних інститутів здоров'я США (*National Institutes of Health, NIH*).

**Таблиця 3.6.** Білки родини *Mam Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1*, з якими проводилося порівняння послідовностей інших організмів

Білок родини <i>Mam</i>	Код доступу в базі даних <i>NCBI</i>	Білок родини <i>Mam</i>	Код доступу в базі даних <i>NCBI</i>
<i>MamA</i>	AAL09996.1	<i>MamK</i>	CAJ30118.1
<i>MamB</i>	AAL09999.1	<i>MamL</i>	YP_008938251.1
<i>MamM</i>	CAM78027.1	<i>MamQ</i>	CAM78032.1
<i>MamE</i>	CAJ30116.1	<i>MamD</i>	AAL10003.1
<i>MamO</i>	CAJ30122.1	<i>MamH</i>	CAJ30114.1
<i>MamN</i>	CAM78028.1	<i>MamZ</i>	YP_008938198.1

Кожен запис у базі даних *NCBI* має свій код доступу – унікальний ідентифікатор (*accession number*). Ці ідентифікатори використовуються при пошуку інформації про амінокислотну послідовність, а також при проведенні попарних та множинного вирівнювань.

### 3.3.1.1. Проведення попарних вирівнювань із використанням онлайн-сервісу «pBLAST»

З метою оцінювання ступеня подібності первинної структури досліджуваних білків у роботах [145, 159] проводили попарні вирівнювання їхніх амінокислотних послідовностей та використовували вільний у доступі онлайн-сервіс «pBLAST» (*Basic Local Alignment Search Tool for Protein Sequences*) бази даних *NCBI* за посиланням [<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>].

Ця онлайн-програма забезпечує порівняння нуклеотидних чи амінокислотних послідовностей, наявних у базах даних, представлених на сайті *NCBI*, і потім обчислює у відсотках статистику збігів спільних ділянок для кожної з пар послідовностей, які порівнюються. Після введення досліджуваної послідовності (*query*) *Mam*-білка *M. gryphiswaldense MSR-1* вводиться ідентифікатор таксономічної групи досліджуваного організму, а надалі з послідовностями його протеома проводиться вирівнювання.

При визначенні подібності ключовим елементом є матриця замінів, оскільки вона визначає показники подібності для будь-якої можливої пари нуклеотидів або амінокислот. Зокрема, у цьому нашому дослідженні використовували матрицю амінокислотних замінів *BLOSUM62* (*Blocks Substitution matrix 62% identity* – блокову матрицю замінів із 62% ідентичності). Також при проведенні вирівнювання задавали показник порогу очікуваного числа випадкових співпадінь, який становив 10 одиниць.



Принцип роботи програми «pBLAST» полягає в тому, що спочатку в ній проводиться пошук ідентичності більш коротких ділянок послідовностей, а потім здійснюється їх розширення у будь-якому напрямку, необхідне для віднайдення довшого вирівнювання [159, 160].

Після максимального подовження розмірів всіх ділянок досліджуваної послідовності визначаються вирівнювання з максимальною кількістю співпадінь для кожної пари досліджуваної послідовності (*query*) та послідовності бази даних (*subject*) і отримана інформація фіксується у структурі *SeqAlign*, яка після обробки форматером подається як у графічному вигляді, так і табличному.

Для кожної виявленої в базі даних програмою «pBLAST» послідовності бази даних (*subject*) необхідно визначити, наскільки вона гомологічна з досліджуваною послідовністю (*query*) і чи є значущою ця подібність. Так, білки-гомологи – це ті, які мають спільного предка і подібну тривимірну структуру та можуть мати спільні активні ділянки зв'язування або домени, а також спільні функції, причому гомологічні послідовності можна розділити на дві групи: *ортологи* – послідовності, функції яких є подібними і які представлені в протеомах різних видів; *паралоги* – послідовності, які виникли в результаті дуплікації генів одного і того самого виду. В роботах [145, 159] досліджували лише білки-ортологи.

Слід також зазначити, що з метою оцінювання гомології програма «pBLAST» обчислює число біт і величину *E*-числа (*expected value*, *E*-value) для кожної з пар послідовностей, яка відображує статистичну значущість вирівнювання. Так, нижче значення *E*-числа вказує на менший рівень вияву чинника випадковості при співпадинні амінокислотних залишків білків, які порівнюються. Загалом же величина *E*-числа залежить від значення показника кількості ідентичних амінокислотних залишків у двох білків та кількості відповідної інформації про амінокислотні послідовності протеома відповідного виду в базі даних (тобто від розміру цієї бази) [161].

Для аналізу результатів проведеного дослідження з вирівнювання послідовностей використовується класифікація величин значень *E*-числа (тобто кількості вирівнювань з такою самою або ж кращою вагою вирівнювання, яку можна знайти випадково в базі даних певного розміру) [161]. Так, якщо: *E*-число має значення  $\leq 10^{-10}$ , то можна стверджувати, що послідовності повністю гомологічні; величина *E*-числа перебуває в межах  $10^{-10}$ – 0,05, то гомологія не виключена;  $E \geq 0,05$ , то виявлений збіг має випадковий характер. Така класифікація діапазонів *E*-числа в подальшому може змінюватися, а порогові значення цього числа – зростати разом зі збільшенням обсягу тієї чи іншої відповідної бази даних. Також

враховується кількість ідентичних амінокислотних залишків білків при оптимальному вирівнюванні. При цьому вважається, що коли: два білки мають більш як 45% ідентичних залишків в їх оптимальному вирівнюванні, то вони матимуть дуже схожі структури та, з великою імовірністю, однакові чи, принаймні, спільні функції; у двох білків понад 25% ідентичних залишків, то, імовірно, вони не мають аналогічної структури, проте механізми фолдингу є подібними (а тому гомологія білків не виключена). Ділянки ж із кількістю ідентичних амінокислот, що становить 18–25%, визначають як «сумнівну зону» («*twilight zone*»), де допускається гомологія, але необхідне проведення додаткової перевірки [161]. Ці правила пошуку значущих збігів при пошуку гомологів застосовні тільки для достатньо довгих вирівнювань, які зазвичай більші за 100 амінокислотних залишків. Мутації білків шляхом амінокислотних заміन без зміни структури білка та його функцій можуть відбуватися при рівноцінних замінах, а саме при заміні однієї амінокислоти на іншу, яка має подібні фізико-хімічні властивості. В онлайн-ресурсі «pBLAST» при аналізі рівноцінних заміन враховується показник  $I$  (у %), який враховує кількість ідентичних амінокислотних залишків. І також додатковим показником оцінювання подібності досліджуваних послідовностей є показник *Total Cover* (у %), що є відсотком перекривання амінокислотних послідовностей, у межах яких проводиться вирівнювання.

### **3.3.1.2. Проведення множинного вирівнювання з використанням алгоритму «COBALT»**

Для порівняння декількох послідовностей у межах досліджуваних груп організмів використовували онлайн-програму «COBALT» (*Constraint-based Multiple Protein Alignment Tool*, сайт *NCBI*). Ця програма забезпечує множинне вирівнювання послідовностей із використанням інформації про консервативні домени та подібність локальних ділянок послідовності, а, отже, вхідними даними є послідовності, гомологія яких припускається (тобто такі, що гіпотетично утворюються зі спільної предкової послідовності шляхом мутацій). Проведення такого множинного вирівнювання допомагає зробити остаточний висновок про гомологію досліджуваних послідовностей, виділити їхні консервативні ділянки та провести філогенетичний аналіз [161]. Метод побудови множинного вирівнювання реалізується шляхом послідовного поєднання парних вирівнювань. Спочатку будується наближене філогенетичне дерево, а надалі з його використанням обирається порядок побудови парних вирівнювань. Потім послідовності або додаються по чергово до

головного вирівнювання, або ж підвирівнювання (профілі) вирівнюються між собою.

### 3.3.1.3. Реконструкція філогенетичних дерев білків-гомологів на основі даних множинного вирівнювання

При порівнянні трьох та більше таксономічних груп, і в т.ч. окремих видів різних організмів, а також для реконструкції еволюційних подій у межах крупніших таксонів (зі встановленням спільного предка зручним методом аналізу) є побудова філогенетичних дерев на основі результатів порівняння нуклеотидних послідовностей певного гена або ж амінокислотних послідовностей конкретного білка серед тих видів, які вивчаються. Це схематичне відображення (граф), яке з певною мірою достовірності відображує еволюційні зв'язки досліджуваних видів або ж інших таксономічних груп, у яких гіпотетично існує спільний предок [160, 161].

Так, наприклад, у верхній частині вікна онлайн-ресурсу «COBALT» після проведення множинного вирівнювання з'являється посилання на сервіс онлайн-побудови філогенетичного дерева «[Phylogenetic Tree](#)». У зв'язку з цим для побудови такого дерева використовується метод *швидкої мінімальної еволюції*, який є модифікацією методу *поєднання найближчих сусідів*. Використання відповідного алгоритму дозволяє побудувати некорінене дерево. При цьому вважається, що за використання методу швидкої мінімальної еволюції [162] виникнення нової послідовності супроводжується мінімальною кількістю мутацій вихідної предкової амінокислотної послідовності. Також при побудові філогенетичного дерева враховували показник *Max Seq Difference*, який відображує максимально дозволена частку основ/амінокислотних залишків, що не співпадають, для кожної з пар послідовностей. Якщо така частка перевищує задане значення, то ці послідовності не враховуються при побудові філогенетичного дерева. Загалом же відстань між послідовностями, яка використовується для побудови філогенетичного дерева, дозволяє спрогнозувати очікувану частку замін, що припадає на одну ділянку, і, відповідно, кількість незбігів на ділянці, яку вирівнюють. Водночас, точність цього передбачення зменшується, коли зростає частка таких незбігів, а тому для високих значень *Max Seq Difference* (>0,5) групування структурно близьких послідовностей є досить точним.

І також при побудові філогенетичного дерева можна задати спосіб, із використанням якого обчислюватиметься еволюційна відстань (*distance*) між досліджуваними послідовностями [160].

### 3.3.2. Білки біомінералізації у магнітотаксисних бактеріях

Генетичне регулювання синтезу БМН докладно вивчалось експериментально лише для магнітотаксисних бактерій [30, 31]. Таке регулювання існує в МТБ з усіма рисами суворого генетичного контролю за їхніми властивостями і структурною організацією [30, 31].

Як вже зазначалося, магнітотаксисні бактерії, і зокрема *Magnetospirillum gryphiswaldense*, синтезують магнітосоми, що містять кристали магнетиту  $Fe_3O_4$  або грейгіту  $Fe_3S_4$  у внутрішньому просторі магнітосомної мембрани везикули. Така мембрана є унікальним пулом, що забезпечує як просторовий, так і фізико-хімічний контроль за біомінералізацією магнетиту та має відмінний від цитоплазматичної мембрани мікробної клітини біохімічний склад [163]. На сьогодні відомі нуклеотидні послідовності, які кодують залучені до біомінералізації білки, та їх локалізація в оперонах *MamGFDC*, *Mms*, *MamAB* і *MamXYZ* у складі консервативного за своїм характером для МТБ фрагмента генома (130 Кб) – т.зв. «магнітосомного острівця» (МО), а також, частково, в інших ділянках такого генома [163, 164]. Форма і розмір зрілих наночастинок магнетиту чітко визначені для кожного штаму магнітотаксисних бактерій і також є проявом експресії генів магнітосомного острівця (рис. 3.5) [30, 165]. Білки МО магнітотаксисних бактерій можуть бути розподілені на два *функціональні класи*: білки, необхідні для процесу біомінералізації БМН (білки біомінералізації БМН), і регуляторні білки (табл. 3.7), які забезпечують точний генетичний контроль за розподілом розмірів, видоспецифічною морфологією і розташуванням окремих кристалів магнітних наночастинок у магнітотаксисних бактеріях [30, 31, 166] (табл. 3.7).

**Таблиця 3.7.** Функціональні класи білків, які кодуються генами МО МТБ [33, 163, 167–169]

Білки МО, незамінні для біомінералізації БМН у МТБ	<i>MamB</i> , <i>MamM</i> , <i>MamA</i> , <i>MamE</i> , <i>MamO</i> , <i>MamN</i>	
Регуляторні білки в МТБ, відповідальні за генетичний контроль	Формування везикул	<i>MamQ</i> , <i>MamI</i> , <i>MamL</i>
	Формування магнітосомних ланцюжків	<i>MamJ</i> , <i>MamK</i>
	Кількість і розмір БМН	<i>MamF</i> , <i>MamD</i> , <i>MamT</i> , <i>MamP</i> , <i>MamR</i> , <i>MamS</i>
	Білки з невідомими функціями або ж такі, що не впливають на біомінералізацію БМН	<i>MamH</i> , <i>MamX</i> , <i>MamY</i> , <i>MamZ</i> , <i>MamC</i> , <i>MamG</i>

Перший клас білків, який є незамінним для процесу біомінералізації БМН у МТБ [33, 167, 168], і регуляторний клас білків МТБ магнітосомного острівця вивчено в роботах [163, 167, 169]. Схему біомінералізації БМН у манітотаксисних бактеріях і локалізацію в них білків біомінералізації представлено на рис. 3.5.

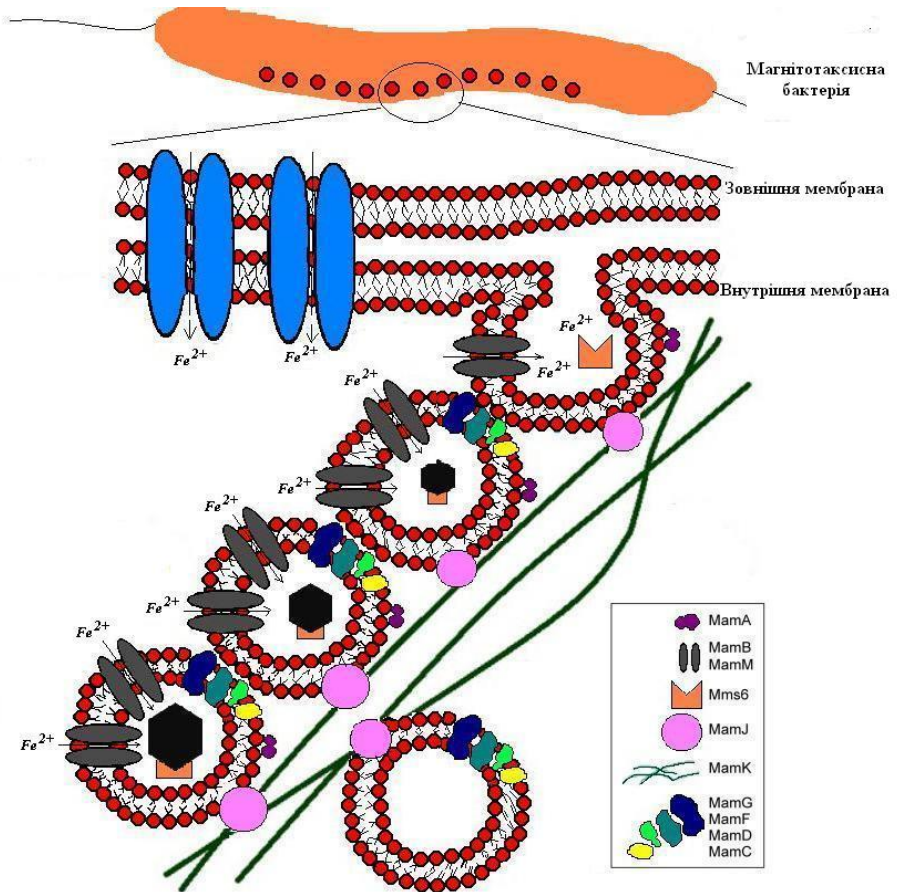


Рис. 3.5. Схema біомінералізації БМН у магнітотаксисних бактеріях

**Таблиця 3.8.** Гомологія магнітосомних білків МТБ та їхні функції [30]

Оперон	Назва білка	Довжина білка, а.к.з.	Ступінь гомології серед МТБ 1/2/3(Е-число)	Характеристика або функції
<i>mmsB</i>	<i>MamW</i>	138	$5 \cdot 10^{-45} / 3 \cdot 10^{-45} / 0,92$	мембранний білок, подібний до <i>MoхJ</i>
	<i>MgII457</i>	449	$1 \cdot 10^{-136} / 1 \cdot 10^{-133} / 0,007$	<i>TPR</i> -домен
	<i>MgII458</i>	347	$2 \cdot 10^{-86} / 4 \cdot 10^{-79} / 3,0$	гіпотетичний трансмембранний білок
	<i>MgII459</i>	125	$2 \cdot 10^{-44} / 5 \cdot 10^{-37} / 3 \cdot 10^{-17}$	гіпотетичний мембранний білок
	<i>Mms6</i>	136	$7 \cdot 10^{-17} / 1 \cdot 10^{-12} / 1,5$	зв'язування заліза
	<i>MgII462</i>	90	-/-	невідомі
<i>mamGF DC</i>	<i>MamG</i>	84	-/-	-/-
	<i>MamF</i>	111	$1 \cdot 10^{-42} / 2 \cdot 10^{-42} / 2 \cdot 10^{-17}$	-/-
	<i>MamD</i>	314	$2 \cdot 10^{-89} / 8 \cdot 10^{-90} / 2 \cdot 10^{-30}$	-/-
	<i>MamC</i>	125	$5 \cdot 10^{-21} / 7 \cdot 10^{-21} / 2 \cdot 10^{-07}$	-/-
	<i>MamA</i>	217	$5 \cdot 10^{-113} / 7 \cdot 10^{-113} / 2 \cdot 10^{-37}$	<i>TPR</i> -активатор формування магнітосом
	<i>MamB</i>	297	$1 \cdot 10^{-159} / 2 \cdot 10^{-159} / 1 \cdot 10^{-78}$	транспортер іонів заліза
<i>mamAB</i>	<i>MamM</i>	318	$3 \cdot 10^{-173} / 2 \cdot 10^{-159} / 3 \cdot 10^{-79}$	переносник іонів металу
	<i>MamO</i>	632	$0,0/0,0/5 \cdot 10^{-79}$	<i>PDZ</i> -домен; серинова протеаза
	<i>MamE</i>	772	$0,0/0,0/3 \cdot 10^{-57}$	серинова протеаза
	<i>MamN</i>	437	$0,0/0,0/0,002$	невідомі
	<i>MamK</i>	360	$0,0/3 \cdot 10^{-172} / 1 \cdot 10^{-99}$	формування ланцюга
	<i>MamJ</i>	426	$3 \cdot 10^{-47} / 2 \cdot 10^{-52}$	збірка у ланцюг
<i>mamL</i>	<i>MamH</i>	428	$0,0/1 \cdot 10^{-171} / 1 \cdot 10^{-116}$	посередник; родина невідома
	<i>MamQ</i>	272	$6 \cdot 10^{-112} / 4 \cdot 10^{-106} / 1 \cdot 10^{-16}$	Гіпотетичний мембранний білок
	<i>MamL</i>	123	$5 \cdot 10^{-32} / 8 \cdot 10^{-27} / 0,42$	невідомі
	<i>MamI</i>	77	$4 \cdot 10^{-15} / 7 \cdot 10^{-15} / 2 \cdot 10^{-5}$	<i>PDZ</i> -домен

<i>MamP</i>	270	$1 \cdot 10^{-108} / 1 \cdot 10^{-108} / 1 \cdot 10^{-34}$	невідомі
<i>MamR</i>	73	$3 \cdot 10^{-31} / 3 \cdot 10^{-31} / 1,9$	гідрофільний білок
<i>MamS</i>	180	$5 \cdot 10^{-60} / 7 \cdot 10^{-55} / 3 \cdot 10^{-13}$	Гіпотетичний мембранний білок
<i>MamT</i>	174	$3 \cdot 10^{-87} / 4 \cdot 10^{-83} / 7 \cdot 10^{-27}$	гіпотетичний СуС-зв'язувальний білок
<i>MamU</i>	297	$5 \cdot 10^{-114} / 4 \cdot 10^{-116} / 2,5$	невідомі
<i>MgI505</i>	411	$0,002 / 7 \cdot 10^{-4} / 0,01$	гіпотетичний білок

Білки, які відповідають за процес біомінералізації у різних МТБ, мають високий ступінь гомології. В табл. 3.8 представлено гомологію магнітосомних білків МТБ *M.gyphiswaldense MSR-1* із білками таких МТБ:

- 1 – *Magnetospirillum* sp. *AMB-1*;
- 2 – *Magnetospirillum magnetotacticum* strain *MS-1*;
- 3 – *Magnetococcus marinus* *MC-1* [30].

### 3.3.3. Білки біомінералізації БМН у немагнітотаксисних мікроорганізмах, БМН у яких виявлено експериментально

Як вже зазначалося, крім МТБ, здатність до біомінералізації БМН виявлено у низки інших мікроорганізмів. Серед них залізоредакуючі, сульфатредуючі, денітрифікуючі бактерії, зелені й пурпурні фотосинтезуючі бактерії, симбіотичні та патогенні форми мікроорганізмів, а також представники царства грибів та архей [45, 163, 170, 171]. Фізико-хімічні властивості БМН у цих мікроорганізмах відрізняються від властивостей БМН у МТБ. Так, ці бактерії можуть містити цілу низку мінералів, і зокрема магнетит, грейгіт, гетит, лепідокрокит, ферригідрит тощо [45, 171], а також аморфні залізовмісні матеріали [45]. Їх локалізація може бути внутрішньо- і/або позаклітинною.

З цього погляду в роботі [144] досліджено участь гомологів білків МТБ, що кодується магнітосомним острівцем, в процесах синтезу БМН із більш широким спектром властивостей, а саме внутрішньо- та позаклітинних наночастинок, що містять кристалічні та аморфні залізовмісні сполуки. Такі магнітні наночастинок спостерігали експериментально для мікроорганізмів, що синтезують БМН та належать до різних філогенетичних груп [45].

Також у роботі [144] визначено ступінь подібності послідовностей *Mam*-білків, залучених до біомінералізації БМН у МТБ *M. Gryphiswaldense* MSR-1, та відповідних послідовностей у протеомах немагнітотаксисних мікроорганізмів, які синтезують БМН. Для цього використовували програму «Blast on-line» Центру «NCBI». Отримані результати співставлені з даними стосовно фенотипових властивостей, пов'язаних із синтезом БМН у цих організмах.

Проведено порівняння [145] амінокислотних послідовностей білків групи *Mam Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 із протеомами мікроорганізмів: прокаріотів – *Leptothrix ochracea* L12, *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 53993, *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270, *Thiomonas* sp. 3As, *Geobacter metallireducens* GS-15, *Lactobacillus plantarum* JDM1, *Lactococcus lactis* MG1363, *Caulobacter maris* MCS10, *Rhodospseudomonas palustris* BisB18, *Staphylococcus lugdunensis* HKU09-01, *Shewanella putrefaciens* CN32, *Dechlorosoma suillum* PS, *Chlorobium ferrooxidans* DSM 13031, *Bacillus cereus* Hu A2-9, *Pseudomonas aeruginosa* NCMG1179; архей – *Halococcus morrhuae* DSM1307, *Haloarcula vallismortis* ATCC 2971. При цьому спектр обраних мікроорганізмів обмежувався лише тими їх штамми, які задовольняли вимогу щодо експериментально доведеної присутності БМН у їхніх фенотипах [33, 117, 120, 122, 172–177].



Аналіз експериментальних даних стосовно фенотипових характеристик БМН у досліджуваних штаммах мікроорганізмів представлено в роботах [33, 117, 120, 122, 172–177], та дослідженнях, проведених методами порівняльної геноміки [145]. Усі вони дозволили умовно виділити 4 групи мікроорганізмів. Група 1 включає мікроорганізми, які формують позаклітинні аморфні БМН (*Leptothrix ochracea* L12, *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 53993, *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270, *Thiomonas sp.* 3As, *Chlorobium ferrooxidans* DSM 13031, *Shewanella putrefaciens* CN32). Група 2 представлена мікроорганізмами, які утворюють позаклітинні кристалічні БМН (*Geobacter metallireducens* GS-15, *Dechlorosoma suillum* PS, *Fusarium oxysporum* Fo5176, *Verticillium dahliae* VdLs.17). Група 3 містить мікроорганізми, які синтезують внутрішньоклітинні аморфні БМН (*Lactobacillus plantarum* JDM1, *Lactococcus lactis* MG1363, *Caulobacter maris* MCS10, *Staphylococcus lugdunensis* HKU09-01, *Bacillus cereus* HuA2-9, *Pseudomonas aeruginosa* NCMG1179, *Halococcus morrhuae* DSM1307, *Haloarcula vallismortis* ATCC 2971). Групу 4 становлять мікроорганізми, у клітинах яких виявлено внутрішньоклітинні кристалічні БМН (*Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270, *Shewanella putrefaciens* CN32, *Rhodospseudomonas palustris* BisB18) (табл. 3.9, 3.10).

Отримані результати [145] дозволяють припустити, що обов'язковим для процесу біомінералізації є функціонування гомологів білків *MamB* та *MamM*, оскільки вони присутні в клітинах усіх використаних у дослідженні мікроорганізмів. Згідно з даними роботи [177], білки *MamB* і *MamM* є чинниками ініціації біомінералізації БМН у МТБ і, одночасно, вторинними транспортерами двовалентних катіонів  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  тощо. Ці білки також беруть участь у транспортуванні, причому як у магнітосомні везикули, так і в клітини МТБ [81, 178].

У роботі [145] показано, що у всіх досліджуваних штаммах мікроорганізмів білки-гомологи мають одну й ту саму функцію, яка є подібною до її аналога у МТБ – вторинне й суміщене з антипортом протонів транспортування двовалентних катіонів  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ . Це інтегральні мембранні білки, які містять шість консервативних трансмембранних доменів та забезпечують толерантність мікроорганізмів до надлишку катіонів двовалентних металів (не лише  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , а й  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  тощо) [179], а також можуть опосередковувати їхнє транспортування в клітину [147].

**Таблиця 3.9.** Результати вирівнювань послідовностей білків, необхідних для біомінералізації магнетиту в *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, та білків мікроорганізмів, що формують позаклітинні БМН [145]

Штам мікроорганізму	E-число (I, % / C, %)				
	Білки <i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i> MSR-1				
	MamA	MamB	MamM	MamO	MamE
<u>Група 1 – Мікроорганізми, що синтезують</u> <u>позаклітинні аморфні БМН</u>					
<i>Leptothrix ochracea</i> L12●	1,5 (35/17)	7e-16 (23/83)	7e-18 (25/92)	2,9 (42/15)	0,47 (50/13)
<i>Acidithiobacillus</i> <i>ferro-oxidans</i> ATCC 53993●	7e-12 (25/90)	4e-35 (31/80)	8e-24 (29/85)	1e-07 (27/27)	2e-31 (37/52)
<i>Acidithiobacillus</i> <i>ferro-oxidans</i> ATCC 23270●	5e-05 (23/76)	1e-36 (31/80)	9e-24 (29/85)	1e-07 (27/27)	1e-31 (34/56)
<i>Thiomonas</i> sp. 3As●	4e-05 (25/72)	4e-10 (26/60)	5e-09 (24/80)	4e-08 (27/31)	2e-35 (45/50)
<i>Shewanella</i> <i>putrefaciens</i> CN32●	0,13 (27/39)	9e-25 (28/84)	3e-17 (26/79)	1e-07 (27/26)	9e-33 (42/56)
<i>Chlorobium</i> <i>ferrooxidans</i> DSM 13031■	2e-16 (25/85)	2e-24 (26/89)	4e-21 (28/79)	4e-11 (31/25)	6e-36 (38/61)
<u>Група 2 – Мікроорганізми, що синтезують</u> <u>позаклітинні кристалічні БМН</u>					
<i>Geobacter</i> <i>metallireducens</i> GS-15●	7e-14 (26/76)	1e-45 (31/92)	9e-41 (37/80)	8e-14 (30/26)	4e-37 (40/60)
<i>Dechlorosoma</i> <i>suillum</i> PS●	5e-07 (25/76)	6e-18 (25/89)	6e-16 (26/94)	9e-12 (30/26)	1e-35 (46/37)
<i>Fusarium oxysporum</i> Fo5176■	1e-07 (23/85)	2e-10 (22/93)	4e-12 (25/66)	0,16 (22/13)	0,55 (27/16)
<i>Verticillium dahliae</i> VdLs.17■	2e-06 (24/97)	4e-18 (25/85)	4e-14 (27/82)	2,2 (23/16)	1,2 (27/14)

● – нуклеотидні послідовності геному відомі повністю; ■ – геном секвеновано частково

**Таблиця 3.10.** Результати вирівнювань послідовностей білків, необхідних для біомінералізації магнетиту в *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, та білків мікроорганізмів, що формують внутрішньоклітинні БМН [145]

Штам мікроорганізму	E-число (I, % / C, %)				
	Білки <i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i> MSR-1				
	MamA	MamB	MamM	MamO	MamE
<b>Група 3 – Мікроорганізми, що синтезують внутрішньоклітинні аморфні БМН</b>					
<i>Lactobacillus plantarum</i> JDM1●	0,020 (28/75)	7e-07 (27/22)	4e-09 (20/80)	2e-06 (26/25)	2e-26 (40/33)
<i>Lactococcus lactis</i> MG1363●	0,045 (35/14)	8e-23 (25/95)	5e-24 (28/80)	0,001 (25/26)	3e-22 (39/40)
<i>Caulobacter maris</i> MCS10●	8e-10 (26/68)	9e-12 (25/89)	1e-12 (29/48)	3e-14 (29/27)	2e-33 (39/37)
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> HKU09-01●	1e-05 (23/82)	2e-25 (25/92)	2e-31 (30/86)	4e-10 (29/27)	2e-25 (32/27)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NCMG1179■	0,038 (32/40)	2e-11 (23/86)	2e-10 (25/86)	1e-07 (25/28)	5e-34 (41/54)
<i>Bacillus cereus</i> HuA2-9■	2e-06 (26/84)	9e-39 (31/92)	2e-32 (31/79)	9e-06 (23/44)	3e-25 (41/35)
<i>Halococcus morrhuae</i> DSM1307■	0,003 (24/81)	7e-22 (27/82)	2e-28 (28/95)	0,034 (27/20)	1e-11 (34/18)
<i>Haloarcula vallismortis</i> ATCC 2971■	0,003 (31/52)	2e-30 (27/86)	3e-23 (28/44)	0,095 (27/20)	7e-18 (41/19)
<b>Група 4 – Мікроорганізми, що синтезують внутрішньоклітинні кристалічні БМН</b>					
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> ATCC 23270●	5e-05 (23/76)	1e-36 (31/80)	9e-24 (29/85)	1e-07 (27/27)	1e-11 (34/56)
<i>Shewanella putrefaciens</i> CN32●	0,13 (27/39)	9e-25 (28/84)	3e-17 (26/79)	1e-07 (27/26)	9e-33 (42/56)

● – нуклеотидні послідовності геному відомі повністю; ■ – геном секвеновано частково

### 3.3.3.1. Мікроорганізми, які синтезують позаклітинні аморфні БМН (група 1)

Присутність гомологів білків *MamB* і *MamM* МТБ є необхідною для синтезу позаклітинних аморфних БМН у мікроорганізмах групи 1. Так, навіть за відсутності гомологів білків *MamA*, *MamN*, *MamO* та *MamE*, наприклад, у *Leptothrix ochracea* L12 здатність формувати аморфні БМН

на поверхні клітини забезпечується саме функціонуванням гомологів білків *MamB* і *MamM*. Таким чином, присутність гомологів білків *MamA*, *MamO* та *MamE* в інших мікроорганізмах цієї групи може спричинити наявність додаткових фенотипових характеристик біомінералізації і/або функцій, і зокрема такої, як одночасний синтез внутрішньоклітинних кристалічних БМН. На сьогодні здатність синтезувати як поза-, так і внутрішньоклітинні БМН вже, зокрема, експериментально доведено для таких представників групи 1, як *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 [173, 174] та *Shewanella putrefaciens* CN32 [180].

Отже, методами ТЕМ було виявлено одночасне утворення аморфних частинок феригідриту на поверхнях клітин *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270, а також електронно-щільних частинок, що містять біогенний магнетит розміром 20–30 нм (із примембранною локалізацією всередині клітин цих бактерій). У свою чергу, БМН у *Shewanella putrefaciens* CN32 представлені аморфними частинками оксидів заліза на поверхнях клітин і включеннями магнетиту всередині цих клітин [180]. Також відомо, що інші мікроорганізми цієї групи характеризуються утворенням позаклітинного аморфного феригідриту (як, наприклад, *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 53993 і *Thiomonas sp.* 3As) та позаклітинних частинок оксидів заліза (зокрема, *Chlorobium ferrooxidans* DSM 13031) [120, 122, 174]. Натомість, мікроорганізм *Leptothrix ochracea* L12, в якому не виявлено гомологів білків *MamA*, *MamO* та *MamE*, притаманні аморфні частинки ферригідриту, скупчення яких формують навколо клітин чохол та характеризуються магнітними властивостями, подібними до спінового скла [117, 181].

### 3.3.3.2. Мікроорганізми, що синтезують позаклітинні кристалічні БМН (група 2)

Аналіз результатів вирівнювань послідовностей білків МО МТБ із протеомами мікроорганізмів, які формують позаклітинні кристалічні БМН (група 2), показав присутність гомологів *MamA*, *MamB* та *MamM* в цих мікроорганізмах [144] та що їх присутність гомологів цих білків у протеомі є необхідною умовою для біомінералізації позаклітинних кристалічних БМН. І також встановлено, що функції білків-гомологів цих мікроорганізмів (*MamB* і *MamM*) співпадають з функціями відповідних білків у МТБ. Крім того, на користь гіпотези про важливість білка *MamA* для формування кристалічної структури при біомінералізації БМН вказує наявність гомологів цього білка в протеомах мікроорганізмів групи 2, які формують позаклітинні кристалічні магнітні наночастинки. Так, зокрема, клітини бактерій *Geobacter metallireducens* GS-15 здатні утворювати

виключно позаклітинні частинки, представлені однодоменним магнетитом у вигляді дисків і сидеритом, а також протомангнетитом і протогетитом [33]. При вирощуванні ж *Dechlorosoma suillum* PS у культуральному середовищі виявлено преципітати магнетиту [176].

Щодо представників царства грибів, то експериментально здатність формувати БМН встановлено для одноклітинних *Fusarium oxysporum* Fo5176 і *Verticillium dahliae* VdLs.17 [172] та багатоклітинних грибів. На клітинній поверхні одноклітинних грибів присутні частинки магнетиту квазісферичної форми розміром 20–50 нм (*Fusarium oxysporum* Fo5176), а також кубічної форми розміром 10–40 нм (*Verticillium dahliae* VdLs.17). У роботі [172] показано, що наночастинки добре відокремлені одна від одної та вкладені в схожу на матрицю структуру, в якій присутні білки. На відміну від МТБ, у цих грибів кристали синтезуються зовнішньоклітинно, що свідчить про участь у біомінералізації БМН в грибах *Fusarium oxysporum* та *Verticillium sp.*, іншого набору білків біомінералізації, ніж у МТБ.

Аналіз із використанням методу множинного вирівнювання послідовностей білка *MamA M. gryphiswaldense* MSR-1 і його гомологів у мікроорганізмах групи 2 дозволив виявити консервативні послідовності, що демонструють схожість фізико-хімічних властивостей та перебувають у рамках консервативних TPR-доменів із подібними сайтами зв'язування [145].

У мікроорганізмах групи 2, які належать до прокаріотів, виявлено білки, які мають високий ступінь гомології до *MamN*, *MamO* та *MamE M. Gryphiswaldense* MSR-1 – чого не спостерігається у представників одноклітинних грибів цієї самої групи (табл. 3.9). Можливо, такі відмінності пов'язані з різними умовами існування цих груп мікроорганізмів. Так, представники грибів є аеробами, а *Geobacter metallireducens* GS-15 і *Dechlorosoma suillum* PS характеризуються строго анаеробним метаболізмом. У зв'язку з цим можна припустити, з одного боку, що ці білки не є строго необхідними для біомінералізації позаклітинних кристалічних БМН, а, з іншого боку, що гомологи *MamO* і *MamE* необхідні для біомінералізації БМН лише за аеробних і мікроаеробних умов. Також можливим є те, що гомологи *MamO* і *MamE* у *Fusarium oxysporum* Fo5176 і *Verticillium dahliae* VdLs.17 не були знайдені через відсутність інформації про повні геноми грибів. Перше припущення підтверджується даними роботи [182], які свідчать про зв'язок експресії генів MO МТБ із метаболічними шляхами анаеробного розщеплення субстратів у МТБ, а також про те, що виникнення генетичної основи біомінералізації магнетиту відбувається за відсутності кисню в атмосфері. І виявлено також [145], що білок *MamO* у МТБ і білки-гомологи бактерій

групи 2 є консервативними послідовностями, які перекриваються і демонструють схожість із доменом типу трипсиноподібної протеази і доменом суперродини *PDZ*.

### 3.3.3.3. Мікроорганізми, які синтезують внутрішньоклітинні аморфні БМН (група 3), і мікроорганізми, що синтезують внутрішньоклітинні кристалічні БМН (група 4)

Результати досліджень [145] (табл. 3.10) вказують на те, що гомологи *MamB*, *MamM* і *MamE* МТБ є обов'язковими для синтезу внутрішньоклітинних аморфних БМН у мікроорганізмах групи 3. Враховуючи отримані результати, можна також припустити, що присутність гомологів *MamA*, *MamB*, *MamM*, *MamO* і *MamE* *M. gryphiswaldense* MSR-1 є достатньою для внутрішньоклітинної біомінералізації кристалічних БМН у мікроорганізмах групи 4. Так, при проведенні аналізу гомологів білка *MamA* у мікроорганізмах цієї групи було показано, що співпадаючі послідовності у відповідних білках *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270, *Rhodopseudomonas palustris* BisB18 і МТБ характеризуються подібністю за фізико-хімічними властивостями до білків до *TPR*-доменів. Гомологи *MamA* відіграють транспортну роль, виступаючи переносниками іонів  $Fe^{2+}$  або хелатів через клітинну мембрану в мікроорганізмах, що формують аморфні БМН, або ж виконують низку інших функцій. Можливим є й те, що формування кристалічної структури забезпечується залізовв'язувальним білком *Mmsb*, який не демонструє гомології до *MamA* – хоча цей останній забезпечує правильну орієнтацію *Mmsb* відносно до кристалу, який формується [183]. На сьогодні існує підтвердження можливої транспортної ролі білка *MamA* (а саме за результатами кількісних досліджень ступеня поглинання заліза з культурального середовища клітинами МТБ, в яких показано, що клітини з делецією гену *MamA* поглинають із середовища менше заліза, ніж клітини МТБ «дикого» типу [169]). Й, окрім того, з використанням методу флуоресцентних міток показано локалізацію білка *MamA* поблизу мембрани магнітосом, а також у складі клітинної мембрани МТБ [169].

Існує декілька припущень стосовно можливої функції білка *MamA*: оскільки цей білок містить мотиви типу *TPR*, які формують суперспіраль та сайти для гомоолігомеризації та взаємодії з іншими білками, то його роль може бути пов'язана зі збиранням мультибілкових комплексів, сортуванням білків та просторовою організацією їх один щодо одного у функціонально активний комплекс [169, 178]. Більшість дослідників схиляється до думки [33], що *MamA* є рецептором мембрани магнітосом, що взаємодіє з цитозольними білками і залучений до формування

мультибілкових комплексів у мембрані магнітосом. Делеція ж гену *MamA* не впливає на форму і розміри внутрішньоклітинного магнетиту, а також на наявність ліпідних мембранних везикул навколо магнітосом, проте кількість магнітосом у клітині загалом стає меншою. А звідси випливає, що відсутність білка *MamA* призводить до порушень як транспортування заліза у клітину, так і просторової організації комплексів ключових білків біомінералізації в мембранах магнітосом.

У протеомах мікроорганізмів, що містять внутрішньоклітинні аморфні БМН, виявлено присутність білків-гомологів *MamE* МТБ. І також наявність гомологів білків *MamO* і *MamE* спостерігається у мікроорганізмах із внутрішньоклітинними кристалічними БМН, а це підтверджує гіпотезу про можливу роль *MamO* і *MamE* в процесах синтезу внутрішньоклітинних БМН.

Відомо [81, 178], крім того, що білки *MamO* та *MamE* мають трансмембранну локалізацію. Так, у складі білка *MamO* присутні домен з пермеазною функцією, домен типу трипсиноподібної серинової протеази та гемовмісний домен із невідомою функцією (можливо, він каталізує реакції окиснення-відновлення заліза) [90]. Білок же *MamE* містить два висококонсервативні *PDZ*-домени, притаманні сериновим протеазам родини *HtrA*. Ці протеази необхідні для: дозрівання і подальшого фолдингу секреторних та мембранних білків; деградації незгорнутих білків чи білків із неповноцінною третинною структурою або ж спонтанних агрегатів білків у клітині; опосередкування процесів сигнальної трансдукції у відповідь на тепловий шок та інші стресові чинники середовища [184]. Функцією *PDZ*-доменив є позиціонування іонних каналів, транспортерів та рецепторів до залізовмісних сполук і сигнальних молекул у мембранах магнітосом у правильній просторовій орієнтації, необхідній для біомінералізації. Так, авторами роботи [154] експериментально доведено, що наслідком транспозонного мутагенезу генів *MamE* та *MamO* є порушення кристалізації внутрішньоклітинного біогенного мінералу в МТБ, а також поява порожніх магнітосомних везикул. У свою чергу, в роботі [145] показано подібність доменів і сайтів цих білків МТБ та їхніх гомологів у мікроорганізмах, що синтезують БМН. Таким чином, для мікроорганізмів, які утворюють внутрішньоклітинні аморфні БМН, обов'язковою є наявність гомологів білків *MamB*, *MamM* та *MamE*, а мікроорганізми, в протеомах яких присутні гомологи *MamB*, *MamM*, *MamE*, *MamO* і *MamA* МО МТБ, здатні до біомінералізації внутрішньоклітинних кристалічних БМН [145]. Що ж до білка *MamN*, то з даних робіт [81, 154] відомо, що для деяких магнітотаксисних бактерій біомінералізація кристалічних БМН можлива і без цього білка (що може бути справедливим і для досліджуваних у роботі

[145] штамів мікроорганізмів). При цьому білок *MamN* гіпотетично залучений до регулювання рН у просторі в оточенні білків магнітосомної мембрани [81]. Водночас, гомологи цього білка у представників досліджуваних мікроорганізмів є транспортерами арсенатних, сульфатних, карбонатних та низки інших органічних аніонів і одночасно антипортерами  $H^+$  [185]. Отримані результати (табл. 3.10) дозволяють припустити, що регулювання рН в околі формування БМН може відбуватися й при залученні інших механізмів (включно з функціонуванням інших протонних pomp та транспортерів), тому присутність *MamN* для біомінералізації БМН не є обов'язковою.

Аналіз же результатів попарних вирівнювань білків, що забезпечують формування ланцюгів БМН (*MamK* та *MamJ*) і мембранних везикул навколо них (*MamQ* та *MamL*), а також білків із невідомою функцією (*MamH* та *MamZ*) *M. gryphiswaldense* MSR-1 з протеомами досліджуваних мікроорганізмів показав, що не виявлено взаємозв'язку між здатністю формувати ланцюги БМН у досліджуваних мікроорганізмах та присутністю гомологів *MamK* у їхніх протеомах. Водночас, відповідальні за формування ланцюгів БМН гомологи *MamJ* не було виявлено в протеомах усіх досліджуваних мікроорганізмів. У зв'язку з цим можна припустити, що формування БМН у ланцюжки може відбуватися без участі білків, що є гомологами *MamK* і *MamJ* *M. gryphiswaldense* MSR-1: у цьому випадку формування кластерів і/або невеликих ланцюжків може пояснюватися магнітними силами, що забезпечують притягання частинок після росту БМН [186, 187]. І також виявлено кореляцію між експериментальними даними про відсутність магнітосомних везикул (ліпідних бішарів) у досліджуваних мікроорганізмах [34, 117, 120, 122, 172–177] та про відсутність гомолога *MamL* (як одного з білків, відповідального за формування ліпідного бішару) в їхніх протеомах. Стосовно ж другого білка, залученого до формування магнітосомних везикул *MamQ*, то його гомологи присутні у деяких із досліджуваних мікроорганізмів. А білки з невідомими функціями *MamH* і *MamZ* також мають гомологи у деяких представниках досліджуваних мікроорганізмів.

Відсутність везикули навколо БМН дозволяє припустити локалізацію білків, необхідних для їх синтезу в шарі органічного матеріалу. Так, по археях оточення БМН є достатньо вивченим: дослідження із застосуванням ТЕМ показали присутність органічного (переважно білкового) компоненту навколо частинок БМН [45]. Відсутність везикул спостерігається для БМН і в клітинах людини: замість везикул спостерігається подібного типу органічний матрикс, що складається з білкових філаментів [123].



Генетичний аналіз генів біомінералізації у різних мікроорганізмах є актуальною задачею, оскільки не завжди можливо відрізнити синтез БМН мікроорганізмами від сорбції оксидів заліза або інших частинок з оточуючого середовища [180]. У зв'язку з цим ідентифікація в протеомах мікроорганізмів гомологів білків, які опосередковують механізм синтезу БМН, дозволяє відрізнити утворення БМН у результаті генетично контрольованого процесу біомінералізації від їх формування внаслідок пасивної або ж активної біосорбції.

Таким чином, завдяки порівнянню результатів теоретичних та експериментальних досліджень немагнітотаксисних мікроорганізмів отримано їх класифікацію за магнітними властивостями та місцем локалізації щодо клітини [145] (табл. 3.11).

Як теоретичні, так і експериментальні дослідження БМН у мікроорганізмах мають важливий прикладний аспект – можливість подальшого використання таких мікроорганізмів, які володіють природними магнітними властивостями та можуть застосовуватися:

- при створенні рекомбінантних мікроорганізмів як потенційних векторів для спрямованої доставки лікарських препаратів та біологічно активних речовин, що позбавлені недоліків штучних магнітокерованих носіїв [188];
- у якості біосорбентів, виготовлених на основі різноманітних мікроорганізмів (бактерій, грибів, водоростей) для вилучення з водних розчинів іонів важких металів, барвників, біогенних елементів, фосфатів, нітритів, нітратів, хлоридів, ХСК (хімічного споживання кисню), АПАР (аніонно-поверхневих активних речовин), амонійного азоту, інших домішок [189–191] тощо;
- при використанні в сучасних біотехнологіях водо очистки, коли їм штучно надаються магнітні властивості [192–194] – що пов'язано з низкою проблем та обмежує їх ефективне використання для такої очистки [195];
- для отримання магнітних наночастинок із визначеними магнітними та морфологічними параметрами (БМН у низці організмів демонструють унікальні властивості й функції: монодисперсність; багатодоменність чи однодоменність або ж суперпарамагнітні властивості; запрограмовані розмір і форму та ін.) [196];
- при вивченні властивостей бактеріальних БМН, а також для розробки нових технологій створення синтетичних аналогів біогенним магнітним наночастинкам *in vitro* з використанням білків біомінералізації БМН [197]. Отримання магнітних наночастинок із контрольованими властивостями є надзвичайно важливою задачею в багатьох технологіях: у медицині – для цілеспрямованої доставки

лікарських препаратів [198–201], магнітної сепарації та очищення біологічних середовищ; у наноелектроніці – для створення нових пристроїв з обробки та зберігання інформації [202] тощо.

**Таблиця 3.11.** Класифікація немагнітотаксисних мікроорганізмів за магнітними властивостями та місцем локалізації щодо клітини [145]

Гомологи білків МО МТБ у неМТБ	Зовнішньоклітинні аморфні БМН (1 група)	Зовнішньоклітинні кристалічні БМН (2 група)	Внутрішньоклітинні аморфні БМН (3 група)	Внутрішньоклітинні кристалічні БМН (4 група)
<i>MamA</i>	–	+	–	+
<i>MamB</i>	+	+	+	+
<i>MamM</i>	+	+	+	+
<i>MamO</i>	–	–	+	+
<i>MamE</i>	–	–	+	+
<i>MamK</i>	–	–	+	+

### 3.3.4. Білки біомінералізації у немагнітотаксисних мікроорганізмах за різних типів дихання

Як вже зазначалося, явище біомінералізації на генетичному рівні добре вивчене в МТБ, що належать до класу  $\alpha$ -протеобактерій і є мікроаерофілами (*Magnetospirillum magnetotacticus*, *Magnetospirillum gryphiswaldense* та ін.) [33], а також у тих, які відносять до класу  $\delta$ -протеобактерій і факультативних анаеробів (зокрема, *Desulfovibrio magneticus*) [87, 203]. Останні з цих мікроорганізмів є сульфатредуючими, мають сульфатний тип дихання, а кристали БМН у таких бактеріях не відповідають за навігацію (отже, *Desulfovibrio magneticus* RS-1, наприклад, є бактерією з новими метаболічними особливостями).

До анаеробів належать прокаріоти, причому факультативні анаероби використовують акцептори електронів із високим окисно-відновним потенціалом (зокрема,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , фумарат, диметилсульфоксид та ін.) і анаеробні дихальні процеси у них конкурують з енергетично вигіднішими аеробними і пригнічуються киснем. Акцептори ж із низьким окисно-відновним потенціалом (сірка,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_2$  тощо) застосовуються лише строгими анаеробами, що гинуть при появі в середовищі кисню [204]. Крім того, залежно від природи кінцевого акцептора розрізняють нітратний, сульфатний, карбонатний, фумаратний, залізний та низку інших типів дихання [204, 205].

В роботі [206] досліджено можливість та особливості формування БМН за різних типів анаеробного дихання методом порівняльної геноміки. Зокрема, здійснено вирівнювання амінокислотних послідовностей білків МО МТБ *M. gryphiswaldense* і анаеробів, що відрізняються за типом дихання. Дослідження у рамках роботи [206] (див. також табл. 3.12) показали: низка анаеробних мікроорганізмів є потенційними продуцентами БМН – що підтверджується статистичними даними та спільними функціями білків *MamA*, *MamB*, *MamM*, *MamO*, *MamE* і *MamN* МО МТБ та відповідних білків анаеробів.

У низці досліджених мікроорганізмів білки анаеробів, які є гомологами білка *MamN*, належать до одного суперсімейства, але мають дещо інші функції порівняно з функціями білка магнітосомного острівця – що підтверджує гіпотезу робіт [87, 145, 206] про можливість процесу біомінералізації кристалічних внутрішньоклітинних БМН за відсутності білка *MamN*.

Аналіз гомологів регуляторних білків (регулюють форму, розмір та кількість БМН, а також процеси утворення ланцюга та везикул) показав [206], що з 17 регуляторних білків МО МТБ (зокрема таких, як *MamQ*, *MamI*, *MamL*, *MamJ*, *MamK*, *MamF*, *MamD*, *MamT*, *MamP*, *MamR* та *MamS*) анаеробні мікроорганізми мають гомологи із трьома з цих білків, а саме *MamK*, *MamH* та *MamQ*. Це підтверджує гіпотезу роботи [207], що ці останні білки походять від спільного предка в корені філогенетичного дерева всіх організмів.

Таким чином, набір білків *MamA*, *MamB*, *MamM*, *MamO*, *MamE*, *MamN*, *MamK*, *MamH* та *MamQ* анаеробних мікроорганізмів, які є гомологами білків МО МТБ, ближчий до притаманного людині, ніж МТБ, і, крім того, функції БМН у анаеробних організмах співпадають з функціями у людини, а це свідчить про те, що МТБ мають додаткові білки, які набулі під час еволюційних змін і беруть участь у процесі біомінералізації.

Також дослідження робіт [145, 206] показали, що не всі представники одного типу анаеробного дихання чи навіть одного роду мають гомологію з білками МО МТБ, а пов'язано це може бути з конкретними умовами існування тих чи інших мікроорганізмів [206].

**Таблиця 3.12.** Потенційні продуценти БМН серед анаеробних мікроорганізмів за різних типів дихання

Тип дихання та вид мікроорганізму
<u>Нітратний (факультативні анаероби)</u> <i>Alcaligenes</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Hyphomicrobium</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Thiobacillus denitrificans</i>
<u>Сульфатний (факультативні анаероби)</u> <i>Desulfobacter</i> <i>Desulfotomaculum nigrificans</i> <i>Dm. orientis</i> <i>Dm. ruminis</i> <i>Desulfovibrio desulfuricans</i> <i>D. vulgaris</i>
<u>Сірчаний (факультативні анаероби)</u> <i>Desulfotomaculum acetoxidans</i> <i>Wolinella succinogenes</i>
<u>Карбонатний (метаноутворюючі бактерії) – строгі анаероби</u> <i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i> <i>Methanosarcina</i> <i>Methanospirillum hundatii</i>
<u>Карбонатний (ацетогенні бактерії) – строгі анаероби</u> <i>Acetobacterium woodii</i> + <i>Peptostreptococcus</i> +
<u>Фумаратний (строгі анаероби)</u> <i>Bacteroides</i> <i>Escherichia</i> <i>Klebsiella</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Proteus</i> + <i>Salmonella</i> +
<u>Залізний</u> <i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i> + <i>Geobacter metallireducens</i> <i>Pseudomonas</i> + <i>Serratia</i> +

### 3.3.5. Білки біомінералізації БМН у грибах

Як було зазначено вище, БМН експериментально виявлено у грибах родів *Fusarium oxysporum* і *Verticillium dahlia*, які є збудниками трахеомікозу рослин та вражають близько 350 видів дводольних рослин, та у низці багатоклітинних грибів.

Від ураження грибами *Fusarium oxysporum* і *Verticillium dahlia* найсильніше страждає бавовник, а дещо менше – кунжут, канатник, льон, томат, картопля, диня, кавун, персик, абрикос та ін.

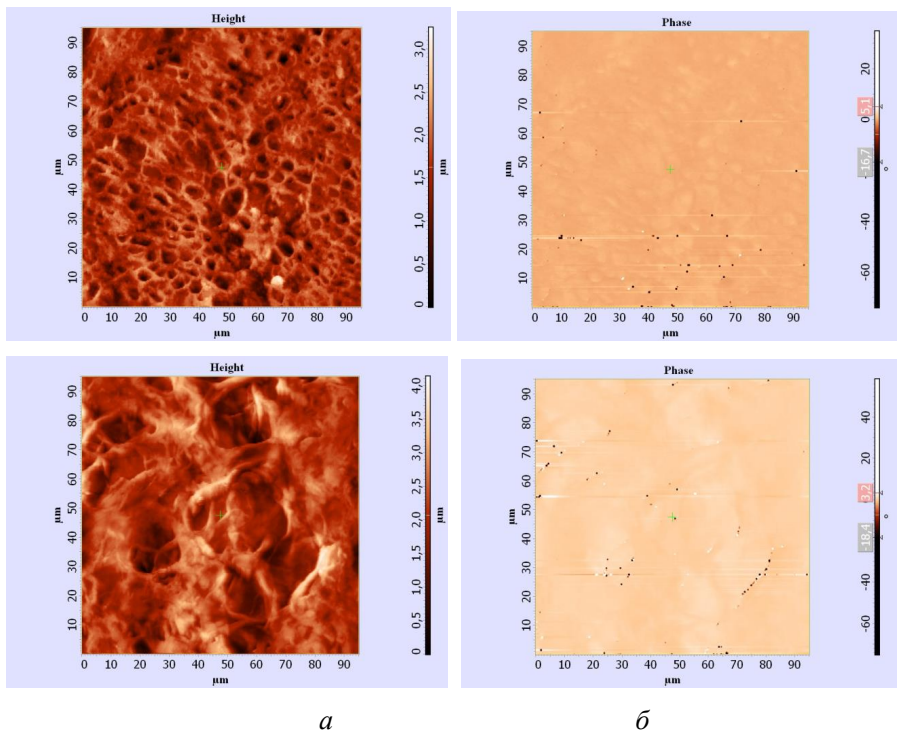
Збудник розвивається в ґрунті, через коріння проникає в рослину і поширюється в системі ксилеми (тканинах наземних рослин, призначенням яких є проведення води і мінеральних солей від коріння вгору по рослині до листя), викликаючи в'янення надземних органів. Найчастіше гине вся рослина, рідше – окремі його частини. Хвороба передається через ґрунт із рослинними залишками, посадковим матеріалом, поливною водою. Уражені рослини або не дають урожаю, або ж його якість різко знижується [208, 209].

При цьому різні штами *F. oxysporum* використовуються з метою виробництва наноматеріалів, і особливо наночастинок срібла [210].

З метою виявлення продуцентів БМН серед багатоклітинних грибів проведено порівняння білків МО магнітотаксисної бактерії *M. gryphiswaldense* з геномами грибів, наявними в базі даних *NCBI*.

Гомологи білків біомінералізації з білками біомінералізації БМН магнітотаксисної бактерії *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 виявлено у представників вищих грибів, а саме в грибах таких видів, як *Basidiomycota*, *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Microsporidia* та *Glomeromycetes* [398].

А також наявність БМН у представників вищих грибів, а саме печериць, підтверджена експериментально методами магнітної силової та атомної силової мікроскопії (рис. 3.6.) [47].



*a*) АСМ рельєфу поверхні шампінйону; *б*) розподілення магнітної фази (видно розташування ланцюжків БМН та окремих БМН)

**Рис. 3.6.** Зображення печериці (атомна силова та магнітна силова мікроскопії)

### 3.3.6. Білки біомінералізації БМН у рослинах та їхніх симбіотичних бактеріях

Експериментальні роботи з вивчення БМН у рослинах практично відсутні: так, у роботі [46] наведено експериментальні дані про залізовмісні магніточутливі сполуки, але класифікація виявлених наночастинок є невідомою (або це фітоферитин, або ж рослинні БМН). При цьому значна кількість досліджень присвячена вивченню впливу зовнішніх магнітних полів на швидкість росту рослин та проростання насіння, а також на збільшення кількості розростань коренів бобових рослин, індукованих агробактеріями [211, 212], і, крім того, впливу магнітних бактерій на характеристики ґрунтів та дослідженню ґрунтових залізоредакуючих мікроорганізмів [100, 103, 104, 105, 124, 213] тощо.

Отримані у рамках роботи [214] методами порівняльної геноміки теоретичні дослідження дозволили ідентифікувати у протеомах низки рослин гомологи білків біомінералізації БМН МО МТБ *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1. У табл. 3.13 наведено деякі рослини, які є потенційними продуцентами внутрішньоклітинних кристалічних БМН.

Також у роботі [214] з використанням методів порівняльної геноміки досліджено штами симбіотичних агробактерій (АБ), здатних до формування бульбочок коренів рослин, а, крім того, типових представників їхніх рослин-хазяїв, та показано, що вони є потенційними продуцентами БМН. Всі білки генів МО МТБ *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, без яких неможлива біомінералізація БМН (це *MamB*, *MamM*, *MamE* та *MamO*), є гомологами і характеризуються однаковими функціями з білками симбіотичних АБ та їхніх типових рослин-хазяїв із сімейства бобових. Крім того, встановлено, що патогенні АБ, які спричинюють формування пухлин на коренях рослин, також є потенційними продуцентами БМН, оскільки містять у протеомах гомологи всіх білків біомінералізації БМН, а саме *MamA*, *MamB*, *MamM*, *MamO* і *MamE*, та мають відомі функції, які співпадають з функціями відповідних білків у МО МТБ.

### **3.3.6.1. Загальна характеристика симбіотичних та патогенних представників родини *Rhizobiaceae***

На сьогодні феномен розростань коренів у результаті гіперпроліферації клітин ризодерми та прилягаючої паренхіми є достатньо дослідженим. Він може бути зумовлений низкою причин (пошкодження рослин вірусами, бактеріями, грибами, членистоногими, червами тощо), які викликають необмежений та неупорядкований ріст клітин коренів [215].

Агробактерії є найбільш дослідженими бактеріальними індукторами розростань коренів переважно дводольних рослин у вигляді пухлин різних морфології та розмірів [216, 217]. Виняткове значення АБ серед усіх інших мікроорганізмів пов'язане з тим, що вони здатні до перенесення генетичного матеріалу між різними царствами, і зокрема прокаріотами та еукаріотами. На сьогодні агробактерії є інструментом генної інженерії рослин, широко використовуються в промисловості, а також є зручною експериментальною системою для дослідження великого діапазону таких основних біологічних процесів, як міжклітинні взаємодії і транспортування, рекомбінації ДНК, збирання ДНК-білкових комплексів, регулювання експресії генів АБ у рослинній клітині [216] тощо.

Таблиця 3.13. Рослини, які є потенційними продуцентами внутрішньоклітинних кристалічних БМН [214]

	Рослини	МатА	МатВ	МатМ	МатО	МатЕ	МатN	МатК
		Формування кристалічної структури	Ініціація біомінералізації	Ініціація внутрішньоклітинної біомінералізації	Ініціація внутрішньоклітинної біомінералізації	Ініціація внутрішньоклітинної біомінералізації	Ініціація внутрішньоклітинної біомінералізації	Ініціація внутрішньоклітинної біомінералізації
1	<u>Резуховидка</u> <i>Таля</i> <i>Arabidopsis thaliana</i>	2,00e-07	2,00e-33	7,00e-22	8,00e-06	5,00e-31	1,00e-08	–
2	<u>Плаунок</u> <i>Selaginella moellendorffii</i>	9,00e-06	4,00e-33	8,00e-29	2,00e-06	4,00e-31	7,00e-13	–
3	<u>Модельний злак</u> <i>Brachypodium distachyon</i>	2,00e-05	3,00e-34	3,00e-26	4,00e-07	5,00e-30	1,00e-07	–
4	<u>Тополь</u> <i>Populus</i>	2,00e-06	5,00e-30	2,00e-22	9,00e-07	4,00e-32	2,00e-09	2,00e-07
5	<u>Кукурудза</u> <i>Zea mays</i>	1,00e-06	2,00e-34	1,00e-25	5,00e-06	1,00e-30	3,00e-08	–
6	<u>Люцерна</u> <i>Medicago truncatula</i>	2,00e-06	4,00e-09	1,00e-06	3,00e-05	3,00e-31	9,00e-09	–
7	<u>Рис</u> <i>Oryza sativ</i>	1,00e-06	1,00e-33	5,00e-25	5,00e-07	5,00e-30	2,00e-07	–
8	<u>Зелений мох</u> <i>Physcomitrella patens</i>	2,00e-06	3,00e-35	1,00e-25	1,00e-07	8,00e-34	7,00e-12	–



Переважна більшість агробактерій є паличкоподібними мікроорганізмами, які здатні до руху завдяки наявності від одного до шести полярно (на одному кінці клітини) розміщених джгутиків. АБ належать до прокаріотів, представників грамнегативних аеробних паличок і коків, класу Альфа-протеобактерій, родини *Rhizobiaceae* роду *Agrobacterium*. Середовищем існування агробактерій є ризосфера ґрунту та бульбочки/пухлини коренів рослин. АБ є гетеротрофами і сапрофітами, які використовують для живлення рештки відмерлих коренів рослин. За типом метаболізму агробактерії належать до групи факультативних аеробів – мікроаерофілів. В анаеробних умовах АБ використовують нітрат як кінцевий акцептор електронів з аеробним типом метаболізму. Запасною ж формою енергетичних субстратів у агробактеріях є поліглюкозидні молекули, які використовуються клітинами АБ для забезпечення біосинтетичних процесів, а також при відновленні сполук хрому – наслідком чого є зниження вмісту хрому в ґрунті та його токсичного впливу на оточуючі організми [216].

