

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ АРМЕНИИ**

МИРЗОЯН Анаит Ашотовна

УДК 537.311.322.678.01+541.69.616-008

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЦИНКОКСИДНЫХ
КОМПОЗИЦИЙ ХЕЛАТОВ САЛИЦИЛИДЕН АМИНОКИСЛОТИ
ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИН**

ДИ С С Е Р Т А Ц И Я

**на соискание ученой степени кандидата технических наук
по специальности 05.16.01 – «Материаловедение»**

**Научный руководитель:
Эмма Рубеновна АРАКЕЛОВА
кандидат физ.-мат. наук**

ЕРЕВАН - 2016

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. НАНОРАЗМЕРНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ИХ СВОЙСТВА.....	10
1.1 Наноматериалы для доставки лекарственных средств.....	10
1.2. Микро-наноразмерные частицы полимеров для доставки лекарственных препаратов.....	15
1.3. Углеродные нанотрубки.....	21
1.4. Нанотрубки нитрида бора.....	24
1.5. Наночастицы драгоценных металлов.....	28
1.6. Наночастицы кремния.....	32
1.7. Наночастицы оксида цинка.....	35
Выводы и постановка задач исследований.....	39
2. МЕТОДИКИ МОДИФИЦИРОВАНИЯ ХЕЛАТОВ САЛИЦИЛИДЕН АМИНОКИСЛОТ (S2 - S8), ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИН (DOX) В ВИДЕ ПОКРЫТИЙ, КОМПОЗИЦИОННЫХ ПЛЁНОК. ФОРМИРОВАНИЕ ИХ ЦИНКОКСИДНЫХ КОМПОЗИЦИЙ.....	41
2.1 Технологическая схема формирования цинкоксидных композиций противоопухолевых хелатов салицилиден аминокислот (S2 - S8) и противоопухолевого препарата DOX.....	41
2.2. Формирование покрытий из S2 - S8, DOX.....	43
2.3. Формирование композиционных плёнок из S2 - S8, DOX с поливиниловым спиртом (ПВС).....	45
2.4. DC-магнетронное осаждение тонких плёнок ZnO на поверхность S2 - S8, DOX в виде покрытий и композиционных плёнок с ПВС.....	47
2.5. Методика определения противоопухолевой активности S2 - S8, DOX и их цинкоксидных композиций на моделях Саркома 180 и Асцитной карциноме Эрлиха.....	49

2.6. Методы структурных исследований S2 - S8, DOX и их цинкоксидных композиций.....	51
Выводы.....	52
3. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЦИНКОКСИДНЫХ КОМПОЗИЦИЙ ХЕЛАТОВ САЛИЦИЛИДЕН АМИНОКИСЛОТ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИН.....	53
3.1. Определение оптимальных площадей покрытий S2 - S8, DOX.....	53
3.2. Варьирование характеристик и соотношения компонентов в композиционных плёнках ПВС с S2 - S8, DOX.....	60
3.3. Оптимальные технологические параметры осаждения наноразмерных плёнок ZnO на покрытия и композиционные плёнки S2 - S8, DOX	67
3.4. Результаты химиотерапевтических исследований.....	75
3.5. Результаты структурных исследований и их обсуждение.....	77
Выводы.....	92
ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ.....	93
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	95
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	111

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время интенсивно развиваются различные гибридные технологии, использующие инструментальные средства молекулярной биологии, медицины и нанотехнологии, направленные на модифицирование поверхности биологически активных материалов для формирования нанокомпозитных структур. Наночастицы находят применение в качестве биологических сенсоров и анализаторов, а также для транспорта лекарственных препаратов, и могут служить в качестве векторов для оптимизации доставки лекарств в очаги болезни.

Известно, что биологически активные материалы, формируемые способом осаждения металлооксидных наноструктур на поверхности органических, полимерных систем проявляют способность к угнетению и гибели патогенной биологической флоры при введении их в организм и препятствуют «прикреплению» вирусов и бактерий к клеточной стенке, повышают противобактериальный и противовирусный иммунитет.

Нанотехнологии имеют особенно важное значение для создания и модифицирования противоопухолевых препаратов. Большинство современных противоопухолевых препаратов наряду с высокой активностью обладают выраженной токсичностью. Применение их в терапевтических дозах, как правило, сопровождается различными токсичными симптомами, что часто является причиной прекращения дальнейшего курса лечения. Эта особенность противоопухолевой терапии свидетельствует о целесообразности разработки новых подходов к созданию противоопухолевых соединений, препаратов направленных на сохранение и/или повышение противоопухолевой активности с снижением токсичности, используя относительно малые дозы веществ избирательного действия.

