

УДК 544.72:546.72

МАГНИТНЫЙ НОСИТЕЛЬ ДЛЯ ДОКСОРУБИЦИНА И ЕГО ХИМИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ В МОДЕЛЬНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ

Т.А. Юрмазова, А.И. Галанов, Г.Г. Савельев, Н.А. Яворовский, Г.Л. Лобанова, В.А. Митькина

Томский политехнический университет

E-mail: and-galanov@yandex.ru

Методом импульсной электроэрозии железа в жидких средах (вода, растворы фосфорной кислоты и этилового спирта, гексан) получены образцы магнитных носителей лекарственных препаратов для онкологии (доксорубицина). Показано, что образец, полученный в гексане, обладает наибольшей адсорбционной емкостью по доксорубицину с его химической трансформацией при десорбции. Установлено, что для образца полученного в гексане наблюдается химическое трансформирование. Данный образец хорошо растворим в плазме человеческой крови. Максимальное время растворения и возможного вывода железа из организма не превышает 10 сут.

Ключевые слова:

Импульсная электроэрозия, адсорбция, доксорубицин, нанопорошки, химическое трансформирование.

Введение

В последние годы все чаще в химиотерапии предлагается использование магнитоуправляемых лекарственных форм и доставка их с помощью внешнего магнитного поля к органу-мишени [1–5]. Это связано, прежде всего, с цитотоксическим воздействием препаратов не только на опухолевые, но и на нормальные клетки организма. Использование магнитоуправляемых лекарственных форм позволяет создать оптимальную концентрацию лекарственных препаратов в зоне реализации лечебного эффекта и существенно снизить системную токсичность, как за счет уменьшения общей дозы, так и за счет продолжительного удержания лекарства в очаге поражения [3].

Работы по созданию магнитных носителей лекарственных препаратов проводятся в настоящее время по нескольким направлениям [6], одно из которых связано с «прямой посадкой», то есть с адсорбцией, лекарственного вещества на поверхность магнитного носителя [6, 7]. Это направление обладает рядом преимуществ, связанных, прежде всего, с простотой и высокой скоростью получения, возможностью приготовления магнитоуправляемого препарата непосредственно на месте применения. В тоже время имеется несколько проблем при реализации этого метода. К ним относятся: необходимость обеспечения оптимальной энергии взаимодействия препарата с поверхностью сорбента и обеспечение безопасной биотрансформации носителя с удалением его из организма, о которой можно судить по скорости его растворения в модельных биологических жидкостях.

В работах [5, 7] показано, что прочность закрепления препаратов на Fe-содержащих силикагелях достаточно высокая, так, что десорбция лекарств имеет значительные величины энергии связи в физиологических фосфатных и натрийхлоридных растворах: только при 10...24 ч десорбции. Однако, биотрансформация этого носителя не исследована и, видимо, будет затруднена вследствие инертности силикагеля. Экспериментально для систем на ос-

нове Fe_3O_4 отмечено [6, 7], что все введенное в организм железосодержащие препараты в виде носителя выводятся из организма в течении 10...15 сут. В работе [8] показано, что биотрансформация Fe_3O_4 и Fe в организме и плазме крови происходит достаточно быстро, однако непосредственная адсорбция противоопухолевых препаратов не исследована. Таким образом, для продвижения системы «лекарство – магнитный носитель» к применению имеется необходимость исследования и адсорбции, и биотрансформации.

В настоящее время магнитные порошки получают различными способами: золь-гель, механохимические и различные плазмохимические технологии. В большинстве работ приводятся данные по использованию магнетита, полученного химическим путем по реакции совместного щелочного гидролиза солей двух- и трехвалентного железа [3, 4, 6]. Следует отметить, что для придания необходимых сорбционных характеристик требуется либо химическая модифицирование поверхности, либо ее активация с помощью физико-химических методов [6].

Ранее нами в работе [9] магнитные порошки получали диспергированием железных стружек при их обработке импульсными электрическими разрядами. Жидкой средой служили: вода, раствор фосфорной кислоты, этиловый спирт и гексан. Было показано, что препарат, полученный в среде гексана, обладает не только наибольшей адсорбционной способностью по отношению к противоопухолевому препарату цитостатического действия доксорубицину (ДР), но и сам имеет заметную противоопухолевую активность, которая существенно усиливаются при адсорбции ДР. Причем, для системы «наночастица – адсорбированный доксорубицин» меняется характер действия лекарственного средства с цитостатического на цитолитический, что несомненно связано с изменением химической природы доксорубицина при его адсорбции на магнитный носитель. В связи с перспективностью использования этого препарата возникает необходимость исследований механизма

сорбции и способности к растворению и выводу из организма.