Серед агробактерій виділяють патогенні та симбіотичні мікроорганізми. Симбіотичні форми АБ спричинюють утворення бульбочкоподібних розростань та здатні до фіксації молекулярного нітрогену з повітря, залучаючи його завдяки наявності ферменту нітрогенази в органічні сполуки, які утилізуються рослиною [218]. При цьому стратегії проникнення як патогенних, так і симбіотичних агробактерій та механізми індукції ними розростань коренів і генетичної трансформації рослинних клітин є подібними [218, 219].

Так, формування пухлин та бульбочок коренів бобових при інфікуванні агробактеріями є наслідком проникнення агробактерій у механічно пошкоджені частини кореня рослини, і зокрема в травмовану ризодерму [218]. Отже, як у випадку симбіотичних, так і патогенних АБ необхідним є пригнічення захисних реакцій рослин, які виникають після взаємодії рослини та агробактерій [220]. Первинною реакцією на проникнення агробактерій у рослинні тканини є посилення в них інтенсивності розвитку оксидативного стресу, адже в агробактеріях екзогенними активними формами кисню (АФК) індуються експресія антиоксидантних ферментів (пероксид-дисмутаза, каталаза, пероксидаза тощо) та синтез неферментативних низькомолекулярних антиоксидантів (відновлений глутатіон, тіоли, аскорбінова кислота та ін.) у рослин [220–222]. Також реакціями рослин на проникнення агробактерій є синтез ними інгібіторів бактеріальних ферментів, які розщеплюють рослинні полісахариди, – полігалактураназа,  $\beta$ -глюканаза і хітиназа, а також інтенсифікація синтезу рослинними клітинами катіонних білків, фітоалексинів та поліамінів [223]. Також компонентом захисних реакцій

рослин є інгібітори синтезу фітогормонів (аміноетоксивінілглутамін, L - амінооксифеніл-пропіонова кислота, етилен) [224].

У симбіотичних агробактерій із представниками сімейства бобових симбіоз виникає парафілетично (паралельно в різних таксонах) [225], причому здатні до симбіозу види агробактерій зосереджені в еволюційно молодших, порівняно з іншими, несимбіотичними видами АБ, таксонах. Це дозволяє припускати наявність у предків бобових преадаптацій, які й забезпечують появу симбіозу [226, 227]. Ними, зокрема, могли бути сформовані на коренях бульбочкоподібні структури, що початково виступали місцем зберігання крохмалю, а також особливості захисних систем, які дозволяли рослині розпізнавати корисні та патогенні бактерії. Могли в той час бути преадаптаціями предків симбіотичних агробактерій і здатність до азотфіксації та особливості клітинної поверхні, які дозволяли уникати впливу захисних систем рослин на ранніх етапах симбіозу та у подальшому стабільно існувати в рослинних клітинах. Крім преадаптацій, в еволюції симбіозу суттєву роль відігравали і чинники середовища. Так, еволюція бобово-ризобіального симбіозу відбувалася під тиском природного відбору на користь рослин, здатних розвиватися за дефіциту зв'язаного азоту [216, 225].

Бобові виникли у період, коли ґрунти були збіднені на нітроген і не могли забезпечити повноцінне живлення рослин. У симбіотичних же агробактерій еволюція ознак, які виявляються при симбіозі, відбувалася в результаті дії згаданого відбору, що й зумовило як їх відхід від конкуренції з іншими ґрунтовими сапротрофами, так і використання продуктів рослинного фотосинтезу [226]. Водночас, при відмиранні коренів бобових рослин та руйнуванні бульбочок агробактерії можуть переходити від симбіотичного способу існування до сапрофітного [216, 225]. При цьому бульбочкові бактерії, які належать до симбіотичних АБ, асоціюються з коренями 10% рослин із сімейства бобових (представниками підродин *Faboideae* та *Mimosoideae*) [216]. Вказані мікроорганізми належать до родів *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Azorhizobium*, причому різні види бактерій вступають у симбіотичні взаємовідносини специфічно з бобовими рослинами певних видів. Так, для вики (горошок), кормових бобів, гороху типовим симбіонтом є *Rhizobium leguminosarum*, донника і люцерни – *Rh. meliloti*, сої – *Rh. japonicum*, конюшини – *Rh. trifolii*, люпину – *Rh. lupini* тощо [216, 225].

Проникнення симбіотичних агробактерій у тканини коренів рослин супроводжується їх подальшою швидкою проліферацією в рослинних клітинах, на тлі чого посилюється мітотична активність цих останніх. Зв'язок же молодої бульбочки з коренем бобової рослини здійснюється

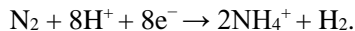
завдяки судинно-волокнистим провідним пучкам [216, 225]. Загалом формування бульбочок характеризується такими особливостями [216]:

- 1) індукцією в нетиповому місці нової рослинної меристеми, яка у нормі знаходиться лише у ділянці кореневого чохла;
- 2) клітинною та тканинною інвазіями симбіотичних агробактерій;
- 3) розвитком т.зв. центральної тканини з обмеженим доступом атмосферного кисню, у якій, власне, і відбувається киснечутлива азотфіксація;
- 4) розвитком периферичної судинної тканини поза межами інфікованої ділянки, але в межах ендодерми бульбочки.

Бактерії в бульбочках розмножуються швидко і утворюють великі клітини неправильної форми (бактероїди), об'єм яких може в 10–12 разів перевищувати об'єм вільно існуючих ризобій. При цьому бактероїди розташовуються окремо або групами і оточені мембраною в цитоплазмах рослинних клітин [216, 225].

У період росту бульбочки зазвичай щільні, а до моменту прояву азотфіксуючої активності набувають рожевого забарвлення (завдяки пігменту леггемоглобіну). Фіксувати азот здатні лише ті бактерії, що містять леггемоглобін. Цей міоглобіноподібний залізовмісний білок з молекулярною масою близько 16 кДа має високу спорідненість із киснем. У середньому вміст леггемоглобіну в бульбочках бобових досягає 30–40% усіх розчинних білків цитозолу рослинної клітини. Слід зазначити, що леггемоглобін складається з простетичної групи (Fe-протопорфірину) бактеріального походження та рослинного глобіну [228].

Роль леггемоглобіну в азотфіксації полягає у його здатності підтримувати концентрацію кисню на низькому, але сталому рівні, достатньому для дихання бактероїдів симбіотичних агробактерій, проте не здатному блокувати нітрогеназу, що каталізує перетворення N<sub>2</sub> повітря на іони амонію, які потім входять до складу глютамінової кислоти, під час реакції:



В оптимальних умовах функціонування бобово-ризобіального симбіозу потенційні розміри симбіотичної азотфіксації можуть досягати 130–390 кг/га, а для багаторічних бобових трав – 270–550. Фіксація азоту відбувається тільки в бактероїдах, причому 95% фіксованого азоту у вигляді іонів амонію переходить у цитоплазму рослини-хазяїна [216, 225, 228].

Чинниками, які визначають симбіотичні взаємовідносини бульбочкових бактерій із бобовими рослинами, є [229]:

- 1) вологість (оптимальна вологість становить 60–70% повної вологості ґрунту);

2) температура (максимальна азотфіксація у низки бобових рослин спостерігається за 20–25 °C);

3) рН ґрунту (від слабкої кислотності до нейтральної);

4) ступінь забезпеченості бобових рослин доступними формами мінеральних сполук нітрогену, фосфору, калію, кальцію, магнію, сірки і заліза та іншими мікроелементами;

5) біологічні чинники (конкуруюча з симбіотичними агробактеріями ризосферна мікрофлора, а також ґрунтові комахи, нематоди та гризуни, які пошкоджують ризодерму).

Таким чином, інфікування коренів рослин симбіотичними агробактеріями, незважаючи на деяку шкоду, що ними завдається (відтік поживних речовин до інфікованих ділянок кореня з метою формування бульбочок і живлення бактерій), дає рослинам переваги та підвищує рівень їх врожайності [216, 225].

Головною характеристикою патогенних форм агробактерій є їхня здатність виступати етіологічним чинником неконтрольованих розростань (пухлин) коренів рослин у вигляді корончастих галів, «волохатих коренів», тератом тощо [230]. При цьому на подальших етапах росту пухлини присутність у ній патогенних АБ не є обов'язковою. Найчастіше індуковані патогенними агробактеріями пухлинні нарости виникають на прикореневій частині стебла (корончасті гали), але можуть формуватися також на коренях, стеблах, листках та інших частинах рослин. Злоякісними пухлинами бактеріальної етіології уражуються рослини, що належать до плодкових та сільськогосподарських культур, і зокрема *Vitis sp.* (виноград), *Malus sp.* (яблуна), *Helianthus annuus* (соняшник), *Solanum lycopersicum* (томат) та ін. [230]. У табл. 3.14 наведено типові приклади представників патогенних мікроорганізмів, що викликають патологічну проліферацію коренів рослин, серед яких переважна більшість належить до агробактерій. Зокрема, найбільш дослідженими представниками патогенних АБ є: *Agrobacterium tumefaciens*, які спричинюють формування корончастих галів плодкових дерев [231]; *Agrobacterium rhizogenes*, які виступають етіологічним чинником «волохатих коренів» плодкових дерев та сільськогосподарських культур [232]; *A. rubi*, які зазвичай індукують неорганізовані пухлини (тератоми) при ураженні смородини та малини [233]. І, в свою чергу, бактерії *A. vitis* спричинюють корончасті гали винограду, а також некротичні ураження коренів [234]. При цьому пухлини, що розвиваються з однієї або декількох клітин, швидко розростаються в більші утворення, діаметр яких на певних видах дерев може досягати одного метра.

**Таблиця 3.14.** Фітопатогенні бактерії та індуковані ними морфологічні зміни коренів рослин [235]

Штам бактерії	Захворювання	Рослини-хазяї
<i>Rhizobium larrymoorei</i>	Волохате коріння	Дводольні рослини, і особливо бобові
<i>Rhizobium vitis</i> S4		
<i>Rhizobium radiobacter</i> K84		
<i>Rhizobium rhizogenes</i>		
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> C58	Корончасті гали	Дводольні рослини
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 5A		
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> F2		
<i>Agrobacterium ferrugineum</i>		
<i>Agrobacterium rubi</i>		
<i>Bradyrhizobium betae</i>	Формування вузликів	Бобові
<i>Pseudomonas savastanoi</i>	Вузликова хвороба	Оливкові
<i>Rhodococcus fascians</i>	Хвороби листка	Дводольні

Типова пухлина є більш-менш округлою дедиференційованою масою клітин (каллусом), яка може мати гладку або шорстку поверхню, бути паренхіматозною чи одерев'янілою. Іноді на периферії таких пухлин формуються листоподібні структури (тератоми), іноді – додаткові корені. Нерідко на заражених рослинах спостерігаються вторинні пухлини, значно віддалені від первинних, час місцезнаходження зазвичай виявляється вище первинної пухлини – що, в свою чергу, передбачає рух бактерій або ж трансформуючого агента в напрямку транспірації [236].

Поширення патогенних АБ та інших фітопатогенних бактерій по міжклітинниках і ксилемі є добре доведеним фактом. Так, патогенні агробактерії можуть пересуватися на великі дистанції зі значною швидкістю. Проте, вочевидь, це не єдина причина індукції вторинних пухлин, адже організацію пухлин, а саме їх форму, величину і характер розвитку, визначають три чинники: штам агробактерії; генотип рослини-хазяїна; фізіологічний стан рослинних клітин, що інфікуються [233].

Патогенні агробактерії мають дуже широке коло рослин-хазяїв і можуть інфікувати практично всі дводольні рослини (табл. 3.14). Стосовно ж однодольних рослин тривалий час вважалося, що вони нечутливі до інфікування патогенними агробактеріями, тоді як на сьогодні вже експериментально доведено: при співкультивуванні ці АБ можуть інфікувати корені однодольних рослин, і зокрема представників таких родин, як *Amaryllidaceae* (амарилісові), *Liliaceae* (лілійні), *Gramineae* (злакові), *Iridaceae* (ірисові) тощо [237] – чого, натомість, не спостерігається в природі. Водночас, існують певні варіації кола рослин-хазяїв для різних штамів *Agrobacterium*: деякі штами здатні викликати

галоутворення на одних видах рослин, проте не інфікують інші. Чутливість же до того чи іншого агробактеріального штаму може відрізнятися для різних сортів однієї й тієї самої рослини [238].

Неможливість зараження однодольних рослин у природі зумовлюється відсутністю відповідних рецепторів, необхідних для взаємодії з бактеріями. І ще одним чинником, що перешкоджає інфікуванню однодольних рослин патогенними АБ, є, можливо, відсутність у клітинах цих рослин низькомолекулярних індукторів вірулентності *Agrobacterium* (наприклад, ацетосірінгону), які зазвичай виділяються при механічному пошкодженні тканин дводольних рослин [237].

Найбільш детально на сьогодні вивчені корончасті гали, індуковані *A. tumefaciens*. Вони є істинно злоякісними пухлинами, які можуть рости в культуральному середовищі за відсутності стимуляторів росту – фітогормонів, необхідних для зростання нормальних тканин [231]. Корончасті гали утворюються в місці з'єднання кореня зі стеблом (у прикореневій шийці), звідки й походить їхня назва, однак вони можуть розвиватися і на підземних (корені плодкових дерев) і надземних (наприклад, на стеблі винограду) частинах рослини [233].

Пухлинний ріст індукується внаслідок трансформації рослинних клітин, викликаной великою (200–800 тис. пар нуклеотидів) *Ti*-плазмідом (від *tumor inducing* – той, що викликає пухлини), яка з бактеріальних клітин проникає в клітини пошкоджених рослинних тканин. Ділянка цієї плазмиди інтегрується в генетичний матеріал рослин, а в подальшому відбуваються її реплікація і експресія. Наслідком таких процесів є інтенсивний синтез клітиною гормонів росту (ауксинів, цитокінів), що стимулюють утворення гал, а також особливих сполук, які є похідними амінокислот – опінів, які не засвоюються клітинами рослини, проте виступають енергетичним субстратом для бактерій [231].

Пухлини є химерними утвореннями, що містять як трансформовані, так і нетрансформовані клітини. Навіть за наявності 10–25% трансформованих клітин, які посилено продукують фітогормони та розподілені рівномірно серед більшості нетрансформованих клітин, спостерігається ріст пухлини [239].

Переважним типом метаболізму клітин у корончастому галі та інших швидкоростучих розростаннях коренів рослин є анаеробний метаболізм [240] – однак на периферії пухлин фітогормонами індукується утворення нових елементів провідної системи, залучених до транспортування води й кисню та енергетичних субстратів, а надлишкова ауксин-індукована продукція етилену спричинює формування осередків аеренхіми в периферичних ділянках розростання [241]. Відповідно ж клітин на дію

етилену є збільшення їхніх розмірів та руйнування серединної пластинки – внаслідок чого утворюються великі лакуни, необхідні для покращення доступу кисню. Менш же васкуляризована та більш компактна внутрішня частина пухлини, клітини якої швидше проліферують у результаті стимулюючої дії ауксинів та цитокінінів, а також елементи флоєми в цих тканинах отримують енергію шляхом гліколізу. Підтвердженням цього є гіперекспресія генів, що кодують у цих клітинах ферменти анаеробного метаболізму, і зокрема піруватдекарбоксилазу та алкогольдегідрогеназу [242]. Встановлено, що загибель клітин із гіпоксичним фенотипом всередині індукованої агробактеріями пухлини відбувається шляхом апоптозу. Окрім того, навколо сайту первинного інфікування тканин рослини патогенними агробактеріями мають місце поява ділянок некрозу, посилений синтез антимікробних агентів та продукування активних форм кисню (АФК) – що характеризує реакцію гіперчутливості як одну зі складових відповіді рослини на зараження такими бактеріями [243].

Патогенні агробактерії можуть спричинювати як формування пухлин у коренях рослин, так і утворення значної кількості нових корінців, а саме «волохатих коренів» (як це відбувається, зокрема, при інфікуванні *A. rhizogenes*). Особливістю таких «коренів» є те, що їх галуження необмежене та є результатом трансформації клітин коренів матеріалом ДНК т.зв. *Ri*-плазмід (від *root-inducing* – той, що індукує коріння) [232]. Цей процес супроводжується посиленням синтезу рослинними клітинами низки вторинних метаболітів (терпеноїдів, фітогормонів, алкалоїдів тощо), у зв'язку з чим «волохаті корені» в останні десятиліття є об'єктом інтенсивних досліджень. Вже розроблено численні підходи до культивування цих «коренів» *in vitro*, а також для отримання вищезазначених вторинних метаболітів у великих масштабах у промисловості [244].

Варто відзначити, що взаємовідносини патогенних агробактерій із рослинними клітинами становлять значний інтерес не лише для фітопатологів, а й молекулярних біологів – адже *Ti*-плазмід є зручним вектором, в який можна інтегрувати цільовий ген і передати його рослинній клітині від донора цього гена. Усе це дозволяє подолати репродуктивний бар'єр несхрещуваності виду-донора з рослиною-акцептором [216].

Результати низки експериментальних досліджень вказують на те, що пухлини можна підтримувати протягом багатьох років у культурі *in vitro* і при цьому не втрачається їх здатність викликати пухлиноутворення у здорових рослин *in vivo*. На відміну від більшості тканин, взятих із нормальних рослин, трансформовані *in vitro* тканини у культурі в асептичних (стерильних) умовах здатні необмежено рости за відсутності

екзогенно внесених гормонів росту (ауксинів і цитокинів). Крім того, трансформовані тканини часто синтезують одну або більше груп сполук, що називаються опінами і які зазвичай не виявляють у нетрансформованих рослинних тканинах [245].

У лабораторних умовах пухлинні захворювання можна викликати у здорових рослин або ж експлантів (тобто у шматочках органів рослин) експериментально шляхом їх інфікування бактеріями. Поверхня епідерми рослин перед інокуляцією повинна бути пошкоджена, щоб уможливити пухлинні формування саме у цьому сайті рослини (зазвичай на стеблі або листках). Крім цілих рослин, в якості тест-об'єктів використовуються й експланти: наприклад, скибочки моркви і шматочки інших органів рослин [231].

Водночас, на сьогодні залишається відкритим питання стосовно механізмів взаємодії клітин агробактерій між собою та з рослинними клітинами, а також наявності та функцій біогенних магнітних наночастинок в АБ. Вивчення цих останніх є особливо важливим з огляду на можливість впливу на них та їхні модифікації з метою досягнення ефективнішої генетичної трансформації рослин та підвищення їх врожайності.

Незважаючи на той факт, що молекулярно-біохімічні механізми індукції та подальшого росту пухлин коренів рослин є дослідженими, на сьогодні до кінця не з'ясовано механізми первинної взаємодії агробактерій і клітин епідерми цих коренів. Так, велика увага приділяється хемотаксису як основній рушійній силі наближення АБ до клітин ризодерми [216, 246]. Відомо, що у такій взаємодії беруть участь рослинні лектини та відповідні їм полісахариди агробактерій, а це зумовлює специфічність відповідних процесів розпізнавання та інфікування.

Аналіз даних робіт [218, 246] вказує на те, що механізми проникнення патогенних і симбіотичних форм АБ, як вже зазначалося, є подібними. Також встановлено анізотропний характер взаємодії клітин агробактерій із рослинними клітинами [247, 248] – що пояснюється наявністю на одному з полюсів клітини АБ кислого екзополісахариду мананової природи [249]. Цей полісахарид може електростатично взаємодіяти з негативно зарядженими групами поверхневих лектинів рослинної клітини. Водночас, феномен взаємодії клітин агробактерій між собою з подальшим утворенням розеткоподібних структур [247, 248] свідчить, що взаємодія відбувається через компоненти полюсу клітини, які містять вищезгаданий полісахарид – що, разом з тим, не пояснюється електростатичною взаємодією, оскільки заряди одного знака відштовхуються.



Порушення цілісності поверхневої тканини кореня, завдяки якому стає можливим проникнення агробактерій, а також подальше розростання тканин рослини супроводжується синтезом значної кількості таких АФК, як  $O_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^-$  тощо [217]. В умовах недостатнього надходження кисню у нарости коренів, об'єм яких швидко збільшується, в їхніх тканинах формуються гіпоксичні ділянки з високим рівнем продукування АФК, порушенням функціонування комплексів дихального ланцюга мітохондрій та посиленням гліколітичним метаболізмом.

Слід також відзначити, що зростання до максимального рівня об'єму пухлин та розмірів/кількості бульбочок у випадку інфікування симбіотичними агробактеріями спостерігається при підвищенні необхідної концентрації іонів заліза у відповідному культуральному середовищі в 5 разів [250].

У симбіотичних агробактерій це може бути зумовлено синтезом гемовмісного білка леггемоглобіну, основною функцією якого є зв'язування надлишку кисню, що перешкоджає азотфіксації.

Забезпечення життєздатності клітин у цих умовах можливе за ефективного функціонування антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази і пероксидази) та інших альтернативних механізмів, які б регулювали концентрацію кисню у клітині на відповідному рівні та утилізували надлишок заліза, зменшуючи інтенсивність вільнорадикальних процесів.

Відомо [251], що надлишок АФК та тканинна гіпоксія, подібно як у розростаннях коренів рослин, супроводжує низку патологічних процесів у багатоклітинних організмах, і зокрема пухлинний ріст у ссавців. У тканинах же людини за таких патологій, і в т.ч. у пухлинах гліколітичного фенотипу, спостерігається кореляція з наявними БМН [39, 252].

Синтез БМН є одним із механізмів посилення метаболічних процесів у клітинах пухлин, а, отже, і темпів росту [8], адже відомо, що в околі таких частинок має місце посилення біохімічних реакцій [7, 8].

Це корелює з даними роботи [211], що, зокрема, вказують на збільшення кількості індукованих агробактеріями розростань коренів бобових у 2–3 рази та посилення ризобіального інфікування їхніх коренів під дією зовнішнього магнітного поля.

Вищенаведене дозволяє припустити, що:

- 1) в основі взаємодії агробактерій та клітин коренів можуть бути магнітодипольні сили, що виникають між БМН агробактерій і рослин [188];

- 2) надлишок реакційноздатного кисню та іонів заліза з метою запобігання оксидативному стресу може додатково знешкоджуватися шляхом посилення синтезу БМН. Можливість біомінералізації БМН в

агробактеріях та їхніх рослинах-хазяях обґрунтовується у роботах [211, 212], а також [171], в яких показано підтверджений багатьма фенотиповими проявами вплив магнітного поля на розвиток пухлин в інфікованих АБ рослинах. Крім того, доведено приналежність агробактерій до  $\alpha$ -протеобактерій [216], серед яких є чимало магнітотаксисних видів [146] – що також може свідчити на користь наявності в клітинах агробактерій магнітної фази у вигляді БМН.

### 3.3.6.2. Контроль за захисними реакціями рослин на дію мікробних агентів

У відповідь на дію мікробних агентів рослини можуть посилювати комплекс захисних реакцій завдяки використанню таких сигнальних молекул, як саліцилова і жасмонова кислоти та етилен, а також азоту та АФК (супероксидного аніон-радикала  $O_2^-$ , пероксиду водню  $H_2O_2$ , оксиду азоту  $NO$  та пероксинітриду  $ONOO^-$ ) [218]. Ці молекули виявлено у коренях бобових рослин у відповідь на інокуляцію ризобії. Аби забезпечувати стабільне інфікування рослин як симбіотичними, так і патогенними агробактеріями, вони мають бути здатні контролювати або ж долати захисні механізми рослини-хазяїна [221].

Так, ризобіальні *Nod*-фактори здатні пригнічувати накопичення саліцилової кислоти, а також утворення АФК у момент розпізнавання рослиною мікроорганізму [253]. І також, крім вищеописаної специфічної стратегії, ризобії та рослинні патогени використовують й інші подібні чинники для подолання або ж активного пригнічення захисних реакцій рослин (синтез поверхневих полісахаридів, індукцію АФК антиоксидантної системи, інгібування синтезу етилену та специфічні вірулентні чинники) [220–224].

Поверхневі полісахариди, що синтезуються агробактерією, важливі для багатьох процесів, пов'язаних з адаптацією бактерій (включно із захистом клітин мікроорганізмів, їх прикріпленням до поверхні кореня і поглинанням поживних речовин), а також їхніми антигенними властивостями. Вони є сигнальними молекулами в клітинних взаємодіях агробактерій і рослин, і особливо на стадіях інвазії та утворення розростань [216, 253, 254].

Взаємодія рослин з агробактеріями супроводжується генерацією АФК, що утворюються під час захисних реакцій за участю рослин-хазяїв [220]. При цьому механізми утилізації АФК є загальними для патогенних і бульбочкових агробактерій.

Так, супероксиддисмутаза і каталаза інактивують, відповідно,  $O_2^-$  і  $H_2O_2$  та є чинниками вірулентності для деяких патогенних АБ [221]. 3

іншого боку, пов'язані з клітинної стінкою рослини-хазяїна пероксидази беруть участь не лише в нормальних рості й формуванні клітинної стінки, але й у захисті рослин від патогену [255]. І також антиоксидантні захисні системи рослин важливі для встановлення і підтримання симбіозу [221].

Деякі рослини у відповідь на інфікування агробактеріями знижують синтез етилену [256, 257], а, в свою чергу, деякі ризобії продукують такий фермент, як 1-аміноциклопропан-1-карбоксилатдеаміназа, який порушує синтез етилену [257, 258].

Перенесення сигналів у бактерій часто опосередковане двокомпонентними системами, що складаються з сенсорного і регуляторного білків. Аналіз відомих ризобіальних геномів свідчить про наявність сотні генів, гомологічних чинникам вірулентності патогенів [259].

Функціональні характеристики деяких із них, і зокрема тих, що кодують типи III і IV системи секреції (це, відповідно, *T3SS*- і *T4SS*-системи транспортування білків), засвідчують їхню первинну роль у мутуалістичних і патогенних взаємовідносинах.

Секреторна система транспортування білків до еукаріотичних клітин *T3SS* є контактозалежною, оскільки для активації такого транспортування необхідний контакт з еукаріотичною клітиною. Система ж *T4SS* еволюціонує у напрямку використання нуклеопротейнового комплексу як експортного субстрату (тобто для кон'югативного перенесення ДНК), причому деякі патогенні агробактерії використовують цю систему для перенесення сигнальних молекул також і до еукаріотичних клітин. Транспортований АБ субстрат може пригнічувати захисні реакції рослини, полегшувати ріст мікроорганізму-патогена і навіть індукувати синтез поживних речовин, необхідних для бактеріальної колонізації [253].

Важливу роль у формуванні індукованих агробактеріями пухлин у коренях відводять іонам заліза [260]. Як вже зазначалося вище, вони є необхідними для первинної взаємодії агробактерій із клітинами рослин, проте і на пізніших стадіях пухлиноутворення іони заліза залучені до регулювання функціонування антиоксидантних ферментів і синтезу АФК та пов'язаних із ними процесів [261, 262].

Відомо також, що клітини коренів, які інфіковані агробактеріями, мають вищу потребу в іонах заліза порівняно з інтактними [250]. Мінімальна ж потреба самих агробактерій в іонах  $Fe^{2+}$  при культивуванні *in vitro* становить 15 мг/л середовища.

У роботі [250] показано, що іони заліза необхідні лише для ініціювання процесів формування розростань, а не для їх подальшого розвитку. З іншого боку, в дослідженнях на симбіонтах рослин на сьогодні показано, що за дефіциту заліза ініціювання процесів формування

бульбочок все-таки відбувається, але розміри цих бульбочок є невеликими і у них мало леггемоглобіну (менше бактероїдів агробактерій і в тканинах рослин, а також нижчою є їх азотфіксуюча здатність) [260]. Залізо ж відіграє ключову роль у симбіозі агробактерій із бобовими та патогенезі пухлин коренів рослин, хоча найбільш залежна від заліза стадія у різних рослин відрізняється [260].

Характерною особливістю агробактерій є й наявність у них низки специфічних регуляторів надходження іонів заліза у клітину (*RirA*, *Irr*, *Mur* – на відміну від наявного в інших бактеріях регуляторного елементу *Fur*) [263].

Ці додаткові системи регулювання процесів транспортування заліза відіграють важливу роль, оскільки іони Fe входять до складу нітрогеназного комплексу, вміст якого досягає 10–12% загального вмісту розчинних білків бактероїду, а також леггемоглобіну (25–30% усіх білків) [264].

Оскільки іони заліза легко окиснюються в аеробних умовах, то вони є потенційними індукторами вільнорадикальних процесів [265], наслідком яких є пошкодження ДНК, ліпідів та білків. Висока потреба з боку агробактерій у залізі, з одного боку, та необхідність уникнення токсичного ефекту – з другого зумовлюють строге регулювання процесів гомеостазу заліза.

При цьому впродовж життєвого циклу агробактерії (наприклад, при переході від вільноживучого сапрофітного до симбіотичного або паразитичного способів існування чи у випадку інфікування агробактеріями ссавців) відбувається модифікація функціонування генів, відповідальних за транспортування та метаболізм заліза [260, 263, 264].

Вищенаведене дозволяє припустити можливість відновлення іонів заліза у клітинах агробактерій із подальшим утворенням БМН (подібно до того, як це має місце у магнітотаксисних/немагнітотаксисних бактеріях) – що, в свою чергу, може виступати механізмом запобігання вільнорадикальним реакціям, а також сприяти міжклітинним взаємодіям агробактерій, які мають магнітну природу.

**Таблиця 3.15.** Показники значущості вирівнювань амінокислотних послідовностей білків родини *Mam Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1* і протеом симбіотичних та патогенних агробактерій і типових рослин-хазяїв

Назва штаму	E-число (I, %/Q, %)						
	МамА	МамВ	МамМ	МамЕ	МамО	МамN	
<u>Симбіотичні агробактерії</u>							
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	4e-09 (28/74)	1e-20 (28/83)	1e-14 (27/83)	3e-35 (37/62)	5e-14 (36/25)	0,12 (25/35)	
<i>Rhizobium lupini*</i>	2e-06 (27/93)	5e-14 (26/80)	2e-12 (30/70)	4e-36 (36/59)	5e-09 (29/25)	0,50 (23/74)	
<i>Rhizobium Japonicum</i>	7e-09 (32/90)	2e-20 (32/79)	5e-21 (31/82)	3e-37 (41/58)	7e-13 (29/30)	5e-06 (23/54)	
<i>Rhizobium giardinii*</i>	2e-06 (23/79)	4e-20 (25/93)	2e-17 (27/82)	2e-39 (47/53)	5e-10 (27/28)	0,015 (29/26)	
<i>Rhizobium gallicum*</i>	8e-10 (27/74)	2e-17 (26/83)	6e-13 (26/81)	3e-36 (37/41)	2e-13 (36/25)	0,079 (33/14)	
<i>Rhizobium mongolense*</i>	3e-08 (27/71)	1e-22 (28/87)	1e-14 (25/86)	4e-38 (38/57)	5e-12 (35/25)	0,004 (29/26)	
<i>Sinorhizobium fredii</i>	8e-08 (37/50)	3e-21 (28/92)	5e-15 (27/81)	3e-37 (49/53)	4e-10 (31/26)	5e-04 (32/26)	
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	9e-08 (27/69)	2e-19 (26/89)	9e-14 (27/81)	6e-37 (50/53)	3e-10 (28/37)	0,014 (30/26)	
<i>Azorhizobium</i>	4e-05 (28/63)	2e-18 (24/84)	3e-16 (26/85)	6e-39 (44/53)	1e-09 (30/25)	0,047 (41/15)	
<i>Mesorhizobium amorphae*</i>	9e-10 (27/73)	6e-25 (27/91)	2e-19 (26/91)	8e-38 (40/57)	6e-11 (30/25)	2e-08 (24/61)	

<i>Mesorhizobium loti</i>	2e-10 (26/73)	4e-24 (27/91)	1e-17 (26/89)	8e-38 (42/58)	3e-09 (30/25)	9e-10 (23/92)
<u>Патогенні агробактерії</u>						
<i>Rhizobium vitis</i> S4	4e-06 (25/85)	9e-26 (31/87)	5e-17 (26/88)	1e-36 (43/52)	7e-12 (32/26)	9e-05 (23/56)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> C58 *	2e-06 (26/93)	1e-24 (30/87)	1e-20 (29/86)	3e-36 (40/54)	2e-11 (27/38)	2,5 (22/72)
<i>Rhizobium radiobacter</i> K84	7e-05 (28/51)	4e-22 (28/89)	3e-17 (28/90)	7e-36 (43/51)	4e-10 (33/25)	5e-04 (24/55)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 5A*	2e-05 (22/93)	2e-19 (29/87)	2e-17 (29/86)	2e-36 (37/58)	2e-11 (28/37)	1,0 (23/72)
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> F2*	3e-07 (24/93)	1e-19 (29/87)	3e-18 (28/86)	1e-38 (38/59)	1e-10 (27/38)	0,15 (23/53)
<u>Рослини-господарі симбіотичних агробактерій</u>						
Соя культурна ( <i>Glycine max</i> )	1e-07 (24/73)	5e-32 (27/96)	6e-28 (30/80)	2e-30 (44/20)	6e-06 (24/28)	3e-11 (28/47)
Квасоля звичайна ( <i>Phaseolus sp.</i> )	6e-08 (23/67)	2e-31 (27/89)	4e-28 (30/80)	1e-31 (44/20)	3e-06 (24/27)	3e-11 (28/43)
Люцерна ( <i>Medicago</i> )	9e-08 (22/73)	2e-10 (40/21)	2,4 (20/12)	1e-32 (45/20)	1e-06 (23/26)	4e-10 (27/42)
Нут (горох)	1e-08 (22/71)	1e-30 (26/89)	2e-29 (30/80)	2e-31 (44/20)	5e-07 (24/26)	1e-09 (26/89)

### 3.4. Гомологи білків біомінералізації магнітотаксисних бактерій у багатоклітинних організмах, у тому числі людини

Пошук загальних механізмів генетичної регуляції біомінералізації БМН як у прокаріотах, так і еукаріотах (включно з людиною) проведено з використанням методів порівняльної геноміки [8, 10]. Під час аналізу процесу вирівнювання білків магнітосомного острівця магнітотаксисної бактерії *M. gryphiswaldense* і людини виявлено значущі збіги між білками, незамінними для біомінералізації БМН, причому з 17 регуляторних білків МО МТБ лише один білок *MamK* бактерії *M. gryphiswaldense* є гомологом білка людини [8, 10] (табл. 3.15, 3.16). Цей збіг узгоджується з фенотиповим проявом БМН як у магнітотаксисних бактеріях, так і у людини, оскільки саме білок *MamK* відповідає за формування ланцюжків БМН. Відсутність же гомологів у людини з іншими регуляторними білками МО МТБ узгоджується з експериментальними даними [38, 67] про відсутність контролю за розмірами, формою та кількістю БМН і відсутністю магнітосомних везикул навколо них у клітинах людини.

**Таблиця 3.16.** Статистично значущі вирівнювання білків МО МТБ і білків людини [8, 10]

Білки магнітотаксисних бактерій	<i>MamA</i>	<i>MamB</i>	<i>MamM</i>	<i>MamN</i>	<i>MamE</i>	<i>MamO</i>	<i>MamK</i>
Білки-гомологи людини	<i>PEX5</i> -протеїни-пероксиноми	<i>ZnT-9</i> <i>ZnT-10</i>	<i>ZnT-9</i> <i>ZnT-4</i>	<i>Permease P</i>	<i>HtrA1</i> <i>HtrA2</i> <i>HtrA3</i> <i>HtrA4</i>	<i>HtrA1</i> <i>HtrA2</i>	<i>MreB</i>

Результати множинного вирівнювання білків МО МТБ та їхніх гомологів у людини вказують на існування в цих білках консервативних послідовностей, які подібні між собою за фізико-хімічними властивостями та мають спільні функції (табл. 3.17).

Порівняльний аналіз гомологів білків МО МТБ у людини та в інших багатоклітинних організмах показав, що хімічний склад, кристалічна структура та просторова локалізація БМН у вигляді внутрішньоклітинних ланцюжків у цих організмів є практично тими самими, як і у МТБ та інших таких організмах, а відрізняються вони тільки відсутністю ліпідних везикул та генетичної регуляції форми і розмірів БМН [8, 10].

Таблиця 3.17. Порівняння функцій білків МО МТБ та їхніх гомологів у людини [8, 10]

Білки МТБ	Функції білків магнітогаксисної бактерії	Назви і функції білків-гомологів у людини
<i>MamB</i>	Транспортери катіонів ( $\text{Co}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Fe}^{2+}$ )	<i>ZnT-9</i> , <i>ZnT-10</i> – Zn-транспортери катіонів. Зміни в цих білках у мозку пов'язані з AD (хворобою Альцгеймера) і порушеннями гомеостазу цинку та відіграють важливу роль у патогенезі цього захворювання
<i>MamE</i>	Серинова протеаза – PDZ-домен трипсину серинової протеази. Як і ці протеази, бере участь у відповіді на тепловий шок і виконанні функцій шаперонів та апоптози й може відповідати за розпізнавання субстрату та/або функцію зв'язування	<i>HtrA</i> -серинові протеази беруть участь у важливих фізіологічних процесах, і в т.ч. у регулюванні мітохондріального гомеостазу й апоптози та передаванні клітинних сигналів, а також у розвитку таких патологічних процесів, як рак, і таких нейродегенеративних захворювань, як хвороба Альцгеймера
<i>MamA</i>	<i>TPR</i> -домен є консенсусною послідовністю, виявленою в різних організмах (включно з бактеріями, ціанобактеріями, дріжджами та грибами). Ці домени беруть участь у виконанні якнайрізноманітніших функцій (включно з білковими взаємодіями і функціями шаперонів та тими, які супроводжують клітинний цикл, транскрипцію і транспортування білків)	<i>Рex5</i> -протейн-пероксисома є широко розповсюдженою клітинною органелою. Білок оточений мембраною з великою різноманітністю метаболічних функцій (руйнування токсичних сполук, утворення міслинової оболонки нервових волокон тощо). <i>Рex5</i> містить домен <i>TPR</i>
<i>MamN</i>	<i>Репtease P</i> . Точна функція білка <i>P</i> невідома, але припускають, що він необхідний для регулювання рН за наявності АТФ-ної протонної помпи	<i>Human repasease P</i> . Точна функція білка <i>P</i> невідома, але припускають, що він необхідний для регулювання рН за наявності АТФ-ної протонної помпи
<i>MamO</i>	Серинова протеаза	<i>HtrA2</i> -серинова протеаза
<i>MamM</i>	Транспортери катіонів ( $\text{Co}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ )	<i>ZnT-4</i> , <i>ZnT-9</i> – Zn-транспортери катіонів



Таким чином, застосування методів порівняльної геноміки показало, що весь набір білків, без яких не може здійснюватися біомінералізація у МТБ, має високий ступінь подібності до білків практично всіх видів комах, риб, птахів і ссавців (у т.ч. людини), послідовності геномів яких повністю визначені та наявні у відповідних базах даних (БД) [8, 10]. У табл. 3.18 наведено характерні результати вирівнювання білків біомінералізації МО МТБ із геномами низки представників багатоклітинних організмів [10]. Результати цих досліджень повністю узгоджуються з експериментально виявленими у фенотипах цих організмів БМН [123, 266]. Відсутність же у протеомах цих організмів гомологів регуляторних білків МО МТБ, а також регулювання процесів утворення ліпідної везикули, форм та розмірів БМН у таких МТБ повністю співвідносяться з експериментальними даними про відсутність ліпідних везикул із визначеними формами та розмірами БМН у клітинах згаданих організмів [123].

**Таблиця 3.18.** Результати порівняння білків МО МТБ з білками еукаріотів медоносної бджоли (*Apis Mellifera*), метелика (*Danaus plexippus*), собаки, вовка та лисиці (*Canis lupus familiaris*)

Організм	E-число					
	<i>MamA</i>	<i>MamB</i>	<i>MamN</i>	<i>MamM</i>	<i>MamO</i>	<i>MamE</i>
Медоносні бджоли	3e-08	2e-09	2e-16	1e-07	1e-06	2e-20
Метелики	4e-08	2e-17	1e-25	3e-11	2e-10	8e-31
Собака, вовк, лисиця	4e-08	2e-17	1e-25	3e-11	2e-10	8e-31

Таким чином, загальний генетичний механізм біомінералізації БМН встановлено методами порівняльної геноміки для організмів всіх трьох надцарств: прокаріотів, архей і еукаріотів. Цей механізм базується на гомологах білків магнітотаксисних бактерій, які незамінні для біомінералізації БМН [8, 10].

### 3.4.1. Загальний механізм біомінералізації БМН у прокаріотах, археях та еукаріотах

Біоінформаційний аналіз, як вже зазначалося вище, показав наявність гомологів, незамінних для біомінералізації БМН білків магнітосомного острівця магнітотаксисних бактерій в еукаріотичних клітинах і клітинах немагнітотаксисних бактерій та архей [145]. Разом з тим, відкриття єдиного генетичного механізму біомінералізації БМН у

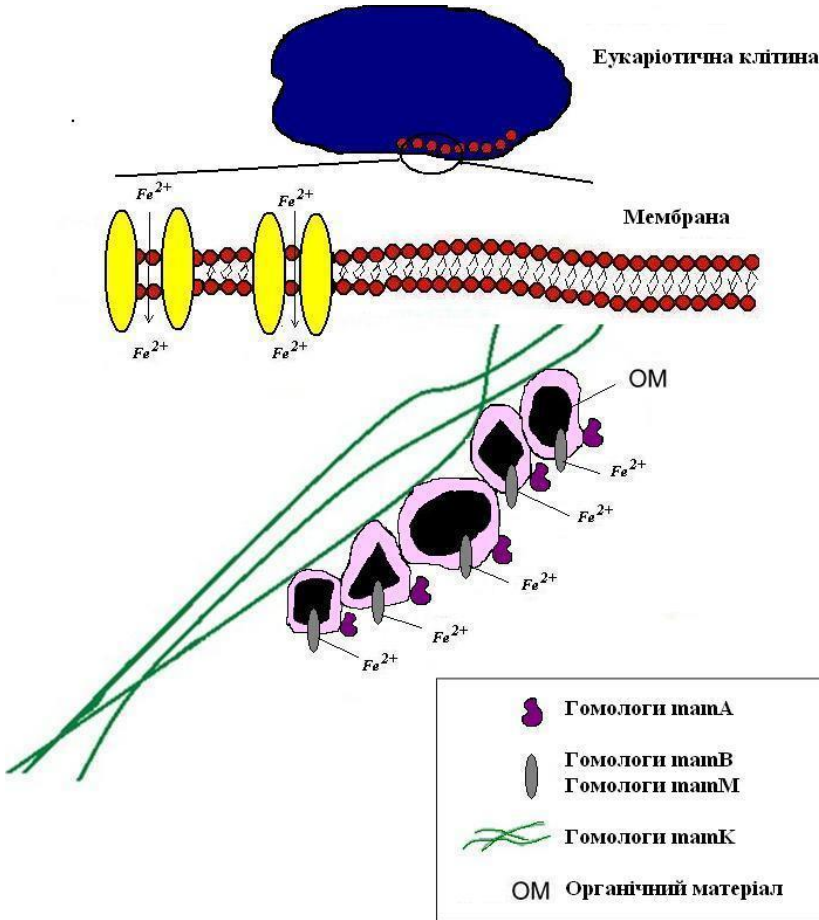
прокаріотів, архей та еукаріотів, який базується на гомологах білків МО МТБ, без яких така біомінералізація неможлива, спричинило постановку питання про те, які з цих білків походять від спільного предка, а які набуто під час еволюції. Їй особливо важливою є поставлена проблема у контексті того, наскільки повно цей початковий механізм передався людині і які можливі функції БМН.

Для відповіді на поставлені питання було проведено вирівнювання всіх білків МО МТБ із геномами організмів таких трьох надцарств, як бактерії, археї та еукаріоти [10]. В результаті цих досліджень було виявлено, що білки *MamA*, *MamB*, *MamM*, *MamE*, *MamO*, *MamN*, *MamK*, *MamH* і *MamQ* подібні до білків бактерій, архей і еукаріотів, що характеризуються загальними відомими функціями, тоді як білок *MamZ* має гомологів лише серед білків бактерій та еукаріотів. Отже, можна припустити, що гомологи білків *MamA*, *MamB*, *MamM*, *MamE*, *MamO*, *MamN*, *MamK*, *MamH*, *MamQ* та *MamZ* походять від спільного предка у корені філогенетичного дерева всіх відповідних організмів. Ці білки містять у собі весь набір білків, без яких не може здійснюватися біомінералізація БМН у МТБ, а саме *MamA*, *MamB*, *MamM*, *MamE*, *MamO* та *MamN* [33, 167, 267] (проте що стосується *MamN*, то в роботах [87, 165] показано, що для деяких МТБ біомінералізація магнетиту можлива і без цього білка). При цьому методами порівняльної геноміки показано [10], що весь набір білків, без яких не може здійснюватися біомінералізація БМН у МТБ, має високий ступінь подібності до білків практично усіх комах, риб, птахів та ссавців, повні геноми яких є у відповідних базах даних. Це, в свою чергу, узгоджується з експериментально виявленою наявністю БМН у фенотипах таких організмів [4, 6, 21, 44, 56, 172]. Водночас, гени МО МТБ не мають гомологів у організмах із блакитною кров'ю (за винятком деяких ракоподібних), і це також відповідає їхньому фенотипу [5].

Решта білків МО МТБ, що регулюють властивості БМН, а саме *MamL*, *MamI*, *MamJ*, *MamD*, *MamC*, *MamG*, *MamX*, *MamY*, *MamP*, *MamT*, *MamR*, *MamS*, *MamH* і *MamF* [33, 167, 203, 267, 268], мають гомологи винятково у деяких видах бактерій (переважно магнітотаксисних) і не мають – у археях і еукаріотах. Звідси випливають дві гіпотези: або ця частина регуляторних білків була надбана деякими бактеріями під час еволюції і не походить від загального предка всіх відповідних організмів, або вона була втрачена на дуже ранньому етапі, коли відбулося відділення бактерій від архей і еукаріотів. Втрата таких генів, наприклад, у сучасних мутантних бактеріях супроводжується зміною фенотипу БМН із наночастинок однакових форм і розмірів на, так само нанорозмірні,

частинки з широким діапазоном цих останніх [33, 167, 267, 268] – що, зокрема, характерно для фенотипу БМН людини [67, 72, 269, 270].

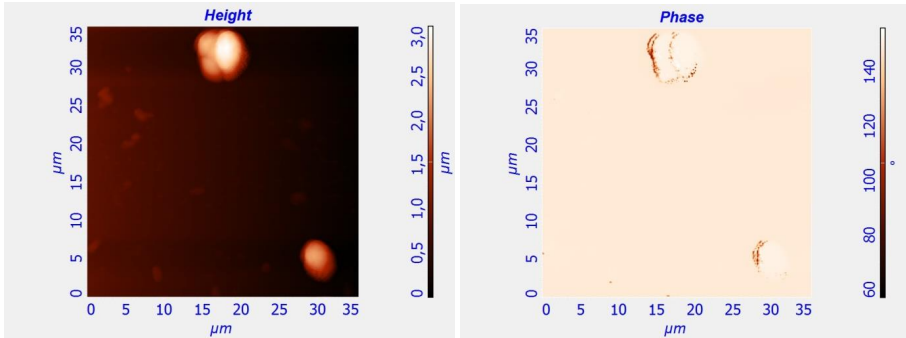
Прогнозовану схему біомінералізації внутрішньоклітинних БМН в еукаріотичних клітинах і клітинах немагнітотаксисних прокариотів та архей представлено на рис. 3.7. Зокрема, на цій схемі бачимо локалізацію білків, які є гомологами до білків магнітотаксисних бактерій, незамінних для процесу біомінералізації.



**Рис. 3.7.** Схема біомінералізації внутрішньоклітинних БМН в еукаріотичних клітинах і клітинах немагнітотаксисних бактерій і архей

В роботі [145] встановлено, що гомолог білка *MamK* необов'язково

присутній в еукаріотичних клітинах і клітинах немагнітотаксисних бактерій та архей. Це відповідає експериментальним спостереженням БМН, які не формують ланцюжків [45]. Водночас, як вже зазначалося, таке формування не завжди пояснюється наявністю білка *MamK*, оскільки ці ланцюжки можуть утворюватися завдяки магнітним диполь-дипольним взаємодіям між магнітними наночастинками (рис. 3.8) [271, 272].



**Рис. 3.8.** АСМ-зображення клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* (зліва) і МСМ-зображення ланцюгів штучних магнітних наночастинок, які утворюються на поверхнях біомембран цих клітин за рахунок магнітних диполь-дипольних взаємодій між магнітними наночастинами (праворуч); розміри цих частинок – 5–20 нм [272]

Також, як вже зазначалося, дослідження роботи [144] показали, що набір гомологів білків магнітосомного острівця МТБ людини найбільш подібний до набору гомологів цих білків у немагнітотаксисних бактерій, які здатні до біомінералізації внутрішньоклітинних кристалічних наночастинок магнетиту, і зокрема у бактерій *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 [273]. У зв'язку з цим найімовірніше припустити, що людина успадкувала первинний механізм біомінералізації БМН, який мало змінився у більшості організмів (за винятком магнітотаксисних бактерій, у яких структура ланцюжків БМН є досконалішою).

Порівняння білків МО МТБ із білками великої кількості організмів, геноми яких занесено до відповідної бази даних [10], підтвердило гіпотезу про загальну генетичну основу біомінералізації БМН у різних організмах – причому навіть незважаючи на те, що білки *MamL*, *MamI*, *MamJ*, *MamD*, *MamC*, *MamG*, *MamX*, *MamY*, *MamP*, *MamT*, *MamR*, *MamS*, *MamH* та *MamF*, які регулюють деякі властивості БМН і процеси формування магнітосомних везикул, присутні тільки у певній низці МТБ.

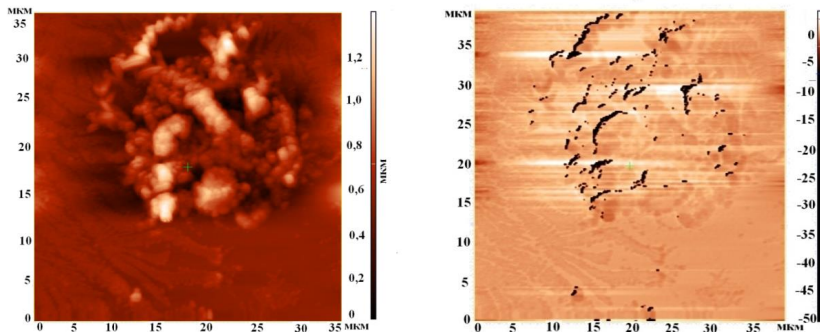
Це пов'язано з тим, що навіть у МТБ наявність магнітосомних везикул і генетичне регулювання таких властивостей магнітосом, як

розміри і форми магнітних кристалів та їх кількість у ланцюжку, не є обов'язковими для синтезу БМН [169, 274–276].

Проведені теоретичні дослідження та їх порівняння з експериментальними даними показали, що синтезовані у людини БМН є кристалічними внутрішньоклітинними магнітними наночастинками (див. також вище табл. 3.11), бо в них присутні всі шість необхідних білків біомінералізації БМН і формуються саме кристалічні внутрішньоклітинні БМН, які безпосередньо зв'язані з мембраною (з регуляторних білків у людини присутній гомолог білка *MamK*, що якраз і відповідальний за формування зв'язаних із мембраною ланцюжків БМН). Це дуже важливий чинник, який забезпечує якнайкращу взаємодію цих клітин з іншими, в яких теж наявні БМН [277, 278].

### 3.4.2. БМН при патологіях людини

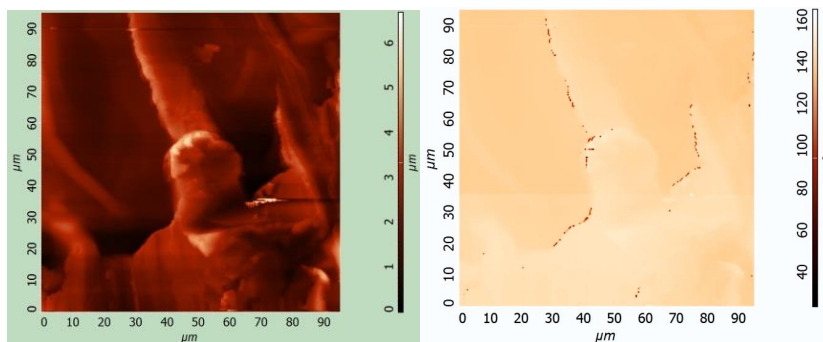
Проблема фізіологічного походження біогенних магнітних наночастинок є важливою з огляду на відкриття БМН у низці органів і тканин людини [67, 279] і взаємозв'язок наявності БМН із нейродегенеративними розладами [11], раком (рис. 3.9, 3.10) [38, 39] та атеросклерозом (рис. 3.9, 3.10) [16].



атомно-силова мікроскопія (зліва);  
магнітно-силова мікроскопія (справа)

**Рис. 3.9.** Зображення клітини карциноми Ерліха, адаптовані з роботи [39] (зібрані в ланцюжки темні області на МСМ-зображенні позначають БМН)

Концентрація БМН при нейродегенеративних захворюваннях [14, 280, 281] і раку [15, 38] є вищою в зоні запалення порівняно з нормальними тканинами.



АСМ-зображення (ліворуч); МСМ-зображення (праворуч)

**Рис. 3.10.** Зображення фрагмента атеросклеротичної бляшки змішаного складу, адаптовані з роботи [16] (зібрані в ланцюжки темні області на МСМ-зображенні позначають БМН; зразки атеросклеротичних судин отримано під час операції з шунтування клубової артерії) [16]

### 3.4.3. Чи є ядро феритину попередником БМН?

Протягом кількох десятиліть у багатьох роботах молекулу феритину розглядали як потенційного попередника БМН в організмі людини [13, 40, 282], тож дуже вагоме значення має встановлення того факту, що первинний генетичний механізм біомінералізації БМН як у прокаріотах, так і в еукаріотах не пов'язаний із наявністю феритину та феритинподібних білків [207]. Саме розуміння цього в подальшому зробить діагностику і лікування захворювань, пов'язаних із біомінералізацією БМН та їх підвищеною кількістю (рак, нейродегенеративні розлади, атеросклероз), а також підвищеною кількістю білків феритину, досконалішою та дозволить розробити нові методи лікування таких захворювань (із використанням у т.ч. й магнітних технологій).

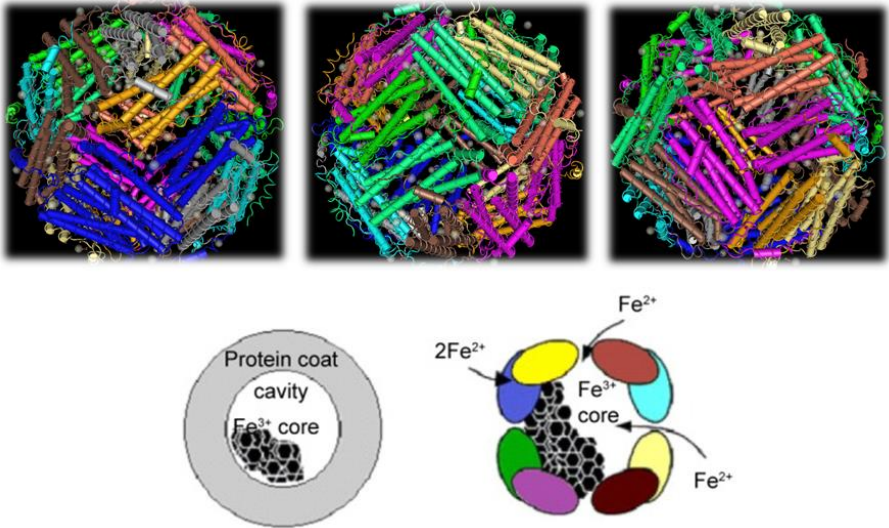
Відомо, що феритин є постачальником заліза в клітині [283, 284], тому з 1996 р. він вважався попередником БМН [40]. Гіпотеза ж, що феригідридне ядро феритину є попередником магнетиту, виникла у зв'язку з тим, що магнітотаксисні бактерії продукують некрystalічний феригідрид всередині магнітосомної везикули на ранній стадії росту магнітних наночастинок, які пізніше перетворюються на магнетит [40].

А оскільки саме молекула феритину протягом тривалого часу вважалася [40] попередником БМН у тканинах людини, залишалася відкритим питання про роль феритину в фізіологічному походженні БМН та взаємодію молекул феритину з базовим набором необхідних для

біомінералізації БМН білків (з огляду на існування загального генетичного механізму біомінералізації БМН) [8].

### 3.4.3.1. Основні фізико-хімічні характеристики феритину

Існує кілька форм білка феритину: фізіологічний (холоферитин і апоферитин) та патологічний (мутантний). Так, апоферитин – це білкова оболонка, представлена порожньою сферою із зовнішнім діаметром близько 12 нм і внутрішнім діаметром 7–8 нм (рис. 3.11). Ця білкова оболонка складається з 24 субодиниць двох типів (*H* (важкі ланцюги) і *L* (легкі)), які мають різні функції.



2-, 3- і 4-кратні осі симетрії: Dps, PDB:4DYU (верхнє ліве зображення); структура феритину людини, *L*-ланцюг, PDB:2FG8 (верхнє центральне зображення); структура феритину людини, *L*-ланцюг, PDB:2FFX (верхнє праве зображення) [285];

білкова оболонка діаметром 12 нм (ліворуч),  
білкове ядро діаметром 7–8 нм (праворуч)

**Рис. 3.11.** Схематичне зображення молекули феритину

Співвідношення *H/L* відрізняється у феритину, отриманого з таких різних органів, як печінка, селезінка, серце та мозок [287, 288]. При цьому ядро мінералу феригідриту зберігається всередині білкової оболонки феритину [287, 289] (часто використовується й термін «холоферитин» – як

синонім до феритину: білкова оболонка + феригідритне ядро). Зокрема, феригідритне ядро феритину є антиферомагнетиком [290] і має величину намагніченості на два порядки меншу, ніж у магнетиту [29].

Феритин було відкрито в 1937 р. *М. Лауфбергером* [291]. На сьогодні він є потужним клінічним інструментом. Його підвищений рівень пов'язаний із запальними процесами (включно зі злоякісними новоутвореннями) [292]. Також патологічний феритин виявлено при низці захворювань людини [293, 294], причому інтерес до хімічного складу як фізіологічного, так і патологічного феритину пов'язаний ще й із гіпотезою про можливість знайти ядро магнетиту в феритині і агрегати патологічного феритину як можливі попередники БМН [68]. З часу відкриття і дотепер велика кількість робіт присвячена перевірці ідеї про можливість формування біогенного магнетиту з феритину у людини і ролі феритину та БМН у патогенезі захворювань [12, 282, 294].

### **3.4.3.2. Гіпотеза про ядро магнетиту в мутантному феритині як попередника БМН**

Патологічний феритин виявлено при низці захворювань (включно з нейроферитинопатією – NF). NF є рідкісним генетичним захворюванням, яке безпосередньо спричинене відомою мутацією в гені, який кодує легкий ланцюг феритину [12]. Це захворювання, що повільно прогресує у дорослому віці та характеризується утворенням агрегатів феритину в мозку й низці інших органів [295]. Водночас, на сьогодні вже виявлено прямі докази того, що мутації в структурі феритину викликають порушення процесу утримання в його ядрі заліза, які й призводять до надлишку лабільного заліза, що пошкоджує клітини і спричинює нейродегенеративні процеси [293]. Лабільне залізо призводить до оксидного стресу в реакції Фентона – що пов'язано зі зниженням здатності феритину утримувати залізо у своєму ядрі [294]. Таке явище спостерігається і при хворобі Паркінсона (PD), але при PD відбувається зниження концентрації L-феритину, тоді як при NF мають місце генетично індуковані мутації в L-феритині, наслідком яких є втрата білком феритином його функцій [294].

Оксидний стрес вважається одним зі шляхів, який призводить до смерті нервових клітин при нейродегенеративних захворюваннях. Проблемі оцінювання можливої ролі заліза у цьому стресі присвячено низку робіт, але консенсусу на сьогодні ще не досягнуто. З відповідними останніми оглядами можна ознайомитися у роботах [296, 297].

Як зазначено вище, низка авторів розглядала феригідридне ядро феритину як шлях до формування частинок магнетиту [11, 13, 68, 79, 298–



300]. Так, структури ядер нанокристалів фізіологічного (селезінки коня, печінки людини, мозку) і патологічного (мозку людини) феритинів у пацієнтів із прогресуючим супернуклеарним паралічем (PSP) і при хворобі Альцгеймера (AD) було визначено з використанням рентгеноструктурного аналізу і трансмісійної електронної мікроскопії [68]. При цьому встановлено, що існують істотні відмінності в мінеральному складі фізіологічного і патологічного феритинів. Обидва (фізіологічне і патологічне) ядра феритину мають поліфазний склад, але основна фаза у його фізіологічному ядрі є оксидом заліза із гексагональною структурою (феригідрит), тоді як основна фаза ядра феритину в мозку людини при хворобі AD представлена дво- і тривалентними оксидами заліза (магнетитом і вюститом) [68, 298, 300]. Водночас, слід зазначити, що ці дані є недостовірними, оскільки мінерал феригідрит чутливий до дії електронного пучка і, відповідно, можуть відбуватися внутрішні атомні перебудови за наявності впливу електронного пучка ТЕМ. І, крім того, результати ядерного магнітного резонансу (ЯМР) показали: навіть якщо припустити, що ядро білку феритину містить магнетит, то його частка становить <1% [301].

### **3.4.3.3. Кореляція між рівнем розподілу БМН та феритину**

#### **в тканинах людини**

Низка досліджень присвячена пошуку кореляції між рівнями феритину і БМН. Їхня мета – зрозуміти роль феритину в процесі біомінералізації БМН. Водночас, підвищений рівень БМН (пов'язаний із багатьма захворюваннями) необов'язково корелює з підвищеним рівнем заліза, який зберігається або транспортується, відповідно, білками феритином і трансферином [38, 292]. Вперше з використанням SQUID-магнітометрії БМН було виявлено у різних пухлинних тканинах людини (меланомі, молочній залозі, яєчниках, яєчках, саркомі, менінгіомі, гліобластомі, астроцитомі, гліомі та при метастазах) у роботі [38], однак коваріації між феритином і магнетитом не вдалося показати як у цьому, так і в інших дослідженнях. Разом з тим, магнітні методи, описані в роботі [15], показали, що менінгіомальна пухлинна тканина головного мозку людини містить на порядок вищу концентрацію магнітних частинок, ніж непухлинний гіпокамп. Порівняння ж розподілу феритину і магнетиту в мозку людини продемонстрували, що магнетит розподілений однорідно по всьому мозку (за винятком, на відміну від феритину, оболонки мозку) [144]. Ці результати показують, що магнетит у пухлинних тканинах мозку людини не утворюється спонтанно з феритину [38].

