

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАНОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ МАГНЕТИТА: СИНТЕЗ, МОДИФИЦИРОВАНИЕ, ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ *in vitro*

П.П. Горбик, А.Л. Петрановская, Л.П. Сторожук, И.В. Дубровин,
Л.С. Семко, В.Ф. Чехун*

*Институт химии поверхности НАН Украины,
ул. Генерала Наумова, 17, 03164 Киев-164,*

**Институт экспериментальной патологии, онкологии и
радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины,
ул. Васильковская 45, 03022 Киев-22*

Предложена методика синтеза магнитоуправляемого носителя лекарственных препаратов на основе ультрадисперсного магнетита с биосовместимым полиакриламидным покрытием. Для опытных образцов магнитоуправляемого лекарственного препарата цитостатического и гипертермического действия изучена кинетика адсорбции платидиама и динамика его выхода из поверхностного слоя в модельную среду.

Разработаны магниточувствительные наноконкомпозиты на основе магнетита и диоксида титана, получаемые методом жидкофазного молекулярного наслаивания. Показано, что кристаллическая фаза анатаза появляется при нанесении четвертого монослоя оксида титана на поверхность наночастиц Fe_3O_4 .

A synthesis technique has been proposed of magnet-controlled carrier for medicine preparations based on ultradisperse magnetite covered with biocompatible polyacrylamide. The adsorption kinetics of platidiam as well as the dynamics of its evaluation from the surface layer into a model medium have been examined for experimetal samples of the magnet-controlled medicine preparation of citostatic and hyperthermic action.

Magnet-sensitive nanocomposites have been developed based on magnetite and titania prepared by liquid-phase molecular stratifying. The crystalline anatase phase has been shown to appear due to superposition of the forth monolayer of titania onto the Fe_3O_4 nanoparticle surface.

Введение

Развитие нанотехнологий открывает реальные перспективы создания уникальных средств для медицины и биологии [1-4]. Их внедрение представляет основу современного прогресса в областях диагностики и терапии, в частности, на клеточном и геном уровнях.

Внимание исследователей к композитам, которые содержат магнитные наночастицы, обусловлено тем, что они имеют специфические свойства, не характерные для сплошного магнитного материала. Отличия наблюдаются в температурах Кюри или Нелля до сотен градусов, а также установлен ряд необычных свойств - гигантское магнитосопротивление, аномально большой магнитокалориметрический эффект и т. п. [5].

В современной медицине широко используются магнитные лекарственные препараты на основе магнетита как рентгеноконтрастные средства. В [6] описан рентгенокон-

трасный препарат, который содержит магнетит с жидким носителем – тетрадеканом. Водный коллоидный раствор магнетита авторами [7] предложен как эффективное гемостатическое средство. Его используют также для визуализации биологических тканей, которые состоят из апоферритина (белковая оболочка ферритина), в пустоты которого включены кристаллы магнетита.

К перспективным направлениям использования магнитных материалов с развитой поверхностью относится создание сорбентов [8], магниточувствительных нанокомпози- тов для направленного транспорта лекарственных средств [9-12]. Магнитные лекарст- венные формы могут даже не содержать лекарственные вещества. В этом случае лечеб- ный эффект обусловлен или действием постоянного магнитного поля, источником кото- рого служит сама магнитная лекарственная форма, или действием внешнего высокочас- тотного магнитного поля.

В последние два-три года приобретает развитие одно из новейших направлений в диагностике и терапии онкозаболеваний, которое основывается на использовании иерархически сконструированных магниточувствительных нанокомпози- тов. Авторы [13] получали их многостадийным золь-гель синтезом в мицеллярной системе. Поверхность нанокомпози- тов функционализировалась с целью обеспечения распознавания и дости- жения специфических клеток. Указанные нанокомпози- ты представляют собой магнито- чувствительные носители в силикатных оболочках размером до 50 нм, которые могут инкапсулировать различные оптические, магнитные или электрические датчики, тера- певтические агенты. Нанокомпози- ты прицельно доставляются в клетку и применяются с целью диагностики или изменения ее функций в заданном направлении, а также для создания гипертермических зон. Использование локальной гипертермии принципиально разрешает осуществлять терапию онкозаболеваний без использования химических пре- паратов.

Химиотерапевтические противоопухолевые лечебные средства в живом организ- ме вызывают нарушение обмена нуклеиновых кислот, мешают процессам биосинтеза и функции ДНК, угнетают кровообразование, пищеварение, являются кардио-, нейро- и нефротоксичными. Поэтому задача направленного транспорта лекарственного средства (ЛС) в клетки опухоли с помощью магнитных носителей чрезвычайно актуальна. Их фиксация и депонирование магнитным полем в зоне опухоли дает возможность значи- тельно уменьшить дозу препарата и, как следствие, свести к минимуму токсико-аллерги- ческие реакции организма.

При разработке магнитоуправляемых фармацевтических препаратов необходимо решить ряд задач, связанных с синтезом эффективных наноразмерных носителей, моди- фицированием их поверхности, иммобилизацией лекарственных препаратов, капсули- рованием и т. п. [14-16]. С практической точки зрения важно осуществить теоретические оценки условий транспорта и расчеты параметров носителей с целью их оптимизации.

Изменяя размеры, форму, состав и строение наночастиц, можно в определенных границах управлять магнитными характеристиками компози- тов. Однако контролировать указанные факторы при синтезе наночастиц удается далеко не всегда, поэтому свойства даже однотипных материалов могут сильно отличаться. В частности, имеет место силь- ная зависимость магнитных свойств ферромагнетиков от размеров частиц, из которых они состоят.

При модифицировании поверхности носителей биосовместимыми полимерами необходимо оптимизировать функции полимерной составляющей. Полимерные молеку- лы могут выступать в этих системах как связующие терапевтического или диагностиче- ского препарата и определять довольно важные характеристики лекарства: раствори- мость, биодоступность, пролонгированность срока действия за счет медленной десорб- ции лекарственных препаратов из полимерной матрицы, срок сохраняемости и др. Спо-

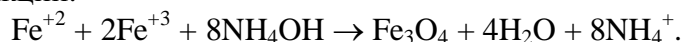
собы закрепления фармакологически активных веществ на поверхности полимера также могут быть разными, что определяется назначением лекарства и клинической патологией, в условиях которой они будут применены.

Опираясь на анализ литературных данных, можно сделать вывод, что исследования, направленные на разработку магнитоуправляемых лекарственных препаратов химиотерапевтического, диагностического и гипертермического действия, актуальны и широко ведутся в развитых странах мира. Особенно актуальными являются работы, направленные на диагностику и терапию онкозаболеваний на клеточном уровне, что обусловило выбор направления исследований, результаты которых приведены ниже.

Целью работы является разработка магниточувствительных нанокомпозитов с иерархической архитектурой для применения в медицине и биологии. Направление исследований включает синтез высокодисперсного магнетита, разработку на его основе магниточувствительных носителей с биосовместимым полиакриламидным (ПАА) покрытием, полученным полимеризацией в плазме НВЧ-разряда, а также создание модели магнитоуправляемого лекарственного препарата цитостатического действия с иммобилизованным платидиамом, модификацию поверхности магнетита диоксидом титана, γ -аминопропилтриэтоксисиланом, и ее функционализацию.

Экспериментальные методики

Высокодисперсный магнетит получен по методике [17, 18] соосаждением солей по реакции:



Для изготовления носителей использовали фракцию 20-30 нм, отвечающую одно-доменному состоянию.

Поверхность порошка магнетита стабилизировалась олеиновой кислотой в растворе гексана. Содержание углерода и водорода в стабилизированном магнетите составляло: С - 2,00 %; Н - 1,50 %. В [19] показано, что стабилизирующее покрытие на поверхности магнетита формируется из двух слоев плотноупакованной олеиновой кислоты, которая находится преимущественно в ионизированной форме и проявляется в ИК-спектрах в виде симметричных и антисимметричных валентных колебаний фрагментов COO^- . Диффузная полоса поглощения при 1050 см^{-1} принадлежит связи Fe-OH. С помощью растровой электронной микроскопии высокой разрешающей способности и атомной силовой наноскопии установлено, что частицы магнетита размерами 20-30 нм представляют собой кристаллы округлой формы. Удельная поверхность магнетита составляла $S = 90-180 \text{ м}^2/\text{г}$ (определено по тепловой десорбции аргона).

Оказалось, что применение методики [17, 18] разрешает получать магнетит с широким распределением частиц по размерам (от микронов до нанометров). Это приводило к необходимости применения дополнительной операции фракционирования и низкого выхода монодоменной фракции.

При использовании магнетита для нужд медицины его наночастицы должны удовлетворять таким требованиям:

- размер частиц не должен превышать ~ 60 нм, чтобы они могли свободно проходить через капилляры, не вызывая эмболизации;
- иметь адекватную магниточувствительность (т.е. иметь довольно большой магнитный момент) в технически достижимых полях для удержания их в кровотоке при его физиологических параметрах. Для магнитных наночастиц это значение совпадает с теоретически оцененной величиной наименьшего по размерам магнитного домена в большинстве магнитных материалов. Частицы магнетита в однодоменном состоянии имеют

наибольшее значение коэрцитивной силы. Оценочное значение размера сферических однодоменных частиц магнетита при температуре 300 К составляет ~ 30 нм [5];

- носители должны быть способны нести необходимый набор химиотерапевтических агентов, при этом лекарственное вещество должно занимать значительную часть объема препарата, а организм не должен перегружаться магнитным материалом;

- поверхностные свойства носителей должны обеспечивать максимум биосовместимости и минимум антигенности;

- магнитные носители после выполнения функций должны быть биodeградирующими, при этом продукты распада должны быстро выводиться из организма или быть минимально токсичными.

Реализовать вышеуказанные условия с целью получения стабильных прогнозируемых результатов можно при гетерогенном синтезе магнетита на границе раздела двух фаз: твердой фазы - замороженного раствора солей, и жидкой - избытка раствора аммиака фиксированной концентрации. При плавлении раствора солей на тонкой межфазной границе поддерживается (в первом приближении) постоянный градиент концентраций. С одной стороны - раствор аммиака, взятый в избытке, а с другой - по мере таяния твердой фазы высвобождается и вступает в реакцию раствор, имеющий заранее заданную, постоянную концентрацию компонентов реакции. В отличие от гомогенного синтеза, рост наночастиц на некотором расстоянии от поверхности замороженного раствора солей прекращается вследствие практически полного отсутствия соли железа. Это позволяет предотвратить неконтролируемый рост образовавшихся частиц и сохранить их первичный размер.

Постоянная, вследствие протекания эндотермической реакции плавления раствора солей (наличие равновесия: твердый раствор солей - жидкий раствор солей), температура в зоне реакции содействует образованию наноразмерных частиц с близким распределением по размерам. Очевидно, что низкая температура реакционной суспензии препятствует протеканию процесса образования агрегатов из околококритических зародышей и их рекристаллизации с образованием больших и не лучшим образом структурированных частиц.