Настоящая работа посвящена исследованию механизма адсорбции ДР на железо содержащих магнитных порошках, полученных с использованием импульсного электрического разряда, и их растворения в модельных биологических жидкостях.

1. Методы исследований и материалы

Методика импульсного диспергирования и схема установки подробно описаны в работах [10, 11]. В данной работе были получены и исследованы композиционные образцы на основе железа, полученные при одинаковых электрофизических параметрах разряда, но при диспергировании в различных средах: образец А – в воде, образец В – в 10 % растворе фосфорной кислоты, образец С – в 95 % растворе этилового спирта и образец D – в гексане. В качестве металлической загрузки использовали обломки стальных стружек (Ст. 3), которые были предварительно очищены действием разбавленной соляной кислоты. Характерные размеры стружек – $10 \times 4 \times 0,5$ мм. Продуктом электроэрозии являлась суспензия наночастиц в жидкой фазе.

Для получения сухих порошков суспензию центрифугировали и осадки высушивали при 150°C . Химический состав полученных порошков определяли с помощью традиционных аналитических методов. Концентрацию различных форм железа после растворения порошков в HCl определяли фотокolorиметрически на фотокolorиметре КФК-2-МП. При определении содержания металлического железа использовали волюмометрический метод. Фазовый состав образца изучен с использованием дифрактометра Shimadzu XRD-6000 с CuK_α -излучением. Анализ фазового состава, размеров областей когерентного рассеивания проведен с использованием базы данных PCPDFWIN, а так же программы полнопрофильного анализа POWDER CELL 2.4. Инфракрасные спектры получены на использовании ИК-спектрометра Nicolet 5700. Морфологические характеристики образцов, распределение частиц по размерам, а также дополнительные сведения о фазовом составе образцов определяли методом просвечивающей электронной микроскопии (микроскоп ЭМ-125). Площади удельных поверхностей образцов $S_{\text{уд}}$ определены с помощью метода тепловой десорбции азота с использованием анализатора Sorbi-3M.

В качестве лекарственного препарата был выбран доксорубин, как часто используемый в химиотерапии различных онкологических заболеваний и как наиболее часто используемый модельный препарат [3, 4]. При изучении биотрансформации в качестве растворителей использовали физиологический раствор (водный 0,9 % раствор NaCl), фосфатный буфер (pH=7,4), раствор аминокислот (торговая марка Аминоплазмаль Е) и плазму человеческой крови. Суммарное содержание железа определяли в растворителях по стандарт-

ным методикам [12]. Степень растворения рассматривали как отношение количества железа перешедшего в раствор к общему содержанию железа в составе порошка.

2. Результаты и обсуждение

2.1. Общая характеристика образцов

Особенность получения нанопорошков в условиях импульсного электрического разряда заключается в плавлении материала металлических стружек и электродов с последующим выбросом материала в виде капель расплавленного металла с исходной температурой около 2500 K [13]. Далее происходит поверхностное взаимодействие расплавленного металла с жидкой средой и ее компонентами при быстром охлаждении частиц (скорость охлаждения $10^5 \dots 10^6\text{ K/c}$). Результатом такого взаимодействия после окончания процесса будут частицы, состоящие из металлического ядра, закрытого пленкой продуктов взаимодействия металла и дисперсионной среды. При контакте частиц, выделенных из суспензии с воздухом, происходит образование различных оксидных и оксигидроксидных фаз.