### 3.4.3.4. Порівняння розподілів розмірів кластерів наночастинок біогенного магнетиту та агрегатів феритину

Вимірювання параметрів розподілів розмірів БМН і агрегатів феритину при різних патологіях також не підтверджують гіпотезу про те, що феритин може виступати в якості попередника БМН [12, 302]. Біогенний магнетит, який спостерігався в тканинах мозку групою Добсона, мав широкий спектр розмірів частинок – від суперпарамагнітної фази до більших частинок (кластерів) магнетиту (із розмірами у діапазоні між декількома десятками нанометрів до 200 нм). При використанні оптичної мікроскопії у зрізах тканинних екстрактів мозку спостерігалися частинки (кластери) із розмірами 5–10 мкм [302]. Концентрація магнетиту становила 57–128 нг/г у тканинах пацієнтів із NF, а це вище, ніж рівень магнетиту в нормальній ліофілізованій контрольній тканині з тієї самої області головного мозку (12–27 нг/г вологої тканини). При цьому спостерігалася намагніченість, характерна для магнетиту з коерцитивною силою, більшою за 200 Е, і це підтверджує висновки про наявність кластерів магнетиту, які отримані експериментально методом вимірювання залишкової намагніченості [12]. Дані про коерцитивну силу представлено у роботі [12], а наявність кластерів магнетиту в тканинах гіпокампу показано з використанням ТЕМ у роботі [302]. І понад те, феригідритні ядра феритину є суперантиферомагнетиками [290], і отримати намагніченість насичення ядра феритину неможливо навіть у зовнішніх магнітних полях із величиною, вищою за 550 кЕ [303, 304]. Отже, безпосереднє формування БМН із феригідритного ядра феритину неможливе, а тим більше походження з нього кластерів магнетиту (тобто кластерів БМН) – що й відзначено в роботі [12]. При цьому відсутня кореляція між розподілами розмірів кластерів біогенного магнетиту й агрегатів феритину.

### 3.4.3.5. Біологічне формування БМН *in vitro*

Існує низка робіт, в яких вивчається вплив білків магнітотаксисних бактерій, що беруть участь у біомінералізації БМН, на формування нанокристалів магнетиту *in vitro* [197, 305]. Наприклад, магнітосомний мембранний білок МТБ *Mms6* дозволяє контролювати морфологію, кристалічність і магнітні властивості нанокристалів магнетиту *in vitro* – подібно до того, як це відбувається у магнітотаксисних бактеріях [197, 306, 307]. Зокрема, робота [197] якраз і спрямована на виявлення умов для біологічного формування нанокристалів магнетиту *in vitro*. У свою чергу, Т. Прозоров із колегами осадилі Fe(II)- і Fe(III)-оксиди заліза у водному

в'язкому *Pluronic*-розчині, підвищуючи рН у присутності різних білків [288, 305]. Завдяки використанню білка, виділеного з магнітосомної мембрани МТБ, сформовано 30-нанометрові кристали магнетиту. За тих самих умов всередині ядра феритину вдалося сформувати набагато менші наночастинки магнетиту, оскільки ріст наночастинок всередині ядра феритину обмежений розміром такого ядра (рис. 3.11) і при цьому магнітні наночастинки в основному є аморфними, а нанокристали, сформовані в присутності феритину, неоднакові за розмірами і формами (як це навпаки, натомість, спостерігається при утворенні нанокристалів у присутності білка біомінералізації *Mms6*) [305].

#### 3.4.3.6. Генетичний аналіз ролі феритину в біомінералізації БМН

Складність виявлення фізіологічного походження БМН для еукаріотів (включно з людиною) пов'язана також і з труднощами виявлення біогенних магнітних наночастинок у тканинах людини. Так, низька концентрація магнетиту в тканинах (приблизно десятки нг на 1 г тканини) означає, що знайти їх у зрізах цих тканин – нетривіальна задача. Водночас, методи біоінформатики, що базуються на порівняльній геноміці, є потужним і дуже точним інструментом, причому методи біоінформатики і фізичні методи тут доповнюють один одного. Водночас, досить складні фізичні методи виявлення БМН (табл. 3.19) не завжди дозволяють відрізнити БМН від штучних магнітних наночастинок у тканинах людини, які потрапляють із навколишнього середовища. Аналогічна проблема виникає й при спробі відрізнити позаклітинну біомінералізацію магнітних наночастинок у низки бактерій від біосорбції таких частинок із навколишнього середовища, якщо використовуються лише фізичні методи дослідження [145].

Як вже було сказано, генетичний механізм біомінералізації БМН базується на білках-гомологах інших організмів білків магнітосомного острівця магнітотаксисних бактерій, без яких біомінералізація БМН у цих бактерях неможлива [8, 9, 10]. Відповідь на питання про включення феритину до метаболічного шляху біомінералізації БМН запропоновано, виходячи з методів порівняльної геноміки, у роботі [207]. Для цього згаданими вище методами було проведено пошук генів, що відповідають за процес біомінералізації в повному геномі магнітотаксисних бактерій. Шість таких бактерій, повні геноми яких наявні у базі даних *NCBI*, і були обрані для аналізу, а саме: *Magnetospirillum gryphiswaldense MSR-1* [80]; *Magnetospirillum magneticum AMB-1* [312]; *Desulfovibrio magneticus RS-1* [87]; *Geobacter sulfurreducens PCA* [88]; *Geobacter metallireducens GS-15* [89]; *Magnetococcus marinus MC-1* [90].

**Таблиця 3.19.** Методи, які використовуються для вивчення магнітних властивостей БМН

№	Метод	Інформація про властивості	Приклад	Посилання
1	Месбауерівська спектроскопія	валентність Fe	~0,2 нм	[308]
2	SQUID-магнітометрія	намагніченість	~10 мкм	[11]
3	трансмсійна електронна мікроскопія (ТЕМ)	електронна щільність	~50 пм	[67]
4	ядерний магнітний резонанс (NMR)	хімічне середовище молекул	50–100 нм	[301]
5	магнітна силова мікроскопія (MFM)	магнітні взаємодії	10–30 нм	[39, 16]
6	рентгеноструктурний аналіз (XANES)	валентність, міжатомні відстані	0,1–0,5 нм	[309]
7	малокутове рентгенівське розсіювання (SAXS)	форма, розмір, характерні відстані частково впорядкованих мінералів, розмір пор	5–25 нм	[310]
8	магнітооптика	тип мінералу	0,2–0,3 мкм	[311]
9	спектроскопія електронних втрат енергії (EELS)	міжатомна відстань	~0,1 нм	[310]

У роботі ж [207] в результаті проведених досліджень показано, що *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 і *Geobacter metallireducens* GS-15 мають свій власний бактеріоферитин, а *Desulfovibrio magneticus* RS-1 та *Geobacter sulfurreducens* – PCA-феритин і феритиноподібні білки, тоді як *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 і *Magnetococcus marinus* MC-1 не мають генів, які б кодували феритин і феритиноподібні білки. Таким чином, результати роботи [207] доводять, що наявність феритину в клітинах магнітотаксисних бактерій необов'язкова для біомінералізації БМН і що феригідрит феритину не є попередником біогенного магнетиту в магнітотаксисних бактеріях. А оскільки генетичний механізм біомінералізації внутрішньоклітинних БМН у прокариотів і еукаріотів є спільним [8–10], то, в загальному випадку, феригідрит ядра феритину не є попередником БМН у людини та інших багатоклітинних організмів (як

вже й було зазначено). Цей висновок також підтверджується експериментальним вивченням умов біомінералізації магнетиту *in vitro* [305] та узгоджується з наведеними вище експериментальними результатами про відсутність кореляції між розподілами рівнів БМН та феритину в тканинах людини, а також про невідповідність розподілу за розмірами кластерів біогенного магнетиту і агрегатів феритину. У зв'язку з цим слід наголосити, що біоінформаційний аналіз, проведений у роботі [207] показав, що біомінералізація БМН є (у загальному випадку) процесом, незалежним від процесу накопичення заліза в ядрах феритину і феритиноподібних білків.

Водночас, пов'язаний із пониженою здатністю феритину утримувати залізо в своєму ядрі при низці хвороб надлишок лабільного заліза [294] може призводити до постачання додаткового заліза для процесу біомінералізації БМН. За подібних патологічних процесів біомінералізація БМН може захищати тканини від оксидного стресу, оскільки залізо в магнетиті зв'язується незворотно і не зможе взяти участь у проходженні реакції Фентона [313]. У зв'язку з цим можна виділити два різні способи зберігання заліза в організмі: *зворотний* (залізо зберігається в білках: наприклад, у феритині); *незворотний* (залізо накопичується в організмі у вигляді БМН).

Відомо також, що при хворобі Альцгеймера, крім заліза, накопичуються такі метали, як мідь і цинк [314]. Це накопичення можна пояснити, виходячи з існування загального генетичного механізму біомінералізації БМН [278] – а саме оскільки існують транспортери двовалентних катіонів ( $Zn^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$ ) серед білків, незамінних для біомінералізації БМН. Таким чином, Co, Ni, Zn, Cu, Mn і Cd можуть бути включені в структуру магнетиту [307, 315] і біомінералізація БМН може призвести до незворотного зв'язування не тільки заліза, а й інших металів. Саме тому – як *in vivo*, так і *in vitro* – очищені від феритину клітини можуть включати іони різних металів (Fe, Au, Pd, Rh, Pt, Ni, Cr, Cd, Ti, Tb, Co, Cu і Zn) [316–319]. Отже, як феритин, так і БМН, імовірно, можуть зробити внесок у надлишок цинку і міді при нейродегенеративних розладах.

Можна виділити основні загальні стадії біомінералізації БМН в організмах, які стосуються усіх трьох надцарств – прокариотів, архей та еукаріотів (включно з людиною):

- 1) формування органічної матриці (везикули) чи специфічного органічного матеріалу або ж утворення хімічного середовища, сприятливого для біомінералізації БМН;
- 2) формування перехідної сполуки заліза;
- 3) перетворення перехідної сполуки заліза на цільовий мінерал БМН.

Кожен етап біомінералізації БМН вимагає присутності набору специфічних білків. Зокрема, формування органічної матриці або ж іншого органічного оточення БМН вимагає участі білків, які не є гомологічними до білків, що контролюють утворення везикул у магнітотаксисних бактеріях, причому, як передбачається, вищенаведені стадії 2 і 3 контролюються білками-гомологами білків біомінералізації магнітотаксисних бактерій [8, 10]. При цьому феригідрит є найімовірнішою перехідною сполукою заліза і попередником біогенного магнетиту [17, 40].

Водночас, накопичення заліза в процесі біомінералізації БМН та накопичення Fe в феригідридному ядрі феритину є, в загальному випадку, незалежними процесами [17, 207]. Відкритим питанням залишається і роль феритину в біомінералізації БМН при захворюваннях і мутаціях (оскільки збільшення кількості лабільного заліза пов'язане з втратою функції феритину зберігати залізо, а це може впливати на процес біомінералізації БМН).

Крім того, як вже зазначалося вище, існують два різні шляхи накопичення заліза в організмах [206]:

- 1) *зворотний*, який полягає в збереженні заліза у білках;
- 2) *незворотний* – у БМН (оскільки залізо не може бути вивільнене з магнетиту та інших хімічно стійких оксидів заліза).

Також ферити є найбільш магніточутливими компонентами біогенного походження, а підвищений рівень БМН пов'язаний із низкою захворювань людини (рак, нейродегенеративні розлади і атеросклероз). З цього погляду, вивчення впливу магнітного поля на експресію генів, які кодують білки біомінералізації [320, 321], є ключовим чинником досліджень впливу магнітного поля на організми та використання магнітних технологій у діагностиці та терапії вищезгаданих захворювань.

Разом з тим, відкриття БМН в організмах, що належать до усіх трьох над царств (прокаріотів, архей та еукаріотів), а також виявлення особливостей формування БМН як у нормі, так і при патології актуалізували питання пошуку метаболічних функцій БМН.

### **3.5. Функції бмн у живих організмах**

Відкриття БМН як у бактеріях, так і в багатоклітинних організмах поставило питання про фізіологічні функції цих феритових матеріалів. Як вже зазначалося, згідно з традиційною гіпотезою, БМН призначені для навігації в геомагнітному полі (магнітотаксису) та для забезпечення відчуття магнітного поля Землі (магніторецепції) [1]. Але чи є магнітотаксис та магніторецепція єдиними функціями магнітосом у

бактеріях? Які функції БМН і їх фізіологічне походження в багатоклітинних організмах (включно з людиною)? Відповіді на ці питання обговорюються нижче. У зв'язку з цим далі описано як експериментальні дослідження, так і можливості теоретичного моделювання ефектів впливу неоднорідних магнітостатичних полів розсіювання намагнічених електродів на кластерні компоненти у водних розчинах за перебігу електрохімічних реакцій – що, в свою чергу, не лише має самостійний науковий інтерес, а й робить внесок у розвиток такої сучасної галузі досліджень, як магнітоелектроліз. І також ці дослідження є підґрунтям для гіпотез про можливі метаболічні функції БМН у живих організмах. Крім того, нижче обговорюються гіпотези про біологічні функції БМН, наводиться детальний опис стану розуміння магнітотаксису як функції БМН у магнітотаксисних бактеріях, а також магніторецепції як функції БМН у мігруючих риб, перелітних птахів та низки інших тварин. Обговорюється й ідея про те, що, з огляду на існування єдиного генетичного механізму процесу біомінералізації та властивостей БМН у представників всіх надцарств живих організмів, актуальним є пошук спільних для них метаболічних функцій БМН. Найдетальніше ж розглянуто можливість функціонування БМН як високоградієнтного магнітного сепаратора (ВГМС) та концентратора кластерних компонент в організмах.

Вже зазначалося, що після того, як БМН було виявлено в багатоклітинних організмах, ідею про магнітотаксис як основну їх функцію було трансформовано в ідею про важливу роль БМН у магніторецепції (відчутті організмами магнітних полів, і у т.ч. магнітного поля Землі). Що ж до магнітотаксису перелітних птахів, то в роботах [6, 56] експериментально доведено: біогенний магнетит у їхніх дзьобах не слугує орієнтуванню в магнітному полі Землі, але він може слугувати, наприклад, посиленню нюху в результаті магнітної концентрації парамагнітних сполук у вигляді кластерів з навколишнього середовища.

Ідею магніторецепції глибоко вивчали і продовжують вивчати, але однозначного експериментального підтвердження знайдено не було навіть, як вже зазначалося вище, за результатами досліджень процесів орієнтування перелітних птахів у геомагнітному полі (не кажучи вже про людину).

### **3.5.1. Дискусія про можливі метаболічні функції БМН**

Добре відомо, що послідовності ДНК людини і бактерій мають певну схожість у частині генів і що саме подібні домени послідовностей відповідають за синтез молекулярних систем з однаковими функціями.

Так, дані досліджень ДНК підтверджують, що механізми, які є основою для формування особливостей функціонування організму, з'явилися на початку еволюції ще до появи багатоклітинних організмів і з того часу зазнали лише незначних змін. Виходячи з цього, схожість між білками МО МТБ і людини слугує ще одним підтвердженням того, що БМН може відповідати за основні функції як прокариотів, так і еукаріотів.

Відомо також, що за певних умов експресія генів МО МТБ пригнічується [37], але при цьому ті МТБ, які не синтезують БМН, є життєздатними [33, 167, 267, 268]. Отже, якщо метаболічні (немагнітотаксисні) функції БМН існують, то важливим є визначення умов, за яких організм із БМН має переваги порівняно з організмом без БМН. При цьому наявність еволюційної «вигоди» від біосинтезу біогенних магнітних наночастинок є незаперечною, оскільки з часу виникнення біомінералізації цих частинок у найдавніших прокариотів [163] і дотепер пройшло близько 3,8 млрд. років. Однак, як показують біоінформаційні дослідження, проведені в рамках робіт [8, 207], у кожному з трьох надцарств організмів (археях, бактеріях та еукаріотах) існують як таксони, що мають гомологи серед основного набору білків МО МТБ, так і такі, що не мають цих останніх. У такому контексті всі організми поділяються на два класи – з і без гомологів білків МО МТБ.

Саме тому першим перспективним методом виявлення умов і метаболічних процесів, з якими пов'язані функції БМН, є виявлення відмінностей в умовах життєдіяльності та особливостях обміну речовин між двома згаданими класами організмів.

Другим методом виявлення конкретних метаболічних функцій БМН може бути аналіз чинників, які впливають на експресію генів МО у МТБ та їхніх гомологів в інших організмах (включно з людиною). Так, у роботі [72] показано, що експресія генів МО МТБ регулюється концентрацією кисню, яка підвищується в анаеробних або ж мікроаеробних умовах, а інгібується в аеробних (за наявності >5% кисню). Існує також гіпотеза, що гени МО МТБ пов'язані з метаболічними шляхами анаеробного дихання [322], причому методами радіоактивних міток вже доведено, що до складу магнетитових БМН входить кисень, отриманий із води, а не з розчиненого повітря [323]. Це, в свою чергу, додатково підтверджує давнє походження генетичного механізму біомінералізації БМН, бо виникнення життя на Землі відбувалося за відсутності кисню в її атмосфері [182]. Як видається на перший погляд, умови, за яких БМН синтезуються в тканинах мозку, серця, печінки і селезінки та багатьох пухлинних тканинах людини, істотно відрізняються від умов життєдіяльності МТБ, проте фізіологічний рівень кисню *in vivo* у тканинах людини (2–5%) також відповідає мікроаеробним умовам [324], і особливо це стосується тканин мозку, що



містять БМН (це т.зв. нормоксія) [325], та пухлинних тканин (йдеться про гіпоксію, тобто перехід ракових клітин на анаеробне дихання) [326]. Саме тому можуть виявитися не випадковими низькі за рівнем концентрації кисню умови метаболізму тканин людини і ссавців, у яких виявлено БМН, і більшості МТБ. При цьому білки людини, що відзначаються високим ступенем подібності до білків МО МТБ, задіяні у патогенезі нейродегенеративних, серцево-судинних і онкологічних захворювань та атеросклерозі, які, порівняно з нормальними тканинами, характеризуються накопиченням заліза та активних форм кисню і/або БМН, а також окисним стресом [9, 31, 326, 327]. Водночас, наявні експериментальні дані, що іони заліза каталізують реакцію Фентона з виробництва активних форм кисню [328], тому при біосинтезі БМН у МТБ зменшується концентрація Fe-іонів у цитозолі, а, як наслідок, знижується кількість активних форм кисню [313, 328]. Разом з тим, екзогенний магнетит, поверхня якого не вкрита везикулою або ж шаром органічного матеріалу, призводить до оксидного стресу і в бактеріях, і в еукаріотах [329, 330].

Точкою ж опори третього методу визначення функцій БМН може слугувати врахування того експериментального факту, що БМН – потужний природний наномагніт або ж мікромагніт [331]. Згідно з гіпотезою, викладеною в роботах [7, 8, 9, 31], представникам усіх царств живих організмів притаманні функції БМН, які ґрунтуються на впливі власних магнітних полів розсіювання на біохімічні процеси, мембранне транспортування та клітин-клітинну взаємодію (див., зокрема, [7, 9]).

З огляду на вищезазначене, функціями БМН є:

1) Магнітодипольна взаємодія клітин БМН із клітинами, тканинами та органами, що також містять БМН або магніточутливі структури [45, 171]. Вона є різновидом специфічної взаємодії або ж адгезії [188, 274].

У низці робіт також відзначається накопичення внутрішньоклітинних компонент кластерного типу (гранул, везикул, вакуоль) в околі БМН у МТБ. Так, збагачені киснем і фосфором гранули (везикули) виявлено експериментально поблизу кінців ланцюжків БМН у МТБ [332, 333], і така їх просторова локалізація характерна для магнітного захоплення парамагнітних або ж ефективно парамагнітних компонент у діамагнітному середовищі [334]. Крім того, в роботі [335] експериментально виявлено газові вакуолі, які є ефективно парамагнітними і розташовані на поверхнях БМН у магнітотаксисних бактеріях (переважно поблизу точок контакту магнітних наночастинок, де напруженість власного магнітного поля БМН є максимальною). Також завдяки магнітодипольній взаємодії штучні суперпарамагнітні

наночастинки магнетиту можуть при введенні в кровотік накопичуватися у тих органах і тканинах людини, де відбувається біомінералізація БМН [188, 277, 278] (мозку, печінці, серці, легенях, селезінці, надниркових залозах, решітковій кістці, пухлинних тканинах та атеросклеротичних бляшках тощо), і змінювати в них метаболічні процеси, посилюючи дію магнітних полів БМН та викликаючи токсико-алергічні реакції [336].

Магнітодипольну взаємодію слід також враховувати при розробці магнітокерованих нанокомпозитів для цільової доставки лікарських препаратів у клітини та органи-мішені, які здатні до біомінералізації БМН (і зокрема пухлинні клітини [188] та атеросклеротичні бляшки [16, 337] тощо). На сьогодні у медицині значна увага приділяється дослідженню та використанню магнітокерованих векторів: ліпосомальних, бактеріальних, вірусних та інших магнітомічених нанокомпозитів [199–201]. Це пов'язано з необхідністю мінімізації небажаних токсико-алергічних ефектів, оскільки терапія при використанні магнітних технологій для транспортування лікарських препаратів здійснюється в локалізованій ділянці організму, а загальна доза препарату при цьому може бути мінімальною, зовнішнє ж статичне магнітне поле має впливати на рух магнітокерованих носіїв і запобігати їх вимиванню з органа-мішені. Водночас, широке застосування цей метод цільової доставки лікарських препаратів досі не знайшов у зв'язку зі складнощами його практичної реалізації. Пояснюється це тим, що вимоги до магнітокерованих носіїв є доволі жорсткими, а саме:

- Розміри магнітокерованих носіїв мають бути меншими за 1 мкм, щоб запобігати агрегації в магнітному полі й закупорюванню капілярних судин.
- Зумовлена дією прикладеного зовнішнього магнітного поля сила, що утримує магнітокерований носій у кровотоці, має бути пропорційною об'єму частинки та кількості магнітних наночастинок у ньому. При цьому гідродинамічна сила, що прагне винести з органа-мішені магнітокерований носій, повинна бути пропорційною розмірові носія лише у першому степені, а, отже, для ефективного утримання магнітокерованого носія розміри частинок і вміст магнітного матеріалу потрібно збільшувати.
- Для утримання лікарського препарату в заданій обмеженій ділянці треба створити зону ефективної дії неоднорідного магнітного поля, під впливом якого значна частка носіїв має залишитися в органі-мішені. Водночас, магнітні властивості магнітокерованих носіїв суттєво відрізняються, оскільки на сьогодні практично не існує методів створення таких носіїв, які б забезпечували гомогенність їхніх магнітних властивостей [199–201]. Як вже зазначалося, низка

здорових та патологічно змінених органів та тканин людини мають на мембранах клітин біогенні магнітні наночастинки. При цьому магнітодипольні сили взаємодії магнітокерованих носіїв із БМН на мембранах клітин органів та тканин людини за певних умов є значно більшими, ніж ті сили, що утримують магнітокеровані носії завдяки використанню зовнішнього статичного магнітного поля в зоні органа-мішені [188]. Саме тому доставка магнітокерованих носіїв до цільового органа може супроводжуватися закупорюванням судин у тих органах та тканинах в організмі людини, які містять БМН.

- При створенні магнітокерованих носіїв слід враховувати чинник скорочення часу присутності магнітокерованих носіїв як екзогенних матеріалів (оскільки залишаються актуальними питання, пов'язані із впливом магнітних наночастинок на клітини і організм, а також токсикологічними аспектами застосування магнітних наноматеріалів). До кінця не з'ясовано й механізми пошкоджувального впливу наноматеріалів на клітинні структури і організм у цілому, а також процеси біодеградації магнітокерованих носіїв у біологічних середовищах та залежність токсичності магнітокерованих носіїв від їх концентрації і фізико-хімічних властивостей як магнітних, так і немагнітних компонентів магнітокерованих носіїв тощо [338].
- Необхідно враховувати вплив зовнішнього магнітного поля на організм, і особливо з урахуванням наявності БМН як у здорових, так і в патологічно змінених органах і тканинах людини та ін.

2) Вплив магнітного захоплення та накопичення ефективно парамагнітних внутрішньо- і зовнішньоклітинних кластерних компонент (гранул, везикул, вакуоль, мікро- та нанобульбашок тощо) [8, 167, 207] у власному неоднорідному магнітному полі БМН на біохімічні процеси та мембранне транспортування. Незважаючи на те, що масова частка БМН у тканинах становить кілька нг/г тканини [67], магнітостатичні поля розсіювання, створені ланцюжками десятків БМН, розподілені практично по всьому об'єму клітини (що експериментально доведено методами електронної голографії в роботах [339, 340]) і достатні для захоплення та накопичення ефективно парамагнітних внутрішньо- і зовнішньоклітинних кластерних компонент. Особливо ж помітно магнітне накопичення таких компонент впливає на мембранне транспортування (з огляду на міцну прив'язку ланцюжків БМН до мембрани, в околі якої напруженість їхніх магнітостатичних полів є максимальною і де відбувається магнітне концентрування ефективно парамагнітних кластерів біологічно активних речовин). У зв'язку з цим магнітне концентрування може бути задіяне у функціонуванні імунної, ендокринної та нервової систем. Крім того,

оскільки вищеописана наномашина розташована на внутрішній мембрані клітини, то завдяки магнітному захопленню ефективно парамагнітних кластерів біологічно активних речовин вона може керувати такими метаболічними процесами, як проникнення в клітину речовин кластерного типу, забезпечення міжклітинних контактів, передавання клітинних сигналів, сприйняття біологічно активних речовин (гранул і гормонів та ін.) тощо [6, 56, 341, 342]. Порушення ж механізмів функціонування такої наномашини може спричинити розвиток патологічних станів;

3) Магнітогідродинамічний рух реагентів і продуктів хімічних реакцій [7, 343] у результаті виникнення неоднорідного розподілу концентрації парамагнітних та ефективно парамагнітних компонент кластерного типу [7, 344] під впливом неоднорідних магнітних полів в околі частинок, які мають магнітний момент. Під таким впливом виникають накопичення і неоднорідний розподіл концентрації парамагнітних та ефективно парамагнітних компонент кластерного типу [9, 345], а також магнітогідродинамічне переміщення реагентів і продуктів хімічних реакцій [9, 272]. При цьому неоднорідний розподіл концентрації заряджених ефективно парамагнітних компонент в околі намагнічених частинок є джерелом різниці електричних потенціалів між різними ділянками поверхні мембрани клітини [9] – а, отже, власні неоднорідні магнітні поля БМН можуть впливати на швидкість біохімічних реакцій, найповільнішою стадією яких є транспортування реагентів чи продуктів реакції (це дифузійна (змішана) кінетика). У зв'язку з вищезазначеним, БМН можуть бути внутрішньоклітинними магнітними наномашинами для управління транспортними процесами та біохімічними реакціями (за наявності парамагнітних або ж ефективно парамагнітних реагентів та продуктів біохімічних реакцій кластерного типу). Вплив тривалості прикладання зовнішніх магнітних полів як важливий параметр вивчення їх дії на живі організми через вплив на процес біомінералізації БМН.

Аби виявити значні ефекти впливу магнітних полів, тривалість дії зовнішнього магнітного поля має бути співрозмірною або ж більшою за характерний час експресії тих генів, які кодують гомологи білків магнітосомних острівців магнітотаксисних бактерій, та співрозмірною з характерним часом відповідних метаболічних і транспортних процесів, а також процесів клітин-клітинної взаємодії, на які впливають власні магнітостатичні поля розсіювання БМН.

Таким чином, ланцюжки БМН можуть бути біогенними наноприроями з магнетохімічними функціями, що призводять до зміни транспортних процесів і метаболізму клітин [10] через магнітофоретичні та електрофоретичні рушійні сили, а також через ефект магнітогідродинамічного перемішування [8, 9], який так само може

змінити швидкість хімічних і біохімічних реакцій із дифузійною або ж змішаною кінетиками [8]. Завдяки своїм малим розмірам ці наномашини мають «працювати» на магнітне захоплення навіть одиночних ефективно парамагнітних кластерів (реагентів і продуктів реакцій), а тому є високочутливими. Наявність спільних функцій БМН і єдиного генетичного механізму їх біомінералізації у представників усіх царств живих організмів виокремлює *біомагнетизм*, нарівні з біоелектрикою, як самостійний науковий напрям дослідження впливу власних магнітних полів БМН в організмі на функціонування його систем і процеси метаболізму в ньому.

### **3.5.2. БМН як високоградієнтний магнітний сепаратор (ВГМС) та концентратор кластерних компонент у клітині**

БМН можуть мати спільні функції в клітинах як прокариотів, так і еукариотів з огляду на подібність між білками МО МТБ і людини. Можливими функціями БМН є додаткові сили, що керують транспортними процесами в безпосередній близькості до клітинної мембрани за рахунок щонайменше двох різних механізмів. Перший механізм – це магнітофоретичний [334, 346–354], який може призвести до накопичення, концентрації та сепарації ефективно парамагнітних компонент кластерного типу в клітинах прокариотів та еукариотів під дією неоднорідного магнітного поля БМН. Другий механізм базується на генеруванні електрорушійної сили концентраційного кола, викликаного неоднорідним магнітним полем [8, 355, 356] БМН на клітинній мембрані, – як вторинному магнітохімічному ефекті, викликаному першим із вищезазначених механізмів. Крім того, другий із цих механізмів може призвести до виникнення додаткової електрофоретичної сили, що діє на іони, заряджені молекули та інші заряджені компоненти поблизу клітинної мембрани. І також наявний ефект магнітогідродинамічного перемішування, яке може виникати при поєднанні магнітного та електричного полів, що генеруються БМН у безпосередній близькості до клітинної мембрани [7, 9, 10, 343].

Розглянемо перший, магнітофоретичний механізм реалізації потенційно можливих функцій БМН, пам'ятаючи, що намагнічені феритові або феромагнітні частинки та їхні ансамблі є типовими концентраторами компонентів кластерного типу з магнітною сприйнятливістю, відмінною від магнітної сприйнятливості оточуючого середовища (наприклад, цитозолу).

Такий магнітний пристрій працює відповідно до принципу високоградієнтної феромагнітної насадки магнітного наносепаратора

(рис. 3.12, *a*) [334], який широко використовується для технічних [334, 346–350] і біомедичних [351–354] застосувань. Намагнічена частинка (БМН) створює градієнтну магнітну силу, що діє на одиницю об'єму компонентів з ефективною магнітною сприйнятливістю  $\chi_0$  [334, 346]:

$$\vec{F}_m = \frac{1}{2} \chi_0 V \cdot \text{grad}(\vec{H}^2) \quad (3.1)$$

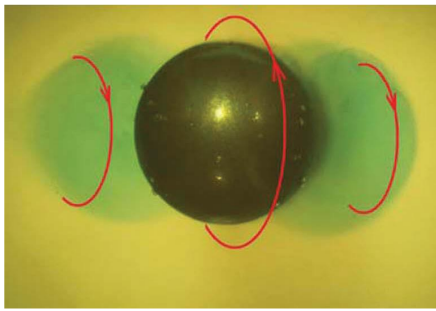
де:  $\chi_0$  – різниця між магнітними сприйнятливостями компоненти (везикули, гранули, ліпосоми тощо) і середовища;  $V$  – об'єм компоненти;  $\vec{H} = \vec{H}_0 + \vec{H}_r$  – суперпозиція напруженостей зовнішнього магнітного поля  $\vec{H}_0$  і дипольного магнітного поля, створеного намагніченою частинкою [334, 346]:

$$\vec{H}_r = \frac{3(\vec{m}\vec{r})\vec{r} - \vec{m}r^2}{r^5} \quad (3.2)$$

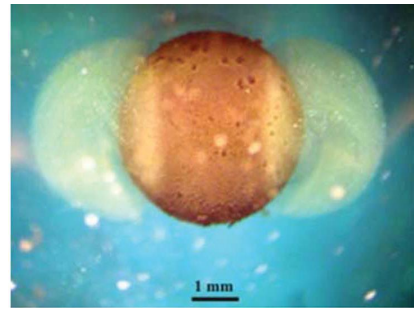
де:  $\vec{m}$  – магнітний момент намагніченої частинки,  $\vec{r}$  – радіус-вектор.

Градієнтна магнітна сила в рівнянні (3.1) є занадто слабкою для магнітного захоплення окремих парамагнітних іонів у водних розчинах в околі БМН та намагнічених мікро- і наночастинок у технічних пристроях [17, 334, 346]. Водночас, вищезгадана сила в рівнянні (3.1) може призвести до магнітного захоплення пара- або ефективно парамагнітних компонент кластерного типу і створення двох квазістаціонарних рідких фаз із різними магнітними сприйнятливостями в діамантному водному розчині (наприклад, цитозолі). [354, 355]. Приклади ефективних діа- і парамагнітних кластерів у водних розчинах (далі – магніони) – включно з ефективно парамагнітними бульбашками – представлено на рис. 3.12 у модельних експериментах у різних електролітах [354]. Створювану (виключно за рахунок неоднорідного розподілу магнітного поля на поверхні намагніченої кулі) сепарацію електроліту на декілька квазістаціонарних рідких фаз можна спостерігати візуально (рис. 3.12) [354]. Так, магнітна концентрація магніонів призводить до зміни швидкості перенесення реагентів та/або продуктів реакції і подальшої зміни швидкості електрохімічної реакції (як це показано на рис. 3.12 для різних водних розчинів [344]). Таким чином, спостерігається індукована неоднорідним МП анізотропія електрохімічної швидкості реакції.

Якщо ж просторовий розподіл магнітного поля є квазіперіодичним (це випадок магнітного поля, створюваного ланцюжками БМН), то може виникнути, відповідно, квазіперіодичний просторовий розподіл магніонів (так, як це показано на рис. 3.12, *a*). При цьому сталевий дріт (який є моделлю ланцюжка БМН) характеризується періодичним розподілом його намагніченості вздовж осі симетрії і відповідним періодичним розподілом неоднорідного магнітного поля в безпосередній близькості від його поверхні в електроліті [357, 358].



*a*



*б*



*в*



*г*

**Рис. 3.12.** Оптичне зображення магнітного захоплення кластерів іонів заліза Fe(II) і парамагнітних бульбашок в околі магнітних полюсів намагніченої кулі та впливу магнітогідродинамічного (МГД) перемішування на процес травлення сталеві кулі у 2,5%-му розчині HCl в однорідному зовнішньому горизонтальному магнітному полі з  $H = 3500$  Е із додаванням хімічного індикатора  $K_3[Fe(CN)_6]$  (*a*) [354] та у 5%-му розчині  $HNO_3$  в однорідному зовнішньому вертикальному магнітному полі з  $H = 2200$  Е без додавання хімічних індикаторів (*б*); осадження міді в розчині  $CuSO_4$  в однорідному горизонтальному зовнішньому магнітному полі з  $H = 1000$  Е (*в*) [344] і в однорідному вертикальному зовнішньому магнітному полі з  $H = 1000$  Е із додаванням хімічного індикатора (*г*); червоні стрілки вказують напрямок обертання водного розчину в околі магнітних полюсів і екватора намагніченої кулі [7, 344]

Запишемо розподіл Больцмана для концентрації магніонів  $c(\vec{r})$  у водному розчині в околі намагніченого зразка [355] як:

$$c(\vec{r}) = c_0 \exp \left[ \frac{\chi \vec{H}^2(\vec{r})}{2k_B T} \right] \quad (3.3)$$

де:  $c_0$  – постійна концентрація;  $\chi = \chi_0 V \cong \frac{(2\mu_0)^2 s(s+1)n_g}{3k_B T}$  – магнітна сприйнятливість магніона (закон Кюри–Брюлюена [359]);  $n_g$  – число окремих парамагнітних іонів або молекул зі спіном  $s$ , які містяться в складі магніона;  $k_B = 1.38 \cdot 10^{-16}$  Ерг/кг – стала Больцмана;  $T$  – абсолютна температура;  $\mu_0 = 0.927 \cdot 10^{-20}$  Ерг/Гс – магнетон Бора;  $\frac{\chi \vec{H}^2(\vec{r})}{2k_B T}$  – показник експоненти для окремих парамагнітних іонів у водному розчині, що містить магніони  $n_g = 1$  за  $T = 300$  К. При цьому намагніченість насичення магнетиту  $M_0 = 447$  електромагнітних одиниць [354].

І дійсно, градієнтне магнітне поле БМН не може суттєво змінити розподіл концентрації окремих парамагнітних іонів або молекул в клітині.

Водночас, показник експоненти  $\frac{\chi \vec{H}^2(\vec{r})}{2k_B T} \cong 1$  для кількості парамагнітних

іонів або молекул, що містяться в складі магніона,  $n_g = 10$ . Таким чином, градієнтне магнітне поле БМН може мати значний вплив на розподіл концентрації магніонів, які складають значну частину парамагнітних іонів або ж молекул [354]. При цьому стабілізовані парамагнітними іонами у водному розчині нанобульбашки [360], а також оточені «хмарами» іонів дисперсійні колоїдні наночастинки [354] та бульбашки парамагнітних сигнальних молекул кисню і оксиду азоту [342] можуть поводитися як магніони [354, 355], і особливо у біосистемах (за таких умов, як декомпресія [361, 362], доставка ліків [363] тощо).

Розглянемо другий механізм реалізації потенційно можливих магнітохімічних функцій БМН. Із відповідного загального рівняння [364] випливає, що електрорушійна сила концентраційного кола індукується в неоднорідному магнітному полі БМН між точками з радіус-векторами  $\vec{r}_1$  і  $\vec{r}_2$  на поверхні клітинної мембрани в околі БМН. Електричний потенціал, з урахуванням різниці між хімічними потенціалами магніонів у неоднорідному магнітному полі  $\vec{H}$ , за наявності лише одного типу магніонів може бути визначений таким виразом [355]:

$$\varphi_0 = \frac{k_B T}{Z_e} \ln \frac{c(\vec{r}_2)}{c(\vec{r}_1)} \quad (3.4)$$

де:  $Z_e$  – заряд магніона;  $c(\vec{r}_1)$  та  $c(\vec{r}_2)$  – концентрація магніонів у



точках із радіус-векторами  $\vec{r}_1$  і  $\vec{r}_2$  відповідно на поверхні клітинної мембрани. Перетворимо вираз (3.4) так:

$$\varphi_0 = \frac{\chi}{2Ze} (\vec{H}^2(\vec{r}_1) - \vec{H}^2(\vec{r}_2)) \quad (3.5)$$

Наведена формула (3.5) описує розподіл електричного потенціалу  $\varphi$  на клітинній мембрані та показує, що неоднорідний розподіл магнітного поля БМН створює електричне поле в клітині. При цьому зазвичай заряд магніона  $Ze \ll n_g \cdot e$ , де  $e$  – заряд електрона. Наприклад, заряд нанобульбашок  $Ze$ , може бути оцінений як  $10^2 \cdot e$  [360], а напруга  $\varphi_0$  між магнітним полюсом і екватором намагніченої частинки може досягати  $3 \cdot 10^4 - 3 \cdot 10^2$  електромагнітних одиниць, які приблизно відповідають 0,1-10 мВ у системі одиниць СІ для  $n_g$  від  $10^6$  до  $10^8$  [354, 355]. Електричний струм виникає у водному розчині під напругою (формула 3.5) [355]. Щільність струму та індукована сила Лоренца розраховуються теж у роботі [355]. І слід також зазначити, що останні результати досліджень процесів обертання водного розчину і напрямків обертання узгоджуються з експериментальними даними (рис. 3.12, а).

Так, модельні експерименти (рис. 3.12) показують, що вплив неоднорідного магнітного поля на транспортні процеси та електрохімічні реакції у водних розчинах проявляється в широкому діапазоні масштабів, починаючи з мезо- та мікро- і до наномасштабів. Це відповідає теоретичним розрахункам масштабно-незалежного розподілу магнітного тиску і напруги (формула 3.5) як функції безрозмірних координат в одиницях радіуса намагніченої частинки [354, 355]. Наприклад, зміну поверхні наноструктури нікелю за рахунок застосування зовнішнього магнітного поля при електроосаженні представлено на рис. 3.12: кожна намагнічена гранула Ні створює, подібно до БМН, локальне неоднорідне магнітне поле в безпосередньо близькому своєму оточенні, причому (як це видно на горизонтальних та вертикальних шкалах зазначеного рисунка) ці гранули володіють анізотропією відносно до напрямку зовнішнього магнітного поля і є значно більшими за ненамагнічені.

### 3.5.3. Фазові переходи та утворення кластерів у багатокомпонентних системах

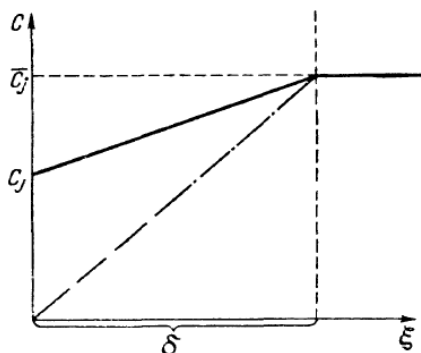
Систему електроліт-сталева куля можна, в певному наближенні, розглядати як термодинамічно рівноважну і таку, що складається з багатьох компонент. Отже, це просторово неоднорідна система, в якій концентрації різних компонент, тобто співвідношення кількості молекул або ж іонів відповідних компонент та кількості молекул розчинника (у нашому випадку води) змінюються разом із відстанню від поверхні кулі.

Таку систему можна розглядати як термодинамічно рівноважну, коли поверхня сталеві кулі є ідеально однорідною, тобто якщо не враховувати її полікристалічну структуру. Водночас, як відомо, наявність кристалітів, зерен та їхніх границь на поверхні кулі в електроліті призводить до створення мікрокатодів і мікроанодів, які хаотично розподілені по цій поверхні. Це, в свою чергу, призводить до проходження мікрострумів в електроліті у просторових масштабах порядку, співвимірному із розмірами зерен і кристалітів. Якщо ж ці просторові масштаби значно менші за характерний масштаб неоднорідного розподілу концентрації компонент системи по нормалі до поверхні (тобто товщини дифузійного шару), то таку неоднорідну систему з хорошим наближенням можна вважати термодинамічно квазірівноважною. У зв'язку з цим *В. Нерст* і *Д. Бруннер* припустили, що в розчині електроліту існує практично нерухомий шар рідини поблизу поверхні електрода, через який мають дифундувати речовини, що вступають в електрохімічні реакції на поверхні, причому припущення про існування такого дифузійного шару з товщиною  $\delta$  було з успіхом застосовано ще раніше *А. Нойесом*, *Х. Уїтні*, *Д. Брунером* і *М. Толочком* при дослідженні швидкості розчинення кристалів. При цьому природно, що на зовнішній межі дифузійного шару внаслідок конвекції завжди відбуватиметься певне вирівнювання концентрацій, тому уявлення про нерухомий шар рідини із товщиною  $\delta$ , поза яким рідина вважається повністю перемішуваною, є лише, як вже вказувалося вище, грубим наближенням. Водночас, такими ідеалізованими уявленнями про дифузійний шар ми користуватимемося й надалі, оскільки експерименти показують, що відповідне припущення дуже зручне при розрахунках.

Розглянемо схематично розподіл потоків рідини всередині дифузійного шару (рис. 3.13), враховуючи, що всередині нього за його товщини  $\delta$  перенесення речовини шляхом дифузії може відбуватися тільки тоді, коли наявний градієнт активності цієї речовини.

При русі іонів через дифузійний шар необхідно враховувати також і вплив електричного поля, яке з'являється, наприклад, внаслідок обмеженої провідності розчину або ж необхідності збереження електронейтральності всередині цього шару. Таке поле зумовлює додатковий потік іонів, який накладається на дифузійний потік, проте великий надлишок стороннього електроліту (тобто висока концентрація іонів, які не беруть участі в сумарній електродній реакції) суттєво перешкоджає появі цього електричного поля в дифузійному шарі - оскільки за наявності цього надлишку стають дуже малими числа перенесення речовин, які вступають у реакцію. Водночас, цей вплив також можна вважати малим і надалі не брати до уваги. І, крім того, нами

прийняте ще одне спрощення, яке стосується того, що зміна концентрації компонент, відповідно, дуже мало змінює загальну концентрацію електроліту, а тому зміна коефіцієнта активності виявляється такою малою, що нею можна нехтувати (тим самим виправдовується подальше застосування концентрацій замість активностей).



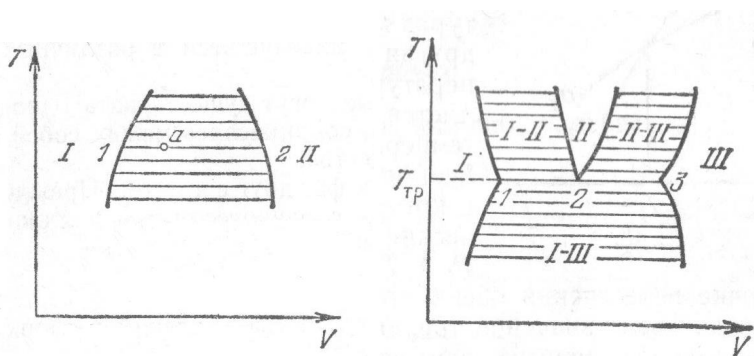
**Рис. 3.13.** Зміна концентрації в дифузійному шарі з товщиною  $\delta$  (ідеалізована схема)

Всі термодинамічні величини багатоконпонентної системи в повній термодинамічній рівновазі визначаються, наприклад, значеннями температури та тиску і числами частинок незалежних компонент. У загальному випадку число таких компонент може не співпадати з повним числом різних речовин у системі, якщо між цими речовинами може відбуватися хімічна реакція. Якщо така система перебуває у стані неповної рівноваги, то для визначення її термодинамічних величин необхідно, взагалі-то, задати кількість усіх речовин, що до неї входять.

У зв'язку з цим розглянемо кількість різних речовин і незалежних компонент  $n$  та сукупність декількох фаз  $r$ , які співіснують у системі електрод–електроліт за перебігу електрохімічних реакцій у неоднорідному магнітному полі. Для більшої визначеності подальший розгляд здійснюватимемо для системи сталева куля–водний розчин  $\text{CuSO}_4$  у зовнішньому однорідному магнітному полі, всередині якої неоднорідне магнітне поле створюється при намагнічуванні сталевих кулі. Разом з тим, слід зазначити, що всі нижчевикладені міркування і загальні висновки не обмежуються тільки цією конкретною системою, а можуть бути застосовані до будь-якої системи електрод–електроліт за наявності згаданих вище реакцій (незалежно від способу створення неоднорідного магнітного поля на поверхні електрода, причому зрозуміло, що матеріал цього останнього не обов'язково має бути феромагнітним).

Кожна фаза в квазірівноважній системі сталева куля–водний розчин  $\text{CuSO}_4$  у зовнішньому однорідному магнітному полі характеризується тиском, температурою і  $n$ -хімічними потенціалами. Як відомо, з умови рівноваги фаз випливає т.зв. правило фаз Гіббса про те, що в системі, яка складається з  $n$ -незалежних компонент, може одночасно перебувати в стані рівноваги не більш як  $n+2$  фази або  $r \leq n+2$ . При цьому кількість термодинамічних ступенів вільності  $f = n+2-r$  і є кількістю змінних, які можуть бути довільним чином змінені без порушення рівноваги. У нашому випадку в дифузійному шарі поблизу поверхні сталеві кулі кількість компонент ( $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{Fe}^{+2}$  та ін.)  $n \geq 5$ , тому й можуть співіснувати до  $r=7$  фаз. У загальному випадку кожна фаза може містити всі речовини – і зокрема різні агрегатні стани речовини (включно з рідким, твердим і газоподібним: наприклад, парою води).

Якщо ж хімічні потенціали виражені функціями таких термодинамічних параметрів, як температура, тиск і концентрації всіх компонент системи, то з умови рівності хімічних потенціалів фаз (тобто з умови рівноваги) можна отримати співвідношення між зазначеними термодинамічними параметрами, а саме багатовимірну діаграму рівноваги фаз, де на осях координат відкладаються температура, тиск і концентрації. Так, наприклад, стани, за яких можливе співіснування одночасно двох фаз, заповнюватимуть площину в цілому, а не лише одну криву (рис. 3.14).



**Рис. 3.14.** Діаграма типу температура–об’єм, віднесений до певної кількості речовини

На рис. 3.14 точки на ділянках I і II по обидва боки заштрихованої області відповідають однорідним першій і другій фазам, а сама ця область відображає стани, за яких обидві фази перебувають у рівновазі одна з одною. Так, у точці  $a$  знаходяться перша і друга фази з питомими

об'ємами, що визначаються абсцисами точок 1 і 2 на горизонтальній прямій, яка проходить через точку  $a$ . Безпосередньо ж із балансу кількості речовини легко встановити, що кількості першої і другої фаз обернено пропорційні відрізкам  $a1$  і  $a2$  (це т.зв. правило важеля).

Аналогічно до умови рівноваги трьох фаз однієї й тієї самої речовини, стани, за яких існують одночасно три фази (це т.зв. потрійні точки), на діаграмі відображаються ізольованими точками.

Для багатьох речовин (або ж компонент) фазові діаграми є багатовимірними, тож можуть відбуватися фазові переходи, зумовлені змінами тиску, температури чи концентрацій компонент при переході з однорідного у гетерогенний стан системи, за якого можуть одночасно перебувати у рівновазі декілька фаз.

Дифузійний шар за перебігу електрохімічних перетворень на поверхні електрода є тією ділянкою простору, в якій концентрація реагентів змінюється від максимальної до мінімальної з наближенням до поверхні електрода, а концентрація компонент-продуктів реакції змінюється зворотним чином (тобто від максимальної до мінімальної при віддаленні від цієї поверхні). Відповідно, якраз у зазначеному шарі на певній відстані від поверхні електрода можуть досягатися умови для таких концентрацій компонент, які необхідні для фазового переходу до гетерогенного стану, і утворюватися нанорозмірні кластери, що є зародками нової фази (або й декількох нових фаз). Якщо ж система електрод–електроліт перебуває в неоднорідному магнітному полі, то на зазначені зародки фаз діє градієнтна магнітна сила, яка є пропорційною ефективній магнітній сприйнятливості нанокластера-зародка нової фази (надалі їх називатимемо, як і вище, магніонами).

Ефективна магнітна сприйнятливість, як буде детально описано далі, дорівнює різниці між магнітними сприйнятливостями магніона та електроліту. Так, якщо ця сприйнятливість магніона є позитивною, то такі магніони є ефективно парамагнітними і мають мінімальну енергію поблизу ділянки з максимальною напруженістю магнітного поля. В іншому ж випадку магніони є ефективно діамагнітними і мають мінімальну енергію поблизу ділянки з мінімальною напруженістю магнітного поля. А якщо характерні розміри магніона є достатніми для того, щоб енергія цього останнього в магнітному полі переважала енергію його ж теплового руху, то такі магніони під дією градієнтної магнітної сили переміщуватимуться в область максимальної/мінімальної напруженостей магнітного поля відповідно, завдяки чому забезпечуватиметься досягнення квазірівноважною системою мінімуму її енергії. В цьому останньому випадку неоднорідне магнітне поле може призвести до формування в електроліті збагачених магніонами

макроскопічних областей (формування таких областей поблизу магнітних полюсів намагніченої сталеві кулі досліджено нижче).

### **3.5.4. Седиментаційний потенціал та електрокінетичні явища в колоїдних системах**

Вивчення поведінки нано- та мікророзмірних частинок у розчинах рідин, і зокрема електролітах, а також дисперсійних системах є важливим для багатьох галузей науки та техніки [365]. Відносний рух заряджених частинок (дисперсних фаз) і дисперсійних середовищ супроводжується появою заряду на границі поділу фаз і рухом однієї фази відносно до іншої, а, як відомо, явища, пов'язані з існуванням такого роду електричного заряду, називаються електрокінетичними [366]. При цьому, незалежно від причин, що призводять до відносного зміщення фаз, на поверхні фазового поділу колоїдної частинки та дисперсійного середовища виникає подвійний електричний шар [367]: поблизу поверхні конденсованої фази адсорбуються іони одного знака, які визначають потенціал (ними можуть бути, наприклад, іони, які входять до складу твердого тіла і добудовують його кристалічну ґратку, або ж інші групи іонів, пов'язані з появою нових зв'язків адсорбент–адсорбат тощо) на відстані, що дорівнює їх радіусу в несольвативному стані. Навколо цих груп локалізується шар протіонів із певним дифузійним розподілом вздовж нормалі відносно до поверхні поділу фаз [368]. Поява таких шарів є результатом намагання гетерогенної системи зменшити поверхневу енергію, а це призводить до переорієнтування полярних молекул, іонів та електронів у поверхневому шарі, внаслідок чого дотичні фази набувають зарядів протилежних знаків, але однакової величини [368] – причому між протіонами і вільними (такими, що не входять до складу подвійного електричного шару) іонами того самого знака, які знаходяться в рідині, існує динамічна рівновага.

На сьогодні відомі декілька механізмів утворення подвійного електричного шару. Зокрема, до них відносять іонізацію поверхні, коли метал втрачає електрони і заряджається позитивно, а також вибіркву адсорбцію іонів (за якої поверхня колоїдної частинки адсорбує ближчий за фізико-хімічними властивостями іон) та утворення подвійного електричного шару за рахунок адсорбції на поверхнях полярних молекул: тут позитивно заряджається та фаза, яка має велику діелектричну проникність. Усі такі механізми можуть як співіснувати, так і мати місце окремо (залежно від властивостей дифузійного середовища й дисперсної фази, а також агрегатних станів самих цих механізмів).

За причинами їх виникнення електрокінетичні явища поділяють на ті, за яких відносний рух фаз викликається дією зовнішнього електричного поля (електрофорезом – рухом заряджених мікрочастинок у рідкому середовищі [369] і електроосмосом – рухом дисперсійного середовища відносно до дисперсної фази [370]), а також явищами, за яких виникнення різниці між потенціалами зумовлене відносним рухом фаз (потенціалом течії [371] і седиментаційним потенціалом [372]). Дія зовнішнього магнітного поля також може призвести до тангенціального зміщення шару протиіонів уздовж поверхні поділу фаз (тобто розриву подвійного електричного шару вздовж площини ковзання), а, отже й перерозподілу локальної густини заряду і деформації подвійного шару. Площина ковзання зазвичай проходить по дифузному шару (шару Гуї), чия частина іонів залишається у дисперсійному середовищі. Як результат, дисперсійне середовище та дисперсна фаза виявляються протилежно зарядженими, а це призводить до виникнення на площині ковзання електрокінетичного потенціалу ( $\zeta$ -потенціалу) [368], який і характеризує природу фаз та міжфазної взаємодії.

Коли дисперсійне середовище знаходиться у зовнішньому електричному полі, то під дією прикладеної різниці потенціалів подвійний електричний шар частинок дисперсної фази розривається на межі ковзання і при цьому частинка отримує певний заряд та переміщується до протилежно зарядженого електрода. При цьому протиіони дифузного шару рухаються у протилежний бік. Цей електрокінетичний ефект отримав назву «*електрофорез*» і вперше спостерігався ще у 1808 р. *Ф. Рейссом* [373] у досліді з глиною, яку вміщували у заповнені водою скляні трубки, в які занурювали електроди. При пропусканні сталого струму частинки глини рухалися в бік позитивного електрода.

Протилежним за характером відносного руху дисперсної фази та дисперсійного середовища є явище *електроосмосу*, коли рідина спрямовано переміщується через тверді капілярно-пористі матеріали чи діафрагми під дією зовнішнього електричного поля. При цьому, внаслідок поверхневої дисоціації функціональних груп, а також вибіркової адсорбції одного з іонів електроліту, що міститься у розчині, або адсорбції на поверхні капіляра завжди присутніх у воді іонів  $H^+$  чи  $OH^-$ , на внутрішній поверхні капілярів діафрагми утворюється подвійний електричний шар. Прикладання електричного поля зміщує дифузний шар протиіонів по межі ковзання паралельно нерухомому адсорбційному шару в бік електрода відповідного знака. І, крім того, за рахунок наявних сил внутрішнього тертя та міжмолекулярних взаємодій між гідратною оболонкою іона та рідиною, що його оточує, разом із шаром протиіонів у бік протилежного

електрода рухається й певна частина дисперсійного середовища (ті іони з об'єму рідини, які мають знак, протилежний до знака протиіонів).

Існують також аналогічні електрокінетичні ефекти, спричинені градієнтами концентрацій розчинених у рідині молекулярних речовин, а саме дифузофорез та дифузоосмос [374].

Явище, протилежне до електроосмосу, є потенціалом течії. При течії рідини під тиском через пористу діафрагму між протилежними поверхнями діафрагми (на кінцях капілярів) виникає різниця потенціалів, яку називають потенціалом течії і яка зумовлена існуванням подвійного електричного шару на межі поділу фаз. При течії рідини під тиском через пористу діафрагму відбувається деформація цього шару, а іони дифузійного шару зміщуються в напрямку потоку рідини. Внаслідок цього руху зарядів уздовж межі фазового поділу виникають поверхневий струм і різниця потенціалів на кінцях капілярів діафрагми, а ця різниця, у свою чергу, призводить до появи струму провідності у зворотному напрямку. Різниця потенціалів збільшується, доки ці струми не зрівняються.

Оберненим до електрофорезу явищем є потенціал седиментації (ефект Дорна [375]), який проявляється так: при осіданні дисперсних частинок під дією сили тяжіння подвійний електричний шар, який оточує частинку, деформується за рахунок тертя об шар рідини, унаслідок чого дифузійні іони відстають від частинок, що рухаються, і по висоті осідання виникає різниця потенціалів, яку й називають потенціалом седиментації – це, з іншого боку, і є сумарний дипольний момент, який виникає у межах подвійного шару за рахунок перерозподілу заряду:

$$E_{SED} = -\frac{\xi(\rho - \rho_0)\phi g}{4\pi K^\infty \eta} \quad (3.6)$$

де:  $\xi$  – дзета-потенціал;  $g$  – прискорення вільного падіння;  $\phi$  – об'ємна частка колоїдних частинок;  $\rho$  – густина частинок;  $\rho_0$  – густина середовища;  $K^\infty$  – електропровідність рідини за відсутності у ній частинок;  $\eta$  – в'язкість рідини.

На сьогодні у галузі магнітоелектрохімії відкрито низку експериментальних ефектів [376–381], перебіг яких супроводжується формуванням та ростом нано- та/або мікрочастинок кластерного типу. Це дає підстави вважати, що характерні для колоїдних частинок у дисперсійному середовищі електрокінетичні ефекти матимуть місце під час перебігу згаданих вище магнітоелектрохімічних процесів у неоднорідних магнітних полях.

Зокрема, внаслідок викликаного дією градієнтної магнітної сили руху кластерів в електроліті у бік до області з найбільшою напруженістю магнітного поля відбуватиметься деформація дифузійного шару подвійного електричного шару кластера, результатом якої є перерозподіл



концентрації протиіонів із передньої, відносно до напрямку руху частинок, до хвостової частини. Виникає, як і у випадку седиментаційного потенціалу [375], потік заряджених частинок, які в результаті молекулярного тертя відстають від рухомої кластерної компоненти електроліту. Безперечно, у такій системі за достатньо високого відносного вмісту кластерів у електроліті може виникати й седиментаційний потенціал, і, зокрема, це може мати місце на етапі руйнування квазірівноважного гетерогенного стану електроліту [354], коли спостерігаються сильна деформація та подальше руйнування фаз розчину із різними магнітними сприйнятливостями речовини.

Надалі ми обмежимося розглядом принципово нового потенціалу, пов'язаного з дією сил неоднорідного магнітостатичного поля, у якому знаходиться відповідна система і проходять електрохімічні реакції (домовимось називати такий потенціал колоїдним градієнтним магнітним потенціалом (CGMP)). Понад те, пов'язані з CGMP ефекти можуть виникати і за певних умов мати вагоме значення вже на початкових стадіях згаданих вище електрохімічних процесів, коли лише починають формуватися кластери залізовмісних іонів і їхня відносна доля у розчині ще є незначною.

Відомо, що коли тверда сферична частинка з радіусом  $a$  та розподіленім по її поверхні зарядом  $q_s$  «повідльно» (це явище характерне для ламінарного або ж близького до нього потоку частинок) рухається в ізолюючій рідині із динамічною в'язкістю  $\eta$  під дією електричного поля, то її динамічна рухливість  $\mu$  визначається на основі виразу:

$$\mu = \frac{2q_s a}{3\eta} \quad (3.7)$$

Якщо ж частинка є рідкою дисперсною фазою або її форма відмінна від сферичної, то вираз (3.7) буде дещо відрізнятися за величиною числового коефіцієнта [368]. Водночас, формулу (3.7) не можна застосувати до частинки, що знаходиться в електроліті. Це пов'язано, передусім, із наявністю у ній подвійного електричного шару та відповідними особливостями руху. У найпростішому випадку, коли припускається, що товщина подвійного шару є малою порівняно з розмірами частинки, її рухливість визначається на основі рівняння Гельмгольца–Смолуховського [368]:

$$\mu = \frac{\varepsilon \zeta}{4\pi\eta} \quad (3.8)$$

де:  $\varepsilon$  – діелектрична проникність середовища;  $\zeta$  – дзета-потенціал.

Зауважимо при цьому, що формула (3.8) не враховує порушення симетрії дифузного шару навколо частинки при вільному русі фаз у протилежних напрямках (релаксаційний ефект) [368], у результаті чого

виникає внутрішнє дипольне електричне поле, яке й призводить до зменшення  $\zeta$ -потенціалу. Крім того, у разі, коли товщина дифузного шару значно перевищує розміри частинок, потік протиіонів, що рухається у протилежному до переміщення дисперсної фази напрямку, також чинить опір (електрофоретичне гальмування). Цей факт можна врахувати множником  $2/3$  у формулі (3.8) [382]. Таким чином, електрофоретична рухливість може суттєво залежати не тільки від величини дзета-потенціалу, а й від розмірів й форми частинок та товщини дифузного подвійного шару  $1/\kappa$ :

$$\mu = \frac{\varepsilon\zeta}{4\pi\eta} f(\kappa a), \quad (3.9)$$

де:  $\kappa$  – параметр Дебая–Хюккеля;  $f(\kappa a)$  – функція Генрі [383], яка на сьогодні для частинок кулястої форми найбільш точно, згідно зі стандартною електрокінетичною моделлю, задається у такому вигляді [384]:

$$f(\kappa a) = \frac{2}{3} \left[ 1 + \frac{1}{2(1+5/\sqrt{2\kappa a(1+2\exp(-\kappa a))})} - \left( \frac{e\zeta}{k_b T} \right)^2 \left[ \frac{\kappa a(\kappa a + 1.3\exp(-0.18\kappa a) + 2.5)}{2(\kappa a + 1.2\exp(-7.4\kappa a) + 4.8)^3} + \left( \frac{m_+ + m_-}{2} \right) \frac{9\kappa a(\kappa a + 5.2\exp(-3.9\kappa a) + 5.6)}{8(\kappa a - 1.55\exp(-0.32\kappa a) + 6.02)^3} \right] \right], \quad (3.10)$$

де  $m_+$  та  $m_-$  позначають величини, обернені зведеним рухливостям, відповідно, катіонів та аніонів, причому в граничному випадку із  $\kappa a \ll 1$  ( $\kappa a = 1$ ?) отримується формула Гельмгольца–Смолуховського (3.8).

