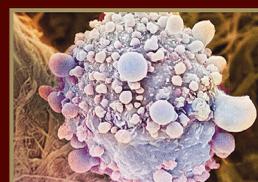
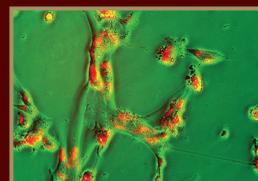


2011 научно-практический рецензируемый журнал

НАНОТЕХНОЛОГИИ И ОХРАНА ЗДОРОВЬЯ

ТОМ III

№ 2 (7)





НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
БИОЦИДОВ И НАНОБИОТЕХНОЛОГИЙ

некоммерческая организация частное учреждение - основано в 2008 г.



Создайте свой продукт

СОТРУДНИЧЕСТВО ОТРАСЛЕВОЙ ПРИКЛАДНОЙ НАУКИ
С ПРОИЗВОДСТВОМ ДАЁТ ВОЗМОЖНОСТЬ СОЗДАНИЯ
ПРОДУКЦИИ ЛЮБОГО НАЗНАЧЕНИЯ, А ЗНАЧИТ
И СПОСОБНОСТЬ КОНКУРИРОВАТЬ НА МИРОВЫХ РЫНКАХ

ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР НИИ БНТ

Центр аккредитован по международным стандартам качества ISO 17025



Администрация:
119517, РФ, г. Москва,
ул. Нежинская, д. 14, корп. 3
телефон/факс:
(495) 739-56-42; 739-56-43; 739-56-44
www.nii-bnt.ru

Отдел приёма и консультаций:
121359, РФ, г. Москва,
ул. Маршала Тимошенко, д. 23, стр. 2
телефон/факс:
(495) 662-40-18
ilc@nii-bnt.ru, center@nii-bnt.ru

Научно-практический рецензируемый журнал
НАНОТЕХНОЛОГИИ И ОХРАНА ЗДОРОВЬЯ

Том III
№ 2 (7) – 2011

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ РЕДАКЦИОННО-ЭКСПЕРТНОГО СОВЕТА:

ПОКРОВСКИЙ Валентин Иванович

Президент Национального союза «Медико-биологическая защита»
Директор ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора РФ, академик РАМН, профессор, докт. мед. наук

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

ИВАНОВА Елена Борисовна

Вице-президент Национального союза «Медико-биологическая защита»
Директор Научно-исследовательского института биоцидов и нанобиотехнологий
Генеральный директор Группы компаний «ВЕЛТ», канд. мед. наук

НАУЧНЫЕ КОНСУЛЬТАНТЫ:

АРЧАКОВ Александр Иванович — Директор ГУ НИИ биомедицинской химии
им. В. Н. Ореховича РАМН, академик РАМН, профессор, докт. биол. наук

ВЕРЕЩАГИН Александр Игоревич — Главный врач ФГУЗ «Федеральный центр гигиены
и эпидемиологии» Роспотребнадзора РФ, канд. мед. наук

ШВЕЦ Виталий Иванович — Заведующий кафедрой биотехнологии Московской
государственной академии тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова,
член-корр. РАМН, профессор, докт. хим. наук

ЯКОВЛЕВА Татьяна Владимировна — Депутат Государственной Думы ФС РФ, первый
заместитель руководителя фракции «Единая Россия», член комитета ГД по охране здоровья,
заслуженный врач РФ, профессор, докт. мед. наук

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ:

ГРЯЗНЕВА Татьяна Николаевна — Заведующая кафедрой микробиологии и биотехнологии
Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии
им. К. И. Скрябина, профессор, докт. биол. наук, канд. вет. наук

КАПЛУН Александр Петрович — Профессор кафедры биотехнологии Московской
государственной академии тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова,
профессор, докт. хим. наук

ПОГОДИН Юрий Иванович — Заведующий кафедрой мобилизационной подготовки
здравоохранения Российской медицинской академии последипломного образования
Минздравсоцразвития РФ, член-корр. РАЕН, профессор, докт. мед. наук,
генерал-лейтенант медицинской службы, заслуженный врач РФ

Заместитель главного редактора: **ВОЛОХОВА Ольга Павловна**

Ответственный редактор: **КОРЖИКОВА Елена Борисовна**

Коммерческий директор: **ВЛАСОВ Виктор Валентинович**

Дизайн и компьютерная верстка: **РЕЗНИЧЕНКО Андрей Сергеевич**

Учредители журнала:

Научно-исследовательский институт биоцидов и нанобиотехнологий,
Издательский Дом «ВЕЛТ»

Издатели журнала: Издательский Дом «ВЕЛТ»,
Национальный союз «Медико-биологическая защита»

СОДЕРЖАНИЕ

Редакционно-экспертный совет журнала	4
Рассылка журнала	6

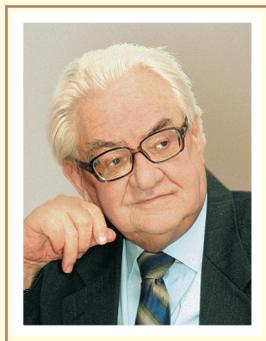
АКТУАЛЬНЫЕ ТЕМЫ

Наноразмерные лекарственные формы: взаимосвязь структура–свойства Каплун А. П., Безруков Д. А., Швец В. И., Кубатиев А. А.	10
Изучение распределения и оценка основных фармакокинетических параметров укороченных окисленных одностенных углеродных нанотрубок (УОУНТ–СООН) при многократном внутрижелудочном введении на модели аутбредных крыс Алдобаев В. Н., Ерёменко Л. А., Мазанова А. А., Бикетова Д. Х., Дядищев Н. Р., Рыбалкин С. П., Квачева Л. Д., Бадун Г. А., Червонобродов С. П., Мурадян В. Е., Масликов А. А.	16

НАУЧНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ

Нанохимические аспекты флокуляции минеральных частиц: смачиваемость минералов и её влияние на энергию гидрофобных взаимодействий в рамках расширенной теории ДЛФО Вигдергауз В. Е., Гольберг Г. Ю.	24
Биодеградация и биосовместимость нанодисперсного кремнезёма как носителя для направленной доставки лекарственных препаратов Наумышева Е. Б., Уменушкина Е. В., Евреинова Н. В., Журавский С. Г., Королёв Д. В., Галагудза М. М.	30
Доставка противоопухолевых гетероциклических антибиотиков в клетки с помощью нуклеотидных наноконструкций Векшин Н. Л.	38
Наносредства серии «ВЕЛТ» и их перспективность для ветеринарии Жирихина М. С., Игуменцев П. А.	50
БИБЛИОТЕКА	55
ВЫСТАВКА	58
К СВЕДЕНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ	60
ВНИМАНИЮ ПОДПИСЧИКОВ	64

*Редакция выражает искреннюю
благодарность авторам,
принявшим участие
в подготовке номера*



**Покровский
Валентин Иванович**

Председатель Совета
Президент Национального союза
«Медико-биологическая защита»
Директор
ЦНИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора РФ



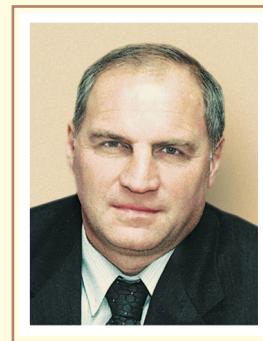
**Арчаков
Александр Иванович**

Директор
НИИ биомедицинской химии
им. В. Н. Ореховича РАН



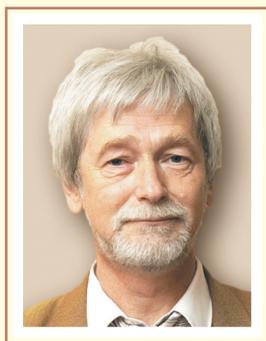
**Верещагин
Александр Игоревич**

Главный врач
Федерального центра
гигиены и эпидемиологии
Роспотребнадзора РФ



**Гончаров
Сергей Фёдорович**

Директор
Всероссийского центра
медицины катастроф «Защита»
Минздравсоцразвития РФ



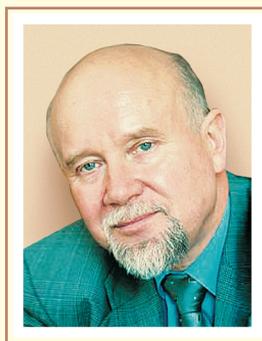
**Каплун
Александр Петрович**

Профессор
кафедры биотехнологии
Московской государственной
академии тонкой химической
технологии им. М. В. Ломоносова



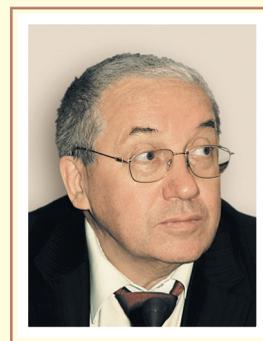
**Ковальчук
Михаил Валентинович**

Председатель комиссии
по образованию и науке
Общественной палаты РФ
Директор
Российского научного центра
«Курчатовский институт»



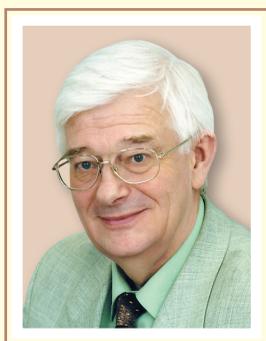
**Колесников
Сергей Иванович**

Депутат ГД ФС РФ
Заместитель председателя
комитета по охране здоровья



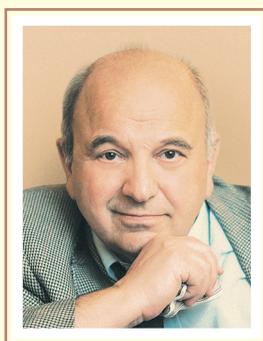
**Кокوشин
Андрей Афанасьевич**

Депутат ГД ФС РФ
Заместитель председателя
фракции «Единая Россия»
Первый заместитель председателя
комитета по науке и наукоёмким
технологиям



**Сергиев
Владимир Петрович**

Директор
Института медицинской
паразитологии и тропической
медицины им. Е. И. Марциновского
НИЦ Первого МГМУ
им. И. М. Сеченова



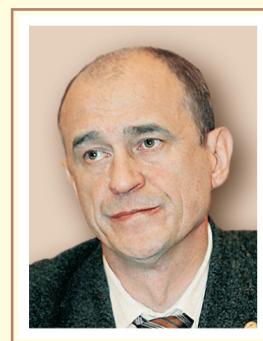
**Тутельян
Виктор Александрович**

Директор
НИИ питания РАН



**Ушаков
Игорь Борисович**

Директор
Института медико-
биологических проблем РАН



**Филатов
Николай Николаевич**

Руководитель Управления Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
по г. Москве
Главный государственный
санитарный врач г. Москвы



**Грязнева
Татьяна Николаевна**

Зав. кафедрой
микробиологии и биотехнологии
Московской государственной
академии ветеринарной медицины
и биотехнологии им. К. И. Скрябина



**Дятлов
Иван Алексеевич**

Директор
Государственного научного
центра прикладной микробиологии
и биотехнологии
Роспотребнадзора РФ



**Зверев
Виталий Васильевич**

Директор
Научно-исследовательского
института вакцин и сывороток
им. И. И. Мечникова РАМН



**Иванова
Елена Борисовна**

Вице-президент
Национального союза
«Медико-биологическая защита»
Директор НИИ биоцидов
и нанобиотехнологий



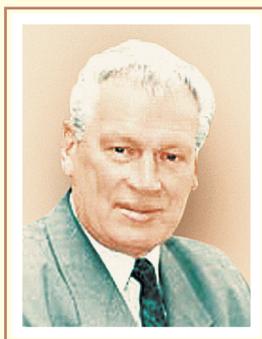
**Краевой
Сергей Александрович**

Начальник
Департамента здравоохранения
ОАО «Российские
железные дороги»



**Погодин
Юрий Иванович**

Заведующий кафедрой
мобилизационной подготовки
здравоохранения Российской
академии
последипломного образования
Минздравсоцразвития РФ



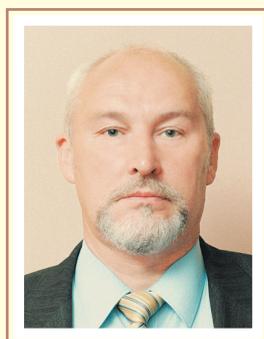
**Рахманин
Юрий Анатольевич**

Директор
НИИ экологии человека
и гигиены окружающей среды
им. А. Н. Сысина
Минздравсоцразвития РФ



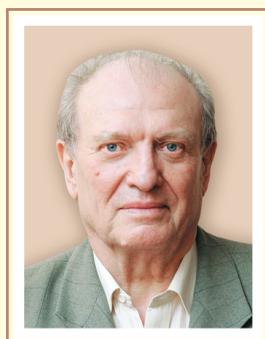
**Рац
Александр Алексеевич**

Член Совета директоров
ОАО «Особая экономическая зона
технико-внедренческого
типа «Дубна»



**Чанков
Сергей Васильевич**

Главный государственный
санитарный врач
Центра государственного
санитарно-эпидемиологического
надзора Управления делами
Президента РФ



**Швец
Виталий Иванович**

Заведующий
кафедрой биотехнологии
Московской государственной
академии тонкой химической
технологии им. М. В. Ломоносова



**Яковлева
Татьяна Владимировна**

Депутат ГД ФС РФ,
Первый заместитель руководителя
фракции «Единая Россия»,
член комитета ГД
по охране здоровья

Администрация Президента РФ

**Главное управление
специальных программ
Президента РФ**

**Полномочные представители
Президента РФ
в федеральных округах**

**Совет Федерации
Федерального Собрания РФ**

**Государственная Дума
Федерального Собрания РФ**

Правительство РФ

Совет безопасности РФ

Министерство внутренних дел РФ

**Министерство РФ
по делам гражданской обороны,
чрезвычайным ситуациям
и ликвидации последствий
стихийных бедствий (МЧС)**

Министерство обороны РФ

Министерство юстиции РФ

**Министерство здравоохранения
и социального развития РФ**

**Министерство образования
и науки РФ**

**Министерство промышленности
и торговли РФ**

Министерство сельского хозяйства РФ

**Министерство природных ресурсов
и экологии РФ**

Министерство транспорта РФ

**Федеральная служба РФ
по военно-техническому
сотрудничеству**

**Федеральная служба РФ по надзору
в сфере здравоохранения
и социального развития**

**Федеральная служба РФ по надзору
в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека**

**Федеральная служба РФ
по оборонному заказу**

**Федеральная служба
исполнения наказаний РФ**

Федеральная служба безопасности РФ

**Федеральная служба РФ
по ветеринарному
и фитосанитарному надзору**

**Федеральная служба РФ по надзору
в сфере транспорта**

**Федеральная служба РФ по надзору
в сфере природопользования**

**Федеральное агентство
по государственным резервам РФ**

**Государственная корпорация
по атомной энергии РФ**

**Федеральное агентство
лесного хозяйства РФ**

**Федеральное агентство
водных ресурсов РФ**

**Федеральное агентство
морского и речного транспорта РФ**

**Федеральное агентство
воздушного транспорта РФ**

**Министерство спорта, туризма
и молодёжной политики РФ**

**Федеральное космическое
агентство РФ**

**Федеральное медико-биологическое
агентство РФ**

**Федеральное агентство
железнодорожного транспорта РФ**

**Федеральное агентство РФ
по науке и инновациям**

**Федеральное агентство РФ
по печати и массовым
коммуникациям**

Общественная палата РФ

**Торгово-промышленная
палата РФ**

Главы субъектов РФ

Правительство г. Москвы

**Правительство
г. Санкт-Петербурга**

**Министерства здравоохранения
и социального развития
субъектов РФ (департаменты,
управления, комитеты)**

**Территориальные управления
Роспотребнадзора РФ**

**Федеральные государственные
учреждения здравоохранения
«Федеральный центр гигиены
и эпидемиологии»
субъектов РФ**

**Департаменты (управления)
ветеринарии субъектов РФ**

ОАО «ГАЗПРОМ»

ОАО «Российские железные дороги»

Российская академия наук

**Российская академия
медицинских наук**

**Российская академия
естественных наук**

**Научно-исследовательские
учреждения**

**Государственная корпорация
нанотехнологий (РОСНАНО)**

**Всероссийский центр
медицины катастроф «Защита»**

**Предприятия медицинской
промышленности и профильные
бизнес-структуры**

**Общероссийские
общественные и некоммерческие
организации**

**Ведущие учёные,
государственные
и общественные деятели**

**Центральная
медицинская библиотека
Первого МГМУ им. И. М. Сеченова**

**Российская
государственная библиотека**

Парламентская библиотека РФ

**Государственная публичная
научно-техническая библиотека
(ГПНТБ)**

Российская книжная палата



Высшей аттестационной комиссией (ВАК)
Министерства образования и науки России
научно-практическому журналу

«Нанотехнологии и охрана здоровья» присвоен статус
«Рецензируемого научного журнала».

Решение о его включении в Перечень ведущих
рецензируемых научных журналов страны было принято
в ходе заседания ВАК (редакция от 17.06.2011).

В соответствии с Положением о порядке присуждения
учёных степеней, утверждённым Постановлением
Правительства Российской Федерации от 30.01.2002 № 74,
Положением о Высшей аттестационной комиссии
(Приказ Минобрнауки России от 03.07.2006 № 177),
в изданиях, входящих в Перечень ведущих рецензируемых
научных журналов и изданий, сформированный Высшей
аттестационной комиссией Министерства образования
и науки Российской Федерации, должны быть опубликованы
основные научные результаты диссертаций на соискание
учёной степени доктора и кандидата наук.

Актуальные темы

Наноразмерные лекарственные формы: взаимосвязь структура–свойства

Каплун А. П.¹, Безруков Д. А.¹, Швец В. И.¹, Кубатиев А. А.²

¹Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

²НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН

Средства доставки лекарственных субстанций в виде наночастиц — особая лекарственная форма, которая позволяет существенным образом изменить фармакокинетику субстанции. Наиболее широко известный эффект наночастиц — пассивное нацеливание в области с увеличенными порами в капиллярах (раковые опухоли и другие сайты воспаления). Местное использование препаратов на основе наночастиц позволяет значительно снизить побочные эффекты за счёт слабого проникновения в системный кровоток. Весьма актуальными становятся методы выявления наиболее удобного типа препаратов для конкретной субстанции, конкретного способа введения. В обзоре обсуждается один из способов решения данной проблемы.

Ключевые слова: *наночастицы, лекарственная форма, средства доставки лекарств, пассивное и активное нацеливание.*

The delivery systems of drug substance is the special dosage form, which permits to change substance pharmacokinetics essentially. The most prominent effect of nanoparticles is passive targeting to the areas with increased pores in capillary tubes (carcinoma and other inflammation sites). Local use of nanoparticle based drugs permits to decrease significantly side effects by means of weak penetration in system bloodflow. The methods of revealing of the most convenient type of dosage form for concrete substance, concrete mode of administration become rather actual. The article also deals with one of ways of the decision of given problem.

Keywords: *nanoparticles, dosage form, drug delivery systems, passive and active targeting.*

Главная проблема современной медицины — низкая селективность лекарственных средств. Обычно только 1 % введённой дозы попадает в клетки-мишени, остальное распределяется по организму, вызывая побочное действие. Заключение лекарственной субстанции в наночастицы может существенно увеличить селективность. Нанопрепараты имеют и другие полезные свойства.

Размер наночастиц определяет распределение в организме

Известны следующие ограничения по размерам в медицине. Через почки выходят молекулы и частицы менее 40 кДа (~5–10 нм) [1]. Молекулы (частицы) более 5 нм долго циркулируют в крови, потому что не фильтруются через почки. При нормальных условиях наночастицы улавливают-

ся механической фильтрацией синусоидами селезёнки с последующим их удалением из кровообращения клетками ретикулоэндотелиальной системы (РЭС). Но ключевую роль в удалении наночастиц играют купферовские клетки печени, также являющиеся частью РЭС [2]. Наночастицы с размером до 15 мкм аккумулируются в печени, селезёнке и костном мозге [3].

В норме поры в капиллярах имеют размер менее 40 нм, а в опухолях – до 200–600 нм [4]. Межфибрилярные расстояния в экстрацеллюлярном матриксе опухоли — менее 40 нм [5]. Фенестрация в селезёнке не превышает 200–500 нм [6]. Таким образом, частицы размером более ~200 нм должны иметь некоторую степень способности к деформации, чтобы остаться в кровообращении.

Частицы более 40 нм ещё дольше циркулируют в крови, проявляют меньшую токсичность, потому что не выходят из капилляров. Частицы 40–600 нм выходят из капилляров только в зонах воспаления (например, в раковые опухоли).

Пассивное нацеливание — главная причина эффективности наночастиц при лечении злокачественных опухолей

Основное свойство наночастиц — пассивное нацеливание — основано на том, что поры в капиллярах опухоли больше, чем в здоровых тканях. Поэтому наночастицы размером меньшим, чем поры в опухоли, но большим, чем в нормальных тканях, накапливаются в опухоли. Этот эффект приводит к увеличению концентрации лекарственной субстанции в опухоли в 10–15 раз по сравнению с традиционными лекарственными формами.

Первым одобренным нанопрепаратом, очевидно, следует считать *Sandimmune (Novartis)* — циклоспорин, солюбилизированный в мицеллы полиоксиэтилированным касторовым маслом (*Cremophor EL*) [7]. Следующими стали липосомы, загруженные антрациклиновыми антибиотиками (*Daunoxome, Doxil*). В 2005 г. был одобрен первый препарат на основе конъюгата противоопухолевой субстанции (паклитаксела) и наночастиц из человеческого альбумина – *Abraxane; Abraxis/AstraZeneca* [8].

Круг типов используемых наночастиц увеличивается. Недавняя работа лаборатории Francis C. Szoka описывает синтез дендримера в виде бабочки [9]. Одно «крыло» модифицировано цепями ПЭГ для увеличения времени циркуляции, к активным группам второго «крыла» присоединены молекулы доксорубина через pH-чувствительные гидразонные связи. В ре-

Главная проблема современной медицины — низкая селективность лекарственных средств. Обычно только 1 % введённой дозы попадает в клетки-мишени, остальное распределяется по организму, вызывая побочное действие. Заключение лекарственной субстанции в наночастицы может существенно увеличить селективность. Нанопрепараты имеют и другие полезные свойства.

зультате в культуре этот дендример показывал токсичность к раковым клеткам более чем в десять раз большую, чем раствор. На мышах с привитой саркомой C-26 единственная доза дисперсии описанного дендримера на восьмой день после прививки приводила к полной ремиссии опухоли; выживаемость на 60-й день была стопроцентной.

Конструирование вакцин

Свойство нано- и микрочастиц захватываться клетками РЭС используется для конструирования двух типов медицинских препаратов: для лечения внутриклеточных инфекций (в первую очередь противотуберкулёзных) и иммунных адъювантов.

Как уже упоминалось выше, захват загруженных антигенами наночастиц макрофагами, которые являются антиген-представляющими клетками, должен приводить к значительному увеличению иммунного ответа. Так, было показано, что адсорбция белков вируса гриппа N5H1 на сферических аморфных наночастицах из три-терпеноидов бересты приводит к увеличению титра антител в два раза [10] по сравнению со стандартным адъювантом (гидроксид алюминия). В данном случае минимальный размер не оптимален. Это связано с «предпочтением» макрофагов к эндоцитозу.

Форма наночастиц во многом определяет эффективность взаимодействия с клетками

Только в последнее время начали появляться данные, позволяющие оценить влияние формы частиц на эффективность взаимодействия с клетками организма, в частности эндоцитоза [11]. От формы частиц также зависят скорость движения в сосудах и адгезия в них [12].

Наиболее впечатляющие результаты были получены при исследовании очень длинных гибких

Основное свойство наночастиц — пассивное нацеливание — основано на том, что поры в капиллярах опухоли больше, чем в здоровых тканях. Поэтому наночастицы размером меньшим, чем поры в опухоли, но большим, чем в нормальных тканях, накапливаются в опухоли. Этот эффект приводит к увеличению концентрации лекарственной субстанции в опухоли в 10–15 раз по сравнению с традиционными лекарственными формами.

филаментов [13]. Было показано, что «филомицеллы» длиной до 15 мкм и диаметром 22–60 нм циркулируют в крови более пяти суток! Небольшой диаметр позволяет им проходить через узкие полости в селезёнке, а длина, сравнимая с размерами клеток человека, делает эндоцитоз практически невероятным. Паклитаксел, загруженный в филомицеллы, эффективно уменьшал размер раковой опухоли *in vivo*.

Облегчённое прохождение через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ)

Свойство поверхности наночастиц избирательно адсорбировать те или иные белки плазмы крови определяет их судьбу в организме.

Как отмечалось выше, адсорбция опсоинов приводит к усиленному поглощению наночастиц макрофагами, так как они имеют рецепторы к опсоинам. Адсорбция иных белков плазмы крови может вести к другим эффектам.

В процессе конструирования липосомального препарата для лечения болезни Паркинсона [14] нами было показано, что содержимое липосом проходит через ГЭБ практически в 100 раз лучше, чем отдельные молекулы [15]. В дальнейшем данное парадоксальное явление было многократно подтверждено. В частности, это было продемонстрировано для нанос-

Субстанция, заключённая в наночастицы, защищена от преждевременной деградации и высвобождается постепенно, что приводит к пролонгированию действия. Так, липосомальный баларпан в два раза быстрее заживляет повреждения роговицы, чем раствор баларпана.

фер из поли(бутилцианоакрилатов), покрытых твином-80. Относительно недавно это явление получило объяснение: через ГЭБ проникают наночастицы, способные адсорбировать аполиппротеины В или Е [16]. А так как на эндотелии капилляров мозга экспонированы рецепторы липопротеинов, то наночастицы с ассоциированными аполиппротеинами проходят через эндотелиальный слой транцитозом, мимикрируя под липопротеины.

Депонирование

Субстанция, заключённая в наночастицы, защищена от преждевременной деградации и высвобождается постепенно, что приводит к пролонгированию действия. Так, липосомальный баларпан в два раза быстрее заживляет повреждения роговицы, чем раствор баларпана [17].

Инкапсуляция лекарственных субстанций в мультивезикулярные липосомы (*DepoFoam*[®]) — это новый подход к пролонгации действия лекарственных препаратов [18]. Частицы *DepoFoam*[®] представляют собой мультивезикулярные липосомы — агрегаты сотен полиэдрических компартментов, отделённых друг от друга неконцентрическими липидными бислоями [18]. В настоящее время FDA одобрило два лекарственных препарата на основе *DepoFoam*[®] для клинического применения: *DepoCyte*[®] и *DepoDur*TM. *DepoCyte*[®] — дисперсия цитарабина, инкапсулированного в мультивезикулярные липосомы, для лечения лейкозного менингита [19]. Период полувыведения *DepoCyte*[®] составляет 130–277 ч [20]. *DepoDur*TM — лекарственная форма сульфата морфина [21]. При единичной эпидуральной инъекции *DepoDur*TM способен облегчать послеоперационную боль в течение нескольких дней [21].

Солюбилизация плохо растворимых субстанций

Одна из самых острых проблем современной фармакологии — плохая растворимость субстанций. Для увеличения биодоступности вещество должно быть довольно гидрофобным [22] и, следовательно, плохо растворимым.

Наночастицы наряду с амфифильными полимерами могут существенным образом увеличить концентрацию субстанции в растворе [23]. В частности, нам удалось в 120 раз увеличить концентрацию бетулиновой кислоты включением её в липосомы [24] и в 1500 раз — включением в наночастицы из тритерпеноидов бересты и фосфатидилхолина [25].