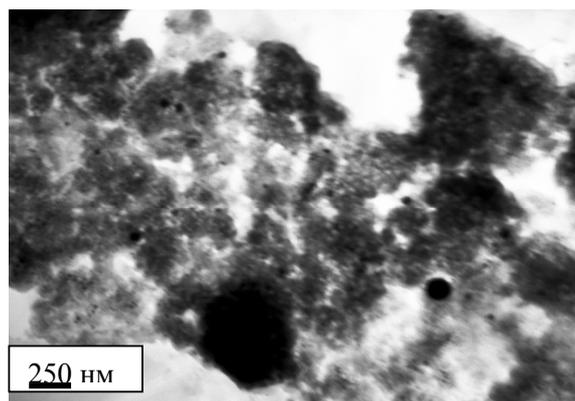


Рис. 1. Микрофотография образца D, полученного в гексане

Анализ химического и фазового состава (таблица) в целом соответствует представленному выше. Как видно из результатов рентгенофазового анализа (РФА), образцы, полученные в водных растворах, а также в спирте, по фазовому составу аналогичны друг другу. Отличия наблюдаются только в количественном соотношении фаз. Дополнительно к фазам, определенных методом РФА, в образцах С и D дифракцией электронов определены дополнительные фазы: для образца С – карбонат и гидрокарбонат железа, а для образца D – оксиды двух- и трехвалентного железа, а также фаза гексагонального графита, они находятся на поверхности частиц и составляют малую долю образца. ИК-спектроскопией обнаружено, что в образце В имеется небольшое количество PO_4^{3-} групп. В образце В наблюдалось значительное количество аморфной фазы.

Морфологический состав образцов, определенный электрономикроскопически, в целом схож. Для всех образцов наблюдаются в различных про-

порциях сферические частицы aa-Fe с размерами 5...140 нм, ограненные частицы с характерными размерами 5...20 нм. В целом, образцы сильно агрегированы. Кроме того, для образца D характерно наличие пор с диаметром 2...4 нм, образуемых при агломерацией сферических частиц (рис. 1). Приведённые в таблице данные относятся к порошкам, которые после высушивания при 200 °С хранились на воздухе в течение 10 дн. В свежеполученных (срок хранения не более 2 ч) и не высушенных образцах А содержание металлического железа около 90 %, то есть этот образец наиболее быстро окисляется на воздухе, покрываясь оксидами и гидроксидами. Образцы В, полученный в фосфатной среде, пассивирован фосфатами по отношению к окислению. Образцы С и D, полученные в восстановительных средах, имеют несколько большую устойчивость, причём образец D, полученный в среде, не содержащей кислорода, имеет в составе карбидные фазы: FeC и Fe₃C.

Таблица. Состав и свойства электроэрозионных порошков

Об- ра- зец	Результаты химического анализа, мас. %				Фазовый состав			S _{уд} , м ² /г	A, мг/г**
	ΣFe	Fe(II)	Fe(III)	Fe(0)	Фаза	Содержание, об. %	ОКР, нм*		
А	84,05	46,3	5,8	32,0	Fe	16,9	140	50,7	8,1
					Fe ₃ O ₄	66,7	23		
					FeOOH	16,4	13		
В	78,8	18,35	5,47	55,0	Fe	42	120	38,5	16,9
					Fe ₃ O ₄	41,2	14		
					FeOOH	16,5	14		
С	93,9	16,26	8,14	69,5	Fe	29,3	60	19,5	20,72
					Fe ₃ O ₄	58,1	16		
					FeOOH	12,6	10		
D	71,73	7,8	6,93	57,0	Fe	33	60	55,2	25,0
					FeC	9,6	20		
					Fe ₃ C	54,3	9		

* Область когерентного рассеяния.

** Эффективная сорбция при исходной концентрации ДР 25,7 мг/л.

2.2. Процесс адсорбции доксорубицина

Для полученных порошков была изучена эффективность сорбции доксорубицина (таблица). Наибольшая сорбционная емкость, как видно из таблицы, характерна для порошков, полученных в гексане. Согласно полученным результатам, а также данным, приведенным в работе [9], наиболее перспективным с точки зрения медико-биологических свойств наибольший интерес представляет система, полученная в гексане. В связи с этим, в настоящей работе все исследования проводили на образце D.

Для образца D была получена изотерма сорбции. Для этого брались одинаковые навески сорбента (50 мг) и разные начальные концентрации доксорубицина, полученная изотерма приведена на рис. 2. Как видно из полученных результатов, доксо-

рубин сорбируется по изотерме Ленгмюровского типа, максимальная сорбционная емкость составила 44 мг/г, а константа Генри – 1,43 л/г.