Існують й інші уточнення для рухливості (3.8), що враховують поверхневу та конвективну електропровідності подвійного шару та кореляцію форм частинки та подвійного шару [382–384]. Для моделювання якісних та кількісних показників поведінки кластерних компонент електроліту під час електрохімічних процесів, що відбуваються у неоднорідних магнітних полях без прикладання зовнішніх електричних полів, ми, не порушуючи загальності підходу, будемо користуватися виразом (3.8) для динамічної рухливості нано- та/або мікророзмірних частинок у розчинах.

Попри значну кількість експериментальних та теоретичних робіт із дослідження процесів магнітоелектролізу [376–381], в них не розглядається внесок електрокінетичних ефектів у загальну динаміку згаданих вище електрохімічних процесів, що відбуваються у

неоднорідних магнітних полях без пропускання зовнішнього електричного струму через електроліт. Це передусім пов'язано з розглядом впливу градієнтної магнітної сили лише на парамагнітні та діамагнітні іони в електроліті. У рамках же моделі, що розвивається в роботах [354, 385], можна побудувати принципово новий підхід до моделювання електрохімічних процесів у неоднорідних магнітних полях завдяки врахуванню електрокінетичних властивостей кластерних компонент електроліту. Цей підхід ґрунтується на встановленні зв'язку між електрофоретичними особливостями руху кластерів у розчинах із впливом на ці останні градієнтної магнітної сили.

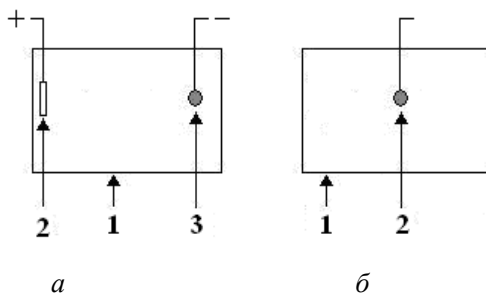
Як випливає з вищезазначеного аналізу, функціональні властивості нанокластерів іонів (вищезазначених магніонів) у водних розчинах яскраво проявляються при біо- та електрохімічних процесах у неоднорідному магнітному полі. Саме дія цього поля на магніони (а не на окремі іони або ж молекули) зумовлює цілу низку магнітофоретичних (магнітна сепарація і концентрування магніонів), електрокінетичних (генерування електрокінетичного потенціалу при русі магніонів) і гідродинамічних (магнітогідродинамічне перемішування електролітів) ефектів, причому як у модельних експериментах із магнітоелектролізу, так і, ймовірно, при біохімічних реакціях у клітинах живих організмів, які містять БМН, а саме природні нанорозмірні постійні магніти.

Саме тому у цьому розділі об'єднано дослідження апробації наявних на сьогодні теоретичних моделей впливу неоднорідного магнітного поля на електрохімічні реакції, що супроводжуються утворенням магніонів і фазовими переходами до гетерогенного стану електроліту, на модельних експериментах із застосуванням намагніченої сталеві кулі як джерела неоднорідного магнітного поля приблизно дипольного типу – з подальшим оцінюванням можливих аналогічних ефектів у неоднорідних магнітостатичних полях розсіювання в околі БМН у клітинах живих організмів.

### **3.5.5. Властивості нанокластерів (магніонів) у водних розчинах при електрохімічних процесах у неоднорідному магнітному полі**

*Електролітична комірка* – це ємність з електролітом (електролітами), обладнана електродами, в якій реалізуються електрохімічні реакції [377]. Як самостійний прилад вона використовується головним чином у лабораторних умовах при вивченні електродних процесів, проведенні електроаналітичних вимірювань, отриманні та очищенні речовин електролізом, розділенні білків і ДНК

тощо. Конструкції електролітичних комірок надзвичайно різноманітні. Так, у роботі [386] електролітична комірка – це кювета, склеєна з листового акрилу з габаритами 42x25x40 мм. Зокрема, для випадку електроосадження Ni (рис. 3.15, *a*) в комірці 1 поблизу її протилежних бокових сторін встановлювали анод 2 і катод 3, відстань між якими становила 35·мм. Анодом слугувала нікелева пластина розмірами 10x23x0,4 мм, а як катод – поверхню для електроосадження – використовували феромагнітний дріт діаметром 0,23·мм з областю осадження із довжиною 19·мм. Дріт було виготовлено зі сталі марки «Ст3пс» (ГОСТ 380-2005), хімічний склад якої наведено в табл. 3.20.



**Рис. 3.15.** Схематичне зображення електрохімічної комірки при електроосадженні Ni (*a*) і корозії (*б*)

**Таблиця 3.20.** Хімічний склад сталі марки «Ст3пс» (ГОСТ 380-2005)

C	Si	Mn	Ni	S	P	Cr	Cu
0,14–0,22%	0,15–0,30%	0,4–0,65%	≤0,30%	≤0,050%	≤0,040%	≤0,30%	≤0,30%

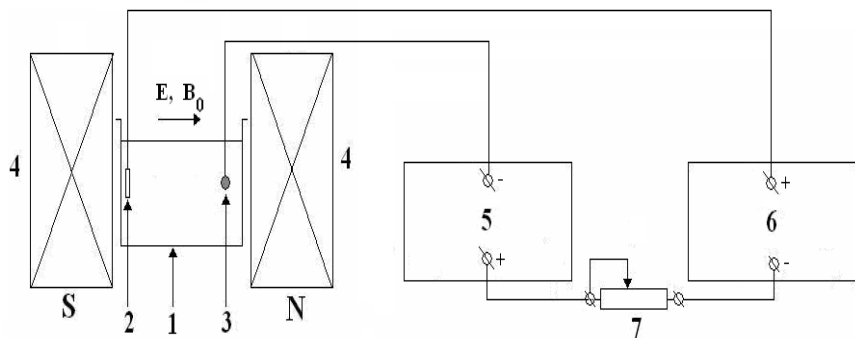
В експериментах із дослідження корозії в комірці (1) (рис. 3.15, *б*) розташовували феромагнітний циліндр (2) діаметром 0,55 мм і довжиною 20 мм. Циліндр був виготовлений зі сталі марки «У10А» (ГОСТ 1435-99), хімічний склад якої наведено в табл. 3.21.

**Таблиця 3.21.** Хімічний склад сталі У10А (ГОСТ 1435-99)

C, %	Si, %	Mn, %	Ni, %	S, %	P, %	Cr, %	Cu, %
0,95–1,09	0,17–0,33	0,17–0,28	≤0,2	≤0,018	≤0,025	≤0,2	≤0,2

Також у роботі [386] для проведення досліджень з електроосадження Ni використовували експериментальну установку, блок-схему якої наведено на рис. 3.16. Установка складалася з електролітичної комірки 1 з

електродами 2, 3. Постійне зовнішнє магнітне поле з індукцією  $B_0$  у діапазоні 0–7000 Гс створювалося магнітною системою 4. Струм між анодом 2 і катодом 3 подавали з використанням джерела живлення постійного струму «Б5-47» (5). Вимірювання величини струму проводили універсальним вимірювальним приладом «Ц434» (6), а потенціометром 7 здійснювали регулювання величини струму.



1 – електролітична комірка з електролітом; 2 – анод; 3 – катод; 4 – магнітна система; 5 – джерело живлення постійного струму «Б5-47»; 6 – універсальний вимірювальний прилад «Ц434»; 7 – потенціометр

**Рис. 3.16.** Блок-схема експериментальної установки

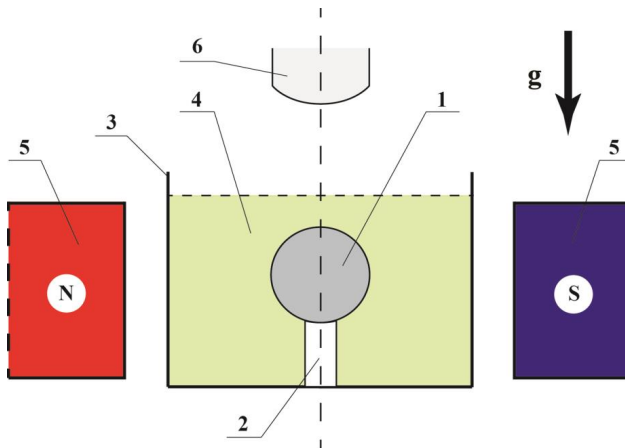
Одним із найпростіших, із технічного погляду, методів спостереження за нанорозмірними частинками є відкритий ще у 1859 р. ефект Тіндаля. Цей ефект може спостерігатись у вигляді світлого конуса на темному тлі при розгляданні дисперсної системи під певним кутом (зазвичай це  $90^\circ$ ) до напрямку проходження через неї сфокусованого пучка світла. Ефект Тіндаля виникає при розсіюванні світлового променя на завислих частинках, розміри яких перевищують розміри атомів в десятки разів. При збільшенні частинок суспензії до розмірів порядку  $1/20$  довжини світлових хвиль (приблизно 25 нм і вище – залежно від довжини хвилі світла, що розсіюється), розсіювання стає поліхромним, а, отже, світло починає розсіюватися рівномірно по всьому видимому діапазону кольорів (від фіолетового до червоного). У такому разі ефект Тіндаля не проявляється: тобто якщо розміри частинок більші, ніж довжина хвилі світла, яка розсіюється ( $10^{-1}$ – $10^{-4}$  см), то частинки відбивають світло і такі системи є каламутними (непрозорими). Якщо ж промінь світла проходить крізь середовище, в якому містяться дуже дрібні частинки (молекули та іони ( $10^{-8}$  см)), то він не зазнає розсіювання і такі розчини є прозорими. Цей ефект, зокрема, дозволяє пояснити, чому густий туман або купчасті хмари здаються нам білими – вони складаються з

щільної суспензії водяного пилу з діаметром частинок від мікронів до міліметрів, а це значно вище порога розсіювання за Тіндалем. Інтенсивність розсіяного світла  $I$  при ефекті Тіндаля є прямо пропорційною концентрації частинок  $\nu$ , на яких відбувається розсіяння, у системі та їх об'єму  $V$  і залежить від величини довжини світла  $\lambda$ , що розсіюється [386]:

$$I = 24\pi^3 I_0 \left( \frac{n^2 - n_0^2}{n^2 + 2n_0^2} \right)^2 \frac{\nu V^2}{\lambda^4} \quad (3.11)$$

де  $I_0$  – інтенсивність падаючого світла,  $n$  та  $n_0$  – показники заломлення дисперсної фази та дисперсійного середовища відповідно.

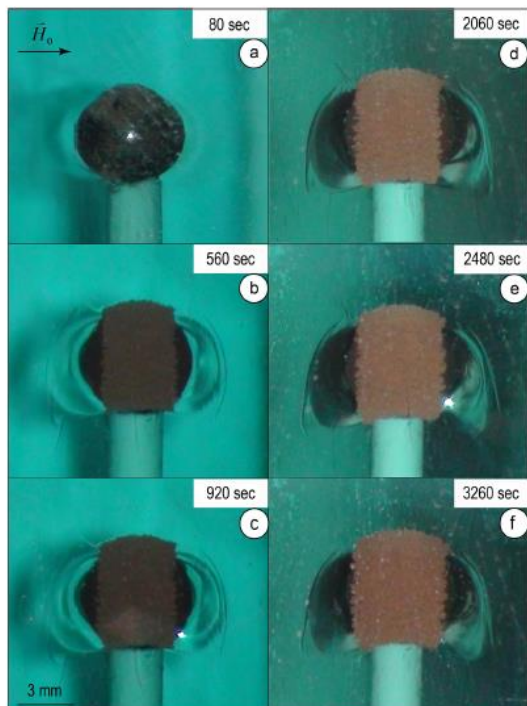
Описаний вище ефект було використано для перевірки наявності нанорозмірних кластерів у розчині  $\text{CuSO}_4$ . У роботах [344, 354] експерименти і спостереження за областями з підвищеною концентрацією іонів заліза при орієнтації магнітного поля у горизонтальному напрямі проводили на установці, схему якої представлено на рис. 3.17.



**Рис. 3.17.** Схема експериментальної установки (магнітне поле прикладене у горизонтальному напрямку перпендикулярно до напруженості гравітаційного поля Землі  $\vec{g}$ )

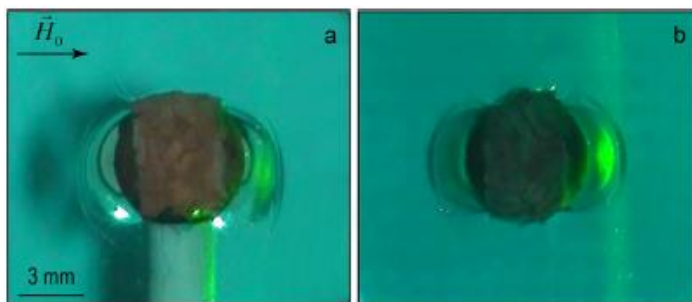
У дослідженнях, проведених у рамках роботи [387], сталеву кулю  $I$  закріплювали на діелектричному утримувачі 2 в центрі скляної кювети 3 і вміщували в магнітну систему 5. Зовнішнє магнітне поле спрямовували горизонтально. Кювету заповнювали розчином  $\text{CuSO}_4$ , в який додавали насичений хімічний індикатор  $K_3[Fe(CN)_6]$  (4) і через оптичний мікроскоп 6 вели спостереження за процесом травлення. На початковому етапі

електрохімічної реакції осадження міді на поверхні сталевій кулі ефект Тіндалля не спостерігався, а це свідчить про те, що на початковій стадії у системі існує незначна кількість кластерів (вони лише починають формуватися). Протягом порядку  $10^3$  с після початку процесу осадження поблизу магнітних полюсів спостерігалось формування ділянок із підвищеним вмістом продуктів електрохімічних перетворень (рис. 3.18).



**Рис. 3.18.** Формування ділянок із підвищеною концентрацією іонів заліза поблизу магнітних полюсів кіля та анізотропне осідання міді у області магнітного екватора під час її осадження з розчину  $\text{CuSO}_4$  [387]

На етапі ж формування магніонів при пропусканні лазерного променя крізь електроліт спостерігався чіткий слід у межах фази, «насиченої» іонами заліза – це й є ефект Тіндалля, який свідчить про те, що в об'ємі електроліту поблизу магнітних полюсів локалізуються нанорозмірні кластери, які містять у своєму складі, зокрема, іони заліза. Блідий же слід лазерного променя поза межами приполюсної області засвідчує, що незначна частина таких кластерів за рахунок, наприклад, конвективних потоків виходить поза межі області магнітного притягання (рис. 3.19).

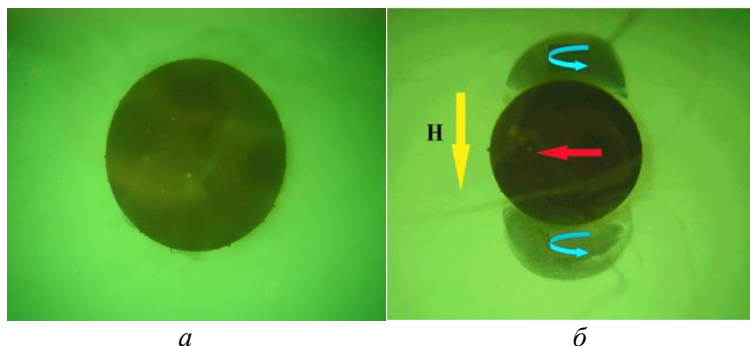


промінь лазера спрямовано: вертикально (а); горизонтально (б)

**Рис. 3.19.** Спостереження ефекту Тіндаля у розчині  $\text{CuSO}_4$  на етапі формування квазірівноважного гетерогенного стану електроліту [387]

Подальше спостереження, з використанням ефекту Тіндаля, за динамікою електрохімічних процесів, що відбуваються в описаній вище системі, показує, що з часом внаслідок дифузійних процесів та конвективних потоків рідини, а також дії сили земного тяжіння залізовмісні кластери виходять поза межі приполюсних областей, де вони концентрувалися до того, і поширюються по усьому об'єму електроліту.

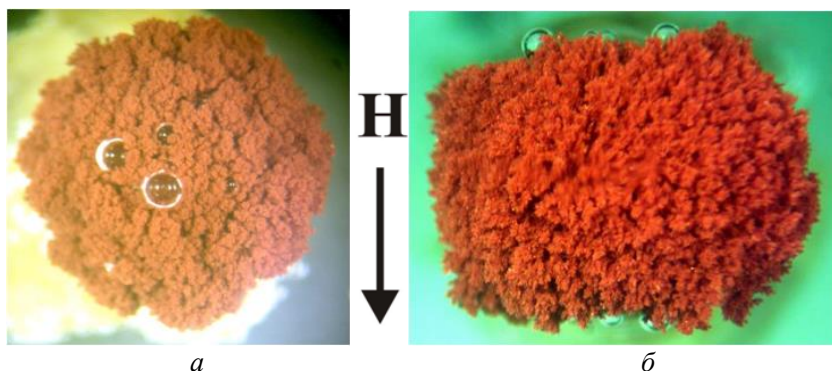
Таким чином, градієнтні магнітні поля біогенних магнітних наночастинок та пов'язані з ними магнітохімічні ефекти можуть бути додатковими немеханічними чинниками, що впливають на процеси транспортування та дифузії й електричні потенціали в клітині. Типову ілюстрацію результатів модельних експериментів [354] із вивчення впливу неоднорідного магнітного поля намагніченої сталеві кулі на електрохімічні перетворення на міжфазній поверхні з електролітом представлено на рис. 3.20–3.24.



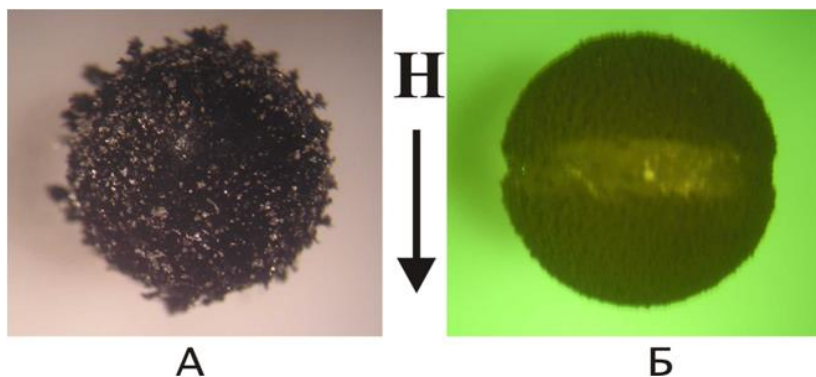
**Рис. 3.20.** Оптичні зображення сталеві кулі в електроліті (водному розчині  $\text{CuSO}_4$ )



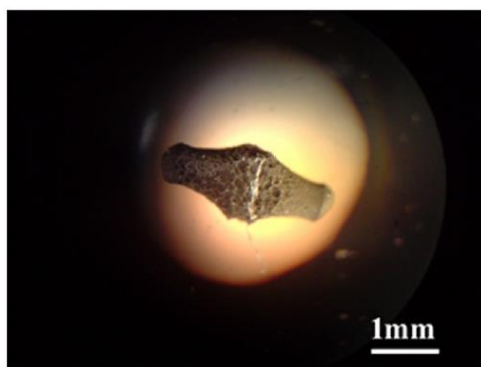
В процесі осадження міді, з додаванням хімічних індикаторів, на іони  $\text{Fe}^{+2}$ ; праворуч (*б*) процес осадження міді на поверхню сталеві кулі відбувається в зовнішньому магнітному полі, прикладеному в напрямку вертикальної стрілки; формування гетерогенного стану електроліту візуалізовано, із застосуванням хімічних індикаторів, на іони  $\text{Fe}^{+2}$ : дві ділянки з підвищеною концентрацією цих іонів утворюються в неоднорідному магнітному полі намагніченої сталеві кулі; весь розчин  $\text{CuSO}_4$  обертається навколо напрямку зовнішнього магнітного поля так, як показано на (*б*) горизонтальними стрілками; ліворуч (*а*) для порівняння представлено процес осадження міді на поверхню сталеві кулі без прикладання зовнішнього магнітного поля за всіх інших однакових умов експерименту (без такого прикладання гетерогенний стан електроліту не формується і не відбувається його обертання)



**Рис. 3.21.** Оптичні зображення осаду міді на поверхні сталеві кулі з електроліту (водного розчину  $\text{CuSO}_4$ ); праворуч (*б*) процес осадження міді на поверхню сталеві кулі, який відбувався в зовнішньому магнітному полі, прикладеному в напрямку вертикальної стрілки (осад міді має виражену анізотропію відносно до напрямку зовнішнього магнітного поля); ліворуч (*а*) для порівняння представлено осад міді за умов, коли процес осадження міді на поверхню сталеві кулі відбувається без прикладання зовнішнього магнітного поля за всіх інших однакових умов експерименту (без такого прикладання осад міді має сферично-симетричну форму)



**Рис. 3.22.** Оптичні зображення осадів металів на цинковану поверхню сталеві кулі з електроліту (водного розчину  $\text{AgNO}_3$  (*ліворуч*) та  $\text{CuSO}_4$  (*праворуч*); в обох випадках процес осадження металу відбувався в зовнішньому магнітному полі, прикладеному в напрямку вертикальної стрілки; анізотропія отриманого осаду залежить від магнітної сприйнятливості іонів металу, який осаджується; осад міді (*праворуч*) має виражену анізотропію відносно до напрямку зовнішнього магнітного поля, причому іони  $\text{Cu}^{+2}$  є парамагнітними; *ліворуч* для порівняння представлено осад срібла, який має сферично-симетричну форму, причому іони  $\text{Ag}^+$  є діамагнітними



**Рис. 3.23.** Оптичне зображення фігури травлення сталеві кулі у водному розчині азотної кислоти (процес травлення відбувався в зовнішньому магнітному полі); спостерігається анізотропія отриманої фігури травлення з явним видовженням вздовж напрямку зовнішнього магнітного поля; фігура травлення сталеві кулі без прикладення магнітного поля має сферично-симетричну форму



**Рис. 3.24.** Оптичні зображення фігур травлення сталеві кулі у водному розчині азотної кислоти: *ліворуч (а)* – процес травлення відбувався в зовнішньому магнітному полі; *праворуч (б)* – без прикладення магнітного поля; спостерігається анізотропія отриманої фігури травлення з явним видовженням вздовж напрямку зовнішнього магнітного поля. Фігура травлення сталеві кулі без прикладення магнітного поля має в цілому сферично-симетричну форму з незначним її викривленням в місці прикріплення до тримача

Стосовно градієнтної магнітної сили, то вона в декілька разів більша в околі БМН, ніж в околі намагнічених куль в описаних вище модельних експериментах, оскільки розмір БМН є на 4–5 порядків величини меншим за розміри мезомасштабних зразків.

У зв'язку з вищенаведеним, біогенні магнітні наночастинки можуть бути внутрішньоклітинними магнітними наномашинами для управління транспортними процесами та біохімічними реакціями за наявності парамагнітних або ж ефективно парамагнітних реагентів і продуктів біохімічних реакцій кластерного типу.

Отже, можливі механізми впливу намагнічених частинок на процеси транспортування і відповідні хімічні реакції в клітинах можна окреслити у той спосіб, що намагнічені частинки створюють градієнтні магнітні поля, а, в свою чергу, градієнтні магнітні сили викликають такі ефекти, як:

- сепарація реагентів і продуктів реакції кластерного типу з різною магнітною сприйнятливістю (як це проілюстровано на рис. 3.20–3.24);
- анізотропія швидкості хімічних реакцій (див. рис. 3.21–3.24);
- формування гетерогенного стану спочатку однорідного середовища (рис. 3.20);
- зміна швидкостей хімічних реакцій, яка спостерігається практично в усіх модельних експериментах при порівнянні перебігу

електрохімічних перетворень при прикладанні і без прикладання зовнішнього магнітного поля;

- зміна дифузійного механізму масопереносу на магнітогідродинамічну конвекцію (наприклад, відповідного магнітогідродинамічного ефекту обертання електроліту навколо напрямку магнітного поля, як це представлено на рис. 3.20);
- виникнення різниці між електричними потенціалами внаслідок неоднорідності концентрацій розчинів на поверхнях намагнічених частинок (ілюстрацією може слугувати обертання електроліту навколо напрямку зовнішнього магнітного поля, що є виявом дії сили Лоренца на струми в електроліті, які проходять із магнітного «полюса» до «екватора» кулі; в електрохімії це типовий приклад «магнітоіндукованого» концентраційного кола: див. рис. 3.20).

### **3.6. Перспективи використання природних феримагнітних властивостей мікроорганізмів та феримагнітних властивостей різних типів онкологічних клітин у терапії та діагностиці онкологічних захворювань**

На сьогодні у галузях медицини та застосування біотехнологій широко використовуються магніточутливі носії та нанокompозити [388] і магнітокеровані вектори: бактеріальні, вірусні, ліпосомальні та інші магнітомічені біооб'єкти, що використовуються для цільової доставки лікарських препаратів до органа-мішені. Адже, як вже зазначалося, терапія при використанні магнітокерованих носіїв для транспортування лікарських препаратів здійснюється в локалізованій ділянці організму, причому загальна доза препарату може бути мінімальною, а зовнішнє статичне магнітне поле впливає на рух магнітокерованих носіїв і запобігає їх вимиванню з органа-мішені – що пов'язано з необхідністю мінімізації небажаних токсико-алергічних ефектів.

Значний науковий інтерес мають і дослідження з магнітокерованої доставки лікарських препаратів, інкапсульованих у біосумісне середовище разом зі штучними магнітними наночастинками. Так, у випадку магнітокерованих ліпосом наночастинки використовуються для забезпечення магнітодипольної взаємодії БМН ліпосом та клітин органа-мішені (наприклад, пухлини) [389, 390]. Ці останні уможливають, завдяки використанню зовнішнього магнітного поля, дистанційне концентрування магнітних носіїв у локальних біологічних структурах при створенні векторних систем доставки ліків до пухлинних клітин [391].

З моменту ж виявлення БМН у складі клітин різних мікроорганізмів та типів пухлин виникли необхідні до вирішення такі задачі:

- виявлення та використання мікроорганізмів із природними магнітними властивостями при цілеспрямованій доставці лікарських препаратів до пухлин, які також синтезують магнітні наночастинки природного походження;
- виявлення біомінералізації БМН при різних онкологічних захворюваннях (зادля забезпечення цілеспрямованої доставки лікарських препаратів до таких пухлин);
- розрахунок сил магнітодипольної взаємодії між БМН мікроорганізмів та пухлинних клітин;
- визначення локалізацій та морфології БМН і штучних магнітних наночастинок у складі біооб'єктів (мікроорганізмів, пухлинних клітин) завдяки використанню магнітної силової мікроскопії та інших відповідних методів.

### **3.6.1. Виявлення та використання мікроорганізмів при цілеспрямованій доставці до пухлин лікарських препаратів, які містять магнітні наночастинки природного походження**

Як вже зазначалося, пухлинні клітини можуть містити біогенні магнітні наночастинки [38, 70, 252]. Так, підвищений рівень наночастинок магнетиту спостерігається при канцерогенезі молочної залози, яєчників та яєчок, а також меланомі, менінгіомі, гліобластомі, астроцитомі, гліомі, карциномі Ерліха та метастазуванні пухлин [38]. З іншого боку, в роботі [392] показано, що низка таких симбіонтів людини, як *Bifidobacterium breve*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum* тощо, накопичуються в злоякісних пухлинах [44]. При цьому такі бактерії володіють певними функціями, і зокрема рухливістю й здатністю одночасно експресувати кілька терапевтичних білків та знищуватися антибіотиками. Таким чином, бактеріальне лікування відкриває нові перспективні стратегії в лікуванні раку [393]. Зокрема, біфідобактерії, кишкові палички та інші мікроорганізми-симбіонти людини можуть бути модифіковані у той спосіб, щоб виробляти в пухлині речовини, що знищують пухлинні клітини. Так, у роботах [394–396] показано, що низка мікроорганізмів при потраплянні в організм людини накопичуються тільки в пухлинних тканинах. Експериментально показано, що мікроорганізми з анаеробним типом метаболізму (представники родів *Clostridium*, *Bacillus*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Listeria* та ін.) при їх внутрішньовенному введенні здатні накопичуватися та проліферувати не у нормальних тканинах, а в гіпоксичних ділянках пухлин мишей [393, 395, 396]. Це стосується й таких бактерій симбіонтів людини, як *Bifidobacterium breve* та *Escherichia coli*

тощо, які при потраплянні в організм накопичуються в злякисних пухлинах [392].

Здатність деяких видів бактерій та їхніх спор селективно акумулюватися в оточенні пухлин може бути використана для цілеспрямованої доставки протипухлинних препаратів, терапевтичних генів та білків у пухлинні клітини, а також ферментів для онколітичної та імунoad'ювантної терапії [395, 396]. Існує низка гіпотез про механізми, за рахунок яких відбувається накопичення бактерій анаеробів у мікрооточенні пухлини, проте ці механізми досі залишаються повністю нез'ясованими. Зокрема, протипухлинний ефект бактерій автори роботи [397] частково пояснюють так: бактерії виділяють гідролітичні ферменти, і в т.ч. протеазні ліпази (які руйнують сусідні пухлинні клітини, що страждають від гіпоксії), щоб запастися киснем ззовні пухлини. Автори цієї роботи відзначають також імунопосередкований ефект при використанні *Clostridium novyi*, в результаті якого бактерії генерують імунну відповідь до пухлинних клітин. Так, результати досліджень, проведених у роботі [397], чітко показують, що бактерія *Clostridium novyi* виконує функції ад'юванта і значною мірою відповідальна за тривалу системну імунну відповідь специфічних пухлинних клітин.

На сьогодні як потенційні протипухлинні засоби використовують живі, ослаблені умовно-патогенні та патогенні мікроорганізми або ж генетично модифіковані непатогенні бактерії, що застосовуються для надання прямого протипухлинного ефекту чи доставки лікарської форми до пухлинної клітини [394, 397]. З урахуванням того, що певні штами анаеробних симбіонтів людини, і зокрема такі, як *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* та *Lactobacillus fermentum*, містять внутрішньоклітинні БМН у клітинах [274], а також що у пухлинних клітинах міститься на порядок більше наночастинок магнетиту, ніж у здорових [38], у роботі [389] показано, що сила магнітодипольної взаємодії магнітокерованої лікарської форми з пухлинними клітинами значно більша, ніж зі здоровими, і може фактично розглядатися як додаткова сила специфічного зв'язування. При цьому сила магнітодипольної взаємодії, що виникає між ендогенними частинками магнетиту пухлинних клітин та БМН анаеробних бактерій, має порядок величин, близький до сил специфічного зв'язування антиген–антитіло, а тому її важливо враховувати та використовувати при проектуванні систем для доставки лікарських форм [389].

Сили взаємодії між такими біологічними молекулами, як антигени і антитіла, відіграють важливу роль у багатьох біологічних процесах [38]. Як правило, пухлинні тканини мають поверхневі антигени, що відрізняються від антигенів нормальних однотипових клітин, а тому

магнітокеровані носії ліків, які функціоналізовані антитілами проти таких антигенів, зв'язуються з пухлинними клітинами і не зв'язуються з нормальними. Крім того, кон'югована з антитілами поверхня бактерій дає змогу досягати десятикратного підвищення їх афінності до пухлинних клітин. Водночас, процес функціоналізації магнітокерованих носіїв антитілами проти антигенів пухлин є складною і дороговартісною технологією.

Виходячи з цього, у роботах [389, 398] розраховано сили взаємодії магнітних наночастинок пухлинних клітин з екзогенними магнітними наночастинами у складі магнітокерованих носіїв (магнітоліпосом і мікроорганізмів із природними феримагнітними властивостями) та показано перспективність використання таких мікроорганізмів (бактеріальних симбіонтів, умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів), що дозволить комбінувати діагностику і лікування, інкапсулюючи контрастні агенти для магнітно-резонансної томографії (МРТ) разом із ліками, застосовуючи саме ті, які біомінералізують біогенні магнітні наночастинок і забезпечують магнітну взаємодію з пухлинами.

В перспективі застосування для лікування пухлин тих мікроорганізмів, які мають природні феримагнітні властивості, дозволить медикам обирати найоптимальніші методи видалення злоякісних утворень і зменшити шкоду для організму, спричинявану застосуванням традиційних методик лікування раку.

В цьому аспекті актуальною задачею є виявлення (теоретично методами біоінформатики) серед патогенних, умовно-патогенних та симбіотичних мікроорганізмів людини потенційних продуцентів БМН.

### **3.6.2. Потенційні продуценти БМН серед патогенних, умовно-патогенних та симбіотичних мікроорганізмів людини**

На сьогодні широкий спектр мікроорганізмів – патогенних, умовно-патогенних та бактеріальних симбіонтів людини – використовуються як вектори для цільової доставки лікарських препаратів до органа-мішені [393, 394, 397].

У зв'язку з цим, зокрема, в роботах [277, 278] із метою виявлення нових потенційних продуцентів БМН, які мають природні феримагнітні властивості, для вивчення їх з точки зору можливості застосування в якості векторів із доставки лікарських препаратів здійснено вирівнювання послідовностей амінокислотних залишків білків біомінералізації БМН магнітотаксисної бактерії *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 та білків цих мікроорганізмів. Для підтвердження їх гомології застосовано

стандартні методи оцінки статистичної значущості відповідних вирівнювань та проведено порівняння відомих функцій таких білків МО МТБ, як *MamA*, *MamB*, *MamM*, *MamE* і *MamO*, з відомими функціями вирівняних із ними білків патогенних, умовно-патогенних та бактеріальних симбіонтів людини. У біоінформаційному аналізі процесу біомінералізації БМН використано дані з бази даних *NCBI* про повні геноми таких мікроорганізмів, як: бактерії, що викликають гнійно-запальні процеси (табл. 3.22); патогенні та умовно-патогенні (табл. 3.23) й бактеріальні (табл. 3.24) симбіонти людини.

**Таблиця 3.22.** Порівняння білків МО МТБ *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 та білків факультативно-анаеробних мікроорганізмів, що спричинюють гнійно-запальні процеси

Штам мікроорганізмів	<i>E</i> -число ( <i>I</i> , %)					
	Білки <i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i> MSR-1					
	<i>MamA</i>	<i>MamB</i>	<i>MamM</i>	<i>MamO</i>	<i>MamE</i>	<i>MamK</i>
<b><i>Escherichia coli</i> (541-15)</b>	3e-06 (25%)	1e-37 (31%)	1e-25 (28%)	9e-11 (29%)	3e-36 (39%)	2e-04 (25%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 342	5e-04 (34%)	6e-39 (32%)	7e-32 (30%)	4e-13 (29%)	1e-34 (41%)	0.006 (30%)
<i>Clostridium perfringens</i> str. 13	2e-06 (24%)	1e-19 (28%)	9e-17 (27%)	7e-10 (26%)	5e-32 (43%)	7e-13 (28%)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4e-05 (22%)	1e-10 (24%)	3e-16 (27%)	3e-10 (29%)	2e-32 (37%)	0,002 (24%)
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i> M18</b>	0,037 (32%)	1e-11 (23%)	2e-10 (25%)	1e-07 (24%)	6e-34 (40%)	2e-04 (24%)
<b><i>Streptococcus suis</i> BM407</b>	0,61 (29%)	4e-23 (27%)	3e-23 (26%)	4e-04 (23%)	1e-20 (39%)	0,33 (24%)
<b><i>Staphylococcus aureus</i> RF122</b>	0,19 (27%)	7e-22 (24%)	5e-27 (30%)	1e-09 (28%)	4e-12 (29%)	0,27 (28%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> RYC492	0,002 (23%)	5e-18 (27%)	3e-13 (25%)	1e-13 (29%)	3e-35 (44%)	3e-06 (25%)
<i>Enterobacter aerogenes</i> KCTC 2190	0,003 (34%)	1e-17 (28%)	5e-31 (31%)	1e-13 (29%)	4e-35 (40%)	0,009 (29%)

\*Жирним шрифтом виділено мікроорганізми, в яких вже експериментально виявлено БМН. Підкреслено ризикою мікроорганізми, що вже використовуються як вектори для доставки лікарських препаратів до пухлин



**Таблиця 3.23.** Порівняння білків МО МТБ *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 та білків патогенних і умовно патогенних мікроорганізмів

Штам мікроорганізмів	E-число (I, %)					
	Білки <i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i> MSR-1					
	<i>MamA</i>	<i>MamB</i>	<i>MamM</i>	<i>MamK</i>	<i>MamO</i>	<i>MamE</i>
<i>Clostridium perfringens</i> SM101	2e-05 (24%)	1e-33 (27%)	9e-31 (28%)	3e-14 (28%)	4e-31 (37%)	4e-10 (25%)
<i>Vibrio cholerae</i> O1	1e-05 (26%)	6e-17 (25%)	8e-14 (23%)	0,001 (24%)	2e-37 (46%)	5e-11 (28%)
<i>Vibrio cholerae</i> LMA3984-4	2e-06 (26%)	3e-16 (24%)	1e-14 (22%)	6e-04 (24%)	2e-22 (39%)	3e-05 (28%)
<i>Listeria monocytogenes</i> serotype 4b str. F2365	1e-06 (23%)	5e-31 (28%)	2e-30 (32%)	4e-13 (27%)	4e-21 (39%)	5e-05 (32%)
<i>Serratia marcescens</i> WW4	2e-04 (27%)	4e-22 (30%)	8e-15 (25%)	8e-06 (25%)	6e-36 (41%)	1e-09 (27%)
<i>Serratia marcescens</i> FGI94	3e-05 (36%)	5e-19 (25%)	4e-16 (25%)	4e-05 (25%)	4e-36 (39%)	5e-13 (28%)
<i>Clostridium novyi</i> NT	9e-05 (23%)	4e-36 (27%)	9e-29 (31%)	2e-14 (28%)	3e-30 (38%)	2e-08 (27%)
<i>Clostridium acetobutylicum</i> ATCC 824	2e-10 (31%)	2e-31 (24%)	2e-28 (24%)	8e-14 (26%)	4e-32 (46%)	4e-09 (27%)
<i>Streptococcus pyogenes</i> NZ131	0,46 (28%)	1e-21 (23%)	1e-23 (25%)	0,65 (24%)	2e-26 (25%)	3e-04 (24%)
<i>Escherichia coli</i> MS69-1	0,001 (25%)	7e-18 (28%)	2e-13 (23%)	7e-06 (25%)	1e-36 (39%)	2e-12 (29%)
<i>Clostridium sporogenes</i> PA 3679	0,004 (28%)	2e-42 (28%)	5e-39 (31%)	1e-15 (28%)	3e-22 (42%)	2e-05 (26%)
<i>Salmonella enterica</i> subsp. entericaserovartyphimurium str. LT2	0,007 (34%)	5e-19 (28%)	1e-14 (23%)	8e-06 (25%)	3e-34 (44%)	1e-12 (29%)
<i>Mycobacterium bovis</i> BCG str. Korea 1168P	0,56 (34%)	6e-27 (28%)	6e-15 (27%)	0,37 (24%)	1e-28 (43%)	9e-10 (26%)

\* Жирним шрифтом виділено мікроорганізми, в яких вже експериментально виявлено БМН. Підкреслено ризикою мікроорганізми, що вже використовуються як вектори для доставки лікарських препаратів до пухлин

**Таблиця 3.24.** Порівняння білків МО МТБ *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 та білків бактеріальних симбіонтів людини

Штам мікроорганізмів	Е-число (I, %)					
	Білки <i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i> MSR-1					
	<i>MamA</i>	<i>MamB</i>	<i>MamM</i>	<i>MamO</i>	<i>MamE</i>	<i>MamK</i>
<b><i>Lactobacillus fermentum</i></b> <b>(IFO 3956)</b>	6e-04 28%	2e-05 25%	6e-10 27%	1e-09 29%	1e-25 41%	5e-11 24%
<i>Bacteroides</i> (sp. 3_1_19)	1e-07 27%	2e-39 29%	7e-33 30%	6e-15 29%	2e-35 46%	2e-07 26%
<i>Clostridium perfringens</i> (E88)	5e-12 33%	3e-43 32%	2e-37 31%	4e-14 29%	2e-35 45%	6e-14 28%
<b><i>B. subtilis</i> (BSn5)</b>	1e-07 25%	4e-45 33%	8e-32 31%	6e-06 25%	5e-33 39%	6e-11 25%
<i>B. cereus</i> (VD131)	2e-05 27%	5e-40 31%	8e-32 31%	3e-06 25%	2e-25 39%	1e-11 25%
<b><i>L. plantarum</i> (JDMI)</b>	0,035 28%	6e-05 37%	4e-07 25%	7e-06 26%	7e-26 40%	5e-12 26%
<i>L. acidophilus</i> (30SC)	0,002 23%	2e-11 24%	4e-12 24%	3e-06 25%	3e-23 39%	1e-13 28%
<i>Propionibacterium</i> (F0230a)	0,086 39%	5e-17 27%	6e-21 25%	1e-06 25%	6e-18 37%	0,003 27%
<i>Peptostreptococcus</i> (VPI 4330)	0,056 31%	7e-14 27%	1e-12 30%	2e-06 24%	5e-26 41%	2e-07 25%
<u><i>Bifidobacterium</i></u> <u><i>adolescentis</i> (ATCC</u> <u>15703)</u>	4,0 29%	1e-07 23%	1e-08 21%	0,017 26%	2e-25 26%	8e-07 26%

\* *Жирним шрифтом виділено мікроорганізми, в яких вже експериментально виявлено БМН. Підкреслено ризикою мікроорганізми, що вже використовуються як вектори для доставки лікарських препаратів до пухлин*

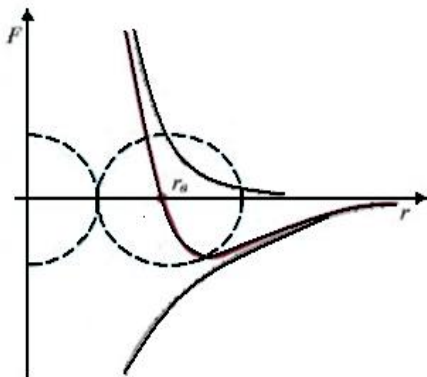
Проведені у роботах [206, 277, 278, 399] дослідження показують, що низка штамів розглянутих патогенних, умовно-патогенних та симбіотичних мікроорганізмів можуть бути або вже є продуцентами БМН – що підтверджується як біоінформаційним аналізом вищезгаданих робіт, так і експериментальними роботами [397, 400].

Як вже було зазначено, БМН можуть бути різної природи (аморфної чи кристалічної), формуватися ззовні або ж всередині клітини. Саме тому вищенаведені мікроорганізми, що вже застосовуються та можуть потенційно використовуватися як вектори для доставки лікарських препаратів, були досліджені з погляду такої класифікації. Так,

мікроорганізми, які утворюють наночастинки кристалічної природи (групи 3 та 4, див табл. 3.11) виділено жирним шрифтом у табл. 3.22–3.24.

Таким чином, проведені в роботах [206, 277, 278, 399] дослідження (табл. 3.22–3.24) показали, що кристалічний наномагнетит можуть синтезувати такі мікроорганізми, як: *Escherichia coli* 541-15, *Klebsiella pneumoniae* 342, *Clostridium perfringens* str. 13, *Pseudomonas fluorescens* (табл. 3.22); *Clostridium perfringens* SM10, *Vibrio cholerae* O1, *Vibrio cholerae* LMA3984-4, *Listeria monocytogenes* serotype 4b str. F2365, *Serratia marcescens* WW4, *Serratia marcescens* FGI94, *Clostridium novyi* NT, *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 (табл. 3.23); *Lactobacillus fermentum* IFO 3956, *Clostridium perfringens* E88, *Bacteroides* sp. 3\_1\_19, *Bacillus subtilis* BSn5, *Bacillus cereus* VD131, *Peptostreptococcus anaerobius* VPI 4330 (табл. 3.24).

Оскільки БМН кристалічної природи мають найкращі магнітні властивості, то в роботах [389, 398] проведено розрахунок сил магнітодипольної взаємодії між БМН мікроорганізмів, які містять магнітні наночастинки кристалічної природи або інших магнітокерованих лікарських форм, та пухлинними клітинами з БМН.



**Рис. 3.25.** Типова залежність сили взаємодії антиген–антитіло від відстані між молекулами, де  $r_0$  – середня відстань між частинками

Таким чином у роботах [401,402] встановлено, що сили взаємодії молекул зворотно пропорційні  $n$ -му степеню відстані  $r$  між центрами мас молекул, де значення  $n$ , як правило, перебуває в діапазоні з 7 до 12. Існує й така відстань між молекулами, на якій сила тяжіння дорівнює силі відштовхування, тобто їх результуюча сила дорівнює нулю. Якщо ж відстань між молекулами  $r > r_0$ , то переважають сили їх взаємного тяжіння, тоді як коли  $r < r_0$ , переважають сили відштовхування. При

цьому результуюча сила молекулярної взаємодії на великих відстанях є силою тяжіння, а на малих – силою відштовхування [401]. А, як відомо, сила специфічної взаємодії між молекулами антиген–антитіло становить  $\sim(1\div 3) \cdot 10^{-10}$  Н [402–405].

Для цільової доставки протипухлинних препаратів у якості векторів можуть використовуватися не лише штучно магнітомічені вектори-мікроорганізми, а й мікроорганізми з БМН, тому їх накопичення на поверхнях пухлин може відбуватися за рахунок сили магнітодипольної взаємодії між ендogenous частинками магнетиту пухлинних клітин та відповідними частинками магнетиту таких мікроорганізмів, яка має порядок величин, близький до сил специфічного зв'язування антиген–антитіло (саме тому це важливо враховувати та використовувати при проектуванні систем для доставки лікарських форм). Згадана сила фактично є додатковою силою специфічного зв'язування, а саме «пасивного прицілювання» при цільовій доставці ліків. А оскільки сила магнітодипольної взаємодії є далекодіючою, співпадаючи з відстанню у співвідношенні  $1/R^4$ ), то на великих відстанях вона буде основною силою взаємодії (при  $\Delta = l^2/2$  (рис. 3.25), коли її значення максимальні) – порівняно зі специфічною взаємодією антиген–антитіло, яка співпадає з відстанню як  $1/R^7 - 1/R^{12}$  [389, 398].

Таким чином, у роботі [389] вперше показано, що як вектори для цільової доставки протипухлинних препаратів можуть використовуватися ще й мікроорганізми з природними феримагнітними властивостями, а це робить метод цільової доставки препаратів надійнішим та ефективним і суттєво знижує токсикоз-алергічні реакції та вартість його застосування.

### **3.6.3. Магнітна силова мікроскопія БМН та штучних магнітних наночастинок у складі біооб'єктів (мікроорганізмів, пухлинних клітин тощо)**

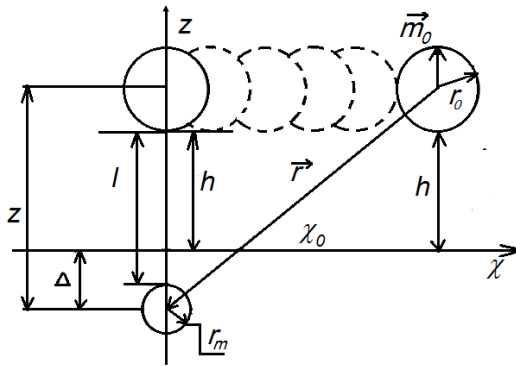
Для ефективного використання природних феримагнітних властивостей мікроорганізмів та пухлинних клітин, а також розрахунку сил магнітодипольної взаємодії між БМН мікроорганізмів та пухлинних клітин необхідно встановити, на якій відстані від мембрани знаходяться БМН у пухлинних клітинах.

Це необхідно, зокрема, для розрахунку магнітних полів в околі БМН, необхідних при цілеспрямованій доставці лікарських препаратів до пухлин і гіпертермії. З цією метою доцільно використовувати описаний у

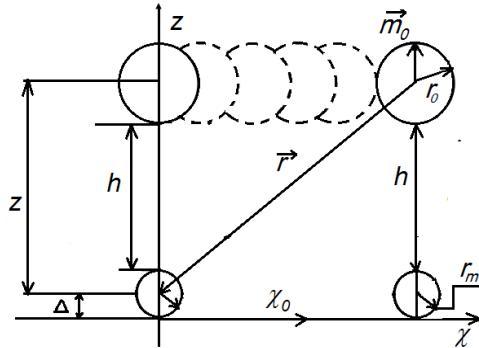
роботі [272] метод детекції місця локалізації магнітних наночастинок в околі мембрани клітини, апробацію якого проводили на клітинах асцитної карциноми Ерліха, в яких було виявлено БМН.

Із метою отримання інформації про глибину локалізації окремих наночастинок і/або кластерів магнітних наночастинок в біомембрані, а також про їхні характерні розміри в роботі [272] розглянуто процес сканування поверхні клітини в МСМ-режимі.

Так, на рис. 3.26 представлено схематичне зображення процесу сканування клітини у цьому режимі, коли кластер магнітних наночастинок розташований під поверхнею біомембрани, а на рис. 3.27 представлено зображення процесу сканування в МСМ-режимі такого кластера, якщо він розташований на поверхні біомембрани [272].



**Рис. 3.26.** Схематичне зображення процесу сканування клітини в МСМ-режимі, якщо кластер магнітних наночастинок розташований під поверхнею біомембрани, де  $z$  – відстань між центрами кластера магнітних наночастинок та робочої області магнітного зонду;  $\Delta$  – відстань від центру кластера магнітних наночастинок до поверхні біомембрани;  $h$  – відстань між магнітним зондом та поверхнею біомембрани;  $r_0$  – радіус робочої зони магнітного зонда;  $r_m$  – радіус кластера магнітних наночастинок;  $\vec{m}_0$  – магнітний момент магнітного зонда;  $\vec{r}$  – вектор, проведений із центру робочої зони зонда до центру кластера магнітних наночастинок



**Рис. 3.27.** Схематичне зображення процесу сканування в МСМ-режимі кластера магнітних наночастинок, якщо кластери розташовані на поверхні біомембрани

Як відомо, дипольне магнітне поле створюється однорідно намагніченою робочою зоною магнітного зонда в місці розташування кластера магнітних наночастинок (рис. 3.26):

$$\vec{H}^{(m)} = \frac{3(\vec{m}_0 \vec{n}) \vec{n} - \vec{m}_0}{r^3}; \vec{n} = \frac{\vec{r}}{r} \quad (3.12)$$

Енергія ж взаємодії робочої області магнітного зонда, що є намагніченою кулею з магнітним моментом  $\vec{m}_0$ , із кластером магнітних наночастинок має вигляд:

$$U = -(\vec{m} \vec{H}^{(m)}) \quad (3.13)$$

де  $\vec{m}$  – магнітний момент кластера магнітних наночастинок.

Підставивши формулу (3.12) у (3.13), отримуємо:

$$U = -\frac{3(\vec{m} \vec{r})(\vec{m}_0 \vec{r}) - (\vec{m} \vec{m}_0) r^2}{r^5} \quad (3.14)$$

Оскільки ж зонд намагнічений вздовж осі  $OZ$ , то  $\vec{m}_0 = (0, 0, m_0)$ , а скалярний добуток  $\vec{m} \vec{m}_0 = m_z m_0$ , де  $m_z$  – проекція магнітного моменту кластера магнітних наночастинок на вісь  $OZ$ , то й вираз для енергії взаємодії матиме вигляд:

$$U = -\frac{2\vec{m}_0 \vec{m}_z}{z^3} \quad (3.15)$$

У свою чергу, силу взаємодії магнітного зонда з кластером магнітних наночастинок можна записати як:

$$\vec{F} = -\text{grad}U \quad (3.16)$$

Розраховуючи силу взаємодії магнітного зонда з кластером магнітних наночастинок, отримуємо вираз:

$$\vec{F}_z = -\frac{6m_0m_z}{z^4} \quad (3.17)$$

тоді похідна по координаті  $z$  від  $z$ -компоненти сили  $F_z$  матиме вигляд:

$$\frac{\partial F_z}{\partial z} = -\frac{24m_0m_z}{z^5} \quad (3.18)$$

Згідно з даними, представленими на офіційному сайті виробника скануючого зондового мікроскопа «SOLVER PRO-M»,  $\frac{\partial F_z}{\partial z}$  – похідна по координаті  $z$  від  $z$ -компоненти сили взаємодії магнітного зонда з кластером магнітних наночастинок – пов’язана із зсувом фази коливань кантилевера  $\Delta\varphi$ , який безпосередньо визначається в МСМ-режимі сканування об’єкта і вимірюється у градусах за формулою:

$$\Delta\varphi = CQ \frac{\partial F}{\partial z} \quad (3.19)$$

де  $C = 10^{-2}$  дин/см = 10 Н/м – коефіцієнт жорсткості кантилевера;  $Q = 200$  – його добротність.

Підставляючи формулу (3.19) у (3.18), отримуємо:

$$\Delta\varphi = CQ \frac{24m_0m_z}{z^5} \quad (3.20)$$

Як відомо, магнітний момент виражається через намагніченість матеріалу за формулою:

$$m_0 = M_0 V_0 \quad (3.21)$$

де  $M_0$  – намагніченість зонда (для кобальтового зонда, який намагнічується до насичення, дорівнює 1447 Гс за об’єму його робочої зони  $V_0 = \frac{4}{3}\pi r_0^3$ ).

Аналогічно для цілей проектування магнітного моменту кластера магнітних наночастинок на вісь  $OZ$  запишемо, що:  $m_z = M_z V$ ,

де:  $V = \frac{4}{3}\pi r_m^3$  – об’єм кластера магнітних наночастинок;

$M_z$  –  $z$ -компонента намагніченості цього кластера;  $r_m$  – радіус кластера (в моделі сферичної форми кластера магнітних наночастинок).

Якщо ж процес МСМ-сканування області зразка провести за двох різних значень  $z$  ( $h = h_1, h = h_2$ ) та співставити значення отриманих даних щодо величини  $\Delta\varphi$  в МСМ-режимі сканування одного й того самого кластера магнітних наночастинок, то можна визначити, у скільки разів  $\Delta\varphi$

змінюється залежно від відстані зонд–поверхня сканування. Це співвідношення отримаємо, використавши рівняння (3.18) та (3.20). Позначимо його як:

$$\frac{\frac{\partial F_z}{\partial z_{z=h_1+\Delta+r_0}}}{\frac{\partial F_z}{\partial z_{z=h_2+\Delta+r_0}}} = \frac{\Delta\varphi_{z=h_1+\Delta+r_0}}{\Delta\varphi_{z=h_2+\Delta+r_0}} = \frac{z_2^5}{z_1^5} = \gamma \quad (3.22)$$

коли кластер магнітних наночастинок знаходиться на поверхні біомембрани, то:

$$z = h_{1,2} + r_0 + r_m \quad (3.23)$$

Інший же випадок, коли кластер магнітних наночастинок знаходиться під поверхнею мембрани. Тоді:

$$z = \Delta + r_0 + h_{1,2} \quad (3.24)$$

Із формул (3.22)–(3.24) отримуємо, що:

$$\left( \frac{h_2 + r_0 + \Delta}{h_2 + r_0 + \Delta} \right)^5 = \gamma,$$

звідки:

$$\Delta = \frac{\gamma^{\frac{1}{5}}(h_1 + r_0) - (h_2 + r_0)}{1 - \gamma^{\frac{1}{5}}} \quad (3.25)$$

Для розрахунку магнітного моменту кластера магнітних наночастинок, спроектувавши його на вісь  $OZ$ , прирівняємо формули (3.18) і (3.20):

$$\frac{\Delta\varphi_{x=0}}{CQ} = 24 \frac{m_0 m_z}{z^5} m_z = \frac{z^5 \Delta\varphi}{24 m_0 CQ} \quad (3.26)$$

де:  $m_0 = \frac{4}{3} \pi r_0^3 M_0$ ,  $m_z = \frac{4}{3} \pi r_m^3 M$ , а  $z$  розраховується за формулою (3.25).

Якщо магнітний момент кластера магнітних наночастинок паралельний осі  $OZ$ , то:

$$M = \frac{m_z}{\frac{4}{3} \pi r_m^3} \quad (3.27)$$

Коли кластер магнітних наночастинок намагнічений до насичення вздовж  $OZ$  та відома намагніченість насичення матеріалу магнітної частинки  $M_z = M_0$ , то відстань між центрами робочої зони кантилевера та



кластера магнітних наночастинок можна оцінити як:

$$z = \sqrt[5]{\frac{24 \left(\frac{4}{3} \pi\right)^2 r_0^3 r_m^3 M_{Co} M_0 C Q}{\Delta \varphi}} \quad (3.28)$$

Відповідно, відстань між поверхнями кластера магнітних наночастинок і робочої зони кантилевера:

$$l = z - r_0 - r_m \quad (3.29)$$

А якщо  $h < l$ , то  $\Delta = l - h$  – глибина проникнення кластера магнітних наночастинок у біомембрану (тоді як в іншому випадку цей кластер перебуває на її поверхні).

Для оцінювання радіуса кластера магнітних наночастинок можна використати формулу:

$$r_m = \sqrt[3]{\frac{\Delta \varphi z^5}{24 \left(\frac{4}{3} \pi\right)^2 r_0^3 M_0 M_{Co} C Q}} \quad (3.30)$$

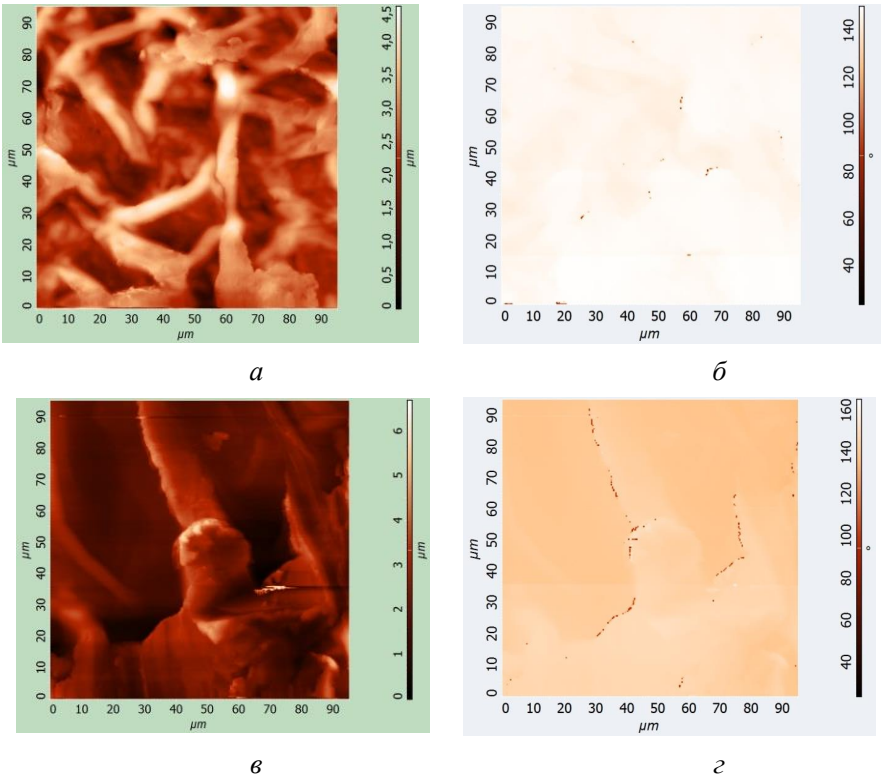
Таким чином, запропонована в роботі [272] двохпрохідна методика дозволяє визначити місце локалізації магнітної частинки або ж кластера цих наночастинок в околі мембрани клітини та оцінити їх розмір.

У роботі [16] з використанням скануючого зондового мікроскопа «SOLVER PRO-M» досліджено фрагменти атеросклеротичної тканини, а саме: 1) масивну бляшку змішаної будови (наявні атеросклеротичні зміни і кристали холестерину та кальцію, а також заміщені сполучною тканиною частини стінки судини); 2) атероматозно-фіброзну кальциновану бляшку; 3) склероз судини. Під час дослідження використовували вищезгадану *двохпрохідну методику*, яка складається з мікроскопії двох видів: атомно-силової (АСМ) напівконтактним методом та магнітно-силової (МСМ). Застосовували напівконтактний та магнітний режими сканування і магнітний кобальтовий (NSG01/Co) тип зонду, причому відстань від зонда до поверхні клітини становила 450 нм.

Зразки атеросклеротичної судини з елементами незрілої бляшки заливали парафіном та готували зрізи товщиною 5 мкм [16]. Отримані зрізи після видалення парафіну було вивчено з використанням оптичної мікроскопії із відповідними забарвленнями (гематоксиліном та, за методом ван Гізона, еозином) для встановлення ступеня атеросклеротичного процесу. Другу ж серію тих самих зразків зрізів досліджено з використанням АСМ і МСМ (без попереднього фарбування) [16].

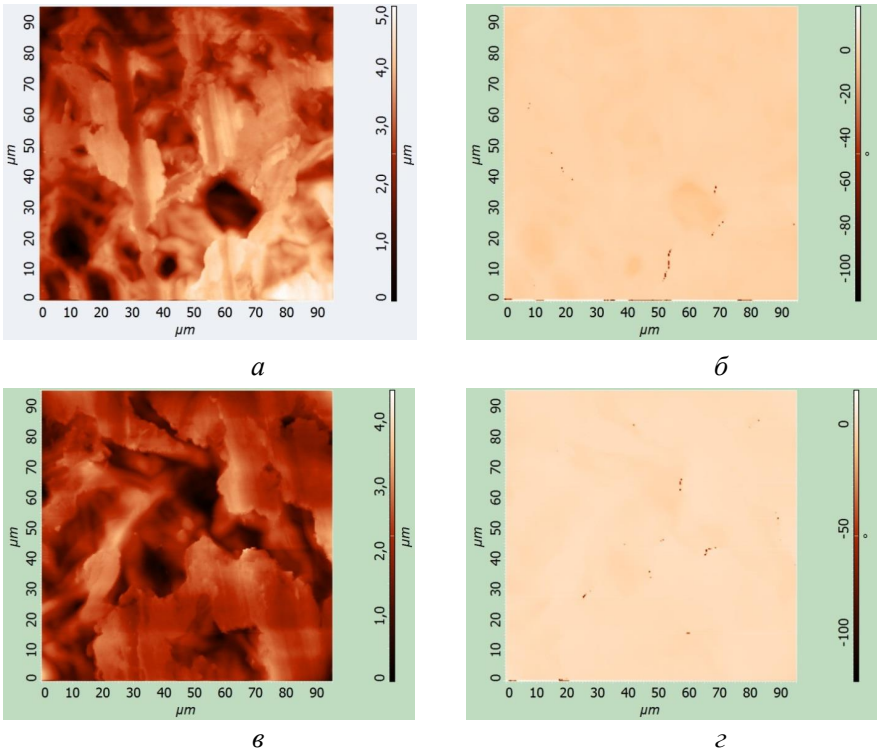
З рис. 3.28 та 3.29 видно, що кількість біогенних магнітних

наночастинок є різною залежно від тієї чи іншої ділянки бляшки. Найбільша їх кількість спостерігається в області кальцинування або ж на ділянках із залишками тканин судин, які характеризуються гіпоксією. При цьому БМН розташовані у вигляді ланцюгів (від декількох до десятків частинок), у вигляді одиночних наночастинок або ж їхніх кластерів. Під час же аналізу отриманих МСМ-зображень другого та третього зразків біогенних магнітних наночастинок не виявлено. На вищезгаданих рисунках представлено АСМ- та МСМ-зображення різних ділянок зрізів масивної бляшки змішаної будови (зразок 1).