Конструктивно реактор (рис. 1) состоит из стакана (3) с аммиачным раствором (5), в который опущен закрепленный на роторе мотора (1) фторопластовый стержень (2) с замороженным в виде цилиндра солевым раствором (4) определенного состава. В нижнюю часть стакана оседает магнетит (6), образующийся в результате реакции.

Наночастицы магнетита синтезировали по следующей методике. Сульфат железа $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ растворяли в минимальном количестве воды (26,3 г на 100 г H_2O при 20 °С). Стехиометрическое количество хлорида трехвалентного железа нагревали до 42 °С и вливали при перемешивании в предыдущий раствор. Получали концентрированный раствор солей железа А. Смесь раствора А и воды в определенном соотношении, предварительно вставив стержень (2) с низкой теплопроводностью, замораживали при температуре на ~ 20 К ниже температуры кристаллизации данной смеси состава (рис. 2, штриховая линия) в тонком пластиковом стакане. После замерзания стакан снимали, предварительно подогрев его на водяной бане. Стержень (2) прикрепляли к ротору мотора, затем опускали цилиндр из солевого раствора в раствор аммиака соответствующей концентрации. Скорость вращения стержня составляла ~ 200 об/мин. По мере таяния цилиндра солевой раствор заданной концентрации вступал в реакцию с раствором аммиака с образованием высокодисперсного магнетита.

Магнетит осаждали с помощью постоянного магнитного поля, раствор отделяли методом декантации. Осадок многократно промывали до удаления присутствующих в растворе анионов. ИК-спектры исходного магнетита и модифицированного ПАА регистрировали с помощью Фурье-спектрометра "Perkin Elmer" (модель 1720X) в диапазоне 400-

4000 см⁻¹. Коэрцитивную силу магнетит-ПАА частиц определяли баллистическим методом. Содержание стабилизирующего покрытия на поверхности исходного магнетита оценивали на С, Н, N-анализаторе фирмы "Perkin Elmer". Нанесение мономера акриламида (АА) и сшивающего реагента N,N'-метилден-бис-акриламида на поверхность магнетита проводили на роторном испарителе при 30 °С.

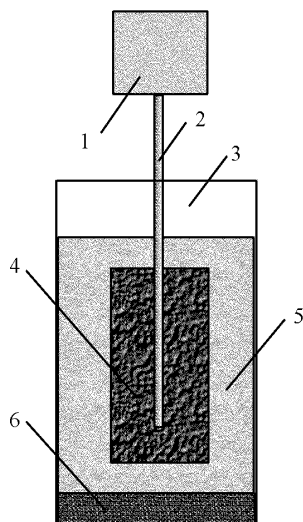


Рис. 1. Блок-схема установки криогенного синтеза монодоменного магнетита

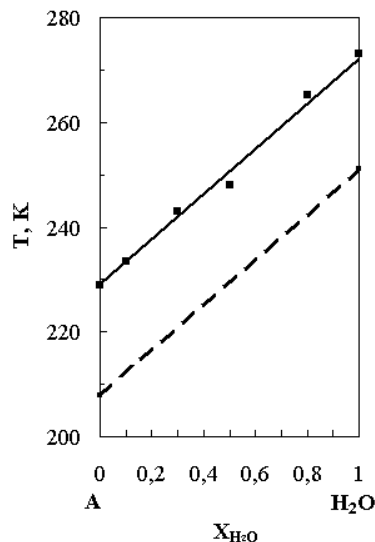
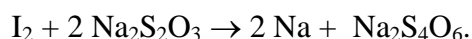


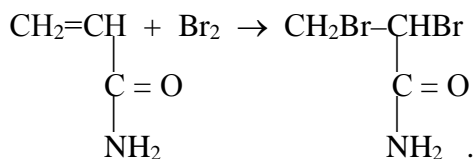
Рис. 2. Зависимость температуры (Т) замерзания солевого раствора А от объемной доли воды (X_{H₂O})

Получение полиакриламидного слоя на поверхности магнетита проводили полимеризацией акриламида и N,N'-метилден-бис-акриламида в плазме НВЧ-разряда при мощности излучателя 20 и 40 Вт [20, 21]. Полимеризацию в плазме проводили в тлеющем разряде при давлении 1·10⁻³ Па.

Степень полимеризации оценивали по методу Кауфмана [22, 23]. Метод основывается на способности связи С=C присоединять бром. Избыток брома при взаимодействии с KI выделяет иод, который оттитровывали тиосульфатом натрия:



Содержание С=C связей (в %) рассчитывали по экспериментальным результатам.



Для получения магнитоуправляемого лекарственного средства на наноразмерные частицы магнетита с полиакриламидным покрытием адсорбировали платидиам, количество которого на поверхности магнетит-ПАА частиц определяли атомно-адсорбционным методом с помощью спектрометра С-115, М-1 (с пламенным атомизатором) при исследовании контактных жидкостей после адсорбции лекарственного средства.

Концентрирование магнитных носителей и их фиксацию в заданном участке моделей кровеносных сосудов проводили с помощью постоянного магнитного поля соответствующей индукции.

Динамику выхода ЛС в модельную среду определяли по следующей методике: навеску образца с адсорбированным платидиадом помещали в 10 мл модельной среды и

инкубировали в термостате при 37 °С. В качестве модельной среды использовали воду для инъекций, как указано в инструкции к препарату. Через 15 мин отбирали аликвоту (5 мл) для анализа и доливали водой до начального объема (10 мл). Концентрацию ионов Pt^{2+} в полученных вытяжках определяли методом атомно-абсорбционного анализа.

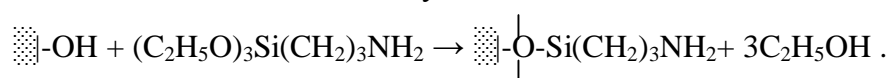
Модель магнитоуправляемого лекарственного средства цитостатического действия (магниточувствительный композит с адсорбированным платидиадом) исследовалась “in vitro” в Институте экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии (ИЭПОР) им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины.

Для исследований была использована клеточная линия MCF-7 (рак молочной железы человека) из банка клеточных культур ИЭПОР НАН Украины.

Клетки линии MCF-7 (концентрация составляла $1 \cdot 10^5$ клеток/мл в объеме 100 мкл) высаживали в 96-ячеечные пластиковые планшеты. Клетки культивировались на модифицированной среде Dulbecco – ISCOV (Sigma, Germany) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотика – гентамицина с концентрацией 40 мкг/мл в стандартных условиях при 37 °С и при насыщении воздуха 5% CO_2 . После 24-часовой адаптации клеток к условиям культивирования прибавляли исследуемые препараты для тестирования (каждый в 4 параллелях, в 100 мкл) и инкубировали в тех же условиях. Определение цитотоксичности проводили через 24 ч. Эффективность оценивали за МТТ-колориметрическим тестом. Метод основывается на способности митохондриальных ферментов живой клетки превращать 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2, 5-дифенилтетразолий бромид (МТТ) – соль желтого цвета в кристаллический МТТ-формазан лилового цвета [24]. Для этого в лунки 96-ячеечного планшета прибавляли 20 мкл раствора МТТ (Sigma) (5 мг/мл фосфатно-солевого буфера) и инкубировали в течение 3 ч. После центрифугирования планшета (1500 об/мин, 5 мин) с помощью полуавтоматического отсасывателя удаляли супернатант. Для растворения кристаллов формазана в каждую ячейку прибавляли 100 мкл диметилсульфоксида (Serva). Величину оптического поглощения раствора измеряли с помощью мультиячеечного спектрофотометра при длине волны 540 нм (OP_{540}).

С целью функционализации проводили модификацию поверхности наночастиц магнетита жидкостно-фазовым способом - γ -аминопропилтриэтоксисиланом (γ -АПС) в толуоле [25].

Реакцию поликонденсации осуществляли по схеме:



Перед модифицированием γ -АПС выдерживали над молекулярными ситами, от олигомеров избавлялись перегонкой в вакууме. Перед началом синтеза магнетит выдерживали в 10 % растворе γ -АПС в толуоле в течение 8 ч. Затем центрифугировали, промывали толуолом, ацетоном и высушивали при комнатной температуре. Количество реакционноспособных аминогрупп в модифицированных образцах магнетита определяли по реакции с 2, 4-пентандионом в сухом пиридине. Она составляла 60 % от общего количества аминогрупп [26].

Концентрацию ОН-групп на поверхности наночастиц магнетита рассчитывали по данным дифференциального термогравиметрического анализа (ДТГА). Она составляла 2,2 ммоль/г или 24 мкмоль/г при $S_{уд} = 90 \text{ м}^2/\text{г}$.

Полученные образцы исследовали методами дериватографии, рентгеноструктурного анализа и ИК-Фурье-спектроскопии.

Рентгенофазовый анализ магнетита проводили на дифрактометре ДРОН-4-07 с использованием медного излучения анода и Ni-фильтра в отраженных лучах и фокуси-

рованием рентгеновских лучей по Бреггу-Брентано. Средний размер кристаллитов Fe_3O_4 определяли по увеличению ширины наиболее интенсивной линии (311) [27].

Для определения содержания функциональных групп на поверхности магнетита использовали дифференциальный термический анализ (ДТА) совместно с ДТГА. Регистрацию термограмм осуществляли на дериватографе Q-1500D фирмы MOM (Венгрия) в интервале температур 20-1000 °С при скорости нагрева 10 град/мин.

Образцы высокодисперсного магнетита, модифицированного γ -аминопропил-триэтоксисиланом, исследовали методами рентгенофотоэлектронной спектроскопии. РФЭ-спектры регистрировались на спектрометре ЕС-2401 с использованием K_{α} -излучения магниевого анода. Калибровку спектрометра проводили по линии Au $4f_{7/2}$ с $E_{\text{св}}=84$ эВ.

Целью дальнейшей работы была разработка вирусинактивирующих магниточувствительных наноконпозитов, изучение их взаимодействия с модельными оболочковыми вирусами для использования в качестве высокоэффективных деконтаминантов плазмы донорской крови. Применение магнитных средств деконтаминации позволяет упростить технологию и повысить эффективность процессов очистки донорской плазмы. Поэтому при выборе направления исследований мы остановились на физико-химическом методе инактивации с использованием магнитоуправляемых наноконпозитов [28].

Адсорбцию вируса осуществляли на стерильных металлооксидных материалах при комнатной температуре. Эффективность адсорбции оценивали по остаточной инфекционной активности ВВС в культуральной жидкости. Количество вируса в исходной культуральной жидкости и после экспозиции с наноразмерными металлооксидными порошками определяли титрованием методом предельных разведений на перевывающей культуре клеток Нер-2С (микропластины для культивирования клеток Sarstedt G&Co., M 96; Nunc), клетки культивировали в CO_2 -инкубаторе. Наблюдение вели на протяжении 7 сут. Инфекционный титр рассчитывали, используя метод Рида и Менча, и выражали в $\lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$.