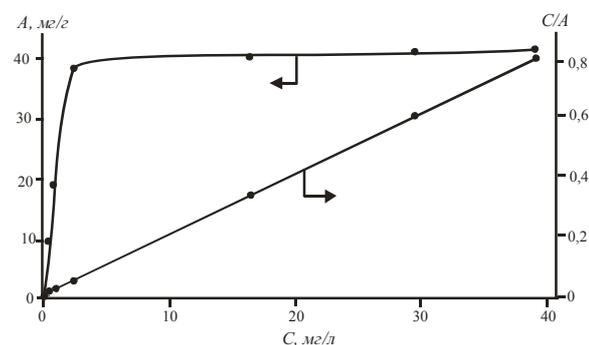


Рис. 2. Изотерма адсорбции доксорубицина на образце D

Так как $S_{уд} = 55 \text{ м}^2/\text{г}$, молярная масса ДР – 543 г/моль, то концентрация ДР на носителе составит $8,2 \cdot 10^{18}$ молекул/м². Это приближённо соответствует монослойному покрытию поверхности.

Для установления типа взаимодействия ДР с образцом D были записаны ИК спектры, примеры которых показаны на рис. 3. Из спектров видно, что первоначальный спектр ДР при адсорбции на носителе не сохраняются, что можно объяснить прочной хемосорбцией и глубокой химической трансформацией молекул ДР.

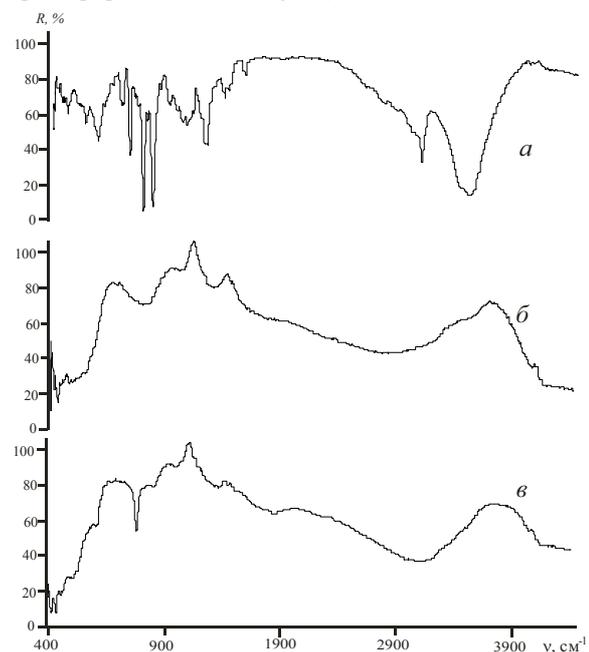


Рис. 3. ИК-спектры диффузного отражения R для образцов: а) доксорубицин; б) D; в) D с адсорбированным доксорубицином

Для подтверждения этого были проведены эксперименты по исследованию продуктов десорбции методом УФ-спектроскопии. Для этого бралась навеска порошка D, полученного в гексане, с адсорбированным доксорубицином. Десорбция проводилась как в фосфатном буфере, так и физиологическом растворе NaCl при 37 °С. Спектры погло-

шения исходного раствора доксорубина имеют полосы поглощения 234; 253; 288; 495 нм. В раствор после десорбции выделялись вещества, которые давали лишь одну, совпадающую с исходной полосу 255 нм (рис. 4). Это также свидетельствует о химическом трансформировании молекул ДР.

Таким образом, обнаруженное в [10] цитолитическое действие комбинированного препарата – частицы D+ДР – связано с химическим трансформированием ДР.

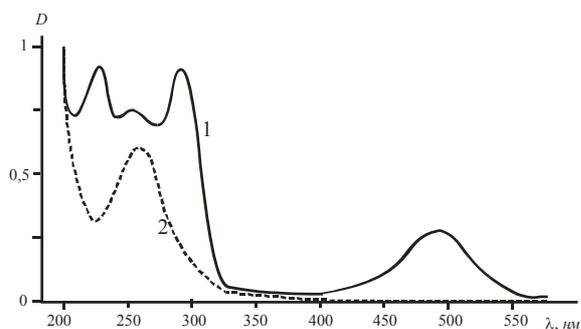


Рис. 4. УФ-спектр поглощения растворов: 1) доксорубина, 2) десорбированной фазы

2.3. Исследование растворимости магнитного носителя (образец D)

Для решения задач, связанных с выведением порошков железа из организма, необходимо, прежде всего, иметь четкое представление о биотрансформации порошка железа, которая может играть также важную роль при десорбции лекарственных препаратов в организме человека.