Активное нацеливание

Активное нацеливание предполагает модификацию поверхности — присоединение к наночастицам «молекулярного адреса». Важно отметить, что репертуар поверхностных белков на здоровых и «больных» клетках идентичен — разница лишь в уровне экспрессии. Например, рецепторы для фолиевой кислоты, для трансферрина представлены на опухолевых клетках в несколько раз больше, чем на здоровых. Таким образом, фолиевая кислота или трансферрин могут служить для нацеливания на раковые клетки [26, 27]. Подобное нацеливание незначительно влияет на распределение наночастиц по органам и тканям, но существенно увеличивает эффективность внутриклеточной доставки [28].

Относительно недавно начало развиваться ещё одно направление химиотерапии опухолей, связанное с нацеливанием на эндотелий капилляров опухоли. Одна из таких методик использует в качестве молекулярного адреса трипептид RGD с хорошей константой связывания с интегрином $\alpha V\beta 3$, характерным для указанных сосудов. Нацеливаемые подобным образом липосомы дают 15-кратное увеличение концентрации по сравнению со свободным лекарством [29]. Было показано, что ангиогенез ингибируется почти на 70 %.

Одним из самых значительных событий последних лет в онкологии является открытие того факта, что простата-специфический мембранный антиген экспрессируется на эндотелии практически всех солидных опухолей и отсутствует в капиллярах нормальных тканей [30]. Антитела J591, специфичные к данному антигену, стали основой для терапевтических и диагностических препаратов [31].

Контролируемое высвобождение

Дальнейшего увеличения эффективности можно достичь, организовав контролируемое высвобождение из наночастиц. Например, это можно осуществить с помощью термочувствительных липосом [32].

Их состав подбирают таким образом, чтобы температура фазового перехода бислоя лежала в области 42 °С. Известно, что наибольшая проницаемость мембраны наблюдается именно в зоне фазового перехода. Предполагается, что место, где должен действовать препарат, будет нагреваться, и это приведёт к усиленному локальному высвобождению субстанции.

Для термочувствительного высвобождения используют также полимерные композиции [33]. Сложная композиция стерически стабилизируют

Одна из самых острых проблем современной фармакологии — плохая растворимость субстанций. Для увеличения биодоступности вещество должно быть довольно гидрофобным и, следовательно, плохо растворимым. Наночастицы наряду с амфифильными полимерами могут существенным образом увеличить концентрацию субстанции в растворе.

ванных термочувствительных активно загруженных доксорубицином липосом требует довольно сложной технологии получения [34].

О безопасности нанопрепаратов

На наш взгляд, потенциальная опасность нанопрепаратов сильно преувеличена. Того набора испытаний, который проходит любой лекарственный препарат, вполне достаточно, чтобы выявить побочные действия. Правила проверки на безопасность формировались не в приложении к какому-либо классу соединений или типу лекарственных форм — это общие правила. Если клинические испытания показали, что препарат безопасен, значит, он безопасен вне зависимости от содержания в нём наночастиц или продуктов генно-модифицированных организмов и др.

Попробуем перечислить причины, по которым нанопрепарат может представлять опасность:

- 1) в нём содержатся токсические вещества;
- 2) в нём содержатся вещества, которые не выводятся из организма, аккумулируются в определённом компартменте;
- 3) в нём содержатся крупные частицы, которые могут закупорить капилляры;
- 4) в нём содержатся патогенные агенты (вирусы, прионы и т. п.).

Легко увидеть, что все токсические эффекты, которые могут быть вызваны перечисленными свойствами, будут выявлены с помощью стандартных тестов.

С другой стороны, знание физико-химических и биологических свойств наночастиц даёт возможность прогнозировать явления, которые могут повлечь отдалённые эффекты. Таким образом, можно наметить дополнительные исследования для выяснения конкретной опасности. Так, знания об облегчённом прохождении через ГЭБ наночастиц, способных адсорбировать на

На наш взгляд, потенциальная опасность нанопрепаратов сильно преувеличена. Того набора испытаний, который проходит любой лекарственный препарат, вполне достаточно, чтобы выявить побочные действия. Если клинические испытания показали, что препарат безопасен, значит, он безопасен вне зависимости от содержания в нём наночастиц или продуктов генно-модифицированных организмов и др.

себе аполипопротеины и их компоненты, позволяют более предметно оценить опасность проникновения компонентов наночастиц. Например, очевидно, что в состав таких частиц не должны входить ионы переходных металлов, так как известно, что они могут быть причастны к развитию болезни Альцгеймера [35, 36].

Кроме того, систематические исследования токсичности наночастиц выявляют закономерности в этой пока ещё мало освоенной области. Так, при нашем исследовании липосом, загруженных фосфатом кортикостероида, была обнаружена их значительная токсичность, в то время как ни сами липосомы, ни исследуемый фосфат по отдельности не проявляли токсичности. Подобное явление наблюдалось для липосом, загруженных амфифильным полифенолом.

Заключение

Лекарственные препараты на основе наночастиц постепенно вытесняют в некоторых областях традиционные лекарственные формы. Основные сферы применения — онкология и вакцины. И в том и другом случае очевидна связь эффективности с размером наночастиц. В других направлениях успехи менее впечатляющи.

Продвижение вперёд связано со значительным усложнением (и, следовательно, с удорожанием) препаратов. Очевидны перспективные точки роста — в первую очередь, конструирование композитных наночастиц с эффективным нацеливанием и высвобождением активного вещества в сайте-мишени [37]. Это требует междисциплинарного подхода. Усложнение конструкции наноносителя приводит к резкому усложнению технологии получения, что и является главной причиной повышения цены.

На наш взгляд, самый перспективный способ обойти названные трудности — использование композиций на основе вирусов, природных нацеливаемых транспортных средств, пока используемых (применяемых) только для доставки нуклеиновых кислот в генной терапии [38].

С другой стороны, как и в любом новом деле, необходим неспешный ответственный подход, осторожное «оглядывание» в поисках потенциальных опасностей.

Работа выполнена в рамках аналитической ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы (2009–2011 гг.)» на 2011 г., проект № 2.1.1./9349.

Литература

1. Vinogradov S. V., Bronich T. K., Kabanov A. V. Nanosized cationic hydrogels for drug delivery: preparation, properties and interactions with cells // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2002. V. 54. P. 135–147.
2. Moghimi S. M., Hunter A. C., Murray J. C. Longcirculating and target-specific nanoparticles: theory to practice // *Pharmacol. Rev.* V. 53. 2001. P. 283–318.
3. Ilium L., Davis S. S., Wilson C. G., Thomas N. W., Frier M., Hardy J. G. Blood clearance and organ deposition of intravenously administered colloidal particles. The effects of particle size, nature and shape // *Int. J. Pharm.* 1982. V. 12, 1. P. 5–146.
4. Hobbs S. K., Monsky W. L., Yuan F., Roberts W. G., Griffith L., Torchilin V. P., Jain R. K. Regulation of transport pathways in tumor vessels: Role of tumor type and microenvironment // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95. P. 4607–4612.
5. Pluen A., Boucher Y., Ramanujan S., McKee T. D., Gohongi T., di Tomaso E., Brown E. B., Izumi Y., Campbell R. B., Berk D. A., Jain R. K. Role of tumor–host interactions in interstitial diffusion of macromolecules: Cranial vs. subcutaneous tumors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. P. 4628–4633.
6. Moghimi S. M., Hunter A. C., Murray J. C. Longcirculating and target-specific nanoparticles: theory to practice // *Pharmacol. Rev.* 2001. V. 53. P. 283–318.
7. US Food and Drug Administration / Drugs. US FDA website [online], <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>.
8. Gradishar W. J., Tjulandin S., Davidson N., Shaw H., Desai N., Bhar P., Hawkins M., O'Shaughnessy J. Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2005. V. 23. P. 7794–7803.

9. Lee C. C., Gillies E. R., Fox M. E., Guillaudeu S. J., Frechet J. M. J., Dy E. E., Szoka F. C. A single dose of doxorubicin functionalized bow-tie dendrimer cures mice bearing C-26 colon carcinomas // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 16649–16654.
10. Красильников И. В., Гамбарян А. С., Машин В. В., Лобастова А. К. Иммуногенные и протективные свойства инактивированных и живых кандидатных вакцин против высокопатогенных вирусов гриппа H5N1 // *Вопр. вирусол.* 2010. № 2. С. 24–29.
11. Champion J. A., Katare Y. K., Mitragotri S. Particle shape: A new design parameter for micro- and nanoscale drug delivery carriers // *J. Contr. Release*. 2007. V. 121. P. 3–9.
12. Doshi N., Prabhakarandian B., Rea-Ramsey A., Pant K., Sundaram S., Mitragotri S. Flow and adhesion of drug carriers in blood vessels depend on their shape: A study using model synthetic microvascular networks // *J. Contr. Release*. 2010. V. 146. P. 196–200.
13. Geng Y., Dalhaimer P., Cai S., Tsai R., Tewari M., Minko T., Discher D. E. Shape effects of filaments versus spherical particles in flow and drug delivery // *Nature Nanotech.* 2007. V. 2. P. 249–255.
14. Zhigaltsev I. V., Kaplun A. P., Kucheryanu V. G., Kryzhanovsky G. N., Shvets V. I., Yurasov V. V. Liposomes containing dopamine entrapped in response to transmembrane ammonium sulfate gradient as carrier system for dopamine delivery into the brain of parkinsonian mice // *J. Liposome Res.* 2001. V. 11. № 1. P. 55–71.
15. Yurasov V. V., Zhigaltsev I. V., Kucheryanu V. G., Kudrin V. S., Kaplun A. P., Shvets V. I. Brain pharmacokinetic evaluation of free and liposome-encapsulated catecholamine // *J. Liposome res.* 1998. V. 8. № 1. P. 73.
16. Kreuter J., Shamenkov D., Petrov V., Ramge P., Cychutek K., Koch-Brandt C., Alyautdin R. Apolipoprotein-mediated transport of nanoparticle-bound drugs across the blood-brain barrier // *J. Drug Target.* 2002. V. 10 (4). P. 317–325.
17. Каплун А. П., Баргов С. Н., Новиков С. В., Лозинская О. Л., Швец В. И. Препарат для лечения заболеваний и повреждения роговицы. Патент РФ № 2172061. 2002.
18. Mantripragada S. A lipid based depot (DepoFoam technology) for sustained release drug delivery // *Prog. Lipid Res.* 2002. V. 41. P. 392–406.
19. Marcatò P. D., Duran N. New Aspects of Nanopharmaceutical Delivery Systems // *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2008. V. 8. P. 1–14.
20. Zimm S., Collins J. M., Miser J. Cytosine arabinoside cerebrospinal fluid kinetics // *Clin. Pharmacol. Ther.* 1984. V. 35. P. 826–856.
21. Nagle P. C., Gerancher J. C. DepoDur® (extended-release epidural morphine): a review of an old drug in a new vehicle // *Tech. Reg. Anesth. Pain Manage.* 2007. V. 11. P. 9–18.
22. Rishon G. M. Nonleadlikeness and leadlikeness in biochemical screening // *Drug Discov. Today*. 2003. V. 15; 8 (2). P. 86–96.
23. Strickley R. G. Solubilizing Excipients in Oral and Injectable Formulations // *Pharm. Res.* 2004. V. 21. P. 201–230.
24. Ле Банг Шон, Каплун А. П., Шпилевский А. А., Андия-Правдивый Ю. Э., Алексеева С. Г., Григорьев В. Б., Швец В. И. Синтез бетулиновой кислоты из бетулина и исследование её солюбилизации с помощью липосом // *Биоорганическая химия*. 1998. Т. 24. № 10. С. 787–793.
25. Бастрич А. Н., Красильникова В. В., Лыу Т. Н., Попенко В. И., Каплун А. П., Балакшин В. В., Преснова Г. А., Чистяков А. Н. Солюбилизация тритерпеноидов лупанового ряда, выделенных из бересты // *Биотехнология*. 2008. № 6. С. 51–59.
26. Gabizon A., Shmeeda H., Horowitz A. T., Zalipsky S. Tumor cell targeting of liposome-entrapped drugs with phospholipid-anchored folic acid-PEG conjugates // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004. V. 56. P. 1177–1192.
27. Daniels T. R., Delgado T., Helguera G., Penichet M. L. The transferrin receptor part II: targeted delivery of therapeutic agents into cancer cells // *Clin. Immunol.* 2006. V. 121. P. 159–176.
28. Choi C. H., Alabi C. A., Webster P., Davis M. E. Mechanism of active targeting in solid tumors with transferrin-containing gold nanoparticles // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2010. V. 107. P. 1235–1240.
29. Murphy E. A., Majeti B. K., Barnes L. A., Makale M., Weis S. M., Lutu-Fuga K., Wrasidlo W., Cheresh D. A. Nanoparticle-mediated drug delivery to tumor vasculature suppresses metastasis // *PNAS*. 2008. V. 105. № 27. P. 9343–9348.
30. Chang S. S., O'Keefe D. S., Bacich D. J., Reuter V. E., Heston W. D. W., Gaudin P. B. Prostate-specific membrane antigen is produced in tumor-associated neovasculature // *Clin. Cancer Res.* 1999. V. 5. P. 2674–2681.
31. Milowsky M. I., Nanus D. M., Kostakoglu L., Sheehan C. E., Vallabhajosula S., Goldsmith S. J., Ross J. S., Bander N. H. Vascular targeted therapy with anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 in advanced solid tumors // *J. Clin. Oncol.* 2007. V. 25. P. 540–547.
32. Kong G., Anyarambhatla G., Petros W. P., Braun R. D., Colvin O. M., Needham D., Dewhirst M. W. Efficacy of Liposomes and Hyperthermia in a Human Tumor Xenograft Model: Importance of Triggered Drug Release // *Cancer Res.* 2000. V. 60. P. 6950–6957.
33. Chia-Lung Lin, Wen-Yen Chiu, Chia-Fen Lee. Preparation of thermoresponsive core-shell copolymer latex with potential use in drug targeting // *J. Colloid Interface Sci.* 2005. V. 290. P. 397–405.
34. Безруков Д. А., Королёва А. И., Каплун А. П., Ланцова А. В., Орлова О. Л., Оборотова Н. А. Оптимизация метода получения стабилизированных термочувствительных липосом с активной загрузкой доксорубицином // *Российский терапевтический журнал*. 2006. Т. 5. № 4. С. 79–83.
35. Rogers J. T., Lahiri D. K. Metal and inflammatory targets for Alzheimer's disease // *Current Drug Targets*. 2004. V. 5. P. 535–551.
36. Drago D., Bolognin S., Zatta P. Role of Metal Ions in the A β Oligomerization in Alzheimer's Disease and in Other Neurological Disorder // *Current Alzheimer Res.* 2008. V. 5. P. 500–507.
37. Farokhzad O. C., Langer R. Impact of nanotechnology on drug delivery // *ACS Nano*. 2009. V. 3. P. 16–20.
38. Hallaj-Nezhadi S., Lotfipour F., Dass C. R. Delivery of nanoparticulate drug delivery systems via the intravenous route for cancer gene therapy // *Pharmazie*. 2010. V. 65 (12). P. 855–859.

Изучение распределения и оценка основных фармакокинетических параметров укороченных окисленных одностенных углеродных нанотрубок (УОУНТ–СООН) при многократном внутрижелудочном введении на модели аутбредных крыс

Алдобаев В. Н.¹, Ерёменко Л. А.¹, Мазанова А. А.¹, Бикетова Д. Х.¹,
Дядищев Н. Р.¹, Рыбалкин С. П.¹, Квачева Л. Д.², Бадун Г. А.³,
Червонобродов С. П.⁴, Мурадян В. Е.⁵, Масликов А. А.⁶

¹ Научно-исследовательский институт токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов ФМБА России, г. Серпухов, Московская обл.

² Институт элементоорганических соединений РАН, г. Москва

³ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова

⁴ ООО «Карбонлайт»

⁵ Институт проблем химической физики РАН, п. Черноголовка, Московская обл.

⁶ Международный университет природы, общества и человека «Дубна», филиал «Протвино», Московская обл.

В статье изложены результаты исследования распределения и оценки основных фармакокинетических параметров укороченных окисленных одностенных углеродных нанотрубок при многократном внутрижелудочном введении на модели аутбредных крыс. Проведённые работы — часть программы комплексной токсикологической оценки ряда основных продуктов электродугового производства одностенных углеродных нанотрубок.

Ключевые слова: *укороченные окисленные одностенные углеродные нанотрубки, токсикологическая оценка.*

The article deals with results of research of distribution and estimation of basic pharmacokinetic parameters of short-cut oxygenized one-wall carbon nanotubes in the process of numerous intragastric inductions on outbred rat models. The conducted research is a part of the program of complex toxicological estimation of some main products of electroarched manufacture of one-wall carbon nanotubes.

Keywords: *short-cut oxygenized one-wall carbon nanotubes, toxicological estimation.*

Введение

Развитие нанотехнологий и их внедрение в различные производства существенно опережает знания в области токсикологии наноматериалов и рисков для здоровья человека, связанных с применением нанотехнологий.

В процессе производства наноматериалов, их использования в технологических циклах других производств, при транспортировке, ремонте оборудования, производственных авариях, при утилизации содержащих наноматериалы объектов персонал и люди, не связанные с производством, могут подвергаться опасности контакта.

Развитие нанотехнологий и их внедрение в различные производства существенно опережает знания в области токсикологии наноматериалов и рисков для здоровья человека, связанных с применением нанотехнологий.

Наночастицы, попадая внутрь организма, оказывают токсическое действие по совершенно иным механизмам, чем крупные частицы микрометрового диапазона или молекулы химических веществ, из которых состоят наноструктуры.

Проведённые многочисленные эксперименты чётко указывают на то, что благодаря своим малым размерам наночастицы могут преодолевать биологические барьеры, попадая внутрь клеток макроорганизмов. Есть данные о проникновении наночастиц через кожные покровы, преодолении ими барьера желудочно-кишечного тракта, гематоэнцефалического, гематоликворного и других биологических барьеров.

Большинство исследований в области нанотоксикологии к настоящему моменту выполнено *in vitro* на клеточных культурах; на лабораторных животных проведены лишь фрагментарные исследования [1–5].

Комплексная оценка токсичности новых наноматериалов на лабораторных животных — ключевой этап оценки рисков при использовании нанотехнологий.

Одним из наиболее востребованных видов современных наноматериалов являются наноструктурированные формы углерода, а именно углеродные нанотрубки. Многим исследователям в области фармакологии одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ) представляются удачным решением для создания универсальной транспортной системы доставки лекарственных средств с широкой перспективой их использования в наномедицине. Поэтому задача всесторонней токсикологической оценки ОУНТ приобретает сегодня особую актуальность. Кроме того, важное значение имеют определение токсичности промежуточных продуктов и санитарно-гигиеническое нормирование условий производства ОУНТ.

В данной статье изложены результаты исследования распределения и оценка основных фармакокинетических параметров укороченных окисленных одностенных углеродных нанотрубок (УОУНТ–СООН) при многократном внутрижелудочном введении на модели аутбредных крыс. УОУНТ–СООН являются одним из конечных очищенных продуктов производства углеродных

нанотрубок. Проведённые работы — часть программы комплексной токсикологической оценки ряда основных продуктов электродугового производства ОУНТ в соответствии с [6].

Материалы и методы исследований

ОУНТ отечественного производства были предоставлены для исследований ООО «Карбонлайт» на контрактной основе.

Укороченные окисленные одностенные углеродные нанотрубки получали из так называемых длинных окисленных одностенных углеродных нанотрубок ОУНТ–СООН, имеющих следующие характеристики: диаметр ОУНТ–СООН — 0,9–1,5 нм; длина — 0,5–3 микрон; степень очистки — 80–85 % по углероду (рис. 1), 1–2 % по металлам; в сухом виде ОУНТ–СООН агрегированы в пучки диаметром 20–50 нм; по данным термогравиметрического анализа (ТГА), температура горения ОУНТ–СООН в атмосфере воздуха составляет 600–750 °С; на графеновой поверхности и фуллереновых полусферах имеются атомы углерода, несущие гидроксильные и карбоксильные группы, количество «дефектных» атомов ≤ 5 % от общего количества структурообразующих атомов углерода. Метод синтеза — электродуговой с использованием никеля и иттрия в качестве катализаторов; методы очистки — обработка кислотами и высокотемпературный отжиг на воздухе.

Для получения УОУНТ–СООН с длиной ≤ 500 нм использовали процедуру ультразвуковой резки ОУНТ–СООН по следующей методике. ОУНТ–СООН суспендировали в смеси концентрированных H_2SO_4/HNO_3 (3/1) и обрабатывали в ультразвуковой ванне в течение 4 ч при температуре 70 °С. Результирующую суспензию затем разбавляли водой и центрифугировали при 6000 об/мин. Нарезанные УОУНТ далее обрабатывали смесью концентрированной H_2SO_4 и 30-процентной H_2O_2 (4:1), перемешивая в течение 1 ч при 70 °С. Суспензию разбавляли водой, центрифугировали и отфильтровывали на фильтре с порами 0,45 мкм. Далее проводили процедуру

Наночастицы, попадая внутрь организма, оказывают токсическое действие по совершенно иным механизмам, чем крупные частицы микрометрового диапазона или молекулы химических веществ, из которых состоят наноструктуры.

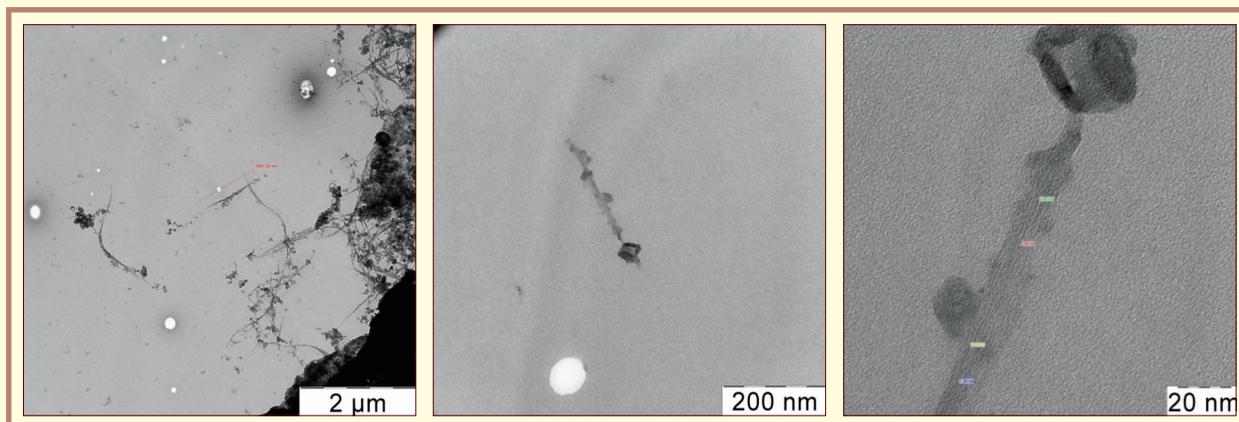


Рис. 1. Микрофотографии образца УОУНТ–СООН, 80–85 % чистоты

отжига, как это было описано выше для продукта ОУНТ.

На рис. 1 приведены три микрофотографии «нарезанных» УОУНТ–СООН, полученные методом просвечивающей электронной микроскопии (ТЕМ) с различным разрешением.

На рис. 2 представлены результаты термогравиметрического анализа УОУНТ–СООН. Форма кривых ТГ и ДТГ свидетельствует об отсутствии в образце аморфного углерода, который сгорает при более низких температурах нагрева. Образец УОУНТ–СООН демонстрирует в данном случае высокую устойчивость к окислению, отсутствие значительного числа нанотрубок малого диаметра (0,8–1 нм) и «дефектных» нанотрубок.

Для изучения распределения, экскреции и оценки основных фармакокинетических параметров на животных тест-системах отработали условия включения ^3H -метки в ОУНТ. Радиоактивную метку включали в препараты методом термической активации [7]. Использовали низ-

кое давление газообразного трития в реакционной камере, для его атомизации температура вольфрамовой проволоки составляла 2000 °К. Атомы ^3H достигали ОУНТ, находящихся на стенках реакционной камеры, без потери энергии за счёт столкновений с молекулами газа и вступали в реакции замещения и гидрирования.

После введения радиоактивной метки препараты ОУНТ многократно промывали 80-процентным этанолом, затем метанолом и ацетоном. Промывку продолжали до тех пор, пока радиоактивность раствора после центрифугирования меченого препарата одностенных УНТ, выдержанного в растворителе 1 сут, не превышала 1 % от общей радиоактивности препарата. В результате ^3H из лабильных положений (гидроксильные и карбоксильные группы) количественно удалялся, и оставшаяся в препарате радиоактивность относилась к ^3H , связанному непосредственно с углеродом.

Истинная удельная активность полученного таким способом меченого препарата, определяемая при полном разложении, составляла для ^3H -УОУНТ–СООН 2,1 мКи/мг.

Количественное определение препарата ^3H -УОУНТ–СООН в тканях экспериментальных животных проводили с учётом оценки уровней сцинтилляции минерализатов биологических образцов.

В качестве оптимальных условий минерализации с точки зрения скорости растворения биологических образцов и последующего гашения сцинтилляции выбрали следующие: минерализация в трёхмолярном растворе гидроксида калия; соотношение биологических образцов — 50–150 мг образца / 2 мл раствора гидроксида калия; выдерживание в стеклянных пробирках на кипящей водяной бане при 92–95 °С в течение 40 мин до полного растворения образцов; в случае цельной крови или образцов тканей с высо-

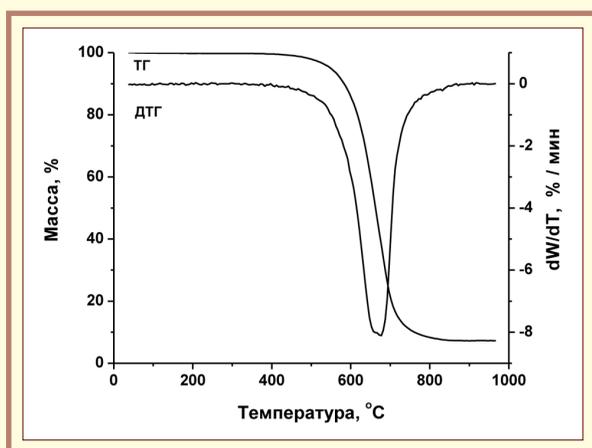


Рис. 2. Диаграмма, полученная при термогравиметрическом анализе на приборе STA 409 Luxx фирмы Netzsch в потоке сухого воздуха 100 мл/мин при линейной скорости нагрева 10 °С/мин

ким содержанием крови добавка к щелочному раствору 0,05 мл 50-процентной перекиси водорода.

После нагревания на водяной бане пробирки охлаждали до комнатной температуры и автоматической пипеткой переносили из них аликвоты минерализатов 0,2 мл в сцинтилляционные флаконы с 10 мл сцинтилляционной жидкости «Optiphase HiSafe». Измерение уровня сцинтилляции проводили на жидкостном β -, γ -счётчике «THRIATHLER».

Для последующего количественного определения меченых препаратов УОУНТ–СООН в минерализатах тканей экспериментальных животных строили градуировочные характеристики зависимости уровня сцинтилляции от количества ^3H –УОУНТ–СООН в сцинтилляционном флаконе в условиях добавки 0,2 мл щелочных минерализатов крови и тканей основных внутренних органов, взятых у интактных крыс.

Тесты на параллельность и равенство свободных членов линейных регрессий с использованием обобщённого дисперсионного анализа на основе критерия Фишера показали, что параметры линейных регрессий, построенных на минерализатах цельной крови и основных внутренних органов, отличались между собой при уровне значимости 0,05. Поэтому в данной работе использовали различные линейные регрессии.

Диапазон линейности находился в пределах 350/500 – 2,6/4,8 $\times 10^5$ актов сцинтилляции/мин в зависимости от вида минерализата.