В публикациях последних лет показано, что для векторного транспорта в опухолевую ткань, наночастицы, нанотрубки, наноконтейнеры помимо лекарственного препарата несут на себе молекулы-лиганды, специфически взаимодействующие с рецепторами на поверхности опухолевой клетки.

Активно развивается новое научное направление по разработке гибридных технологий для получения металлоорганических лекарственных препаратов формированием металлических, металлооксидных наноструктур на поверхности органических соединений.

Наномедицина представляет собой синтез предшествующей методики, технологии производства лечебного продукта, где новые методы предоставляют новые возможности и лучшие решения, без замены старых методик.

Разработка гибридных технологий для формирования металлоорганических, противоопухолевых средств, создание модифицированных металлоорганических противоопухолевых соединений, препаратов, направленных на повышение противоопухолевой активности с низкой токсичностью, является актуальной задачей в настоящее время.

Анализ и обобщение публикаций имеющихся в мире за последнее десятилетие, приводят к выводу, что в наибольшей степени этим требованиям могут соответствовать металлооксидные композиты, в частности, цинкоксидные композиты противоопухолевых соединений и противоопухолевых препаратов.

Известно, что основные аминокислоты в организме являются связующими для металлических оксидов, в частности, для оксида цинка, а комплексы цинка регулируют содержание в клетках перекисей, принимая активное участие во многих реакциях с переносом электрона, в том числе, катализируя восстановление органических радикалов и распад перекисей.

Тонкие плёнки или покрытия наночастицами оксида цинка соответствующих подложек обладают прекрасными электрическими, оптическими и биологическими свойствами с широким спектром применения их в качестве функциональных покрытий в сенсорах, солнечных элементах, а также в антибактериальных и противоопухолевых средствах. Оксид цинка является одним из уникальных материалов, обладающих антиоксидантной, антимикробной, противоопухолевой активностью, усиливающий иммунную систему организма. Из вышеизложенного следует, что оксид цинка является одним из перспективных материалов для модифицирования биологически активных поверхностей. В литературе представлен ряд работ по модифицированию поверхностей полимеров, целлюлозных волокон, наночастицами оксида цинка, которые обладают антиоксидантной, антибактериальной активностью, однако покрытия при относительно низких температурах на термолабильных поверхностях биологически активных соединений с противоопухолевой активностью не рассмотрены в литературе.

В связи с этим большой интерес представляла разработка технологии получения цинк-

оксидных композиций соединений из ряда салицилиден аминокислот противоопухолевых этиловых эфиров Cu (II) хелатов салицилиден аминокислот.

В диссертационной работе представлена технология получения цинкоксидных композиций противоопухолевых эфиров Cu (II) хелатов салицилиден аминокислот и противоопухолевого препарата доксорубицин в виде покрытий и композиционных плёнок с поливинилловым спиртом (ПВС) на основе тонкоплёночной технологии. Цинкоксидные композиты обладающие значительно более высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью, по сравнению с исходными соединениями и препаратом, получены DC-магнетронным нанесением наноразмерной плёнки оксида цинка на поверхности противоопухолевых средств в виде покрытий, композиционных плёнок с ПВС.

В качестве модельных соединений для разработки технологии получения цинкоксидных композиций противоопухолевых соединений и противоопухолевого препарата взяты следующие: а) соединения ряда салицилиден аминокислот: Cu (II) хелат этилового эфира салицилиден-DL-тирозина (S2), Cu (II) хелат этилового эфира салицилиден-DL-β-фенил-α-аланина (S4), Cu (II) хелат этилового эфира салицилиден-ω-аминокапроновой кислоты (S6), Cu (II) хелат салицилиден-ω-аминокапроновой кислоты (S8); б) противоопухолевый препарат доксорубицин (DOX), взят как модельный препарат, в виду его широкого применения в противоопухолевой терапии, однако обладающий высокой токсичностью.

Соединения S2 - S8 синтезированы в Научно-технологическом центре органической и фармацевтической химии Национальной академии наук Республики Армения (НТЦОФХ).

Цель и задачи исследования. Разработка технологии получения цинкоксидных композиций некоторых хелатов салицилиден аминокислот, S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX, с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью DC-магнетронным нанесением наноразмерных пленок оксида цинка на их поверхности в виде покрытий и композиционных пленок с ПВС.

Для достижения поставленной цели в работе намечены и решены следующие основные задачи:

- формирование композиционных материалов на основе противоопухолевых соединений

S2 - S8 и препарата DOX в виде покрытий, композиционных пленок в матрице ПВС;

– определение оптимальных технологических параметров формирования цинкоксидных композиций противоопухолевых соединений и препарата с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью DC-магнетронным модифицированием их поверхностей;

– химиотерапевтические исследования противоопухолевых соединений S2 - S8, препарата DOX и их цинкоксидных композиций в виде покрытий, композиционных пленок в матрице ПВС.