*a*, *в* – АСМ-зображення; *б*, *г* – МСМ-зображення

**Рис. 3.28.** Зображення різних ділянок бляшки змішаної будови (частина 1)

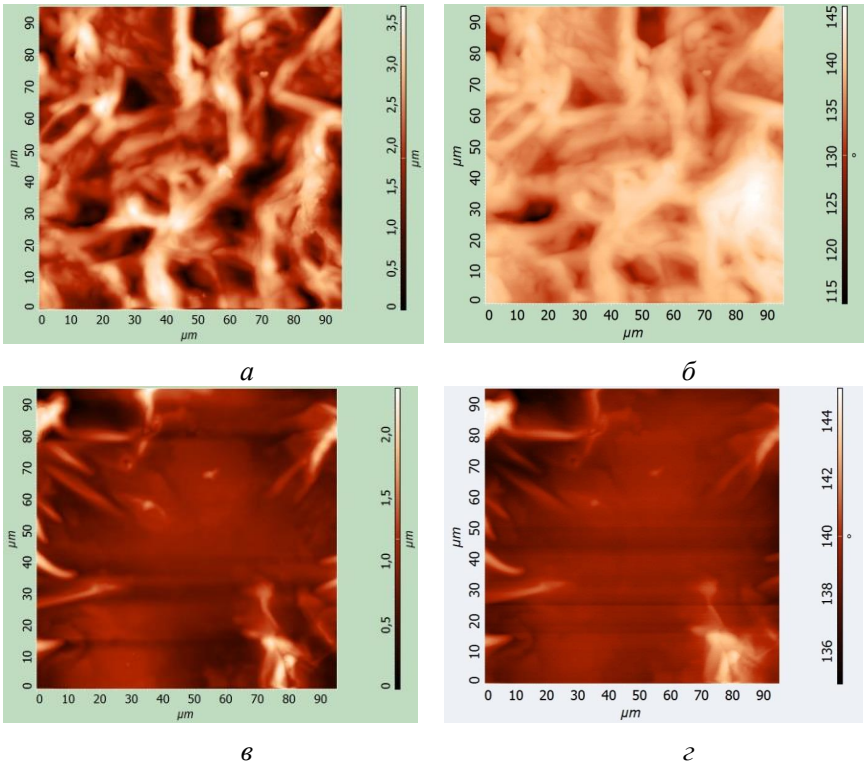


*a, в* – АСМ-зображення; *б, г* – МСМ-зображення

**Рис. 3.29.** Зображення різних ділянок бляшки змішаної будови (частина 2)

Як вже зазначалося, низка симбіонтів людини мають у своєму складі біогенні магнітні наночастинки, які є аморфними або ж кристалічними (наприклад, такі включення виявлені в *Lactobacillus plantarum* VKM В-2209, *Escherichia coli* VKM В-126 та *Staphylococcus sp. strain MA*). Зокрема, такі анаероби з магніточутливими включеннями можуть розвиватися в кальцінованій атеросклеротичній бляшці, а тому важливо визначити, чи відбувається біосинтез біогенних магнітних наночастинок, виявлених в складі такої бляшки (рис. 3.29), винятково під генетичним контролем безпосередньо в організмі людини, чи в бактеріальних симбіонтах також (це питання залишається відкритим) [272].

У свою чергу, на рис. 3.30 представлено АСМ- та МСМ-зображення різних ділянок атероматозно-фіброзної кальцінованої бляшки (зразок 2).

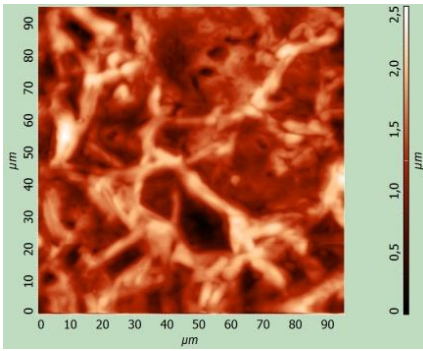


*a, в* – АСМ-зображення; *б, г* – МСМ-зображення

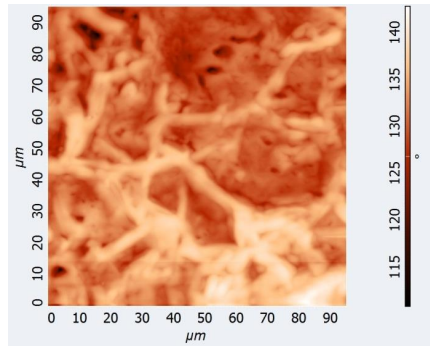
**Рис. 3.30.** Зображення різних ділянок атероматозно-фіброзної кальцинованої бляшки

Також у роботі [16] методами магнітної силової мікроскопії виявлено, що в зразках зрізів атеросклеротичної бляшки змішаної будови біогенні магнітні наночастинки (або їх кластери) мають характерні розміри порядку 200–400 нм. Найбільша ж кількість магнітовпорядкованих структур спостерігається в зонах кальцинування, які характеризуються виникненням анаеробних умов, причому це узгоджується з результатами робіт про те, що експресія генів, відповідальних за біомінералізацію внутрішньоклітинних біогенних магнітних наночастинок, збільшується в анаеробних умовах і пригнічується в аеробних.

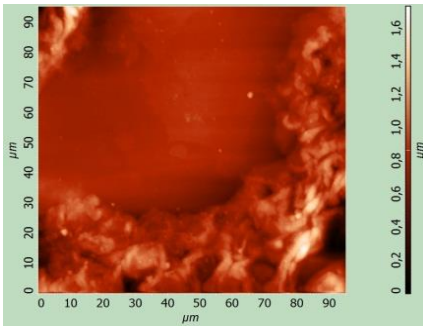
Крім того, на рис. 3.31 представлено АСМ- та МСМ-зображення фрагментів склерозу судини (зразок 3).



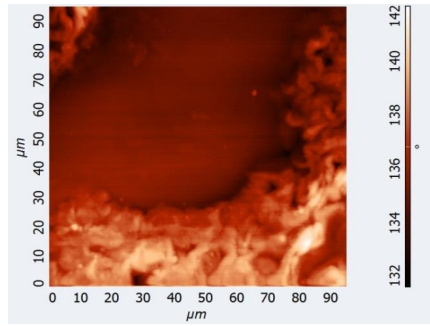
*a*



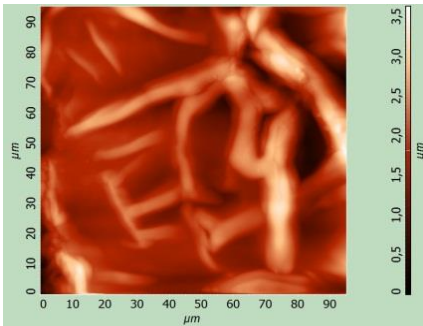
*б*



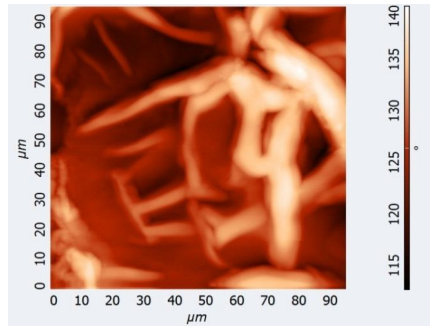
*в*



*г*



*д*



*е*

*a, б, в* – АСМ-зображення; *г, д, е* – МСМ-зображення  
**Рис. 3.31.** Зображення фрагментів склерозу судини (зразок 3)

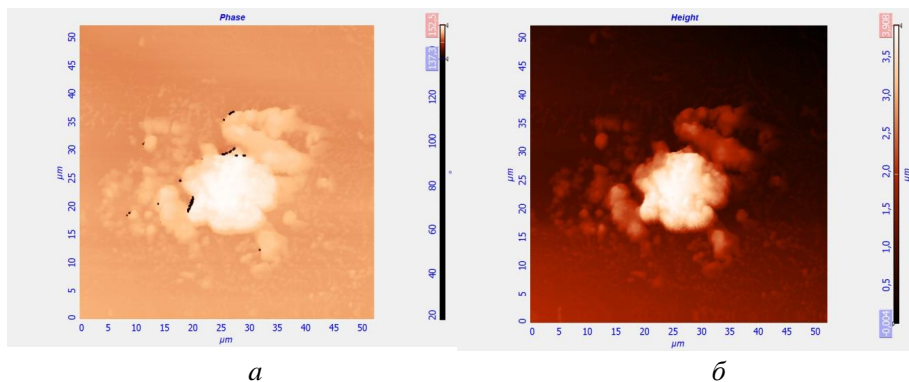
Отже, виявлення БМН в атеросклеротичних бляшках може дати поштовх розвитку магнітних методів діагностики і лікування. Так, результати роботи [16] свідчать про те, що біогенні магнітні наночастинки

в живих організмах, і в т.ч. в організмі людини, впливають на процеси метаболізму. Зокрема, у вищезгаданій роботі вперше теоретично передбачено існування і експериментально підтверджено наявність БМН в атеросклеротичних бляшках (рис. 3.28).

Внаслідок того, що підвищена, порівняно з нормою, кількість біогенних магнітних наночастинок спостерігається також і при нейродегенеративних та онкологічних захворюваннях людини, виявлення зазначеного генетичного механізму біомінералізації має важливе значення в медицині, як для діагностики так і для лікування захворювань, особливо таких, що супроводжуються гіпоксією.

### 3.6.4. Розрахунок сил магнітодипольної взаємодії між ланцюжками БМН мікроорганізмів, які містять феримагнітні наночастинок природного походження або інші магнітокеровані лікарські форми, та пухлинними клітинами з ланцюжками БМН

Як вже зазначалося, підвищений рівень БМН спостерігається при канцерогенезі молочної залози, яєчників, яєчка, меланомі, менінгіомі, гліобластомі, астроцитомі, гліомі [15, 38, 70], карциномі Ерліха [252] та метастазуванні пухлин (рис. 3.32).



а) АСМ-зображення; б) МСМ-зображення

**Рис. 3.32.** АСМ- та МСМ-зображення клітин карциноми Ерліха, підданої впливу магнітного поля [38]

В роботах [389, 398] розраховано сили магнітодипольної взаємодії ланцюжка ендогенних БМН пухлинних клітин із ланцюжком магнітних наночастинок магнітокерованого носія при цільовій доставці ліків та проведено порівняння з типовими силами специфічного і неспецифічного зв'язувань пухлинних клітин та магнітокерованих лікарських форм.

Слід також зазначити, що, як правило, для магнітокерованої доставки ліків у складі, наприклад, ліпосом застосовуються суперпарамагнітні наночастинки оксиду заліза (СПНОЗ) [406]. Перевагою використання СПНОЗ у складі лікарського носія є те, що вони проходять через судинну систему та можуть бути сконцентровані в будь-якому специфічному місці організму людини завдяки використанню магнітного поля, причому наночастинки діаметром менше 100 нм можуть дифундувати через клітинну мембрану. Загалом саме розмір, морфологія і зовнішнє навантаження – це ті три важливі параметри, які враховують при виборі носія лікарської форми (наприклад, магнітоліпосоми), а також, якщо препарат введено внутрішньовенно, береться до уваги його поведінка в кровотоці [406].

Співвідношення діаметра пор капілярів та розмірів ліпосоми – основа для зменшення рівня накопичення препаратів у здорових тканинах, яке й зумовлює зниження токсичності їхніх ліпосомальних форм та збільшення їх концентрації у пухлинній тканині. Розмір ліпосоми більший, ніж пори в капілярах, тому препарати менше накопичуються у здорових тканинах. Капіляри, що входять до пухлинної тканини, сильно перфоровані та розгалужені, через що й відбувається спрямоване транспортування хіміопрепаратів у пухлини з високим внутрішньопухлинним тиском (це явище отримало назву «пасивне прицілювання» [406]). Підвищене накопичення магнітокерованих лікарських препаратів у пухлині є результатом їх тривалої циркуляції у крові, підвищеної проникності через капіляри пухлини та транспортування через клітинну мембрану шляхом ендцитозу [407].

Як вже зазначалося, розміри БМН бактерій становлять 10–40 нм [408], в інших бактерій – 35–120 [81] та 10–135 нм [33, 34], найбільші кристали біогенного магнетиту в бактеріях досягають 250 нм (зі співвідношенням поздовжнього і поперечного розмірів 0,84) [140]. БМН у людини з'єднані в лінійні ланцюжки, які містять від десятків до сотень частинок, зв'язаних із мембраною клітини [4, 44, 51, 140, 409], розміром 10–250 нм [139, 409]. При цьому характерний розмір переходу з суперпарамагнітного в однодомений стан для магнетиту становить ~25–30 нм [23], а з однодоменого у багатодомений – ~70 нм [139]. Магнітостатичні взаємодії наночастинок магнетиту в ланцюжку підвищують поріг розміру переходу від однодоменого стану в багатодомений, суттєво розширюючи діапазон їхніх розмірів у першому з цих станів [139]. Поля магнітостатичних взаємодій є достатніми для того, щоб найбільші (з розмірами до 250 нм) кристали магнетиту, виявлені в бактеріях та у людини [4, 139, 140] перебували в однодоменому стані

[139], тоді як без магнітостатичних взаємодій в ланцюжку БМН їхній стан буде – за тих самих розмірів – багатодоменим.

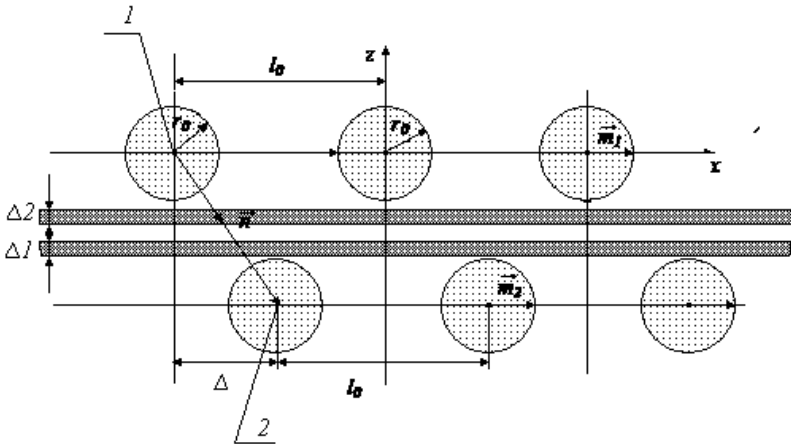
Саме тому в роботах [389, 398] для розрахунку сили магнітодипольної взаємодії ланцюжка ендогенних БМН у пухлинних клітинах із ланцюжком магнітних наночастинок магнітокерowanego носія для спрощення розрахунку обрано модель однакових частинок – незважаючи на те, що як ендогенні, так і екзогенні наночастинок можуть мати дещо різні характерні розміри. Для розрахунку використовували такі параметри: намагніченість магнетиту  $M_0 = 477$  од. СГСМ; діаметр БМН у пухлині – 40–100 нм; діаметр БМН бактеріальних векторів – 10–50 нм; товщина мембрани клітини – 10 нм.

На рис. 3.33 зображено два ланцюги, що містять магнітні частинки пухлинної тканини та магнітоліпосоми. Частинки знаходяться на відстані  $l_0$  один від одного, зміщені на відстань  $\Delta$  і мають радіус  $r_0$ .

При цьому  $x_2 = \Delta + l_0 n$ , де:  $n = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$ ,  $x_2 - x$  та  $y_2 - y$ ,  $z_2 - z$  – координати магнітної частинки 2-го ланцюга;

$$\vec{M}_1 = \vec{M}_2 = \vec{M}_0, \vec{n}_1 = (1, 0, 0), \vec{n}_2 = (1, 0, 0),$$

де  $M_0$  – намагніченість магнітної частинки.



- 1 – ендогенна магнітна наночастинка в пухлинних клітинах;
- 2 – екзогенна магнітна наночастинка магнітоліпосоми;  $\Delta_1$  – товщина мембрани магнітоліпосоми;  $\Delta_2$  – товщина мембрани пухлинної клітини;
- $\Delta = \Delta_1 + \Delta_2$

**Рис. 3.33.** Схематичне зображення взаємодії екзогенних частинок магнітоліпосоми та ендогенних частинок пухлини



$$\vec{r} = (\Delta + x_2, y_2, z_2), |\vec{r}| = \sqrt{(\Delta + x_2)^2, y_2^2, z_2^2}, \quad (3.31)$$

$$\vec{n} = \frac{\vec{r}}{r} = \left( \frac{\Delta + x_2}{\sqrt{(\Delta + x_2)^2 + y_2^2 + z_2^2}}, \frac{y_2}{\sqrt{(\Delta + x_2)^2 + y_2^2 + z_2^2}}, \frac{z_2}{\sqrt{(\Delta + x_2)^2 + y_2^2 + z_2^2}} \right) \quad (3.32)$$

Енергія магнітних частинок у другому ланцюгу з магнітним моментом  $\vec{m}_2$  у магнітному полі, яке створене магнітною частинкою першого ланцюга з магнітним моментом  $\vec{m}_1$  дорівнює:

$$U = -\vec{m}_2 \vec{H}_1 \quad (3.33)$$

де  $\vec{H}_1 = \frac{3(\vec{m}_1 \vec{n})\vec{n} - \vec{m}_1}{r^3}$  – магнітне поле магнітної частинки першого ланцюга з магнітним моментом  $\vec{m}_1$ .

З цього випливає, що:

$$U = - \left\{ \frac{3(\vec{m}_1 \vec{n})(\vec{m}_2 \vec{n}) - \vec{m}_1 \vec{m}_2}{r^3} \right\}. \quad (3.34)$$

Враховуючи, що  $\vec{F} = -\text{grad}U$ , сила взаємодії двох магнітних частинок із 1-го та 2-го ланцюгів має вигляд:

$$\vec{F} = \text{grad} \left\{ \frac{3(\vec{m}_1 \vec{n})(\vec{m}_2 \vec{n}) - \vec{m}_1 \vec{m}_2}{r^3} \right\} \quad (3.35)$$

де:

$$|\vec{m}_1| = |\vec{m}_2| = M_0 \cdot \left( \frac{4}{3} \pi r_0^3 \right). \quad (3.36)$$

З цієї останньої формули випливає, що:

$$\vec{F} = \left( \frac{4}{3} \pi \right)^2 r_0^6 \cdot M_0^2 \cdot \text{grad} \left\{ \frac{3(\vec{n}_1 \vec{n})(\vec{n}_2 \vec{n}) - \vec{n}_1 \vec{n}_2}{r^3} \right\} \quad (3.37)$$

Звідси:

$$\vec{F} = \left( \frac{4}{3} \pi \right)^2 r_0^6 \cdot M_0^2 \cdot \text{grad} \left\{ \frac{2x_2^2 - y_2^2 - z_2^2}{(x_2^2 + y_2^2 + z_2^2)^{5/2}} \right\} \quad (3.38)$$

$$\text{grad} = \frac{\partial}{\partial x_2} \cdot \vec{e}_x + \frac{\partial}{\partial y_2} \cdot \vec{e}_y + \frac{\partial}{\partial z_2} \cdot \vec{e}_z, \quad (3.39)$$

де  $\vec{e}_x, \vec{e}_y, \vec{e}_z$  – орти декартової системи координат,

$$C_0 = \left(\frac{4}{3}\pi\right)^2 r_0^6 M_0^2, \quad (3.40)$$

$$F_x = C_0 \cdot \frac{\partial}{\partial x_2} \cdot \frac{2x_2^2 - y_2^2 - z_2^2}{(x_2^2 + y_2^2 + z_2^2)^{5/2}}, \quad (3.41)$$

$$F_y = C_0 \cdot \frac{\partial}{\partial y_2} \cdot \frac{2x_2^2 - y_2^2 - z_2^2}{(x_2^2 + y_2^2 + z_2^2)^{5/2}}, \quad (3.42)$$

$$F_z = C_0 \cdot \frac{\partial}{\partial z_2} \cdot \frac{2x_2^2 - y_2^2 - z_2^2}{(x_2^2 + y_2^2 + z_2^2)^{5/2}} \quad (3.43)$$

Після введення позначень:

$$x = \frac{x_2}{r_0}, y = \frac{y_2}{r_0}, z = \frac{z_2}{r_0}, \frac{C_0}{r_0^4} \equiv C_1, C_1 = \frac{\left(\frac{4}{3}\pi\right)^2 r_0^6 \cdot M_0^2}{r_0^4} = \left(\frac{4}{3}\pi\right)^2 r_0^2 \cdot M_0^2, \quad (3.44)$$

можна записати сили взаємодії ендогенних наночастинок пухлинної тканини з екзогенними наночастинок магнітоліпосоми у вигляді:

$$F_x = C_1 \cdot \frac{\partial}{\partial x} \cdot \frac{2x^2 - y^2 - z^2}{(x^2 + y^2 + z^2)^{5/2}}, \quad (3.45)$$

$$F_y = C_1 \cdot \frac{\partial}{\partial y} \cdot \frac{2x^2 - y^2 - z^2}{(x^2 + y^2 + z^2)^{5/2}}, \quad (3.46)$$

$$F_z = C_1 \cdot \frac{\partial}{\partial z} \cdot \frac{2x^2 - y^2 - z^2}{(x^2 + y^2 + z^2)^{5/2}}, \quad (3.47)$$

причому векторна сила взаємодії всіх частинок ланцюга має вигляд:

$$\vec{F}_{\text{sum}} = \sum_{n=-N}^N \vec{F}_n, \quad (3.48)$$

де  $N$  – кількість найближчих сусідів, взаємодію з якими враховано.

Сила взаємодії однієї частинки 1-го ланцюга з  $(2N+1)$ -частинкою-сусідом 2-го ланцюга приблизно дорівнює силі взаємодії однієї частинки 1-го ланцюга з 2-им:

$$F_{\text{zsum}} = C_1 \sum_{n=-N}^N \frac{\partial}{\partial z} \cdot \frac{\left(2 \left(\frac{\Delta}{r_0} + l_0 n\right)^2 - y^2 - z^2\right)}{\left(\left(\frac{\Delta}{r_0} + l_0 n\right)^2 + y^2 + z^2\right)^{5/2}}, \quad (3.49)$$

$$(F_{\text{повне}})_z = N_{\text{частинок}} C_1 \sum_{n=-N}^N \frac{\partial}{\partial z} \cdot \left[ \frac{2 \left( \frac{\Delta}{r_0} + t_0 n \right)^2 - y^2 - z^2}{\left( \left( \frac{\Delta}{r_0} + t_0 n \right)^2 + y^2 + z^2 \right)^{3/2}} \right], \quad (3.50)$$

де  $(F_{\text{повне}})_z = N_{\text{частинок}} \cdot F_{\text{зшит}}$  – сила взаємодії двох ланцюгів;  $N_{\text{частинок}}$  – число частинок у 1-му ланцюгу;  $M_0 = 477$  од. СГСМ (для магнетиту).

У результаті цих розрахунків отримано силу, яка дорівнює  $\sim 10^{-9}$  Н, має порядок величин, близький до притаманних силам специфічного зв'язування, наведеним у роботах [67, 410, 411] і за певних умов навіть перевищує значення цих сил [389, 398].

Сили взаємодії між такими біологічними молекулами, як антигени і антитіла, відіграють важливу роль у багатьох біологічних процесах [412, 413]. Як правило, пухлинні тканини мають поверхневі антигени, що відрізняються від антигенів нормальних однотипових клітин, а тому магнітокеровані носії ліків, функціоналізовані антитілами проти таких антигенів, зв'язуються з пухлинними клітинами і не зв'язуються з нормальними. Крім того, поверхня магнітоліпосоми може бути додатково кон'югована з антитілами, а це дає змогу досягати десятикратного підвищення їх афінності до пухлинних клітин. Зв'язування магнітоліпосом із пухлинними клітинами та ефективність їх розпізнавання при цільовій доставці ліків визначається взаємодією антиген–антитіло [414]. Наприклад, у міжмолекулярній силі адгезії антиген–антитіло на початку імунної відповіді системи відбуваються розпізнавання молекул та їх зв'язування одна з одною [413]. Відомо також, що сили, які утримують разом антиген і антитіло, подібні до сил, що беруть участь у неспецифічних взаємодіях між будь-якими макромолекулами [415]. При взаємодії ж специфічних антитіл з антигеном між амінокислотними залишками антигензв'язувального центру (паратопом) антитіла і антигенною детермінантою (епітопом) антигена утворюються численні нековалентні зв'язки, зокрема:

1) *електростатичні сили*, зумовлені притяганням між двома протилежно зарядженими іонізованими групами. Така сила дорівнює  $\sim 8 \cdot 10^{-8}$  Н [413];

2) *водневі зв'язки*, утворені між гідрофільними групами. Ці зв'язки є слабкими, оскільки мають електростатичну природу;

3) *гідрофобні взаємодії* між неполярними гідрофобними групами. За деякими оцінками, забезпечують до 50% спорідненості між антитілом і антигеном;

4) *вандерваальсові сили*, які в основному визначають силу, що відповідає за формування просторової структури біологічних молекул і дорівнює  $\sim 10^{-8} - 10^{-9} \text{Н}$  [416].

Всі ці сили зростають при зменшенні відстані між молекулами антигена та антитіла, бо сили молекулярної взаємодії залежать від відстані між молекулами [401]. Так, на відстані, що перевищує 2–3 діаметри молекул, діє сила тяжіння, тоді як у міру її зменшення ця сила спочатку збільшується, а потім починає зменшуватися і досягає нуля тоді, коли відстань між двома молекулами стає рівною сумі двох їхніх радіусів. За подальшого зменшення згаданої відстані електронні оболонки атомів починають перекривати одна одну і між молекулами виникають сили відштовхування [417].

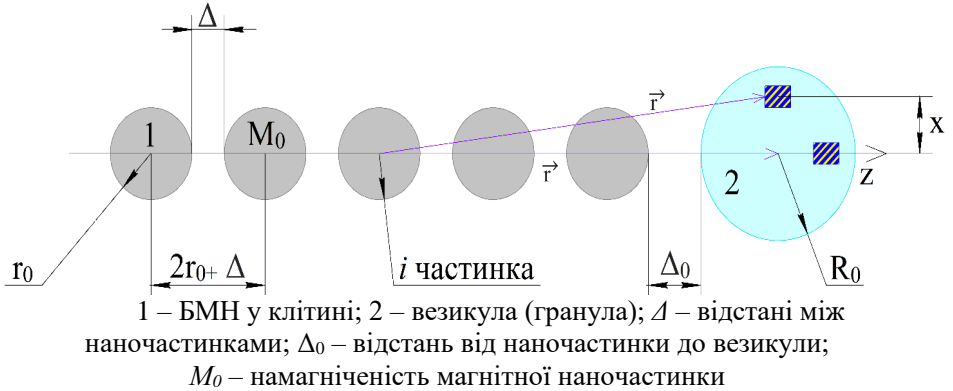
### **3.6.5. Роль біогенних магнітних наночастинок у везикулярному транспортуванні у живих організмів**

За даними низки робіт, у бактерій в околі ланцюжків БМН та окремих кластерів таких наночастинок накопичуються везикули та гранули зі сполуками кисню, фосфору, сірки, а також поліфосфатні та багаті на ліпіди гранули [332, 333, 418, 419].

У 2013 р. Нобелівську премію з медицини отримали *Д. Ротман*, *Р. Шекман* і *Т. Зюдов* за «дослідження механізмів, що регулюють везикулярне транспортування». Клітина використовує таке транспортування для постачання важливих речовин та видалення продуктів життєдіяльності. Складовими цього транспортування є такі поняття, як ендоцитоз та екзоцитоз. Ендоцитоз – це поглинання позаклітинних компонентів завдяки використанню везикул, сформованих плазматичною мембраною; основний шлях активного поглинання клітинами різних речовин, і передусім макромолекулярних структур. А екзоцитоз – це процес, зворотний до ендоцитозу; його функцією є виведення з клітин різних речовин і продуктів клітинної життєдіяльності. Доставка лікарських речовин також здійснюється завдяки везикулярному транспортуванню [420]. Разом з тим, із погляду існування єдиного механізму біомінералізації БМН для всіх живих організмів [8, 10] і наявності БМН практично в усіх тканинах та органах тварин і людини [421], дуже актуальним, для цілей чіткого визначення відповідних функцій БМН, постає питання, чи є такі наночастинок концентраторами різних везикул у клітинах таких організмів.

У роботі [398] з метою виявлення ролі БМН у везикулярному транспортуванні в клітині розраховано сили взаємодії ланцюжків БМН на клітинній мембрані з везикулами (гранулами) всередині клітини.

Розглянуто модель, згідно з якою БМН на мембрані клітини можуть бути розташовані як у ланцюжку, так і окремо, і при цьому в їх околі можуть накопичуватися везикули [139, 418]. Для розрахунку сил взаємодії ланцюжка БМН із везикулою розглянуто модель (рис. 3.34) лінійного ланцюжка з радіусом БМН  $r_0$ , відстанню  $\Delta$  між БМН у ланцюжку, відстанню  $\Delta_0$  від кінчика ланцюжка до везикули та радіусом везикули  $R_0$ .



**Рис. 3.34.** Схематичне зображення взаємодії везикули та БМН у клітині

Магнітне поле, утворено  $i$ -ою БМН у ланцюжку з намагніченістю  $\vec{M}_0$ , можна записати як:

$$\vec{H}_i^{(m)} = \frac{3}{4} \pi r_0^3 \left\{ \frac{3(\vec{M}_0 \vec{n}_i) \vec{n}_i - \vec{M}_0}{r_i^3} \right\} \quad (3.51)$$

У формулі (3.51) припускається, що всі частинки у ланцюжку є однаковими і намагнічені вздовж ланцюжка, тобто:

$$\vec{m}_i = \vec{m} \quad (3.52)$$

магнітний момент  $i$ -ої частинки описується формулою:

$$\vec{m}_i = \vec{M}_0 \cdot \frac{3}{4} \pi r_0^3 \quad (3.53)$$

де  $V = \frac{3}{4} \pi r_0^3$  – об'єм частинки.

В формулі (3.51) координати вектора, проведеного з центру  $i$ -ої частинки до елемента об'єму везикули, мають вигляд:

$$\vec{r}_i = (x, y, z_i) \quad (3.54)$$

де:

$$z_i = \left\{ (r_0 + R_0 + \Delta_0 + (2r_0 + \Delta)(i-1)) + z \right\} \quad (3.55)$$

якщо везикула розташована на осі ланцюжка БМН біля його кінчика (саме таке розташування везикул виявлено експериментально як характерне, наприклад, для магнітотаксисних бактерій) [332, 418].

Одиничний вектор, що задає напрямок радіуса-вектора, має компоненти:

$$\vec{n}_i = \left( \frac{x}{\sqrt{x^2 + y^2 + z_i^2}}, \frac{y}{\sqrt{x^2 + y^2 + z_i^2}}, \frac{z_i}{\sqrt{x^2 + y^2 + z_i^2}} \right) \quad (3.56)$$

Проекції магнітного поля, утворені магнітною наночастинкою з магнітним моментом  $\vec{m}$ , на осі декартової системи координат мають вигляд:

$$H_{ix}^{(m)} = \frac{3}{4} \pi r_0^3 \cdot \frac{3M_0 z_i x}{(x^2 + y^2 + z_i^2)^{5/2}} \quad (3.57)$$

$$H_{iy}^{(m)} = \frac{3}{4} \pi r_0^3 \cdot \frac{3M_0 z_i y}{(x^2 + y^2 + z_i^2)^{5/2}} \quad (3.58)$$

$$H_{iz}^{(m)} = \frac{3}{4} \pi r_0^3 \cdot \left\{ \frac{3M_0 z_i^2}{(x^2 + y^2 + z_i^2)^{5/2}} - \frac{M_0}{(x^2 + y^2 + z_i^2)^{3/2}} \right\} \quad (3.59)$$

Енергія взаємодії везикули з намагніченістю  $\vec{\mu}$  із магнітним полем, створеним ланцюжком БМН, дорівнює:

$$U_i = - \sum_{i=1}^n \int \vec{\mu} \vec{H}_i^{(m)} dV \quad (3.60)$$

де інтегрування здійснюється по об'єму везикули.

Після підстановки магнітного поля, створеного ланцюжком магнітних частинок, у формулу (3.60) енергія взаємодії матиме вигляд:

$$U_i = - \sum_{i=1}^n \int \chi \left( \vec{H}_i^{(m)} \right)^2 dV \quad (3.61)$$

де  $\chi$  – ефективна магнітна сприйнятливність везикули, яка дорівнює різниці між магнітними сприйнятливостями везикули і середовища, в якому вона знаходиться (табл. 3.25).

**Таблиця 3.25.** Ефективна магнітна сприйнятливість везикул

	Діапазон $\chi$	Приклад
Ефективно парамагнітні везикули (діамагнітні везикули в діамагнітному середовищі з позитивною й ефективною магнітною сприйнятливістю)	$10^{-6}-10^{-5}$	Більшість тканин організму людини, гормони та більшість біологічно-активних речовин [422]
Парамагнітні везикули (парамагнітні везикули в діамагнітному середовищі з позитивною й ефективною магнітною сприйнятливістю)	$10^{-4}-10^{-3}$	Парамагнітні везикули для доставки ліків, нейромеланін [422]
Везикули, що містять магнітні наночастинки і є нелінійною функцією магнітного поля [423]	$10^{-2}-10^{-3}$	Магнітоліпосоми [422, 423] та покзаклітинні везикули пухлинних клітин [39]

Сумарна енергія магнітних наночастинок матиме вигляд:

$$F_z = -\frac{d}{dz} U \quad (3.62)$$

$$F_z = \chi \sum_{i=1}^n \int_V \frac{d(H_i^{(m)})^2}{dz_i} dx dy dz \quad (3.63)$$

При розрахунку величини  $F_z$  було враховано табличне значення намагніченості для магнетиту ( $M_0 = 477$  од. СГСМ) [422] і дані про розміри, розташування й кількість БМН та везикул у клітинах:  $R_0 = 100-800$  нм,  $r_0 = 20-250$  нм,  $N = 100$  частинок [424], а також радіус везикул, величина якого перебуває в широкому діапазоні значень – від декількох десятків нанометрів до понад 1000 нм (табл. 3.26).

Характерні ж розміри БМН у живих організмів, як вже зазначалося, мають значення 10–250 нм.

Проведені в роботі [398] розрахунки показали, що сили магнітодипольної взаємодії між БМН та везикулами (гранулами) всередині клітини залежать від їхніх розмірів, проте у довгих ланцюжків майже не залежать від кількості наночастинок у ланцюжку – тобто якщо кількість БМН у ланцюжку становить  $\sim 20$  наночастинок, то при подальшому збільшенні кількості цих частинок величини значень магнітодипольних сил взаємодії практично не змінюються.

**Таблиця 3.26.** Розміри низки везикул в організмі людини

№	Гормон	Характерні розміри	Посилання
1	глюкагон	250 нм	[425], [426]
2	інсулін	350 нм	[426]
3	соматостатин	350 нм	[426]
4	панкреатичний поліпептид	не більше 180 нм	[426]
5	грелін	110–150 нм	[427]
6	соматотропін	300–400 нм (гранули – 700–1200 нм)	[428]
7	тиреотропін	100–200 нм	[426]
8	гонадотропіни	275–375 нм	[426]
9	кортикотропні гормони	375–550 нм	[426]
10	окситоцин	200–250 нм	[429]
11	Тироксин (тетрайодтиронін, T4)	150 нм	[430]
12	трийодтиронін(T3)	150 нм	[430]
13	паратиреоїдний гормон	150–300 нм	[431]
14	адреналін	160–360 нм (у середньому 250 нм)	[431]
15	норадреналін	120–320 нм (у середньому 230 нм)	[432]

Крім того, в роботі [398] задля того, щоб можна було стверджувати, що везикули з відповідними розмірами та магнітними властивостями можуть накопичуватися в околі ланцюжків БМН, енергію везикули в магнітному полі співставлено з енергією її теплового руху (результати представлено в табл. 3.27).

Розрахунки показали, що при певних параметрах (радіус БМН  $r_0 = 40\text{--}250$  нм, а радіус везикули  $R_0 = 100\text{--}800$  нм) енергія парамагнітної везикули ( $\chi = 2 \cdot 10^{-4}$ ) в магнітному полі БМН перевищує енергію теплового руху, а, отже, цієї енергії достатньо, щоб утримувати везикули. Водночас, при цьому сила магнітодипольної взаємодії везикули з ланцюжком БМН на два порядки менша, ніж сила взаємодії антиген–антитіло [403, 405, 433], і перша з цих сил повільно спадає разом із відстанню (у пропорції  $1/r^4$ ). Відповідно, магнітні сили охоплюють практично весь об'єм клітини – на відміну від сил взаємодії антиген–антитіло (табл. 3.28).



**Таблиця 3.27.** Порівняння енергій теплового руху везикул та магнітодипольної взаємодії ланцюжка БМН з везикулами

	Діапазон $\chi$	Діапазон $R_0$ , нм	$U$ , ерг (Дж)	$k_B T$ , ерг (Дж)
Ефективно парамагнітні везикули	$10^{-6}$ – $10^{-5}$	100–800	$1 \cdot 10^{-15}$ ерг ( $10^{-22}$ Дж)– $2 \cdot 10^{-13}$ ерг ( $10^{-20}$ Дж)	$4 \cdot 10^{-14}$ ерг ( $10^{-21}$ Дж)
Парамагнітні везикули	$10^{-4}$ – $10^{-3}$	100–800	$5 \cdot 10^{-14}$ ерг ( $10^{-21}$ Дж)– $2 \cdot 10^{-11}$ ерг ( $10^{-18}$ Дж)	
Везикули, що містять магнітні наночастинки	$10^{-2}$ – $10^{-3}$	100–800	$5 \cdot 10^{-13}$ ерг ( $10^{-20}$ Дж)– $2 \cdot 10^{-9}$ ерг ( $10^{-16}$ Дж)	

При розрахунку сил магнітодипольної взаємодії везикул із ланцюжком БМН за формулою (3.63) у роботі [398] розглянуто як парамагнітні везикули ( $\chi = 2 \cdot 10^{-4}$ ), так і діамагнітні, які є ефективно парамагнітними ( $\chi = 2 \cdot 10^{-6}$ ). Якщо везикула є парамагнітною, то вже при величині радіусу магнітної частинки  $r_0 = 20$  нм вони можуть притягувати парамагнітні везикули із розміром понад 100 нм.

Якщо везикула діамагнітна і має ефективну магнітну сприйнятливість, більшу за нуль, то відповідний мінімальний радіус магнітної наночастинки в цьому випадку має становити 50 нм.

Також було проведено порівняння сил магнітодипольної взаємодії ланцюжка БМН з везикулою із силами, які використовуються для забезпечення функціонування магнітного пінцета *in vivo* та *in vitro*.

Відомо, що сили, необхідні для функціонування магнітного пінцету, який використовується для маніпуляцій із керованим переміщенням ДНК всередині живої клітини, мають значення  $\sim 5 \cdot 10^{-9}$  дин ( $10^{-14}$  Н) [434].

**Таблиця 3.28.** Сили взаємодії ефективно парамагнітних і парамагнітних везикул та везикул, що містять

	Діапазон $\chi$	Діапазон $R_0$ , нм	$F$ , дин (Н)	Сила антиген-антитіло, дин (Н)	Сила магнітних пінцетів, дин (Н)	Сила моторних білків, дин (Н)
Ефективно парамагнітні везикули	$10^{-6}$ – $10^{-5}$	250–800	$6 \cdot 10^{-11}$ дин ( $10^{-16}$ Н)– $2 \cdot 10^{-8}$ дин ( $10^{-13}$ Н)			
Парамагнітні везикули	$10^{-4}$ – $10^{-3}$	100–800	$7 \cdot 10^{-9}$ дин (наночастинки магнетиту, з ланцюжком БМН, у порівнянні з силою взаємодії антиген-антитіло, силою, що необхідна для функціонування магнітного пінцету, та силами, які розвивають молекулярні мотори $10^{-14}$ Н) – $2 \cdot 10^{-6}$ дин ( $10^{-11}$ Н)	$1 \cdot 10^{-5}$ дин ( $10^{-10}$ Н)– $3 \cdot 10^{-5}$ дин ( $10^{-10}$ Н) [403, 405, 433]	$5 \cdot 10^{-9}$ дин ( $10^{-14}$ Н) [434]	$5 \cdot 10^{-10}$ дин ( $10^{-15}$ Н)– $6 \cdot 10^{-9}$ дин ( $10^{-14}$ Н) [435, 436]
Везикули, що містять магнітні наночастинки	$10^{-2}$ – $10^{-3}$	100–800	$7 \cdot 10^{-7}$ дин ( $10^{-12}$ Н)– $2 \cdot 10^{-4}$ дин ( $10^{-9}$ Н)			

Крім того, було проведено порівняння сил магнітодипольної взаємодії ланцюжка БМН з везикулою із силами, що необхідні для функціонування моторних білків і чий значення перебувають у діапазоні від  $5 \cdot 10^{-10}$  дин ( $10^{-15}$  Н) до  $6 \cdot 10^{-9}$  дин ( $10^{-14}$  Н) [435, 436].

Розрахунки показали [398], що за певних розмірів наночастинок та везикул ці сили дещо більші, ніж сили, необхідні для функціонування магнітного пінцета та моторних білків.

Так, виходячи з відповідних параметрів системи (для парамагнітних везикул – радіус БМН  $r_0 > 20$  нм та радіус везикули  $R_0$  від 100 до 800 нм, а для діамагнітних –  $r_0 > 100\text{--}150$  нм і  $R_0 = 100\text{--}800$  нм), отримано магнітодипольні сили взаємодії БМН з везикулами в клітинах у діапазоні значень від  $6 \cdot 10^{-11}$  дин ( $10^{-16}$  Н) до  $7 \cdot 10^{-9}$  дин ( $10^{-14}$  Н).

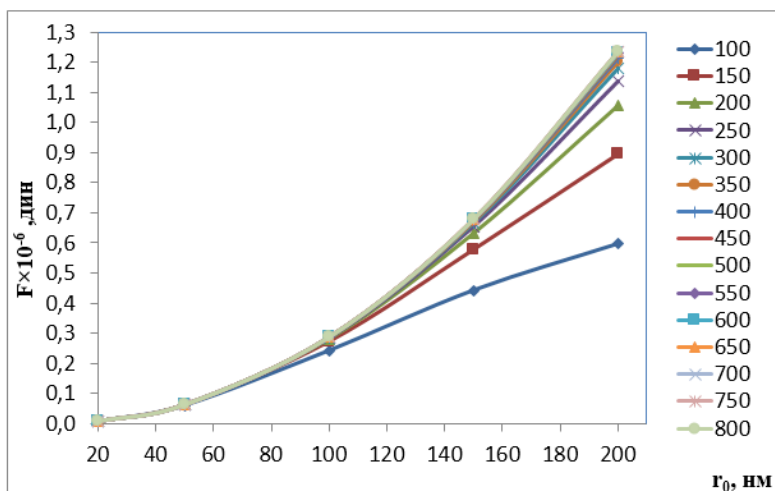
Тож оскільки розрахунки показують, що магнітні сили мають достатню величину для суттєвого впливу на везикулярне транспортування, то зрозуміло, що вони можуть впливати на метаболізм у тканинах та органах, які містять БМН, а також у патологічно змінених органах та тканинах, в яких спостерігається біомінералізація БМН та БМП можуть працювати як магнітні концентратори.

На рис. 3.35 показано залежність сил магнітодипольної взаємодії між БМН та везикулами всередині клітин від радіусів везикул, а на рисунку 3.36 – залежність сил магнітодипольної взаємодії між БМН та везикулами всередині клітин від радіусів БМН [398].

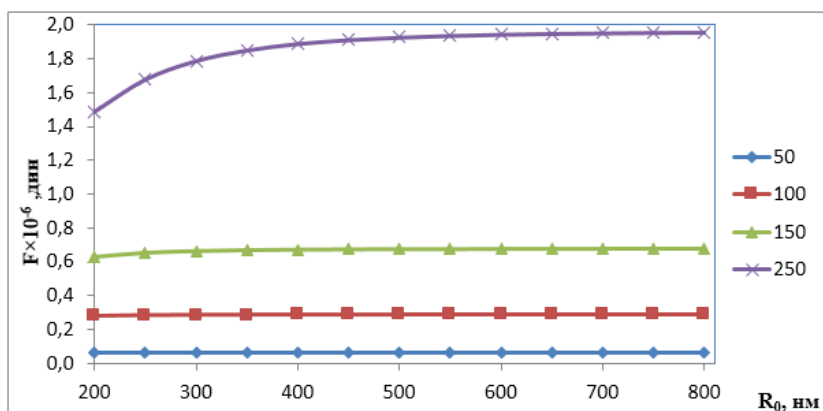
Таким чином, у роботі [398] вперше показано, що енергія ефективно парамагнітних везикул у магнітному полі ланцюжка БМН перевищує енергію їх теплового руху при розмірах БМН, більших за 50 нм, і розмірах везикул вище 100 нм, а енергія парамагнітних везикул перевищує енергію їх теплового руху при розмірах БМН, більших за 20 нм, і розмірах везикул вище 100 нм. Таким чином, енергія магнітодипольної взаємодії БМН з везикулами в клітині є достатньою, щоб утримувати везикули із позитивною ефективною магнітною сприйнятливістю в околі ланцюжка БМН (тобто біля мембрани клітини).

Сили магнітодипольної взаємодії, які виникають всередині клітини між БМН та ефективно парамагнітними везикулами, перебувають у діапазоні значень від  $10^{-11}$  дин ( $10^{-16}$  Н) до  $10^{-8}$  дин ( $10^{-13}$  Н), БМН та парамагнітними везикулами – в діапазоні від  $10^{-9}$  дин ( $10^{-14}$  Н) до  $10^{-6}$  дин ( $10^{-13}$  Н), а БМН та везикулами, які містять магнітні наночастинки магнетиту, – від  $10^{-7}$  дин ( $10^{-12}$  Н) до  $10^{-4}$  дин ( $10^{-9}$  Н).

Магнітодипольні сили в околі ланцюжка БМН у ефективно парамагнітних та парамагнітних везикул є значно меншими за сили специфічної взаємодії типу «антиген–антигло», а у везикул, які містять магнітні наночастинки, вони є більшими або такого самого порядку, що й сили специфічного зв'язування.



**Рис. 3.35.** Залежність сили магнітодипольної взаємодії між БМН та везикулою всередині клітини від радіусу везикул, який становить 200–800 нм (відстань між БМН у ланцюжку  $\Delta = 8 \cdot 10^{-7}$  нм, відстань від кінчика ланцюжка до везикули  $\Delta_0 = 4 \cdot 10^{-7}$  нм, радіус БМН  $r_0$  становить 50–250 нм, табличне значення намагніченості для магнетиту  $M_0 = 477$  од. СГСМ, а кількість БМН  $N = 100$  частинок)



**Рисунок 3.36.** Залежність сили магнітодипольної взаємодії між БМН та везикулою всередині клітини від радіусу БМН, який становить 20–250 нм (відстань між БМН у ланцюжку  $\Delta = 8 \cdot 10^{-7}$  нм, відстань від кінчика ланцюжка до везикули  $\Delta_0 = 4 \cdot 10^{-7}$  нм, радіус везикули  $R_0$  становить 200–800 нм, табличне значення намагніченості для магнетиту  $M_0 = 477$  од. СГСМ, а кількість БМН  $N = 100$  частинок)

Крім того, магнітодипольні сили у ефективно парамагнітних везикул при розмірах БМН 20–150 нм і розмірах везикул, більших за 100 нм, а у парамагнітних везикул – при розмірах БМН порядку 20 нм і розмірах везикул вище 100 нм мають такі самі значення, що й сили, необхідні для функціонування магнітного пінцета.

Слід зазначити, що сили магнітної взаємодії у парамагнітних везикул при розмірах БМН 20 нм і розмірах везикул вище 100 нм не можуть бути використані для переміщення везикул, а тільки для утримання їх біля клітинної мембрани. Це значно збільшує імовірність злиття везикул, виникнення парних процесів їх взаємодії з рецепторами на мембрані та появи взаємодії вмісту везикул з іншими біологічно активними речовинами, які транспортуються через неї.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

### До розділу 1

1. *Скорород В.В.* Состояние и перспективы развития научных основ порошковой металлургии // Порошковая металлургия. – 1985. – №10. – С. 20–24.
2. *Скорород В.В.* Иерархия структурных уровней и структурная инженерия неорганических материалов // Неорганическое материаловедение: энциклопедич. изд. в двух тт. – Т. 1: Основы науки о материалах / Институт проблем материаловедения им. И. Н. Францевича НАН Украины; под ред. Г. Г. Гнесина, В. В. Скоророда. – К.: Наук. думка, 2008. – С. 339–357.
3. *Скорород В. В.* Концепция иерархии структурных уровней и принципы структурной инженерии неорганических материалов // Порошковая металлургия. – 2009. – № 7/8. – С. 33–48.
4. *Гетьман О. І.* Керування структурно-фазовими перетвореннями в імпрегнованих металопористих катодах та керамічних матеріалах під дією високих температур та НВЧ-поля: дис. д-ра техн. наук (на правах рукопису). – К.: ІПМ ім. І. М. Францевича НАН України, 2016. – 243 с.
5. *Скорород В. В.* Фізико-хімічна кінетика в наноструктурних системах / В. В. Скорород, І. В. Уварова, А. В. Рагуля. – К.: Академперіодика, 2001. – 179 с.
6. *Нанотехнологии* в электронике; под ред. Ю. А. Чаплыгина. – М.: Техносфера, 2005. – 448 с.
7. *Наноматериалы* и нанотехнологии; под ред. В. Борисенко, Н. Толочко. – Минск: Изд. центр Беларус. гос. ун-та, 2008. – 375 с.
8. *Gao X. In vivo Cancer Targeting and Imaging with Semiconductor Quantum Dots / X. Gao, Y. Cui, R. M. Levenson et al.// Nat. Biotechnol.* – 2004. – №. 22. – P. 969–976.
9. *Чекман І. С.* Нанофармакологія. – К.: Задруга, 2011. – 424 с.
10. *Чекман І. С.* Нанонаука, нанобіологія, нанофармація / І. С. Чекман, З. Р. Ульберг, В. О. Маланчук та ін. – К.: Поліграфплюс, 2012. – 328 с.
11. *Chekman I. S. The Prospects of Medical Application of Metal-Based Nanoparticles and Nanomaterials / I. S. Chekman, Z. R. Ulberg, N. O. Gorchakova et al. // Лікарська справа.* – 2011. – Т. 1108, № 1-2. – С. 3–21.
12. *Артамонова Н. О.* Нанотехнології в медицині та онкології / Н. О. Артамонова, О. В. Масіч, Ю. В. Павліченко // Укр. радіологічний журнал. – 2010. – Т. 18, № 1. – С. 102–111.

13. *Чекман І. С.* Нанобіотехнології: клініко-фармакологічний аспект / І. С. Чекман, А. В. Рибачук // Ліки України. – 2010. – № 1 (137). – С. 88–92.
14. *Биофармация как наука и основа технологии лекарственных препаратов: краткий исторический обзор развития биофармации. Фармацевтические факторы* [Эл. реестр. Режим доступа: <http://www.myshared.ru/slide/752516>].
15. *Чекман І. С.* Фармакологія / І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, В. А. Туманов та ін. – К.: Вища школа, 2001. – 598 с.
16. *Головенко М. Я.* Фізико-хімічна фармакологія: монографія. – Одеса: Астропринт, 2004. – 720 с.
17. *Чекман І. С.* Наноматеріали і наночастинки: класифікація / І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, О. Ю. Озейчук // Вісник Національного мед. ун-ту ім. О. О. Богомольця. – 2009. – № 2. – С. 188–201.
18. *Kong W.* Strategies for Profiling MicroRNA Expression / W. Kong, J. Zhao, L. He et al. // J. of Cellular Physiology. – 2009. – Vol. 218. – P. 22–25.
19. *Wang W.* Monitoring of Vesicular Exocytosis from Single Cells Using Micrometer and Nanometer-Sized Electrochemical Sensors / W. Wang, S. Zhang, L. Li L. et al. // Anal. Bioanal. Chem. – 2009. – Vol. 394. – P. 17–32.
20. *Freitas R. A.* Basic Capabilities. Landes Bioscience // Nanomedicine. – 1999. – Vol. 1. – P. 204–220.
21. *Sotiriou C.* Gene-Expression Signatures in Breast Cancer / C. Sotiriou, L. Pusztai // The New England Journal of Medicine. – 2009. – Vol. 360. – P. 790–800.
22. *Залеский В. М.* Молекулярная визуализация в медицине: проблемы и перспективы / В. М. Залеский, О. Б. Дынник // Укр. мед. часопис. – Актуальні питання клінічної практики. – 2005. – № 2 (46). – С. 76–83.
23. *Geyer F.* Genomweite Expressions-Profile als Klinische Entscheidungshilfe. Bereit for die Praxis? / F. Geyer, T. Decker, J. Reis-Filho // Der Pathologe J. – 2009. – Vol. 30. – P. 141–146.
24. *Деримедведь Л. В.* Взаимодействие лекарств и эффективность фармакотерапии / Л. В. Деримедведь, И. М. Перцев, Е. В. Шуванова и др. – Х.: Мегаполис, 2002. – 784 с.
25. *Перцев І. М.* Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність / І. М. Перцев, Д. І. Дмитрівський, В. Д. Рибачук та ін.; навч. посіб.; за ред. І. М. Перцева. – Х.: Золоті сторінки, 2010. – 600 с.
26. *Фармацевтична енциклопедія*; 2-е вид.; голова ред. ради В. П. Черних. – К.: МОРІОН, 2010. – 1632 с.

27. *Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків*; за ред. проф. І. М. Перцева. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 728 с.
28. *Ranade V. V. Drug Delivery Systems/ V. V.Ranade, M. A. Hollinger.* – CRC Press, 2003. – 520 p.
29. *Северин Е. С.* Проблемы и перспективы противоопухолевой терапии / Е. С. Северин, А. В. Родина // *Успехи биологической химии.* – 2006. – **46.** – С. 43–64.
30. *Alberts B. Essential Cell Biology; 2 ed.* – New York: Garland Science, 2005. – 340 p.
31. *Howe C. L.* Modeling the Signaling Endosome Hypothesis: why a drive to the nucleus is better than a (random) walk // *Theor. Biol. Med. Mod.* – 2005. – **15.** – P. 1–15.
32. *Kholodenko B. N.* Four-Dimensional Organisation of Protein Kinase Signaling Cascades: the roles of diffusion, endocytosis and molecular motors // *J. Exp. Biol.* – 2003. – **206.** – P. 2073–2082.
33. *Yang J.* Evaluation of Disulfide Reduction During Receptor-Mediated Endocytosis by Using FRET Imaging / J. Yang, H. Chen, I. R. Vlahov et al. // *Proc. of National Academy of Sciences of United States.* – 2006. – **103,** No. 37. – P. 13872–13877.
34. *Дудниченко А. С.* Липосомальные лекарственные препараты в эксперименте и клинике / А. С. Дудниченко, Ю. М. Краснопольский, В. И. Швец. – Харьков: РА-Каравелла, 2001. – 143 с.
35. *Сариев А. К.* Проблема повышения биодоступности лекарственных средств методами нанофармакологии: фармакокинетика липосомальных препаратов / А. К. Сариев, Д. А. Абаимов, Р. Д. Сейфулла // *Вестник Московского технологического университета (МИТХТ).* – 2009. – **4.** – С. 4–25.
36. *Lopes de Menezes D. E.* Selective Targeting of Immunoliposomal Doxorubicin against Human Multiple Myeloma *in vitro* and *ex vivo* / D. E. Lopes de Menezes, L. M. Pilarski, A. R. Belch, T. M. Alien // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – **1466** (1-2). – P. 205–220.
37. *Кобринский Г.* Липосомы в медицине [Эл. ресурс. Режим доступа: <http://n-t.ru/nj/nz/1988/0601.htm>].
38. *Личковський Е. І.* Біофізика. Фізичні методи аналізу та метрологія: підручник / Е. І. Личковський, В. О. Тіманюк, О. В. Чалий та ін.; за ред. Е. І. Личковського та В. О. Тіманюка. – Вінниця: Нова книга, 2014. – 454 с.
39. *Швец В. И.* Липосомы в фармации. Продукты нанобиотехнологии / В. И. Швец, Ю. М. Краснопольский // *Провизор.* – 2008. – № 3. – С.18–24.



40. *Медицинский* новостной портал medpharmconnect.com™ [Ел. реєстр. Режим доступу: medpharmconnect.com/novosti\_doksil.htm].
41. *Kirpotin D.* Sterically Stabilized Anti-HER2 Immunoliposomes: design and targeting to human breast cancer cells *in vitro* / D. Kirpotin, J. W. Park, K. Hong et al. // *Biochemistry*. – 1997. – **36**. – P. 66–75.
42. *Park J. W.* Immunoliposomes for Cancer Treatment / J. W. Park, K. Hong, D. B. Kirpotin et al. // *Adv. Pharmacol.* – 1997. – **40**. – P. 399–435.
43. *Liposomal Technology*. – Vol. I: Liposome Preparation and Related Techniques; 3<sup>d</sup> ed.; in 3 vol.; ed. by G. Gregoriadis. – New-York–London: Informa Healthcare, 2007. – 346 p.
44. *Papahadjopoulos D.* Targeting of Drugs to Solid Tumors Using Anti-HER2 Immunoliposomes / D. Papahadjopoulos, D. Klipotin, J. Park et al. // *J. Liposome Research*. – 1998. – **8**, No. 4. – P. 425–442.
45. *Dufresne I.* Targeting Lymph Nodes with Liposomes Bearing Anti-HLA-DR Fab/Fragments / I. Dufresne, A. Desormeaux, J. Bestman-Smith et al. // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1999. – **1421**, No. 2. – P. 284–294.
46. *Перспективы* применения липосомальных форм. – Раздел «Рефераты по медицине» [Ел. реєстр. Режим доступу: <http://www.bestreferat.ru/referat-219221.html>].
47. *Варнаховская И.* Липосомальные формы лекарственных средств // *Ремедиум*. – 1999. – № 5. – С. 68–70.
48. *Manosroi A.* Thermodynamic Characteristics of Human Insulin Deae–Dextran Complex Entrapped in Liposomes / A. Manosroi, A. Blume et al. // *Drug. Dev. @ Ind. Pharm.* – 1990. – Vol. 16, No. 5. – P. 837–854.
49. *Каплун А. П.* Липосомы и другие наночастицы как средство доставки лекарственных веществ / А. П. Каплун, Л. Б. Шон, Ю. М. Краснопольский, В. И. Швец // *Вопр. мед. химии*. – 1999. – № 1. – С. 25–28.
50. *Danenerg H. D.* Macrophage Depletion by Clodronate Containing Liposomes Reduces Neointimal Formation after Ballon Injury in Rats and Rabbits / H. D. Danenerg, I. Fishbein, J. Gao et al. // *Circulation*. – 2002. – Vol. 106, No. 5. – P. 599–605.
51. *Demos S. M.* *In vitro* Targeting of Antibody-Conjugated Echogenic Liposomes for Site-Specific Ultrasonic Image Enhancement / S. M. Demos, H. Onyuksel, J. Gilbert et al. // *J. Pharm. Sci.* – 1997. – Vol. 86, No. 2. – P. 167–171.
52. *Онейда Й.* Глосарій термінів з хімії / Й. Опейда, О. Швайка. – Донецьк: Вебер, 2008. – 758 с.
53. *Bauer R. E.* Single-Crystal Structures of Polyphenylene Dendrimers / R. E. Bauer, V. Enkelmann, U. M. Wiesler et al. // *Chemistry Europ. J.* – 2002. – Vol. 8, Iss. 17. – P. 3858–3864.

54. *Bharali D. J.* Nanoparticles and Cancer Therapy: a concise review with emphasis on dendrimers / D. J. Bharali, M. Khalil, M. Gurbuz et al. // Intern. Journal of Nanomedicine. – 2009. – Vol. 4, No. 1. – P. 1–7.
55. *Arap W.* Cancer Treatment by Targeted Drug Delivery to Tumor Vasculature in a Mouse Model / W. Arap, R. Pasqualini, E. Ruoslahti // Science. – 1998. – **279**. – P. 377–380.
56. *Hermanson G. T.* Bioconjugate Techniques. – San Diego: Academic Press, 2000. – 760 p.
57. *Misra A.* Drug Delivery to the Central Nervous System: a review / A. Misra, S. Ganesh, A. Shahiwala et al. // J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2003. – **6**. – P. 252–273.
58. *Cheng Y.* Structure of the Human Transferrin Receptor–Transferrin Complex / Y. Cheng, O. Zak, P. Aisen et al. // Cell. – 2004. – **6**. – P. 565–576.
59. *Aisen P.* Transferrin, the Transferrin Receptor and the Uptake of Iron by Cells // Metal. Ions Biol. Syst. – 1998. – **35**. – P. 535–631.
60. *Qian Z. M.* Targeted Drug Delivery via the Transferrin Receptor-Mediated Endocytosis Pathway / Z. M. Qian, H. Li, H. Sun et al. // Pharmacol. Rev. – 2002. – **54**. – P. 561–587.
61. *Dharap S. S.* Tumor-Specific Targeting of an Anticancer Drug Delivery System by LHRH Peptide / S. S. Dharap, Y. Wang, P. Chandna et al. // Proc. of National Academy of Sciences of United States of America. – 2005. – **102**. – P. 12962–12997.
62. *Grundker C.* Gonadotropin-Releasing Hormone Receptor-Targeted Gene Therapy of Gynecologic Cancers / C. Grundker, N. A. Huschmand, G. Emons // Mol. Cancer. Ther. – 2005. – **4**. – P. 225–231.
63. *Ефимов А. С.* Структура и функции инсулиновых рецепторов / А. С. Ефимов, Ю. В. Бездробный. – К.: Наук. думка, 1987. – 168 с.
64. *Frittitta L.* Functional Insulin Receptors are Overexpressed in Thyroid Tumors: is this an early event in thyroid tumorigenesis? / L. Frittitta, L. Sciacca, R. Catalfamo et al. // Cancer. – 1999. – **85**. – P. 492–498.
65. *Vella V.* The IGF System in Thyroid Cancer: new concepts / V. Vella, L. Sciacca, G. Pandini et al. // J. Clinical Pathology. – 2001. – **54**, No. 3. – P. 121–124.
66. *Belfiore A.* Insulin/IGF-I Hybrid Receptors Play a Major Role in IGF-I Signaling in Thyroid Cancer/ A. Belfiore, G. Pandini, V. Vella et al. // Biochem. – 1999. – **81**. – P. 403–407.
67. *Sciacca L.* Insulin Receptor Activation by IGF-II in Breast Cancers: evidence for a new autocrine/paracrine mechanism / L. Sciacca, A. Costantino, G. Pandini et al. // Oncogene. – 1999. – **18**. – P. 2471–2479.
68. *Лакин В. В.* Белково-пептидные гормоны. Биохимическая фармакология. – М.: Медицина, 1982. – С. 228–244.