При построении градуировочных характеристик и позже при введении животным в качестве неионогенного поверхностно-активного вещества для получения стабильных водных суспензий ^3H –УОУНТ–СООН использовали проксанол-268 — стабилизирующий компонент кровезаменителя «Перфторан» [8].

Суспензии ^3H –УОУНТ–СООН 3 мг/мл готовили в четырёхпроцентном w/v проксаноле-268. Для стабилизации в суспензии погружали стержень излучателя ультразвукового диспергатора Ultrasonic Processor «Cole Parmer» и проводили обработку ультразвуком в течение 30 мин при выходной мощности излучателя 600 Вт и внешнем охлаждении ёмкости с суспензиями в ванночке со льдом. Полученные в результате стабилизированные суспензии служили исходными растворами для приготовления серий разбавленных калибровочных суспензий ^3H –УОУНТ–СООН в четырёхпроцентном w/v проксаноле-268 и для введения экспериментальным животным. Условия стабилизации суспензий выбрали с учётом рекомендаций поставщика наноматериалов ООО «Карбонлайт».

Многим исследователям в области фармакологии одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ) представляются удачным решением для создания универсальной транспортной системы доставки лекарственных средств с широкой перспективой их использования в наномедицине. Поэтому задача всесторонней токсикологической оценки ОУНТ приобретает сегодня особую актуальность.

Для определения фактического накопления УОУНТ–СООН в основных органах и тканях крыс при трёхкратном внутривидовом введении применяли препарат ^3H –УОУНТ–СООН с удельной активностью 2,1 мКи/мг. В эксперименте использовали самцов крыс (72 особи) весом 180–210 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария на рационе, соответствующем действующим нормам [9]. С учётом разброса веса экспериментальных животных создали три опытные группы, внутри каждой из которых весовое СКО (стандартное отклонение) не превышало 5 %. Пропорционально увеличению среднего веса в группах объём введения суспензий изменяли в пределах 1,0–1,2 мл с таким расчётом, чтобы в среднем в каждой группе доза УОУНТ–СООН составляла 35 мг/кг.

Каждому животному вводили суспензию, содержащую 35 мг/кг УОУНТ–СООН и 0,35 мг/кг ^3H –УОУНТ–СООН в четырёхпроцентном w/v проксаноле-268. Добавка ^3H –УОУНТ–СООН в общем объёме введения была незначительна и составляла 0,03 мл. Введение суспензий проводили с помощью одноразового шприца, снабжённого зондом для внутривидового введения. Пробоподготовка включала ультразвуковую обработку суспензий непосредственно перед введением с помощью дезинтегратора ИЛ 100-6 (ООО «Ультразвуковая техника – Инлаб», Россия) при выходной мощности излучателя 600 Вт в течение 10 мин при охлаждении суспензии во время обработки в ванночке со льдом.

Исследовали восемь временных точек: 1, 2, 4, 24 и 48 ч; 7, 14 и 30 сут с момента введения. На каждую временную точку приходилось по три животных, соответствующие данные от которых усреднялись. Треть животных по условиям эксперимента получила однократную дозу, треть – двукратную и треть – трёхкратную внутривидовую дозу суспензии. Периодичность введения составляла одни сутки.

После каждого введения через фиксированные промежутки времени, указанные выше, животных умерщвляли путём цервикальной дислокации и вскрывали с помощью стандартных хирургических инструментов с целью отбора проб крови (из полости левого желудочка сердца), мозга, лёгких, сердца, печени, почек, мышцы (бедро), селезёнки, тимуса и семенников. Вес биопроб определяли на весах второго класса с точностью до 0,1 мг. При отборе проб анатомическое строение органов (доли, сегменты и т. д.) не учитывали. Пробы подвергали щелочной минерализации и затем вносили аликвоты

минерализатов (0,2 мл) в 10 мл сцинтилляционной жидкости «Optiphase HiSafe».

Измерение уровня сцинтилляции проводили на жидкостном β-, γ-счётчике «THRIATHLER». Количество ³H-УОУНТ-СООН в аликвотах минерализатов рассчитывали по усреднённым калибровочным характеристикам. По найденным значениям определяли удельное содержание ³H-УОУНТ-СООН в различных биопробах с учётом веса образцов тканей.

Данные по содержанию ³H-УОУНТ-СООН в тканях лабораторных животных, полученные в различные моменты времени после внутриже-

Таблица 1

Площадь под фармакокинетической кривой «концентрация (С) – время (t)» ($AUC_{t/ig}$) для тканей основных органов и крови при трёхкратном внутривенном введении ³H-УОУНТ-СООН

№ п/п	Орган	$AUC_{t/ig}$ мин*мг/г		
		I введение	II введение	III введение
1	Кровь	4,8±2,6*	6,6±3,9	3,2±1,2
2	Мозг	2,1±1,1	3,6±2,0	3,4±0,7
3	Лёгкие	4,8±2,8	13,0±6,0	6,8±3,8
4	Сердце	4,0±2,9	4,7±1,0	4,2±0,3
5	Печень	0,4±0,15	1,2±2,4	2,1±1,9
6	Почки	3,2±2,9	3,6±1,0	5,6±2,2
7	Мышца	4,5±4,7	6,3±0,3	5,2±1,3
8	Селезёнка	2,8±0,9	3,9±1,0	3,0±0,7
9	Тимус	3,1±0,4	4,6±0,5	4,5±1,2
10	Семенник	3,4±3,0	4,3±1,1	4,0±0,2

* – стандартное отклонение

Таблица 2

Период полувыведения ($T_{1/2}$) из тканей основных органов и крови при трёхкратном внутривенном введении ³H-УОУНТ-СООН

№ п/п	Орган	$T_{1/2}$, сутки		
		I введение	II введение	III введение
1	Кровь	10,6±7,1	13,5±9,7	4,6±2,0
2	Мозг	3,9±2,7	8,3±5,8	5,3±1,4
3	Лёгкие	13,1±8,8	24,4±12,9	11,2±6,4
4	Сердце	6,9±3,2	8,1±4,6	4,0±1,4
5	Печень	0,72±0,4	2,2±1,0	3,8±1,7
6	Почки	5,8±6,5	6,4±2,3	7,3±3,6
7	Мышца	6,0±11,9	9,9±0,5	6,4±2,1
8	Селезёнка	5,5±2,2	7,1±1,5	5,0±1,4
9	Тимус	7,9±9,9	8,0±0,8	5,0±1,7
10	Семенник	4,1±6,3	4,3±1,7	3,0±11,9

Таблица 3

Максимальная концентрация C_{max} в тканях основных органов и крови при трёхкратном внутривенном введении ^3H -УОУНТ-СООН

№ п/п	Орган	C_{max} мг/кг ткани		
		I введение	II введение	III введение
1	Кровь	0,21±0,04	0,23±0,04	0,33±0,04
2	Мозг	0,24±0,05	0,20±0,04	0,30±0,02
3	Лёгкие	0,17±0,03	0,25±0,02	0,28±0,04
4	Сердце	0,20±0,02	0,27±0,04	0,35±0,01
5	Печень	0,22±0,05	0,23±0,10	0,27±0,04
6	Почки	0,24±0,09	0,26±0,30	0,35±0,05
7	Мышца	0,30±0,20	0,28±0,002	0,36±0,03
8	Селезёнка	0,24±0,03	0,24±0,02	0,28±0,02
9	Тимус	0,18±0,01	0,27±0,002	0,38±0,03
10	Семенник	0,30±0,09	0,33±0,01	0,39±0,12

лудочно введения суспензий, обрабатывали специализированной программой для оценки фармакокинетических и токсикокинетических параметров WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM Version 5.2 Build 200701231637 Core Version 19 Dec 2006.

Результаты и обсуждение

Средние значения основных системных кинетических параметров, полученные в ходе проведённых работ, представлены в табл. 1, 2, 3.

При анализе системных параметров, полученных при описании кинетики изменения концентрации ^3H -УОУНТ-СООН в крови крыс после трёх последовательных введений, обнаружили следующие закономерности:

- 1) максимальные показатели для AUC и $T_{1/2}$ наблюдаются для второй дозы;
- 2) показатель AUC для третьего введения меньше, чем аналогичный показатель для первого введения, несмотря на то что C_{max} для третьего введения больше, чем для первого; это может указывать на тенденцию к ускорению процессов экскреции при хроническом поступлении УОУНТ-СООН или на тенденцию к уменьшению всасывания из желудочно-кишечного тракта.

При анализе системных параметров, полученных при описании кинетики изменения концентрации ^3H -УОУНТ-СООН в ткани печени и почек крыс после трёх последовательных введений, обнаружили следующие закономерности: показатели для AUC, C_{max} и $T_{1/2}$ монотонно увеличиваются с первого до третьего введения,

что свидетельствует о плавном накоплении ^3H -УОУНТ-СООН в этих органах без «эффекта второй дозы», наблюдавшегося для крови.

При анализе системных параметров, полученных при описании кинетики изменения концентрации ^3H -УОУНТ-СООН в тканях всех остальных исследованных органов крыс после трёх последовательных введений, обнаружили следующие закономерности:

- 1) максимальные показатели для AUC и $T_{1/2}$ наблюдаются для второй дозы, повторяя общую картину для крови;
- 2) показатели AUC и C_{max} для третьего введения оказались больше, чем аналогичные для первого введения.

Судя по изменениям этих показателей, кинетика ^3H -УОУНТ-СООН в тканях лёгких, селезёнки, тимуса, семенников, сердечной мышцы, головного мозга и мышцы бедра занимает промежуточное положение между кинетикой в ткани печени/почек и кинетикой в крови. Вероятно, это связано с тем, что печень и почки выступают в данном случае как метаболизирующие и (или) участвующие в экскреции органы, а остальные – просто как депо.

Выводы

Впервые была продемонстрирована динамика накопления укороченных окисленных одностенных углеродных нанотрубок УОУНТ-СООН в тканях всех основных органов экспериментальных животных при трёхкратном внутривенном введении с интервалом 24 часа.

Соотношения кинетических параметров УОУНТ–СООН при трёхкратном введении

Монотонное возрастание трёх параметров $AUC_{t/ig}$, $T_{1/2}$ и C_{max} по мере увеличения числа введений	«Эффект второй дозы» – $AUC_{t/ig}$ и $T_{1/2}$ – максимальны + соотношения $AUC_{t/ig}$ и C_{max} для первого и последнего введений	«Эффект второй дозы» – $AUC_{t/ig}$ и $T_{1/2}$ – максимальны + соотношения $AUC_{t/ig}$ и C_{max} для первого и последнего введений
$AUC_{t/ig(1)} < AUC_{t/ig(2)} < AUC_{t/ig(3)}$ $T_{1/2(1)} < T_{1/2(2)} < T_{1/2(3)}$ $C_{max(1)} < C_{max(2)} < C_{max(3)}$	$AUC_{t/ig(1)} < AUC_{t/ig(2)} > AUC_{t/ig(3)}$ $T_{1/2(1)} < T_{1/2(2)} > T_{1/2(3)}$ + $C_{max(1)} < C_{max(3)}$ $AUC_{t/ig(1)} < AUC_{t/ig(3)}$	$AUC_{t/ig(1)} < AUC_{t/ig(2)} > AUC_{t/ig(3)}$ $T_{1/2(1)} < T_{1/2(2)} > T_{1/2(3)}$ + $C_{max(1)} < C_{max(3)}$ $AUC_{t/ig(1)} > AUC_{t/ig(3)}$
Печень, почки (эксреторные органы)	Лёгкие, селезёнка, мозг, сердце, тимус, скелетные мышцы, семенники (органы «депо»)	Кровь (переносчик, среда распределения)

* $AUC_{t/ig(1)}$ — площадь под кривой «концентрация–время» для соответствующей ткани после одного введения.

Если судить по средним значениям параметра AUC, то при трёхкратном введении исследованные органы и ткани можно расположить в следующий ряд по степени «нагруженности» укороченных окисленных одностенных углеродных нанотрубок УОУНТ–СООН: печень < головной мозг < селезёнка < семенники < тимус < почки < сердце < кровь < скелетные мышцы < лёгкие.

Фармакокинетические профили УОУНТ–СООН во всех исследованных органах и тканях при трёхкратном введении не являются суперпозицией соответствующих профилей при однократном введении. Все реальные профили

характеризуются относительным уменьшением основных фармакокинетических параметров $AUC_{t/ig}$, $T_{1/2}$ и C_{max} , что, вероятно, связано с замедлением процесса всасывания препарата УОУНТ–СООН из желудочно-кишечного тракта и (или) с активизацией процессов экскреции в период введения. Исключением из этого правила является только ткань печени.

Все исследованные ткани и органы по соотношениям кинетических параметров УОУНТ–СООН при множественном введении были формально отнесены к трём категориям, представленным в табл. 4.

Литература

1. Grubek-Jaworska H., Nejman P., Czuminska K. et al. Preliminary results on the pathogenic effects of intratracheal exposure to one-dimensional nanocarbons // Carbon 44. 2006. P. 1057–1063.
2. Monteiro-Riviere N. A., Inman A. O. Challenges for assessing carbon nanomaterial toxicity to the skin // Carbon 44. 2006. P. 1070–1078.
3. Muller J., Huaux F., Lison D. Respiratory toxicity of carbon nanotubes: How worried should we be? // Carbon 44. 2006. P. 1048–1056.
4. Smart S. K., Cassady A. I., Lu G. Q., Martin D. J. The biocompatibility of carbon nanotubes // Carbon 44. 2006. P. 1034–1047.
5. Wang H., Wang J., Deng X. et al. Biodistribution of carbon single-wall nanotubes in mice // J. Nanoscience and Nanotechnology. Vol. 4. № 8. 2004. P. 1019–1024.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. С. 41–54.
7. Алдобаев В. Н., Ерёмченко Л. А., Мазанова А. А. и др. Изучение распределения, экскреции и оценка основных фармакокинетических параметров одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ) в организме мелких лабораторных животных при различных способах введения / Сб. тезисов докладов научно-технологических сессий Международного форума по нанотехнологиям «Rusnanotech'08». М., 2008. Т. 2. С. 314–315.
8. Иваницкий Г. Р., Воробьёв С. И. Кровезаменитель «Перфторан» // Вестник РАН. 1997. Т. 67. № 11. С. 998–1013.
9. Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения. Приказ Минздрава СССР от 14.10.1983 г. № 1179.

Научная деятельность

© Вигдергауз В. Е., Гольберг Г. Ю., 2011
УДК 622.79:544.7

Нанохимические аспекты флокуляции минеральных частиц: смачиваемость минералов и её влияние на энергию гидрофобных взаимодействий в рамках расширенной теории ДЛФО



ВИГДЕРГАУЗ
Владимир Евелевич

*Институт проблем комплексного освоения
недр РАН*

*Главный научный сотрудник,
профессор, докт. техн. наук*



ГОЛЬБЕРГ
Григорий Юрьевич

*Институт проблем комплексного освоения
недр РАН*

*Докторант,
доцент, канд. техн. наук*

Об авторах

Вигдергауз Владимир Евелевич после окончания химического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова в 1975 г. по настоящее время работает в Институте проблем комплексного освоения недр РАН.

Защитил диссертации на соискание учёных степеней кандидата (1980 г.) и доктора технических наук (1991 г.) по специальности «обогащение полезных ископаемых».

Область научных интересов: физическая химия сульфидной флотации, коллоидно-химические свойства дисперсных систем; электрохимические и каталитические свойства минералов; инженерная экология (переработка отходов горной промышленности).

Подготовил восемь кандидатов наук. Профессор по специальности.

Действительный член Академии горных наук. Лауреат премии им. И. Н. Плаксина.

Представляет Россию в Научном совете Международного конгресса по обогащению полезных ископаемых.

Имеет свыше 140 опубликованных научных работ и 17 патентов на изобретения.

Гольберг Григорий Юрьевич после окончания Московского химико-технологического института им. Д. И. Менделеева в 1987 г. работает в Институте обогащения твёрдого топлива, в настоящее время — заведующий сектором.

С 2010 г. — докторант Института проблем комплексного освоения недр РАН.

В 1994 г. защитил диссертацию на соискание учёной степени кандидата технических наук.

Область научных интересов: разделение суспензий продуктов обогащения минерального сырья (главным образом — углей); физико-химические закономерности флокуляции минеральных частиц и свойства флокуляционных структур.

С 2001 г. по настоящее время преподаёт в Московском государственном университете инженерной экологии в качестве доцента.

Имеет свыше 20 опубликованных научных работ (в том числе одно учебное и одно методическое пособие) и три патента на изобретения.

На основании расширенной теории ДЛФО (теория Дерягина-Ландау-Фервея-Овербека) выполнен анализ энергии взаимодействия частиц минералов с различными значениями краевого угла смачивания и полимерного флокулянта. Определены условия флокуляции микронных частиц.

Ключевые слова: *флокуляция, расширенная теория ДЛФО, парная энергия взаимодействия, смачиваемость минералов, гидрофобное взаимодействие.*

The analysis of interaction energy for two mineral particles of different wettability and for particle with coil of polymeric flocculant was carried out on the basis of extended DLVO theory for prediction the possibility and results of flocculation.

Keywords: *flocculation, extended DLVO theory, interaction energy, minerals wettability, hydrophobic interaction.*

Создание благоприятной экологической обстановки — одно из важнейших условий сохранения здоровья человека. Это определяет необходимость осуществления комплекса мероприятий по защите окружающей среды от вредных выбросов промышленных предприятий, в частности очистку сточных вод и создание замкнутых водооборотных циклов на предприятиях, потребляющих значительные объёмы воды.

Интенсификация технологий очистки технологических вод от частиц загрязнений в различных отраслях промышленности, в том числе и в обогащении полезных ископаемых, достигается путём применения различных классов реагентов, наиболее эффективными из которых являются синтетические полимерные флокулянты. Но механизм взаимодействия частиц твёрдой фазы с флокулянтами изучен недостаточно (в особенности энергетические закономерности процесса). Поэтому до настоящего времени оценка результатов разделения суспензий с применением флокулянтов проводится на основании экспериментальных данных. В то же время следует отметить, что современные теоретические представления о механизмах фазового взаимодействия в дисперсных системах позволяют оценить возможность флокуляции частиц дисперсной фазы суспензий.

Цель настоящей работы — разработка метода, позволяющего оценить принципиальную

возможность и результаты применения флокулянтов на основании представлений расширенной теории ДЛФО.

Классическая теория ДЛФО рассматривает парную энергию взаимодействия частиц дисперсной фазы; при этом, как правило, учитывают две составляющие: электростатическую (U_E), обусловленную отталкиванием одноимённо заряженных ионов, и молекулярную (U_M), обусловленную силами притяжения Ван-дер-Ваальса [1, 2]:

$$U_E = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon r_1 r_2 (\varphi_1^2 + \varphi_2^2)}{4(r_1 + r_2)} \cdot \left\{ \frac{2\varphi_1 \varphi_2}{\varphi_1^2 + \varphi_2^2} \ln \left[\frac{1 + e^{-kh}}{1 - e^{-kh}} \right] + \ln(1 - e^{-2kh}) \right\}, \quad (1)$$

$$U_M = \frac{A_{123} r_1 r_2}{6h(r_1 + r_2)}, \quad (2)$$

где: ε_0 — абсолютная диэлектрическая проницаемость ($8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м);

ε — относительная диэлектрическая проницаемость (для воды при $T = 293$ К: $\varepsilon = 80$);

r_1, r_2 — радиусы частиц соответственно 1-го и 2-го рода, м;

φ_1, φ_2 — потенциалы поверхностей соответствующих частиц, В;

h — расстояние между частицами, м;

A_{123} — константа Гамакера для взаимодействия двух частиц различной природы (индексы 1 и 2) через прослойку дисперсионной среды (индекс 3), Дж;

k — параметр Дебая, m^{-1} .

Кроме упомянутых выше составляющих потенциальной энергии необходимо также учитывать гидрофобное взаимодействие, обусловленное тем, что энергия водородной связи между молекулами воды превосходит энергию их взаимодействия с неполярными частицами. Согласно [1], величина энергии гидрофобного взаимодействия U_H зависит от расстояния между частицами h следующим образом:

$$U_H = Ce^{-\frac{h}{D}} \quad (3)$$

или:

$$U_H = C_0 e^{-\frac{h}{D_0}} + C_1 e^{-\frac{h}{D_1}}, \quad (4)$$

где C, C_0, C_1, D, D_0, D_1 — экспериментальные константы.

Практические расчёты по формулам (3) и (4) затруднены по причине сложности определения названных констант.

В 1990-е годы Yoon [3–5] предложил более простую и удобную методику расчёта величины U_H :

$$U_H = -\frac{K_{H131} r_1 r_2}{6h(r_1 + r_2)}, \quad (5)$$

где K_{H131} — константа гидрофобного взаимодействия частиц (1) через прослойку дисперсионной среды (3).

Для твёрдых частиц величина K_H рассчитывается исходя из значения краевого угла смачивания дисперсионной фазы дисперсионной средой (в данном случае — угла натекания) θ :

$$K_H = ae^{b\theta}, \quad (6)$$

где a, b — экспериментальные постоянные, зависящие от величины θ (см. таблицу).

Зависимость величины K_H от краевого угла

Значения экспериментальных констант a и b

Краевой угол смачивания	a	b
$\theta < 86,89^\circ$	$2,732 \cdot 10^{-21}$	0,04136
$86,89^\circ < \theta < 92,28^\circ$	$4,888 \cdot 10^{-44}$	0,6441
$\theta > 92,28^\circ$	$6,327 \cdot 10^{-27}$	0,2172

ла смачивания по уравнению (6) приведена на рис. 1.

Для пузырьков воздуха в водной среде величина K_H , согласно [6, 7], выражается следующим образом:

$$K_H = e^{(1+m)\sqrt{C_S}}, \quad (7)$$

где: C_S — концентрация поверхностно-активного вещества;

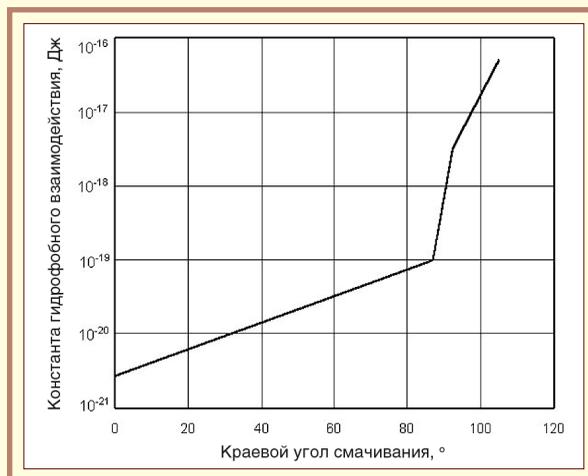


Рис. 1. Зависимость константы гидрофобного взаимодействия от краевого угла смачивания

l, m — экспериментальные постоянные (для додециламмонийхлорида: $l = -39,67$; $m = -117,7$).

В случае взаимодействия двух частиц различной природы (1) и (2) через прослойку дисперсионной среды (3) сложная константа гидрофобного взаимодействия K_{H132} рассчитывается по формуле [4]:

$$K_{H132} = \sqrt{K_{H131} \cdot K_{H232}}. \quad (8)$$

Таким образом, суммарная потенциальная энергия парного взаимодействия U выражается следующим уравнением:

$$U = U_E + U_M + U_H = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon r_1 r_2 (\varphi_1^2 + \varphi_2^2)}{4(r_1 + r_2)} \cdot \left\{ \frac{2\varphi_1 \varphi_2}{\varphi_1^2 + \varphi_2^2} \ln \left[\frac{1 + e^{-kh}}{1 - e^{-kh}} \right] + \ln(1 - e^{-2kh}) \right\} - \frac{A_{123} r_1 r_2}{6h(r_1 + r_2)} - \frac{K_H r_1 r_2}{6h(r_1 + r_2)}. \quad (9)$$

Зависимость величин U, U_E, U_M и U_H от h (для случая парного взаимодействия частиц угля, $\theta = 50^\circ$) по уравнению (9) представлена на рис. 2.

На кривой зависимости U от h (рис. 2) выделяются следующие области:

I — дальний потенциальный минимум; соответствует расстоянию, превышающему сумму радиусов двойных электрических слоёв взаимодействующих частиц; в этой области преобладают дальнедействующие силы молекулярного и гидрофобного притяжения;

II — потенциальный барьер, возникающий при перекрытии двойных электрических слоёв частиц; в результате сила электростатического отталкивания становится больше сил притяжения;

III — ближний потенциальный минимум; соответствует сближению частиц на расстояние,

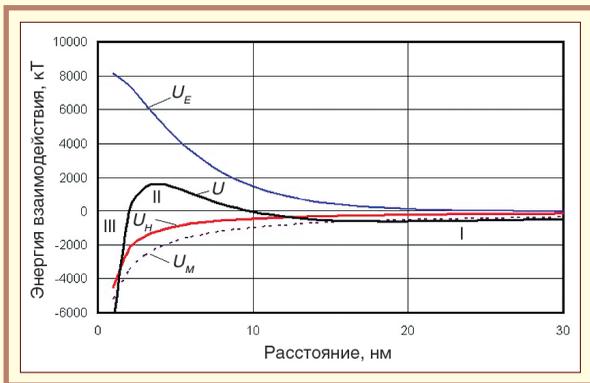


Рис. 2. Зависимость составляющих потенциальной энергии взаимодействия от расстояния для частиц угля ($\theta = 50^\circ$):
I — дальний потенциальный минимум; II — потенциальный барьер; III — ближний потенциальный минимум;
 k — постоянная Больцмана ($1,38 \cdot 10^{-23}$ Дж/К);
 T — абсолютная температура, К

равное радиусу потенциалопределяющих ионов (с учётом толщины гидратных оболочек), составляющее порядка нескольких Å .

Долевое участие отдельных составляющих потенциальной энергии взаимодействия частиц зависит от расстояния между последними и краевого угла смачивания. На рис. 3 видно, что на расстоянии 10 нм для гидрофильной глины ($\theta = 20^\circ$) величина U_E превосходит U_M и U_H на два порядка; для умеренно гидрофобного угля ($\theta = 50^\circ$) абсолютные величины сопоставимы по порядку ($\sim 10^3$ кТ). Для сульфидного минерала, характеризующегося высокой степенью гидрофобности, U_H по абсолютной величине превышает U_E и U_M примерно на два порядка. Таким образом, с увеличением краевого угла смачивания доле-

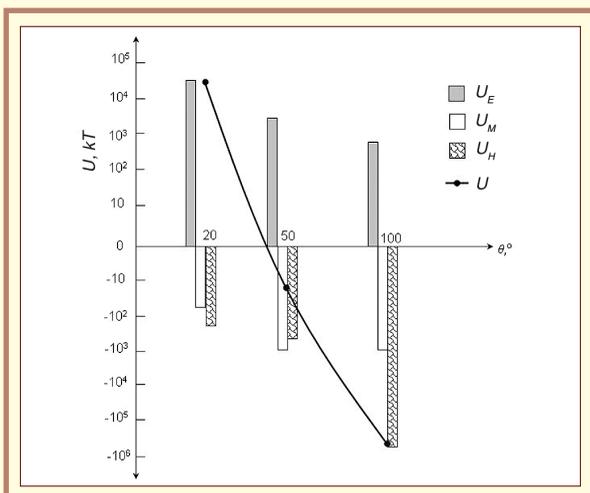


Рис. 3. Зависимость электростатической, молекулярной, гидрофобной составляющих и суммарной энергии парного взаимодействия минеральных частиц от краевого угла смачивания (расстояние между поверхностями частиц — 10 нм)

вое участие величины U_E уменьшается, а величины U_H существенно возрастает.