Научная новизна работы.

1. В работе предложен инновационный подход, который заключается в использовании междисциплинарных научно-исследовательских программ, сочетающих в себе методы полупроводниковой технологии, полимерные, структурные и химиотерапевтические методики для разработки технологии получения эффективных противоопухолевых цинкоксидных композиций, соединений S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX.

2. Формирование новых цинкоксидных противоопухолевых соединений некоторых хелатов салицилиден аминокислот S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX в виде покрытий и композиционных плёнок с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью раскрыли фармакологический потенциал физического метода, DC-магнетронного нанесения тонких пленок оксида цинка на поверхности противоопухолевых соединений и препарата.

3. Уникальность метода: модификация поверхности противоопухолевых средств S2 - S8, DOX осаждением наноразмерной пленки оксида цинка на их поверхностях, привели к получению высокого противоопухолевого эффекта цинкоксидных композитов (в два и более раза) с низкой токсичностью, по сравнению с исходными соединениями и препаратом. Новизна данного процесса: осаждение тонкой пленки ZnO на лабильных подложках (противоопухолевых средствах) при температуре от -30°C до $+30^{\circ}\text{C}$.

4. Применение новых инновационных материалов и технологий: а) позволит произвести революционный рывок в современном материаловедении; б) обеспечит повышение качества

жизни онкологических больных, заключающееся в уменьшении токсичности и увеличении эффективности лекарственной терапии при лечении онкологических заболеваний.

Практическая ценность работы. Разработана технология получения цинкоксидных композиций некоторых медных хелатов ряда салицилиден аминокислот S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью. Предложена технологическая схема формирования цинкоксидных композиций противоопухолевых соединений S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX.

Сформированы цинкоксидные композиты хелатов салицилиден аминокислот S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX DC-магнетронным нанесением наноразмерных пленок оксида цинка на их поверхности в виде покрытий и композиционных пленок с ПВС. Цинкоксидные композиты S2 - S8, DOX имеют вдвое более высокую противоопухолевую активность и значительно низкую токсичность, по сравнению с исходными соединениями и препаратом.

Метод DC-магнетронного нанесения наноразмерных пленок оксида цинка на поверхности противоопухолевых соединений и препарата, для формирования их цинкоксидных композиций, выгодно отличается широкими возможностями управления процессом получения композиций, пониженной температурой осаждения (от -30°C до +30°C) и послойного нанесения покрытий, плёнок, что позволяет выращивать композиты с заданными технологическими параметрами. Способ приготовления композиций и цинкоксидных композиций прост, стерилен, дешев, отсутствует токсичность.

Векторный характер транспорта цинкоксидных композиций в опухолевую ткань является альтернативой нанотрубкам, наноконтейнерам и обеспечивается без применения специфической адресации, в качестве вектора выступает оксид цинка.

На защиту выносятся следующие основные положения:

1. Разработана технология получения противоопухолевых средств, цинкоксидных композиций медных хелатов этиловых эфиров салицилиден аминокислот: DL-тирозина (S2), DL-β-фенил-α-аланина (S4), ω-амино-капроновой кислоты (S6), Cu (II) хелата салицилиден-ω-аминокапроновой кислоты (S8) и противоопухолевого препарата доксорубицин (DOX) с

высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью, по сравнению с исходными соединениями и препаратом.

2. Установлены оптимальные технологические параметры формирования цинкоксидных композиций S2 - S8 и DOX в виде покрытий и композиционных плёнок с ПВС: рабочий ток магнетронного источника – 400 мА, соотношение газов $Ar:O_2 = 3:1$; расстояние мишень–подложка – 110 мм; температура подложки в интервале $-30^{\circ}C \leq T \leq 30^{\circ}C$. Оптимальная толщина наноразмерной плёнки ZnO для покрытий и композиционных плёнок: S2 - S8 в интервале 130...200 нм, для DOX – 180 нм; S2 - S8 с ПВС – 88...200 нм и DOX с ПВС порядка 100 нм.

3. Цинкоксидные композиты S2 - S8 и DOX получены методом DC-магнетронного распыления цинковой мишени в аргон-кислородной среде при оптимальных технологических параметрах нанесения наноразмерных плёнок оксида цинка, на покрытия и композиционные плёнки соединений S2 - S8 и препарата DOX с ПВС, в интервале температур $-30^{\circ}C \leq T \leq 30^{\circ}C$, когда отсутствуют нежелательные побочные превращения.