При получении наноконпозитов на основе магнетита и диоксида титана для использования их в качестве магнитоуправляемых деконтаминантов вирусов разной этиологии применяли метод молекулярного наслаивания [29, 30]. Основная идея метода заключается в последовательном наращивании монослоев структурных единиц заданного химического состава на поверхности твердого носителя.

Синтез основывается на протекании необратимых в условиях эксперимента химических реакций между функциональными группами поверхности и молекулами подведенного извне реагента. При этом исходные реагенты и продукты реакции не должны вступать в химические взаимодействия между собой.

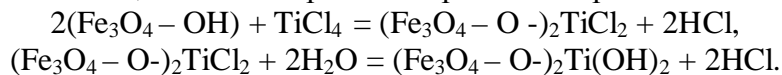
Для постепенного наращивания привитого слоя необходимо проводить многократную обработку носителя специально подобранными реагентами в определенной последовательности. При этом каждый новый образованный монослой привитых молекул должен содержать реакционноспособные группы.

Навеску высокодисперсного магнетита (10 г), предварительно высушенного при 120 °С до постоянной массы (для удаления адсорбированной воды), обрабатывали ультразвуком и помещали в стеклянный реактор с мешалкой и обратным холодильником. Прибавляли CCl_4 (~60-70 мл) и перемешивали 30 мин до образования стойкой суспензии и смачивания. Затем прибавляли трехкратный избыток TiCl_4 (5,6 мл) для максимального отдаления от стехиометрического равновесия реакции и, тем самым, полного замещения гидроксильных групп магнетита. Количество TiCl_4 рассчитывали, исходя из того, что поверхность синтезированного нами магнетита содержит 0,0017 моль/г ОН-групп, а плотность $\rho_{(\text{TiCl}_4)}=1,73$ г/см³. Концентрация ОН-групп рассчитана по данным дифференциального термогравиметрического анализа (ДТГА).

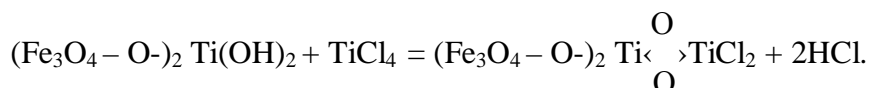
Синтез проводили в течение 4 ч при температуре кипения CCl_4 и постоянном перемешивании.

Смесь после охлаждения фильтровали и промывали сначала CCl_4 до отрицательной реакции на Ti^{4+} -ионы (по пероксиду водорода), а потом – ацетоном. Поскольку TiCl_4 легко гидролизует на воздухе, образцы выдерживали в насыщенном водном паре несколько часов до полной уверенности в том, что в привитом слое все Cl ионы замещены на OH -группы.

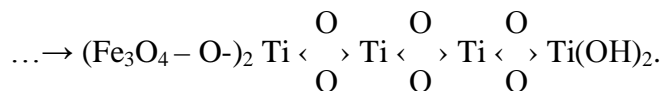
Можно предположить, что на поверхности происходит реакция по схеме:



Для нанесения второго слоя образец сначала высушивали при 120°C для удаления адсорбированной воды, а затем повторно обрабатывали TiCl_4 по методике, описанной выше.



Последовательно наносили 4 слоя. Исследования образцов модифицированного магнетита методами рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии позволяют предположить, что конечный продукт синтеза имеет следующую структуру:



Синтезированы четыре типа образцов (Fe_3O_4 + 1 слой, Fe_3O_4 + 2 слоя, Fe_3O_4 + 3 слоя, Fe_3O_4 + 4 слоя), которые исследовались методами ИК-Фурье-спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФС).

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

Рентгенофазовый анализ образцов магнетита, магнетита, модифицированного анатазом с послойным его покрытием, и чистого анатаза проводили на дифрактометре ДРОН-УМ1 с использованием фокусирования рентгеновских лучей по Бреггу-Брентано, молибденового излучения анода ($\lambda = 0.71069\text{ \AA}$) и Nb фильтра в отраженных лучах [26, 31].

Рентгеновские фотоэлектронные спектры регистрировались на спектрометре ЕС-2402 с анализатором „PHOIBOS-100” SPECS и магниевым анодом ($\text{EMgK}_\alpha = 1253,6\text{ эВ}$).

Обсуждение результатов

По криогенной методике были получены образцы сферических частиц кристаллического магнетита. Площадь поверхности высушенного порошка, исследованная методом адсорбции аргона, составляла $\sim 40\text{--}180\text{ м}^2/\text{г}$ (рис. 3). Размер частиц в зависимости от условий синтеза составлял $6\text{--}50\text{ нм}$ с довольно узким интервалом распределения (рис. 4).

Определены условия получения монодоменного магнетита при контроле *in situ* размера частиц с помощью силового наноскопа Digital Instruments NanoScope (рис. 5). Наличие кристаллической структуры подтверждено данными дифракции рентгеновского излучения (рис. 6) и измерениями магнитных свойств.

Преимущества предложенной методики состоят в том, что она позволяет непосредственно в процессе синтеза получать с высоким выходом монодоменные частицы магнетита, экономно тратить исходные реактивы и упрощает процесс дальнейшего выделения высокодисперсного продукта (сепарации).

Исследована кинетика полимеризации АА и $\text{N,N}'$ -метилден-бис-акриламида с изменением их содержания на поверхности магнетита при различных значениях мощности

излучателя. Полученные результаты приведены на рис. 7, а, б, где представлены кинетические кривые титрования остатка мономера в неводной среде (метаноле).

Анализ кинетических кривых титрования остатка мономера в неводной среде (метаноле) свидетельствует, что полная полимеризация биосовместимого слоя выбранной массы осуществляется в течение 120 с.

ИК-спектры исходного магнетита (1) и с полиакриламидным слоем (2) приведены на рис. 8.

В ИК-спектре исходного Fe_3O_4 полоса поглощения (ПП) 3428 см^{-1} принадлежит валентным колебаниям ОН-групп поверхности магнетита, ассоциированных водородными связями, и валентным колебаниям адсорбированных молекул воды [32]. Поглощение при 2851 и 2922 см^{-1} относится к симметричным и антисимметричным валентным колебаниям CH_2 -групп стабилизационного покрытия. ПП 1710 см^{-1} принадлежит валентным колебаниям карбонильной группы олеиновой кислоты, не связанной водородными связями [33]. Поглощение при 1620 см^{-1} отвечает деформационным колебаниям молекул воды, адсорбированных поверхностью магнетита. ПП 1445 и 1550 см^{-1} характеризуют симметричные и антисимметричные валентные колебания фрагментов (COO^-) стабилизационного покрытия [19].

В ИК-спектре магнетита с полиакриламидным слоем появляются полосы поглощения модификатора. Интенсивная ПП 3428 см^{-1} обусловлена валентными колебаниями связи N-H. ПП 2851 и 2922 см^{-1} относятся к симметричным и антисимметричным валентным колебаниям CH_2 -групп полиакриламида. ПП 1677 см^{-1} принадлежит валентным колебаниям $\text{C}=\text{O}$ амидной группы, низкочастотное крыло которой при 1642 см^{-1} характеризует деформационные колебания NH_2 -групп полиакриламида [32]. Полосы 1360 и 1465 см^{-1} следует отнести к симметричным и антисимметричным колебаниям CH_2 -групп полиакриламида. ПП при 1120 см^{-1} принадлежит $\text{C}-\text{N}$ деформационным колебаниям амидной группы. В этой же области могут регистрироваться заряженные формы атомарного и молекулярного кислорода (O_2^- , O^- и др.), возникновение которых возможно в процессе полимеризации в плазме НВЧ-разряда [34].

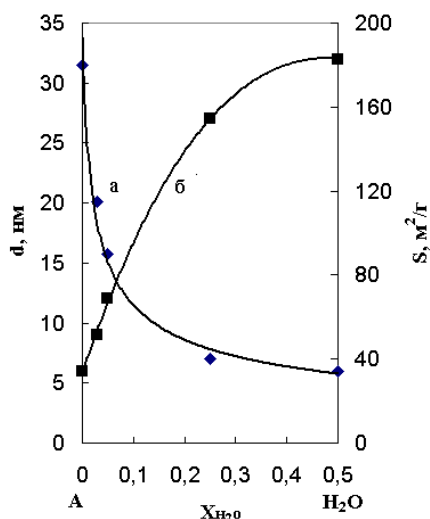


Рис. 3. Зависимость усредненного диаметра частиц магнетита (а) и площади поверхности порошка (б) от степени разбавления водой высококонцентрированного раствора А ($X_{\text{H}_2\text{O}}$ – объемная доля H_2O).

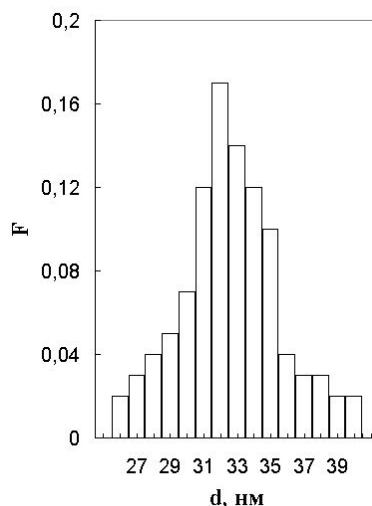


Рис. 4. Распределение наночастиц магнетита по диаметру

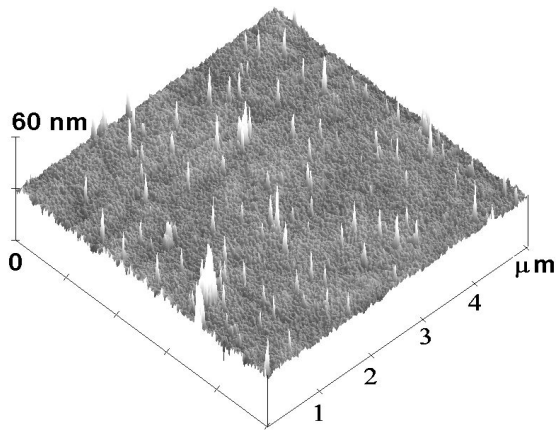


Рис. 5. АСМ-изображение наноразмерных частиц на полированной поверхности монокристаллического кремния