Как видно на рис. 4, для глины и угля долевое участие величины U_H на расстоянии до 15 нм не превышает 20 %, так как преобладает энергия электростатического отталкивания; с увеличением расстояния долевое участие возрастает до 30–55 %. Другими словами, в данной области величины U_H и U_M сопоставимы. Для сульфидного минерала, характеризующегося высокой степенью гидрофобности, во всём рассматриваемом интервале значений h энергия гидрофобного взаимодействия превалирует: её долевое участие составляет не менее 99 %.

В рассмотренных выше случаях определялась парная энергия взаимодействия однородных твёрдых частиц. На основании теоретических подходов, изложенных в работах [8, 9], представляется вполне уместным и корректным использование теории ДЛФО для описания закономерностей взаимодействия твёрдой частицы с макромолекулой полимера. Причём последняя, имея форму статистического клубка [10] (рис. 5), может быть аппроксимирована сферой, радиус которой пропорционален молекулярной массе полимера в степени 0,5 [11].

Анализ парной энергии взаимодействия частиц твёрдой фазы различной природы (глин, углей и сульфидных минералов) со статистическим клубком анионоактивного полиакриламидного флокулянта показал, что возможны следующие варианты потенциальных кривых взаимодействия (рис. 6).

Кривая (1): при высоте потенциального барьера больше $(10-15)kT$ и ординате дальнего потенциального минимума менее $(1-2)kT$, система агрегативно устойчива, поскольку макромолекулы флокулянта не фиксируются в области

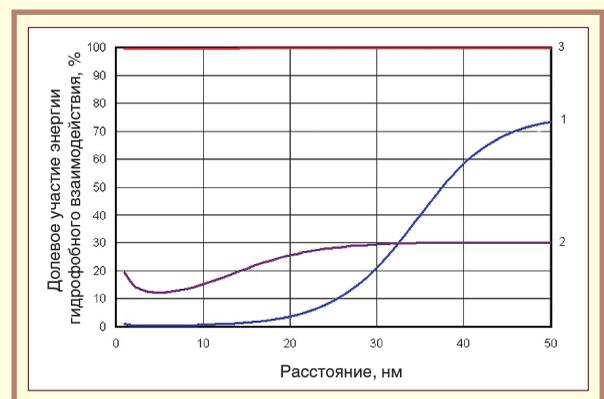


Рис. 4. Зависимость долевого участия энергии гидрофобного взаимодействия минеральных частиц от расстояния:
1 — глина, $\theta = 20^\circ$; 2 — уголь, $\theta = 50^\circ$;
3 — сульфидный минерал, $\theta = 100^\circ$

названного минимума, а проскальзывают относительно частиц твёрдой фазы [13]. Следовательно, в данном случае флокуляция частиц по мостиковому механизму маловероятна.

Кривая (2): в случае наличия невысокого потенциального барьера и дальнего потенциального минимума с глубиной больше $(1-2)kT$ и абсциссой порядка 10–30 нм вполне возможна фиксация макромолекулы полимера в данной области и образование мостиковых связей между частицами твёрдой фазы. При этом формируются, как правило, относительно крупные флокулы с высоким содержанием воды.

Кривая (3): отсутствие потенциального барьера свидетельствует об агрегативной неустойчивости системы. Частицы твёрдой фазы и макромолекулы полимера могут сближаться на расстояние порядка нескольких Å. В данном случае образуются компактные плотные флокулы.

Поскольку теория ДЛФО не учитывает концентрацию твёрдой фазы и полимера в дисперсионной среде, то в настоящей работе предложена модель, позволяющая рассчитать количество макромолекул полимера, взаимодействующих с частицей твёрдой фазы суспензии, в зависимости от концентрации и диаметра частиц, а также дозировки флокулянта.

Для определения количества макромолекул полимера, взаимодействующих с частицей твёрдой фазы полидисперсной суспензии по ортокинетическому механизму, рассмотрим сферическую частицу диаметром $d_1 \geq 1$ мкм (в данном случае не рассматриваются частицы субмикронной крупности, поскольку их взаимодействие с флокулянтom осуществляется по перикинетическому механизму и одна макромолекула полимера может присоединить несколько таких частиц). Опишем вокруг частицы сферу диаметром d_s , определённым исходя из условия (рис. 7):

$$d_s = d_1 + 2(d_2 + H_K), \quad (10)$$

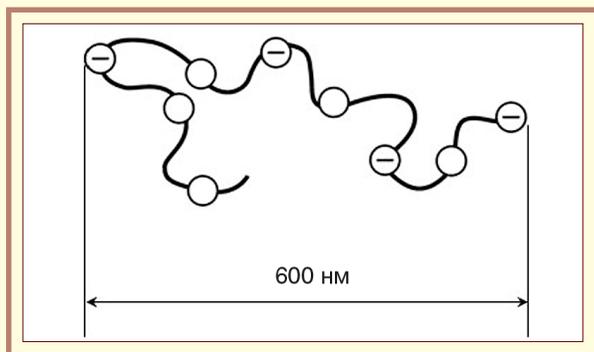


Рис. 5. Схема статистического клубка анионного флокулянта с молекулярной массой $2,5 \cdot 10^7$ кг/кмоль согласно [12]

где: d_2 — диаметр статистического клубка полимера;

H_K — расстояние между частицей и клубком полимера, соответствующее ближайшему или дальнему потенциальному минимуму.

Объём пространства V_x между сферами диаметрами d_1 и d_s составит:

$$V_x = \frac{\pi}{6}(d_s^3 - d_1^3) = \frac{\pi}{6}(6d_1^2(d_2 + H_K) + 12d_1(d_2 + H_K)^2 + 8(d_2 + H_K)^3). \quad (11)$$

Следовательно, количество макромолекул полимера в объёме V_x при известных значениях дозы флокулянта d_ϕ и содержания дисперсной фазы в суспензии C_T выражается следующим образом:

$$N_x = \frac{\pi}{6} \cdot \frac{\rho_T C_T}{\rho_\phi - C_T} \cdot \frac{d_\phi N_A}{M} (6d_1^2(d_2 + H_K) + 12d_1(d_2 + H_K)^2 + 8(d_2 + H_K)^3), \quad (12)$$

где: N_A — число Авогадро ($6 \cdot 10^{23}$ 1/моль);
 M_ϕ — молекулярная масса флокулянта, кг/кмоль;

ρ_T — плотность дисперсной фазы, кг/м³.

Расчётные значения величины N_x в зависимости от диаметра частиц при молекулярной массе флокулянта $2,5 \cdot 10^7$ кг/кмоль, содержания твёрдой фазы в суспензии 20 кг/м³ и дозе флокулянта от 20 до 100 г/т приведены на рис. 8. Поскольку величина НК, согласно приведённым выше расчётным данным, не превышает 25 нм (почти на два порядка меньше по сравнению с d_2), то её влиянием на количество макромолекул N_x можно пренебречь.

Полученные данные свидетельствуют, что в исследованном диапазоне значений дозировок полимера макромолекулы последнего (при условии равномерного распределения в объёме суспензии) могут сближаться на расстояние



Рис. 6. Потенциальные кривые взаимодействия анионного полиакриламидного флокулянта с минеральными частицами

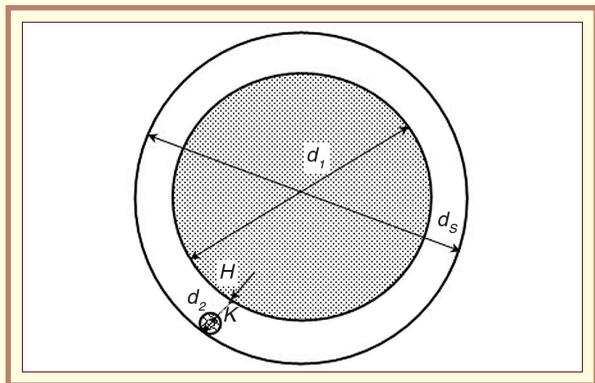


Рис. 7. Схема для расчёта количества макромолекул полимера, взаимодействующих с частицей твёрдой фазы

H_K с частицами, имеющими диаметр не менее 3–7 мкм. Для частиц меньшего диаметра ортокинети́ческая флокуляция по мостиковому механизму если не исключена, то маловероятна.

Выводы

1. На основе анализа парной энергии взаимодействия частиц в соответствии с теорией ДЛФО и с учётом смачиваемости частиц установлено, что гидрофобная составляющая потенциальной энергии взаимодействия для минералов с краевым углом смачивания менее 90° по порядку величины сопоставима с электростатической и молекулярной составляющими, а для минералов с краевым углом смачивания свыше 90° превосходит сумму названных составляющих на 1–2 порядка.

2. Анализ парной энергии взаимодействия анионоактивного полиакриламидного флокулянта с минеральными частицами позволил выявить условия, при которых возможна флокуляция по мостиковому механизму:

Литература

1. Дерягин Б. В. *Поверхностные силы* / Б. В. Дерягин, Н. В. Чураев, В. М. Муллер. М.: Наука, 1985.
2. Verwey E. J. W. *Theory of the stability of lyophobic colloids* / E. J. W. Verwey, J. Th. G. Overbeek. Amsterdam: Elsevier Publ. Co., 1948.
3. Yoon R.-H. *Application of extended DLVO theory. IV. Derivation of flotation rate equation from first principles* / R.-H. Yoon, L. Mao // *Journal of Colloid and Interface Science*. 1996. V. 181, № 2. P. 613–626.
4. Yoon R.-H. *Hydrophobic Interactions between Dissimilar Surfaces* / R.-H. Yoon, D. H. Flinn, Y. I. Rabinovich // *Journal of Colloid and Interface Science*. 1997. V. 185. № 2. P. 363–370.
5. Yoon R.-H. *The Role of Surface Forces in Flotation Kinetics* // *Proceedings of the XXI International Mineral Processing Congress. Roma, 2000. P. B8a-1–B8a-7.*
6. Yoon R.-H. *Hydrophobic forces in thin water films stabilized by dodecylammonium chloride* / R.-H. Yoon, B. S. Aksoy // *Journal of Colloid and Interface Science*. 1999. V. 211. № 1. P. 1–10.
7. Wang L. *Hydrophobic Forces in the Foam Films Stabilized by Sodium Dodecyl Sulfate: Effect of Electrolyte* / L. Wang, R.-H. Yoon // *Langmuir*. 2004. V. 20. № 26. P. 11457–11464.
8. Fellows C. M. *Insights into Bridging Flocculation* / C. M. Fellows, W. O. S. Doherty // *Macromol. Symp.* 2006. V. 231. P. 1–10.
9. Harrison G. *Suspensions and polymers – Common links in Rheology* / G. Harrison G. V. Franks, V. Tirtaatmadja, D. V. Boger // *Korea-Australia Rheology Journal*. 1999. V. 11. № 3. P. 197–218.
10. Полиакриламид. М.: Химия, 1992.
11. <http://www.xumuk.ru/colloidchem/106.html>.
12. http://chemanalytica.com/book/novyy_spravochnik_khimika_i_tekhnologa/08_elektrodnye_protseyy_khimicheskaya_kinetika_i_diffuziya_kolloidnaya_khimiya/5028#3.16.2.
13. Tulpar A. *Unnatural proteins for the control of surface forces* / A. Tulpar, D. B. Henderson, M. Mao, B. Caba, R. M. Davis, K. E. Van Cott, W. A. Ducker // *Langmuir*. 2005. V. 21, № 4. P. 1497–1506.
14. Мягченков В. А. *Полиакриламидные флокулянты* / В. А. Мягченков, А. А. Баран, Е. А. Бектуров, Г. В. Булидорова. Казань: КГТУ, 1998.
15. Read A. D. *Selective flocculation separations involving hematite* / A. D. Read // *Institution of Mining and Metallurgy. Transactions / Section C*. 1971. V. 80. P. 24–31.
16. Новак В. И. *Исследование селективной флокуляции тонкодисперсных угольных шламов* / В. И. Новак, Г. Ю. Гольберг // *Вода: химия и экология*. 2010. № 4. С. 9–13.

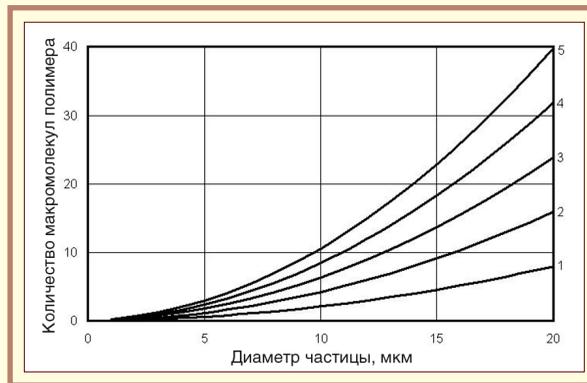


Рис. 8. Зависимость количества макромолекул полимера, расположенных в области взаимодействия с минеральной частицей, от её диаметра:
1 — 20 г/т; 2 — 40 г/т; 3 — 60 г/т; 4 — 80 г/т; 5 — 100 г/т

- при высоте потенциального барьера больше $(10-15)kT$ и ординате дальнего потенциального минимума менее $(1-2)kT$ система агрегативно устойчива, а флокуляция частиц по мостиковому механизму маловероятна;
- при наличии невысокого потенциального барьера и дальнего потенциального минимума с глубиной больше $(1-2)kT$ вероятна фиксация макромолекулы полимера и образование мостиковых связей между частицами твёрдой фазы;
- отсутствие потенциального барьера свидетельствует об агрегативной неустойчивости системы; в данном случае образуются компактные плотные флокулы.

3. Предложена модель, позволяющая рассчитывать количество макромолекул флокулянта, взаимодействующих с частицей дисперсной фазы суспензии, учитывающая диаметр частицы, концентрацию твёрдой фазы и дозировку полимера.

Биодеградация и биосовместимость нанодисперсного кремнезёма как носителя для направленной доставки лекарственных препаратов

Наумышева Е. Б.^{1,2}, Уменушкина Е. В.³, Евреинова Н. В.^{1,4},
Журавский С. Г.^{1,2}, Королёв Д. В.^{1,2}, Галагудза М. М.^{1,2}

¹ Федеральний центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова

² Санкт-Петербургский государственный университет

³ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова

⁴ Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)

Авторы исследовали интенсивность биодеградации и биосовместимость нанодисперсного кремнезёма как потенциального носителя для направленной доставки лекарственных препаратов. Эксперименты показали, что внутривенная инфузия образцов наночастиц кремнезёма вызывает незначительные изменения гемодинамических параметров, что указывает на отсутствие острой токсичности у данных наноматериалов.

Биодеградация наночастиц характеризуется формированием на 20–30-й день стабильного (предположительно, внутриклеточного) пула кремния в печени.

Ключевые слова: *направленная доставка лекарственных препаратов, нанодисперсный кремнезём, биодеградация, биосовместимость.*

The article deals with research of intensity of biodegradation and biocompatibility of nanodispersed oxide of silicon as potential delivery system for direct drug delivery. Experiments have shown that intravenous infusion of samples of oxide of silicon nanoparticles causes insignificant changes of haemodynamic parameters that indicate on lack of acute toxicity of these nanomaterials.

The biodegradation of nanoparticles characterizes with forming of stable (suppositively intracellular) silicon pool in liver.

Keywords: *directed drug delivery, nanodispersed oxide of silicon, biodegradation, biocompatibility.*

Введение

Эффективность фармакотерапии целого ряда социально значимых заболеваний может быть существенно повышена за счёт направленной доставки лекарственных препаратов (ЛП) в повреждённую ткань с использованием наноразмерных носителей [1, 2]. При этом

происходит значительное уменьшение объёма распределения препарата благодаря его избирательному накоплению в патологическом очаге, а также снижается выраженность побочных эффектов ЛП, связанных с влиянием на интактные ткани. Кроме того, направленная доставка ЛП позволяет повысить растворимость и стабильность препаратов, улучшить их биосовме-

стимость, обеспечить контролируемое высвобождение препарата из материала носителя [3].

До настоящего времени концепция направленной доставки ЛП в основном реализовалась в онкологии. При этом избирательное накопление различных противоопухолевых препаратов в ткани опухоли достигалось с помощью двух основных стратегий — пассивного и активного переноса.

Феномен пассивной доставки основан на преимущественном выходе нагруженных ЛП наночастиц в интерстиций опухолевой ткани за счёт повышенной проницаемости микрососудов опухоли. Активная доставка обеспечивает ещё более избирательное накопление ЛП в патологически изменённой ткани путём распознавания маркера повреждения на изменённой клетке специфическим направляющим лигандом, связанным с поверхностью наноразмерного носителя.

Носителями для направленной доставки лекарственных препаратов могут служить наночастицы различного химического строения: липосомы, дендримеры, фуллерены, полимерные мицеллы, наночастицы металлов и др. [1]. В последние годы в качестве перспективного носителя рассматривается нанодисперсный кремнезём (аэросил). Наночастицы кремнезёма (НЧК) характеризуются высокой удельной поверхностью, которая может быть функционализирована с помощью аминирования. Технология производства НЧК и их функционализации экономически выгодна и хорошо обоснована в теоретических и экспериментальных исследованиях [5].

В то же время перспектива применения такого неорганического носителя для направленной доставки ЛП, как нанодисперсный кремнезём, требует тщательного предварительного изучения вопроса биосовместимости и биodeградирuемости НЧК. Имеющиеся на сегодняшний день литературные данные весьма противоречивы. В работе *Slowing et al.* [6] было показано, что НЧК характеризуются биосовместимостью и способностью к биodeградации. Однако в литературе есть сведения о плохой биodeградации НЧК размером 20 нм и 80 нм: через 30 дней после введения НЧК мышам при гистологическом исследовании печени отмечались очаги некроза гепатоцитов и мононуклеарная инфильтрация печёночной ткани вблизи портальной вены [7].

Таким образом, цель настоящей работы — исследовать интенсивность биodeградации и биосовместимость нанодисперсного кремнезёма как потенциального носителя для направленной доставки лекарственных препаратов.

Эффективность фармакотерапии целого ряда социально значимых заболеваний может быть существенно повышена за счёт направленной доставки лекарственных препаратов (ЛП) в повреждённую ткань с использованием наноразмерных носителей. При этом происходит значительное уменьшение объёма распределения препарата благодаря его избирательному накоплению в патологическом очаге, а также снижается выраженность побочных эффектов.

Материалы и методы

Синтез наночастиц и их свойства

В качестве исходных транспортёров для препаратов с антиишемическим действием нами предложены НЧК с удельной поверхностью, определённой методом Брунауэра–Эммета–Теллера по низкотемпературной адсорбции азота, от 170 до 380 м²/г и средним размером частиц от 6 до 13 нм [4]. Для модификации поверхности НЧК аминогруппами была разработана методика, включающая хемосорбцию 3-аминопропилтриэтоксисилана из газовой фазы в проточном реакторе [5]. Для синтеза спейсера была использована 3-(восамино)октановая кислота.

Оценка острой токсичности НЧК

Острую токсичность НЧК оценивали по реакции артериального давления, частоты сердечных сокращений (ЧСС) и частоты дыхания на внутривенное введение суспензии НЧК крысам линии Вистар массой 250–300 г, наркотизированным нембуталом в дозе 60 мг/кг. Измерение параметров системной гемодинамики проводили датчиком давления (*Baxter*, США) через катетер, введённый в аорту через общую сонную артерию, и регистрировали на ЭВМ в помощью программного обеспечения *PhysExp Gold*. Исходные значения ЧСС, среднего артериального давления (САД) и пульсового артериального давления (ПАД) оценивали во всех группах за 2 мин до первой инфузии.

Объём первой внутривенной инфузии каждой из тестируемых суспензий составлял 0,2 мл, двух последующих — 0,4 мл, составляя в сумме 1 мл (0,7 мг наночастиц на 100 г массы тела животного). В контрольной группе осуществляли

Таблица 1

Состав модифицированного буферного раствора Кребса–Хенселейта для перфузии изолированного сердца млекопитающих

№ п/п	Компонент	Концентрация, ммоль/л
1	Na ⁺	143
2	K ⁺	5,9
3	Ca ²⁺	1,2
4	Mg ²⁺	1,2
5	Cl ⁻	125,1
6	HCO ₃₋	25
7	SO ₄ ²⁻	1,2
8	H ₂ PO ₄₋	1,2
9	Глюкоза	11

внутривенную инфузию эквивалентного количества физиологического раствора (0,9 % раствор NaCl в дистиллированной воде). Во всех группах инфузии были разделены 20-минутным интервалом. Гемодинамические ответы на инфузию оценивали по следующим временным точкам: через 2 мин после начала каждой инфузии, в конце каждой инфузии, через 10 и 20 мин после окончания каждой инфузии.

Оценка биосовместимости НЧК в хроническом эксперименте

Для определения биосовместимости НЧК в хроническом эксперименте у животных в разные сроки после внутривенной инфузии НЧК оценивали летальность, а также показатели клинического и биохимического анализа крови.

Протокол экспериментов включал две группы животных:

- 1) контроль (n = 12) — этим животным проводилась внутривенная инфузия 1 мл физиологического раствора;
- 2) эксперимент (НЧК, n = 12) — животным вводилась суспензия НЧК в физиологическом растворе (2 мг/мл) в объёме 1 мл.

Далее через 3 ч, 5 и 21 сут после инфузии НЧК у животных контрольной (n = 4 в каждой точке) и экспериментальной (n = 4 в каждой точке) групп брали кровь для клинического и биохимического анализа. Клинический анализ проводили на гематологическом анализаторе *Celltac MEK-6410K* (*Nihon Kohden*, Япония), а биохимические показатели (общий билирубин, щелочная фосфатаза, аланинаминотрансфераза, креатинин) анализировали на биохимическом автоматическом анализаторе *Cobas integra-400* (Япония). Лейкоцитарная формула оценивалась визуально микроскопией при окраске по Романовскому–Гимзе, а скорость оседания эритроцитов — по методу Панченкова.

Биодеградация НЧК *in vitro*

Для исследования биодеградации НЧК *in vitro* применяли взвесь аэросила А380 в буфере Кребса–Хенселейта с концентрацией 2 мг/мл, имеющем рН = 7,4 и солевой состав, близкий к солевому составу плазмы крови (табл. 1).

Эксперимент проводили при постоянном перемешивании в полимерном стаканчике ёмкостью 100 мл

на водяной бане при температуре 37 °С. Образцы насыщались карбогеном (95 % O₂ и 5 % CO₂). Периодический отбор проб проводили по схеме, показанной на рис. 1. Пробы замораживали при –20 °С и отправляли на анализ.

Полученные пробы размораживали и анализировали на содержание силиката спектрофотометрическим методом по молибденовой сини [8]. Для этого аликвотную пробу объёмом 2 мл помещали в полиэтиленовый сосуд и разбавляли до 25 мл. Серной кислотой устанавливали рН = 1,1±0,1 и приливали 5 мл раствора гептамолибдата аммония. Устанавливали рН = 1,3±0,1 и оставляли на 10 мин. Затем добавляли 5 мл комплексующего агента, перемешивали и через 30 с приливали 2 мл восстановителя. Оставляли раствор на 20 мин для развития окраски и измеряли относительную оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 815 нм в кюветах с толщиной слоя 1 см.

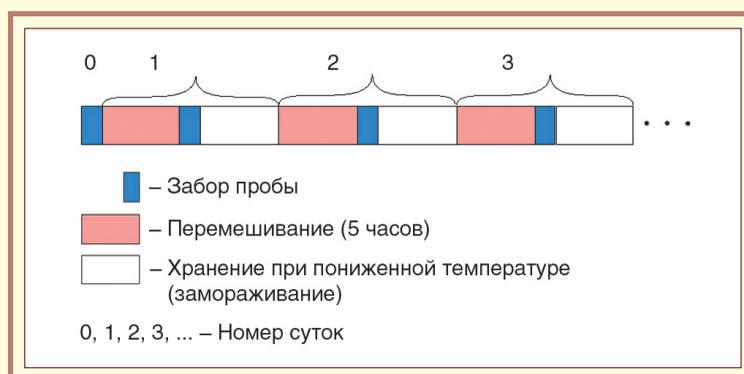


Рис. 1. Схема эксперимента и отбора проб

Биодegradация НЧК *in vivo*

В эксперименте *in vivo* НЧК в объёме 1 мл и дозе 2 мг/мл вводили животным внутривенно, после чего через 1 ч, 10, 20 и 30 дней животных забивали и брали для анализа образцы печени массой 2–3 г. Печень была выбрана для анализа на основании данных по биораспределению НЧК, показавших максимальное их накопление в данном органе [2]. Контролем служили животные, которым проводили внутривенную инфузию 1 мл растворителя. Образцы печени высушивали при температуре 90 °С в течение 24 ч с доведением образцов до постоянной массы. Полученный после высушивания минерализат ткани анализировали на атомно-абсорбционном спектрометре с электротермической атомизацией и зеймановской коррекцией неселективного поглощения МГА-915. Далее концентрацию кремния, найденную в минерализате, пересчитывали на сухую массу пробы и выражали в мкг/г.

Результаты и их обсуждения

Оценка острой токсичности НЧК

Для оценки острой токсичности НЧК были приготовлены суспензии наночастиц кремнезёма ($n\text{SiO}_2$), а также наночастиц кремнезёма, связанных с флуоресцеином натрия ($n\text{SiO}_2 + \text{ФЛН}$), в физиологическом растворе. Полученные гемодинамические данные представлены в табл. 2.

Во всех группах животных не было выявлено существенных изменений частоты сердечных сокращений в течение всего периода наблюдения. Первая инфузия каждого из тестируемых образцов не оказывала никакого влияния на гемодинамические параметры (рис. 2). Кроме того, не имелось никаких статистически значимых различий между исходным значением САД и значением САД в конце эксперимента. Однако вторая и третья инфузии НЧК вызывали времен-

Таблица 2

Гемодинамические эффекты наночастиц кремнезёма

		ЧСС	САД	ПАД
Контроль (n = 6)				
I	Исходно	368±56	92,1±19,5	48,8±11,6
	Через 10 мин после инфузии	339±42	94,5±15,4	45,7±9,6
II	За 2 мин до инфузии	338±38	91,8±16,1	45,7±10,2
	Через 10 мин после инфузии	343±33	95,4±15,8	47,2±9,2
III	За 2 мин до инфузии	342±33	95,6±16,4	45,2±9,2
	Через 10 мин после инфузии	342±35	95,9±19,3	46,9±7,7
НЧК (n = 6)				
I	Исходно	389±37	115,0±33,8	35,2±9,8
	Через 10 мин после инфузии	379±38	114,3±30,5	38,4±9,3
II	За 2 мин до инфузии	374±36	108,2±30,5	38,1±8,3
	Через 10 мин после инфузии	376±32	117,4±29,2	42,9±10,6*
III	За 2 мин до инфузии	374±36	115,2±33,1	43,6±9,7
	Через 10 мин после инфузии	390±48	124,9±33,6**	48,0±7,8*
НЧК + ФЛН (n = 4)				
I	Исходно	319±15	74,9±9,5	47,6 ±5,5
	Через 10 мин после инфузии	315±27	79,3±7,7	44,7 ±5,9
II	За 2 мин до инфузии	313±27	80,6±7,8	46,3 ±6,7
	Через 10 мин после инфузии	309±22	81,8±18,9	48,4 ±7,0
III	За 2 мин до инфузии	306±23	81,4±15,4	51,8 ±9,5
	Через 10 мин после инфузии	309±44	91,2±15,7	56,5 ±16,0

* P < 0,05 в сравнении с исходным значением, ** P < 0,05 в сравнении с точкой «за 2 мин до инфузии»

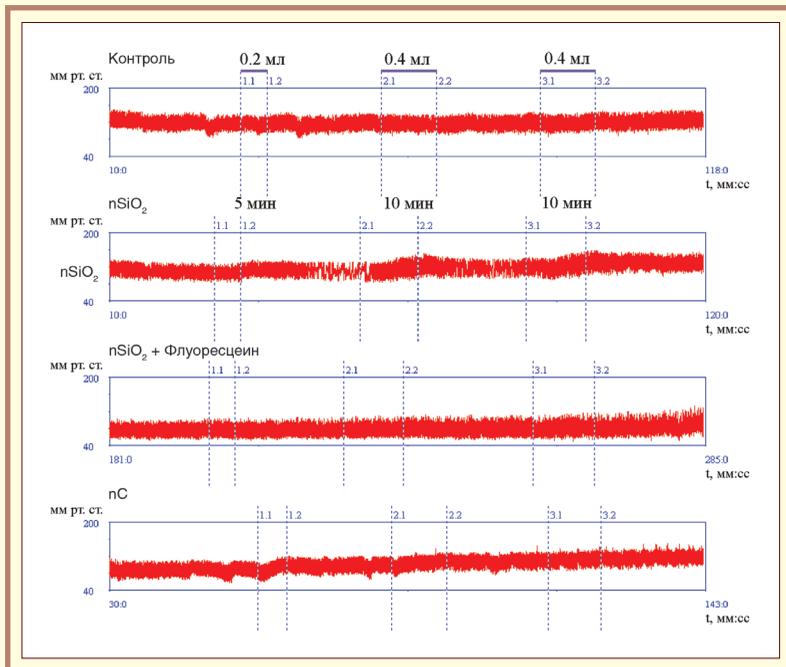


Рис. 2. Влияние различных образцов наночастиц на артериальное давление

ное повышение САД. Инфузии НЧК и физиологического раствора не влияли на уровень САД.