69. *Vajo Z.* Genetically Engineered Insulin Analogs: diabetes in the new millenium / *Z. Vajo, W. C. Duckworth* // *Pharmacological Rev.* – 2000. – **52**, No. 1. – P. 1–10.
70. *Маслов Д. Л.* Исследование способности липосом, модифицированных синтетическими фрагментами инсулина, специфически взаимодействовать с клетками РС 12 / *Д. Л. Маслов, В. Н. Прозоровский* // *Вопр. медицинской химии.* – 2000. – № 4. – С. 377–383.
71. *Kolb H. J.* Reevaluation of Sepharose–Insulin as a Tool for the Study of Insulin Action / *H. J. Kolb, R. Renner, K. D. Hepp et al.* // *Proc. of National Academy of Sciences of United States of America.* – 1975. – **72**, No. 1. – P. 248–252.
72. *Moro R.* Monoclonal Antibodies Directed against a Widespread Oncofetal Antigen: the alpha-fetoprotein receptor / *R. Moro, T. Tamaoki, T. G. Wegmann et al.* // *Tumour Biol.* – 1993. – **14**. – P. 116–130.
73. *Ницетов М. Б.* Изучение экспрессии рецептора альфа-фетопротеина в опухолевых и нормальных тканях человека с помощью иммуногистохимического метода / *М. Б. Ницетов, Е. Ю. Москалева, Г. А. Посыпанова и др.* // *Иммунология.* – 2005. – № 2. – С. 122–125.
74. *Severin S. E.* Alpha-Fetoprotein-Mediated Targeting of Anti-Cancer Drugs to Tumor Cells *in vitro* / *S. E. Severin, E. Y. Moskaleva, I. I. Shmyrev et al.* // *Biochem. Mol. Biol.* – 1995. – **37**. – P. 385–392.
75. *Sveshnikov P. G.* Protein Kinase A: regulation and receptor-mediated delivery of antisense oligonucleotides and cytotoxic drugs / *P. G. Sveshnikov, I. D. Grozdova, M. D. Nesterova* // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 2002. – **968**, No. 1. – P. 158–172.
76. *Sotnichenko A. I.* A New Efficient Technology for the Isolation of Human  $\alpha$ -Fetoprotein and the Status of Free Sulfhydryl and Amino Groups in the Resulting Preparation / *A. I. Sotnichenko, D. V. Zabolotnev, S. E. Severin* // *Russian J. Bioorg. Chem.* – 2001. – **27**. – P. 213–217.
77. *Sharkey R. M.* Targeted Therapy of Cancer: new prospects for antibodies and immunoconjugates / *R. M. Sharkey, D. M. Goldenberg* // *CA Cancer J. Clin.* – 2006. – **56**. – P. 226–243.
78. *Moos T.* Restricted Transport of Antitransferrin Receptor Antibody (OX26) through the Bloodbrain Barrier in the Rat / *T. Moos, E. H. Morgan* // *Neurochem.* – 2001. – **79**. – P. 119–129.
79. *Барышников А. Ю.* Иммунолипосомы – новое средство доставки лекарственных препаратов / *А. Ю. Барышников, Н. А. Оборотов* // *Соврем. онкология.* – 2003. – **3**, № 2. – С. 12–15.
80. *Maruyama K.* *In vivo* Targeting by Liposomes // *Biol. Pharm. Bull.* – 2000. – **23**. – P. 791–799.

81. *Wright S.* Antibody Directed Liposomes as Drug Delivery Vehicles / S. Wright, L. Huang // *Advanced Drug Delivery Reviews.* – 1989. – **3.** – P. 343–389.
82. *Torchilin V. P.* Targeted Accumulation of Polyethyleneglycol-Coated Immunoliposomes in Infarcted Rabbit Myocardium / V. P. Torchilin, A. L. Klibanov, L. Huang et al. // *FASEB J.* – 1992. – **6.** – P. 2716–2719.
83. *Huang L.* Liposome and Immunoliposome Mediated Delivery of Proteins and Peptides / L. Huang, F. Zhou; ed. by G. Gregoriadis, A. C. Allison, G. Poste // *Targeting of Drugs.* – 3. The Challenge of Peptides and Proteins. – NATO Advance Study Institute Series: Plenum, 1992. – P. 45–50.
84. *Park J. W.* Tumor Targeting Using Anti-HER2 Immunoliposomes / J. W. Park, D. B. Kirpotin, K. Hong et al. // *J. Control Release.* – 2001. – **74** (1-3). – P. 95–113.
85. *Bestman-Smith J.* Sterically Stabilized Liposomes Bearing Anti-HLA-DR Antibodies for Targeting the Primary Cellular Reservoirs of HIV-1 / J. Bestman-Smith, P. Gourde, A. Desormeaux et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – **1468**, No. 1-2. – P. 161–174.
86. *Lundberg B. B.* Specific Binding of Sterically Stabilized Anti-B-Cell Immunoliposomes and Cytotoxicity of Entrapped Doxorubicin / B. B. Lundberg, G. Griffiths, H. J. Hansen // *Int. J. Pharm.* – 2000. – **205**, No. 1-2. – P. 101–108.
87. *Derossi D.* The Third Helix of the *Antennapedia homeodomain* Translocates through Membranes / D. Derossi, A. Joliot, G. Chassaing et al. // *J. Biol. Chem.* – 1994. – **269.** – P. 10444–10450.
88. *Frankel A. D.* Cellular Uptake of the Tat Protein from Human Immunodeficiency Virus / A. D. Frankel, C. O. Pabo // *Cell.* – 1988. – **55.** – P. 1189–1193.
89. *Green M.* Autonomous Functional Domains of Chemically Synthesized Human Immunodeficiency Virus Tat Trans-Activator Protein / M. Green, P. M. Loewenstein // *Ibid.* – P. 1179–1188.
90. *Morris M. C.* A Peptides Carrier for the Delivery of Biologically Active Proteins in Mammalian Cells / M. C. Morris, J. Depollier, J. Mery et al. // *Nat. Biotechnology.* – 2001. – **19.** – P. 1173–1176.
91. *Wadia J. S.* Protein Transduction Technology / J. S. Wadia, S. F. Dowdy // *Curr. Opin. Biotechnology.* – 2002. – **13.** – P. 52–56.
92. *Чекман І. С.* Наномедицина та кардіологія: нанотехнології в коронарній ревазуляції й корекції системи гемостазу / І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, А. К. Галицька та ін. // *Укр.кардіолог. журнал.* – 2013. – № 2. – С. 103–112.
93. *Чекман І. С.* Основи наномедицини / І. С. Чекман, В. О. Маланчук, А. В. Рибачук. – К.: Логос, 2011. – 250 с.

94. *Zhang Y.* Nanomaterials for Cardiac Tissue Engineering Application / Y. Zhang, Y. Tang, Y. Wang, L. Zhang // *Nano-Micro Lett.* – 2011. – Vol. 3, No. 4. – P. 270–277.
95. *Shi G.* Hemoglobin Conjugated Micelles Based on Triblock Biodegradable Polymers as Artificial Oxygen Carriers / G. Shi, Y. Huang, X. Chen et al. // *Biomaterials.* – 2009. – Vol. 30, No. 28. – P. 5077–5085.
96. *Donovan T.* The Use of Plastic Tubes in the Reparative Surgery of Battle Injuries to Arteries with and without Intraarterial Heparin Administration / T. Donovan, B. Zimmerman // *Ann. Surg.* – 1949. – Vol. 130, No. 6. – P. 402–406.
97. *Kang H. J.* Controlled Drug Release Using Nanoporous Anodic Aluminium Oxide on Stent / H. J. Kang, D. J. Kim, S. J. Park et al. // *Thin Solid Films.* – 2007. – Vol. 515, No. 12. – P. 5184–5187.
98. *Fine E.* Enhanced Endothelial Cell Functions on Rosette Nanotube-Coated Titanium Vascular Stents / E. Fine, L. Zhang, H. Fenniri et al. // *Int. J. Nanomedicine.* – 2009. – Vol. 4. – P. 91–97.
99. *Obolenskaya M. Y.* The Potential Targets of Kupffer Cells Activity during Liver Regeneration // *Биополимеры и клетка.* – 1997. – Т. 13, № 2. – С. 168–172.
100. *Терапія наночастицями: новий спосіб лічення рака* [Ел. реєстр. Режим доступу: <http://www.medicus.ru/oncology/patient/terapiya-nanochasticami-novyj-sposob-lecheniya-raka-31864.phtml>].
101. *Мамчур А. А.* Фотоактивні кон'югати для спрямованої протипухлинної фотодинамічної терапії / А. А. Мамчур, І. О. Лісник, Н. Л. Новиченко // *Онкологія.* – 2008. – Т. 10, № 2. – С. 206–212.
102. *Олійник О. С.* Клонування та експресія функціонально активного фрагмента D<sub>2</sub>E<sub>2</sub>A<sub>2</sub>A\* протеїну А *Staphylococcus aureus* / О. С. Олійник, Д. В. Колибо, А. А. Кабернюк та ін. // *Біотехнологія.* – Т. 2, № 1. – 2009. – С. 59–68.
103. *Рыбалкина М.* Нанотехнологии для всех. Большое – в малом. – М.: Nanotechnology News Network, 2005. – 436 с.
104. *Baker C.* Synthesis and Antibacterial Properties of Silver Nanoparticles / C. Baker, A. Pradhan, L. Pakstis et al. // *J. of Nanoscience and Nanotechnology.* – 2005. – Vol. 2, No. 2. – P. 244–247.
105. *Курапов Ю. А.* Аналіз колоїдних систем на основі наночастинок Cu–O–H<sub>2</sub>O та Ag–O–H<sub>2</sub>O, отриманих методом молекулярних пучків / Ю. А. Курапов, Л. А. Крушинська, В. Ф. Горчев та ін. // *Доповіді НАН України.* – 2009. – № 7. – С. 176–181.
106. *Evanoff D.* Synthesis and Optical Properties of Silver Nanoparticles and Arrays / D. Evanoff, G. Chumanov // *Chem. Phys. Chem.* – 2005. – Vol. 6. – P. 1221–1231.

107. *Kisterская Л. Д.* Размеры и распределение наночастиц металлов в коллоидных растворах, полученных методом плазменного распыления с одновременной имплантацией частиц в жидкую среду / Л. Д. Кистерская, В. В. Садохин, В. П. Садохин и др. // *Наноструктурное материаловедение*. – 2012. – № 4. – С. 105–111.
108. *Кістерська Л. Д.* Інноваційна технологія виробництва біосумісних нанодезінфектантів нового покоління / Л. Д. Кістерська, О. Б. Логінова, В. В. Садохін, В. П. Садохін // *Вісник НАН України*. – 2005. – № 1. – С. 39–48.
109. *Kawata S.* Module-Bases Assembly of Copper(II) Chlor-Anilate Compounds: synthesis, crystal structures and magnetic properties / M. Kawahara, M. K. Kabir, K. Yamada et al. // *Inorg. Chem.* – 2004. – Vol. 43, No. 4. – P. 92–100.
110. *Чуйко А. А.* Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / А. А. Чуйко, В. К. Погорелький, А. А. Пентюк и др. – К.: Наукова думка, 2003. – 415 с.
111. *Roeder B.* Antibiotic Beards in the Treatment of Diabetic Pedal Osteomyelitis / B. Roeder, C. C. V. Gils, S. Maling // *J. Foot and Ankle Surgery*. – 2000. – **39**, No. 2. – P. 124–130.
112. *Zelken J.* PMMA is Superior to Hydroxyapatite for Colony Reduction in Induced Osteomyelitis / J. Zelken, T. Wanich, M. Gardner et al. // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2007. – No. 462. – P. 190–194.
113. *Tsai S.-W.* Beards of Collagen–Nanohydroxyapatite Composites Prepared by Biomimetic Process and the Effects of their Surface Texture on Cellular Behaviour in MG63 Osteoblast-Like Cells / S.-W. Tsai, F.-Y. Hsu, P.-L. Chen // *Acta Biomater.* – 2008. – **4**, No. 5. – P. 1332–1341.
114. *Wang G. H.* The Release of Cefazolin and Gentamicin from Biodegradable PLA/PGA Beads / G. H. Wang, S.-J. Liu, S. W.-N. Ueng, E.-C. Chan // *Intern. J. of Pharmaceutics*. – 2004. – **273**, No. 1-2. – P. 203–212.
115. *Descamps M.* Manufactured of Hydroxyapatite Beards for Medical Applications / M. Descamps, J. C. Hornez, A. Leriche // *J. Eur. Ceramic Society*. – 2009. – **29**, No. 3. – P. 369–375.
116. *Hall E. W.* Release of Daptomycin from Polymethylmethacrylate Beads in a Continuous Flow Chamber / E. W. Hall, M. S. Rouse, D. J. Jacofsky et al. // *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. – 2004. – **50**, No. 4. – P. 261–265.
117. *Frutos P.* Release of Gentamicin Sulphate from a Modified Commercial Bone Cement. Effect of (2-Hydroxyethylmethacrylate) Comonomer and Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) Additive on Release Mechanism and Kinetics / P. Frutos, E. Diez-Peña, G. Frutos, J. M. Barrales-Rienda // *Biomaterials*. – 2002. – **23**, No. 18. – P. 3787–3797.

118. *Lew H.* A Morphological Study of Drill Holes Applied with Mitomycin-C in Hydroxyapatite Orbital Implants / H. Lew, S. Y. Lee, W. I. Yang, S. J. Kim // *Ophthalmic Res.* – 2001. – No. 33. – P. 340–344.
119. *Shirliff M. E.* Experimental Osteomyelitis Treatment with Antibiotic-Impregnated Hydroxyapatite / M. E. Shirliff, J. H. Calhoun, J. T. Mader // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2002. – No. 401. – P. 239–247.
120. *Harries A. D.* Deaths from Tuberculosis in Sub-Saharan African Countries with a High Prevalence of HIV-1 / A. D. Harries, N. Hargreaves, J. Kemp et al. // *Lancet.* – 2001. – No. 357. – P. 1519–1523.
121. *Sosnika A.* New Old Challenges in Tuberculosis: potentially effective nanotechnologies in drug delivery / A. Sosnika, A. M. Carcaboso, R. J. Glisonia et al. // *Advanced Drug Delivery Reviews.* – 2010. – 62, No. 4-5. – P. 547–559.
122. *Іващенко О. А.* Матеріал на основі гідроксиапатиту для локальної терапії дефектів кісток // *Наноструктурное материаловедение.* – 2012. – № 2. – С. 58–68.
123. *Миرونчик О. В.* Структурні характеристики та бактерицидні властивості гідроксиапатиту, збагаченого сріблом / О. В. Миرونчик, Н. В. Ульянович, І. В. Уварова та ін. // *Там само.* – 2012. – № 2. – С. 69–75.
124. *Уварова І. В.* Наноматеріали медичного призначення / І. В. Уварова, П. П. Горбик, С. В. Горобець та ін. – К.: Наук. думка, 2014. – 416 с.
125. *Уварова І. В.* Наноматеріали та їх використання у медичних виробках: навчальний посібник / І. В. Уварова, В. Б. Максименко, Т. М. Ярмола. – К.: КІМ, 2013. – 172 с.
126. *Уварова І. В.* Біосумісні матеріали для медичних виробів: навчальний посібник / І. В. Уварова, В. Б. Максименко. – К.: КІМ, 2013. – 232 с.
127. *Ivashchenko O.* Fourier-Transform Infrared Spectroscopy of Antibiotic Loaded Ag-Free and Ag-Doped Hydroxyapatites / O. Ivashchenko, T. Tomila, N. Ulyanchich et al. // *Advanced Science, Engineering and Medicine.* – 2014. – Vol. 6, No. 2. – P. 193–202.
128. *Ульянчич Н. В.* Возможность использования кальцийфосфатной керамики в качестве носителя лекарственных средств / Н. В. Ульянович, Е. А. Иващенко, И. В. Уварова и др. // *Укр. морфолог. альманах.* – 2010. – 8, № 2. – С. 44–46.
129. *Ульянчич Н. В.* Гідроксиапатит та його використання в медицині / Н. В. Ульянович, В. В. Поворознюк, О. О. Євтушенко, О. Б. Шеремет // *Проблеми остеології.* – 1999. – 2, № 4. – С. 71–75.
130. *Ulianchych N.* Controlled Properties of Osteotropic Biomins Implant Material for Various Clinical Applications (Literature Review and Own Results) / N. Ulianchych, O. Mishchenko, I. Kondratets, N. Zaitseva //

- Russian Journal of Biological Research. – 2014. – Vol. 2, No. 2. – P. 100–112.
131. *Márquez F.* Preparation of Hollow Magnetite Microspheres and their Applications as Drugs Carriers / F. Márquez, G. M. Herrera, T. Campo et al. // *Nanoscale Research Letters*. – 2012. – No. 7. – P. 210–219.
132. *Ivashchenko O.* Influence of Silver Doping on Hydroxyapatite Properties / O. Ivashchenko, L. Protsenko, O. Budylyna et al. // *Advanced Science, Engineering and Medicine*. – 2013. – Vol. 5, No. 3. – P. 266–274.
133. *Ведерникова І. О.* Фізико-хімічні дослідження частинок магнетиту – компоненту магнітних лікарських форм / І. О. Ведерникова, Є. Я. Левітін, Т. О. Онопрієнко та ін. // *Фармаком.* – 2004. – № 4. – С. 64–68.
134. *Жоаким К.* Нанонауки. Невидимая революция / К. Жоаким, Л. Плевр; пер. с франц. А. Кавтаскина. – М.: Колибри, 2009. – 240 с.
135. *Кобаяси Н.* Введение в нанотехнологию; пер. с японск. – М.: Лаборатория знаний «БИНОМ», 2007. – 134 с.
136. *Лахтин В. М.* Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии / В. М. Лахтин, С. С. Афанасьев, М. В. Лахтин и др. // *Вестн. РАМН*. – 2008. – № 4. – С. 50–55.
137. *Hofmann A.* Combined Targeting of Lentiviral Vectors and Positioning of Transduced Cells by Magnetic Nanoparticles / A. Hofmann, D. Wenzel, U. M. Becher et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. of USA*. – 2009. – Vol. 106. – P. 44–49.
138. *Ведерникова І. О.* Одержання магнітних рідин для фармацевтичних цілей / І. О. Ведерникова, Є. Я. Левітін, Т. О. Онопрієнко // *Мат-ли XV-ї Української конференції з неорганічної хімії з міжнародною участю (3–7 вересня 2001 р.)*. – К.: Наук. світ, 2001. – С. 67.
139. *Ведерникова И. А.* Реологические характеристики гидрофильного магнитного носителя / И. А. Ведерникова, Е. Я. Левитин, Т. А. Оноприенко // *Труды X-й Международной Плесской конференции по магнитным жидкостям*. – Иваново: Ивановский государственный энергетический университет (ИГЭУ), 2002. – С. 121–124.
140. *Dave S. R.* Monodisperse Magnetic Nanoparticles for Biodetection, Imaging and Drug Delivery: a versatile and evolving technology / S. R. Dave, X. Gao // *Nanomedicine and Nanobiotechnology: Wiley Interdisciplinary Reviews*, 2009. – 1. – P. 583–609.
141. *Minelli C.* Engineering Nanocomposite Materials for Cancer Therapy / C. Minelli, S. B. Lowe, M. M. Stevens // *Small*. – 2010. – 6, No. 21. – P. 2336–2357.



142. *Hu F.* Facile Synthesis of Ultrasmall PEGylated Iron Oxide Nanoparticles for Dual-Contrast T<sub>1</sub>- and T<sub>2</sub>-Weighted Magnetic Resonance Imaging / F. Hu, F. Hu, Q. Jia et al. // *Nanotechnology*. – 2011. – Vol. 22, No. 24. – P. 245604. – doi: 10.1088/0957-4484/22/24/245604.
143. *Chen C.-J.* Preparation of Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles via the Synthesis and Decomposition of Iron Fatty Acid Complexes / C.-J. Chen, H.-Y. Lai, C.-C. Lin et al. // *Nanoscale Research Letters*. – 2009. – **4**. – P. 1343–1350.
144. *Xie J.* One-Pot Synthesis of Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles for Potential Biomedical Applications / J. Xie, S. Peng, N. Brower et al. // *Pure Appl. Chem*. – 2006. – Vol. 78, No. 5. – P. 1003–1014.
145. *Babutina T. Ye.* The Development of Nanosized Iron-Based Powders for Medical Application / T. Ye. Babutina, N. V. Boshytska, O. A. Ivashchenko et al. // *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*. – 2009. – No. 5/6. – P. 147–154.
146. *Ivashchenko O.* Deagglomeration of Powders for Medical Application / O. Ivashchenko, V. Kolesnichenko, M. Holovkova // *Adv. Sci. Lett.* – 2011. – **4**. – P. 541–548.
147. *Ivashchenko O.* Interaction of Carbon Nanotubes Containing Iron Catalysts and Iron-Based Powders with Human Blood Plasma / O. Ivashchenko, N. Boshytska, I. Uvarova, E. Prylutskyi // *Mater. Sci. and Engin. Technology*. – 2009. – **40** (4). – P. 312–317.
148. *Ivashchenko O.* Release and Cytotoxicity Studies of Magnetite/Ag/Antibiotic Nanoparticles: an interdependent relationship / O. Ivashchenko, A. Woźniak, E. Coy et al. // *Colloids and Surfaces. – B: Biointerfaces*. – Poland (Manuscript Draft). – Manuscript Number: Colsub-D-16-01283.
149. *Wang Y.* Active Drug Encapsulation and Release Kinetics from Hydrogel-in-Liposome Nanoparticles / Y. Wang, S. Tu, A. N. Pinchuk, M. P. Xiong // *J. of Colloid and Interface Science*. – 2013. – 406. – P. 247–255.
150. *Wang C.* A Chitosan-Modified Graphene Nanogel for Noninvasive Controlled Drug Release / C. Wang, J. Mallela, U. S. Garapati et al. // *Nanomedicine*. – 2013. – **9** (7). – P. 903–911.
151. *Tsai M.* Paclitaxel-Loaded Polymeric Microparticles: quantitative relationships between *in vitro* drug release rate and *in vivo* pharmacodynamics / M. Tsai, Z. Lu, M. G. Wientjes et al. // *J. Control Release*. – 2013. – Vol. 172, No. 3. – P. 737–744.
152. *Артюхов И. В.* Биомедицинские технологии. Обзор состояния и направления работы / И. В. Артюхов, В. Н. Кеменов, С. Б. Нестеров // Мат-лы 9-й науч.-техн. конф. «Вакуумная наука и техника». – М.: МИЭМ, 2002. – С. 244–247.

153. *Jonas A.* The Use of Optical Forces for Particle Manipulation, Sorting, and Analysis / A. Jonas, P. Zemanek // *Electrophoresis*. – 2008. – Vol. 29. – P. 4813–4851.
154. *Oode K.* The Development of a Cell Array and its Combination with Lasers Canning Cytometry Allows a High-Throughput Analysis of Nuclear DNA Content // *Amer. J. of Pathology*. – 2000. – Vol. 157. – P. 723–728.
155. *Рапопорт Н. Я.* Применение ультразвука для направленной нанотерапии злокачественных опухолей / Н. Я. Рапопорт, К. Х. Нам, Д. Гао, Э. Кэннеди // *Акустический журнал*. – 2009. – **55**, № 4-5. – С. 586–593.
156. *Rapoport N. Y.* Ultrasonic Nanotherapy of Pancreatic Cancer: lessons from ultrasound imaging / N. Y. Rapoport, A. M. Kennedy, J. E. Shea et al. // *Mol. Pharm.* – 2010. – Vol. 7, No. 1. – P. 22–31.
157. *Rapoport N. Y.* Controlled and Targeted Tumor Chemotherapy by Ultrasound Activated Nanoemulsions/Microbubbles / N. Y. Rapoport, A. M. Kennedy, J. E. Shea et al. // *J. Control Release*. – 2009. – Vol. 138, No. 3. – P. 268–276.
158. *Rapoport N. Y.* Multifunctional Nanoparticles for Combining Ultrasonic Tumor Imaging and Targeted Chemotherapy / N. Y. Rapoport, Z. Gao, A. M. Kennedy // *J. Nat. Cancer Inst.* – 2007. – Vol. 99, No. 14. – P. 1095–1106.
159. *Belgorodsky B.* Mucin Complexes of Nanomaterials: first biochemical encounter / B. Belgorodsky, E. Drug, L. Fadeev et al. // *Small*. – 2010. – Vol. 6, No. 2. – P. 262–269.
160. *Hanson J. A.* Nanoscale Double Emulsion Stabilized by Single-Component Block Copolypeptides / J. A. Hanson, C. B. Chang, S. M. Graves et al. // *Nature*. – 2008. – Vol. 455, No. 7209. – P. 85–88.
161. *Головенко М.* Адресна доставка наносистемами лікарських засобів до головного мозку / М. Головенко, В. Ларіонов // *Вісник фармакології та фармації*. – 2008. – № 4. – С. 8–16.
162. *Гусев А. И.* Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2007. – 416 с.
163. *Москаленко В. Ф.* Наукові основи наномедицини, нанофармакології та нанофармації / В. Ф. Москаленко, В. М. Лісовий, І. С. Чекман та ін. // *Вісн. Нац. мед. ун-ту ім. О. О. Богомольця*. – 2009. – № 2. – С. 17–31.
164. *Shaffer C.* Nanomedicine Transforms Drug Delivery // *Drug Discov. Today*. – 2005. – **10**. – P. 1581–1582.
165. *Yoshikawa T.* Development of Nanomedicine Using Intracellular DDS / T. Yoshikawa, Y. Tsutsumi, S. Nakogava // *Nippon Rinsho*. – 2006. – **64**. – P. 247–252.

166. *Moghimi S. M.* Nanomedicine: current status and future prospects / S. M. Moghimi, A. C. Hunter, J. C. Murray // *FASEB J.* – 2005. – **19**. – P. 311–330.
167. *Emerich D. F.* Nanomedicine – Prospective Therapeutic and Diagnostic Applications // *Expert Opin. Biol. Ther.* – 2005. – **5**. – P. 1–5.
168. *Murthy S. K.* Nanoparticles in Modern Medicine: state of the art and future challenges // *Int. J. Nanomed.* – 2007. – **2** (2). – P. 129–141.
169. *Seeman N.* Nucleic Acid Junctions and Lattices // *J. of Theoretical Biology.* – 1982. – **99** (2). – P. 237–247.
170. *Winfree E.* Design and Self-Assembly of Two-Dimensional DNA Crystals / E. Winfree, F. Liu, L. A. Wenzler, N. C. Seeman // *Nature.* – 1998. – **394** (6693). – P. 529–544.
171. *Sharma J.* Control of Self-Assembly of DNA Tubules Through Integration of Gold Nanoparticles / J. Sharma, R. Chhabra, A. Cheng et al. // *Science.* – 2009. – **323** (5910). – P. 112–116.
172. *Yan H.* DNA-Templated Self-Assembly of Protein Arrays and Highly Conductive Nanowires / H. Yan, S. H. Park, G. Finkelstein et al. // *Ibid.* – 2003. – **301**. – P. 1882–1884.
173. *Andersen E. S.* Self-Assembly of a Nanoscale DNA Box with a Controllable Lid / E. S. Andersen, M. Dong, M. M. Nielsen et al. // *Nature.* – 2009. – **459**. – P. 73–77.
174. *Wang Z-G.* DNA Machines: bipedal walker and stepper / Z-G. Wang, J. Elbaz, I. Willner // *Nanoletters.* – 2011. – **11** (1). – P. 304–309.
175. *Mao C.* A DNA Nanomechanical Device Based on the B–Z Transition / C. Mao, W. Sun, Z. Shen, N. C. Seeman // *Nature.* – 1999. – **397** (6715). – P. 144–146.
176. *Liu D.* A Proton-Fuelled DNA Nanomachine / D. Liu, S. Balasubramanian // *Angew. Chem. – Engl.; int. ed.* – 2003. – **42** (46). – P. 5734–5736.
177. *Rothemund P. W. K.* Folding DNA to Create Nanoscale Shapes and Patterns // *Nature.* – 2006. – **440** (7082). – P. 297–302.
178. *Yurke B.* A DNA-Fuelled Molecular Machine Made of DNA / B. Yurke, A. J. Turberfield, A. P. Mills et al. // *Ibid.* – 2000. – **406** (6796). – P. 605–608.
179. *Yan H.* A Robust DNA Mechanical Device Controlled by Hybridization Topology / H. Yan, X. Zhang, Z. Shen, N. C. Seeman // *Ibid.* – 2002. – **415** (6867). – P. 62–65.
180. *Voelcker N. H.* Sequence-Addressable DNA Logic / N. H. Voelcker, K. M. Guckian, A. Saghatelian, M. R. Ghadiri // *Small.* – 2008. – **4** (4). – P. 427–431.

181. *Yin P.* Programming Biomolecular Self-Assembly Pathway / P. Yin, H. M. T. Choi, C. R. Calvert, N. A. Pierce // *Nature*. – 2008. – **451**. – P. 318–322.
182. *Irizarry R. A.* Multiple-Laboratory Comparison of Microarray Platforms // *Nat. Methods*. – 2005. – Vol. 2. – P. 345–350.
183. *Ji H.* An Integrated Software System for Analyzing ChIP-Chip and ChIP-Seq Data / H. Ji, H. Jiang, W. Ma et al. // *National Biotechnology*. – 2008. – Vol. 26. – P. 1293–1300.
184. *Valouev A.* Genome-Wide Analysis of Transcription Factor Binding Sites Based on ChIP-Seq Data / A. Valouev, D. Johnson, C. Medina et al. // *Nat. Methods*. – 2008. – Vol. 5. – P. 829–834.
185. *Horiuchi K. Y.* Microarrays for the Functional Analysis of the Chemical Kinase Interactome // *J. of Biomolecular Screening*. – 2006. – Vol. 11. – P. 48–56.
186. *Blick R. J.* Find GDPs: identification of primers for labeling microbial transcriptomes for DNA microarray analysis / R. J. Blick, A. T. Revel, E. J. Hansen // *Bioinformatics*. – 2003. – Vol. 19. – P. 1718–1719.
187. *Breadmore M. C.* Recent Advances in Enhancing the Sensitivity of Electrophoresis and Electrochromatography in Capillaries and Microchips / M. C. Breadmore, J. R. Thabano, M. Dawod // *Electrophoresis*. – 2009. – Vol. 30. – P. 230–248.
188. *Лен Ж.-М.* Супрамолекулярная химия: концепции и перспективы; пер. с англ.; под ред. В. В. Власова, А. А. Варнека. – Новосибирск: Наука, 1988. – 334 с.
189. *Кригер Ю. Г.* Перспективы молекулярной нанотехнологии / Ю. Г. Кригер, И. К. Игуменов; под ред. П. П. Мальцева // Сб-к статей «Нано- и микросистемная техника: от исследований к разработкам». – М.: Техносфера, 2005. – С. 59–62.
190. *Хірургія без шрамів за допомогою нанотехнологій* [Ел. реєстр. Режим доступу: <http://radiy.kr.ua/inshe/xirurgiya-bez-shramiv-za-dopomogoyu-nanotexnologij.htm>].
191. *Uvarova I. V.* Functional Nanomaterials for Biomedical Application / I. V. Uvarova, N. V. Boshytskaya, T. M. Yarmola // *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*; ed. by H. S. Nalwa. – Stevenson Ranch (USA): American Scientific Publishers, 2009. – Vol. 10. – P. 1–54.
192. *Брахнова И. Т.* Гигиеническая оценка влияния на организм гидридов переходных металлов с учетом их электронного и кристаллического строения / И. Т. Брахнова, Г. А. Шкурко // *Гигиена и санитария*. – 1972. – № 7. – С. 36–39.
193. *Брахнова И. Т.* Сравнительная гигиеническая оценка условий труда при создании защитных покрытий с применением металлических

- порошков / И. Т. Брахнова, В. А. Прилипко // Порошковая металлургия. – 1976. – № 10. – С. 92–96.
194. *Брахнова И. Т.* Токсикология тугоплавких соединений / И. Т. Брахнова, М. В. Яковенко. – К.: Гнозис, 2010. – 288 с.
195. *Lavrenko V.* Mechanism of Interaction of Silicon Nitride Powders with Biochemical Media and their Toxic Effect / V. Lavrenko, N. Boshitskaya, G. Makarenko // Nanostructured Materials and Coatings for Biomedical and Sensor Applications; ed. by Y. Gogotsi and I. Uvarova; NATO Science Series. – Dordrecht (Netherlands): Kluwer Acad. Publ., 2003. – Vol. 102. – P. 63–70.
196. *Навакатилян А. О.* Функция дыхания при пневмокониозах и пылевых бронхитах. – М.: Медицина, 1967. – 241 с.
197. *Browning E.* Toxicity of Industrial Metals // Biological Aspects of Metalbinding (conference in University Park of London, 1960). – Butterworths, 1961. – P. 32–39; Washington, 1998. – P. 102–109.
198. *MacMahon H. E.* Chronic Pulmonary Berylliosis in Workers Using Fluorescent Powders Containing Beryllium / H. E. MacMahon, H. G. Olken // Arch. Ind. Hyg. – 1950. – **1-2**. – P. 195–199.
199. *Брахнова И. Т.* Токсичность порошков металлов и их соединений. – К.: Наук. думка, 1971. – 224 с.
200. *Филатова В. С.* К вопросу о токсичности аморфного селена // Фармакология и токсикология. – 1951. – **4**. – С. 25–31.
201. *Насынов Е. П.* Живое глазами химика. – К.: Наук. думка, 1981. – 152с.
202. *Сент-Дьердьи А.* Введение в субмолекулярную биологию. – М.: Наука, 1964. – 672 с.
203. *Hoet P. H.* Nanoparticles – Known and Unknown Health Risks / P. H. Hoet, M. I. Brüske-Hohlfeld, O. V. Salata // J. Nanobiotechnol. – 2004. – No. 2. – P. 1–15.
204. *Araujo L.* Influence of the Sutfactant Concentration on the Body Distribution of Nanoparticles / L. Araujo, R. Lobenberg, J. Kreuter // J. Drug Target. – 1999. – No. 6. – P. 373–385.
205. *Sighvi R.* Engineering Cell Shape and Function / R. Sighvi, A. Kumar, G. R. Lopez et al. // Science. – 1994. – **264**. – P. 696–698.
206. *Morris C. E.* Stretch-Inactivated Ion Channels Coexist with Stretch-Activated Ion Channels / C. E. Morris, W. J. Sigurdson // Ibid. – 1989. – **243**. – P. 807–809.
207. *Xenophontos X. P.* Increased Cyclic AMP Content Accelerates Protein Synthesis in Rat Heart / X. P. Xenophontos, P. A. Watson, B. H. Chua et al. // Circ. Res. – 1989. – No. 65. – P. 647–656.

208. *Watson P.* Direct Stimulation of Adenylate Cyclase by Mechanical Forces in 549 Mouse Lymphoma Cells during Hypotonic Swelling // *J. Biol. Chem.* – 1990. – No. 265. – P. 6569–6575.
209. *Бошицкая Н. В.* Устойчивость порошков на основе железа различного фазового состава в биологических средах // *Порошковая металлургия.* – 2010. – № 11/12. – С. 3–16.
210. *Бошицкая Н. В.* Устойчивость порошков нитридов кремния и алюминия в биологических и неорганических средах // *Наноструктурное материаловедение.* – 2009. – № 2. – С. 111–120.
211. *Бошицька Н. В.* Особливості взаємодії порошків карбонільного заліза різної дисперсності з біологічними та неорганічними середовищами / *Н. В. Бошицька, Ю. І. Найда, І. В. Уварова, А. Ю. Найда* // *Порошковая металлургия.* – 2012. – № 1/2. – С. 10–17.
212. *Бошицкая Н. В.* Композиционный магнетито-углеродный материал с высокими магнитными характеристиками и коррозионной стойкостью в биологических средах / *Н. В. Бошицкая, Э. В. Прилуцкий, И. В. Уварова* // *Наноструктурное материаловедение.* – 2011. – № 4. – С. 77–83.
213. *Куцевская Н.Ф.* Разработка и применение нанопорошков на основе железа и магнетита в качестве кормовых добавок / *Н. Ф. Куцевская, Н. В. Бошицкая, Т. Е. Бабутина* и др. // Там же. – 2009. – № 4. – С. 104–111.
214. *Иващенко О. А.* Вплив біологічних середовищ на фізико-хімічні та магнітні властивості порошків заліза та нікелю / *О. А. Иващенко, Н. В. Бошицька, А. О. Перекосяк* та ін. // *Порошковая металлургия.* – 2009. – № 3/4. – С. 3–12.
215. *Иващенко Е. А.* Взаимодействие распыленных и карбонильных порошков железа с модельными растворами тканевой жидкости / *Е. А. Иващенко, Н. В. Бошицкая, Л. С. Проценко* и др. // *Доповіді НАН України.* – 2008. – № 5. – С. 109–116.
216. *Бошицька Н. В.* Наукові засади створення феромагнітних, оксидних та нітридних порошків медичного призначення з керованим рівнем фізико-хімічних та біологічних властивостей: дис. ... д-ра техн. наук (на правах рукопису). – К.: ІПМ ім. І. М. Францевича НАН України, 2013. – 290 с.
217. *Ranum P.* Elemental Iron Powders for Food Fortification // *Cereal Foods World.* – 2001. – 46, No. 3-B. – P. 137–139.
218. *Митькина В. А.* Химическая трансформация магнитных носителей лекарственных препаратов в модельных растворах и плазме крови // *Сиб. онкол. журнал.* – 2009. – № 1. – С. 136–140.

## До розділу 2

1. *Roco M. C.* Vision for Nanotechnology R&D in the Next Decade / M. C. Roco, R. S. Williams, P. Alivisatos. – Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 2002. – Vol. **156**. – 171 p.
2. *Levy L.* Synthesis and Characterization of Multifunctional Nanoclinics for Biological Applications / L. Levy, Y. Sahoo, B. J. Earl // *Chem. Mater.* – 2002. – **14**. – P. 3715–3721.
3. *Фізико-хімія наноматеріалів і супрамолекулярних структур* / под ред. А. Шпака, П. Горбика. – К.: Наук. думка, 2007. – Т. 1. – 428 с.
4. *Nanomaterials and Supramolecular Structures: physics chemistry and applications* / ed. by A. P. Shpak, P. P. Gorbyk. – Netherlands: Springer, 2009. – 425 p.
5. *Горбик П. П.* Наноструктурные материалы – получение, свойства, применение / П. П. Горбик, В. Ф. Чехун, А. П. Шпак. – Минск: Беларус. навука, 2009. – С. 131–139.
6. *Gorbyk P.* Construction of Magnetocarried Nanocomposites for Medico-Biological Applications / P. Gorbyk, A. Petranovska, M. Turelyk et al. // *Chem. Ph. Tec. Sur.* – 2010. – **1**, No. 3. – P. 360–370.
7. *Gorbyk P. P.* Nanocomposites of Medicobiologic Destination: reality and perspectives for oncology / P. P. Gorbyk, V. F. Chekhun // *Funct. Mater.* – 2012. – **19**, No. 2. – P. 145–156.
8. *Gu H.* A Proximity-Based Programmable DNA Nanoscale Line / H. Gu, J. Chao, S.-J. Xiao, N. C. Seeman // *Nature.* – 2010. – **465**. – P. 202–205.
9. *Lund K.* Molecular Robots Guided by Prescriptive Landscapes / K. Lund, A. J. Manzo, N. Dabby et al. // *Ibid.* – P. 206–210.
10. *Muscat R. A.* Programmable Molecular Robot / R. A. Muscat, J. Bath, A. J. Turberfield // *Nanoletters.* – 2011. – **11**, No. 3. – P. 982–987.
11. *Lewandowski B.* Sequence-Specific Peptide Synthesis by an Artificial Small-Molecule Machine / B. Lewandowski, G. De Bo, J. W. Ward et al. // *Science.* – 2013. – **339**, No. 6116. – P. 189–193.
12. *Корочкова Т. Е.* Особенности кинематики дипольных фотомоторов / Т. Е. Корочкова, М. Л. Дехтяр, В. М. Розенбаум // *Химия, физика и технология поверхности.* – К.: Наук. думка, 2008. – Вып. 14. – С. 52–60.
13. *Корочкова Т. Е.* Молекулярный насос, управляемый флуктуациями электрического поля / Т. Е. Корочкова, В. М. Розенбаум // *Там же.* – 2006. – Вып. 11-12. – С. 29–40.
14. *Горбик П. П.* Наноматериалы и нанокompозиты в медицине, биологии, экологии / П. П. Горбик, В. В. Туров; под ред. А. П. Шпака, В. Ф. Чехуна. – К.: Наук. думка, 2011. – 443 с.

15. Горбик П. П. Біофункціоналізація наноматеріалів і нанокомпозитів: навч. посіб. / П. П. Горбик, С. В. Горобець, М. П. Турелик та ін. – К.: Наук. думка, 2011. – 294 с.
16. Губин С. Магнитные наночастицы: методы получения, строение и свойства / С. Губин, Ю. Кокшаров, Г. Хомутов, Г. Юрков // Успехи химии. – 2005. – **74**, вып. 4. – С. 539–574.
17. Беликов В. Г. Получение и медико-биологическое использование магнитных полей и носителей / В. Г. Беликов, А. Г. Курегян // Хим.-фарм. журн. – 2001. – **35**, № 2. – С. 27–34.
18. Василевский Ю. А. Магнитный порошок феррита бария / Ю. А. Василевский, А. П. Волордина, В. В. Паньков. – М.: НИИТЭхим, 1995. – С. 2–12.
19. Міщенко В. М. Магніточутливі адсорбенти на основі активованого вугілля: синтез та властивості / В. М. Міщенко, М. Т. Картель, В. А. Луценко та ін. // Поверхность: межвед. сб. науч. тр. – 2010. – **2**, № 17. – С. 276–285.
20. Семко Л. С. Хімічне конструювання та дослідження властивостей магнітокерованих адсорбентів для екстракції нуклеїнових кислот / Л. С. Семко, С. В. Хуторний, Л. П. Сторожук та ін. // Там само. – С. 330–339.
21. Горбик П. П. Проблема направленного транспорта лекарственных препаратов: состояние и перспективы / П. П. Горбик, А. Л. Петрановская, М. П. Турелик и др. // Химия, физика и технология поверхности. – 2011. – **2**, вып. 4. – С. 433–441.
22. Горбик П. П. Магнитоуправляемый транспорт лекарственных препаратов: современное состояние, разработки и перспективы / П. П. Горбик, И. В. Дубровин, А. Л. Петрановская и др. // Поверхность: межвед. сб. науч. тр. – 2010. – **2**, № 17. – С. 286–297.
23. Оборотова Н. А. Направленная доставка противоопухолевых препаратов // Антибиотики и химиотерапия. – 1991. – **36**, № 10. – С. 47–50.
24. Hafely U. Scientific and Clinical Application of Magnetic Carriers / U. Hafely, W. Schut, Y. Teller, N. Zbororsky. – London: Plenum, 1997. – 628 p.
25. Рымарчук В. И. Физические основы применения ферромагнетиков, введенных в организм / В. И. Рымарчук, Л. А. Радкевич, В. И. Сарбаш // Биофизика. – 1990. – **35**, № 1. – С. 145–154.
26. Фертман В. Е. Магнитные жидкости. – Минск: Вышш. шк., 1988. – 179 с.



27. *Аляутдин Р. Н.* Доставка лекарственных препаратов в мозг с помощью наночастиц / Р. Н. Аляутдин, Й. Кройтер, Д. А. Харкевич // Эксперим. и клин. фармакология. – 2003. – **66**, № 2. – С. 65–68.
28. *Горбик П. П.* Нанокompозити на основі магнетиту / П. П. Горбик, А. Л. Петрановська, Л. П. Сторожук та ін. // Укр. хім. журн. – 2007. – **73**, № 5. – С. 24–29.
29. *Березов Т.* Направленный транспорт лекарственных средств с помощью липосом / Т. Березов, Н. Яглова, Т. Дмитриева и др. // Вест. Рос. АМН. – 2004. – № 3. – С. 42–51.
30. *Herrmann J. E.* Passive Immunotherapy of Bacillus Anthracis Pulmonary Infection in Mice with Antisera Produced by DNA Immunization / J. E. Herrmann, S. Wang, C. Zhang et al. // Vaccine. – 2006. – **24**, No. 31-32. – P. 5872–5880.
31. *Mitra S.* Passive Antibody-Mediated Immunotherapy for the Treatment of Malignant Gliomas / S. Mitra, G. Li, G. R. Harsh // Neurosurg. Clin. – North Amer. – 2010. – **21**, No. 1. – P. 67–76.
32. *Брегадзе В. И.* Лекарство-снайпер или химический прицел для нейтрона / В. И. Брегадзе, И. Б. Сиваев // Природа. – 2004. – № 4. – С. 1–12.
33. *De Stasio G.* Gadolinium in Human Glioblastoma Cells for Gadolinium Neutron Capture Therapy / G. De Stasio, P. Casalbore, R. Pallini et al. // Cancer Res. – 2001. – **61**. – P. 4272–4277.
34. *Detta A.* L-Amino Acid Transporter-1 and Boronophenylalanine-Based Boron Neutron Capture Therapy of Human Brain Tumors / A. Detta, G. S. Cruickshank // Ibid. – 2009. – **69**. – P. 2126–2132.
35. *Туранская С. П.* Нанокompозиты в нейтронозахватной терапии / С. П. Туранская, М. П. Турелик, А. Л. Петрановская и др. // Поверхность: межвед. сб. науч. тр. – К.: Наук. думка, 2010. – **2**, № 17. – С. 356–374.
36. *Горбик П. П.* Синтез, физико-химические свойства и биоактивность полифункциональных нанокompозитов для биологии и медицины / П. П. Горбик, А. Л. Петрановская, М. П. Турелик и др. // Наносистемы, наноматериалы, нанотехнологии. – 2011. – **8**, № 4. – С. 749–765.
37. *Патент України № 86322.* Нанокapсула з функціями наноробота / П. П. Горбик, А. Л. Петрановська, Д. Г. Усов та ін. – Опубл. 25.06.2009.
38. *Гречко Л. Г.* Можливість використання магнітних наночасток як засобів транспорту і утримання лікарських препаратів в організмі / Л. Г. Гречко, П. П. Горбик, Л. Б. Лерман, О. О. Чуйко // Доп. НАН України. – 2006. – № 2. – С. 181–191.

39. *Coper S.* Nanoparticle Sizing: a comparative study using atomic force microscopy, transmission electron microscopy, and ferromagnetic resonance // *J. Magn. and Magn. Mater.* – 2001. – **225**. – P. 79–89.
40. *Зубарев А. Ю.* Структурные превращения в полидисперсных феррожидкостях / А. Ю. Зубарев, Л. Ю. Исакова // *Коллоид. журн.* – 2003. – **63**, № 6. – С. 778–787.
41. *Русецкий А. Н.* Гемодинамические аспекты магнитонаправленного транспорта лекарств / А. Н. Русецкий, Э. К. Рууге // *Бюл. Всесоюз. кардиол. науч. центра АМН СССР.* – 1984. – **7**, № 1. – С. 85–90.
42. *Свиридов В. В.* Неорганический синтез. – Минск: Высш. шк., 1996. – 165 с.
43. *Mikhailik O. M.* Surface Structure of Finely Dispersed Iron Powders: formation of stabilizing coating / O. M. Mikhailik, V. I. Povstugar, S. S. Mikhailova // *Coll. and Surf.* – 1991. – **52**. – P. 315–324.
44. *Ясуда Х.* Полимеризация в плазме. – М.: Мир, 1988. – 376 с.
45. *Горбик П. П.* Магніточутливий носій лікарських препаратів на основі ультрадисперсних магнетитполіакриламідних частинок / П. П. Горбик, І. В. Дубровін, А. Л. Петрановська та ін. // *Доп. НАН України.* – 2005. – № 4. – С. 224–228.
46. *Тарутина Л. И.* Спектральный анализ полимеров и вспомогательных веществ / Л. И. Тарутина, Ф. О. Позднякова. – Л.: Химия, 1986. – 261 с.
47. *Дехант И.* Инфракрасная спектроскопия высокополимеров / И. Дехант, Р. Данц, В. Киммер, Р. Шмольке. – М.: Химия, 1976. – 471 с.
48. *Крылов О. В.* Адсорбция и катализ на переходных металлах и их оксидах / О. В. Крылов, В. Ф. Киселев. – М.: Химия, 1981. – 288 с.
49. *Semko L. S.* Electric and Magnetic Properties of Composite Materials in the Polyethylene–Nanocrystalline Nickel System / L. S. Semko, V. M. Ogenko, S. L. Revo et al. // *Funct. Mater.* – 2002. – **9**, No. 3. – P. 513–518.
50. *Федоренко О. М.* Рідиннофазне модифікування поверхні магнетиту  $\gamma$ -АПС / О. М. Федоренко, А. Л. Петрановська, Л. С. Дзюбенко та ін. // *Доп. НАН України.* – 2006. – № 1. – С. 157–168.
51. *Накамото К.* ИК-спектры и спектры неорганических и координационных соединений. – М.: Мир, 1991. – 505 с.
52. *Ковалев И. Ф.* Колебательные спектры линейных полидиметилсилоксанов / И. Ф. Ковалев, И. В. Шевченко, М. Г. Воронков, Н. В. Козлова // *Докл. АН СССР.* – 1973. – **212**, № 1. – С. 101–108.
53. *Давыдов А. А.* ИК-спектры  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}$  и  $\text{NO}$ , адсорбированных на  $\alpha$ - $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , и природа центров поверхности оксида / А. А. Давыдов,

- М. Л. Шепотько // Журн. прикл. спектроскопии. – 1992. – **56**, № 3. – С. 487–490.
54. Чуйко О. О. Магнітокеровані наноккомпозити для застосування в медицині та біології: зб. доп. II Всеукр. техн. форуму / О. О. Чуйко, П. П. Горбик, Л. П. Сторожук. – К., 2005. – С. 48–58.
55. Усов Д. Г. Синтез та фізико-хімічні властивості наноккомпозитів на основі магнетиту, модифікованого мезо-2, 3-димеркаптосукциновою кислотою / Д. Г. Усов, А. Л. Петрановська, М. П. Турелик та ін. // Поверхность: межвед. сб. науч. тр. – 2009. – С. 320–331.
56. Aposhian H. Meso-2, 3-Dimercaptosuccinic Acid: chemical, pharmacological and toxicological properties of an orally effective metal chelating agent / H. Aposhian, M. Aposhian // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1990. – **30**. – P. 279–306.
57. Jun Y.-W. Nanoscale Size Effect of Magnetic Nanocrystals and Their Utilization for Cancer Diagnosis via Magnetic Resonance Imaging / Y.-W. Jun, Y.-M. Huh, J. Choi // J. Amer. Chem. Soc. – 2005. – **127**. – P. 5732–5733.
58. Fauconnier N. Thiolation of Maghemite Nanoparticles by Dimercaptosuccinic Acid / N. Fauconnier, J. Pons, J. Roger, A. Bee // J. Colloid. and Interface Sci. – 1997. – **194**. – P. 427–433.
59. Zhang S. Preparation of Anti-Human Cardiac Troponin I Immunomagnetic Nanoparticles and Biological Activity Assays / S. Zhang, Z. Bian, C. Gub // Coll. and Surf. – B. – 2007. – **55**. – P. 143–148.
60. Silva L. Kinetic of Magnetic Nanoparticles Uptake Evaluated by Morphometry of Mice Peritoneal Cells / L. Silva, S. Kuckelhaus, M. Guedes // J. Magn. and Magn. Mater. – 2005. – **289**. – P. 463–465.
61. Wagner D. Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy / D. Wagner, J. Moulder, L. Davis. – New York: Perking–Elmer Corp., 1979. – 234 p.
62. Горбик П. П. Синтез наноккомпозитів магнетит/гідроксиапатит та дослідження їх властивостей / П. П. Горбик, В. М. Міщенко, А. Л. Петрановська та ін. // Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. – 2009. – **6**, № 4. – С. 1273–1281.
63. Петрановська А. Л. Особливості процесів іммобілізації імуноглобуліну на поверхні магніточутливого наноккомпозиту магнетит/гідроксиапатит / А. Л. Петрановська, В. М. Міщенко, М. П. Турелик та ін. // Хімія, фізика та технологія поверхні. – 2010. – **1**, вип. 2. – С. 182–186.
64. Орловский В. Изучение условий образования гидроксиапатита в системе  $\text{CaCl}_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH} - \text{H}_2\text{O}$  (25 °C) / В. Орловский, Г. Родичева, Ж. Ежова и др. // Журн. неорг. химии. – 1992. – **37**, № 4. – С. 881–883.

65. Чумаевский Н. А. Синтез и колебательные спектры гидроксипатита кальция / Н. А. Чумаевский, В. П. Орловский, Г. В. Родичева и др. // Там же. – 1992. – **37**, № 7. – С. 1455–1457.
66. Rena J. Hydroxyapatite, Tricalcium Phosphate and Biphasic Materials Prepared by a Liquid Mix Technique / J. Rena, M. Vallet-Regi // J. Eur. Ceram. Soc. – 2003. – **23**, No. 10. – P. 1687–1696.
67. Арсеньев П. А. Исследование особенностей твердофазного синтеза гидроксипатита / П. А. Арсеньев, А. А. Евдокимов, С. А. Смирнов и др. // Журн. неорг. химии. – 1992. – **37**, № 12. – С. 2649–2652.
68. Петрановська А. Л. Синтез та дослідження біологічної активності магнітокерованого поліфункціонального нанокompозиту / А. Л. Петрановська, М. П. Турелик, П. П. Горбик та ін. // Хімія, фізика та технологія поверхні. – 2010. – **1**, № 4. – С. 473–478.
69. Shen X. Studies on the Interaction Between Ag<sup>+</sup> and Human Serum Albumin / X. Shen, H. Liang, J. H. Guo, C. Song // J. Inorg. Biochem. – 2003. – **95**, No. 2-3. – P. 124–130.
70. Туранская С. П. Синтез, свойства, применение в медицине и биологии магниточувствительных нанокompозитов, содержащих благородные металлы / С. П. Туранская, А. Д. Четыркин, И. В. Дубровин и др. // Поверхность: межвед. сб. науч. тр. – 2011. – **3**, № 18. – С. 343–366.
71. Усов Д. Г. Біофункціоналізація поверхні магнітокерованих нанокompозитів імуноглобуліном людини / Д. Г. Усов, А. Л. Петрановська, П. П. Горбик, М. П. Івахненко // Хімія, фізика і технологія поверхні. – 2008. – Вып. 14. – С. 548–556.
72. Brinkley M. A. A Survey of Methods for Preparing Protein Conjugates with Dyes, Haptens and Crosslinking Reagents // Bioconjugate Chem. – **3**. – P. 2–13.
73. Hashida S. More Useful Maleimide Compounds for the Conjugation of Fab to Horseradish Peroxidase Through Thiol Groups in the Hinge // J. Appl. Biochem. – **6**. – P. 56–63.
74. Mattson G. A Practical Approach to Crosslinking // Mol. Biol. Reports. – **17**. – P. 167–183.
75. Partis M. D. Crosslinking of Proteins by Omega-Maleimido Alkanoyl N-Hydroxysuccinimide Esters // J. Protein. Chem. – **2**. – P. 263–277.
76. Samoszuk M. K. A Peroxide-Generating Immunoconjugate Directed to Eosinophil Peroxidase is Cytotoxic to Hodgkin's Disease Cells *in vitro* // Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals. – **2**. – P. 37–45.
77. Ostwald W. Kleines Praktikum der Kolloidchemie: 7 ed. / ed. by Th. Steinkopff. – Dresden: Verlag, 1930. – 203 p.
78. Скоунс Р. Методы очистки белков. – М.: Мир, 1985. – 358 с.

79. *Биотехнология. Принципы и применения* / под ред. А. Хиггинса, Д. Беста, Дж. Джонса. – 1989. – 132 с.
80. *Hermanson G. T. Bioconjugate Technigues.* – Elsevier Inc.: Acad. Press, 2008. – 1202 p.
81. *Bradford M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding* // *Anal. Biochem.* – 1976. – **72**. – P. 248–254.
82. *Шпак А. П. Одержання магніточутливих нанокompatитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-TiO<sub>2</sub> методом рідиннофазного молекулярного нашарування* / А. П. Шпак, П. П. Горбик, А. Л. Петрановська та ін. // *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології.* – 2006. – **4**, № 3. – С. 623–632.
83. *Горбик П. П. Модифицирование поверхности нанокристаллического магнетита изопропилатом алюминия* / П. П. Горбик, А. Л. Петрановская, Д. Г. Усов и др. // *Химия, физика и технология поверхности.* – 2007. – № 13. – С. 310–321.
84. *Вергун Л. Ю. Адсорбция оболочечных вирусов высокодисперсными оксидами* / Л. Ю. Вергун, Е. П. Трохименко, Л. М. Исакова и др. // *Доп. НАН України.* – 2006. – № 10. – С. 140–145.
85. *Вергун Л. Ю. Синтез иммуномагнитных сорбентов для сепарации вирусов гепатитов В и С* / Л. Ю. Вергун, Д. А. Климчук, П. П. Горбик и др. // *Мікробіол. журн.* – 2009. – № 71. – С. 65–71.
86. *Лурия С. Общая вирусология* / С. Лурия, Д. Дарнелл, Д. Балтимор, Э. Кэмпбелл. – М.: Мир, 1981. – 680 с.
87. *Жданов В. М. Вирусология* / В. М. Жданов, С. Я. Гайдамович. – М.: Медицина, 1966. – 480 с.
88. *Хендлер А. У. Основы биохимии.* – Т. 1 / А. У. Хендлер, Э. Смит, Р Хилл, И. Леман. – М.: Мир, 1981. – 137 с.
89. *Филдс Б. Вирусология.* – Т. 2 / Б. Филдс, Д. Найп. – М.: Мир, 1989. – 216 с.
90. *Чуйко А. А. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния.* – К.: Наук. думка, 2003. – 416 с.
91. *Barik U. Preparation and Characterization of Photochemical Antimicrobial Thin Films of Titanium Dioxide (TiO<sub>2</sub>) and Tin Oxide (SnO<sub>2</sub>)* / U. Barik, A. Ercan, G. Karakas // *Pure and Applied Surface Chemistry and Nanomaterials for Human Life and Environmantal Protection: proc. of the NATO Advanced Reserch Workshop (Kyiv, Ukraine, Sept. 14–17, 2005).* – К., 2005. – P. 78–93.
92. *Горбик П. П. О распределении оксида алюминия в высокодисперсной оксидной системе Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/SiO<sub>2</sub>* / П. П. Горбик, В. М. Гунько, В. И. Зарко и др. // *Доп. НАН України.* – 2004. – № 11. – С. 150–154.

93. Горбик П. П. Роль поверхности в формировании свойств пирогенных нанокмозитов  $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2\text{-TiO}_2$  / П. П. Горбик, В. М. Гунько, В. И. Зарко и др. // Химия, физика и технология поверхности. – 2007. – Вып. 11-12. – С. 261–271.
94. Голенкина Е. А. Иммуномагнитные сорбенты в селекции Т-лимфоцитов человека / Е. А. Голенкина, А. А. Буркова, В. И. Филиппов и др. // Рос. биотерапевт. журн. – 2005. – **1**, № 3. – С. 41–48.
95. Esser P. Principles in Adsorption to Polystyrene // Nunc Bulletin. – 1988. – No. 6. – P. 1–5.
96. Cheng Z. Human Immunoglobulin Adsorption Investigated by Means of Quartz Crystal Microbalance Dissipation, Atomic Force Microscopy, Surface Acoustic Wave and Surface Plasmon Resonance Techniques / Z. Cheng, J.-M. Friedt, A. Angelova et al. // Langmuir. – 2004. – **20**. – P. 5870–5878.
97. Тертых В. А. Имобилизованные на кремнеземах ферменты и их применение / В. А. Тертых, В. В. Янишпольский; под ред. А. А. Чуйко // Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния. – К.: Наук. думка, 2003. – С. 42–65.
98. US Patent No. 3652761 (appl.); IC G01n, 1/00; 1/34; 31/06 / Н. Н. Weetall. – Publ. 28.03.1972.
99. Кузиков А. Применение биолюминесцентного метода определения бактериального аденозинтрифосфата (АТФ-метрии) в микробиологии / А. Кузиков, В. Бондаренко, А. Латкин // Журн. микробиологии. – 2003. – № 1. – С. 80–89.
100. Маянский А.Н. Диагностика гепатита С / А. Н. Маянский, А. П. Обрядина, Т. И. Уланова и др. // Вирусный гепатит С: информационные материалы. – Нижний Новгород, 2003. – 87 с.
101. Робинсон У. С. Вирусология. – Т. 3. – М.: Мир, 1989. – 292 с.
102. Майер К.-П. Гепатит и последствия гепатита. – М.: Гэотармед, 1999. – 432 с.
103. Аммосов А. Д. Гепатит В. – Новосибирск: ЗАО «Вектор-Бест», 2006. – 127 с.
104. Вергун Л. Ю. Отбор HBV- и HCV-содержащих проб сывороток для деконтаминации вирусов / Л. Ю. Вергун, В. А. Годзь, Л. И. Заневская и др. // Гематологія і переливання крові: міжвід. зб. – 2006. – Вип. 33. – С. 77–82.
105. Горбик П. П. Нанокмозити з функціями медико-біологічних нанороботів: синтез, властивості, застосування // Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. – 2013. – **11**, № 2. – С. 323–436.
106. Bellin M. F. MR Contrast Agents, the Old and the New // Eur. J. Radiol. – 2006. – **60**. – P. 314–323.