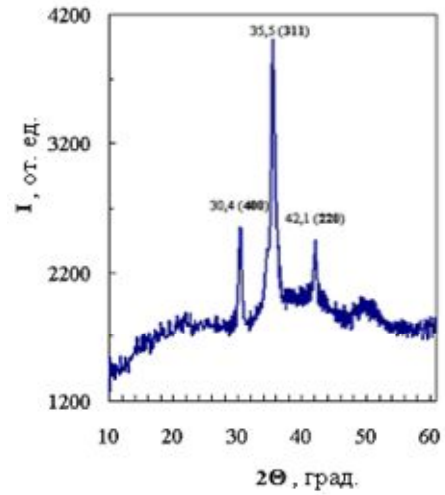
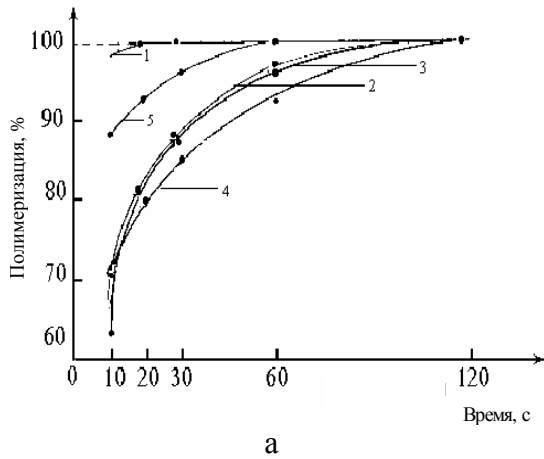
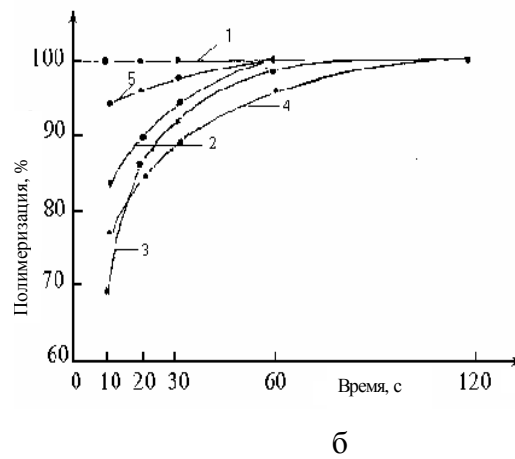


Рис. 6. Рентгеновская дифрактограмма порошка монодоменного магнетита



а



б

Рис. 7. Кинетические кривые титрования остаточного мономера в метаноле. Режим мощности - 20 (а) и 40 (б) Вт. Содержимое акриламида на поверхности магнетит-ПАА частиц (%): 1-5,0; 2-7,5; 3-10,0; 4-12,5; 5-15,0.

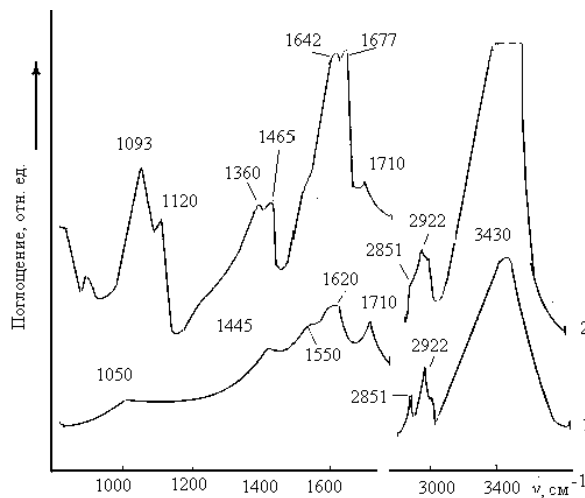


Рис. 8. ИК-Фурье спектры исходного магнетита (1) и с полиакриламидным слоем (2). Таблетки KBr.

Исследованы магнитные характеристики полученных частиц магнетита и выяснено влияние на них массы полиакриламидного покрытия. Массу покрытия изменяли от 5 до 50 % от общей массы частиц магнетита. На основе полученных экспериментальных результатов рассчитывали удельную намагниченность образцов σ_i и строили экспериментальные зависимости $\sigma_i = f(H)$. Используя эти зависимости, определяли предельную намагниченность при условии насыщения σ_s , остаточную намагниченность σ_r , коэрцитивную силу H_c [35].

На рис. 9 (а, б, в) приведены зависимости удельной намагниченности от напряженности магнитного поля для порошков магнетита без покрытия и с разным содержанием покрытия на его поверхности.

Из анализа полученных данных видно, что изменение массы покрытия от 0 до 10 % почти не приводит к заметному изменению исходных магнитных характеристик магнетита: значение σ_s находится в пределах от $61,5 \cdot 10^{-7} \text{ Т} \cdot \text{м}^3/\text{кг}$ до $62,0 \cdot 10^{-7} \text{ Т} \cdot \text{м}^3/\text{кг}$, H_c від 30,94 до 29,31 кА/м, $\sigma_r = 30,1 \cdot 10^{-7} \text{ Т} \cdot \text{м}^3/\text{кг}$. Дальнейшее увеличение массы покрытия до 50 % приводит к уменьшению значений σ_s до $51,1 \cdot 10^{-7} \text{ Т} \cdot \text{м}^3/\text{кг}$ и σ_r до $24,0 \cdot 10^{-7} \text{ Т} \cdot \text{м}^3/\text{кг}$, $H_c = 29,31 \text{ кА/м}$. Приведенные результаты свидетельствуют, что прирост массы ПАА покрытия на поверхности частиц магнетита до 50 % мало влияет на его магнитные характеристики.

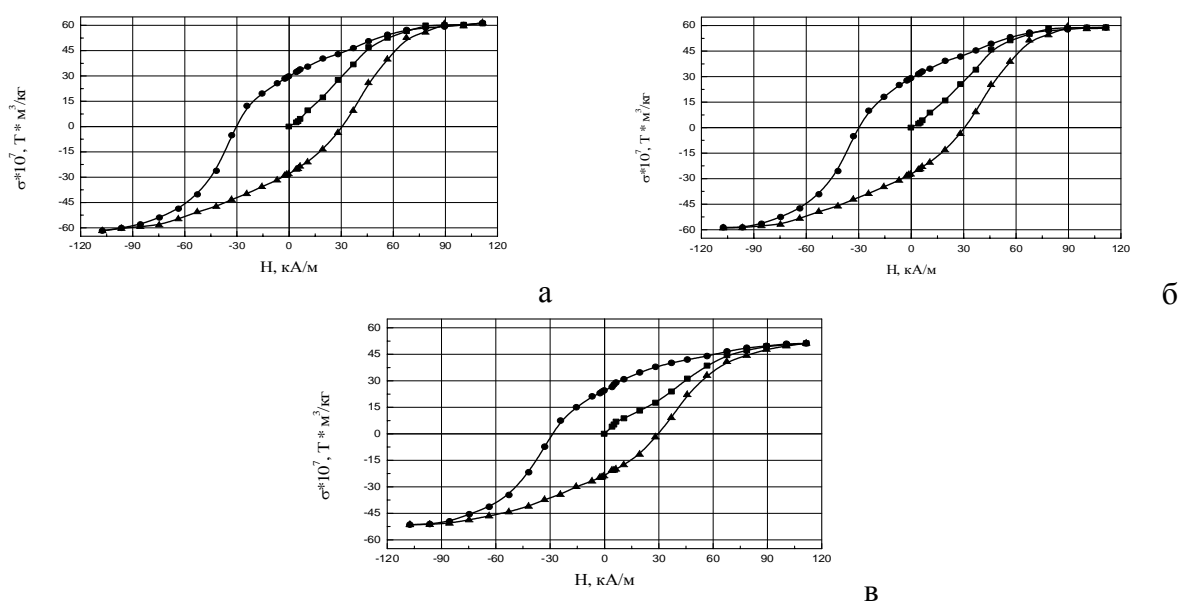
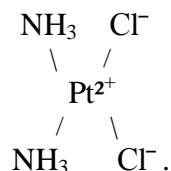


Рис. 9. Зависимость удельной намагниченности частиц магнетита без покрытия (а) и с покрытием (б, в) от напряженности магнитного поля. Масса покрытия от общей массы магнетита: б - 10, в - 50 %.

Как уже отмечалось, в качестве лечебного средства был избран платидиам. В современной химиотерапии комплексные соединения платины являются одними из наиболее эффективных противоопухолевых средств. Действующей основой препарата является *цис*-платина ($[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$) – желто-оранжевый порошок, трудно растворимый в воде в присутствии хлорид-ионов, без которых происходит гидролиз с образованием токсичных аква-комплексов. Поэтому, например, его вводят животным в брюшную полость в виде масляных суспензий или раствора в диметилсульфоксиде (ДМСО) [36]. Выпускается платидиам в форме лиофилизата в флаконах при следующих соотношениях: 10 мг *цис*-платины, 100 мг манитола и 90 мг хлористого натрия. Платидиам представляет собой порошок слегка желтоватого цвета, хорошо растворимый в воде, физиологических растворах и диметилформамиде.

Платидиам - высокотоксичное вещество. Параметры его острой токсичности очень низкие. Так, летальная доза для грызунов составляет 12-14 мг/кг, для собак - около 2,2 мг/кг, для обезьян он еще более токсичный. Химиотерапевтический индекс препарата также низкий - порядка 4-8 [36]. Поэтому локализация его в зоне поражения позволит получить терапевтический эффект при значительном уменьшении общей введенной дозы и, соответственно, токсико-аллергических реакций организма.

В структуре *цис*-платины имеются активные молекулы аммиака, которые могут выступать как аминные лиганды:



Адсорбцию платидиама (рис. 10) на поверхности магнетит-полиакриламидных частиц проводили из водного раствора в течение 20 ч в динамическом режиме при комнатной температуре.

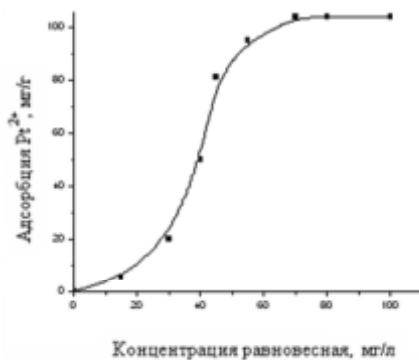


Рис. 10. Изотерма адсорбции платидиама на частицах магнетита с полиакриламидным покрытием

Можно считать [38], что S-подобный характер изотермы свидетельствует о наличии совместной адсорбции растворителя (физиологический раствор) и растворенного вещества (платидиам). Такой механизм адсорбции объясняется более интенсивным взаимодействием молекул растворенного вещества и адсорбата. В подобных случаях молекулы растворенного вещества стремятся разместиться на поверхности в виде определенных структур - цепей или кластеров.

Динамику выхода ЛС в модельную среду изучали при постоянной температуре 37, 40 и 45°C. Результаты исследований приведены в табл. 1.

Установлено, что в интервале температур 37-45°C за первые 30 мин в раствор вымывается до 46% от введенного количества платидиама и в дальнейшем в течение 80 мин, выход ЛС в модельную среду существенно не изменяется.