Эксперимент проводили, выдерживая порошки железа в модельных растворах при температуре 37 °С в течение 4 сут. Длительность эксперимента ограничена, т. к. плазма крови после размораживания через 7 сут., как известно из литературных данных, разлагается. Из литературных данных также известно, что железо в виде химических соединений выводится из организма в течение 7...45 сут.

Согласно полученным результатам, образец практически не взаимодействует с фосфатным буфером и 0,9 % растворе NaCl (растворимость не превышала 0,1 %). Для аминокислотной плазмы E и плазмы человеческой крови растворимость составила 15 и 40 % соответственно. При этом изменялся цвет плазмы – от светло-желтого до интенсивно коричневого, а плазма до светло-желтого. Высокая растворимость в обоих случаях можно связать с образованием комплексных соединений между железом и аминокислотами или аминокислотными радикалами в составе белка. Комплексообразование в случае белка, вероятно, усиливается за счёт хелатного эффекта.

Была также изучена скорость растворения порошка в плазме крови (рис. 5). Видно, что кривая растворения может быть разбита на 2 участка: первый – с высокой, но уменьшающейся скоростью, и второй – с постоянной скоростью. Возможно, первый участок относится к растворению поверхностных карбидов и оксидов, а второй – металлического ядра частицы.

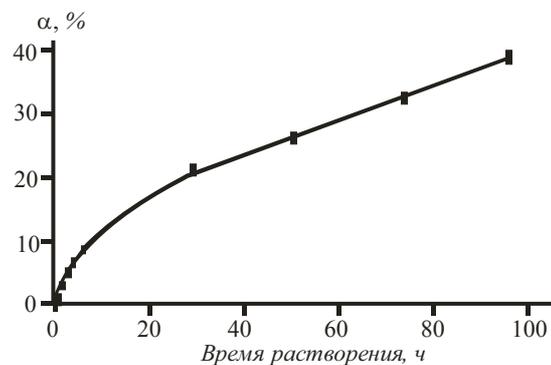


Рис. 5. Изменение степени растворения α нанопорошка в плазме человеческой крови от времени

При экстраполяции второго участка может быть предсказано время полного растворения – оно составляет около 10 сут., что приемлемо для медикаментозного применения подобных препаратов [7, 8].