107. *Caravan P.* Strategies for Increasing the Sensitivity of Gadolinium Based MRI Contrast Agents // *Chem. Soc. Rev.* – 2006. – **35**. – P. 512–523.
108. *Lowe M. P.* MR Contrast Agents: the next generation // *Aust. J. Chem.* – 2002. – **55**. – P. 551–556.
109. *Fukumori Y.* Nanoparticles for Cancer Therapy and Diagnosis / Y. Fukumori, H. Ichikawa // *Adv. Powder. Technol.* – 2006. – **17**. – P. 1–28.
110. *Горбик П. П.* Синтез магниточувствительных Gd-содержащих наноструктур / П. П. Горбик, А. Л. Петрановская, Е. В. Пилипчук и др. // *Хімія, фізика та технологія поверхні.* – 2011. – **2**, вып. 4. – С. 385–392.
111. *Пилипчук Е. В.* Синтез и свойства нанокompозитов на основе магнетита, модифицированного диэтилентриаминпентауксусной кислотой / Е. В. Пилипчук, А. Л. Петрановская, П. П. Горбик // *Наноструктур. матеріалознавство.* – 2012. – № 3. – С. 47–53.
112. *Петрановская А. Л.* Нанокompозиты на основе магнетита для медицины и фармации / А. Л. Петрановская, М. П. Турелик, Е. В. Пилипчук и др. // *Матеріали міжнар. конф. «Нанотехнології у фармації та медицині».* – Х., 2011. – С. 154–166.
113. *Турелик М. П.* Біофункціоналізація нанокompозитів на основі магнетиту, модифікованого мезо-2, 3-димеркаптосукциновою кислотою / М. П. Турелик, С. В. Горобець, А. О. Македонська, П. П. Горбик // *Наук. вісті НТУУ «КПІ».* 2012. – **1**. – С. 149–154.
114. *Пилипчук Є. В.* Синтез та властивості нанокompозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/гідроксиапатит/памідренова кислота/діетилентриамінпентаоцтова кислота/Gd<sup>3+</sup> / Є. В. Пилипчук, Ю. О. Зубчук, А. Л. Петрановська та ін. // *Хімія, фізика та технологія поверхні.* – 2015. – **6**, № 3. – С. 326–335.
115. [Електронний реєстр. Режим доступу: [http://www.rmj.ru/articles\\_7984.htm](http://www.rmj.ru/articles_7984.htm)].
116. *Туров В. В.* Определение сил адгезии на межфазной границе клетка/вода из данных <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопии / В. В. Туров, С. П. Горбик (Туранская) // *Укр. хим. журнал.* – 2003. – **69**, № 6. – С. 80–85.
117. *Туров В. В.* Влияние дисперсного кремнезема на связанную воду в замороженных клеточных суспензиях / В. В. Туров, С. П. Горбик, А. А. Чуйко // *Проблемы криобиологии.* – 2002. – № 3. – С. 16–23.
118. *Huang X. Y.* Enhanced Near-Infrared Quantum Cutting in GdBO<sub>3</sub>:Tb<sup>3+</sup>, :Yb<sup>3+</sup> Phosphors by Ce<sup>3+</sup> Codoping / X. Y. Huang, D. C. Yu, Q. Y. Zhang // *J. Appl. Phys.* – 2009. – **106**. – P. 113521–113527.

119. *Туранская С. П.* Синтез, свойства и применение магнитоуправляемых адсорбентов / С. П. Туранская, А. Н. Каминский, Н. В. Кусяк и др. // *Поверхность: межвед. сб. науч. тр.* – 2012. – **4**, № 19. – С. 266–292.
120. *Грег С.* Адсорбция, удельная поверхность, пористость: пер. с англ.; 2-е изд. / С. Грег, К. Синг. – М.: Мир, 1984. – 306 с.
121. *Загребин Л.* Метод очистки крови от вирусной инфекции путем сорбции на магнитоуправляемых наночастицах / Л. Загребин, С. Шестов, Ю. Яновский // *Тех. жив. систем.* – 2008. – **5**, № 2-3. – С. 111–118.
122. *Яновский Ю. Г.* Опытнo-конструкторские разработки портативного устройства для экстракорпоральной очистки биологических сред организма от токсинов и вирусов с использованием магниточувствительных нано- и микрочастиц / Ю. Г. Яновский, А. Н. Данилин, А. П. Захаров, В. А. Жогин // *Альманах клинической медицины.* – **17**, № 2. – С. 293–296.
123. *Мищенко В. М.* Магніточутливі адсорбенти на основі активованого вугілля: синтез та властивості / В. М. Міщенко, М. Т. Картель, В. А. Луценко та ін. // *Поверхность: межвед. сб. науч. тр.* – 2011. – **2**, № 17. – С. 276–285.
125. *Колотилов С. В.* Наноразмерный магнитный композит для извлечения  $\gamma$ -иммуноглобулинов из биологических сред / С. В. Колотилов, П. Н. Болтовец, Б. А. Снопко, В. В. Павлищук // *Теорет. и эксперим. химия.* – 2006. – **42**, № 4. – С. 204–209.
126. *Химия поверхности кремнезема* / под ред. А. А. Чуйко. – К.: ИХП НАН Украины, 2001. – Т. 1, ч. 1. – 736 с.
127. *Petranovska A. L.* Adsorption of *cis*-Dichlorodiammineplatinum by Nanostructures Based on Single-Domain Magnetite / A. L. Petranovska, N. V. Abramov, S. P. Turanska et al. // *J. Nanostruct. Chem.* – 2015. – **5**, No. 3. – P. 275–285.
128. *Кусяк Н. В.* Адсорбція катіонів на поверхні нанорозмірного магнетиту / Н. В. Кусяк, О. М. Камінський, А. Л. Петрановська, П. П. Горбик // *Поверхность: межвед. сб. науч. тр.* – 2011. – **3**, № 18. – С. 151–155.
129. *Семко Л.* Хімічне конструювання та дослідження властивостей магнітокерованих адсорбентів для екстракції нуклеїнових кислот / Л. Семко, С. Хуторний, Л. Сторожук та ін. // *Там само.* – 2010. – **2**, № 17. – С. 330–339.
130. *Петрановська А. Л.* Магнітні рідини на основі магнетиту і доксорубіцину для спрямованої доставки лікарського засобу / А. Л. Петрановська, М. В. Абрамов, С. П. Туранська та ін. // *Хімія, фізика та технологія поверхні.* – 2015. – **6**, № 3. – С. 343–353.



131. *Biswanath K.* Doxorubicin-Intercalated Nano-Hydroxyapatite Drug-Delivery System for Liver Cancer: an animal model / K. Biswanath, G. Debasree, K. S. Mithlesh et al. // Ceramics International. – 2013. – **39**, No. 8. – P. 9557–9566.
132. Кусяк А. П. Адсорбція катіонів  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  та  $Pb^{2+}$  нанокompозитами на основі однодоменого магнетиту / А. П. Кусяк, С. П. Туранська, А. Л. Петрановська, П. П. Горбик // Доп. НАН України. – 2015. – № 12. – С. 90–96.
133. *Hergt R.* Maghemite Nanoparticles with Very High AC-Losses for Application in Rf-Magnetic Hyperthermia / R. Hergt, R. Hieregeist, I. Hilger et al. // J. Magn. and Magn. Mater. – 2004. – **270**. – P. 345–357.
134. *Fortin J. P.* Size-Sorted Anionic Iron Oxide Nanomagnets as Colloidal Mediators for Magnetic Hyperthermia / J. P. Fortin, C. Wilhelm, J. Servais et al. // J. Amer. Chem. Soc. – 2007. – **129**. – P. 2628–2635.
135. *Bautista M. C.* Comparative Study of Ferrofluids Based on Dextran-Coated Iron Oxide and Metal Nanoparticles for Contrast Agents in Magnetic Resonance Imaging / M. C. Bautista, O. Bomati-Miguel, X. Zhao, S. Veintemillas-Verdaguer // Nanotechnology. – 2004. – **15**. – P. 154–159.
136. *Carpenter E. E.* Iron Nanoparticles as Potential Magnetic Carriers // J. Magn. and Magn. Mater. – 2001. – **225**. – P. 17–20.
137. *Туранская С. П.* Магнитные наночастицы и нанокompозиты в диагностике и лечении заболеваний / С. П. Туранская, В. В. Туров, П. П. Горбик // Химия, физика и технология поверхности. – 2007. – Вып. 13. – С. 273–293.
138. *ISAMMA–2010* (2-nd Int. Symp. «Advanced Magnetic Materials and Applications») // J. Phys. – Conference Series. – 2011. – Vol. 266. – 232 p.
139. *Gorbyk P. P.* Magnetosensitive Nanocomposites with Functions of Medico-Biological Nanorobots: synthesis and properties / P. P. Gorbyk, L. B. Lerman, A. L. Petranovska, S. P. Turanska // Advances in Semiconductor Research: physics of nanosystems, spintronics and technological applications. – New York: Nova Science Publishers, 2014. – P. 161–198.
140. *Gorbyk P. P.*, Magnetosensitive Nanocomposites with Hierarchical Nanoarchitecture as Biomedical Nanorobots: synthesis, properties and application / P. P. Gorbyk, L. B. Lerman, A. L. Petranovska et al. // Fabrication and Self-Assembly of Nanobiomaterials, Applications of Nanobiomaterials. – Elsevier: ed. by A. Grumezescu, 2016. – P. 289–334.
141. *Розенцвейг Р.* Феррогидродинамика. – М.: Мир, 1989. – 357 с.
142. *Шлюмис М. И.* Магнитные жидкости // Успехи физ. наук. – 1974. – **112**, № 3. – С. 427–458.

143. *Hong R. Y.* Preparation, Characterization and Application of Bilayer Surfactant-Stabilized Ferrofluids / R. Y. Hong, S. Z. Zhang, Y. P. Han et al. // *Powder Technol.* – 2006. – **170**. – P. 1–11.
144. *Абрамов М. В.* Свойства ансамблей наночастиц магнетита и магнитных жидкостей для применений в онкотерапии / М. В. Абрамов, П. П. Горбик // *Поверхность: межвед. сб. науч. тр.* – 2012. – **4**, № 19. – С. 246–265.
145. *Neel L.* Influence of Thermal Fluctuations on the Magnetization of Ferromagnetic Small Particles // *C. R. Acad. Sci.* – 1949. – **228**, No. 6. – P. 664–668.
146. *Борисенко Н. В.* Синтез и свойства магниточувствительных нанокompозитов на основе оксидов железа и кремния – Т. 1 / Н. В. Борисенко, В. М. Богатырев, И. В. Дубровин и др.; под ред. А. П. Шпака и П. П. Горбика // *Физико-химия наноматериалов и супрамолекулярных структур.* – К.: Наук. думка, 2007. – С. 394–406.
147. *Лук'янова Н. Ю.* Экспериментальне обгрунтування ефективності використання феромагнітного нанокompозиту у подоланні резистентності пухлинних клітин до цисплатину: автореф. дис. докт. біол. наук. – К., 2015. – 43 с.
148. *Саенко Ю. В.* Доксорубин и менадион вызывают задержку клеточной пролиферации *Saccharomyces cerevisiae* с помощью различных механизмов / Ю. В. Саенко, А. М. Шутов, Е. В. Расторгуева // *Цитология.* – 2010. – **52**, № 5. – С. 407–411.
149. *Kule C.* Doxorubicin, Daunorubicin, and Mitoxantrone Cytotoxicity in Yeast / C. Kule, O. Ondrejickova, K. Verner // *Mol. Pharmacol.* – 1994. – **46**, No. 6. – P. 1234–1240.
150. *Patel S.* Identification of Yeast DNA *Topoisomerase II* Mutants Resistant to the Antitumor Drug Doxorubicin: implications for the mechanisms of doxorubicin action and cytotoxicity / S. Patel, A. U. Sprung, B. A. Keller et al. // *Mol. Pharmacol.* – 1997. – **52**, No. 4. – P. 658–666.
151. *Бабьева И. П.* Биология дрожжей / И. П. Бабьева, И. Ю. Чернов. – КМК: Общ-во науч. изд., 2004. – 239 с.
152. *Медведев И. Б.* Фотодинамическая терапия в офтальмологии / И. Б. Медведев, Е. И. Беликова, М. П. Сямичев. – М., 2006. – 145 с.
153. *Гельфонд М. Л.* Фотодинамическая терапия в онкологии // *Практическая онкология.* – 2007. – **8**, № 4. – С. 204–221.
154. *Kovaliuk S. M.* Physicochemical Properties of Nanosized Magnetite, Modified with Indocyanine Dyes / S. M. Kovaliuk, I. V. Pylypchuk, P. P. Gorbyk et al. // *Ukrainian–German Symposium on Physics and Chemistry of Nanostructures and on Nanobiotechnology.* – К., 2015. – 223 p.

155. *Патент України № 99211*. Нанокапсула з функціями наноробота / П. П. Горбик, А. Л. Петрановська, М. П. Турелик та ін. – Опубл. 25.07.2012.
156. *Патент України № 78473*. Магнітна протипухлинна рідина / Б. Є. Патон, П. П. Горбик, А. Л. Петрановська та ін. – Опубл. 25.03.2013.
157. *Патент України № 78448*. Магнітна рідина / П. П. Горбик, А. Л. Петрановська, М. П. Турелик та ін. – Опубл. 25.03.2013.
158. *Патент України № 20063*. Спосіб одержання магнітного шаруватого матеріалу / Л. С. Семко, П. П. Горбик, С. В. Хуторний. – Опубл. 17.07.2012.
159. *Свідоцтво № 46056 на ТТР (технологічний регламент) виробництва речовини «Магнетит-У»* / П. П. Горбик, А. Л. Петрановська, М. П. Турелик та ін. – Опубл. 07.09.2012.
160. *Свідоцтво № 58159 на ТТР (технологічний регламент) на виробництво магнітної рідини* / П. П. Горбик, М. В. Абрамов, А. Л. Петрановська, Є. В. Пилипчук, О. А. Васильєва. – Опубл. 20.01.2015.
161. *Абрамов Н. В.* Магнитные жидкости на основе доксорубицина для применений в онкотерапии // *Поверхность: межвед. сб. науч. тр.* – 2014. – Вып. 6 (21). – С. 241–258.
162. *Цільова комплексна програма фундаментальних досліджень «Наноструктурні системи, наноматеріали, нанотехнології»*. – К., 2010. – 191 с.
163. *Сторожук Л. П.* Синтез та властивості поліфункціональних магніто-чутливих нанокompозитів: автореф. дис. ... канд. хім. наук. – К., 2007. – 21 с.
164. *Турелик М. П.* Хімічне конструювання наноструктур з функціями медико-біологічних нанороботів: автореф. дис. ... канд. хім. наук. – К., 2012. – 24 с.
165. *Пилипчук Є. В.* Синтез та властивості магніточутливих гадоліній-вмісних нанокompозитів: автореф. дис. ... канд. хім. наук. – К., 2013. – 22 с.
166. *Уварова І. В.* Наноматеріали медичного призначення / І. В. Уварова, П. П. Горбик, С. В. Горобець та ін.; за ред. В. В. Скорохода. – К.: Наук. думка, 2014. – 416 с.
167. *Уварова І. В.* Наноматеріали та їх використання у медичних виробках: навч. посібник / І. В. Уварова, В. Б. Максименко, Т. М. Ярмола. – К.: КІМ, 2013. – 172 с.
168. *Уварова І. В.* Біосумісні матеріали для медичних виробів: навч. посібник / І. В. Уварова, В. Б. Максименко. – К.: КІМ, 2013. – 232 с.

169. *Pylypchuk Ie. V.* Formation of biomimetic hydroxyapatite coatings on the surface of titanium and Ti-containing alloys: Ti–6Al–4V and Ti–Zr–Nb. Ie.V. / Ie. V. Pylypchuk, P. P. Gorbyk, A.L. Petranovska et al. // *Surface Chemistry of Nanobiomaterials. Applications of Nanobiomaterials.* – Elsevier: ed. by A. Grumezescu, 2016. – P. 193–229.
170. *Pokutnyi S. I.* New Quasiatomic Nanoheterostructures: Superatoms / S. I. Pokutnyi, P. P. Gorbyk // *Horizons in World Physics.* – **292.** – New York: Nova Science Publishers: ed. by A. Reimer, 2017. – P. 173–188.
171. *Abramov M. V.* Magnetosensitive Nanocomposites Based on Cisplatin and Doxorubicin for Application in Oncology / M. V. Abramov, A. P. Kussyak, P. P. Gorbyk et al. // *Horizons in World Physics.* – **293.** – New York: Nova Science Publishers: ed. by A. Reimer, 2017. – P. 1–56.
172. *Pylypchuk I. V.* Gd(III) Adsorption on the DTPA-functionalized chitosan/magnetite nanocomposites // I. V. Pylypchuk, D. Kolodynska, P. P. Gorbyk // *Separation Science and Technology.* – 2017. <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1330830>
173. *Горбик П. П.* Синтез і властивості наноструктур, поглинаючих надвисокочастотне електромагнітне та нейтронне випромінення. / П. П. Горбик, С. М. Махно, І. В. Дубровін та ін. // *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології.* – 2017. – **15**, № 1. С. 47–82.
174. *Горбик П. П.* Синтез та властивості нанорозмірних однодомених феритів-шпінелей / П. П. Горбик, М. В. Абрамов, І. В. Дубровін та ін. // *Успехи физ. мет.* – 2017. – **18**, №1. – С. 59–105.

### До розділу 3

1. *Павлович С. А.* Магниточувствительность и магнитовосприимчивость микроорганизмов. – Минск: Беларусь, 1981. – 172 с.
2. *Gorobets Y. I.* Statistical Characteristics of Trajectories of Diamagnetic Unicellular Organisms in a Magnetic Field / Y. I. Gorobets, O. Y. Gorobets // *Progress in Biophysics and Molecular Biology.* – 2015. – 117 (1). – P. 125–128.
3. *Blakemore R. P.* Magnetotactic Bacteria // *Science.* – 1975. – 190. – P. 377–379.
4. *Walcott C.* Pigeons Have Magnets / C. Walcott, J. L. Gould, J. L. Kirschvink // *Ibid.* – 1979. – 184. – P. 180–182.
5. *Zoeger J.* Magnetic Material in the Head of the Common Pacific Dolphin / J. Zoeger, J. R. Dunn, M. Fuller // *Ibid.* – 1981. – Vol. 213 (4510). – P. 892–894.

6. *Ritz T.* Resonance Effects Indicate a Radical-Pair Mechanism for Avian Magnetic Compass / T. Ritz, P. Thalau, J. B. Phillips // *Nature*. – 2004. – Vol. 429. – P. 177–179.
7. Gorobets Yu. I. Stationary Flows of Electrolytes in the Vicinity of Ferromagnetic Particles in a Constant Magnetic Field / Y. I. Gorobets, S. V. Gorobets // *Bulletin of Herson State Technical University*. – 2000. – 3 (9). – P. 276–281.
8. *Gorobets O. Yu.* Biogenic Magnetic Nanoparticles: biomineralization in prokaryotes and eukaryotes / O. Yu. Gorobets, S. V. Gorobets, Yu. I. Gorobets // *Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology: 3<sup>rd</sup> ed.* – New York: CRC Press, 2014. – P. 300–308.
9. *Gorobets S. V.* Functions of Biogenic Magnetic Nanoparticles in Organisms / S. V. Gorobets, O. Yu Gorobets // *Functional Materials*. – 2012. – 19 (1). – P. 18–26.
10. *Gorobets O. Yu.* Biomineralization of Intracellular Biogenic Magnetic Nanoparticles and their Possible Functions / O. Yu. Gorobets, S. V. Gorobets, Yu. I. Gorobets // *Research Bulletin of NTUU «KPI»*. – 2013. – 3. – P. 28–33.
11. *Hautot D.* Preliminary Evaluation of Nanoscale Biogenic Magnetite in Alzheimer's Disease Brain Tissue / D. Hautot, Q. A. Pankhurst, N. Khan, J. P. Dobson // *Proceedings of the Royal Society*. – B: Biological Sciences. – 2003. – 270. – P. 62–64.
12. *Hautot D.* Preliminary Observation of Elevated Levels of Nanocrystalline Iron Oxide in the Basal Ganglia of Neuroferritinopathy Patients / D. Hautot, Q. A. Pankhurst, Ch. M. Morris et al. // *Biochem. Biophys. Acta*. – 2007. – 1772, No. 1. – P. 21–25.
13. *Dobson J. P.* Nanoscale Biogenic Iron Oxides and Neurodegenerative Disease // *FEBS Lett*. – 2001. – 496. – P. 1–5.
14. *Moos T.* The Metabolism of Neuronal Iron and its Pathogenic Role in Neurological Disease: review / T. Moos, E. H. Morgan // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2004. – P. 1012–1014.
15. *Brem F.* Magnetic Iron Compounds in the Human Brain: a comparison of tumor and hippocampal tissue / F. Brem, A. M. Hirt, M. Winklhofer // *Journal of The Royal Society Interface*. – 2006. – Vol. 3. – P. 833–841.
16. *Alekseeva T. A.* Magnetic Force Microscopy of Atherosclerotic Plaques / T. A. Alekseeva, S. V. Gorobets, O. Yu. Gorobets et al. // *Medical Perspectives*. – 2014. – No. 1. – P. 4–10.
17. *Faivre D.* From Bacteria to Mollusks: the principles underlying the biomineralization of iron oxide materials / D. Faivre, T. U. Godec // *Angew. Chem.; int. ed.* – 2015. – 54. – P. 4728–4747.

18. *Lowenstam H. A.* Magnetite in Denticle Capping in Recent Chitons // *Geol. Soc. – 11 Am. Bull.* – 1973. – Vol. 73, No. 4. – P. 435–438.
19. *Posfai M.* Magnetic Nanocrystals in Organisms / M. Posfai, R. E. Dunin-Borkowski // *Magnetic Nanocrystals in Organisms Elements (Ottawa).* – 2009. – Vol. 5, No. 4. – P. 235–240.
20. *Frankel R. B.* Magnetite in Freshwater Magnetotactic Bacteria / R. B. Frankel, R. P. Blakemore, R. S. Wolfe // *Science.* – 1979. – 203. – P. 1355–1356.
21. *Sakaguchi T.* Magnetite Formation by a Sulphate-Reducing Bacterium / T. Sakaguchi, J. G. Burgess, T. Matsunaga // *Nature.* – 1993. – 365. – P. 47–49.
22. *Mann S.* Biomineralization of Ferrimagnetic Greigite ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ) and Iron Pyrite ( $\text{FeS}_2$ ) in a Magnetotactic Bacterium / S. Mann, N. Sparks, R. B. Frankel et al. // *Nature.* – 1990. – 343. – P. 258–261.
23. *Dunlop D. J.* Magnetism: fundamentals and frontiers / D. J. Dunlop, Ö. Özdemir // Cambridge (UK): Cambridge University Press, 1997. – 573 p.
24. *Goss C. J.* Saturation Magnetisation, Coercivity and Lattice Parameter Changes in the System  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ – $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ , and Their Relationship to Structure // *Phys. Chem. Minerals.* – 1988. – 16. – P. 164–171.
25. *Kletetschka G.* Hematite vs. Magnetite as the Signature for Planetary Magnetic Anomalies? / G. Kletetschka, P. J. Wasilewski, P. T. Taylor // *Physics of the Earth and Planetary Interiors.* – 2000. – 119. – P. 259–267.
26. *Pannalal S. J.* Room-Temperature Magnetic Properties of Ferrihydrite: a potential magnetic remanence carrier? / S. J. Pannalal, S. A. Crowe, M. T. Cioppa et al. // *Earth and Planetary Science Letters.* – 2005. – 236. – P. 856–870.
27. *Roberts A. P.* Magnetic Properties of Sedimentary Greigite ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ): an update / A. P. Roberts, L. Chang, D. Heslop et al. // *Reviews of Geophysics.* – 2011. – 49. – doi: [org/10.1029/2010RG000336](https://doi.org/10.1029/2010RG000336).
28. *Gorobets O.* Physiological Origin of Biogenic Magnetic Nanoparticles in Health and Disease: from bacteria to humans / O. Gorobets, S. Gorobets, M. Koralewski // *International Journal of Nanomedicine.* – 2017. – 12. – P. 4371–4395.
29. *Cornell R. M.* The Iron Oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses; 2<sup>nd</sup> ed. (completely revised and extended) / R. M. Cornell, U. Schwertmann. – Wiley Authenticity Guarantee, 2006. – 703 p.
30. *Richter M.* Comparative Genome Analysis of Four Magnetotactic Bacteria Reveals a Complex Set of Group-Specific Genes Implicated in Magnetosome Biomineralization and Function / M. Richter, M. Kube, D. A. Bazylinski // *Journal of Bacteriology.* – 2007. – 189 (13). – P. 4899–4910.

31. *Fernanda A.* Common Ancestry of Iron Oxide- and Iron-Sulfide-Based Biomineralization in Magnetotactic Bacteria / A. Fernanda, E. C. Mauricio, F. N. Marisa // *The ISME*. – 2011. – J. 5. – P. 1634–1640.
32. *Губин Ю. А.* Магнитные наночастицы: методы получения, строение и свойства / Ю. А. Губин, С. П. Кокшаров, Г. Б. Хомутов, Г. Ю. Юрков // *Успехи химии*. – 2005. – 74 (6). – С. 539–574.
33. *Komeili A.* Magnetosome Vesicles are Present before Magnetite Formation, and *MamA* is Required for their Activation / A. Komeili, H. Vali, T. J. Beveridge, D. K. Newman // *PNAS*. – 2004. – Vol. 101, No. 11. – P. 3839–3844.
34. *Fukumori Y.* Enzymatic Iron Oxidation and Reduction in Magnetite Synthesizing *Magnetospirillum magnetotacticum* / Y. Fukumori, H. Oyanagi, K. Yoshimatsu // *Journal de Physique*. – 1997. – No. IV (07). – P. 659–662.
35. *Bazylnski D. A.* Magnetosome Formation in Prokaryotes / D. A. Bazylnski, R. B. Frankel // *Nature Reviews Microbiology*. – 2004. – Vol. 2. – P. 217–230.
36. *Faivre D.* Magnetotactic Bacteria and Magnetosomes / D. Faivre, D. Schuler // *Chemical Reviews*. – 2008. – 108. – P. 4875–4898.
37. *Нукифоров В. Н.* Биомедицинские применения магнитных наночастиц // *Наука и технологии в промышленности*. – 2011. – № 1. – С. 90–99.
38. *Kobayashi A.* Studies of Inorganic Crystals in Biological Tissue: magnetite in human tumor / A. Kobayashi, N. Yamamoto, J. Kirschvink // *Journal of the Japan Society of Powder and Powder Metallurgy*. – 1997. – No. 44. – P. 94–102.
39. *Chekchun V. F.* Magnetically Sensitive Nanostructures of Endogenous Origin in Ehrlich's Carcinoma Cells / V. F. Chekchun, O. Yu. Gorobets, S. V. Gorobets, I. V. Demianenko // *Nanostructure Materials Science*. – 2011. – 2. – P. 102–109.
40. *Kobayashi A.* Study of Inorganic Crystalline Solids in Biosystems-Magnetite in the Human Body / A. Kobayashi, N. Yamamoto, J. Kirschvink // *Journal of the Japan Society of Powder and Powder Metallurgy*. – 1996. – 43 (11). – P. 1354–1360.
41. *Hsu Ch.-Y.* Magnetoreception System in Honeybees (*Apis mellifera*) / Ch.-Y. Hsu, F.-Y. Ko, Ch.-W. Li // *PLoS ONE*. – 2007. – 4. – P. 1–11.
42. *Maher B. A.* Magnetite Biomineralization in Termites // *Proceedings of the Royal Society of London*. – 1988. – 265 (1397). – P. 733–737.
43. *Cranfield C. G.* Biogenic Magnetite in the Nematode *Caenorhabditis elegans* / C. G. Cranfield, A. Dawe, V. Karloukovski et al. // *Proceedings of the Royal Society*. – B: Biological Sciences. – 2004. – 271. – P. 436–439.

44. Mann S. Ultrastructure, Morphology and Organization of Biogenic Magnetite from *Sockeye Salmon*, *Oncorhynchus nerka*: implications for magnetoreception / S. Mann, N. H. Sparks, M. M. Walker, J. L. Kirschvink // *Journal of Experimental Biology*. – 1988. – 140. – P. 35–49.
45. Vainshtein M. New Magnet-Sensitive Structures in Bacterial and Archaeal Cells / M. Vainshtein, N. Suzina, E. Kudryashova et al. // *Biology of the Cell*. – 2002. – 94. – P. 29–35.
46. Gajdardziska-Josifovska M. Discovery of Nanocrystalline Botanical Magnetite / M. Gajdardziska-Josifovska, M. A. Schofield, C. V. Sommer, W. F. Kean // *European Journal of Mineralogy*. – 2001. – 13. – P. 863–870.
47. Gorobets S. Comparative characteristics of biogenic magnetic nanoparticles in plant, fungi and animal organisms / Gorobets S. , O. Gorobets, A. Duduk, M. Bulaievska, I. Sharay // *IEEE AIM 2018*, La Thuile, Italy, February 4 - 7, 2018.
48. De Barros L. Ciénciae Congervacaona Serrados Orgaos // *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. – 1981. – 54. – 258 p.
49. Suzuki Y. Sclerite Formation in the Hydrothermal Vent «Scaly-Foot» Gastropod-Possible Control of Iron Sulfide Biomineralization by the Animal / Y. Suzuki, R. Kopp, T. Kogure et al. // *Earth and Planetary Science Letters*. – 2006. – 242. – P. 39–50.
50. De Oliveira J. F. Ant Antennae: are they sites for magnetoreception? / J. F. de Oliveira, E. Wajnberg, D. M. de Souza Esquivel et al. // *Journal of The Royal Society Interface*. – 2010. – 7. – P. 143–152.
51. Gould J. L. DeffeyesKirschvink Bees Have Magnetic Remanence / J. L. Gould, J. L. Kirschvink, K. S. Deffeyes // *Science*. – 1978. – 202. – P. 1026–1028.
52. Acosta-Avalos D. Isolation of Magnetic Nanoparticles from *Pachycondyla Marginata* Ants / D. Acosta-Avalos, E. Wajnberg, P. S. Oliveira et al. // *Journal of Experimental Biology*. – 1999. – 202. – P. 2687–2692.
53. Lohmann K. J. Magnetic Remanence in the Western Atlantic Spiny Lobster, *Panulirus Argus* // *Journal of Experimental Biology*. – 1984. – 113. – P. 29–41.
54. Brassart J. Ferromagnetic Material in the Eastern Red-Spotted New *Notophthalmus Viridescens* / J. Brassart, J. L. Kirschvink, J. B. Phillips, S. C. Borland // *Journal of Experimental Biology*. – 1999. – 202 (22). – P. 3155–3160.
55. Kirschvink J. L. Magnetite Biomineralization and Geomagnetic Sensitivity in Higher Animals: an update and recommendations for future study // *Bioelectromagnetics*. – 1989. – 10 (3). – P. 239–259.
56. Diebel C. E. Magnetite Denes a Vertebrate Magnetoreceptor / C. E. Diebel, R. Proksch, C. R. Greenk // *Nature*. – 2000. – Vol. 406. – P. 299–302.



57. Eder S. H. K. Magnetic Characterization of Isolated Candidate Vertebrate Magnetoreceptor Cell / S. H. K. Eder, H. Cadiou, A. Muhamad et al. // PNAS. – 2012. – Vol. 109, No. 30. – P. 12022–12027.
58. Moore A. Magnetic Particles in the Lateral Line of the Atlantic Salmon / A. Moore, S. M. Freake, I. M. Thomas // Philosophical Transactions of the Royal Society of London. – B: Biological Sciences. – 1990. – 329. – P. 11–15.
59. Moore A. Magnetic Particles Associated with the Lateral Line of the European Eel (*Anguilla anguilla*) / A. Moore, W. D. Riley // Journal of Fish Biology. – 2009. – 74. – P. 1629–1634.
60. Ogura M. Magnetic Particles in Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*): extraction and transmission electron microscopy / M. Ogura, M. Kato, N. Arai et al. // Canadian Journal of Zoology. – 1992. – 70. – P. 874–877.
61. Irwin W. P. Disruption of Magnetic Orientation in Hatchling Loggerhead Sea Turtles by Pulsed Magnetic Fields / W. P. Irwin, K. J. Lohmann // Journal of Comparative Physiology. – A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology. – 2005. – 191 (5). – P. 475–480.
62. Falkenberg G. Avian Magnetoreception: elaborate iron mineral containing dendrites in the upper beak seem to be a common feature of birds / G. Falkenberg, G. Fleissner, K. Schuchardt et al. // PLoS ONE. – 2010. – 5 (2). – doi: 10.1371/journal.pone.0009231.
63. Cadiou H. Avian Magnetite-Based Magnetoreception: a Physiologist's Perspective / H. Cadiou, P. A. McNaughton // Journal of The Royal Society Interface. – 2010. – 7. – P. 193–205.
64. Edwards H. H. Natural and Induced Remanent Magnetism in Birds / H. H. Edwards, G. D. Schnell, R. L. Dubois, V. H. Hutchison // The Auk. – 1992. – 109 (1). – P. 43–56.
65. Edelman N. B. No Evidence for Intracellular Magnetite in Putative Vertebrate Magnetoreceptors Identified by Magnetic Screening / N. B. Edelman, T. Fritz, S. Nimp et al. // PNAS. – 2015. – Vol. 112, No. 1. – P. 262–267.
66. Holland R. A. Bats Use Magnetite to Detect the Earth's Magnetic Field / R. A. Holland, J. L. Kirschvink, T. G. Doak, M. Wikelski // PLoS ONE. – 2008. – 3 (2). – doi: org/10.1371/journal.pone.0001676.
67. Kirschvink J. L. Magnetite Biomineralization in the Human Brain / J. L. Kirschvink, A. Kobayashi-Kirschvink, B. J. Woodford // Proceedings of the National Academy of Sciences. – USA. – 1992. – 89. – P. 7683–7687.
68. Quintana C. Electron Nanodiffraction and High-Resolution Electron Microscopy Studies of the Structure and Composition of Physiological and

- Pathological Ferritin / C. Quintana, J. M. Cowley, C. Marhic // Journal of Structural Biology. – 2004. – 147. – P. 166–178.
69. *Collingwood J. F.* Three Dimensional Tomographic Imaging and Characterization of Iron Compounds within Alzheimer's Plaque Core Material / J. F. Collingwood, R. K. K. Chong, T. Kasama et al. // Journal of Alzheimer's Disease. – 2008. – 14. – P. 235–245.
70. *Grassi-Schultheiss P. P.* Analysis of Magnetic Material in the Human Heart, Spleen and Liver / P. P. Grassi-Schultheiss, F. Heller, J. Dobson // Biometals. – 1997. – Vol. 10. – P. 351–355.
71. *Kirschvink J. L.* Ferromagnetic Crystals in Human Tissue // Journal of Experimental Biology. – 1981. – 92. – P. 333–335.
72. *Schultheiss-Grassi P. P.* Magnetic Analysis of Human Brain Tissue / P. P. Schultheiss-Grassi, J. Dobson // Biometals. – 1999. – Vol. 12. – P. 67–72.
73. *Lins de Barros H. G. P.* Magnetotactic Algae / H. G. P. Lins de Barros, D. M. S. Esquivel, J. Danon, L. P. H. de Oliveira. – Notas de Física: Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, 1981. – 7 p.
74. *Lowenstam H. A.* Magnetite in Denticle Capping in Recent Chitons (*Polyplacophora*) // Geological Society of America Bulletin. – 1962. – 73. – P. 435–438.
75. *Walker M. M.* A Candidate Magnetic Sense Organ in the *Yellowfin Tuna*, *Thunnus albacares* / M. M. Walker, J. L. Kirschvink et al. // Science, 1984. – 224. – P. 751–753.
76. *Walker M. M.* Production of Single-Domain Magnetite throughout Life by *Sockeye Salmon*, *Oncorhynchus nerka* / M. M. Walker, T. P. Quinn, J. L. Kirschvink, C. Groot // Journal of Experimental Biology. – 1988. – 140. – P. 51–63.
77. *Hanzlik M.* Superparamagnetic Magnetite in the Upper Beak Tissue of Homing Pigeons / M. Hanzlik, C. Heunemann, E. Holtkamp-Rötzler et al. // Biometals. – 2000. – 13 (4). – P. 325–331.
78. *Cadiou H.* Avian Magnetite-Based Magnetoreception: a physiologist's perspective / H. Cadiou, P. A. McNaughton // Journal of The Royal Society Interface. – 2010. – 7. – P. 193–205.
79. *Collingwood J. F.* *In situ* Characterization and Mapping of Iron Compounds in Alzheimer's Disease Tissue / J. F. Collingwood, A. Mikhaylova, M. Davidson et al. // Journal of Alzheimer's Disease. – 2005. – 7. – P. 267–272.
80. *Grünberg K.* Biochemical and Proteomic Analysis of the Magnetosome Membrane in *Magnetospirillum gryphiswaldense* / K. Grünberg, E. Müller, A. Otto et al. // Applied and Environmental Microbiology. – 2004. – 70. – P. 1040–1050.

81. Arakaki A. Formation of Magnetite by Bacteria and its Application / A. Arakaki, H. Nakazawa, M. Nemoto et al. // Journal of The Royal Society Interface.– 2008.– 5. – P. 977–999.
82. Byrne M. E. Desulfovibrio Magneticus RS-1 Contains an Iron- and Phosphorus-Rich Organelle Distinct from its Bulletshaped Magnetosomes / M. E. Byrne, D. A. Ball, J. L. Guerquin-Kern et al. // Proc. Natural. Acad. Sci. of USA. – 2010. – 107 (27). – P. 12263–12268.
83. Schüler D. Molecular Analysis of a Subcellular Compartment: the magnetosome membrane in *Magnetospirillum gryphiswaldense* // Archives of Microbiology. – 2004. – Vol. 181. – P. 1–7.
84. Thomas-Keprta K. L. Elongated Prismatic Magnetite Crystals in ALH84001 Carbonate Globules: potential martian magnetofossils / K. L. Thomas-Keprta, D. A. Bazylinski, J. L. Kirschvink et al. // Geochimica et Cosmochimica Acta. – 2000.– 64 (23). – P. 4049–4081.
85. Grunberg K. Large Gene Cluster Encoding Several Magnetosome Proteins is Conserved in Different Species of Magnetotactic Bacteria / K. Grunberg, C. Wawer, B. Tebo, D. Schüler // Applied and Environmental Microbiology. – 2001. – Vol. 67 (10). – P. 4573–4582.
86. Gorby Y. A. Characterization of the Bacterial Magnetosome Membrane / Y. A. Gorby, T. J. Beveridge, R. P. Blakemore //Journal of Bacteriology. – 1988. – 170. – P. 834–841.
87. Nakazawa H. Whole Genome Sequence of Desulfovibrio Magneticus Strain RS-1 Revealed Common Gene Clusters in Magnetotactic Bacteria / H. Nakazawa, A. Arakaki, S. Narita-Yamada et al. // Genome Research. – 2009. – 19. – P. 1801–1808.
88. Methe B. A. Genome of *Geobacter sulfurreducens*: metal reduction in subsurface environments / B. A. Methe, K. E. Nelson, J. A. Eisen et al. // Science. – 2003. – 302 (5652). – P.1967–1969.
89. Aklujkar M. The Genome Sequence of *Geobacter metallireducens*: features of metabolism, physiology and regulation common and dissimilar to *Geobacter sulfurreducens* / M. Aklujkar, J. Krushka, G. DiBartolo et al. // BMC Microbiology. – 2009. – 9. – P. 109. – doi: 10.1186/1471-2180-9-109.
90. Schubbe S. Complete Genome Sequence of the Chemolithoautotrophic Marine Magnetotactic Coccus Strain MC-1 / S. Schübbe, T. J. Williams, G. Xie et al. // Applied and Environmental Microbiology. – 2009. – 75 (14). – P. 4835–4852.
91. Schuler D. Iron-Limited Growth and Kinetics of Iron Uptake in *Magnetospirillum gryphiswaldense* / D. Schuler, E. Baeuerlein // Archives of Microbiology. – 1996. – 166. – P. 301–307.

92. *Schuler D.* Iron Transport and Magnetite Crystal Formation of the Magnetic Bacterium *Magnetospirillum gryphiswaldense* / D.Schuler, E. Baeuerlein // Journal of Physics. – IV. – 1997. – 7, No. 1. – P. 647–650.
93. *uSchüler D.* Formation of Magnetosomes in Magnetotactic Bacteria // Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. – 1999. – 1 (1). – P. 79–86.
94. *Schüler D.* Dynamics of Iron Uptake and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Biomineralization During Aerobic and Microaerobic Growth of *Magnetospirillum gryphiswaldense* / D. Schüler, E. Baeuerlein // Journal of Bacteriology. – 1998. – 180 (1). – P. 159–162.
95. *Kawaguchih R.* Phylogenetic Analysis of a Novel Sulfate-Reducing Magnetic Bacterium, *RS-1*, Demonstrates its Membership of the Delta-Proteobacteria / R. Kawaguchih, J. G. Burgess, T. Sakaguchi et al. // FEMS Microbiology Letters. – 1995. – 126. – P. 277–282.
96. *Blakemore R. P.* Isolation and Pure Culture of a Freshwater Magnetic Spirillum in Chemically Defined Medium / R. P. Blakemore, D. Maratea, R. S. Wolfe // Journal of Bacteriology. – 1979. – 140 (2). – P. 720–729.
97. *Keim C. N.* Magnetoglobus, Magnetic Aggregates in Anaerobic Environments / C. N. Keim, M. Farina, U. Lins // Microbe. – 2007. – Vol. 2, No. 9. – P. 437–445.
98. *Davila A. F.* Detection and Function of Biogenic Magnetite // Earth and Planetary Science Letters. – 2005. – 232. – P. 109–125.
99. *Faber C.* Living Lodestones: magnetotactic bacteria // Strange Horizons. – Vol. 7. – July 2001.
100. *Lovley D. R.* Anaerobic Production of Magnetite by a Dissimilatory Iron-Reducing Microorganism / D. R. Lovley, J. F. Stolz, E. J. P. Phillips // Nature. – 1987. – 330. – P. 252–254.
101. *Lovley D. R.* Hydrogen and Formate Oxidation Coupled to Dissimilatory Reduction of Iron or Manganese by *Alteromonas putrefaciens* / D. R. Lovley, E. J. P. Phillips, D. J. Lonergan // Applied and Environmental Microbiology. – 1989. – 55 (3). – P. 700–706.
102. *Mumford E. M.* A New Iron Bacterium // Journal of the Chemical Society. – 1913. – 103. – P. 645–650.
103. *Lovley D. R.* Magnetite Formation During Microbial Dissimilatory Iron Reduction // Iron Biominerals; ed. by R. B. Frankel and R. P. Blakemore. – New York: Plenum Press, 1990. – P. 151–166.
104. *Bell P. E.* Biogeochemical Conditions Favoring Magnetite Formation during Anaerobic Iron Reduction / P. E. Bell, A. L. Mills, J. S. Herman // Applied and Environmental Microbiology. – 1987. – 53 (11). – P. 2610–2616.

105. *Worster M. G.* Convection and Crystallization in Magma Cooled from Above / M. G. Worster, H. E. Huppert, S. J. Sparks // *Earth and Planetary Science Letters*. –1990. – 101. – P. 78–89.
106. *Moskowitz B. M.* A Comparison of Magnetite Particles Produced Anaerobically by Magnetotactic and Dissimilatory Iron-Reducing Bacteria / B. M. Moskowitz, R. B. Frankel, D. A. Bazylinski et al. // *Geophysical Research Letters*. – 1989. – Vol. 16. – P. 665–668.
107. *Blakemore R. P.* Microaerobic Conditions are Required for Magnetite Formation within *Aquaspirillum magnetotacticum* / R. P. Blakemore, K. A. Short, D. A. Bazylinski // *Geomicrobiology Journal*. – 1985. – Vol. 4. – P. 53–71.
108. *Bazylinski D. A.* Anaerobic Magnetite Production by a Marine, Magnetotactic Bacterium / D.A. Bazylinski, R. B. Frankel, H. W. Jannasch // *Nature*. – 1988. – 334. – P. 518–519.
109. *Lovley D. R.* Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) Reduction // *Microbiological Reviews*. – 1991. – 2. – P. 259–287.
110. *Ponnamperuma F. N.* The Chemistry of Submerged Soils // *Advances in Agronomy*. – 1972. – 24. – P. 29–96.
111. *Kostka J. E.* The Impact of Structural Fe(III) Reduction by Bacteria on the Surface Chemistry of Smectite Clay Minerals / J. E. Kostka, J. Wu, K. H. Nealson, J. W. Stucki // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 1999. – 63 (22). – P. 3705–3713.
112. *Stucki J. W.* Microbial Reduction of Structural Iron(III) in Smectites / J. W. Stucki, P. Komadel, H. T. Wilkinson // *Soil Science Society of America Journal*. – 1987. – 51. – P. 1663–1665.
113. *Achtnich C.* Role of Interspecies  $H_2$  Transfer to Sulfate and Ferric Iron-Reducing Bacteria in Acetate Consumption in Anoxic Paddy Soil / C. Achtnich, A. Schuhmann, T. Wind, R. Conrad // *FEMS Microbiology Ecology*. – 1995. – Vol. 16. – P. 61–70.
114. *Fassbinder J. W. E.* Occurrence of Magnetic Bacteria in Soil / J. W. E. Fassbinder, H. Stanjek, H. Vali // *Nature*. – 343. – P. 161–163.
115. *Lovley D. R.* Fe(III)-Reducing Bacteria in Deeply Buried Sediments of the Atlantic Coastal Plain / D. R. Lovley, F. H. Chapelle, E. J. P. Phillips // *Geology*. – 1990. – 18. – P. 954–957.
116. *Little C. T. S.* Four-Hundred and Ninety-Million-Year Record of Bacteriogenic Iron Oxide Precipitation at Sea-Floor Hydrothermal Vents / C. T. S. Little, S. E. J. Glynn, R. A. Mills // *Geomicrobiology Journal*. – 2004. – 21. – P. 415–429.
117. *James R.* Evidence for Microbial-Mediated Iron Oxidation at a Neutrophilic Groundwater Spring / R. James, F. G. Ferris // *Chemical Geology*. – 2004. – 212. – P. 301–311.

118. *Edwards K. J.* Neutrophilic Iron-Oxidizing Bacteria in the Ocean: their habitats, diversity, and roles in mineral deposition, rock alteration, and biomass production in the deep-sea / K. J. Edwards, W. Bach, T. M. McCollom, D. R. Rogers // *Geomicrobiology Journal*. – 2004. – 21. – P. 393–404.
119. *Emerson D.* Isolation and Characterization of Novel Iron-Oxidizing Bacteria that Grow at Circumneutral pH / D. Emerson, C. L. Moyer // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1997. – 63. – P. 4784–4792.
120. *Benz M.* Anaerobic and Aerobic Oxidation of Ferrous Iron at Neutral pH by Chemoheterotrophic Nitrate-Reducing Bacteria / M. Benz, A. Brune, B. Schink // *Archives of Microbiology*. – 1998. – 169. – P. 159–165.
121. *Meruane G.* Bacterial Oxidation of Ferrous Iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the pH Range 2.5–7.0 / G. Meruane, T. Vargas // *Hydrometallurgy*. – 2003. – 71. – P. 149–158.
122. *Kappler A.* Formation of Fe(III)-Minerals by Fe(II)-Oxidizing Photoautotrophic Bacteria / A. Kappler, D. K. Newman // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2004. – 68. – P. 1217–1226.
123. *Kirschvink J. L.* Magnetite in Human Tissues: a mechanism for the biological effects of weak *ELF* magnetic fields / J. L. Kirschvink, A. Kobayashi-Kirschvink, J. C. Diaz-Ricci, S. J. Kirschvink // *Bioelectromagnetics Supplement*. – 1992. – 1. – P. 101–113.
124. *Dailey H. A.* Reduction of Iron and Synthesis of Protoheme by *Spirillum itersonii* and other Organisms / H. A. Dailey, J. Lascelles // *Journal of Bacteriology*. – 1977. – 129 (2). – P. 815–820.
125. *Lascelles J.* Sn-Glycerol-3-Phosphate Dehydrogenase and its Interaction with Nitrate Reductase in Wild-Type and hem Mutant Strains of *Staphylococcus aureus* // *Ibid.* – 1978. – 133 (2). – P. 621–625.
126. *Komadel P.* Reduction of Structural Fe Insmectites by Microorganisms / P. Komadel, J. W. Stucki, H. T. Wilkinson // *Proc. of Sixth Meeting of the European Clay Groups (Seville, Spain, 1987)*. – Seville, 1987. – P. 322–324.
127. *Gates W. P.* Swelling Properties of Microbially Reduced Ferruginous Smectite / W. P. Gates, H. T. Wilkinson, J. W. Stucki // *Clays Clay Miner.* – 1993. – 41. – P. 360–364.
128. *Wiltschko W.* Magnetic Orientation and Magnetoreception in Birds and Other Animals / W. Wiltschko, R. Wiltschko // *Journal of Comparative Physiology*. – 2005. – 191. – P. 675–693.
129. *Lohmann K. J.* Animal Behaviour: geomagnetic map used in sea-turtle navigation / K. J. Lohmann, L. M. Ehrhart, D. A. Bagley, T. Swing // *Nature*. – 2004. – 428. – P. 909–910.

130. *Holland R. A.* Navigation: bat orientation using earth's magnetic field / R. A. Holland, K. Thorup, M. J. Vonhof et al. // *Ibid.* – 2006. – 444. – P. 702. – doi: 10.1038/444702a.
131. *Phillips J. B.* Light-Dependent Magnetic Compass Orientation in Amphibians and Insects: candidate receptors and candidate molecular mechanisms / J. B. Phillips, P. E. Jorge, R. Muheim // *Journal of The Royal Society Interface.* – 2010. – 7. – P. 241–256.
132. *Cain S. D.* Magnetic Orientation and Navigation in Marine Turtles, Lobsters, and Molluscs: concepts and conundrums / S. D. Cain, L. C. Boles, J. H. Wang, K. J. Lohmann // *Integrative and Comparative Biology.* – 2005. – 45. – P. 539–546.
133. *Boles L. C.* True Navigation and Magnetic Maps in Spiny Lobsters / L. C. Boles, K. J. Lohmann // *Nature.* – 2003. – 421. – P. 60–63.
134. *Marhold S.* Magnetic Polarity Compass or Direction Finding in a Subterranean Mammal / S. Marhold, W. Wiltschko // *Naturwissenschaften.* – 1997. – 84. – P. 421–423.
135. *Vacha M.* Laboratory Behavioural Assay of Insect Magnetoreception: magnetosensitivity of *Periplaneta Americana* // *Journal of Experimental Biology.* – 2006. – 209. – P. 3882–3886.
136. *Hsu C. Y.* Magnetoreception in Honeybees / C. Y. Hsu, C. W. Li // *Science.* – 1994. – 265. – P. 95–97.
137. *Wajnberg E.* Magnetoreception in Eusocial Insects: an update / E. Wajnberg, D. Acosta-Avalos, O. C. Alves et al. // *Journal of the Royal Society Interface.* – 2010. – 7. – P. 207–225.
138. *Gorobets S. V.* Ferromagnetic Resonance in the Ethmoid Bones of Salmon and Silver Carp / S. V. Gorobets, O. Yu. Gorobets, V. O. Golub, M. Gromnadska // *JEMS–2016 (Glasgow, UK, 21–26 August 2016).* – Glasgow, 2016. – Poster Session B «Nanoparticles and Interfaces, Nanomaterials and Molecular Magnetism». – PS. 2.043.
139. *Muxworthy A. R.* Critical Superparamagnetic/Single-Domain Grain Sizes in Interacting Magnetite Particles: implications for magnetosome crystals / A. R. Muxworthy, W. Williams // *Journal of The Royal Society Interface.* – 2009. – 6 (41). – P. 1207–1212.
140. *Lins U.* Habits of Magnetosome Crystals in Colloid Magnetotactic Bacteria / U. Lins, M. R. McCartney, M. Farina et al. // *Applied and Environmental Microbiology.* – 2005. – 71. – P. 4902–4905.
141. *Muxworthy A. R.* Critical Singledomain/Multidomain Grain-Sizes in Non-Interacting and Interacting Elongated Magnetite Particles: implications for magnetosomes / A. R. Muxworthy, W. Williams // *Journal of Geophysical Research.* – 2006. – 11. – P. 1–7.

142. *Baker R. R.* Magnetic Bones in Human Sinuses / R. R. Baker, J. G. Mather, J. H. Kennaugh // *Nature*. – 1983. – 303 (6). – P. 78–80.
143. *Collingwood J.* Mapping and Characterization of Iron Compounds in Alzheimer's Tissue / J. Collingwood, J. Dobson // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2006. – 10. – P. 215–222.
144. *Chen J.* T2 Values in the Human Brain: comparison with quantitative assays of iron and ferritin / J. Chen, P. A. Hardy, M. Clauberg et al. // *Radiology*. – 1989. – 173. – P. 521–526.
145. *Gorobets O. Yu.* Biomineralization and Synthesis of Biogenic Magnetic Nanoparticles and Magnetosensitive Inclusions in Microorganisms and Fungi / O. Yu. Gorobets, S. V. Gorobets, L. V. Sorokina // *Functional Materials*. – 2014. – 21 (4). – P. 427–436.
146. *Komeili A.* Molecular Mechanisms of Compartmentalization and Biomineralization in Magnetotactic Bacteria // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2012. – 36 (1). – P. 232–255.
147. *Schüler D.* Genetics and Cell Biology of Magnetosome Formation in Magnetotactic Bacteria // *Ibid.* – 2008. – 32 (4). – P. 654–672.
148. *Bazilynski D. A.* Controlled Biomineralization of Magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) and Greigite (Fe<sub>3</sub>S<sub>4</sub>) in a Magnetotactic Bacterium / D. A. Bazilynski, R. B. Frankel, B. R. Heywood // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1995. – 61 (9). – P. 3232–3239.
149. *Schüler D.* Characterization of the Magnetosome Membrane in *Magnetospirillum gryphiswaldense* / D. Schüler, E. Bäuerlein, E. Weinheim // *Biomineralization of Nano- and Microstructures*. – 2000. – Ch. 8. – P. 109–118.
150. *Paulsen I. T.* A Novel Family of Ubiquitous Heavy Metal Ion Transport Proteins / I. T. Paulsen, M. H. J. Saier // *The Journal of Membrane Biology*. – 1997. – 156 (2). – P. 99–103.
151. *Montanini B.* Phylogenetic and Functional Analysis of the Cation Diffusion Facilitator (CDF) Family: improved signature and prediction of substrate specificity / B. Montanini, D. Blaudez, S. Jeandroz et al. // *BMC Genomics*. – 2007. – 8. – P. 107. – doi.org/10.1186/1471-2164-8-107.
152. *Pallen M. J.* The HtrA Family of Serine Proteases / M. J. Pallen, B. W. Wren // *Molecular Microbiology*. – 1997. – 26. – P. 209–221.
153. *Bezprozvanny I.* PDZ Domains: more than just a glue / I. Bezprozvanny, A. Maximov // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2001. – 98 (3). – P. 787–789.
154. *Yang W.* *MamO* and *MamE* Genes are Essential for Magnetosome Crystal Biomineralization in *Magnetospirillum gryphiswaldense* *MSR-1* / W. Yang, R. Peng, Y. Zhang et al. // *Res. Microbiol.* – 2010. – 161. – P. 701–705.



155. Okuda Y. Expression and Characterization of a Magnetosome-Associated Protein, TPR-Containing MAM22, in *Escherichia coli* / Y. Okuda, Y. Fukumori // FEBS Letters. – 2001. – 491. – P. 169–173.
156. Draper O. MamK, a Bacterial Actin, Forms Dynamic Filaments *in vivo* that are Regulated by the Acidic Proteins MamJ and LimJ / O. Draper, M. E. Byrne, Z. Li et al. // Molecular Microbiology. – 2011. – 82 (2). – P. 342–354.
157. Van den Ent F. Prokaryotic Origin of the Actin Cytoskeleton / F. van den Ent, L. A. Amos, J. Löwe // Nature. – 2001. – 413 (6851). – P. 39–44.
158. Raschdorf O. The Magnetosome Proteins MamX, MamZ and MamH are Involved in Redox Control of Magnetite Biomineralization in *Magnetospirillum gryphiswaldense* / O. Raschdorf, F. D. Müller, M. Pósfai et al. // Molecular Microbiology. – 2013. – 89 (5). – P. 872–886.
159. Горобець С. В. Основи біоінформатики: підручник для студентів напряму підготовки 6.051401 «Промислова біотехнологія» Факультету біотехнології і біотехніки НТУУ «КПІ» / С. В. Горобець, О. Ю. Горобець, Т. А. Хоменко. – К.: НТУУ «КПІ», 2010. – 156 с.
160. Огурцов А. Н. Основы биоинформатики: учеб. пособие. – Х.: НТУ «ХПИ», 2013. – 400 с.
161. Arthur M. Lesk Introduction to Bioinformatics // Oxford (UK): Oxford University Press, 2005. – 360 p.
162. Desper R. Fast and Accurate Phylogeny Reconstruction Algorithms Based on the Minimum-Evolution Principle / R. Desper, O. Gascuel // Algorithms in Bioinformatics Second International Workshop (WABI–2002, Rome, Italy, September 17–21): proceeding. – Rome, 2002. – P. 357–374.
163. Ullrich S. A Hypervariable 130-Kilobase Genomic Region of *Magnetospirillum gryphiswaldense* Comprises a Magnetosome Island Which Undergoes Frequent Rearrangements during Stationary Growth / S. Ullrich, M. Kube, S. Schübbe, R. Reinhardt // Journal of Bacteriology. – 2005. – 187 (21). – P. 7176–7184.
164. Lohße A. Functional Analysis of the Magnetosome Island in *Magnetospirillum gryphiswaldense*: the MamAB operon is sufficient for magnetite biomineralization / A. Lohße, S. Ullrich, E. Katzman, S. Borg // PLoS ONE. – San Francisco (California, USA), 2011. – 6 (10). – P. 1–10.
165. Schübbe S. Transcriptional Organization and Regulation of Magnetosome Operons in *Magnetospirillum gryphiswaldense* / S. Schübbe, C. Würdemann, J. Heyen et al. // Applied and Environmental Microbiology. – 2006. – 72 (9). – P. 5757–5765.

166. *Meldrum F. C.* Controlling Mineral Morphologies and Structures in Biological and Synthetic Systems / F. C. Meldrum, H. Colfen // *Chemical Reviews*. – 2008. – 108. – P. 4332–4432.
167. *Murat D.* Comprehensive Genetic Dissection of the Magnetosome Gene Island Reveals the Step-Wise Assembly of a Prokaryotic Organelle / D. Murat, A. Quinlan, H. Vali, A. Komeili // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2010. – 107 (12). – P. 5593–5598.
168. *Zeytuni N.* Self-Recognition Mechanism of MamA, a Magnetosome-Associated TPR-Containing Protein, Promotes Complex Assembly / N. Zeytuni, E. Ozyamak, K. Ben-Harush, G. Davidov // *Ibid.* – 2011. – 108 (33). – P. 480–487.
169. *Scheffel A.* The Major Magnetosome Proteins *MamG FDC* Are Not Essential for Magnetite Biomineralization in *Magnetospirillum gryphiswaldense* but Regulate the Size of Magnetosome Crystals / A. Scheffel, A. Gärdes, K. Grünberg, G. Wanner // *Journal of Bacteriology*. – 2008. – 190, No.1. – P. 377–386.
170. *Wiedwald U.* Preparation and Characterization of Supported Magnetic Nanoparticles Prepared by Reverse Micelles / U. Wiedwald, L. Han, J. Biskupek et al. // *Beilstein Journal of Nanotechnology*. – 2010. – 1. – P. 24–47.
171. *Vainshtein M. B.* A New Type of Magnetsensitive Inclusions in Cells of Photosynthetic Purple Bacteria / M. B.Vainshtein, N.E.Suzina, V.V. Sorokin // *Systematic and Applied Microbiology*. – 1997. – 20. – P. 182–186.
172. *Bharde A.* Extracellular Biosynthesis of Magnetite using Fungi / A. Bharde, D. Rautaray, D. Bansal et al. // *Small*. – 2006. – 2 (1). – P. 135–141.
173. *Zhang S.* Optimal Conditions for Growth and Magnetosome Formation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* / S. Zhang, L. Yan, H. Li, H. Liu // *African Journal of Microbiology Research*. – 2012. – 6. – P. 6142–6151.
174. *Baker B. J.* Microbial Communities in Acid Mine Drainage / B. J. Baker, J. F. Banfield // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2003. – 44 (2). – P. 139–152.
175. *Kim J.* Application of Electron Energy-Loss Spectroscopy (EELS) and Energy-Filtered Transmission Electron Microscopy (EFTEM) to the Study of Mineral Transformation Associated with Microbial Fe-Reduction of Magnetite / J. Kim, H. Dong // *Clays and Clay Minerals*. – 2011. – Vol. 59 (2). – P. 176–188.