4. Важной особенностью, предложенной технологии получения цинкоксидных композиций для векторной доставки S2 - S8, DOX в опухолевую клетку, ткань, является простота, технологическая воспроизводимость процесса получения цинкоксидных композиций. Наноразмерные пленки оксида цинка, контролируемой толщины, осаждаются на поверхности исходных соединений и препарата определённой площади, оптимальной молекулярной массы и функциональных групп.

5. Векторный характер транспорта цинкоксидных композиций противоопухолевых средств в опухолевую ткань, обеспечивается без применения специфической адресации, так как в качестве вектора выступает сам оксид цинка. Получены эффективные противоопухолевые цинкоксидные композиты, проявляющие более высокую (в 2 и более раза) противоопухолевую активность и низкую токсичность, по сравнению с исходными соединениями и препаратом.

1. НАНОРАЗМЕРНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ИХ СВОЙСТВА

1.1. Наноматериалы для доставки лекарственных средств

Заболеваемость раком во всём мире несколько десятилетий очень высокая и эти показатели имеют тенденцию к увеличению.

В настоящее время многие эффективные противоопухолевые препараты доступны, однако проблема их векторной доставки с минимальным ущербом и минимальным взаимодействием с нормальными клетками и другими биологическими структурами во время их транспортировки ставится на первый план.

Эффективность многих противоопухолевых препаратов ограничена из-за невозможности достижения в опухолевую ткань, клетку в достаточных концентрациях и оказания фармакологического действия, не вызывая необратимых повреждений, нежелательных для здоровых тканей и клеток. Низкая эффективность доставки лечебных агентов к мишени (опухолевому очагу) приводит нередко к значительным осложнениям, например, лекарственной устойчивости. Более высокая избирательность и лучшая эффективность доставки лекарственных средств к патологическому очагу – вот два основных направления поиска и разработки новых терапевтических агентов для успешной терапии опухолей.

Целевая, векторная доставка противоопухолевых препаратов существенно ограничена следующими двумя фундаментальными проблемами: прохождением через гематоэнцефалический барьер и селективностью активного агента в отношении клеток-мишеней.

Лекарственные препараты для лечения рака направлены на быстро делящиеся клетки, ограничивая их размножение, а также противодействуя процессу программируемой клеточной гибели. Отсутствие селективности этих обычных методов приводит к ненужному повреждению нормальных клеток и к серьезным побочным эффектам.

Нанотехнологии в медицине обеспечивают обычные препараты адресной, векторной доставкой их в целевые органы или ткани, и тем самым, ограничивают системную токсичность и повышают биодоступность, и терапевтический индекс препарата. В отличие от обычного введения лекарственного вещества (ЛВ) и его распространения по всему организму, направленная, векторная доставка позволяет снизить дозу вводимого лекарства и минимизи-

ровать его воздействие на другие клетки (побочное действие).

Известно, что уменьшение размеров материалов до нанометров, часто приводит к изменению их электрических, магнитных, структурных, морфологических и химических свойств, что дает им возможность взаимодействовать с биомолекулами клеток, и осуществлять транспорт их во внутренние структуры клеток [1]. *При соответствующем техническом проектировании, эти наноматериалы приобретают способность селективно поступать в конкретные виды клеток, и проходить через физиологические барьеры, проникая в глубинные слои опухоли.*

В настоящее время наночастицы находят применение для транспорта лекарственных веществ, а также в качестве биологических сенсоров или анализаторов [2-5]. Наночастицы могут быть использованы в качестве векторов для целевой доставки в раковую клетку или ткань, для оптимизации биораспределения препаратов. Эффективность наночастицы в качестве вектора лекарств зависит от её размера, функциональных групп на её поверхности, скорости высвобождения лекарственного препарата и распада наночастиц. Наносистемы имеют возможность доставки неустойчивых лекарственных препаратов, более целенаправленного распределения и способности для обхода биологических барьеров. В литературе такие наносистемы, в основном, представлены биологически активными веществами, присоединенными к наночастицам или находящимся внутри наноконтейнеров.

Эти системы способствуют увеличению растворимости и стабильности противоопухолевых препаратов, а также их доставки в мишень-органы и клетки-мишени. Наночастицы обычно характеризуются большим процентом атомов на поверхности, что приводит к увеличению их поверхностной активности. Нахождение огромного количества атомов наноструктурного материала на поверхности наноматериалов, доводит до максимума их способность загружаться терапевтическими препаратами и доставлять эти препараты к целевым клеткам и тканям. Размер наночастиц, который сопоставим с природными биологическими молекулами, является той особенностью, которая делает их пригодными для применений в медицине. Их наноразмеры способствуют интерколяции в клетки, и взаимодействию с биомолекулами внутри или на поверхности клеток, давая возможность им динамически и выборочным образом воздействовать на восприимчивость клеток. Оптимальный размер наночастиц

облегчает их вход в ткани опухоли и их последующее удержание. В работах [6, 7] было показано, что частицы размером 100...200 нм имеют значительно более высокую норму усвоения опухолью, по сравнению с более крупными частицами порядка 300 нм или меньшими 50 нм.