Выводы

1. Методом импульсной электроэрозии железа в водных растворах и гексане приготовлены железосодержащие нанопорошки, определен их состав, магнитные свойства и способность к адсорбции доксорубина. Показано, что все порошки содержат нанопорозу железа и фазы, включающие элементы среды: в водных растворах – оксиды и гидроксиды железа, карбонат- и фосфат-ионы; в гексане – карбиды железа (FeC , Fe_3C).
2. Показано, что композиционный ферромагнитный нанопорошок, приготовленный в гексане, прочно хемосорбирует доксорубин по лентмюрновскому мономолекулярному механизму.
3. Установлено, что десорбция доксорубина с нанопорошка сопровождается полной химической трансформацией доксорубина.
4. Экспериментально определено, что синтезированные порошки подвергается достаточно быстрому растворению в модельных биожидкостях – растворе аминокислот и плазме крови. Полное время растворения нанопорошка – 10 сут.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ремпель А.А. Нанотехнологии, свойства и применение наноструктурных материалов // *Успехи химии*. – 2007. – Т. 75. – № 5. – С. 474–500.
2. Медведева Н.В., Ипатова О.М., Иванов Ю.Д., Дрожжин А.И., Арчаков А.И. Нанобиология и наномедицина // *Биомедицинская химия*. – 2006. – Т. 52. – № 6. – С. 529–546.
3. Duran J.D.G., Arias J.L., Gallardo V., Delgado A.V. Magnetic Colloids as Drug Vehicles // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2008. – V. 97. – № 8. – P. 2948–2983.
4. Lu J., Liong M., Zink J.I., Tamanoi F. Mesoporous Silica Nanoparticles as a Delivery System for Hydrophobic Anticancer Drugs // *Small*. – 2007. – V. 3. – № 8. – P. 1341–1346.
5. Alexiou C., Arnold W., Hulin P., Klein R., Schmidt A., Bergemann C., Parak F.G. Therapeutic Efficacy of Ferrofluid Bound Anticancer Agent // *Magnetohydrodynamics*. – 2008. – № 37. – P. 318–322.
6. Беликов В.Г., Курегян А.Г. Получение продуктов взаимодействия магнетита с лекарственными веществами // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2004. – Т. 38. – № 3. – С. 35–38.
7. Arguebo M., Galan M., Navascues N., Tellez C., Marquina C., Ricardo I.M., Santamaria J. Development of magnetic nanostructured silica-based materials as potential vectors for drug-delivery application // *Chemical Materials*. – 2006. – V. 18. – P. 1911–1919.
8. Бошицкая Н.В., Иващенко Е.А., Уварова И.В., Проценко Л.С., Будилина О.В. Взаимодействие железных порошков различной дисперсности с плазмой крови // *Доповіді Національної академії наук України*. – 2007. – № 6. – С. 88–93.
9. Галанов А.И., Юрмазова Т.А., Савельев Г.Г. и др. Разработка магнитоуправляемой системы для доставки химиопрепаратов на основе наноразмерных частиц железа // *Сибирский онкологический журнал*. – 2008. – № 3 (27). – С. 50–57.
10. Даниленко Н.Б., Савельев Г.Г., Яворовский Н.А., Юрмазова Т.А., Галанов А.И., Балухтин П.В. Изучение состава и кинетики образования продуктов эрозии металлической загрузки электроразрядного реактора // *Журнал прикладной химии*. – 2005. – Т. 75. – № 9. – С. 1463–1468.
11. Даниленко Н.Б., Галанов А.И., Корнев Я.И. и др. Применение импульсных электрических разрядов в водных растворах для получения наноматериалов и их использование для очистки воды // *Нанотехника*. – 2006. – № 4 (8). – С. 81–91.
12. Лурье Ю.Ю., Рыбникова А.И. Химический анализ производственных сточных вод. – М.: Химия, 1974. – 354 с.
13. Descoeudres A., Hollenstein C., Walder G., Perez R. Time-resolved imaging and spatially-resolved spectroscopy of electrical discharge machining plasma // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2005. – V. 38. – № 22. – P. 4066–4073.

Поступила 13.02.2009 г.

УДК 66.067.1

ЦВЕТНОСТЬ ПОДЗЕМНЫХ ВОД ЗАПАДНО-СИБИРСКОГО РЕГИОНА

Л.В. Сериков, Л.Н. Шиян, Е.А. Тропина, П.А. Хряпов*

Томский политехнический университет
*ГОУ ВПО ТПУ ОСП НИИ высоких напряжений
E-mail: lab024@yandex.ru

Приведены экспериментальные результаты по определению цветности подземных вод Западно-Сибирского региона, отобранных с глубины 80...200 м. Показаны проблемы, возникающие при использовании методик определения цветности, рекомендованных ГОСТ Р 52769-2007, введение которого планируется с 01.01.2009 г. Эти проблемы связаны с особенностями химического состава подземных вод и обусловлены образованием устойчивых коллоидных частиц, состоящих из Fe(OH)₃ и растворенных органических веществ гумусового происхождения. Установлено, что цветность подземных вод, в основном, определяется присутствием этих частиц и характеризуется, как «кажущаяся» цветность воды.

Ключевые слова:

Природные воды, коллоидные растворы и их устойчивость, железо-органические примеси, цветность воды, константы скорости.

Органолептические показатели – цветность, запах и вкус являются определяющими при оценке качества воды потребителем. Цветность воды, определяемая потребителем визуально, является индикатором оценки пригодности использования воды в питьевых целях. Цветность относится к физико-химическим показателям свойств природной и питьевой воды и характеризует количество, содержащихся в ней окрашенных растворенных веществ. Измерение цветности природных вод необходимо для правильного выбора технологии водоподготовки. Согласно литературным данным [1, 2] цветность природной воды обусловлена при-

сутствием, главным образом, гуминовых и фульвокислот, связанных с гумусом почвы. В работах [3, 4] отмечается, что на цветность воды влияет присутствие соединений железа и других металлов в виде естественных примесей.

В международном стандарте ИСО (International Organization for Standardization) для описания окраски воды используют термин «цвет». Цвет, получаемый в присутствии нерастворенного взвешенного вещества, характеризуется как «кажущийся цвет». Для аналитических целей представляет интерес «истинный цвет пробы». Он характеризуется как цвет, обусловленный растворенными веществами [5].