Отмечалось достоверное увеличение ПАД к концу эксперимента у животных, которым осуществляли инфузию НЧК. Введение НЧК + ФЛН также приводило к росту ПАД, тогда как ПАД в контрольной группе оставалось неизменным в течение всего эксперимента (табл. 2). Внутривенное введение НЧК не привело к летальному исходу ни одного животного и не вызывало изменения частоты дыхания.

Показатели клинического анализа крови крыс в разные сроки после внутривенного введения наночастиц кремнезёма

Таблица 3

№ п/п	Группа	Срок	ЭР · 10 ¹² /л	Нб, г/л	Лейк. · 10 ⁹ /л	П, %	С, %	Л, %	М, %	Э, %	Б, %	СОЭ, мм/ч
1	К	3 ч	7,3	133,2	6,2	3,7	41,0	49,5	4,0	1,4	0	3,7
2	НЧК	3 ч	8,5	151,3	5,6	1,7	37,0	53,7	7,0	0,6	0	1,7
3	К	5 сут	8,1	138,7	10,6	2,0	12,0	79,3	5,7	0,7	0	2,3
4	НЧК	5 сут	6,7	117,0	11,3	1,5	21,2	71,0	6,2	0,0	0	3,2
5	К	21 сут	6,8	115,3	13,9	2,0	10,3	61,0	5,3	1,3	0	4,7
6	НЧК	21 сут	7,8	128,7	9,5	2,0	23,3	70,7	2,3	1,7	0	3,0

Условные обозначения: К — контроль; НЧК — наночастицы кремнезема; ЭР — эритроциты; Нб — гемоглобин, г/л; Лейк. — лейкоциты; П — палочкоядерные нейтрофилы; С — сегментоядерные нейтрофилы; Л — лимфоциты; М — моноциты; Э — эозинофилы; Б — базофилы; СОЭ — скорость оседания эритроцитов, мм/ч. Данные представлены в виде средних значений; достоверных изменений содержания клеток крови, гемоглобина и СОЭ не отмечено.

Оценка биосовместимости НЧК в хроническом эксперименте

Данные клинического анализа крови в различные сроки после внутривенного введения НЧК приведены в табл. 3. Обращает на себя внимание факт, что достоверных различий содержания клеток крови, гемоглобина и СОЭ между группой контроля и группой НЧК не оказалось, что указывает на отсутствие миелотоксического и гемолитического эффекта НЧК. С другой стороны, на 5-е и 21-е сутки как в контроле, так и в группе НЧК отмечался умеренный лейкоцитоз, связанный с оперативным вмешательством.

Результаты биохимического анализа крови после внутривенного введения НЧК приведены на рис. 3.

Как следует из рис. 3, внутривенное введение НЧК не приводит к достоверному изменению уровня таких биохимических маркеров, как креатинин, щелочная фосфатаза, аланинаминотрансфераза и общий билирубин.

Биодеградация НЧК *in vitro* и *in vivo*

При исследовании биодеградируемости НЧК использовали гипотезу о ступенчатой эрозии их поверхности, приводящей к преобразованию оксида кремния в водорастворимые соли крем-

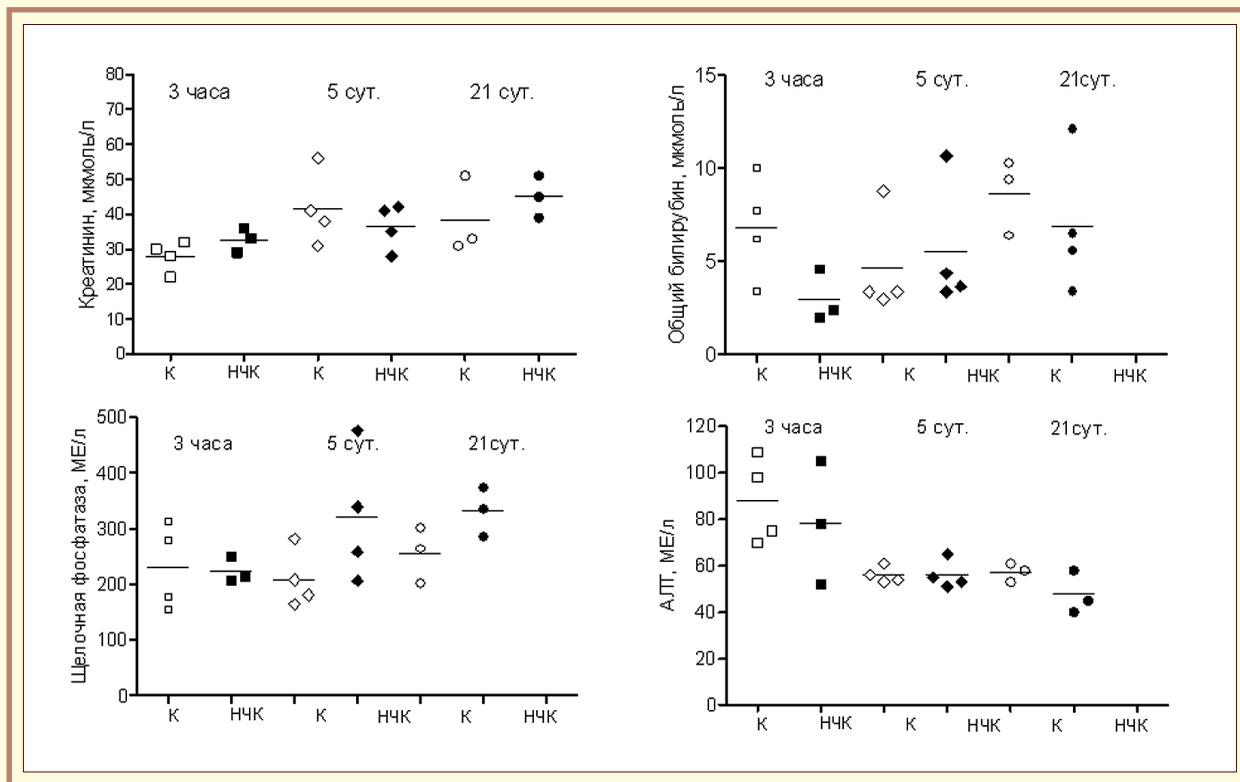


Рис. 3. Показатели креатинина, билирубина, щелочной фосфатазы и АЛТ в плазме крови животных после внутривенной инфузии наночастиц кремнезёма

ниевой кислоты и к экскреции последних почками по схеме, показанной на рис. 4.

Результаты исследования биodeградации НЧК в эксперименте *in vitro* приведены на рис. 5. На графике показана кинетика нарастания концентрации силиката в растворе.

С помощью математических расчётов было вычислено значение, соответствующее биodeградации 95 % кремнезёма, которое составило 41 день. Результаты настоящего исследования хорошо согласуются с данными *Finnie et al.* [9], полученными при изучении биodeградации микрочастиц пористого кремнезёма, находящегося в состоянии золь-гель. В этой работе показано, что микрочастицы подвергаются быстрому растворению в физиологическом буфере. При этом авторами отмечено, что добавление в буфер белков плазмы крови замедляло процесс растворения на 20–30 %. Следовательно, в условиях *in vivo* можно ожидать несколько меньшей скорости биodeградации наночастиц кремнезёма.

Содержание кремния в печени подопытных животных по результатам атомно-абсорбционной спектроскопии показано на рис. 6. Фоновое содержание кремния в печени здоровых крыс составляло $4,4 \pm 1,55$ мкг/г. При этом через 1 ч после введения НЧК концентрация кремния возрастала до $282,3 \pm 62,65$ мкг/г. Через 10 и 20 дней она до-

стоверно снижалась ($81,5 \pm 9,25$ и $30,2 \pm 7,48$ мкг/г соответственно).

Приведённая динамика растворения кремнезёмных наночастиц соответствует данным, полученным на модели *in vitro*. Однако к 30-му дню после введения НЧК содержание кремния в печени животных далее не уменьшалось ($31,5 \pm 11,87$ мкг/г). Объяснением данному факту может быть предположение о более высокой инертности внутриклеточного пула наночастиц кремнезёма, сформировавшегося в результате фагоцитоза наночастиц печёночными макрофагами и, в меньшей степени, — интернализации наночастиц в гепатоциты и другие клетки печени.

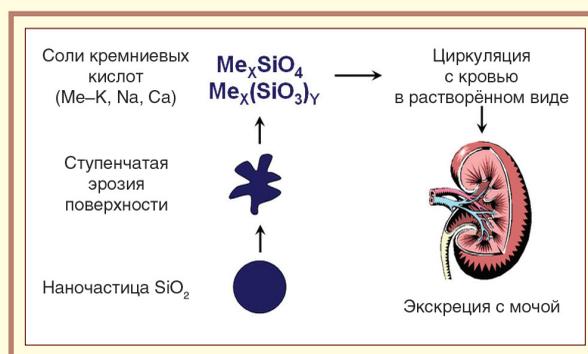


Рис. 4. Схема предполагаемой биodeградации наночастиц кремнезёма

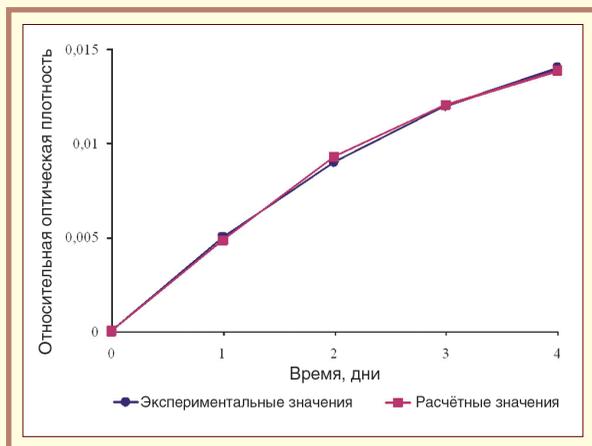


Рис. 5. Результаты анализа проб на наличие силиката

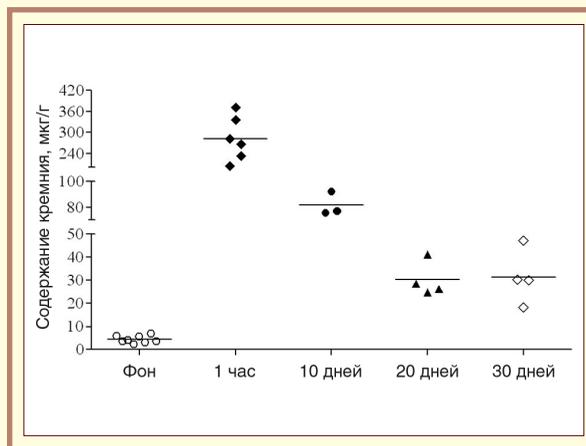


Рис. 6. Содержание кремния в печени животных в разные сроки после введения наночастиц кремнезёма

Выводы

Внутривенная инфузия образцов наночастиц кремнезёма вызвала незначительные изменения гемодинамических параметров, что указывает на отсутствие острой токсичности у данных этих наноматериалов.

По данным клинического и биохимического анализа крови можно констатировать отсутствие токсического влияния наночастиц крем-

незёма на красный костный мозг, а также на функциональное состояние печени и почек лабораторных животных в хроническом эксперименте.

По результатам эксперимента *in vitro*, биодegradация 95 % кремнезёма происходит в течение 41 дня. Биодegradация НЧК *in vivo* характеризуется формированием на 20–30-й день стабильного (предположительно, внутриклеточного) пула кремния в печени.

Литература

1. Шляхто Е. В. Нанотехнологии в биологии и медицине: современное состояние вопроса / В сб.: Нанотехнологии в биологии и медицине (под ред. проф. Е. В. Шляхто). СПб.: Любавич, 2009. С. 9–60.
2. Направленная доставка лекарственных препаратов – итоги последних лет и перспективы / Галагудза М. М., Королёв Д. В., Сонин Д. Л. и др. // Нанотехнологии экология производство. 2010. № 1. С. 132–138.
3. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery / Ganta S., Devalapally H., Shahiwala A. et al. // *J. Control Release*, 2008, V. 126 (3). P. 187–204.
4. Постнов В. Н., Кирпичева Е. Б., Галагудза М. М. и др. Нанодисперсные кремнезёмные носители для лекарственных препаратов // Сб. тезисов междунар. конф. «Основные тенденции развития химии в начале XXI века». СПб., 2009. С. 181–182.
5. Постнов В. Н. Матричный синтез привитых поверхностных соединений на кремнезёме, его использование для создания функциональных материалов и перспективы применения в наномедицине / В сб.: Нанотехнологии в биологии и медицине (под ред. проф. Е. В. Шляхто). СПб.: Любавич, 2009. С. 253–302.
6. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers / Slowing I. I., Vivero-Escoto J. L., Wu C. W. et al. // *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2008. V. 60. № 11. P. 1278–1288.
7. Biodistribution and toxicity of intravenously administered silica nanoparticles in mice / Xie G., Sun J., Zhong G. et al. // *Archives of Toxicology*. 2010. V. 84, № 3. P. 183–190.
8. Уильямс У. Дж. Определение анионов: Справочник / Пер. с англ. М.: Химия, 1982. С. 199–200.
9. Biodegradability of sol–gel silica microparticles for drug delivery / Finnie K. S., Waller D. J., Perret F. L. et al. // *Journal of Sol-Gel Scientific Technology*. 2009. V. 49.

НЕ СОДЕРЖАТ СПИРТОВ

**Хотите
защитить себя
и своих близких
от инфекций?**

**Эффективны
в отношении:**

- ✓ бактерий
- ✓ вируса гриппа типа А (H5N1)
- ✓ вируса гриппа типа А (H1N1)
- ✓ ВИЧ-инфекции
- ✓ патогенных грибов

**НОВЫЕ
ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ
НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ
АНТИСЕПТИКИ СЕРИИ
«ВЕЛТОСФЕР»
для ВАС!**



**ВЕЗДЕ
И
ВСЮДУ**

антисептический гель



кожный антисептик



**дезинфицирующие
салфетки**



антисептическое мыло



Предстоит ехать в метро или в наземном транспорте? Просто положите в карман несколько антисептических салфеток «ВЕЛТОСФЕР» в индивидуальных упаковках. Протрите ими руки, выходя из общественного транспорта или магазина.

Придя домой с улицы, вымойте руки жидким мылом «ВЕЛТОСФЕР»!

Собираетесь в театр, на концерт или другое массовое зрелище? Нанесите на руки небольшое количество геля «ВЕЛТОСФЕР» (в удобной компактной упаковке – карандаше), и Вы защищены от бактерий и вирусов минимум на 3 часа.

www.velt-npo.ru

© Векшин Н. Л., 2011

УДК 577.336

Доставка противоопухолевых гетероциклических антибиотиков в клетки с помощью нуклеотидных наноконплексов



ВЕКШИН
Николай Лазаревич

*Институт биофизики клетки РАН,
г. Пущино Московской обл.*

Ведущий научный сотрудник,

докт. биол. наук

Об авторе

Векшин Николай Лазаревич окончил отделение биофизики медико-биологического факультета Второго московского медицинского института в 1977 г., получив диплом биофизика.

С 1977 г. работал младшим, затем научным сотрудником Института биологической физики. В 1992–1999 гг. — старший научный сотрудник Института биофизики клетки РАН. С 1999 г. по настоящее время — ведущий научный сотрудник лаборатории редокс-белков ИБК РАН.

В 1987 г. защитил кандидатскую диссертацию по специальности «биофизика» в Институте химической физики, г. Москва, в 1999 г. получил степень доктора биологических наук.

Основные научные интересы: биологическая спектроскопия, биоэнергетика, митохондрии, мясопереработка.

Под руководством Векшина Н. Л. защищены три кандидатские и четыре докторские диссертации. Имеет свыше 100 публикаций, пять научных монографий (две изданы за рубежом) и три патента.

За зеркальные кюветы для флуоресцентного анализа и разработку способа экологически чистой безнитритной мясопереработки Н. Л. Векшин был награжден медалями на международных выставках: «Мир биотехнологии – 2006», «Лаборатория – 2005, 2006, 2007», «Архимед – 2006», «Высокие технологии XXI века – 2006», «Оптика – 2006, 2007». Победитель конкурсов «Бизнес инновационных технологий – 2006», «Нетрадиционное использование традиционных вещей – 2006» и «Конкурс русских инноваций – 2007». Был удостоен гранта от фонда Бортника по НИОКР для безнитритной мясопереработки.

Контакты: 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, д. 3; e-mail: nvekshin@rambler.ru.

В статье рассматриваются различные способы доставки противоопухолевых гетероциклических антибиотиков к клеточной ДНК. Особое внимание уделено наноконструкциям олигонуклеотидов и кофеина с актиномицинами.

Ключевые слова: *наноконструкции, гетероциклические антибиотики, клеточная ДНК, актиномицины, раковые клетки.*

The article deals with different methods of anti-tumor heterocyclic antibiotics delivery to cellular DNA. The special attention is given to nano-complexes of oligonucleotides and of caffeine with actinomycins.

Keywords: *nano-complexes, heterocyclic antibiotics, cellular DNA, actinomycins, malignant cells.*

Введение

Существуют самые разнообразные виды антибиотиков. И механизмы их действия тоже различны. Одни препятствуют делению клеток за счёт ингибирования синтеза белка на рибосомах, другие — путём подавления активности РНК-полимеразы; третьи блокируют продвижение РНК-полимеразы по ДНК; четвёртые резко повышают проницаемость мембран для ионов и т. д.

Особый интерес представляют гетероциклические антибиотики, имеющие высокое сродство к пуриновым и пиримидиновым нуклеотидам. Встраиваясь преимущественно в ДНК, они делают невозможным синтез т-РНК ферментом РНК-полимеразой.

Многие гетероциклические антибиотики способны образовывать с нуклеотидами, олигонуклеотидами, полинуклеотидами и некоторыми участками ДНК довольно прочные наноконструкции размерами от 1 до 1000 нм. Некоторые из этих комплексов находят применение в биотехнологии и медицине.

Ряд гетероциклических антибиотиков, например актиномицины и хёсты, образуют прочные нестэкинговые комплексы с расплётёнными участками молекулы ДНК, стабилизируя тем самым её структуру. И, вероятно, именно поэтому они проявляют противоопухолевую активность (в отличие от стэкинговых красителей-интеркаляторов вроде этидий бромида — сильнейшего канцерогена).

Использование высокочувствительных биофизических методов для исследования взаимодействия актиномициновых антибиотиков с ДНК позволило заключить, что главным механизмом блокирования ими работы РНК-полимеразы является встраивание в *расплётённые* участки ДНК [1], а не стэкинговая интеркаляция в двойную спираль, как считалось длительное время.

Большинство антибиотиков плохо проникают внутрь клеток. Усиление этого свойства является одной из важнейших прикладных задач. Проникновение гетероциклических антибиотиков в клетки можно улучшить путём нагрева, а также с помощью формирования специальных наноконструкций со шпильчатыми олигонуклеотидами. Причём, цитотоксическую активность антибиотика, как оказалось, можно резко активировать его световым облучением внутри опухолевых клеток.

Практические способы доставки антибиотиков в раковые клетки

В настоящее время почти нет мощных антибиотиков, не вызывающих при применении сопутствующих токсических последствий в организме. Чтобы снизить их и увеличить эффективность доставки препарата в делящиеся раковые клетки, необходимо заключить антибиотик в некоторую защитную оболочку, препятствующую его сорбции на стенки кровеносных сосудов и капилляров, но увеличивающую его проникновение в опухолевые клетки.

В отношении доставки гетероциклических антибиотиков в опухолевые клетки с помощью различных молекулярных носителей (полипептидов, антител, нуклеиновых кислот, синтетических полимеров, фосфолипидных липосом, поверхностно-активных веществ (ПАВ) и др.) известны, например, такие изобретения и патенты.

Фторсилоксановые матричные системы доставки лекарств с регулируемой диффузией и способ их получения [2]. Изобретение относится к сополимерам, используемым при изготовлении матричных систем доставки лекарств с регулируемой диффузией; силоксановый сополимер содержит фторированную боковую цепь, полученную сополимеризацией фторси-

Многие гетероциклические антибиотики способны образовывать с нуклеотидами, олигонуклеотидами, полинуклеотидами и некоторыми участками ДНК довольно прочные наноконплексы размерами от 1 до 1000 нм. Некоторые из этих конплексов находят применение в биотехнологии и медицине.

локсанового мономера и одного или более сополимеризуемых мономеров.

Антитело, селективное в отношении рецептора лиганда, индуцирующего апоптоз и связанного с фактором некроза опухоли, и его применение [3]. Очищенное антитело, которое специфично связывается с TRAIL-рецептором DR4, где оно в растворимой форме обладает апоптоз-индуцирующей активностью. Терапевтическое средство выбирают из группы, включающей блеомицин, даунорубицин, *актиномицин*. Вектор содержит нуклеиновую кислоту и регуляторный элемент, оперативно связанный с нуклеиновой кислотой. Очищенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность иммуноглобулиновой тяжёлой цепи антитела, способен связывать TRAIL-рецептор DR4 и вызывать апоптоз клетки.

Композиция, содержащая производное арилмочевины в комбинации с цитотоксическим или цитостатическим агентом, способ лечения опухолевых заболеваний и способ ингибирования пролиферации опухолевых клеток [4]. Композиция, содержащая N-(4-хлор-3-(трифторметил)фенил-N'-(4-(2-(N-метилкарбамоил)-4пиридилокси)фенил)мочевину, которая является ингибитором киназы *raf*, и цитотоксический агент или цитостатический агент, или фармацевтически приемлемую соль цитотоксического агента, или фармацевтически приемлемую соль цитостатического агента... Композиция, в которой цитотоксическим агентом является иринотекан, *актиномицин*.

Применение алкалоидов класса ламелларина в способах лечения [5]. Способ лечения опухолей, устойчивых к действию большого количества лекарств, у млекопитающих, включающий введение пациенту эффективного МЛР-ингибирующего количества анти-МЛР производного ламелларина. Фармацевтическая композиция, где противоопухолевое лекарственное средство, вызывающее МЛР, выбрано из группы, включающей винблестин, доксарубицин и *актиномицин*.

Способ получения препарата для направленной доставки лекарственного средства [6],

включающий обработку сыворотки крови человека и совмещение протеина с лекарственным средством, отличающийся тем, что сыворотку крови человека обрабатывают гепарином и хлоридом металла, выбранным из хлорида кальция и хлорида марганца, с выделением липопротеина в виде водного раствора концентрацией 10 мг/мл. Для совмещения с липопротеином используют лекарственное средство, выбранное из группы, включающей антибиотик, витамин, противоопухолевое средство и гормон. Совмещение липопротеина с указанным лекарственным средством осуществляют при их массовом соотношении (2–50):1 в течение 6–18 ч. Добавляют к препарату липопротеин в количестве, необходимом для восстановления исходного массового соотношения компонентов (2–50):1, с последующей стерилизацией и консервацией препарата. Для совмещения с липопротеином используют антибиотик, выбранный из группы, включающей циклоспорин, тетрациклин, *актиномицин*.

Моноклональное антитело PAM4 и его применение для диагностики и лечения рака поджелудочной железы [7]. Антитело или его фрагмент, который связывает домен, находящийся между N-концом и началом домена повторов MUC 1, где указанное антитело получено путём иммунизации муцином и/или селекции с его использованием. Направленный на раковую клетку диагностический или терапевтический конъюгат, содержащий антительный компонент, включающий в себя антитело или его фрагмент, который связывается с указанной клеткой, где указанный антительный компонент связан по меньшей мере с одним средством диагностики/детекции и/или по меньшей мере с одним терапевтическим средством. Терапевтический конъюгат, где указанное терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из радионуклида, иммуномодулятора, гормона, антагониста гормона, фермента, ингибитора фермента, *олигонуклеотида*, светочувствительного терапевтического средства, цитотоксического средства, антитела, ингибитора ангиогенеза и их комбинации. Терапевтический конъюгат, где указанный олигонуклеотид представляет собой антисмысловый олигонуклеотид... Способ, где средство усиления ультразвукового изображения представляет собой липосому, которая содержит химеризованное антитело PAM4 или его фрагмент. Терапевтический конъюгат, где указанный олигонуклеотид представляет собой антисмысловый олигонуклеотид против онкогена...

Усовершенствованная система доставки лекарств [8]. Предназначенная для перорального

приёма система доставки лекарств, включающая в себя бижидкостную пену, содержащую от 1 до 20 % по массе непрерывной гидрофильной фазы, от 70 до 98 % по массе фармацевтически приемлемого масла, образующего дискретную фазу. При этом в указанном фармацевтически приемлемом масле растворено или диспергировано малорастворимое в воде лекарственное средство в количестве от 0,1 до 20 % по массе. Оно представляет собой лекарственное средство, которое растворяется в воде в количестве, не превышающем 1 % по массе, и бижидкостную пену, включающую в себя ПАВ в количестве от 0,5 до 10 % по массе, для формирования стабильной бижидкостной пены. Все количества указаны в процентах от общей массы единичной лекарственной формы. Предназначенная для перорального приёма система доставки лекарств, где ПАВ содержит простой эфир алкилполигликоля, сложный эфир алкилполигликоля... Предназначенная для перорального приёма система доставки лекарств..., где соэмульгатор представляет собой фосфолипид или фосфолипид.

Система доставки лекарств для гидрофобных лекарственных препаратов [9]. Изобретение относится к области фармации. Сущность его состоит в разработке композиций, включающих микроагрегаты, содержащие гидрофобные лекарственные препараты, а также способы их производства. Такие *микроагрегаты* включают мицеллярные структуры или их комбинацию с микросомами, составляющие эффективный носитель доставки для гидрофобного агента. Способы производства микроагрегатов включают использование предпочтительных липидных соединений и условий обработки, способствующих улучшенной фильтрационной стерилизации. Технический результат — повышение эффективности доставки лекарственного средства, усиление фильтрационной стерилизации.

Ковалентное и нековалентное сшивание гидрофильных полимеров и адгезивные композиции, полученные с ними [10]. Водонерастворимый сшитый гидрофильный адгезивный полимер, полученный полимеризацией композиции, состоящей по существу из гидрофильного мономера и мономера с двойной функциональностью, который как подвергается полимеризации с гидрофильным мономером, так и обеспечивает ковалентные сшивки в полимере. Жидкая плёнкообразующая композиция, состоящая по существу из водонерастворимого плёнкообразующего полимера и полимера. Композиция, в которой водонерастворимый плёнкообразующий полимер выбран из акрилат-содержащих полимеров и сополимеров, поливинилацетата,

Большинство антибиотиков плохо проникают внутрь клеток. Усиление этого свойства является одной из важнейших прикладных задач. Проникновение гетероциклических антибиотиков в клетки можно улучшить путём нагрева, а также с помощью формирования специальных наноконструкций со шпильными олигонуклеотидами. Причём, цитотоксическую активность антибиотика, как оказалось, можно резко активировать его световым облучением внутри опухолевых клеток.