Таблица 1. Динамика выхода платидиама в модельную среду при разных температурах

№	Время, с	Количество платидиама, вымываемого с поверхности магнитоуправляемого носителя лекарственного средства, %		
		37°C	40°C	45°C
1	15	29,4	30,1	29,9
2	30	45,7	44,9	45,1
3	45	45,9	46,1	45,5
4	60	46,1	45,6	45,9
5	75	46,3	46,0	46,1

Предыдущими исследованиями установлено, что применение раствора платидиама (Ptd) с концентрацией $C = 1,5$ мкг/мл, отвечает дозе IC_{50} (inhibitable concentration) для клеточной линии MCF-7. Поэтому в дальнейших экспериментах *in vitro* использовали изготовленный непосредственно перед опытом свежий раствор Ptd (растворитель – вода для инъекций) указанной концентрации (доза D_3) и последовательно уменьшаемых вдвое концентрациях (дозы D_2 и D_1 соответственно).

Исследовано также влияние на клеточную линию:

- раствора Ptd- L (растворитель – вода для инъекций), изготовленного для адсорбции платидиама на поверхность магниточувствительных наноконструкций (концентрация $C = 1$ мг/мл). Время „жизни” раствора Ptd- L перед опытом составляло 14 ч.

- магниточувствительного носителя с биосовместимым полиакриламидным покрытием (без платидиама) FeM.

- образцов типа V, представляющих собой сухое вещество – магниточувствительные носители с полиакриламидным покрытием и адсорбированным из раствора Ptd- L в течение 12 ч в динамическом режиме при комнатной температуре платидиамом. Результаты исследования приведены в табл.2.

Таблица 2. Влияние платидиама, адсорбированного на ферромагнитных носителях, на жизнеспособность клеток линии MCF-7 при разных дозах

Образцы	D_1		D_2		D_3	
	Количество клеток, %		Количество клеток, %		Количество клеток, %	
	живых	погибших	живых	погибших	живых	погибших
Ptd	67,5	32,5	55,4	44,6	42,6	57,4
Ptd-L	91,3	8,7	80,6	19,4	75,4	24,6
FeM	98,2	1,8	94,6	5,4	91,3	8,7
V	90,3	9,7	81,4	18,6	75,8	24,2

Видно, что применение Ptd – раствора платидиама, изготовленного *extempore* в концентрациях D_1 , D_2 , D_3 , вызывает угнетение роста клеток на 32,5; 44,6; 57,4% соответственно, причем угнетение в концентрации D_3 отвечает показателю IC_{50} в условиях опыта. Применение раствора Ptd- L, изготовленного для адсорбции (срок использования 14 ч) в концентрациях D_1 , D_2 , D_3 , вызывает угнетение роста клеток соответственно на 8,7; 19,4; 24,6%. Это указывает на снижение цитостатического действия препарата в растворе при продолжительном хранении.

Исследование влияния магниточувствительного наноразмерного носителя с полиакриламидным покрытием FeM на клеточную линию MCF-7 в исследуемых концентрациях свидетельствует об их биосовместимости и отсутствии цитостатического действия.

Исследование образца типа V (табл. 2) показало, что в примененных дозах D_1 , D_2 , D_3 он вызывает угнетение роста клеток на 9,7; 18,6; 24,2%, что отвечает эффекту действия раствора платидиама Ptd- L, из которого осуществляли адсорбцию лечебного препарата на их поверхность. Полученные результаты свидетельствуют, что при тестировании указанного образца происходит практически полный выход платидиама из магниточувствительного носителя в культивируемую среду.

Анализ полученных данных свидетельствует, что повышение цитостатического действия магниточувствительных наноконструкций - носителей препарата платидиама,

может быть достигнуто путем оптимизации растворителя, времени и температуры адсорбции.

Проведено исследование нерезонансного (теплового) влияния электромагнитного излучения на мышечные ткани животных (*in vitro*). Установлена зависимость температуры мышечных тканей от времени облучения электромагнитными волнами длиной 3 см. Для исследований использовали образцы мышечных тканей массой 5 г. Площадь облучения составляла $\sim 2 \text{ см}^2$. Показано, что в случае введения в мышечные ткани частиц дисперсного магнетита (0,1% масс.) поглощение электромагнитного излучения возрастает, а скорость нагревания увеличивается от 3 до 4 град/мин при мощности излучения 0,5 Вт.

Особенно актуальны работы, направленные на диагностику и терапию онкозаболеваний на клеточном уровне. Разработка нанокмполитов для указанных применений включает стадии модификации и функционализации поверхности магнитных носителей.

γ -АПС широко применяется для модифицирования поверхности органических и неорганических материалов. Его используют при иммобилизации белков и в афинной хроматографии. Эти модификаторы служат для обеспечения адгезии неорганических материалов к полимерным покрытиям. Установлено [38], что закрепление модификатора происходит, в первую очередь, в результате образования водородных связей между гидроксильной группой, которая появляется вследствие гидролиза связи Si–O–C и дальнейшей молекулярной конденсации с образованием на поверхности полимерного слоя Si–O–Si. Исследованы особенности темплатного синтеза мезопористых материалов на основе титанокремниевых эфиров [39-41] и получены мезопористые структуры с толщиной стенок 2-4 нм. Изучено влияние условий модифицирования кремнеземных носителей γ -АПС на содержание в них привитых аминогрупп в разных растворителях: бензоле, толуоле, этаноле, воде и др. Показано, что с ростом pH водного раствора от 2 до 10,4 концентрация аминогрупп на поверхности ($\alpha\text{-NH}_2$) возрастает с уменьшением величины удельной поверхности кремнезема [42].

Модификацию поверхности наночастиц магнетита проводили жидкостно-фазовым способом - γ -аминопропилтриэтоксисиланом (γ -АПС) в толуоле. В результате поверхность магнетита приобретала основной характер за счет прививки γ -аминопропильных групп. Полученные модифицированные образцы исследовались методами дериватографии, рентгеноструктурного анализа и ИК-Фурье-спектроскопии.

После модифицирования магнетита прививкой к поверхности γ -аминопропильных групп по данным рентгенофазового анализа структурных преобразований магнетита не происходило. Содержание аминопропильных групп рассчитывали по потере массы в интервале 180–740°C с учетом присутствия в пробе физически адсорбированной воды. Концентрация аминопропильных групп составляет 24 мкмоль/м².

На рис. 11 приведено ИК-Фурье-спектр магнетита, модифицированного γ -АПС.

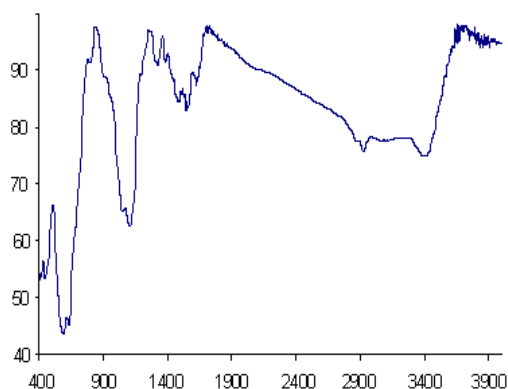


Рис. 11. ИК-Фурье-спектр магнетита, модифицированного γ -АПС

Полосы поглощения в высокочастотной области 3280 и 3370 см^{-1} принадлежат симметричным и антисимметричным валентным колебаниям NH_2 -групп аминпропильного радикала. Полосы поглощения 2861 и 2920 см^{-1} относятся к симметричным и антисимметричным валентным колебаниям CH_2 -групп аминпропильного радикала. ПП при 1625 см^{-1} обусловлена деформационными колебаниями молекул воды, адсорбированной на поверхности магнетита. ПП 1550 см^{-1} характеризует симметричные деформационные колебания протонированных аминогрупп NH_3^+ , появление которых в ИК-спектре обусловлено переносом протона гидроксильных групп поверхности к атомам азота аминпропильного радикала. ПП 1542 см^{-1} принадлежит деформационным колебаниям NH_2 -групп [43, 44]. Интенсивный дублет ПП 1052 и 1108 см^{-1} обусловлен образованием полимерной структуры с достаточно высокой степенью полимеризации, т. е. на поверхности магнетита происходит гидролитическая поликонденсация молекул модификатора с образованием полимерной структуры привитого слоя модификатора. Авторами [45] при исследовании полидиметилсилоксанов $[\text{HO}(\text{CH}_3)_2\cdot\text{SiO}]_n$ было установлено, что при изменении n від 4 до 7 в ИК-спектре регистрируется одна полоса поглощения $\text{Si}-\text{O}$, $\Delta\nu$ при этом составляет 20-30 см^{-1} , для высших полидиметилсилоксанов регистрируются две полосы поглощения равной интенсивности с постоянным значением $\Delta\nu$, составляющим 70 см^{-1} .

Расщепление полосы свидетельствует о необходимости учета межмолекулярных взаимодействий и конформационных превращений в полимерных цепях, хотя роль первых не следует преувеличивать. В процессе формирования полимерного слоя на поверхности магнитных частиц на границе раздела магнетит-полимерный слой есть все предпосылки для возникновения комплексов $\text{Fe}-\text{N}$ между атомами железа, покрывающими поверхность магнитных частиц, и азотом аминпропильного радикала. В ИК-спектре связь $\text{Fe}-\text{N}$ проявляется в виде полосы достаточно низкой интенсивности при 1150-1280 см^{-1} .

Таким образом, с применением комплекса физико-химических методов показано, что на поверхности магнетита формируется полимерное покрытие $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$ с достаточно высокой степенью полимеризации, которое может быть в дальнейшем функционализировано таким образом, чтобы придать магнитным носителям определенные химические или биохимические свойства, или использовано для изготовления магнитоуправляемых адсорбентов.

Результаты исследований образцов высокодисперсного магнетита, модифицированного γ -аминопропилтриэтоксисиланом, методами рентгенофотоэлектронной спектроскопии представлены на рис. 12, *а, б, в, г*.

Спектр $\text{Si}2p$ (рис. 12, *а*) содержит пики, принадлежащие фотоэлектронам групп покрытия модификатора. Компоненты с $E_{\text{св}} = 101$ эВ отвечают группам, которые включают $\text{Si}-\text{C}$ связи, а $E_{\text{св}} = 102,5$ эВ – группам со связью $\text{Si}-\text{OH}$. В спектре $\text{N}1s$ присутствуют два компонента (рис. 12, *б*). Пик с энергией связи 399,2 эВ указывает на наличие на поверхности образца NH_2 -групп, 400 эВ – радикалов NH_3^+ . Спектр $\text{O}1s$ (рис. 12, *в*) свидетельствует о наличии на поверхности исследуемых высокодисперсных частиц разных форм кислорода: 528-530 эВ - атомов кислорода в оксидной матрице, 532 эВ - в составе OH -групп, 534 эВ - физически связанной воды.

Пик при 710,10 эВ (рис. 12, *г*) свидетельствует, что основной фазой поверхности образца есть магнетит, т.е. на поверхности не выявлены химические связи, отвечающие другим оксидным фазам железа.