Электростатическая природа наночастиц – другая важная характеристика, поскольку считается [8], что электростатические взаимодействия между положительно заряженными нано материалами и целевыми клетками играют важную роль в сцеплении и поглощении клеток. Хотя наночастицы с более высоким положительным зарядом могут оказаться полезными как более высокотоксичные для раковых клеток, однако, высокий положительный заряд может быть не пригоден для лечения рака из-за быстрого выведения лекарственного средства из организма [9]. Таким образом, регулировка поверхностного заряда наночастиц влияет на их цитотоксичность и, по-видимому, является важным фактором при разработке методов лечения рака.

Общая структура и морфология наноматериалов – следующий важный момент для биомедицинских применений. В дополнение к наночастицам сферической формы используются двумерные тонкие пленки. Существует также класс одномерных наноструктур, которые обычно называют «нанопроволокой» и, которые имеют цилиндрическое поперечное сечение менее 100 нм, но могут достигать несколько сотен микронов. Этот класс включает хорошо изученные углеродные нанотрубки с полый внутренностью, в то время как другие типы нанопроволок из других материалов часто представляют собой твердые тела [10, 11].

Наномедицина использует активные и пассивные стратегии наночастицы для целенаправленного повышения внутриклеточной концентрации лекарств. По механизму обеспечения адресной доставки лекарственных препаратов выделяют две основные стратегии – пассивный и активный перенос. Пассивный перенос происходит за счет преимущественного выхода лекарственных частиц в воспаленную или опухолевую ткань вследствие локального повышения проницаемости микрососудов при этих патологических процессах. Для обеспечения эффективного пассивного переноса требуется продолжительная циркуляция лекарственных наночастиц в кровотоке. Применяется «маскирование» наночастиц для их длительного нахождения в кровотоке. Наиболее часто это достигается за счет покрытия наночастиц сло-

ем, например, полиэтиленгликоля, который обладает химической инертностью.

Пассивная диффузия - основной механизм переноса лекарственных веществ, он осуществляется по градиенту концентрации без затраты энергии АТФ (АТФ, аденозинтрифосфат, источник энергии для всех биохимических процессов, протекающих в живых системах). Активный транспорт осуществляется против градиента концентрации с затратами АТФ. Скорость абсорбции увеличивается лишь до тех пор, пока количество молекул лекарственного вещества не сравняется с количеством переносчиков. На перенос лекарственных средств в организме существенную роль играют их физико-химические свойства (гидрофильность, ионизация, поляризуемость, размер молекул, концентрация).

В диагностике и терапии онкологических заболеваний наночастицы делятся на следующие группы:

- наночастицы, содержащие органические, полимерные молекулы в качестве основных структурных элементов;
- наночастицы, содержащие в качестве основных элементов неорганические вещества, как правило, металлы, оксиды металлов.

Большое разнообразие нановекторов, возможность их модификации, а также нагрузки различными лекарствами, контроля их высвобождения в клетке открывают перспективы широкого применения наночастиц для терапии ряда онкологических заболеваний. В общем виде, в состав вектора входит наноконтейнер, в который упаковывают терапевтические субстанции, и система адресной доставки, расположенная на внешней поверхности наноконтейнера. Присутствие распознающих молекул на поверхности вектора позволяет ему сконцентрироваться в заданной области (опухоли, очаге воспаления и т. д.) и доставить туда лекарственное вещество. В отличие от обычного введения лекарственного вещества и его распространения по всему организму, направленная доставка позволяет снизить дозу вводимого лекарства и минимизировать его воздействие на другие клетки (побочное действие). При агрессивной терапии опухолей аспект адресной, векторной доставки высокотоксичных онкологических препаратов приобретает особое значение. В качестве наноматериалов, для создания векторов, используют наночастицы из биосовместимых линейных полимеров (поли-