сополимеров этилена-винилацетата, алкилцеллюлозы, нитроцеллюлозы и полисилоксанов. Композиция, в которой активный агент выбран из бактериостатических и бактерицидных средств, антибиотиков. Водонерастворимая гидрофильная адгезивная полимерная смесь, которая не содержит ковалентных сшивок, состоящая из, по меньшей мере, одного гидрофильного длинноцепочечного полимера и, по меньшей мере, одного амфифильного сшивающего агента...

Новая самоэмульгирующаяся система доставки лекарств [11]. Стабильный безводный лекарственный препарат, содержащий, по меньшей мере, одно лекарственное средство и безводный однофазный носитель, который содержит, по меньшей мере, один полимер и, по меньшей мере, один растворитель; данный носитель является растворимым в воде, где данное лекарственное средство не растворяется в одном или более из компонентов носителя, и данный лекарственный препарат является стабильным при 37 °С, по меньшей мере, в течение двух месяцев. Стабильный безводный лекарственный препарат, где лекарственное средство содержит вещество в виде частиц. Стабильный безводный лекарственный препарат, где лекарственное средство выбрано из группы, состоящей из окситоцина, рибозимов и антисмысловых олигонуклеотидов.

Безводные однофазные носители и препараты с использованием таких носителей [12]. Наряду с одним или более чем одним неионогенным поверхностно-активным веществом; при этом указанная композиция образует *in situ* эмульсию типа «масло в воде» при контакте с водными средами, такими как желудочно-кишечные жидкости... Полученная композиция обладает высокой биодоступностью активного начала и превосходными самоэмульгирующими свойствами, без дополнительного добавления

Одним из возможных носителей гетероциклических антибиотиков может служить кофеин — химический аналог нуклеотидов. Несмотря на то, что кофеин способен снижать действие антиопухолевых препаратов, уменьшая их эффективную концентрацию в крови, при этом он препятствует «размыванию» лекарства по стенкам кровеносных сосудов и капилляров.

масляного компонента и в присутствии только небольших количеств поверхностно-активного вещества.

Высокоспецифичная противоопухолевая фармакологическая лекарственная система, синтез лекарственного средства и способ моделирования лекарственного средства [13]. Комбинация, характеризующаяся биологически инертным протолекарством и биологически инертным активационным лекарственным средством, где протолекарство представляет собой дифференциально концентрирующий фрагмент, токсический фрагмент и покрывающий фрагмент, связанные вместе таким образом, чтобы само протолекарство было, по существу, инертным. Способ избирательной доставки цитотоксического соединения к опухолевой ткани, характеризующийся использованием протолекарства... и активирующего количества фтористой соли как активационного лекарственного средства для получения фармацевтической композиции, где протолекарство доставляет цитотоксическое соединение к опухолевой ткани таким образом, чтобы предотвратить значительное повреждение нормальных тканей путём сохранения покрывающего фрагмента на протолекарстве до тех пор, пока протолекарство не сконцентрируется дифференциально в опухолевой ткани в течение периода отсрочки, и после такого периода отсрочки протолекарство продуцирует цитотоксическое соединение при воздействии фтористой соли.

Соединение [14]. Фотосенсибилизирующий агент, который содержит сульфированный мезотетрафенилхлорин или его фармацевтически приемлемую соль. Способ введения доставляемой молекулы в цитозоль клетки. Фармацевтическая композиция, в которой доставляемую молекулу выбирают из группы, включающей органические соединения, белки, фрагменты белков и нуклеиновые кислоты... Применение фотосенсибилизирующего агента и доставляемой молекулы, которую выбирают из группы, включающей ген, кодирующий терапевтический белок,

десенсибилизирующую молекулу ДНК или РНК триплекс-образующий олигонуклеотид, пептид нуклеиновой кислоты, фактор транскрипции ДНК-«ловушки» и химерный олигонуклеотид, для получения лекарства для использования в методе генной терапии, в частности в методе лечения рака.

Хотя перечисленные способы позволяют в целом улучшить доставку антибиотиков и других лекарственных соединений к опухолевым клеткам, они обладают некоторыми общими недостатками:

- а) сложность и трудоёмкость приготовления комплексов;
- б) преобладание в комплексах не природных биологических веществ, а синтетической «химии», чуждой организму человека;
- в) слипание частиц друг с другом, ведущее к снижению активности и повышению риска закупорки мелких кровеносных капилляров;
- г) налипание комплексов на стенки кровеносных сосудов и капилляров, ведущее к снижению эффективности и к появлению неспецифической токсичности;
- д) плохое проникновение комплексов в опухолевые клетки;
- е) плохое проникновение комплексов в клеточное ядро;
- ж) низкое сродство комплексов к ядерной ДНК;
- з) слишком медленное высвобождение антибиотика из комплекса.

Одним из наиболее «продвинутых» изобретений является способ, описанный в патенте «Тонкоизмельчённое фармацевтическое илинутрицевтическое порошкообразное средство с немедленным высвобождением» [15]: «Данное средство имеет размер частиц не более 100 мкм и включает сочетание, по меньшей мере, одного активного вещества, по меньшей мере, одного смачивающего средства и, по меньшей мере, одного наполнителя; активное вещество в нём является выбранным из группы, включающей никотин, кофеин».

Удачным решением в данном способе является:

- а) применение относительно небольших частиц размерами до ~100 микрон, что повышает эффективность действия активного вещества;
- б) трёхкомпонентность частиц, где один компонент является активным веществом, второй — смачивающим адгезивным веществом, а третий — наполнителем;

в) использование в составе частиц кофеина, который обеспечивает не только удержание лекарственного вещества в крови, но и его лёгкое высвобождение в опухолевые клетки.

Недостатками данного способа являются:

- а) недостаточно маленький размер частиц. Как известно, диаметр капилляров, по которым эритроциты проходят к тканям, составляет порядка 10 мк, поэтому жёсткие частицы такого размера могут повреждать капилляры и даже закупоривать их;
- б) порошкообразные частицы склонны к слипанию. Это может снижать эффективность активного вещества, а также увеличивать риск закупорки капилляров;
- в) активное вещество не защищено плотной молекулярной «оболочкой», вследствие чего происходит слишком быстрое, немедленное, высвобождение активного вещества. В результате лекарство достигает опухолевых клеток в малом количестве, в значительной степени «размазываясь» по кровеносным капиллярам.

Актиномициновые фармакосомы

Известно, что актиномицины проявляют цитотоксичность к раковым клеткам уже при довольно низких концентрациях. Но их клиническое использование лимитируется побочными токсическими эффектами, например в отношении сердечной мышцы. Побочное токсическое действие актиномицина Д (АМД) связывают с его действием на мембраны через образование опасного супероксида. Большая неспецифическая токсичность актиномицинов и плохое проникновение в клетки значительно ограничивают их применение.

Для доставки гетероциклических антибиотиков, в частности актиномицинов, к ДНК раковых клеток недавно был предложен способ [16] с использованием *фармакосом* — наночастиц диаметром 1–10 нм, состоящих из антибиотика, одноцепочечного олигонуклеотида и пуринового кластера. В фармакосомах обеспечивается защита антибиотика от сорбции на стенках кровеносных капилляров, и при этом, что очень важно, увеличивается его проникновение в опухолевые клетки.

Этот подход, в принципе, может быть использован при лечении сарком, лимфом, меланом и т. п. Одиночные не слипающиеся фармакосомы способны легко проходить по кровеносным капиллярам, доставлять антибиотик к ДНК деля-

В наших опытах при введении наноконплексов (состоящих из АМД, шпилечного олигонуклеотида НР1 и кофеина) мышам с саркомой продолжительность жизни животных выросла с 10–12 до 20–25 дней, в то время как введение антибиотика или НР1 отдельно увеличивало срок жизни всего на 1–2 дня, а введение кофеина вообще на него не влияло.

щихся опухолевых клеток и успешно проникать через их плазматическую и ядерную мембраны. Использование данного способа позволяет во много раз снизить концентрацию антибиотика, что обуславливает возможность устранить его токсическое неспецифическое действие на организм.

Одним из возможных носителей гетероциклических антибиотиков может служить кофеин [17] — химический аналог нуклеотидов. Несмотря на то, что кофеин способен снижать действие антиопухолевых препаратов, уменьшая их эффективную концентрацию в крови, при этом он препятствует «размазыванию» лекарства по стенкам кровеносных сосудов и капилляров. Кроме того, во многих случаях важна не столько концентрация лекарственного вещества в крови как таковая, сколько его способность проникать к молекулярно-биологическим «мишеням» в раковых клетках. Кофеин с АМД довольно легко попадает в делящиеся клетки, а сам АМД — плохо. Поэтому действие на опухолевые клетки актиномицинов в наноконплексах с кофеином является более сильным, чем отдельно актиномицинов. Причём перераспределение антибиотика к ДНК в ходе диссоциации комплексов АМД/кофеин обусловлено как большей прочностью комплексов АМД/ДНК, так и наличием в ДНК гораздо большего количества мест связывания.

В наших опытах при введении наноконплексов (состоящих из АМД, шпилечного олигонуклеотида НР1 и кофеина) мышам с саркомой продолжительность жизни животных выросла с 10–12 до 20–25 дней, в то время как введение антибиотика или НР1 отдельно увеличивало срок жизни всего на 1–2 дня, а введение кофеина вообще на него не влияло.

В отличие от способов, описанных в предыдущем разделе, предлагаемый способ [16] позволяет устранить перечисленные недостатки и получить гораздо более эффективное средство доставки гетероциклических антибиотиков

к ядерной ДНК раковых клеток. Действительно, данный способ:

- 1) не сложен и не трудоёмок: для приготовления фармакосомных наноккомплексов нужны лишь элементарные лабораторные принадлежности (шприц, игла, магнитная мешалка, спирт, вода) и три вполне доступных компонента, из которых можно приготовить фармакосомы за 5 мин;
- 2) фармакосомные наночастицы состоят из природных веществ, не чуждых организму человека;
- 3) фармакосомы не слипаются друг с другом и не налипают на стенки кровеносных сосудов и капилляров;
- 4) антибиотик защищён снаружи олигонуклеотидной шпилькой и пуриновым кластером;
- 5) частицы имеют чрезвычайно малый размер — до 10 нм, что позволяет повысить эффективность действия, а также уйти от риска закупорки капилляров;
- 6) наноккомплексы хорошо проникают через плазматическую и ядерную мембраны клетки;
- 7) наноккомплексы имеют высокое сродство к ядерной ДНК;
- 8) антибиотик начинает высвобождаться из наноккомплекса только после проникновения в клетку; время перераспределения к ДНК составляет порядка 1 мин.

Актиномицины

Актиномицины — это группа природных олигопептидно-гетероциклических антибиотиков, продуцируемых различными «плесневыми» актиномицетами. Самый известный из актиномицинов — актиномицин D — обычно выделяют из продуктов жизнедеятельности *Actinomyces parvullus*.

Антибиотики актиномицинового ряда в течение нескольких десятилетий используются для лечения инфекционных и опухолевых заболеваний. Такое применение основано на способности актиномицинов формировать специфический устойчивый комплекс с ядерной ДНК и ингибировать этим РНК-полимеразную реакцию, в результате чего подавляются синтез белка и клеточное деление.

В низких концентрациях актиномицины блокируют только митотическую активность опухолевых клеток, не нарушая основных метаболических процессов нормальных клеток. Более того, при использовании в очень малых количествах актиномицины могут служить пролонгаторами жизни животных.

Известно множество различных актиномицинов, обозначаемых А, В, С, D и так далее. Они имеют молекулярную массу около 1250 дальтон и представляют собой ацилированный циклопентапептидами актиоцин (2-амино-4,6-диметил-3-оксофе-ноксазин-1,9-дикарбоновая кислота). Причём пентапептидный цикл замкнут между гидроксильной группой L-треонина и карбоксильной группой N-метил-L-валина. Большое разнообразие актиномицинов обусловлено изменением состава и последовательности аминокислотных остатков в циклопентапептидах, которые включают обычно (помимо L-треонина и N-метил-L-валина) саркозин, L-пролин, D-валин, D-аллоизолейцин и L-гидроксипролин.

Типичный их представитель – АМД – состоит из плоского феноксазинового хромофора (4,6-диметил-2-амино-феноксазин-3-он-1,9-дикарбоновая кислота) и двух идентичных пентапептидолактонов, две аминогруппы которых ацилированы двумя карбоксилами хромофора (рис. 1).

При введении АМД в клетку в ней прекращается синтез всех видов РНК. Эта избирательность сохраняется *in vitro*. Действительно, АМД подавляет синтез РНК в системе ДНК-зависимой РНК-полимеразы в концентрациях на два порядка меньших, чем необходимо для подавления ДНК-полимеразы. Ингибирование РНК-полимеразы обусловлено связыванием антибиотика с ДНК-матрицей и блокированием этим элонгации полинуклеотидных цепей. Высокая специфичность связывания АМД с ДНК и малая скорость диссоциации АМД из мест связывания объясняют эффективность подавления антибиотиком считывания РНК-полимеразой полинуклеотидных цепей.

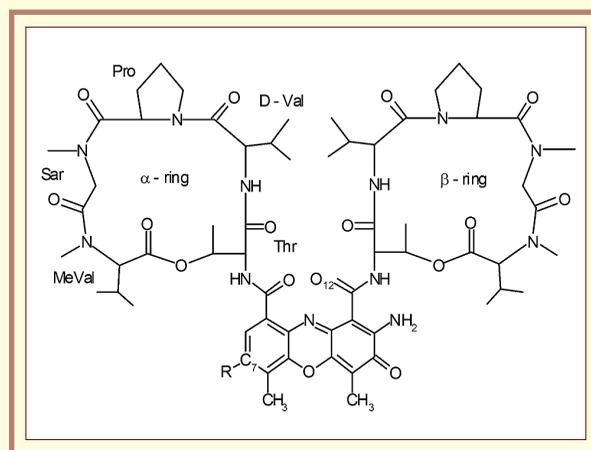


Рис. 1. Структурная формула актиномицина D. Здесь R = H в случае АМД и R = NH₂ в случае 7-амино-актиномицина (7ААМД)

Наибольшим проявлением цитотоксической функции являются ингибирование синтеза рибосомальной РНК и подавление переноса уже сформированных структурных компонентов рибосом из ядра в клетку. Падение биосинтеза белка происходит опосредованно — за счёт блокирования РНК-полимеразной реакции в отношении всех видов РНК.

Методами тканевого анализа и радиоактивных изотопов в составе актиномицинов было установлено, что в ходе актиномициновой терапии у животных антибиотик концентрируется в ядерных структурах клеток.

Противоопухолевая терапия

В медицинской практике наиболее широкое применение получил именно актиномицин Д (АМД); реже используется актиномицин С и прочие аналоги. АМД успешно используется в противоопухолевой терапии с 1940-х годов по сей день. Лекарственная форма АМД получила название «Дактиномицин» или «Космеген».

Поскольку в миллимолярных и субмиллимолярных концентрациях АМД трудно растворим в воде, причём при температуре 37 °С практически не растворим, его использование в качестве лекарственного препарата сильно затруднено.

Обычно АМД применяют в сочетании с другими лекарственными средствами (адриамицин, циклофосфан и др.) и лучевой терапией при трофобластической болезни, хориокарциноме и хорионэпителиоме матки, опухоли Вильмса, саркоме Эвинга, рабдомиосаркоме у детей, ретикулосаркоме, саркоме Юинга, лимфогранулематозе, тератобластоме яичка, меланобластоме, диссеминированной меланоме и прочих опухолях.

Лекарственная форма АМД, называемая дактиномицином, почему-то не действует на многие распространённые формы рака, но обладает высокой противоопухолевой активностью в отношении сарком, лимфом, меланом и др.

Разовая клиническая доза АМД для взрослых составляет 5 мкг на 1 кг веса, что соответствует его концентрации в кровеносном русле (при расчёте на 5 л крови) всего около 0,1 мкМ. Это означает, что константа связывания АМД с ДНК в человеческом организме должна быть порядка 10^7 M^{-1} . Отсюда ясно, что его физиологические концентрации — субмикромольные и микромолярные, но не миллимолярные.

Но даже при очень низкой концентрации АМД обладает широким спектром побочных эффектов, отражающих его общие (неспецифические) цитотоксические свойства. Блокировка синте-

В медицинской практике наиболее широкое применение получил именно актиномицин Д (АМД); реже используется актиномицин С и прочие аналоги. АМД успешно используется в противоопухолевой терапии с 1940-х годов по сей день. Лекарственная форма АМД получила название «Дактиномицин» или «Космеген».

за рибосомальной РНК и подавление переноса уже сформированных структурных компонентов рибосом из ядра в клетку — наиболее сильное проявление цитотоксического эффекта на клеточном уровне. Кроме того, являясь весьма гидрофобным соединением, АМД легко адсорбируется на клеточных мембранах и взаимодействует со окислительно-восстановительными белками. Акцептируя электрон, АМД превращается в свободнорадикальное производное, которое вызывает изменение конформации транспортных мембранных белков, ведущее к подавлению транспортных функций мембран.

На организменном уровне при применении АМД относительно часто наблюдается множество осложнений. Использование актиномицинов в клинике имеет большие ограничения, связанные с их общим токсическим действием на человеческий организм. При применении препаратов возможны множественные побочные эффекты: тошнота, рвота, боль в животе, повышение температуры, стоматит, кожные высыпания, эритема и др. При этом часто имеют место лейкопения, тромбоцитопения, а также панцитопения. Всё это — результат сильного нефротоксического и гепатотоксического действия актиномицинов. Следствием является обширность медицинских противопоказаний.

Неслучайно проводился активный поиск и синтез более простых и эффективных, но менее токсичных производных актиномицинов, однако он, к сожалению, не привёл к успеху.

Главная задача оптимизации медицинского использования актиномицинов — поиск путей повышения мембранной проницаемости, а также направленной доставки актиномицина к функциональной мишени — молекуле ДНК. Имеется небольшое количество работ, в которых исследователи использовали фосфолипидные липосомы со встроенным АМД для его трансмембранного переноса в опухолевые клетки. Однако данный методический подход не получил широкого клинического применения.

Проблема доставки антибиотиков к клеточной ДНК

Таблица 1

Интенсивность флуоресценции 7-амино-актиномицина D в клетках HeLa

Ввиду своей гидрофобности гетероциклические антибиотики, и в частности актиномицины, способны к самоассоциации и к взаимодействию с клеточными мембранами. Некоторые другие антибиотики заметно усиливают способность актиномицинов проникать в эукариотические клетки, как было показано, например, для амфотрицина Б на клетках *HeLa*.

АМД имеет тропность не только к ДНК, но и к липидам. В присутствии АМД основной пик фазового перехода димеристоилфосфатидилхолина заметно уширяется, появляется дополнительный пик при более низкой температуре.

Сообщалось также о транспортировке АМД в составе липидного бислоя липосом в опухолевые клетки при использовании липосом, покрытых антителами к мембранным белкам опухолевых клеток, для адресной доставки АМД к ДНК раковых клеток.

Проникновение актиномицинов в клетки HeLa

Недавно (автором совместно с Бычковым М. Л., Ещенко Н. С. и Ким Я. В.) было проведено исследование проникновения АМД и 7-амино-актиномицина D (7ААМД) в опухолевые клетки линии *HeLa* в мягких (инкубация 5 мин при 20 °С) и жёстких (инкубация 30 мин при 37 °С) условиях. Использовались опухолевые клетки *HeLa*, культивированные на питательной среде RPMI 1640. Средой для работы с клетками был 20 мМ трис с 200 мМ сахарозой (рН = 7,5). Сначала образцы после инкубации подвергались центрифугированию 600 об/мин для осаждения клеток (в них, таким образом, оставался только внутриклеточный 7ААМД или АМД). После этого супернатант отбирали и отбрасывали, а осадок клеток разбавляли до исходной концентрации.

Было показано, что при мягких условиях инкубации 7АМД и АМД в микромолярных концентрациях не проникают в клетки *HeLa*.

Однако в жёстких условиях наблюдалось хорошее проникновение. В табл. 1 приведены данные по проникновению 7ААМД из внешнего раствора внутрь клеток. Чётко видно, что исходно в растворе антибиотик есть, а после инкубации — практически отсутствует. Он почти полностью входит в клетки. При этом нужно отметить исходную (до инкубации) неаддитивность интенсивности флуоресценции антибиотика и фоновой интенсивности клеток. Это однозначно говорит о том, что внутри клеток он флуоресци-

Исходно:	Интенсивность флуоресценции
Внешний раствор	0,25
Клетки с 7ААМД	0,31
Клетки	0,26
После инкубации:	(30 мин при 37 °С)
Внешний раствор	0,01
Клетки с 7ААМД	2
Клетки	0,66

Примечание. Образцы флуориметрировались в зеркальных микрокуветках. Возбуждение — 540 нм, эмиссия — 610 нм.

рует гораздо слабее, чем во внешнем растворе. Значит, либо антибиотик, входя в клетки, хуже поглощает возбуждающий свет, либо (и) он чем-то в клетках сильно тушится. Однако после инкубации, когда антибиотика в клетках становится много, он начинает флуоресцировать довольно интенсивно — почти на порядок сильнее, чем исходно в растворе.

При проникновении актиномицинов в клетки они способны тушить триптофановую флуоресценцию белков. Данные для АМД показаны в табл. 2. Для исключения экранирования внешними молекулами АМД раствора измерения были проведены на инкубированных в течение 30 мин клетках с последующим их повторным переосаждением (с накопившимся внутри них антибиотиком).

Таблица 2

Влияние внутриклеточного АМД на интенсивность триптофановой флуоресценции белков клеток HeLa

Состав пробы	Интенсивность триптофановой флуоресценции, отн. ед.
Клетки	0,14
Клетки + АМД	0,07
Клетки + АМД + кофеин	0,12

Примечание. Возбуждение — 295 нм, эмиссия — 338 нм.

Интересно, что АМД в комплексе с кофеином тушит триптофановую флуоресценцию белков в клетках менее активно, чем сам по себе, без кофеина. Возможная причина заключается в том, что кластеры кофеина в растворе сорбируют АМД на себя, не давая ему перераспределяться в клетки.

С помощью оптической микроскопии (для визуализации антибиотика в клетках) и цифровой фотосъёмки было показано, что АМД и его комплекс с кофеином при 20 °С сорбируются на плазматической мембране клеток *HeLa* в течение первых 10 мин и затем проникают внутрь клеток при комнатной температуре только после 30-минутной инкубации.

Цитотоксическое действие актиномициновых комплексов с НР1 на клетки карциномы Эрлиха

Поскольку АМД плохо проникает в клетки сквозь цитоплазматическую мембрану (нужно отметить, что тут кофеин не всегда помогает), сильно налипая на их поверхность, то проблема его доставки внутрь к клеточной ДНК должна быть решена каким-либо особым способом.

Как известно, в медицине для наступления хотя бы первоначальных терапевтических эффектов в процессе актиномициновой терапии необходим период более суток.

При добавлении АМД или 7ААМД в концентрации 10 мкМ они концентрируются на наружной поверхности клеток и в толще плазматической мембраны. И только затем происходит очень медленное проникновение антибиотика внутрь. Например, клетки асцитной карциномы Эрлиха мышей приходится для этого инкубировать при температуре 37 °С в течение суток.

С помощью люминесцентной микроскопии были исследованы места локализации антибиотика в клеточных структурах после инкубации клеток асцитной карциномы Эрлиха в течение суток со свободным 7ААМД или с комплексом 7ААМД/НР1. Было обнаружено, что в случае свободно добавленного антибиотика он аккумулируется в плазматической мембране клеток, сильно окрашивая её. В случае же применения комплекса наблюдается интенсивное тотальное прокрашивание антибиотиком ядерных структур клеток.

Изучение при этом цитотоксического воздействия актиномициновых комплексов на клетках карциномы Эрлиха показало, что добавление АМД в питательную среду вызывает лишь небольшое увеличение гибели клеток по сравнению с контролем (без АМД). Это связано с тем, что АМД плохо проникает внутрь клеток.

При использовании комплексов АМД или 7ААМД со шпилечным олигонуклеотидом НР1 (в молярном соотношении 1 : 1) проникновение резко возрастало. При этом наблюдалось интенсивное тотальное прокрашивание антибиотиком ядерных структур клеток. При инкубации клеток в среде с такими комплексами гибель опухолевых клеток существенно возрастала (рис. 2). Цитотоксичность же самого НР1 в отношении карциномы была сравнима с цитотоксичностью свободного АМД и не превышала 6 % (за вычетом спонтанной гибели клеток в контроле).

Итак, НР1 существенно потенцирует действие АМД. Устойчивость комплекса может обеспечить его прохождение как через плазматическую, так и через ядерную мембрану. Способность шпилечного олигонуклеотида НР1 доставлять антибиотик внутрь клеток и вызывать цитотоксическое действие объясняется его высокой гидрофобностью и большой плотностью упаковки в комплексе с антибиотиком, что создаёт условия для эффективного транспорта через цитоплазматическую (и, возможно, ядерную) мембрану с последующим переносом актиномицина на ДНК. Для быстрой диссоциации антибиотика из комплекса АМД/НР1, вероятно, необходим непосредственный контакт комплекса с ядерной ДНК.

Полученные результаты дают основание рассматривать олигонуклеотидные шпильки как потенциальные трансмембранные переносчики актиномициновых антибиотиков (и вообще аналогичных гетероциклических антибиотиков) к ДНК опухолевых клеток.

Противоположный результат был получен для комплексов актиномицинов АМД или 7ААМД

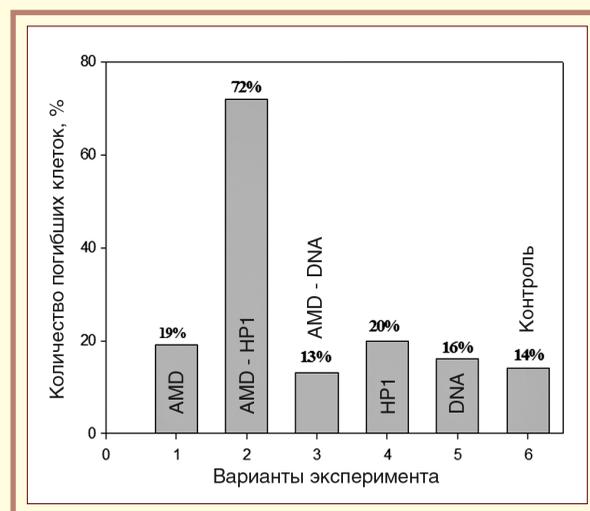


Рис. 2. Цитотоксическое действие комплекса АМД/НР1 на клетки асцитной карциномы Эрлиха (0,5 млн клеток в 1 мл) в питательной среде (рН = 7,5). Гибель клеток измерена с помощью прокрашивания трипановым синим

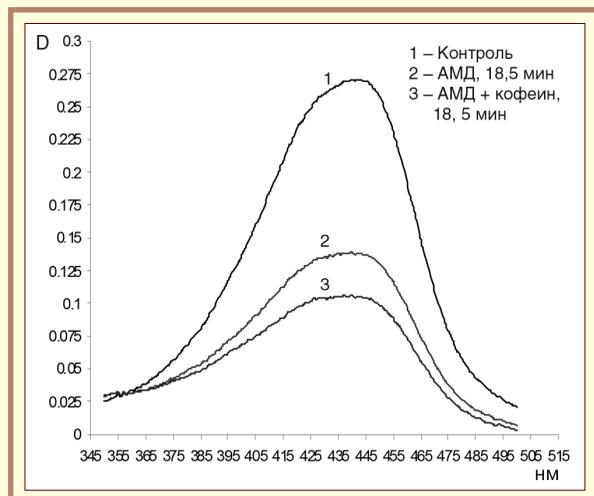


Рис. 3. Фотодеструкция АМД в водном растворе: спектр поглощения исходно (вверху), после облучения (внизу); то же в присутствии кофеина (между). Спектры поглощения измерены на спектрофотометре сразу же после 18,5 - минутного облучения

с ДНК (в соотношении молярных концентраций антибиотика и нуклеотидов ДНК 1 : 20): проникновение антибиотика внутрь клеток карциномы Эрлиха заметно ухудшалось. Никакого усиления его действия не наблюдалось, напротив, гибель клеток даже несколько уменьшилась. В экспериментах использовались комплексы АМД или 7ААМД с тимусной ДНК; концентрация антибиотика составляла 10 мкМ, а нуклеотидов ДНК — 200 мкМ. Этот результат согласуется с давно известными данными о снижении бактерицидной функции актиномицинов в присутствии ДНК. Макромолекула ДНК, связывая на себе антибиотик, резко понижает концентрацию его свободной формы и этим препятствует проникновению в клетку. Причём ДНК снаружи ни сама, ни в комплексе с антибиотиком не способна проникать в интактную клетку.