На основании анализа полученных результатов предложена модель поверхности частиц высокодисперсного магнетита, модифицированных γ -АПС (рис. 13). Согласно приведенной модели, на поверхности частиц Fe_3O_4 образуется монослой силоксановых связей, в которых атомы кремния, с одной стороны, через кислородные мостики химически связаны с атомами железа, а с другой – удерживают аминпропильные группы. Кон-

центрация аминопропильных групп составляет 2,2 ммоль/г или 24 мкмоль/г при $S_{уд} = 90$ г²/г, что отвечает концентрации гидроксильных групп на поверхности исходного магнетита.

Синтезированные четыре типа образцов исследовались методами ИК-Фурье спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС). Тот факт, что происходит синтез именно диоксида титана, был подтвержден спектроскопическими и рентгенографическими исследованиями продуктов молекулярного наслаивания.

ИК-Фурье-спектры нанесенных слоев представлены на рис. 14. С ростом числа нанесенных слоев увеличивается поглощение в области 700-800 см⁻¹. Валентные колебания Ti-O-Ti охватывают диапазон частот 720-820 см⁻¹ [33, 46-52]. На рис. 14 также приведен ИК-спектр анатаза с максимумом поглощения 780 см⁻¹. ИК-Фурье спектры нанесенных слоев и анатаза приобретают все большее сходство по мере увеличения числа циклов наслаивания.

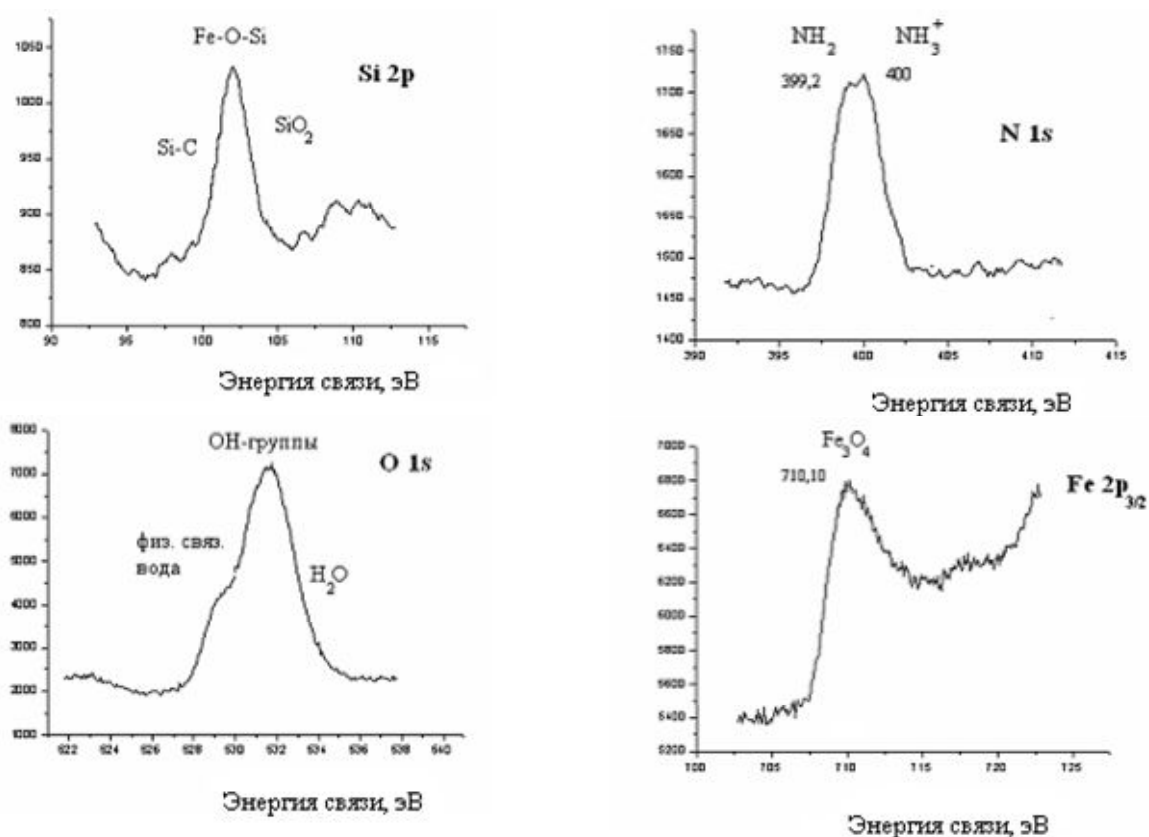


Рис. 12. РФЭС-спектры высокодисперсного магнетита, модифицированного γ -аминопропилтриэтоксисиланом.

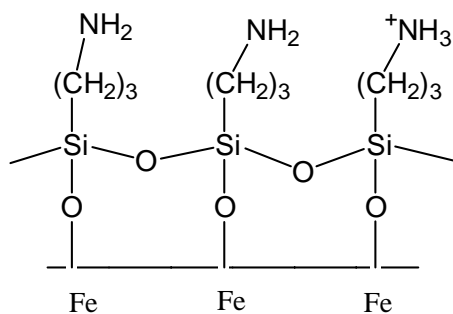


Рис. 13. Модель поверхности высокодисперсного магнетита, модифицированного γ -аминопропилтриэтоксисиланом

Из полученных данных можно сделать вывод о том, что в результате четырехкратной попеременной обработки магнетита четыреххлористым титаном и гидролиза на поверхности магнетита образуется слой диоксида титана, химически связанного с этой поверхностью связями Fe-O-Ti.

На рис. 15 изображены дифрактограммы образцов магнетита, модифицированного анатазом с его послойным покрытием. Для сравнения приведены также дифрактограммы чистого магнетита и анатаза. Из рис. 15 видно, что с увеличением числа слоев нанесенного модификатора содержание магнетита в образцах уменьшается. Кристаллическая фаза анатаза появляется при нанесении его четвертого слоя. При этом дифракционные пики магнетита едва наблюдаются.

После отжига образцов при температуре 460°C кристаллизация анатаза начинается уже при нанесении одного слоя покрытия (рис. 16). На дифрактограммах образцов с 2-4 слоями модификатора присутствуют пики магнетита и анатаза, интенсивность которых последовательно изменяется в зависимости от соотношения количества фаз магнетит-анатаз.

Обращает внимание то, что только на рентгенограмме образца с 4 слоями диоксида титана зафиксированы линии, характерные для анатаза (рис. 15). Однако чувствительность рентгеновского метода достаточна, чтобы установить наличие диоксида титана уже в первом слое, что было подтверждено появлением линий анатаза на рентгенограмме образцов после их отжига при температуре 460°C (рис. 16).

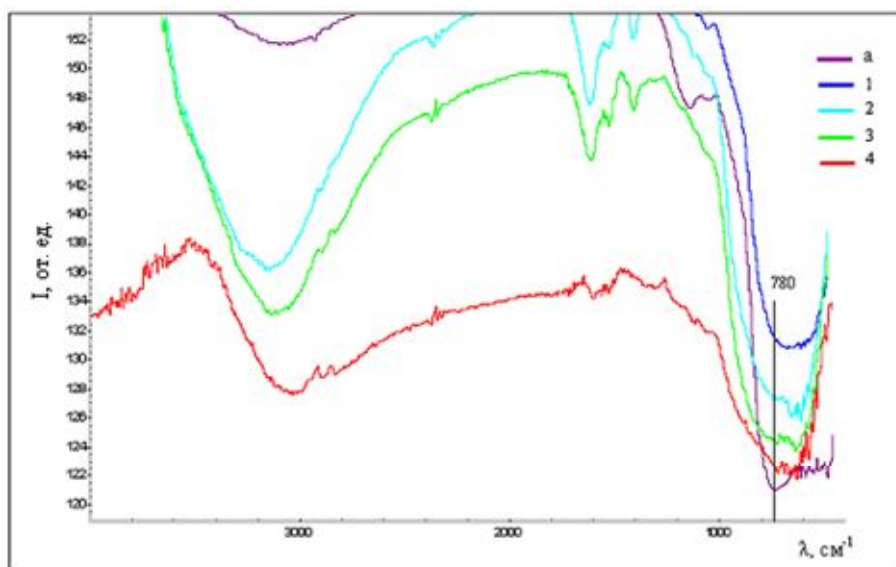


Рис. 14. ИК-Фурье спектры: магнетита, модифицированного анатазом с покрытием в 1 слой (1), 2 слоя (2), 3 слоя (3), 4 слоя (4) и чистого анатаза (a).

Формирование кристаллической фазы анатаза только в 4-ом слое и аморфных состояний в 1-3 пластах указывает на то, что при постепенном наращивании диоксида титана на поверхности магнетита структура, свойственная анатазу, образуется, вероятно, лишь тогда, когда на поверхности магнетита появляется 4 атома титана, что достаточно для создания элементарной ячейки TiO₂. Для этого нужно 4 цикла молекулярного наслоения, вследствие чего на поверхности образуется именно 4 титаноокислородных монослоя, создающих в масштабе постоянной решетки TiO₂ соответствующую координацию 4-х атомов титана. Как описано в литературе [53, 54], аналогичное явление наблюдали и при молекулярном наложении на поверхность кремнезема диоксида титана и диоксида германия.

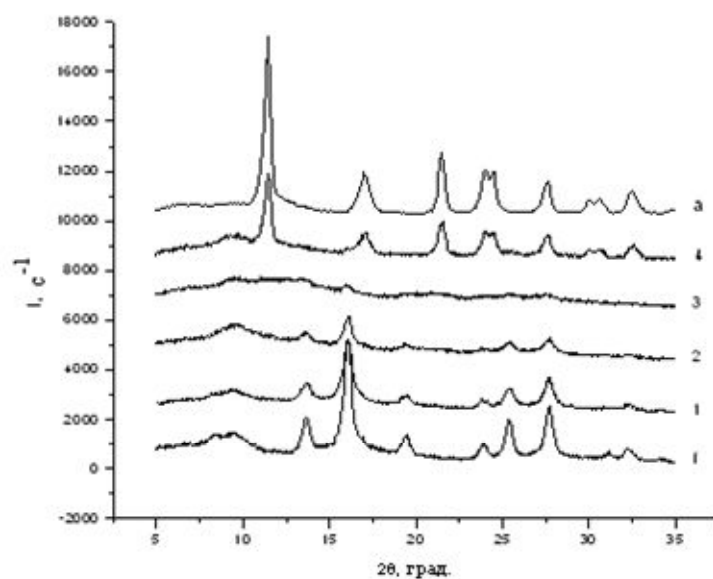


Рис. 15. Дифрактограммы ($\text{Mo K}\alpha$) образцов магнетита (*м*), магнетита, модифицированного анатазом с покрытием в 1 слой (1), 2 слоя (2), 3 слоя (3), 4 слоя (4) и чистого анатаза (*а*).