этиленгликоль, полимолочная кислота и др.) и ветвящихся полимеров (дендримеров), липосомы, а также вирусные частицы, лишенные способности к размножению. Изучены перспективы использования для этих целей фуллеренов, нанотрубок и других не биологических нанобъектов, модифицированных для придания им биосовместимости. Одним из вариантов такой модификации является ПЭГилирование, т.е. покрытие наночастиц оболочкой из полиэтиленгликоля (ПЭГ). Для адресации наноконтейнеров их модифицируют молекулами, узнающими поверхностные рецепторы клеток-мишеней, например, антителами к этим рецепторам, молекулами фолиевой кислоты и др. Дополнительно появляется возможность управлять высвобождением лекарства из наноконтейнера. Так, при использовании в качестве контейнеров наночастиц с металлическим ядром и полимерной оболочкой, в которой содержатся лекарственные соединения, можно вызвать их высвобождение при ограниченном нагревании наночастиц. Это достигается наложением переменного магнитного поля или облучением светом лазера в ближнем инфракрасном диапазоне, который слабо поглощается биологическими тканями, но хорошо поглощается металлическими наночастицами. Пример наноразмерной системы доставки лекарственных средств на основе блок-сополимеров, молекул, образующих гидрофобное ядро с включенным лекарством и гидрофильную оболочку, обеспечивающую биосовместимость переносчика в целом представлен на рис. 1. Модификация поверхности различными векторами, обеспечивает направленную доставку содержимого в соответствующие ткани и клетки. Наночастицы, вводимые внутривенно быстро разрушаются ферментами и выводятся из крови, если их поверхности не защищены. Время их разрушения и вывода из крови зависит от размера наночастиц, формы [12-14], химии их поверхности, [15, 16], поверхностного заряда, [12, 17] и химического состава НЧ. Наночастицы, покрытые гидрофильными полимерами [18-20] имеют лучшую растворимость в воде и менее чувствительны к разрушению ферментами, что повышает их биологическую совместимость [20, 21]. Наночастицы почти всегда покрыты электрически нейтральным гидрофильным поверхностным слоем. В частности, ПЭГ (рис. 2) используется в большинстве современных исследований для покрытия поверхностей наночастиц.

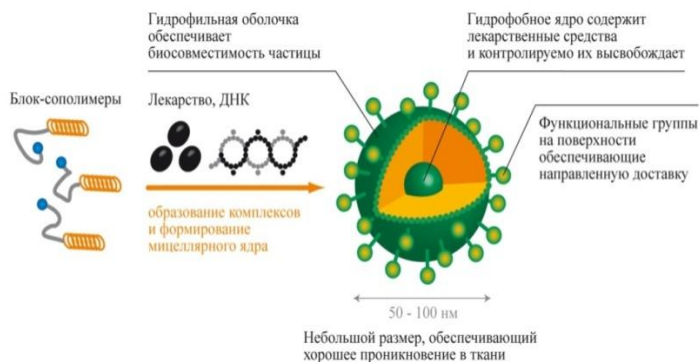


Рис. 1. Схематическое изображение векторной доставки лекарственных средств

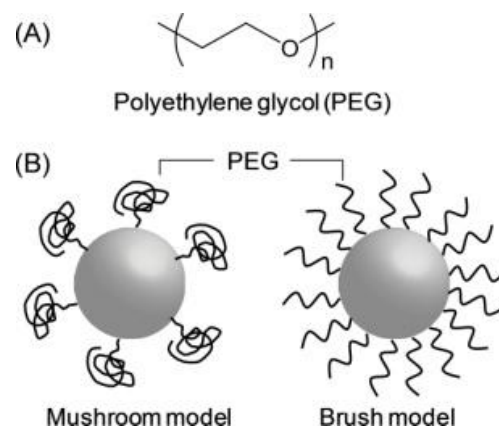


Рис. 2. Структура (А) ПЭГ ; (В) Модель ПЭГилированных НЧ

В публикациях последних лет наночастицы и наноконтейнеры представлены в виде полимерных наночастиц, углеродных нанотрубок, наночастиц нитрида бора, пористого кремния и благородных металлов (Au, Pt, Ag и т.д.), а также наночастиц, нанотрубок оксидов металлов, как для связывания с противоопухолевым препаратом, так и для их инкапсуляции.

Одним из наиболее значимых направлений развития инновационных процессов в медицине является разработка лекарственных препаратов со средствами микро- и нанодоставки, так называемая «мишенная терапия» - технология, направленная на целевую доставку медицинских препаратов к определенным органам человека [22].

Рассмотрим различные технологии адресной доставки лекарственных препаратов, высокоэффективные нанотранспортные системы: их преимущества и недостатки.

1.2. Микро-наноразмерные частицы полимеров для доставки лекарственных препаратов

В наносистемах с полимерами, лекарства либо физически растворены, уединены, инкапсулированы, или прикреплены ковалентно к полимерной матрице [23]. Полимерные наночастицы - как средства доставки лекарственных веществ, синтезированы из синтетических и полусинтетических биodeградируемых полимеров (в основном это – полимолочная, полигликолевая кислота, полимолочно-гликолевая кислота, полиметилметакрилат и т.д.), а также полимеров естественного происхождения (хитозан, желатин, альбумин, альгинат натрия). В зависимости от строения они могут быть представлены наносферами и нанокапсулами. Полимерные частицы привлекают большое внимание исследователей, так как обладают

высокой физической стабильностью, биологической совместимостью, контролируемым высвобождением, длительным сроком хранения и надежной защитой легкоразрушаемых лекарственных веществ от деградации.