Результаты модельного эксперимента на асцитных клетках (с периодом инкубации 1 сут) позволяют предположить, что использование комплексов гетероциклических антибиотиков с НР1 может приводить к интенсификации противоопухолевой терапии и снижению побочного общетоксического действия антибиотика.

Фотохимическая активность

АМД в комплексе с ДНК обладает биологической фотодинамической активностью: в электронно-возбуждённом состоянии акцептирует с ДНК электрон, что приводит к генерации свободных радикалов.

В наших опытах при облучении водного раствора АМД (без клеток) в течение 18 мин в зер-

кальной микрокювете светом ксеноновой лампы мощностью 450 Вт с использованием пятипроцентного раствора сульфата меди в качестве теплового фильтра обнаруживается заметная фотодеструкция, чётко видимая по фотоблэчингу (выцветанию) в спектре поглощения (рис. 3).

Интересно, что такое пуриновое вещество как кофеин в миллимолярных концентрациях увеличивает степень фотодеструкции АМД. Вероятно, это связано с тем, что при сорбции на поверхности кофеиновых кластеров антибиотик существенно экранирован от воды, забирающей энергию электронного возбуждения на свои колебательные моды.

В случае 7ААМД фотодеструкция даже при очень малых концентрациях антибиотика очень ясно проявляется в уменьшении интенсивности флуоресценции. Например, при измерениях на флуоресцентном корреляционном микроскопе ConfoCor причиной этого является сильный фотоблэчинг из-за высокой плотности возбуждающего света. Рис. 4 демонстрирует, что в ходе измерения происходит непрерывная фотодеструкция антибиотика и что зависимость фотодеструкции от времени плохо описывается одноэкспоненциальной функцией. При описании двухэкспоненциальной зависимостью получаются примерно равные компоненты с характерными временами в 2 и 34 с. Следовательно, 7ААМД в водном растворе существует как минимум в двух отличающихся по фотостабильности состояниях. Время жизни каждого из этих состояний больше времени диффузии через конфокальный объём. Значит, речь идёт, вероятно, о долгоживущих триплетях.

Фотохимическая активность 7ААМД заметно возрастает после того, как он связывается с ДНК, что позволяет в дальнейшем использовать его в фотодинамической терапии. Наиболее фото-

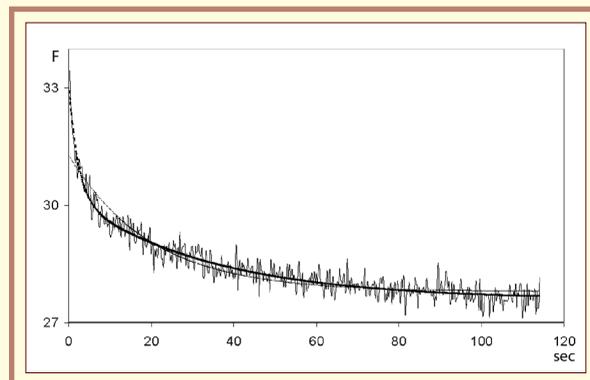


Рис. 4. Кинетика фотодеструкции 7ААМД в микронном объёме после включения лазера на ConfoCor. Одноэкспоненциальное (1) и двухэкспоненциальное (2) приближение. I_{ϕ} — интенсивность флуоресценции

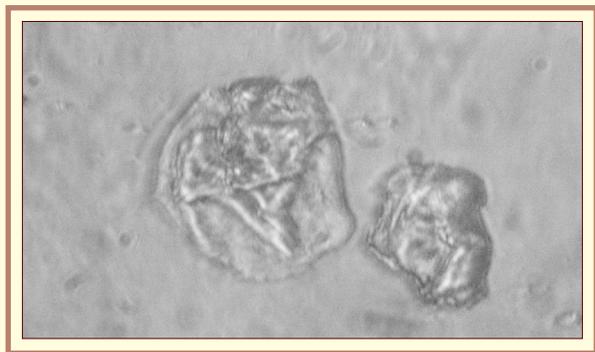


Рис. 5. Микрофотография клеток *HeLa*, прокрашившихся АМД, в проходящем свете. Микроскоп *Carl Zeiss* и фотокамера *Sony Cyber Shot* (разрешение 5 Мп)

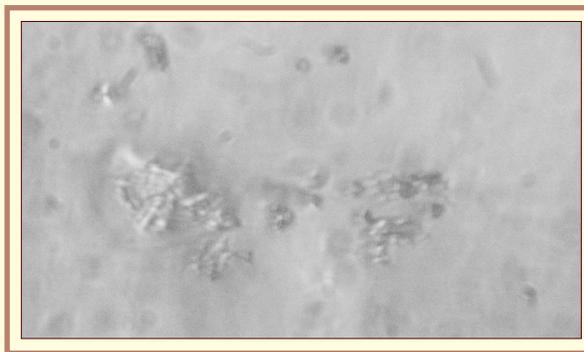


Рис. 6. Микрофотография клеток *HeLa*, прокрашившихся АМД, после облучения светом

химически активным оказалось состояние во фрагментированной тимусной ДНК, наименее фоточувствительным — в плазмиде рGEM3Zf(+).

Фотодеструкция клеток

Оказалось, что АМД заметно способствует фотодеструкции клеток: без антибиотика при облучении светом (ксеноновая лампа 450 Вт с тепловым фильтром — раствором сернокислрой меди) разрушается около 20 % клеток, а при проникновении АМД внутрь — около 60 %. На фотографии (рис. 5) показаны клетки *HeLa*, прокрашившиеся АМД. При облучении светом часть клеток полностью разрушается, а часть сильно повреждается (рис. 6).

При фоторазрушении клеток *HeLa* оставшийся недеструктурированным пул антибиотика из них выходит, и оптическая плотность раствора повышается (рис. 7). Это однозначно говорит о том, что светопоглощательная способность антибиотика внутри клеток существенно ниже, чем в растворе.

Коротковолновый сдвиг максимума поглощения у АМД (после фотодеструкции и выхода оставшегося пула антибиотика в воду) составляет около 5 нм.

По-видимому, спектр АМД, регистрируемый после его фотодеструкции в *HeLa*, обусловлен

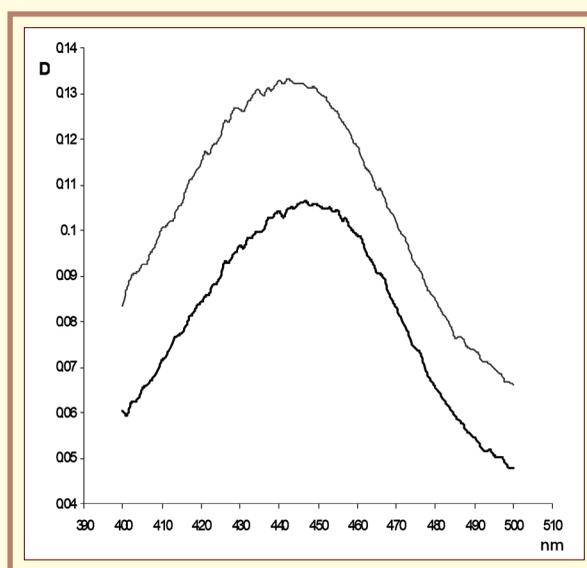


Рис. 7. Выход АМД в раствор при фотодеструкции клеток *HeLa*. Фотодеструкция проводилась с помощью ксеноновой лампы мощностью 450 Вт через жидкостный тепловой фильтр (пятипроцентный раствор сульфата меди). Образцы при облучении и последующем спектрофотометрировании находились в стандартных кварцевых кюветках

в основном не свободными молекулами антибиотика, а связанными с биомакромолекулами (так как сам АМД гидрофобен и поэтому не слишком хорошо растворим в воде).

Литература

1. Векшин Н. Л. Биофизика ДНК-актиномициновых наноконплексов. Пушино: Фотон-век, 2009.
2. Саламон Д. С. и др. Патент РФ № 2005100840/04.
3. Чжоу Тун и др. Патент РФ № 2004116475.
4. Винсент П. У. и др. Патент РФ № 2004120785.
5. Фарма Маар и др. Патент РФ № 98101364.
6. Гусев С. А. и др. Патент РФ № 96107922/14.
7. Голд Д. и др. Патент РФ № 2005100777/13.
8. Чарман У. и др. Патент РФ № 2006106173/14.

9. Бок Р. Э. и др. Патент РФ № 2003132694/15.
10. Фельдштейн М. М. и др. Патент РФ № 2005131950.
11. Хольмберг К. и др. Патент РФ № 2002122745/15.
12. Ферейра П. и др. Патент РФ № 2005133427/15.
13. Уолкер Э. Х. Патент РФ № 2005121571.
14. Ремингтон К. и др. Патент РФ № 2004109228/15.
15. Бесс Ж. и др. Патент РФ № 2004122919.
16. Векшин Н. Л. Патент РФ № 2372073.
17. Битехтина М. А., Векшин Н. Л. // *Биоорг. химия*. 2008. Т. 34. № 2. С. 256–261.

© Жирихина М. С., Игуменцев П. А., 2011

УДК 619:615.012.6

Наносредства серии «ВЕТ» и их перспективность для ветеринарии



ЖИРИХИНА
Мария Сергеевна

Московская государственная академия
ветеринарной медицины и биотехнологии
имени К. И. Скрябина

Кафедра микробиологии

Аспирант



ИГУМЕНЦЕВ
Пётр Александрович

Московская государственная академия
ветеринарной медицины и биотехнологии
имени К. И. Скрябина

Кафедра микробиологии

Аспирант

Об авторах

Жирихина Мария Сергеевна в 2010 г. окончила факультет ветеринарной медицины Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина. Аспирант кафедры микробиологии данного вуза.

Область научных интересов — изучение антимикробной и противопаразитарной активности наноструктурированных средств и внедрение их в практику ветеринарии.

Игуменцев Пётр Александрович — аспирант кафедры микробиологии Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина. Окончил Военно-ветеринарный институт Министерства обороны РФ, лейтенант медицинской службы.

Область научных интересов — внедрение в ветеринарию препаратов, разработанных и созданных на основе нанобиотехнологий.

Кпрепаратам для животноводства, разрабатываемым в рамках инновационных проектов, предъявляются такие требования, как высокая эффективность, универсальность, многофункциональность, безвредность для человека и животных, экологическая безопасность, доступность. При этом новые средства должны разрабатываться отечественными учёными и производиться на российских предприятиях, что делает данную продукцию воспроизводимой для экономики и доступной для потребителя.

Ключевые слова: *наноструктурированные биоциды, фузобактериоз, грибные инфекции, антимикробные и противопаразитарные средства.*

The preparations for the stock-raising, developed within the framework of innovative projects, must answer such criteria, as high efficiency, universality, a lot of functionality, harmlessness for a man and animals, ecological safety, availability. Thus, new tools must be developed by domestic scientists and made on the Russian enterprises, that will do the given products for the economy of reproduced, and for an user — accessible.

Keywords: *electron microscopy, nanobacteria, antibiotics, morphology.*

Сельскохозяйственное производство России получило мощный импульс для развития в связи с реализацией национальных программ, ориентированных на продовольственную безопасность страны. Разработка и внедрение в ветеринарную практику лечебно-профилактических средств, выполненных в рамках инновационных проектов, — актуальная задача для экономики РФ [2, 10].

Целью наших исследований являлось определение перспективных для сельского хозяйства и ветеринарии инновационных проектов, которые могут не только улучшить ситуацию с инфекционными и паразитарными болезнями животных, но и оказать влияние на социальный прогресс России в целом.

Проанализировав большой объём информации о достижениях отечественной науки в различных отраслях российской экономики, эпизоотическую обстановку в стране и опираясь на авторитетные мнения известных учёных, мы выделили следующие перспективные направления в развитии сельскохозяйственного производства и ветеринарии.

1. Создание универсальных биоцидов, обладающих антимикробным и противопаразитарным действием, предназначенных для обеззараживания объектов окружающей среды.

На отечественном рынке медицинских и ветеринарных препаратов представлен большой ассортимент дезинфицирующих средств на основе различных биоцидных субстанций,

в том числе наноструктурированные антисептики и дезинфектанты. Однако в практике борьбы с паразитарными болезнями животных и их профилактики отсутствуют современные эффективные паразитоциды, применяемые для обеззараживания окружающей среды [1, 3].

По статистическим данным, в России заражённость различными паразитами среди разных видов животных составляет около 100 %. Причём до 85 % паразитозов — общие для человека и животных.

Высокий уровень заболеваемости населения и животных паразитами способствует экстенсивному и интенсивному обсеменению возбудителями паразитарных болезней различных объектов окружающей среды [4].

Трудность борьбы с паразитарными болезнями состоит в том, что их возбудители обладают чрезвычайно высокой плодовитостью и надёжно защищены от неблагоприятных факторов внешней среды полупроницаемой липоидной оболочкой.

Только благодаря нанотехнологиям можно создать эффективный универсальный биоцид с антимикробным и противопаразитарным действием, предназначенный для обеззараживания объектов окружающей среды [9].

Одним из подобных биоцидов является наносредство на основе отечественной запатентованной антимикробной субстанции «ВЕЛТОН», обладающее не только антибактериальной и противовирусной активностью, но и противопаразитарным действием в отношении яиц и личинок гельминтов, цист и ооцист патогенных простейших.

При лабораторных испытаниях установлено, что данный биоцид проникает через многослойную липоидную оболочку яиц гельминтов, вызывая их дегенеративные изменения, а также инактивируя и разрушая возбудителей гельминтозов на личиночной стадии развития. Гибель яиц и личинок была отмечена в первые три часа с начала постановки опыта.

Новое наносредство на основе субстанции «ВЕЛТОН» благодаря его высокой дезинфицирующей, паразитоцидной эффективности и безопасности для окружающей среды может применяться в эпидемических и эпизоотических очагах, а также в очагах паразитозов.

2. Разработка нано- и липосомальных антибактериальных препаратов, направленных на уничтожение *in vivo* и *in vitro* внутриклеточных микроорганизмов, в том числе вирусов, микоплазм, риккетсий, хламидий, а также L-форм бактерий.

Решение данной проблемы — одна из неотложных задач ветеринарии, поскольку в L-форме в организме животных и во внешней среде могут сохраняться многие виды патогенных бактерий (возбудители бруцеллёза, туберкулёза, стафилококкозов, стрептококкозов, клостридиозов и др.).

При нерациональном использовании антибиотиков и других химиотерапевтических препаратов бактерии, превратившись в L-формы, способны длительное время персистировать в макроорганизме, вызывать хронически протекающие инфекции и рецидивы болезней, нанося существенный экономический ущерб животноводству. Учитывая социальную значимость вышеперечисленных микроорганизмов, нельзя сбрасывать со счетов и медицинский аспект данной проблемы.

На отечественном рынке медицинских и ветеринарных препаратов представлен большой ассортимент дезинфицирующих средств на основе различных биоцидных субстанций, в том числе наноструктурированные антисептики и дезинфектанты. Однако в практике борьбы с паразитарными болезнями животных и их профилактики отсутствуют современные эффективные паразитоциды, применяемые для обеззараживания окружающей среды.

Только благодаря нанотехнологиям можно создать эффективный универсальный биоцид с антимикробным и противопаразитарным действием, предназначенный для обеззараживания объектов окружающей среды.

Одним из подобных биоцидов является наносредство на основе отечественной запатентованной антимикробной субстанции «ВЕЛТОН», обладающее не только антибактериальной и противовирусной активностью, но и противопаразитарным действием.

Бактерии, у которых отсутствует клеточная стенка, существуют и в природе: это микоплазмы, которые вызывают у людей и животных респираторные, кишечные и половые инфекции, обуславливающие патологию и внутриутробную гибель плода, активирование многих вирусов, развитие иммунодефицитных состояний организма и т. п. Поэтому нано- и липосомальные антибактериальные препараты, обладающие уникальной способностью проникать через цитоплазматические мембраны лишённых клеточной стенки микроорганизмов, являются перспективными средствами, направленными на уничтожение L-форм микроорганизмов и микоплазм как *in vivo*, так и во внешней среде [6].

Сотрудниками НПО «ВЕЛТ» разработан и зарегистрирован для применения на территории РФ бесспиртовой наноструктурированный антисептик «ВЕЛТОСФЕР». В качестве действующего вещества он содержит субстанцию «ВЕЛТОН» и комплекс гликофинголипидов. Основой комплекса являются отрицательно заряженные липиды — цереброзиды, холестерин и другие нейтральные липиды, самообразующие в воде коллоидную систему в виде нанотрубок и наносом размером менее 100 нм. Эффективность включения субстанции «ВЕЛТОН» в наносомы препарата составляет 35 %.

Препарат показал высокую эффективность при обеззараживании инъекционного и операционного полей, слизистых и серозных оболочек при полостных операциях, при лечении животных с инфицированными ранами и травматическими повреждениями суставов. «ВЕЛТОСФЕР» ускоряет процессы регенерации тканей, улучшает состояние кожных покровов и слизистых оболочек [7].

«ВЕЛТОСФЕР» с успехом применяется в ветеринарии при лечении инфекционных болезней, вызванных не только бактериями, в том числе

микоплазмами и хламидиями, но и патогенными грибами — возбудителями микозов и микотоксикозов.

3. Создание универсальных противогрибных препаратов, обладающих высокой фунгицидной и бактерицидной активностью в отношении широкого спектра микроорганизмов, в том числе возбудителей дерматомикозов, микотоксикозов, а также плесневых грибов, портящих сельскохозяйственную продукцию.

Дерматомикозы — одна из серьёзных медико-социальных проблем во многих странах мира. Специфическая профилактика трихофитии и микроспории позволила значительно снизить уровень заболеваемости сельскохозяйственных и мелких домашних животных грибными инфекциями, однако нерациональное использование вакцинных препаратов и антибиотиков привело к усилению патогенных и вирулентных свойств дерматофитов и обострило проблему дерматомикозов, особенно в мегаполисах. Кроме того, рост числа домашних животных и большое количество бездомных собак и кошек способствуют поддержанию неблагополучия по дерматомикозам животных в большинстве населённых пунктов РФ.

Проблема грибных инфекций усугубляется ещё и тем, что микозы, как правило, осложняются вторичными бактериальными и вирусными инфекциями, на фоне которых развиваются стрепто- и стафилококкозы, демодекозы и др.

Немаловажное значение для экономики России имеет создание эффективных и экологически безопасных средств, направленных на предотвращение заражения продукции животного и растительного происхождения, в том числе кормов, плесневыми грибами и возбудителями микотоксикозов.

В НИИ биоцидов и нанобиотехнологий создан новый биоцид, обладающий антимикробной и противогрибной активностью. Препарат показал 100-процентную эффективность при однократном наружном применении для лечения мелких домашних и сельскохозяйственных жи-

«ВЕЛТОСФЕР» с успехом применяется в ветеринарии при лечении инфекционных болезней, вызванных не только бактериями, в том числе микоплазмами и хламидиями, но и патогенными грибами — возбудителями микозов и микотоксикозов.

За последние годы заболеваемость крупного рогатого скота некробактериозом вышла на одно из первых мест в структуре инфекционной патологии животных и в России, и во многих странах мира. В хозяйствах, где отмечается длительный период неблагополучия по этой болезни, использование вакцин против некробактериоза не всегда даёт положительный результат.

вотных, больных трихофитией, микроспорией, стафило- и стрептококкозами. Препарат также эффективен при обеззараживании различных поверхностей, поражённых плесневыми и дрожжеподобными грибами [5].

4. Разработка антибактериальных препаратов на основе нанотехнологий для борьбы с инфекционными болезнями животных, широко распространёнными на территории России и наносящими значительный экономический ущерб животноводству.

Развитие нанотехнологий с применением липидных молекул даёт возможность создавать новые высокоэффективные, дешёвые и экологически чистые средства доставки различных веществ непосредственно в клетки определённых органов и тканей, а также в микроорганизмы.

Данный аспект особенно актуален при разработке нанопрепаратов, предназначенных для борьбы с инфекционными болезнями животных, вызываемыми анаэробными микроорганизмами, например фузобактериями.

За последние годы заболеваемость крупного рогатого скота некробактериозом вышла на одно из первых мест в структуре инфекционной патологии животных и в России, и во многих странах мира. В хозяйствах, где отмечается длительный период неблагополучия по этой болезни, использование вакцин против некробактериоза не всегда даёт положительный результат. В этой связи целесообразна разработка антибактериальных препаратов для наружного применения на основе наносом, способных глубоко проникать в повреждённые фузобактериями ткани животных и обладающих противовоспалительным, ранозаживляющим и бактерицидным действием.

Сотрудниками НИИ биоцидов и нанобиотехнологий на основе отечественной запатентованной субстанции «ВЕЛТОН» создан нанопрепарат «ФУЗОБАКВЕЛТ», имеющий высокую лечебно-

Препараты для животноводства должны отвечать таким критериям, как высокая эффективность, универсальность, многофункциональность, безвредность для человека, животных и растений, экологическая безопасность, доступность. Данным требованиям соответствуют отечественные препараты серии «ВЕЛТ», которые не имеют аналогов по эффективности, безвредности и экологической безопасности.

профилактическую эффективность при некробактериозе и копытной гнили животных. При широких производственных испытаниях «ФУЗОБАКВЕЛТА» было установлено, что применение средства один раз в день в течение семи дней способствует обеззараживанию гнойно-некротических ран и ускоряет эпителизацию тканей [8].

Аналогичных «ФУЗОБАКВЕЛТУ» препаратов на российском рынке нет, хотя потребность в подобных средствах достаточно велика, что требует создания новых нанолечарств.

Заключение

Препараты для животноводства, разработанные в рамках инновационных проектов, должны отвечать таким критериям, как высокая эффективность, универсальность, многофункциональность, безвредность для человека, животных и растений, экологическая безопасность, доступность. Данным требованиям соответствуют отечественные препараты серии «ВЕЛТ», которые на сегодняшний день являются наиболее перспективными средствами, не имеющими аналогов по эффективности, безвредности и экологической безопасности.

Необходимо признать, что российское сельское хозяйство всё ещё остаётся консервативной отраслью, куда с трудом внедряются инновационные разработки и продукты высоких технологий. Однако прогресс не стоит на месте, и сельское хозяйство должно стать тем высокотехнологичным сектором экономики, куда необходимо направлять ресурсы в рамках реализации национальных проектов развития агропромышленного комплекса России с целью обеспечения биологической безопасности сельскохозяйственной продукции.

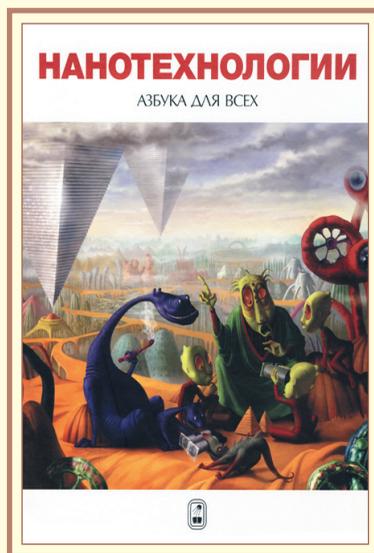
Литература

1. Белова В. И., Волков Ю. П. Основные направления исследований в разработке дезинфицирующих и антисептических средств / Научные основы дезинфекции и стерилизации: Сб. науч. тр. М.: ММА, 2001. С. 13–18.
2. Берлин А. А., Ассовский И. Г. Нанокompозиты: перспективные материалы и технологии. Т. 2. М.: Торус Пресс, 2005.
3. Бухарин О. В., Перунова Н. Б., Ерёмин М. Н. Отбор дезинфектантов, подавляющих персистентный потенциал патогенов / Актуальные вопросы теории и практики дезинфектологии: Сб. науч. тр. Т. 1. М.: НИИ дезинфектологии, 2008. С. 91–92.
4. Грязнева Т. Н., Иванова Е. Б., Волков И. А. Нанобиотехнологии и новые подходы к профилактике паразитарных болезней человека и животных // Жизнь без опасностей. 2007. № 3. С. 46–48.
5. Грязнева Т. Н., Иванова Е. Б., Кудинова Т. А. Изучение биоцидных свойств препарата «Миковелт» в отношении дерматофитов // Жизнь без опасностей. 2008. № 4. С. 96–97.
6. Еремеева Н. И., Кравченко М. А. Действие дезинфектантов на основе ЧАС на клинические штаммы микобактерий с множественной лекарственной устойчивостью / Материалы международного съезда фтизиатров. М.: НИИТ, 2007. С. 120–121.
7. Иванова Е. Б., Романова Т. В., Грязнева Т. Н. Использование передовых нанобиотехнологий для создания рецептуры бесспиртового кожного антисептика «Велтосфер» // Жизнь без опасностей. 2007. № 2. С. 64–66.
8. Иванова Е. Б., Грязнева Т. Н., Спиридонов А. В. Применение нанолечарства «Фузобаквелт» при некробактериозе крупного рогатого скота // Достижения науки и техники АПК. 2008. № 2. С. 40–41.
9. Иванова Е. Б., Емшанов О. В. Инновационные отечественные разработки в области дезинфекции на основе современных нанобиотехнологий // Актуальные вопросы теории и практики дезинфектологии: Сб. науч. тр. Т. 1. М.: НИИ дезинфектологии, 2008. С. 118–120.
10. Смирнов А. М. Актуальные проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии // Актуальные проблемы медико-биологической защиты: Сб. науч. тр. М.: Нац. союз «МБЗ», 2006. С. 156–160.

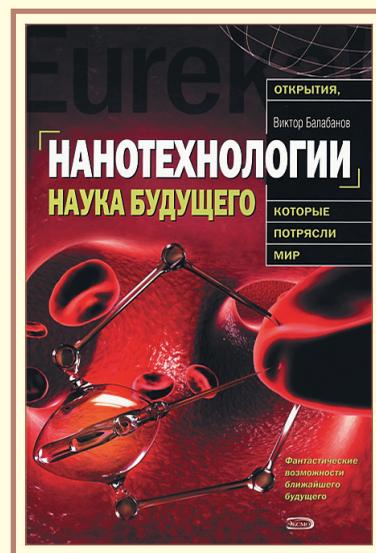
Библиотека



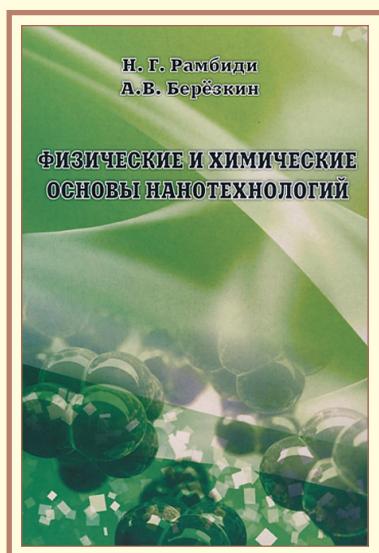
Уильямс Л., Адамс У.
Нанотехнологии без тайн /
Пер. с англ. Ю. Г. Гордиенко. —
М.: ЭКСМО, 2009. — 368 с.: ил.