176. *Chaudhuri S. K.* Biogenic Magnetite Formation through Anaerobic Biooxidation of Fe(II) / S. K. Chaudhuri, J. G. Lack, J. D. Coates // Applied and Environmental Microbiology. – 2001. – 67 (6). – P. 2844–2848.
177. *Jiao Y.* Isolation and Characterization of a Genetically Tractable Photoautotrophic Fe(II)-Oxidizing Bacterium, *Rhodopseudomonas palustris* strain *TIE-1* / Y. Jiao, A. Kappler, L. R. Croal, D. K. Newman // Ibid. – 2005. – 71 (8). – P. 4487–4496.
178. *Nudelman H.* Structure Prediction of Magnetosome-Associated Proteins / H. Nudelman, R. Zarivach // Frontiers in Microbiology. – 2014. – 5. – P. 1–17.
179. *Silver S.* Newer Systems for Bacterial Resistances to Toxic Heavy Metals / S. Silver, G. Ji // Environmental Health Perspectives. – 1994. – 3. – P. 107–113.
180. *Fortin D.* Formation of Fe-Silicates and Fe-Oxides on Bacterial Surfaces in Samples Collected near Hydrothermal Vents on the Southern Explorer Ridge in the Northeast Pacific Ocean / D. Fortin, F. G. Ferris, S. D. Scott // American Mineralogist. – 1998. – 83 (11). – P. 1399–1408.
181. *Verkhovtseva N. V.* The Magnetic Transformation of Iron Hydroxides under the Action of Microorganism (*Azotobacter vinelandii*) / N. V. Verkhovtseva, I. V. Shpikina, V. F. Babanin // Journal of Applied Physics. – 1994. – Vol. 75, No. 10. – P. 7182.
182. *Mandernack K. W.* Oxygen and Iron Isotope Studies of Magnetite Produced by Magnetotactic Bacteria / K. W. Mandernack, D. A. Bazylinski, W. C. Shanks, T. D. Bullen // Science. – 1999. – 285 (5435). – P. 1892–1896.
183. *Tanaka M.* *MMS6* Protein Regulates Crystal Morphology during Nanosized Magnetite Biomineralization *in vivo* / M. Tanaka, E. Mazuyama, A. Arakaki, T. Matsunaga // The Journal of Biological Chemistry. – 2011. – 286 (8). – P. 6386–6392.
184. *Harris B. Z.* Mechanism and Role of *PDZ* Domains in Signaling Complex Assembly / B. Z. Harris, W. A. Lim // Journal of Cell Science. – 2011. – 114. – P. 3219–3231.
185. [Электронный ресурс. Режим доступа: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>].
186. *Schüler D.* (ed.). Magnetoreception and Magnetosomes in Bacteria. – Berlin: Springer, 2007. – 314 p.
187. *Mauriello E. M.* Bacterial Motility Complexes Require the Actin-Like Protein, *MreB* and the Ras homologue, *MglA* / E. M. Mauriello, F. Mouhamar, B. Nan et al. // The EMBO Journal. – 2010. – 29 (2). – P. 315–326.
188. *Gorobets S. V.* Magnetic Dipole Interaction of Endogenous Magnetic Nanoparticles with Magnetoliposomes for Targeted Drug Delivery /

- S. V. Gorobets, O. Yu. Gorobets, Yu. M. Chyzh, D. V. Sivenok // *Biophysics*. – 2013. – 58 (3). – P. 379–384.
189. *Thakkar M.* Synthesis of Diatom–FeOx Composite for Removing Trace Arsenic to Meet Drinking Water Standards / M. Thakkar, V. Randhawa, S. Mitra, L. Wei // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2015. – 457. – P. 169–173.
190. *Gorobets S.* Analysis of Effectiveness of Magnetically Labeled Biosorbent Obtained through the Mechanical and Magnetohydrodynamic Stirring / S. Gorobets, O. Gorobets, Yu. Chyzh et al. // *EUREKA. – Physics and Engineering*. – 2016. – No. 5. – P. 37–43.
191. *Gorobets S.* Examining the Properties of Dry Magnetically Controlled Biosorbent, Obtained by the Method of Mechanical and Magnetohydrodynamic Agitation / S. Gorobets, O. Gorobets, O. Kovalyov et al. // *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. – 2016. – No. 6/10 (84). – P. 57–63.
192. *Svoboda J. A.* Realistic Description of the Process of High-Gradient Magnetic Separation // *Minerals Engineering*. – 2001. – 14 (11). – P. 1493–1503.
193. *Safarik I.* Separation of Magnetic Affinity Biopolymer Adsorbents in a Davis Tubemagnetic Separator / I. Safarik, P. Mucha, J. Pechoc et al. // *Biotechnology Letters*. – 2001. – 23. – P. 851–855.
194. *Safarik I.* Magnetically Responsive Yeast Cells: methods of preparation and applications / I. Safarik, Z. Maderova, K. Pospiskova et al. // *Yeast*. – 2015. – 32. – P. 227–237.
195. *Patzak M.* Development of Magnetic Biosorbents for Metal Uptake / M. Patzak, P. Dostalek, R. V. Fogarty et al. // *Biotechnology Techniques*. – 1997. – 11 (7). – P. 483–487.
196. *Xie J.* Production, Modification and Bio-Applications of Magnetic Nanoparticles Gestated by Magnetotactic Bacteria / J. Xie, K. Chen, X. Chen // *Nano Research*. – 2009. – 2 (4). – P. 261–278.
197. *Amemiya Y.* Controlled Formation of Magnetite Crystal by Partial Oxidation of Ferrous Hydroxide in the Presence of Recombinant Magnetotactic Bacterial Protein *Mms6* / Y. Amemiya, A. Arakaki, S. S. Staniland et al. // *Biomaterials*. – 2007. – 28. – P. 5381–5389.
198. *Mody V. V.* Magnetic Nanoparticle Drug Delivery Systems for Targeting Tumor / V. V. Mody, A. Cox, S. Shah et al. // *Applied Nanoscience*. – 2014. – Vol. 4, Iss. 4. – P. 385–392.
199. *Bulte J. W. M.* Magnetodendrimers Allow Endosomal Magnetic Labeling and *in vivo* Tracking of Stem Cells / J. W. M. Bulte, T. Douglas, B. Witwer et al. // *Nature Biotechnology*. – 2001. – 19 (12). – P. 1141–1147.

200. *Wilhelm C.* Universal Cell Labelling with Anionic Magnetic Nanoparticles / C. Wilhelm, F. Gazeau // *Biomaterials.* – 2008. – 29 (22). – P. 3161–3174.
201. *Walczak P.* Instant MR Labeling of Stem Cells Using Magnetoelectroporation / P. Walczak, D. A. Kedziorek, A. A. Gilad et al. // *Magn. Reson. Med.* – 2005. – 54 (4). – P. 769–774.
202. *Matsunaga T.* Molecular Analysis of Magnetotactic Bacteria and Development of Functional Bacterial Magnetic Particles for Nano-Biotechnology / T. Matsunaga, T. Suzuki, M. Tanaka, A. Arakaki // *Trends in Biotechnology.* – 2007. – 25 (4). – P. 182–188.
203. *Sakaguchi T.* *Desulfovibrio magneticus sp. nov.*, a Novel Sulfate-Reducing Bacterium that Produces Intracellular Single-Domain-Sized Magnetite Particles / T. Sakaguchi, A. Arakaki, T. Matsunaga // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* – 2002. – 52. – P. 215–221.
204. *Ленглер Й.* Современная микробиология. Прокариоты: в 2-х тт. – Т. 1 / Й. Ленглер, Г. Дреус, Г. Шлегель. – М.: Мир, 2005. – 342 с.
205. *Сергійчук М. Г.* Микробиологія / М. Г. Сергійчук, В. К. Позур, Т. М. Фурзікова. – К.: ВПЦ «Київський університет», 2008. – 541 с.
206. *Горобець С. В.* Генетична основа фундаментального механізму біосинтезу наномагнетиту у магнітотаксисних та анаеробних мікроорганізмах / С. В. Горобець, О. Ю. Горобець, Ю. М. Чиж, І. В. Дем'яненко // *Науковий вісник Чернівецького університету.* – Серія «Біологія»: Біологічні системи. – 2013. – Т. 5, № 2. – С. 274–280.
207. *Горобець С. В.* Феритин та біомінералізація біогенних магнітних наночасток в мікроорганізмах / С. В. Горобець, О. Ю. Горобець, І. В. Дем'яненко // *Наукові вісті НТУУ «КПІ».* – 2013. – № 3. – С. 34–41.
208. *Степанова М. Б.* Род Фузариум (*Fusarium*) // *Мир растений: в 7 тт.* – М.: Просвещение, 1991. – С. 395–398.
209. *Howard D. H.* Pathogenic Fungi in Humans and Animals. – CRC Press: Series «Mycology», 2002. – 800 p.
210. *Li G.* Fungus-Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Aspergillus terreus* / G. Li, D. He, Y. Qian et al. // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2012. – 13 (1). – P. 466–476.
211. *Jing Y.-X.* Effect of Magnetic Field on Symbiotic Nitrogen Fixation of Soybean Nodules / Y.-X. Jing, B.-T. Zhang, Y.-P. Wang, X. Lin // *Acta Botanica Sinica.* – 1992. – Vol. 34, No. 5. – P. 364–368.
212. *Bajwa R.* Effect of Electromagnetism on Nodulation, Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infection and Top Growth of Chickpea. – I. Response of Electromagnetized Rhizobium / R. Bajwa, S. Mahmood,

- A. Ashfaq, G. Nasim // *J. of Phytopathology*. – 1995. –Vol. 7, No. 1. – P. 76–77.
213. *Bazylnski D. A.* Anaerobic Magnetite Production by a Marine, Magnetotactic Bacterium / D. A. Bazylnski, R. B. Frankel, H. W. Jannasch // *Nature*. – 1987. – 334. – P. 518–519.
214. *Горобець С. В.* Агробактерії як потенційні продуценти магнітних наноструктур / С. В. Горобець, Л. В. Сорокіна, Т. В. Овсієнко // *Наукові вісті НТУУ «КПІ»*. – 2014. – 3. – С. 26–32.
215. *Dodueva I. E.* Plant Tumorigenesis: different ways for shifting systemic control of plant cell division and differentiation / I. E. Dodueva, N. V. Frolova, L. A. Lutova // *Transgenic Plant Journal*. – 2007. – 1. – P. 17–34.
216. *Banta L.* Agrobacterium and Plant Biotechnology / L. Banta, M. Montenegro // *Agrobacterium: from biology to biotechnology*; ed. By T. Tzfira, V. Citovsky. – New York: Springer, 2008. – P. 72–147.
217. *De la Riva G. A.* *Agrobacterium tumefaciens*: a natural tool for plant transformation / G. A. De la Riva, J. González-Cabrera, R. Vázquez-Padrón, C. Ayra-Pardo // *Molecular Biology and Genetics*. – 1998. – Vol. 1, No. 3. – P. 213–217.
218. *Prell J.* Metabolic Changes of Rhizobia in Legume Nodules / J. Prell, P. Poole // *Trends in Microbiology*. – 2006. – 14 (4). – P. 161–168.
219. *Escobar M. A.* *Agrobacterium tumefaciens* as an Agent of Disease / M. A. Escobar, A. M. Dandekar // *TRENDS in Plant Science*. – 2003. – Vol. 8, No. 8. – P. 380–386.
220. *Patzschke A.* *Agrobacterium* Infection and Plant Defense–Transformation Success Hangs by a Thread // *Frontiers in Plant Science*. – 2013. – 4. – P. 519. – PMC3866890.
221. *Shkryl Y. N.* Decreased ROS Level and Activation of Antioxidant Gene Expression in *Agrobacterium rhizogenes* pRiA4-Transformed Calli of *Rubia cordifolia* / Y. N. Shkryl, G. N. Veremeichik, V. P. Bulgakov et al. // *Planta*. – 2010. – 232 (5). – P. 1023–1032.
222. *Saenkham P.* Multiple Superoxide Dismutases in *Agrobacterium tumefaciens*: functional analysis, gene regulation, and influence on tumorigenesis / P. Saenkham, W. Eiamphungporn, S. K. Farrand et al. // *Journal of Bacteriology*. – 2007. – 189 (24). – P. 8807–8817.
223. *Lee C. W.* *Agrobacterium tumefaciens* Promotes Tumor Induction by Modulating Pathogen Defense in *Arabidopsis thaliana* / C. W. Lee, M. Efetova, J. C. Engelmann // *Plant Cell*. – 2009. – 21 (9). – P. 2948–2962.
224. *Dreher K.* Ubiquitin, Hormones and Biotic Stress in Plants / K. Dreher, J. Callis // *Annals of Botany*. – 2007. – 99 (5). – P. 787–822.

225. *Mulder L.* Integration of Signaling Pathways in the Establishment of the Legume–Rhizobia Symbiosis // *Physiologia Plantarum*. – 2005. – Vol. 123, Iss. 2. – P. 207–218.
226. *Heath K. D.* Context Dependence in the Coevolution of Plant and Rhizobial Mutualists / K. D. Heath, P. Tiffin // *Proceedings of the Royal Society*. – Biological Sciences. – 2007. – 274 (1620). – P. 1905–1912.
227. *Perret X.* Molecular Basis of Symbiotic Promiscuity / X. Perret, C. Staehelin, W. J. Broughton // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2000. – 64 (1). – P. 180–201.
228. *Дмитрюкова М. Ю.* Влияние экспрессии гена леггемоглобина сои на антиоксидантную систему трансгенных растений табака / М. Ю. Дмитриюкова, А. Х. Баймиев, З. Ф. Рахманкулова. – *Вестник ОГУ*. – 2010. – № 12 (118). – С. 4–8.
229. *Клубеньковые бактерии* // Большая советская энциклопедия; в 30 тт.; гл. ред. А. М. Прохоров; 3-е изд. – М.: Сов. энциклопедия, 1969–1978.
230. *Желдакова Р. А.* Фитопатогенные микроорганизмы: учеб.-метод. комплекс для студентов биол. фак-та, спец. G-310101 «Биология» / Р. А. Желдакова, В. Е. Мямин. – Минск: БГУ, 2006. – 116 с.
231. *Brenner's Encyclopedia of Genetics: 2d ed.*; ed. by S. B. Sydney, M. Jeffrey. – New York: Academic Press, 2013. – 4368 p.
232. *White W. R.* Pollution of Freshwater and Estuaries / W. R. White, A. F. Godfree // *White Journal of Bacteriology*. – 1985. – 14. – P. 67–79.
233. *Байдербек Р.* Опухоли растений. – М.: Колос, 1981. – 303 с.
234. *Burr T. J.* Crown Gall of Grape: biology and disease management / T. J. Burr, L. Otten // *Annual Review of Phytopathology*. – 1999. – 37. – P. 53–80.
235. *Hildebrandt A. C.* Some Important Galls and Wilts of Plants and the Inciting Bacteria // *Bacteriological Reviews*. – 1950. – 14 (3). – P. 259–272.
236. *Kooter J. M.* Listening to the Silent Genes: transgene silencing, gene regulation and pathogen control / J. M. Kooter, M. A. Matzke, P. Meyer // *Trends in Plant Science*. – 1999. – 4 (9). – P. 340–347.
237. [Электронный реестр. Режим доступа: <http://earthpapers.net/prikreplenie-agrobacterium-radiobacter-5d-1-na-kornyah-odnodolnyh-rasteniy>].
238. *Furner I. J.* An Agrobacterium Transformation in the Evolution of the Genus *Nicotiana* / I. J. Furner, G. A. Huffman, R. M. Amasino et al. // *Nature*. – 1986. – 319. – P. 422–427.
239. *Hooykaas-Van Slogteren G. M.* Expression of Ti Plasmid Genes in Monocotyledonous Plants Infected with *Agrobacterium tumefaciens* / G. M. Hooykaas-Van Slogteren, P. J. Hooykaas, R. A. Schilperoort // *Ibid.* – 1984. – 311 (5988). – P. 763–764.

240. Aloni R. Biology of Crown Gall Tumors / R. Aloni, C. I. Ullrich; ed. by T. Tzfira, V. Citovsky // *Agrobacterium: From Biology to Biotechnology*. – New York: Springer, 2008. – P. 565–591.
241. Veselov D. Development of *Agrobacterium tumefaciens* C58-Induced Plant Tumors and Impact on Host Shoots are Controlled by a Cascade of Jasmonic Acid, Auxin, Cytokinin, Ethylene and Abscisic Acid / D. Veselov, M. Langhans, W. Hartung et al. // *Planta*. – 2003. – 216 (3). – P. 512–522.
242. Deeken R. An Integrated View of Gene Expression and Solute Profiles of Arabidopsis Tumors: a genome-wide approach / R. Deeken, J. C. Engelmann, M. Efetova et al. // *Plant Cell*. – 2006. – 18 (12). – P. 3617–3634.
243. Alimohammadi M. *Agrobacterium*-Mediated Transformation of Plants: basic principles and influencing factors / M. Alimohammadi, M. B. Bagherieh-Najjar // *African Journal of Biotechnology*. – 2009. – 8 (20). – P. 5142–5148.
244. Charlwood B. Secondary Products from Plant Tissue Culture / B. Charlwood, V. Rhodes // *Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*. – Oxford: Clarendon Press, 1990. – P. 304.
245. Sauerwein M. On the Role of Opines in Plants Transformed with *Agrobacterium rhizogenes*: tropane alkaloid metabolism, insect-toxicity and allelopathic properties / M. Sauerwein, M. Wink // *Journal of Plant Physiology*. – 1993. – 142 (4). – P. 446–451.
246. Merritt J. H. *SadC* Reciprocally Influences Biofilm Formation and Swarming Motility via Modulation of Exopolysaccharide Production and Flagellar Function / J. H. Merritt, K. M. Brothers, S. L. Kuchma, G. A. O'Toole // *Journal of Bacteriology*. – 2007. – 189 (22). – P. 8154–8164.
247. Tomlinson A. D. Mechanisms and Regulation of Polar Surface Attachment in *Agrobacterium tumefaciens* / A. D. Tomlinson, C. Fuqua // *Current Opinion in Microbiology*. – 2009. – 12 (6). – P. 708–714.
248. Braun A. C. Stages in the Life History of *Phytomonas tumefaciens* // *Journal of Bacteriology*. – 1946. – 52 (6). – P. 695–7102.
249. Janczarek M. Environmental Signals and Regulatory Pathways that Influence Exopolysaccharide Production in Rhizobia // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2011. – 12 (11). – P. 7898–7933.
250. Tang C. High Stage of Nodule Initiation in *Lupinus angustifolius* L. / C. Tang, A. D. Robson, M. J. Dilworth // *New Phytologist*. – 1990. – 114 (2). – P. 173–182.
251. Wu W. S. The Signaling Mechanism of ROS in Tumor Progression // *Cancer and Metastasis Reviews*. – 2006. – 25 (4). – P. 695–705.



252. Чехун В. Ф. Магнітні наноструктури в пухлинних клітинах. Застосування методів скануючої зондової мікроскопії для дослідження структурної організації магніточутливої фази в пухлинних клітинах карциноми Ерліха / В. Ф. Чехун, С. В. Горобець, О. Ю. Горобець, І. В. Дем'яненко // Вісник НАН України. – 2011. – № 11. – С. 13–20.
253. Brenic A. Detection of and Response to Signals Involved in Host-Microbe Interactions by Plant-Associated Bacteria / A. Brenic, C. W. Stephen // Microbiology Molecular Biology Reviews. – 2005. – 69 (1). – P. 155–194.
254. Ferguson J. B. Signaling Interactions during Nodule Development / J. B. Ferguson, U. Mathesius // Journal of Plant Growth Regulation. – 2003. – 22. – P. 42–72.
255. Xu X. Q. An Agrobacterium Catalase is a Virulence Factor Involved in Tumorigenesis / X. Q. Xu, S. Q. Pan // Molecular Microbiology. – 2000. – 35 (2). – P. 407–414.
256. Dong X. SA, JA, Ethylene, and Disease Resistance in Plants // Current Opinion in Plant Biology. – 1998. – 1 (4). – P. 316–323.
257. Patten C. L. Regulation of Indoleacetic Acid Production in *Pseudomonas putida* GR12-2 by Tryptophan and the Stationary-Phase Sigma Factor *RpoS* / C. L. Patten, B. R. Glick // Canadian Journal of Microbiology. – 48 (7). – P. 635–642.
258. D'Haese W. Reactive Oxygen Species and Ethylene Play a Positive Role in Lateral Root Base Nodulation of a Semiaquatic Legume / W. D'Haese, R. De Rycke, R. Mathis et al. // PNAS. – Vol. 100, No. 20. – P. 11789–11794.
259. Van Sluys M. A. Comparative Genomic Analysis of Plant-Associated Bacteria / M. A. Van Sluys, C. B. Monteiro-Vitorello, L. E. Camargo et al. // Annual Review of Phytopathology. – 2002. – 40. – P. 169–189.
260. Pitzschke A. Agrobacterium Infection and Plant Defense–Transformation Success Hangs by a Thread // Frontiers in Plant Science. – 2013. – 4. – P. 519. – doi: 10.3389/fpls.2013.
261. Kitphati W. *Agrobacterium tumefaciens* Fur Has Important Physiological Roles in Iron and Manganese Homeostasis, the Oxidative Stress Response, and Full Virulence / W. Kitphati, P. Ngok-Ngam, S. Suwanmaneerat // Applied and Environmental Microbiology. – 2007. – 73 (15). – P. 4760–4768.
262. Barton D. H. R. The Activation of Dioxygen and Homogeneous Catalytic Oxidation / D. H. R. Barton, A. E. Martell, D. T. Sawyer (eds.). – College Station (Texas, USA): Springer, March 1993. – 497 p.

263. *Rudolph G.* Beyond the Fur Paradigm: iron-controlled gene expression in rhizobia / G. Rudolph, H. Hennecke, H. M. Fischer // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2006. – 30 (4). – P. 631–648.
264. *Georgiadis M. M.* Crystallographic Structure of the Nitrogenase Iron Protein from *Azotobacter vinelandii* / M. M. Georgiadis, H. Komiya, P. Chakrabarti et al. // *Science*. – 1992. – 257 (5077). – P. 1653–1659.
265. *Touati D.* Iron and Oxidative Stress in Bacteria // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2000. – 373 (1). – P. 1–6.
266. *Bazylinski D. A.* Biologically Controlled Mineralization in Prokaryotes / D. A. Bazylinski, R. B. Frankel // *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*. – 2003. – 54. – P. 217–247.
267. *Lesk A. M.* Introduction to Bioinformatics // Oxford (UK): Oxford University Press, 2002. – 400 p.
268. *Rioux J. B.* Second Actin-Like *MamK* Protein in *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 Encoded Outside the Genomic Magnetosome Island / J. B. Rioux, N. Philippe, S. Pereira et al. // *PLoS One*. – 2010. – 5 (2). – Article number 9151. – Ел. ресурс. Режим доступа: [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009151>].
269. *Kirschvink J. L.* Magnetite Biomineralization and Magnetoreception in Organisms: a new biomagnetism / J. L. Kirschvink, D. S. Jones, B. J. MacFadden // New York: Plenum Publishers, 1985. – Ch.5. – P. 43–102.
270. *Schultheiss-Grassi P. P.* Analysis of Magnetic Material in the Human Heart, Spleen and Liver / P. P. Schultheiss-Grassi, F. Heller, J. P. Dobson // *BioMetals*. – 1997. – 10. – P. 351–355.
271. *Wang H.* Magnetic Nanochains: areview / H. Wang, Y. Yu, Y. Sun, Q. Chen // *Nano Brief Reports and Reviews*. – 2011. – 6 (1). – P. 1–17.
272. *Gorobets S. V.* Self-Organization of Magnetite Nanoparticles in Providing *Saccharomyces cerevisiae* Yeasts with Magnetic Properties / S. V. Gorobets, O. Yu. Gorobets, I. V. Demianenko, R. N. Nikolaenko // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. – 2013. – Vol. 337-338. – P. 53–57.
273. *Yan L.* Magnetotactic Bacteria, Magnetosomes and their Application / L. Yan, S. Zhang, P. Chen et al. // *Microbiological Research*. – 2012. – 167 (9). – P. 507–519.
274. *Taylor A. P.* Magnetosomal Matrix: ultrafine structure may template biomineralization of magnetosome / A. P. Taylor, J. C. Barry // *Journal of Microscopy*. – 2004. – Vol. 213. – P. 180–197.
275. *Koshiba T.* Structural Basis of Mitochondrial Tethering by Mitofusin Complexes / T. Koshiba, S. A. Detmer, J. T. Kaiser // *Science*. – 2004. – 305 (5685). – P. 858–862.

276. *Lins U.* Amorphous Mineral Phases in Magnetotactic Multicellular Aggregates / U. Lins, M. Farina // Archives of Microbiology. – 2001. – 176 (5). – P. 323–328.
277. *Горобець С. В.* Біомінералізація магнітних наночастинок бактеріальними симбіонтами людини / С. В. Горобець, О. Ю. Горобець, К. О. Бутенко, Ю. М. Чиж // Медичні перспективи. – 2014. – С. 4–12.
278. *Горобець С. В.* Потенційні продуценти біогенних магнітних наночастинок серед патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів / С. В. Горобець, О. Ю. Горобець, К. О. Бутенко // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2015. – С. 23–32.
279. *Schultheiss-Grassi P. P.* TEM Observation of Biogenic Magnetite Extracted from the Human Hippocampus / P. P. Schultheiss-Grassi, R. Wessiken, J. Dobson // Biochimica et Biophysica Acta. – 1999. – 1426. – P. 212–216.
280. *Bartzokis G.* MRI Evaluation of Basal Ganglia Ferritin Iron and Neurotoxicity in Alzheimer's and Huntington's Disease / G. Bartzokis, T. A. Tishler // Cell and Molecular Biology. – 2000. – 46. – P. 821–834.
281. *Lovell M. A.* Copper, Iron and Zinc in Alzheimer's Disease Senile Plaques / M. A. Lovell, J. D. Robertson, W. J. Teesdale et al. // Journal of the Neurological Sciences. – 1998. – 158. – P. 47–52.
282. *Quintana C.* Study of the Localization of Iron, Ferritin and Hemosiderin in Alzheimer's Disease Hippocampus by Analytical Microscopy at the Subcellular Level / C. Quintana, S. Bellefqih, J. Y. Laval et al. // Journal of Structural Biology. – 2006. – 153. – P. 42–54.
283. *Jordan V. C.* Simplified Synthesis and Relaxometry of Magnetoferritin for Magnetic Resonance Imaging / V. C. Jordan, M. R. Caplan, K. M. Bennett // Magnetic Resonance in Medicine. – 2010. – 64 (5). – P. 1260–1266.
284. *Figuerola A.* From Iron Oxide Nanoparticles towards Advanced Iron-Based Inorganic Materials Designed for Biomedical Applications / A. Figuerola, R. Di Corato, L. Manna, T. Pellegrino // Pharmacological Research. – 2010. – 62 (2). – P. 126–143.
285. [Електронний реєстр. Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>].
286. *Lewin A.* Formation of Protein-Coated Iron Minerals / A. Lewin, G. R. Moore, N. E. Le Brun // Dalton Trans. – June 2005. – P. 3597–3610.
287. *Harrison P. M.* The Ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation / P. M. Harrison, P. Arosio // Biochimica et Biophysica Acta. – 1996. – 1275 (3). – P. 161–203.

288. *Jutz G.* Ferritin: aversatile building block for bionanotechnology / G. Jutz, P. Rijn, B. S. Miranda, A. Boker // *Chemical Reviews*. – 2015. – 115 (4). – P. 1653–1701.
289. *Thiel E.* Ferritin: structure, gene regulation, and cellular function in animals, plants and microorganisms // *Annual Review of Biochemistry*. – 1987. – 56. – P. 289–315.
290. *Gilles G.* Magnetic Hysteresis and Superantiferromagnetism in Ferritin Nanoparticles / G. Gilles, P. Bonville, H. Rakoto et al. // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. – 2002. – 241. – P. 430–440.
291. *Laufberger V.* Sur la Crystallisation de la Ferritine // *Bulletin de la Societe de Chimie Biologique*. – 1937. – 19. – P. 1575–1582.
292. *Wang W.* Serum Ferritin: past, present and future / W. Wang, M. A. Knovich, L. G. Coffman // *Biochimica et Biophysica Acta*. – Aug. 2010. – 1800 (8). – P. 760–769.
293. *Cozzi A.* Oxidative Stress and Cell Death in Cells Expressing L-Ferritin Variants Causing Neuroferritinopathy / A. Cozzi, E. Rovelli, G. Frizzale et al. // *Neurobiology of Disease*. – 2009. – 37. – P. 77–85.
294. *Friedman A.* Ferritin as an Important Player in Neurodegeneration / A. Friedman, P. Arosio, D. Finazzi et al. // *Parkinsonism and Related Disorders*. – 2011. – 17. – P. 423–430.
295. *Crompton D. E.* Spectrum of Movement Disorders in Neuroferritinopathy / D. E. Crompton, P. F. Chinnery, D. Bates et al. // *Movement Disorder Society*. – 2005. – 20. – P. 95–99.
296. *Collingwood J. F.* The Role of Iron in Neurodegenerative Disorders: insights and opportunities with synchrotron light / J. F. Collingwood, M. R. Davidson // *Frontiers in Pharmacology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 1–19.
297. *Everett J.* Ferrous Iron Formation Following the Co-Aggregation of Ferric Iron and the Alzheimer's Disease Peptide *b*-Amyloid (1–42) / J. Everett, E. Cespedes, L. R. Shelford et al. // *Journal of the Royal Society Interface*. – March 2014. – Vol. 11, No. 95. –doi:10.1098/rsif.2014.0165.
298. *Quintana C.* Initial Studies with high Resolution TEM and Electron Energy Loss Spectroscopy Studies of Ferritin Cores Extracted from Brains of Patients with Progressive Supranuclear Palsy and Alzheimer Disease / C. Quintana, M. Lancin, C. Marhic et al. // *Cellular and Molecular Biology*. – 2000. – 46. – P. 807–820.
299. *Hautot D.* Superconducting Quantum Interference Device Measurements of Dilute Magnetic Materials in Biological Samples / D. Hautot, Q. A. Pankhurst, J. Dobson // *Review of Scientific Instruments Journal of the Royal Society Interface*. – 2005. – 76. – P. 45101–45104.
300. *Dobson J.* Magnetic Iron Compounds in Neurological Disorders // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2004. – 1012. – P. 183–192.

301. *Gossuin Y.* Looking for Biogenic Magnetite in Brain Ferritin Using NMR Relaxometry / Y. Gossuin, D. Hautot, R. N. Muller et al. // *NMR in Biomedicine*. – 2005. – 18 (7). – P. 469–472.
302. *Dunn J. R.* Magnetic Material in the Human Hippocampus / J. R. Dunn, M. Fuller, J. Zoeger et al. // *Brain Research Bulletin*. – 1995. – 36 (2). – P. 149–153.
303. *Silva N. J. O.* Temperature Dependence of Antiferromagnetic Susceptibility in Ferritin / N. J. O. Silva, A. Millan, F. Palacio et al. // *Physical Review*. – B. – March 2009. – Vol. 79, Iss. 10. – P. 104405.
304. *Guertin R. P.* Very High Field Magnetization and AC Susceptibility of Native Horsespleen Ferritin / R. P. Guertin, N. Harrison, Z. X. Zhou et al. // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. – 2007. – 308. – P. 97–100.
305. *Prozorov T.* Protein-Mediated Synthesis of Uniform Superparamagnetic Magnetite Nanocrystals / T. Prozorov, S. K. Mallapragada, B. Narasimhan // *Functional Materials*. – 2007. – 17. – P. 951–957.
306. *Arakaki A.* Control of the Morphology and Size of Magnetite Particles with Peptides Mimicking the Mms6 Protein from Magnetotactic Bacteria / A. Arakaki, F. Masuda, Y. Amemiya et al. // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2010. – 343. – P. 65–70.
307. *Galloway J. M.* Magnetic Bacterial Protein *Mms6* Controls Morphology, Crystallinity and Magnetism of Cobalt-Doped Magnetite Nanoparticles *in vitro* / J. M. Galloway, A. Arakaki, F. Masuda et al. // *Journal of Materials Chemistry*. – 2011. – 21. – P. 15244–15254.
308. *Chuanlin L.* Properties of Biogenic Magnetite Nanoparticles in the Radula of Chiton *Acanthochiton rubrolineatus Lischke* / L. Chuanlin, H. Yunan, G. Chenghua et al. // *Journal of Wuhan University of Technology*. – Springer: Mater. Sci. Ed. – 2011. – 26 (3). – P. 478–482.
309. *Mikhaylova A.* Detection, Identification and Mapping of Iron Anomalies in Brain Tissue Using X-Ray Absorption Spectroscopy / A. Mikhaylova, M. Davidson, H. Toastmann et al. // *J. R. Soc. Interface*. – 2005. – 2. – P. 33–37.
310. *Gálvez N.* Comparative Structural and Chemical Studies of Ferritin Cores with Gradual Removal of their Iron Contents / N. Gálvez, B. Fernández, P. Sánchez et al. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2008. – 130 (25). – P. 8062–8068.
311. *Pershan P. S.* Magneto-Optical Effects // *Journal of Applied Physics*. – 1967. – 38 (3). – P. 1482–1490.
312. *Matsunaga T.* Complete Genome Sequence of the Facultative Anaerobic Magnetotactic Bacterium *Magnetospirillum sp. strain AMB-1* / T. Matsunaga, Y. Okamura, Y. Fukuda et al. // *DNA Research*. – 2005. – 12. – P. 157–166.

313. Guo F. Magnetosomes Eliminate Intracellular Reactive Oxygen Species in *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 / F. Guo, W. Yang, W. Jiang // Environmental Microbiology. – 2012. – 14 (7). – P. 1722–1729.
314. Bush A. Copper, Zinc, and the Metallobiology of Alzheimer Disease // Alzheimer Disease and Associated Disorders. – 2003. – 17 (3) – P. 147–150.
315. Sidhu P. S. The Synthesis and Some Properties of Co, Ni, Zn, Cu, Mn and Cd Substituted Magnetites / P. S. Sidhu, R. J. Gilkes, A. M. Posner // Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry. – 1978. – 40. – P. 429–435.
316. Tosha T. Moving Metal Ions through Ferritin–Protein Nanocages from Three-Fold Pores to Catalytic Sites / T. Tosha, H. L. Ng, O. Bhattasali et al. // Journal of the American Chemical Society. – 2010. – 132. – P. 14562–14569.
317. Uchida M. The Ferritin Superfamily: supramolecular templates for materials synthesis / M. Uchida, S. Kang, C. Reichhardt et al. // Biochimica et Biophysica Acta. – 2010. – 1800 (8). – P. 834–845.
318. Iwahori K. Size-Controlled One-Pot Synthesis of Fluorescent Cadmium Sulfide Semiconductor Nanoparticles in an Apoferritin Cavity / K. Iwahori, I. Yamashita // Nanotechnology. – 2008. – Vol. 19, No. 49. – Article number 495601.
319. Theil E. C. Ferritins for Chemistry and for Life / E. C. Theil, R. K. Behera, T. Tosha // Coordination Chemistry Reviews. – 2013. – 257. – P. 579–586.
320. Wang X. Effects of Static Magnetic Field on Magnetosome Formation and Expression of *MamA*, *Mms13*, *Mms6* and *MagA* in *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 / X.Wang, L. Liang // Bioelectromagnetics. – 2009. – Vol. 30. – P. 313–321.
321. Wang X. Magnetosome Formation and Expression of *MamA*, *Mms13*, *Mms6* and *MagA* in *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 Exposed to Pulsed Magnetic Field / X. Wang, L. Liang, T. Song, L. Wu // Current Microbiology. – 2009. – 59. – P. 221–226.
322. Ritz T. Shedding Light on Vertebrate Magnetoreception / T. Ritz, H. D. Dommer, J. B. Phillips // Neuron. – 2002. – 34 (4). – P. 503–506.
323. Abreu F. Common Ancestry of Iron Oxide- and Iron-Sulfide-Based Biomineralization in Magnetotactic Bacteria / F. Abreu, M. E. Cantão, M. F. Nicolás et al. // ISME Journal. – 2011. – 5 (10). – P. 1634–1640.
324. Biello D. // Scientific American: journal; special issue.– 2009.
325. Tiede L. M. Oxygen Matters: tissue culture oxygen levels affect mitochondrial function and structure as well as responses to HIV viroproteins / L. M. Tiede, E. A. Cook, B. Morsey, H. S. Fox // Cell Death Disease. – 2011. – 2. – Article number 246.

326. *Ortiz-Prado E.* A Method for Measuring Brain Partial Pressure of Oxygen in Unanesthetized Unrestrained Subjects: the effect of acute and chronic hypoxia on brain tissue *PO(2)* / E. Ortiz-Prado, S. Natah, S. Srinivasan, J. F. Dunn // *Journal of Neuroscience Methods*. – 2010. – 193 (2). – P. 217–225.
327. *Osinsky S.* Tumor Hypoxia and Malignant Progression / S. Osinsky, M. Zavelevich, P. Vaupel // *Experimental Oncology*. – 2009. – 31 (2). – P. 80–86.
328. *Kell D. B.* Towards a Unifying, Systems Biology Understanding of Large-Scale Cellular Death and Destruction Caused by Poorly Liganded Iron: Parkinson's, Huntington's, Alzheimer's, prions, bactericides, chemical toxicology and others as examples // *Archives of Toxicology*. – 2010. – Vol. 84. – P. 825–889.
329. *Takahashi R.* Luminol Chemiluminescence and Active Oxygen Generation by Activated Neutrophils / R. Takahashi, K. Edashige, E. F. Sato et al. // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 1991. – 285 (2). – P. 325–330.
330. *Ma P.* Intraperitoneal Injection of Magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Nanoparticle Induces Hepatic and Renal Tissue Injury Via Oxidative Stress in Mice / P. Ma, Q. Luo, J. Chen // *International Journal of Nanomedicine*. – 2012. – 7. – P. 4809–4818.
331. *Houdy P.* Nanoethics and Nanotoxicology / P. Houdy, M. Lahmani, F. Marano. – European Materials Research Society: Springer, 2011. – 620 p.
332. *Zhu K.* Isolation and Characterization of a Marine Magnetotactic Spirillum Axenic Culture *QH-2* from an Intertidal Zone of the China Sea / K. Zhu, H. Pan, J. Li // *Research in Microbiology*. – 2010. – Vol. 161. – P. 276–283.
333. *Frankel R. B.* Structure and Function of Magnetosomes in Magnetotactic Bacteria / R. B. Frankel, D. A. Bazylinski // *Design and Processing of Materials by Biomimetics*. – January 1995. – P. 199–216.
334. *Friedlaender F. J.* Particle Motion Near and Capture on Single Spheres in HGMS / F. J. Friedlaender, R. Gerber, W. Kurz, R. R. Birss // *IEEE Transactions on Magnetics*. – 1981. – 17 (6). – P. 2801–2803.
335. *Bazylinski D. A.* Synthesis of the Bacterial Magnetosome: the making of a magnetic personality // *Int. Microbiol.* – 1999. – Vol. 2. – P. 71–80.
336. *Kim D. H.* Biofunctionalized Magnetic-Vortex Microdiscs for Targeted Cancer-Cell Destruction / D. H. Kim, E. A. Rozhkova, I. V. Ulasov et al. // *Nature Materials Journal*. – 2010. – 9 (2). – P. 165–171.
337. *Felfoul O.* Magneto-Aerotactic Bacteria Deliver Drug-Containing Nanoliposomes to Tumour Hypoxic Regions / O. Felfoul, M. Mohammadi, S. Taherkhani et al. // *Nature Nanotechnology*. – 2016. – 11. – P. 941–947.

338. Туранская С. П. Взаимодействие магнитных наночастиц с клетками / С. П. Туранская, А. П. Кусяк, В. В. Туров, П. П. Горбик // Поверхня: міжвід. зб. наук. пр. – 2013. – № 5. – С. 227–246.
339. *Dunin-Borkowski R. E. Magnetic Microstructure of Magnetotactic Bacteria by Electron Holography / R. E. Dunin-Borkowski, M. R. McCartney, R. B. Frankel // Science. – 1998. – 282. – P. 1868–1870.*
340. *Dunin-Borkowski R. E. Off-Axis Electron Holography of Magnetotactic Bacteria: magnetic microstructure of strains MV-1 and MS-1 / R. E. Dunin-Borkowski, M. R. McCartney, M. Lyposfa et al. // Eur. J. Mineral. – 2001. – 13. – P. 671–684.*
341. Ганшин В. М. Возможная роль активных форм кислорода в первичных механизмах обонятельной рецепции / В. М. Ганшин, Ю. А. Лабас, Э. П. Зинкевич // Сенсорные системы. – 2010. – Т. 24. – С. 74–93.
342. *Kajimura M. Interactions of Multiple Gas-Transducing Systems: hallmarks and uncertainties of CO, NO, and H<sub>2</sub>S gas biology / M. Kajimura, R. Fukuda, R. M. Bateman // Antioxidants & Redox Signalling. – 2010. – Vol. 13 (2). – P. 157–192.*
343. *Gorobets S. V. Unidirectional Mass Transfer Effect in Electrolytes in the Vicinity of a Chain of Iron Balls in a PMF / S. V. Gorobets, O. Yu. Gorobets // Magnetohydrodynamics. – 2002. – Vol. 38, No. 4. – P. 421–423.*
344. *Ilchenko M. Yu. Influence of External Magnetic Field on the Etching of a Steel Ball in an Aqueous Solution of Nitric Acid / M. Yu. Ilchenko, O. Yu. Gorobets, I. A. Bondar, A. M. Gaponov // J. Magn. Magn. Mater. – 2010. – 322. – P. 2075–2080.*
345. *Winklhofer M. Paleomagnetism and Magnetic Bacteria / M. Winklhofer, N. Petersen // Magnetoreception and Magnetosomes in Bacteria; ed. by D. Schüler. – Berlin: Springer-Verlag, 2006. – P. 255–273.*
346. *Moyer C. Diffusive Capture of Ultrafine Particles by Spheres / C. Moyer, M. Natenapit, S. Arais et al. // Journal of Magnetism and Magnetic Materials. – 1986. – Vol. 54-57 (3). – P. 1475–1477.*
347. *Fackberichte T. Z. Magnetic Separators: new concepts lead to new applications // J. Global. – 1988. – 112 (9). – P. 659–661.*
348. *Dubourg M. Review of Advanced Methods for Treating Radioactive Contaminated Water // Radioprotection. – 1998. – 33. – P. 35–46.*
349. *Worl L. A. High-Gradient Magnetic Separation (HGMS) Plays an Important Role in Radioactive Waste Remediation / L. A. Worl, D. D. Padilla, F. C. Prenger et al. // The Actinide Research Quarterly. – Nuclear Materials Technology Division. – Los Alamos National Laboratory: Nuclear Materials Research and Technology, 1999. – P. 1–3.*



350. *Sloboda R. S.* Vector Implementation of Chang's Attenuation Correction Method for Single Photon Emission Computed Tomography // *Journal of Medical Physics*. – 1987. – 14 (6). – P. 1045–1047.
351. *Yellen B. B.* Targeted Drug Delivery to Magnetic Implants for Therapeutic Applications / B. B. Yellen, Z. G. Forbes, D. S. Halverson et al. // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. – 2005. – 293 (1). – P. 647–654.
352. *Avilés M. O.* Theoretical Analysis of a Transdermal Ferromagnetic Implant for Retention of Magnetic Drug Carrier Particles / M. O. Avilés, A. D. Ebner, Y. Chen et al. // *Ibid.* – 2005. – 293. – P. 605–615.
353. *Avilés M. O.* Ferromagnetic Seeding for the Magnetic Targeting of Drugs and Radiation in Capillary Beds / M.O. Avilés, A. D. Ebner, J. A. Ritter // *Ibid.* – 2007. – 310. – P. 131–144.
354. *Gorobets O. Yu.* Quasi-Stationary Heterogeneous States of Electrolyte at Electrodeposition and Etching Process in a Gradient Magnetic Field of a Magnetized Ferromagnetic Ball / O. Yu. Gorobets, Y. I. Gorobets, I. A. Bondar, Y. A. Legenkiy // *Ibid.* – 2013. – Vol. 330. – P. 76–80.
355. *Горобець О. Ю.* Електрорушійна сила при травленні однорідно намагніченої сталевий кулі в електроліті / О. Ю. Горобець, Ю. І. Горобець, В. П. Роспотнюк // *Металлофізика и новейшие технологии*. – 2012. – Т. 34, №7. – С. 895–906.
356. *Gorobets S. V.* Electrolyte Vortex Flows Induced by a Steady-State Magnetic Field in the Vicinity of a Steel Wire Used as an Accelerator of the Chemical Reaction Rate / S. V. Gorobets, O. Yu. Gorobets, S.A. Reshetnyak // *Magnetohydrodynamics*. – 2003. – Vol. 39, No. 2. – P. 211–214.
357. *Gorobets S. V.* Periodic Microstructuring of Iron Cylinder Surface in Nitric Acid in a Magnetic Field / S. V. Gorobets, O. Yu. Gorobets, A. N. Brukva // *Applied Surface Science*. – 2005. – 252 (2). – P. 448–454.
358. *Gorobets S. V.* Magnetohydrodynamic Mixer of an Electrolytes Solution / S. V. Gorobets, O. Yu. Gorobets, I. Yu. Goyko, S. P. Mazur // *Physica Status Solidi*. – C. – 2004. – Vol. 1, No. 12. – P. 3455–3457.
359. *Kittel Ch.* Introduction to Solid State Physics. – M.: Nauka, 1978. – 190p.
360. *Kim J. Y.* Zeta Potential of Nanobubbles Generated by Ultrasonication in Aqueous Alkyl Polyglycoside / J. Y. Kim, M. G. Song, J. D. Kim // *J. Colloid Interface Sci.* – 2000. – 223 (2). – P. 285–291.
361. *Swaminathan T. N.* Effect of a Soluble Surfactant on a Finite Sized Bubble Motion in a Blood Vessel / T. N. Swaminathan, K. P. Mukundakrishnan, S. Ayyaswamy, D. M. Eckmann // *Fluid Mech.* – 2010. – 1 (642). – P. 509–539.

362. *Dennison S.* Bubbles in Live-Stranded Dolphins / S. Dennison, M. J. Moore, A. Fahlman et al. // Proceedings of the Royal Society of London. – B. – 2012. – 279. – P. 1396–1404.
363. *Cavalli R.* New Chitosan Nanobubbles for Ultrasound-Mediated Gene Delivery: preparation and *in vitro* characterization / R. Cavalli, A. Bisazza, M. Trotta et al. // International Journal of Nanomedicine. – 2012. – 7. – P. 3309–3318.
364. *Antropov L. I.* Theoretical Electrochemistry. – M.: Mir, 1972. – 567 p.
365. *Caruso F.* Colloids and Colloid Assemblies: synthesis, modification, organization and utilization of colloidal particles. – Weinheim (FRG): Wiley–VCH, 2003. – 621 p.
366. *Staffan W.* The History of Electrokinetic Phenomena//Current Opinion in Colloid & Interface Science. – 2010. – 15. – P. 119–124.
367. *Smoluchowski M.* Contribution à la Théorie de l’Osmose Électrique et de Quelques Phénomènes Corrélatifs // Krak. Anz. – 1903. – 1 (1). – P. 403–420.
368. *Masliyah J. H.* Electrokinetic And Colloid Transport Phenomena / J. H. Masliyah, S. Bhattacharjee. – Hoboken (New Jersey, USA): John Wiley & Sons, Inc., 2006. – 736 p.
369. *Overbeek J. Th. G.* Theorie der Electrophorese // Kolloid-Beih. – B. – 1943. – 54. – P. 287–364.
370. *Wiedemann G.* Ueber die Bewegung von Flüssigkeiten im Kreise der Geschlossenen Galvanischen Säule // Ann. Phys. Chem. – 1852. – 87. – P. 321–352.
371. *Quincke G.* Über Die Fortführung Materieller Theilchen Durchströmende Electricität // Ibid. – 1861. – 113. – P. 513–598.
372. *Levine S.* The Prediction of Electrokinetic Phenomena within Multiparticle Systems. – II. Sedimentation Potential / S. Levine, G. Neale, N. Epstein // Journal of Colloid and Interface Science. – 1976. – 57 (3). – P. 424–437.
373. *Reuss F. F.* Sur un Nouvel Effet de l’Électricité Galvanique // Mémoires de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou. – 1809. – 2. – P. 327–337.
374. *Electrokinetic Phenomena* / ed. by S. S. Dukhin, B. V. Derjaguin // Hoboken (New Jersey, USA): John Wiley & Sons, Inc. – 1974. – [Ел. ресурс. РЕЖИМ доступу: [https://www.revolvy.com|main|index.php?s=Electrokinetik%20phenomena@item\\_type=topic](https://www.revolvy.com|main|index.php?s=Electrokinetik%20phenomena@item_type=topic)].
375. *Dorn E.* Ueber die Fortführung der Electricität durchströmendes Wasser in Röhren und verwandte Erscheinungen // Ann. Phys. Chem. – 1880. – 10. – P. 46–77.

376. *Tang Y. C.* Magnetic Field Effects on the Corrosion of Artificial Pit Electrodes and Pits in Thin Films / Y. C. Tang, A. J. Davenport // Journal of the Electrochemical Society. – 2007. – 154 (7). – P. 362–370.
377. *Costa I.* The Effect of the Magnetic Field on the Corrosion Behavior of Nd–Fe–B Permanent Magnets / I. Costa, M. C. L. Oliveira, H. G. De Melo, R. N. Faria // Journal of Magnetism and Magnetic Materials. – 2004. – 278 (3). – P. 348–358.
378. *Pullins M. D.* Microscale Confinement of Paramagnetic Molecules in Magnetic Field Gradients Surrounding Ferromagnetic Microelectrodes / M. D. Pullins, K. M. Grant, H. S. White // Journal of Physical Chemistry. – B. – 2001. – 105 (37). – P. 8989–8994.
379. *Dunne P.* Patterning Metallic Electrodeposits with Magnet Arrays / P. Dunne, J. M. D. Coey // Physical Review. – B. – 2012. – 85. – P. 1–20.
380. *Tschulik K.* How to Obtain Structured Metal Deposits from Diamagnetic Ions in Magnetic Gradient Fields? / K. Tschulik, X. Yang, G. Mutschke et al. // Electrochemistry Communications. – 2011. – 13. – P. 946–950.
381. *Yang X.* Enrichment of Paramagnetic Ions from Homogeneous Solutions in Inhomogeneous Magnetic Fields / X. Yang, K. Tschulik, M. Uhlemann et al. // Journal of Physical Chemistry Letters. – 2012. – 3 (23). – P. 3559–3564.
382. *Hückel E.* Die Kataphorese der Kugel // Physik. – 1924. – Z. 25. – P. 204–210.
383. *Henry D. C.* The Electrophoresis of Suspended Particles. – IV. The Surface Conductivity Effect // Transactions of the Faraday Society. – 1948. – 44. – P. 1021–1026.
384. *Makino K.* Electrophoretic Mobility of a Colloidal Particle with Constant Surface Charge Density / K. Makino, H. Ohshima // Langmuir. – 2010. – Vol. 26 (23). – P. 18016–18019.
385. *Gorobets O. Yu.* Movement of Electrolyte at Metal Etching and Deposition under a Non-Uniform Steady Magnetic Field / O. Yu. Gorobets, Yu. I. Gorobets, V. P. Rospotniuk // Magnetohydrodynamics. – 2014. – 50 (3). – P. 317–332.
386. *Gorobets O. Yu.* Nickel Electrodeposition under Influence of Constant Homogeneous and High-Gradient Magnetic Field / O. Yu. Gorobets, V. Yu. Gorobets, O. M. Brukva, D. O. Derecha / Journal of Physical Chemistry. – C. – 2008. – Vol. 112. – P. 3373–3375.
387. *Gorobets O. Yu.* Liquid-Liquid Phase Separation Occurring under the Influence of Inhomogeneous Magnetic Field in the Process of the Metal Deposition and Etching of the Magnetized Ferromagnetic Ball / O. Yu. Gorobets, Yu. I. Gorobets, V. P. Rospotniuk et al. // J. Solid State Electrochem. – 2015. – 19 (10). – P. 3001–3012.

388. *Пилипчук Є. В.* Синтез та властивості нанокompозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/гідроксиапатит/памідренова кислота/діетилентриамінпентаоцтова кислота/Gd<sup>3+</sup> / Є. В. Пилипчук, Ю. О. Зубчук, А. Л. Петрановська та ін. // Хімія, фізика та технологія поверхні. – 2015. – Т. 6, № 3. – С. 326–335.
389. *Горобець С. В.* Магнитодипольное взаимодействие эндогенных магнитных наночастиц с магнитолипосомами при целевой доставке лекарств / С. В. Горобець, О. Ю. Горобець, Ю. М. Чиж // Биофизика. – 2013. – Т. 58, № 3. – С. 488–494.
390. *Berry C. C.* Functionalisation of Magnetic Nanoparticles for Applications in Biomedicine / C. C. Berry, A. S. G. Curtis // Journal of Physics. – D: Applied Physics. – 2003. – 36 (13). – P. 198–206.
391. *Curtis A. S. G.* Biomedical Aspects of Magnetic Nanoparticles // Europhysics News. – 2003. – 34 (6). – P. 210–211.
392. *Kitagawa M.* Gastrointestinal Stromal Tumor in a Patient with Neurofibromatosis: abscess formation in the tumor leading to bacteremia and seizure / M. Kitagawa, T. Kohb, N. Nakagawab // Case Reports in Gastroenterology. – 2010. – No. 4. – P. 435–442.
393. *Patyar S.* Bacterium Cancer Therapy: a novel experimental strategy / S. Patyar, R. Joshi, D. S. Byrav et al. // Journal of Biomedical Science. – Mar. 2010. – 17 (1). – P. 21. – doi: 10.1186/1423-0127-17-21.
394. *Zheng L.* Functional Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in an Animal Model of Brain Metastases: a pilot study / L. Zheng, P. Sun, S. Zheng et al. // PLoS ONE. – 2014. – 9 (10), e109308.
395. *Bermudes D.* Live Bacteria as Anticancer Agents and Tumor-Selective Protein Delivery Vectors / D. Bermudes, L. Zheng, I. C. King // Current Opinion in Drug Discovery and Development. – 2002. – 5 (2). – P. 194–199.
396. *Wei M. Q.* Facultative or Obligate Anaerobic Bacteria Have the Potential for Multimodality Therapy of Solid Tumours / M. Q. Wei, K. A. O. Ellem, P. Dunn et al. // European Journal of Cancer. – 2007. – 43. – P. 490–496.
397. *Van Mellaert L.* Clostridium Spores a Antitumour Agents / L. Van Mellaert, S. Barbé, J. Anné // Trends Microbiol. – 2006. – 14 (4). – P. 190–196.
398. *Mikeshyna H. I.* Influence of Biogenic Magnetic Nanoparticles on the Vesicular Transport / H. I. Mikeshyna, Y. A. Darmenko, O. Yu. Gorobets, S. V. Gorobets et al. // Acta Physica Polonica. – A. – 2017.
399. *Матеріали XXIII-ї Міжнародної науково-практичної конференції «Інноваційний потенціал світової науки – XXI сторіччя» (10–15 грудня 2013 р., Запоріжжя).* – Запоріжжя, 2013. – [Ел. ресурс. Режим доступу: [Nauka.zinet.info].

400. *Tran N.* Bactericidal Effect of Iron Oxide Nanoparticles on *Staphylococcus aureus* / N. Tran, A. Mir, D. Mallik et al. // *International Journal of Nanomedicine*. – 2010. – 5. – P. 277–283.
401. *Пюльман Б.* Межмолекулярные взаимодействия: от двухатомных молекул до биополимеров. – М.: Мир, 1981. – 592 с.
402. *Dammer U.* Specific Antigen/Antibody Interactions Measured by Force Microscopy / U. Dammer, M. Hegner, D. Anselmetti // *Biophysical Journal*. – 1996. – 70 (5). – P. 2437–2441.
403. *Davies D. R.* Antibody–Antigen Complexes / D.R. Davies, E. A. Padlan, S. Sheriff // *Annual Review of Biochemistry*. – 1990. – 59. – P. 439–473.
404. *Meyer G.* Novel Optical Approach to Atomic Force Microscopy / G. Meyer, N. M. Amer // *Applied Physics Letters*. – 1988. – Vol. 53, Iss. 24. – P. 2400–2402.
405. *Binnig G.* Atomic Force Microscope / G. Binnig, C. F. Quate, Ch. Gerber // *Physical Review Letters*. – 1986. – 56. – P. 930–933.
406. *Sen T.* Magneto-Liposomes: stability of magnetic nanoparticles in suspension for drug delivery / T. Sen, S. J. Sheppard, T. Mercer, A. Elhissi // *Centre for Materials Science (School of Forensic and Investigative Sciences, University of Central Lancashire, Preston, UK): Nonatech*, 2010. – Vol. 1. – P. 924–927.
407. *Півнюк В. М.* Використання ліпосомальних форм хіміопрепаратів у хворих на резистентний до доксорубіцину рак молочної залози / В. М. Півнюк, Ю. О. Тимовська, О. В. Пономарьова, В. Ф. Чехун та ін. // *Онкологія*. – 2007. – Т. 9, № 2. – С. 120–125.
408. *Cranfield C. G.* Biogenic Magnetite in the Nematode *Caenorhabditis elegans* / C. G. Cranfield, A. Dawe, V. Karloukovski et al. // *Proceedings of the Royal Society*. – B: Biological Sciences. – 2004. – 271. – P. 436–439.
409. *Kirschvink J. L.* Magnetite Biomineralization in the Human Brain / J. L. Kirschvink, A. Kobayashi-Kirschvink, B. J. Woodford // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1992. – 89. – P. 7683–7687.
410. *Dobson J. P.* Magnetic Properties of Human Hippocampal Tissue – Evaluation of Artefact and Contamination Sources / J. P. Dobson, P. P. Grassi // *Brain Research Bulletin*. – 1996. – 39. – P. 255–259.
411. *Drummond D. C.* Optimizing Liposomes for Delivery of Chemotherapeutic Agents to Solid Tumors / D. C. Drummond, O. Meyer, K. Hong et al. // *Pharmacological Reviews*. – 1999. – 51 (4). – P. 691–743.
412. *Першина А. Г.* Использование магнитных наночастиц в биомедицине / А. Г. Першина, А. Э. Сазонов, И. В. Мильто // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2008. – Т. 7, № 2. – С. 70–78.

413. *Zhengjian L.* Probing Specific Interaction Forces between Human IgG and Rat Anti-Human IgG by Self-Assembled Monolayer and Atomic Force Microscopy / L. Zhengjian, J. Wang, C. Guoping // *Res. Lett.* – 2010. – 5. – P. 1032–1038.
414. *Gonzales M.* Synthesis of Magnetoliposomes with Monodisperse Iron Oxide Nanocrystal Cores for Hyperthermia / M. Gonzales, M. Kannan, L. Krishnan // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials.* – 2005. – 293 (1). – P. 265–270.
415. *Берзофски Д.* Взаимодействие антиген–антитело / Д. Берзофски, А. Берковер. – М.: Мир, 1989. – 360 с.
416. *Бараи Ю. С.* Силы Ван-дер-Ваальса. – М.: Наука, 1988. – 344 с.
417. *Каплан И. Г.* Введение в теорию межмолекулярных взаимодействий. – М.: Наука, 1982. – 312 с.
418. *Ruan J.* Architecture of a Flagellar Apparatus in the Fast-Swimming Magnetotactic Bacterium MO-1 / J. Ruan, T. Kato, C.-L. Santini et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2012. – 109. – P. 20643–20648.
419. *Farina M.* Magnetic Iron-Sulphur Crystals from a Magnetotactic Microorganism / M. Farina, L. de Barros // *Nature.* – 1990. – 343. – P. 256–258.
420. *Bonifacino J. S.* The Mechanisms of Vesicle Budding and Fusion / J. S. Bonifacino, B. S. Glick // *Cell.* – 2004. – 116. – P. 153–166.
421. *Gorobets S. V.* Biogenic Magnetic Nanoparticles in Human Organs and Tissues / S. V. Gorobets, O. V. Medvediev, O. Yu. Gorobets, A. Ivanchenko // *JEMS–2017 (February 23–25, 2017, Salt Lake City, Utah, USA).* – [Ел. ресурс. Режим доступа: [events.pennwell.com/EMS2017/Public/Content.aspx?ID](http://events.pennwell.com/EMS2017/Public/Content.aspx?ID)].
422. *Григорьева И. С.* Физические величины: справочник / И. С. Григорьева, Е. 3. Мейлихова // М.: Энергоатомиздат, 1991. – 1232 с.
423. *Da Rocha Faria M.* Development and Characterization of magnetoliposomes for Drug Delivery Applications. – Dissertation Master's Degree in Biomedical Engineering. – 2011. – 351 p.
424. *Суздальев И. П.* Нанотехнология: физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов // М.: Ком. книга, 2006. – 592 с.
425. *Herbach N.* Multiple Glucagon-Producing Pancreatic Neuroendocrine Tumors in a Horse (*Equus caballus*) / N. Herbach, L. Nagel, T. Zwick, W. Hermanns // *Veterinary Pathology.* – 2014. – 51 (3). – P. 607–611.
426. *Baulieu E.-E.* Hormones: from molecules to disease / E.-E. Baulieu, P. A. Kelly (eds.). – New York: Chapman and Hall, 1990. – Springer. – ISBN 978-0-412-02791-8.

427. *Rindi G.* Characterisation of Gastric Ghrelin Cells in Man and other Mammals: studies in adult and fetal tissues / G. Rindi, V. Necchi, A. Savio et al. // *Histochemistry and Cell Biology*. – 2002. – 117 (6). – P. 511–519.
428. *Harvey S.* Growth Hormone / S. Harvey, C. G. Scanes, W. H. Daughaday. – Boca Raton (Florida, USA): CRCPress, 1994. – 505 p. – ISBN 9780849386978.
429. *Rice G. E.* Biophysical Characteristics of Oxytocin Secretory Granules Isolated from Ovine Corpora Lutea // *Journal of Endocrinology*. – 1988. – 116 (2). – P. 267–272.
430. *Meuten D. J.* Tumors in Domestic Animals: 4<sup>th</sup> ed. // Ames (Iowa, USA): Iowa State Press, 2008. – 800 p.
431. *Shoumura S.* Immunocytochemical Localization of Parathyroid Hormone in Rabbit Parathyroid Glands / S. Shoumura, N. Ishizaki, S. Emura et al. // *Histology and Histopathology*. – 1988. – 3 (1). – P. 93–95.
432. *Accordi F.* Adrenaline-, Noradrenaline- and Small Granulecontaining Cells in the Adrenal Gland of *Discoglossus pictus* (*Amphibia, Anura*) / F. Accordi, V. P. Gallo // *Journal of Anatomy*. – 1982. – 135 (1). – P. 5–12.
433. *Wang H.* A Nanostructured Graphene/Polyaniline Hybrid Material for Supercapacitors / H. Wang, Q. Hao, X. Yang // *Nanoscale*. – 2010. – 2 (10). – P. 2164–2170.
434. *Lv Z.* Probing Specific Interaction Forces Between Human IgG and Rat Anti-Human IgG by Self-Assembled Monolayer and Atomic Force Microscopy / Z. Lv, J. Wang, G. Chen et al. // *Nanoscale Research Letters*. – 2010. – 5. – P. 1032–1038.
435. *Belyy V.* The Mammalian Dynein/Dynactin Complex is a Strong Opponent to Kinesin in a Tug-of-War Competition / V. Belyy, M. A. Schlager, H. Fosteriz et al. // *Nature Cell Biology*. – 2016. – 18 (9). – P. 1018–1024.
436. *Hill D. B.* Fast Vesicle Transport in PC12 Neurites: velocities and forces / D. B. Hill, M. J. Plaza, K. Bonin, G. Holzwarth // *European Biophysics Journal*. – 2004. – 33 (7). – P. 623–632.

*Наукове видання*

**С.В. ГОРОБЕЦЬ, О.Ю. ГОРОБЕЦЬ,  
П.П. ГОРБИК, І.В. УВАРОВА**

**ФУНКЦІОНАЛЬНІ БІО- ТА НАНОМАТЕРІАЛИ  
МЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ**

**Монографія**

Керівник видавничих проєктів: А. О. Ястребов

*Друкується в авторській редакції*

Дизайн обкладинки: Н. М. Тишківська

Підписано до друку 19.06.2018 р.

Формат 60×84 1/16. Папір офсетний.

Гарнітура Times New Roman.

Друк офсетний. Ум. друк. арк. 27,90.

Обл.-вид. аркушів 23,33.

Наклад 300 прим.

ТОВ «Видавничий дім «КОНДОР»

Свідоцтво серія ДК № 5352 від 23.05.2017 р.

03067, м. Київ, вул. Гарматна, 29/31

тел./факс (044) 408-76-17, 408-76-25

[www.condor-books.com.ua](http://www.condor-books.com.ua)