Связывание противоопухолевых препаратов с полимерным носителем широко используется для увеличения их активности, растворимости, продолжительности и селективности их действия. Среди полимеров, используемых до настоящего времени, декстран, хитозан, гепарин (рис. 3) и сополимер лактида и гликолида полимолочной и гликолевой кислоты (PLGA), являются весьма перспективными для получения новых систем доставки противоопухолевых лекарств, из-за их хорошей способности к биологическому разложению и биосовместимости [24-34]. Применение полимеров в качестве носителей микро- и наночастиц стало возможным благодаря: 1) способности образовывать стабильные микро- и наночастицы, 2) эффективной степени включения лекарственных веществ различной физико-химической природы и фармакологических свойств в полимерную матрицу, 3) отсутствию токсичности и полной биodeградируемости в организме [35, 36].

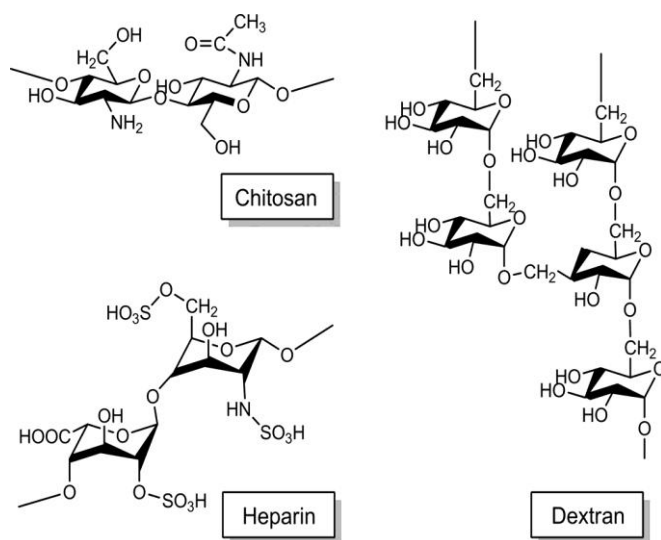


Рис. 3. Структуры хитозана, гепарина и декстрана

На сегодняшний день для получения пролонгированных микро- (нано) частиц используются различные методики. Однако ни одна из них не является совершенной в отношении размера частиц, эффективности инкапсулирования лекарственного вещества и кинетики высвобождения лекарственного вещества. Наиболее широко применяется метод двойного

эмульгирования-выпаривания растворителя. Этот метод включает 2 главные стадии – образование капелек в первичной эмульсии и последующее удаление растворителя из капелек вторичной эмульсии с осаждением микро- (нано) частиц. *Стабильность частиц, а также кинетика высвобождения лекарственного вещества регулируется путем использования эмульгаторов (стабилизаторов), таких как поливиниловый спирт (ПВС).* Поэтому эта методика считается наиболее приемлемой [37].

Биодеградируемые полимерные наноносители используются в качестве переносчиков лекарственных веществ. Наноносители особенно эффективны при внутриклеточной доставке лекарственных веществ. Для увеличения специфичности, снижения токсичности и рисков, связанных с применением лекарственных веществ, а также пролонгации действия препарата лекарственное вещество включают в нанотранспортное средство. При такой контролируемой доставке лекарственных средств обеспечивается интактность терапевтического агента до взаимодействия с целевыми мишенями, предотвращается преждевременная деградация вещества. Парентеральное применение наночастиц связано в основном с терапией опухолевых заболеваний. Попадая в кровяное русло, наночастицы циркулируют в нем до момента достижения ими зоны воспаления и не выходят за пределы капилляров в здоровых тканях, так как размер частиц больше диаметра сосудистых стенок. Однако в зоне воспаления просветы в стенках капилляров увеличиваются. Это связано с тем, что при воспалении есть необходимость выхода клеток иммунного ответа в зону воспалительного процесса для его ликвидации. Поэтому в пораженные ткани вместе с клетками крови входит и нанотранспортное средство. *Таким образом, производится пассивная целевая доставка в необходимые области.* Профиль распределения также зависит от размера наноносителя. Для прохождения через поры капилляров наноразмерный объект должен иметь размеры менее 500 нм [38].