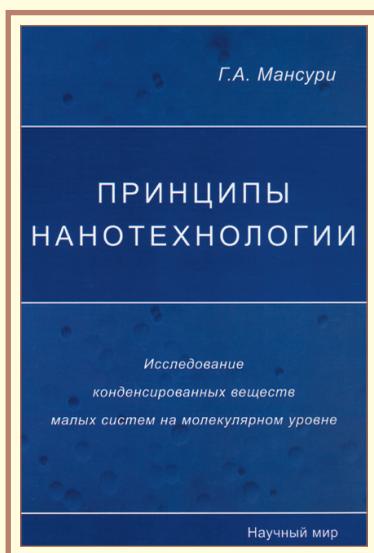
Нанотехнологии.
Азбука для всех /
Под ред. Ю. Д. Третьякова. —
М.: ФИЗМАТЛИТ, 2009. —
2-е изд., испр. и доп. — 368 с.



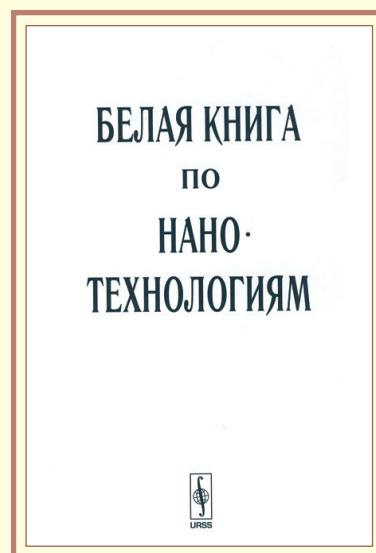
Балабанов В. И.
Нанотехнологии.
Наука будущего. — М.: ЭКСМО,
2009. — 256 с.



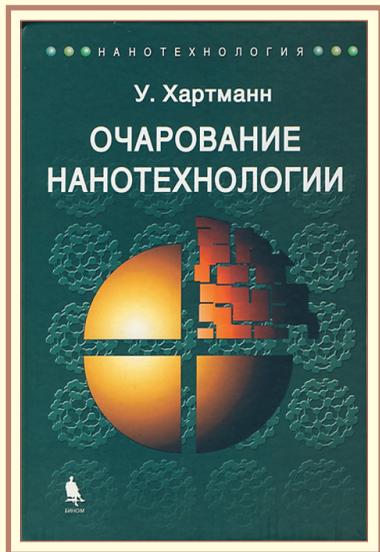
Рамбиди Н. Г., Берёзкин А. В.
Физические и химические основы нанотехнологий. —
М.: ФИЗМАТЛИТ, 2008. — 456 с.



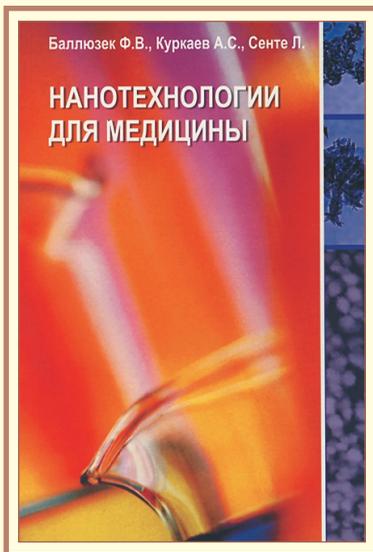
Мансури Г. А.
Принципы нанотехнологий.
Исследование конденсированных веществ малых систем на молекулярном уровне /
Пер. с англ. А. С. Пак. —
М.: Научный мир, 2008. —
320 с., 8 с. ил.



Белая книга по нанотехнологиям: Исследования в области наночастиц, наноструктур и нанокомпозитов в РФ (по материалам Первого Всероссийского совещания учёных, инженеров и производителей в области нанотехнологий). — М.: Издат. ЛКИ, 2008. — 344 с., цв. вкл.



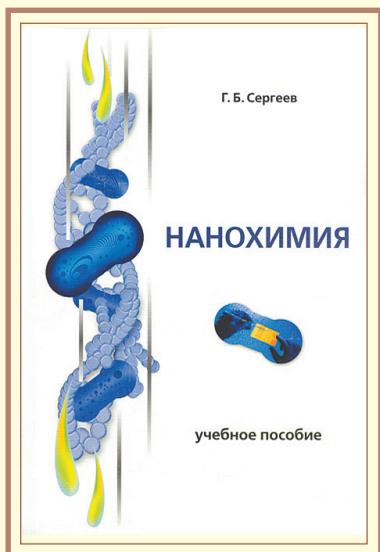
Хартман У.
Очарование нанотехнологии /
Пер. с нем. — М.: БИНОМ.
Лаборатория знаний, 2008. —
173 с.: ил.



Баллюзек Ф. В., Куркаев А. С.,
Сенте Л.
**Нанотехнологии
для медицины.** — СПб.:
ООО «Сезам-Принт», 2008. — 104 с.



Мейер К., Дэвис С.
Живая организация /
Пер. с англ. — М.: Добрая книга,
2007. — 368 с.



Сергеев Г. Б.
Нанохимия: Учеб. пособие /
2-е изд. — М.: КДУ, 2007. —
336 с.



Меньшутина Н. В.
Введение в нанотехнологию. —
Калуга: Изд. научн. лит.
Бочкарёвой Н. Ф., 2006. — 132 с.



Суздаlev И. П.
**Нанотехнология: физико-химия
нанокластеров, наноструктур
и наноматериалов.** — М.:
КомКнига, 2006. — 592 с.

Выставка

Научно-производственное объединение «ВЕЛТ» представляет ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ СРЕДСТВО – КОЖНЫЙ АНТИСЕПТИК

«ВЕЛТОСФЕР ГЕЛЬ»

Свидетельство о гос. регистрации № 77.99.1.2.У.3113.5.10 от 12.05.2010 г.



100 мл

ЦЕНА:
78 руб.



1 л

ЦЕНА:
392 руб.



Патент № 2353395

НАЗНАЧЕНИЕ:

- ✓ Гигиеническая обработка рук медицинского персонала в лечебно-профилактических учреждениях, персонала скорой медицинской помощи, работников лабораторий.
- ✓ Гигиеническая обработка рук работников детских дошкольных и школьных учреждений, учреждений соцобеспечения, работников парфюмерно-косметических предприятий, предприятий общественного питания и пищевой промышленности, объектов коммунальных служб.
- ✓ Обработка ступней ног с целью профилактики грибковых заболеваний.
- ✓ Частичная санитарная обработка кожных покровов представителей силовых ведомств, пациентов лечебно-профилактических учреждений, включая лежачих больных в отделениях гериатрического, онкологического профиля, хосписах, домах-интернатах, учреждениях социальной защиты; лиц, поступающих в приёмные отделения стационаров и социальных приютов.
- ✓ Гигиеническая обработка рук и кожных покровов населением в быту.

Широкий спектр антимикробной активности в отношении:

- ✓ Грамположительных и грамотрицательных бактерий, в том числе возбудителей туберкулёза и внутрибольничных инфекций.
- ✓ Вирусов, в том числе возбудителей парентеральных гепатитов, ВИЧ-инфекции, гриппа птиц А/Н5N1, нового пандемического гриппа А/Н1N1/ (свиного гриппа).
- ✓ Патогенных грибов, в том числе возбудителей кандидозов и дерматомикозов.

ПРЕИМУЩЕСТВА:

- ✓ **На основе нанотехнологий.**
- ✓ **Не содержит спиртов.**
- ✓ Надёжная защита от инфекций.
- ✓ Бережная забота о коже.
- ✓ Гарантированный антимикробный эффект в течение 3-х часов.
- ✓ Не вызывает аллергических реакций.
- ✓ Не оказывает отрицательного воздействия на окружающую среду.
- ✓ Пожаро- и взрывобезопасность при хранении.

ГДЕ КУПИТЬ

г. Оренбург: пер. Хлебный, д. 9. Тел./факс: (3532) 77-04-59; 77-43-89. Тел.: (3532) 22-09-94. E-mail: velt@esoo.ru.

г. Москва: ул. Нежинская, д. 14, корп. 3, подъезд 1. Тел./факс: (495) 739-56-42 (43, 44, 45). E-mail: group@velt-npo.ru.

Научно-производственное объединение «ВЕЛТ» представляет ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ СРЕДСТВО – КОЖНЫЙ АНТИСЕПТИК

«ВЕЛТОСФЕР ЖИДКОЕ МЫЛО»

Свидетельство о гос. регистрации № 77.99.1.2.У.3114.5.10 от 12.05.2010 г.



300 мл

ЦЕНА:
155 руб.



1 л

ЦЕНА:
415 руб.



Патент № 2353395

НАЗНАЧЕНИЕ:

- ✓ Гигиеническая обработка рук медицинского персонала в лечебно-профилактических учреждениях, персонала скорой медицинской помощи, работников лабораторий.
- ✓ Гигиеническая обработка рук работников детских дошкольных и школьных учреждений, учреждений соцобеспечения, работников парфюмерно-косметических предприятий, предприятий общественного питания и пищевой промышленности, объектов коммунальных служб.
- ✓ Обработка ступней ног с целью профилактики грибковых заболеваний.
- ✓ Частичная санитарная обработка кожных покровов представителей силовых ведомств, пациентов лечебно-профилактических учреждений, включая лежачих больных, в отделениях гериатрического, онкологического профиля, хосписах, домах-интернатах, учреждениях социальной защиты.
- ✓ Гигиеническая обработка рук и кожных покровов населением в быту.

Широкий спектр антимикробной активности в отношении:

- ✓ Грамположительных и грамотрицательных бактерий, в том числе возбудителей туберкулёза и внутрибольничных инфекций.
- ✓ Вирусов, в том числе возбудителей парентеральных гепатитов, ВИЧ-инфекции, нового пандемического гриппа А/Н1N1/ (свиного гриппа).
- ✓ Патогенных грибов, в том числе возбудителей кандидозов и дерматофитий.

ПРЕИМУЩЕСТВА:

- ✓ **На основе нанотехнологий.**
- ✓ **Не содержит спиртов.**
- ✓ Надёжная защита от инфекций.
- ✓ Бережная забота о коже.
- ✓ Гарантированный антимикробный эффект в течение 3-х часов.
- ✓ Не вызывает аллергических реакций.
- ✓ Не оказывает отрицательного воздействия на окружающую среду.
- ✓ Пожаро- и взрывобезопасность при хранении.

ГДЕ КУПИТЬ

г. **Оренбург:** пер. Хлебный, д. 9. Тел./факс: (3532) 77-04-59; 77-43-89. Тел.: (3532) 22-09-94. E-mail: velt@esoo.ru.

г. **Москва:** ул. Нежинская, д. 14, корп. 3, подъезд 1. Тел./факс: (495) 739-56-42 (43, 44, 45). E-mail: group@velt-npo.ru.

Приглашаем к сотрудничеству

Уважаемые коллеги! Уважаемые читатели! Высшая аттестационная комиссия Министерства образования и науки Российской Федерации включила журнал «Нанотехнологии и охрана здоровья» в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёных степеней доктора и кандидата наук (редакция от 17.06.2011). Кроме того, наш журнал включён в российские и международные системы цитирования в Интернете.

Продолжая сложившиеся традиции, редакция журнала «Нанотехнологии и охрана здоровья» приглашает к сотрудничеству авторов. Ваши научные статьи, аналитические и информационные публикации, ориентированные на специалистов различных профилей, связанных по роду деятельности с решением проблем разработки и внедрения инновационных технологий, применения нанотехнологий и наноматериалов, будут способствовать развитию отечественной медицинской промышленности, продвижению инноваций, в том числе и в области современных нанотехнологий, укреплению национальной безопасности нашей страны. Они смогут оказать содействие государственным органам управления в проведении экспертиз и иных видов оценок, в разработке стандартов, регламентов, методик, инструкций, рекомендаций, программ и проектов законодательных документов.

Правила для авторов статей

- Статья (научная, обзорная, популярная, проблемная) представляется в редакцию в напечатанном и электронном вариантах. Объём статьи не должен превышать 25 000 знаков, к статье прилагается аннотация объёмом 250–300 знаков на русском и английском языках.
- В начале статьи указывается название, сведения об авторах (учёные звания и степени, должность, фамилия, инициалы, название учреждения или организации). Работа должна быть подписана всеми авторами. На отдельном листе указываются: адреса организаций или физических лиц, контактные телефоны, факс, фамилия, имя, отчество контактного лица. Авторам статьи (если их не более двух) предлагается также предоставить данные о себе (включая цветное фото) и своей профессиональной деятельности для размещения в разделе «Об авторе»: место и дата рождения, важные события и этапы жизненного пути, особые заслуги, награды и др.
- Научные статьи оформляются в соответствии с «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» (1997). Рукописи авторам не возвращаются.
- Плата за опубликованные рукописи аспирантов не взимается.
- В электронном виде статья предоставляется в форматах DOCX, DOC, TXT или RTF, кегль 12 через 1,5 интервала, шрифт Times New Roman Cyr, формулы набираются в программе Math Type. Графики, диаграммы и рисунки предоставляются отдельными файлами.

НАШИ ПАРТНЁРЫ



НПО «ВЭЛТ»



Национальный союз
«Медико-биологическая защита»



НИИ биоцидов
и нанобиотехнологий

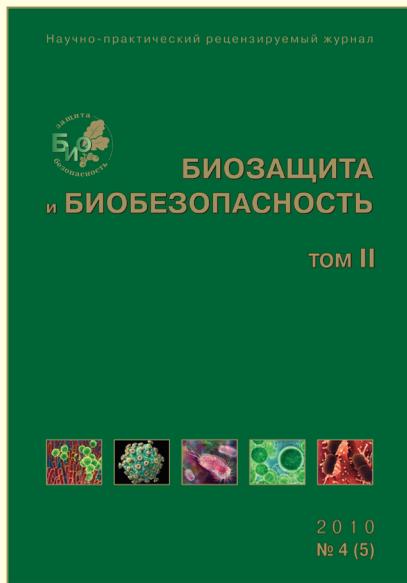


Научно-технический
центр «Экспертиза»

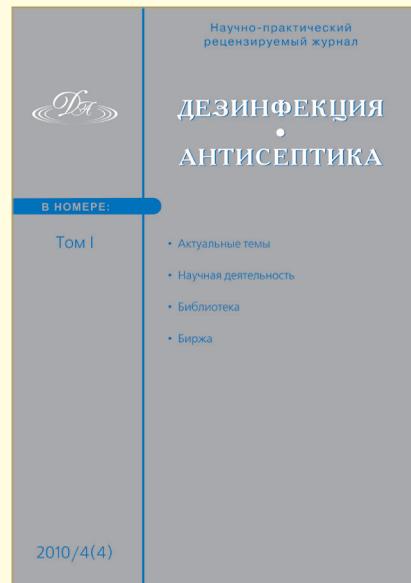
ПРЕДСТАВЛЯЕМ ВАШЕМУ ВНИМАНИЮ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЕ ЖУРНАЛЫ



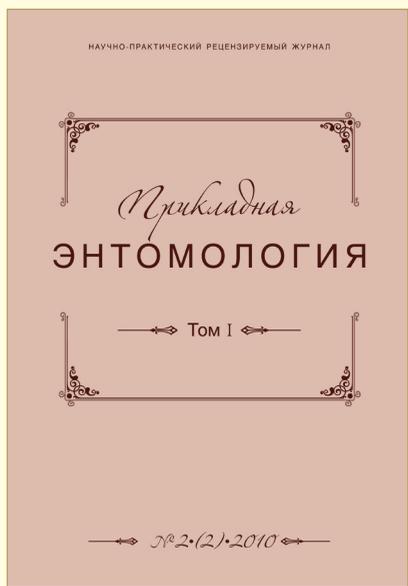
Нанотехнологии и охрана здоровья



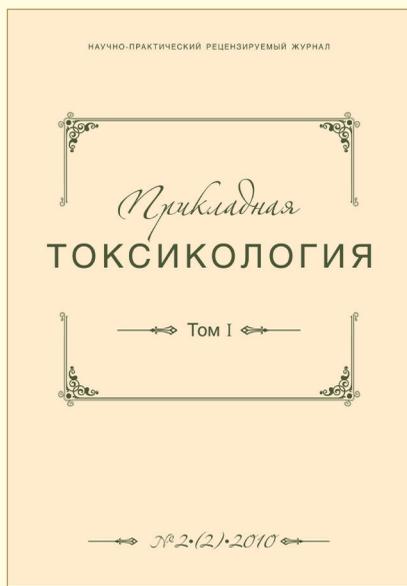
Биозащита и биобезопасность



Дезинфекция. Антисептика



Прикладная энтомология



Прикладная токсикология



Прикладная аналитическая химия

ВАШИ НОВЫЕ ЗНАНИЯ — ЭТО ВАШ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЙ РОСТ И УСПЕХ!

СРЕДИ НАШИХ ПОДПИСЧИКОВ

Федеральные государственные учреждения – поликлиники УДП РФ
Руководители крупнейших производственных предприятий России
Госпитали, здравницы и санатории
Медицинские вузы
Крупнейшие образовательные учреждения России
Поставщики и производители медицинского оборудования
Фармацевтические компании
Частные медицинские центры и клиники. Диагностические центры
Институты РАМН и МЗ России
Крупнейшие коммерческие косметологические центры России
Государственные и коммерческие роддома
Многопрофильные центры
Химико-технологические центры и производственные объединения
Производители и потребители дезинфицирующих средств
Дезинфекционные региональные станции и центры
Институты и научно-производственные компании в сфере нанотехнологий
Производители, поставщики и потребители наноматериалов
Производители детского питания, экологически чистых продуктов
Производители бытовых электроприборов для экологии дома и охраны здоровья
Производители ортопедического оборудования, оптики, поливитаминов, гомеопатии
Страховые медицинские компании
Производители косметических и медицинских химических препаратов

Крупные косметические салоны, салоны красоты
Спортивные центры, крупные фитнес-центры
Консультационные компании и центры
Диспансеры
Поликлиники
Аптеки
Центры планирования семьи
Женские консультации
Производители экологической посуды, предметов для дома и офиса
Крупнейшие экспоцентры России и СНГ
Фитоцентры
Травмпункты
Ветеринарные клиники и центры
Крупные торговые центры
Крупные производители сельскохозяйственных культур, животноводства
Медицинские энтомологические центры и организации
Энтомологические сообщества и центры
Организации биологической направленности
Производители токсичных веществ и материалов
НИИ профессиональных заболеваний
Крупнейшие предприятия химической промышленности
Производители органических удобрений
Производители лабораторного оборудования, реагентов, химических препаратов

**Специальные корреспонденты и редакторы журнала «Нанотехнологии и охрана здоровья»
всегда готовы взять у Вас интервью по актуальным вопросам тематики издания.**

Уважаемые рекламодатели!

Все журналы нашего Издательского Дома ориентированы на читательскую аудиторию, которая по роду своей деятельности интересуется достижениями науки, инновационными технологиями и продуктами, а также их разработчиками.

На стр. 6 и 7 электронной версии журнала представлен список ведомств и учреждений, в которые осуществляется бесплатная обязательная рассылка журнала.

Вашей продукцией и услугами могут заинтересоваться руководители различных медицинских и других учреждений, крупных компаний, научного сообщества, потребители самых разнообразных экономических сфер, общественные организации, население.

Коммерческий отдел Издательского Дома «ВЕЛТ» внимательно отнесётся к Вашей продукции, подберёт индивидуальный план размещения рекламы и информационных статей согласно Вашим маркетинговым планам и нашим широким возможностям: семь научных журналов, книги и интернет-ресурсы.

**По вопросам размещения информации обращайтесь в отдел рекламы
по телефонам: +7 (495) 662-40-18, 739-56-42 (43, 44)**

Мобильные телефоны: +7 (909) 163-25-37, +7 (903) 136-23-46, +7 (909) 963-42-73

Электронная почта: red1@velt-media.ru, red3@velt-media.ru, union@velt-media.ru

СТОИМОСТЬ ЖУРНАЛА	Один номер – 335,00 руб.	Полугодие – 670,00 руб.	Год – 1 340,00 руб.
--------------------------	--------------------------	-------------------------	---------------------

Извещение

Форма № ПД-4

ООО «Издательский Дом «ВЕЛТ»

(наименование получателя платежа)

7 7 2 9 5 9 1 5 7 0 4 0 7 0 2 8 1 0 6 3 8 2 6 0 0 1 1 0 3 3

(ИНН получателя платежа)

(номер счета получателя платежа)

в Сбербанке России ОАО г. Москва БИК 044525225

(наименование банка получателя платежа)

Номер кор./сч. банка получателя платежа 30101810400000000225

Журнал «Нанотехнологии и охрана здоровья» (номер лицевого счета (код) плательщика)

Ф.И.О. плательщика _____

Адрес плательщика _____

Сумма платежа _____ руб. _____ коп. Сумма платы за услуги _____ руб. _____ коп.

Итого _____ руб. _____ коп. « _____ » _____ 20 ____ г.

С условиями приема указанной в платежном документе суммы, в т.ч. с суммой взимаемой платы за услуги банка, ознакомлен и согласен.

Подпись плательщика _____

Кассир

ООО «Издательский Дом «ВЕЛТ»

(наименование получателя платежа)

7 7 2 9 5 9 1 5 7 0 4 0 7 0 2 8 1 0 6 3 8 2 6 0 0 1 1 0 3 3

(ИНН получателя платежа)

(номер счета получателя платежа)

в Сбербанке России ОАО г. Москва БИК 044525225

(наименование банка получателя платежа)

Номер кор./сч. банка получателя платежа 30101810400000000225

Журнал «Нанотехнологии и охрана здоровья» (номер лицевого счета (код) плательщика)

Ф.И.О. плательщика _____

Адрес плательщика _____

Сумма платежа _____ руб. _____ коп. Сумма платы за услуги _____ руб. _____ коп.

Итого _____ руб. _____ коп. « _____ » _____ 20 ____ г.

С условиями приема указанной в платежном документе суммы, в т.ч. с суммой взимаемой платы за услуги банка, ознакомлен и согласен.

Подпись плательщика _____

Квитанция

Кассир

ВЫ МОЖЕТЕ ОФОРМИТЬ ПОДПИСКУ НА ЖУРНАЛЫ ИЗДАТЕЛЬСКОГО ДОМА «ВЕЛТ» ЛЮБЫМ УДОБНЫМ ДЛЯ ВАС СПОСОБОМ

Через Почту Российской Федерации

- Каталог Агентства «Роспечать» «Газеты. Журналы» подписной индекс 22825
- Агентство «Книга-Сервис» +7 (495) 680-88-45

Через альтернативные подписные агентства

- ООО «Интер-Почта» +7 (495) 500-00-60
- ООО «Агентство «Артос-ГАЛ» +7 (495) 981-03-24
- НПО «Информ-система» +7 (499) 789-45-55
- ООО «Информнаука» +7 (495) 787-38-73
- ООО «ИнформСервис» +7 (495) 729-47-00
- Центр деловой литературы «Орикон-М» +7 (495) 633-30-54
- ГК «Урал-Пресс» +7 (495) 789-86-36

На интернет-ресурсах

- www.nasha-pressa.de
Читатели, проживающие в Германии, странах Европы и других странах, могут подписаться в режиме online
- www.presscafe.ru Интернет-магазин «PRESS cafe» +7 (495) 785-14-76
- www.delpress.ru Сайт «Агентства подписки «Деловая пресса» +7 (495) 665-68-92
- www.read.ru Интернет-магазин «Read.ru» +7 (495) 780-07-08
Бесплатно для регионов +7 800 333-07-08
- www.mega-press.ru Сайт агентства «Юнипресс» +7 (499) 500-97-08
- www.setbook.ru Сайт агентства «Setbook.ru» +7 (495) 795-23-01

Для зарубежных подписчиков

- www.periodicals.ru
ЗАО «МК-Периодика» +7 (495) 672-70-12
- www.ivis.ru
ООО «ИВИС» +7 (495) 777-65-57

Электронная версия изданий

- www.elibrary.ru
Научная электронная библиотека +7 (495) 935-01-01
- www.eastview.com
Ист Вью Информэйшн Сервисез +7 (495) 777-65-57
- www.park.ru
Парк.ру +7 (495) 234-02-22

Через редакцию

Подписаться на все журналы можно с любого номера и на любой срок
Редакция Издательского Дома «ВЕЛТ» +7 (495) 662-40-18, +7 (495) 739-56-42 (43, 44, 45)

Вы всегда можете приобрести журналы в магазине «Дом медицинской книги» (Москва, Комсомольский проспект, 25), а также в точках продаж периодики и книг в научных и учебных учреждениях, государственных структурах и в коммерческих организациях, занимающихся вопросами здоровья.

По вопросам, связанным с подпиской, обращайтесь в отдел распространения
по телефонам: **+7 (495) 662-40-18; +7 (909) 963-42-73; +7 (909) 163-25-37**
или по e-mail: **red3@velt-media.ru, union@velt-media.ru**

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи и массовых коммуникаций.
Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС 77-35505 от 4 марта 2009 г.
Периодичность выхода: ежеквартально. Номер подписан в печать 29.06. 2011 г. Тираж 1000 экз.
Отпечатано в ООО «Тверская Городская Типография».

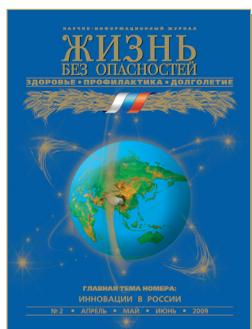
Адрес редакции: 119517, г. Москва, ул. Нежинская, д. 14, корп. 3.
Тел.: +7 (495) 662-40-18; 739-56-42 (43, 44, 45); +7 (909) 163-25-37; +7 (909) 963-42-73.
E-mail: red@velt-media.ru, red1@velt-media.ru, red3@velt-media.ru, union@velt-media.ru
© «Нанотехнологии и охрана здоровья», ISSN 2076-4804. © Издательский Дом «ВЕЛТ»

Перепечатка материалов без разрешения редакции запрещена. При использовании и цитировании материалов издания ссылка обязательна. Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов. Редакция не несет ответственности за достоверность информации, содержащейся в рекламных и авторских материалах. Все услуги и товары, рекламируемые в издании, подлежат государственной регистрации. Рукописи не возвращаются.

Все журналы Издательского Дома «ВЕЛТ» выпускаются для Вас, дорогие читатели и коллеги!

Знакомство с инновационными технологиями и продуктами, их разработчиками, последними достижениями российской науки повысит эффективность Вашей профессиональной деятельности

Научно-информационный рецензируемый журнал «Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие»



Высшей аттестационной комиссией (ВАК) Министерства образования и науки России научно-информационному журналу «Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие» присвоен статус «Рецензируемый научный журнал». Решение о его включении в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов страны было принято в ходе заседания ВАК от 19 февраля 2010 г. за № 6/6.

Ваш любимый профессиональный журнал



НИИ БНТ

www.nii-bnt.ru



www.ns-mbz.ru



НТЦ
“ЭКСПЕРТИЗА”
“EXPERTIZE”



www.velt-media.ru

www.velt-npo.ru

www.ntc-expertize.ru

ISSN 2076-4804



9 772076 480772 >