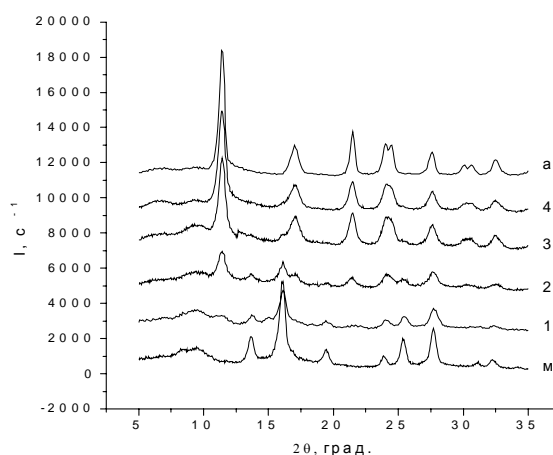


Рис. 16. Дифрактограммы ($\text{Mo K}\alpha$) образцов магнетита (*м*), магнетита, модифицированного анатазом и отожженного при 460 °С с покрытием в 1 слой (1), 2 слоя (2), 3 слоя (3), 4 слоя (4) и чистого анатаза (*а*).

Электронное строение поверхности полученных образцов исследовали методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии на спектрометре ЕС-2402 с анализатором „PHOIBOS-100” SPECS и магниевым анодом ($E_{\text{Mg}\alpha} = 1253,6$ эВ). Спектры внутренних Ti2p-, Fe2p_{3/2}- и O1s-уровней образцов высокодисперсного магнетита, модифицированного анатазом с послойным его покрытием, приведены на рис. 17-19.

На рис. 17 представлены Ti2p-спектры четырех образцов высокодисперсного магнетита с покрытием в 1 (1), 2 (2), 3 (3) и 4 пласта TiO₂ (4). Максимум наиболее узкой Ti2p- линии образца 4 (рис.17) имеет энергию связи $E_{\text{св}} = 458,8$ эВ, что отвечает Ti⁴⁺-состояниям фазы TiO₂ [55, 58]. В образцах 1 и 3, наряду с Ti⁴⁺-состояниями фазы TiO₂, зафиксирован вклад фазы TiCl₃ [48, 51], что приводит к увеличению ширины Ti2p-линий и сдвига их максимумов в область $E_{\text{св}} = 459,3$ эВ. Сдвиг максимума Ti2p-линии образца 2 в область меньших энергий с $E_{\text{св}} = 458,1$ эВ и увеличение ее ширины можно связать с

появлением вклада от Ti^{3+} -состояний. Следует обратить внимание, что среди ИК-спектров исследуемых образцов спектр образца 2 также наиболее отличается от других. Рост числа Ti^{3+} -состояний в парном слое может быть связано с формированием низкокоординированных по кислороду позиций титана.

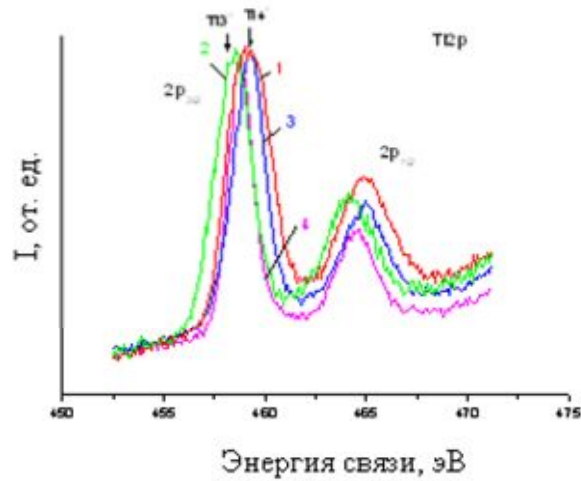


Рис. 17. $Ti2p$ -спектры образцов высокодисперсного магнетита с покрытием в 1 слой (1), 2 слоя (2), 3 слоя (3) и 4 слоя TiO_2 (4)

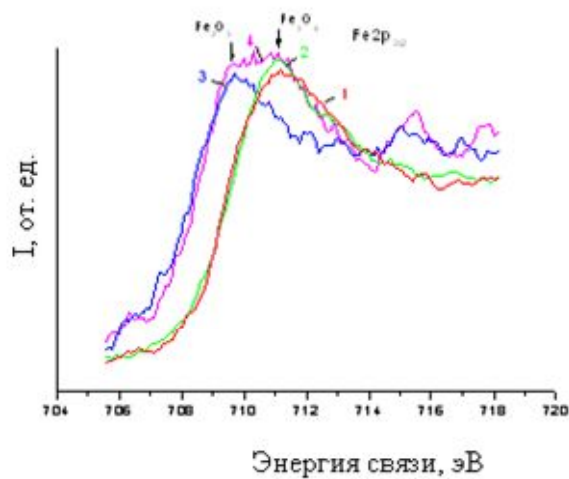


Рис. 18. $Fe2p_{3/2}$ -спектры образцов высокодисперсного магнетита с покрытием в 1 слой (1), 2 слоя (2), 3 слоя (3) и 4 слоя TiO_2 (4).

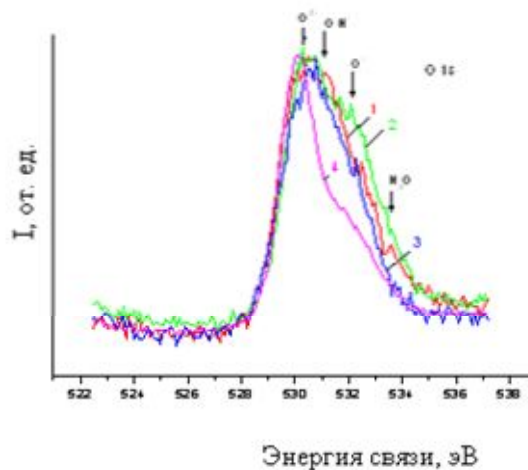


Рис. 19. O1s-спектры образцов высокодисперсного магнетита с покрытием в 1 слой (1), 2 слоя (2), 3 слоя (3) и 4 слоя TiO₂ (4).

На рис. 18 представлены Fe2p_{3/2}-спектры четырех образцов магнетита с постадийным наслоением TiO₂. Поверхность модифицированных наночастиц магнетита в образцах 1 и 2 отвечает фазе Fe₃O₄ (E_{св} Fe2p_{3/2} = 711,2 эВ) [58], что коррелирует с результатами рентгеноструктурного анализа для объема для этих образцов (рис. 15, кр. 1 и 2). Максимум Fe2p_{3/2}-линии образца 3 расположен в области E_{св} = 709,8 эВ, а сама линия по сравнению с другими наиболее узкая. Все это указывает на то, что поверхность интерфейсного слоя наночастиц магнетита образца 3 состоит из одной фазы, которой могут быть FeO (E_{св} Fe2p_{3/2} = 709,9 эВ) или FeCl₃ (E_{св} Fe2p_{3/2} = 710 эВ) [57]. По результатам рентгеноструктурного анализа, дифрактограмма образца 3 также наиболее отличается от других (рис. 15, кр. 3). Fe2p_{3/2}-Линия образца 4 наиболее широкая, с максимумами в области E_{св} = 711,2 эВ и 709,8 эВ (рис. 15, кр. 4), что указывает на присутствие на поверхности интерфейсного слоя наночастиц фаз Fe₃O₄ и Fe/FeCl₃.

Согласно O1s-спектрам исследуемых образцов (рис. 19), в области энергий E_{св} = 530,1...530,7 эВ расположены O²⁻-состояния, отвечающие ионам кислорода оксидных матриц [56-58]. В области энергий E_{св} = 531,1 эВ наблюдается сигнал от ионов кислорода OH-групп, в области E_{св} = 532,1 эВ - от ионов кислорода O⁻, а в области E_{св} = 533,3 эВ - от молекул H₂O [56-58]. Из рис. 19 видно, что наименьшее количество OH-групп и молекул H₂O на поверхности имеет образец с 4 слоями оксида титана. Это может быть обусловлено, как указывалось выше, окончанием формирования TiO₂-решетки и, соответственно, отсутствием на поверхности нескомпенсированных связей. Наибольшее количество функциональных групп наблюдается на поверхности образцов с 1, 2 и 3 слоями TiO₂, а в образце с 2 слоями сигнал в области E_{св} = 532,1 эВ (O⁻-состояния) максимален. Это коррелирует с появлением Ti³⁺-состояний в образце 2 и может быть вызвано разрывом связи Te⁴⁺-O²⁻ → Te³⁺-O⁻ с образованием на поверхности каталитически-активных центров Ti³⁺ и O⁻.

Выводы

Разработана методика получения магнитоуправляемого носителя лекарственных препаратов на основе ультрадисперсного магнетита с биосовместимым полиакриламидным покрытием. Получены опытные образцы (модели) магнитоуправляемого лекарственного препарата цитостатического (на основе ультрадисперсных порошков магнетита с полиакриламидным слоем и платидиама) и гипертермического действия.

Изучена кинетика адсорбции магнетит-ПАА частицами препарата цитостатического действия платидиама и динамику его выхода из поверхностного слоя магнитоуправляемого нанокомпозита в модельную среду. Исследовано цитотоксичное действие платидиама, адсорбированного на магниточувствительный носитель, на клетки линии рака молочной железы человека MCF 7.

Проведена модификация поверхности наночастиц магнетита жидкофазным способом γ -аминопропилтриэтоксисиланом в толуоле. Предложена модель строения поверхности частиц магнетита, модифицированных γ -АПС.

Разработаны магнито-чувствительные нанокомпозиты на основе магнетита и диоксида титана, получаемые методом жидкофазного молекулярного наслаивания. Показано, что кристаллическая фаза анатаза появляется при нанесении четвертого монослоя оксида титана на поверхность наночастиц Fe₃O₄. Применение термического отжига образцов при 460°C приводит к кристаллизации анатаза уже при нанесении первого слоя покрытия и улучшению его прочностных свойств. Наилучшие характеристики оказались у образца 2 (второй слой) после отжига при 460°C.

Литература

1. Roco M.C., Williams R.S., Alivisatos P. Nanotechnology research directions. Vision for Nanotechnology R&D in the Next Decade. - Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002. – V. 156. - 171 p.
2. Аляутдин Р.Н., Кройтер Й., Харкевич Д.А. Доставка лекарственных препаратов в мозг с помощью наночастиц // Эксперим. и клинич. фармакология. - 2003. - Т. 66, № 2. - С.65-68.
3. Березов Т.Т., Яглова Н.В., Дмитриева Т.Б., Жирков Ю.А., Чехонин В.П. Направленный транспорт лекарственных средств с помощью липосом // Вест. Рос. Акад. мед. наук. - 2004. - № 3. - С.42-46.
4. Биочипы в биологии и медицине XXI века // Вест. Рос. Акад. мед. наук. - 2003. - Т. 73, № 5. - С.412-421.
5. Губин С.П., Кокшаров Ю.А., Хомутов Г.Б., Юрков Г.Ю. Магнитные наночастицы: методы получения, строение и свойства // Усп. химии. - 2005. - Т. 74, №. 4. - С.539-574.
6. Беликов В.Г., Курегян А.Г. Получение и медико-биологическое использование магнитных полей и носителей // Химико-фармацевтич. журнал. - 2001. - Т. 35, № 2. - С.27-34.
7. Патент РФ № 2125453, Бюл. Изобрет., №3 (1999).
8. И.П. Гонтарь, Б.В. Заводский, И.А. Зборовская // Клинич. фармакология и терапия. - 1995. - Т. 4, № 2. - С.24-26.
9. Семко Л.С., Бугорок П.П., Сторожук Л.П., Дубровин И.В., Чуйко А.А., Рев С.Л. Синтез и свойства нанокompозитов на основе магнетита и полимеров // Тез. докл. Межд. конф. “Современное материаловедение: достижения и проблемы.” - MMS-2005 (Киев, сентябрь 2005). – Т. II. - С.693-694.
10. Петрановская А.Л., Федоренко О.М., Горбик П.П., Чуйко О.О., Чехун В.Ф., Дубровин И.В., Семко Л.С., Сторожук Л.П., Абрамов М.В., Рев С.Л. Разработка и свойства магниточувствительных нанокompозитов для направленного транспорта лечебных средств // Межд. конф. NANSYS-2004 (Киев, октябрь 12-14, 2004): Тез. докл. - Киев: Академперіодика, 2004. - С.15.
11. Semko L.S., Gorbik P.P., Storozhuk L.P., Dubrovin I.V., Chuiko A.A. Magnet controllable magnetite-dextran nanoparticles // Abstr. Int. Conf. "Functional Materials". - ICFM - 2005 (Ukraine, Crimea, Partenit, 2005). - P.273 (DR-9/4).
12. Semko L.S., Gorbik P.P., Storozhuk L.P., Dubrovin I.V. *et al.* // Nanocomposites based on the magnetite modified by silica // NATO advanced research workshop "Pure and applied surface chemistry and nanomaterials for human life and environmental protection". – Int. Conf. "Nanomaterials in chemistry, biology and medicine" (September 14-17, 2005, Kyiv, Ukraine): Book of abstr. - P.120.
13. Levy L., Sahoo Y., Kyoung-Soo Kim, Earl Bergey J. Nanochemistry: Synthesis and characterization of multifunctional nanoclinics for biological applications // Chem. Mater. - 2002. - V. 14. - P.3715-3721.
14. Оборотова Н.А. Направленная доставка противоопухолевых препаратов // Антибиотики и химиотерапия. - 1991.- Т. 36, № 10. - С.47-50.
15. Hafely U., Schut W., Tellery. N. Zbororsky. Scientific and clinical application of magnetic carriers. Plenum Press, N.Y.L., 1997. - 628 p.
16. Рымарчук В.И., Радкевич Л.А, Сарбаш В.И. Физические основы применения ферромагнетиков, введенных в организм // Биофизика. - 1990. - Т. 35, № 1. - С.145-154.

17. Свиридов В.В. Химическое осаждение металлов из водных растворов. - Минск, 1987. – 270 с.
18. Свиридов В.В. Неорганический синтез. - Минск, 1996. - 165 с.
19. Mikhailik O.M., Povstugar V.I., Mikhailova S.S. *et al.* Surface Structure of finely dispersed iron powders. 1. Formation of stabilizing coating // *Colloids and Surfaces.* - 1991. – V. 52 - P.315-324.
20. Ясуда Х. Полимеризация в плазме. - М.: Мир, 1988. – 376 с.
21. Сальянов Ф.А. Основы физики низкотемпературной плазмы, плазменных аппаратов и технологий. - М.: Наука, 1997 – 345 с.
22. Торопцева А.М., Белгородская К.В., Бондаренко В.М. Лабораторный практикум по химии и технологии высокомолекулярных соединений. - Л.: Химия, 1972. – 415 с.
23. Дзюба Н.П. Метод титрования в неводных растворителях в анализе лекарственных средств // *Химико-фармацевтическая промышленность.* - 1987. - Вып. 2. - С.1-17.
24. Mosmann T. Rapid colorimetry assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays // *J. Immunol. Methods.* - 1983. – V. 65. - P.55-63.
25. Химия поверхности кремнезема / Под ред. А.А. Чуйко. - В 2-х т. - Киев: УКРИНТЭИ, 2001. - 1236 с.
26. Кричфилд Ф. Анализ основных функциональных групп в органических соединениях. – М.: Мир, 1965. - 208 с.
27. Оранская Э.И., Горников Ю.И., Фесенко Т.В. Автоматизированная методика определения средних размеров кристаллитов поликристаллических твердых тел // *Заводская лаборатория.* - 1994. - Т. 60, № 1. - С.28.
28. Петрановская А.Л., Федоренко О.М., Горбик П.П. и др. Разработка и свойства магниточувствительных наноконструктив для направленного транспорта лечебных средств // *Металлофизика и новейшие технологии.* - 2004.
29. Алесковский В.Б. Химия твердых веществ. - М.: Высшая школа, 1978.
30. Химия привитых соединений / Под. ред. Г.В. Лисичкина М.: Физматлит, 2003.
31. Гинье А. Рентгенография кристаллов. - М.: Изд-во физ.-мат. литературы, 1961.
32. Таругина Л.И., Позднякова Ф.О. Спектральный анализ полимеров и вспомогательных веществ. - Л.: Химия, 1986. – 261 с.
33. Дехант И., Данц Р., Киммер В., Шмольке Р. Инфракрасная спектроскопия высокополимеров. - М.: Химия, 1976. – 471 с.
34. Крылов О.В., Киселев В.Ф. Адсорбция и катализ на переходных металлах и их оксидах. - М.: Химия, 1981. - 288 с.
35. Semko L.S., Ogenko V.M., Revo S.L., Mishenko V.N. and al. Elektric and magnetic properties of composite materials in the polyethulene-nanocrystalline nikel system // *Fuctional Materials.* - 2002. - V. 9, N 3. - P. 513-518.
36. Крис Э.Э., Волченкова И.И., Григорьева А.С., Яцимирский К.Б., Бударин Л.И. Координационные соединения металлов в медицине. - К.: Наук. думка, 1986.
37. Парфит Г., Рочестер К. Адсорбция из растворов на поверхности твердых тел. - М.: Мир, 1986. – 488 с.
38. Менгалве Р.А., Озола В.А., Рубенс М.Х., Аренс А.К. Ферменты и иммобилизованные ферменты. - Рига: Авотс, 1987. - ? 5-17 с.
39. Помогайло А.Д. Гибридные полимер-неорганические наноконструктивы. // *Усп. химии.* - 2000. - Т. 69, № 1. - С.60-89.
40. Коваленко А.С., Гринь С.В., Ильин В.Г. Особенности темплатного синтеза мезопористых материалов на основе титано-кремниевых эфиров. // *Теорет. и эксперим. химия.* - 2004. - Т. 40, № 1. - С.46-51.

41. Mikhailik O.M., Fedorenko O.M., Mikhailova S.S., Povstugar V.I., Shklovskaya N.I., Chuiko A.A. Structure of a γ -aminopropyltriethoxysilane-modified coating // *Colloids and surfaces*. - 1991. - V. 52. - С.331-338.
42. Ворошилов О.И., Киселев А.В., Никитин Ю.С. Синтез и исследование кремнеземных носителей с поверхностью модифицированной γ -аминопропилтриэтоксисилоном // *Коллоид. журнал*. - 1980. - Т. 52, № 2. - С.223-229.
43. К. Накамото. Ик-спектры и спектры неорганических и координационных соединений. – М.: Мир, 1991. – 505 с.
44. Ковалев И.Ф., Шевченко И.В., Воронов М.Г., Козлова Н.В. Колебательные спектры линейных полидиметилсилоксанов // *Докл. АН СССР*. - 1973. - Т. 212, № 1. - С.101-104.
45. Давыдов А. А., Шепотько М. Л. ИК-спектры NH_3 , CO и NO , адсорбированных на $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, и природа центров поверхности оксида // *Журн. прикл. спектроскопии*. - 1992. - Т. 56, № 3. - С.487-490.
46. Гирин В.Н., Дзюблик И.В., Трохименко О.П. и др. Питательная среда для репродукции вирусов в культуре клеток. А.с. 1830943, утв. 22.08.90, «П», заявл. 4736786/13, приор. 31.07.89.
47. Тимченко А.С., Залесский В.Н. Фотосенсибилизация в гематрансфузиологии: фотообезвреживание белковых препаратов, компонентов крови, ограничения и перспективы // *Укр. журн. гематологии и трансфузиологии*. –2003. - № 1. – С.16-22.
48. Тимченко А.С., Сергутина С.Ю., Бондарь В.В., Недылько С.Г. Спектрально-люминесцентные свойства плазмы донорской крови при фотохимической инактивации вирусов // *Укр. журн. гематологии и трансфузиологии*. – 2004. - № 3. - С.31-36.
49. Кольцов С.И., Смирнов В.М., Алесковский В.Б. Изучение влияния носителя на свойства катализатора // *Кинет. и катализ*. – 1970. - Т. 11, вып. 5. – С.1013.
50. Zeitler W.A., Brown Ch.A. // *J. Phys. Chem*. – 1967. – V. 61. – P.1147.
51. Giddings S.A. // *Inorg. Chem*. – 1964. – V. 3. – P.685.
52. Naurocki J., Rigney M. // *J. Chromatogr*. – 1993. - V. 657. – P.229.
53. Вергун Л.Ю., Вишняков И.Ф. Способ и набор для обнаружения вируса лихорадки долины Рифт в биологическом материале. Пат. 2122210 Россия. С1 G 01 N 33/569. RU, С1 G 01 N 33/569/. - № 94020434 : Заявл. 26.05.94; Оpubл. 20.11.98. Бюл. № 32.
54. Vergun L., Sobko Yu., Bilokon V. Qualitative and quantitative value of test samples in diagnosis of classical swine fever // *Europ. Soc. Vet. Virology. 4-th Pestivirus Meeting (Gissen, Germany, March 6-4, 1999)*.
55. Нефедов В.И. Рентгеноэлектронная спектроскопия химических соединений. - М: Химия: 1984.
56. Dupin J.C., Gonbeau D., Vinatier P., Levasseur A. Systematic XPS studies of metal oxides, hydroxides and peroxides // *Phys. Chem. Chem. Phys*. – 2000. – V. 2. – P.1319-1324.
57. Kerber S.J., Bruckner J.J., Wozniak K., Seal S. *et al.* The nature of hydrogen in X-ray photoelectron spectroscopy: General patterns from hydroxides to hydrogen bonding // *J. Vac. Sci. Technol. A*. - 1996, V. 14, N 3. – P.1314-1320.
58. Wagner C.D., Moulder J.F., Davis L.E., Riggs W.H. *Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy*. - Perking-Elmer Corp, New York, 1979. - 234 p.