Биоразлагаемые полиэфиры полилактидгликолида (PLGA) являются одними из наиболее часто используемых полимеров для доставки лекарств, поэтому подробнее остановимся на них и опишем их свойства. Физико-химические свойства PLGA определяются молярным соотношением и последовательным расположением молочной и гликолевых кислот. Молочная кислота существует в L- и D-изомерных формах. Кроме того, существует ее рацемическая форма. Молочная кислота, представляющая собой бесцветные кристаллы, гигроскопич-

на, легко образует циклический димер-лактид. Лактид также существует в виде оптически активных L- и D-форм и неактивного рацемата и может полимеризоваться с образованием высокомолекулярных полимеров (polylactide- PLA).

Полигликолид (polyglycolide - PGA) является простейшим полиэфиром, в котором благодаря близкому расположению сложноэфирных групп сильно выражены межмолекулярные взаимодействия, обладает высокой степенью кристалличности, высокой величиной точки плавления (~300 °C), а также чрезвычайной гидролитической нестабильностью [38].

Сополимеры могут быть получены с различными молекулярными массами и структурой макромолекул, позволяющей варьировать степень взаимодействия между макромолекулами. На основе лактида и гликолида возможно получение целого семейства сополиэфиров, свойства которых будут отличаться в пределах определенного диапазона [38, 39].

Таким образом, PLGA может быть получен с различными молекулярными массами и структурой, а также может инкапсулировать молекулы практически любого размера. Полимер растворим в большинстве растворителей, в том числе хлорсодержащих растворителях, тетрагидрофуране, ацетоне, этилацетате. В воде PLGA разлагается в результате гидролиза эфирных связей [38, 40, 41]. По этой причине, параметры, описывающие порошок полимера (молекулярный вес, содержание влаги), могут изменяться с течением времени. Широко изучено влияние этих свойств полимера на скорость высвобождения лекарственного вещества из полимерной матрицы [38, 41].

Биодеградирование всех полимерных соединений можно разделить на два типа:

- 1) поверхностная эрозия, характеризуется медленным проникновением воды в частицу с образованием гетерогенной дисперсии по всей матрице. Уменьшению диаметра частиц при данном способе биодеградации происходит с постоянной скоростью [42].
- 2) массовая эрозия, характеризуется равномерным распределением воды в матрице и сохранением своего первоначального размера [42-45].

Постепенное высвобождение включенного препарата происходит путем диффузии из полимерной матрицы, биодеградации полимерной матрицы или сочетания этих механизмов [41]. Чем больше соотношения между лактидом к гликолиду, тем гидрофобнее будет вещество и тем хуже растворимость у него [42, 46]. Сроки разложения меньше для полимеров с бо-

лее низкой молекулярной массой, большей гидрофильностью и большим содержанием аморфной части, а также при более высоком содержании гликолида в сополимерах. Торговые марки PLGA-полимеров содержат информацию о характеристической вязкости, поскольку именно вязкость, неразрывно связанная с молекулярной массой полимера, характеризует подвижность фрагментов полимерной цепочки, определяет физические свойства полимера и внутреннее взаиморасположение отдельных сегментов [38, 47]. Сополимеры PLGA с различным соотношением лактида и гликолида имеют различные скорости биodeградации, поэтому становится возможным подобрать их оптимальное соотношение для обеспечения необходимой скорости биodeградации в пределах от недель до месяцев. Сополимеры являются более аморфными, чем их гомополимеры и более легко поддаются гидролизу [38].

На начальном этапе гидролиза происходит расщепление длинноцепочковых водорастворимых полимеров до коротких фрагментов. В результате полимерные фрагменты отделяются и гидролизуются до молочной кислоты, при этом молярная масса частиц начинает уменьшаться. Молочная кислота метаболизируется до диоксида углерода и воды, а гликолевая кислота выводится в неизменном виде почками. Данное свойство биodeградируемых полимеров на основе PLGA выражается в отсутствии аллергических реакций в организме, а также они обладают низкой токсичностью [48-51].

Проведены испытания по внедрению наночастиц серебра в PLGA нановолокна. Данные нановолокна были обследованы на предмет противораковой активности по отношению к раковым клеткам печени. Результаты показали, что PLGA нановолокна, содержащие 1% наносеребра имели значение противоопухолевой активности 8,8%, а за счет увеличения концентрации наносеребра до 7%, противоопухолевая активность была увеличена до 67,7%. На основе полученных результатов можно утверждать, что PLGA нановолокна, содержащие наносеребро, могут быть пригодны в качестве противоракового препарата [52].

Применение пролонгированных лекарственных форм на основе PLGA дает определенные преимущества:

- увеличение биодоступности лекарственного препарата, сокращение общего количества лекарственного вещества, необходимого для терапевтической дозы, и уменьшение кратности его приема;

- способность ускоренной доставки к органу мишени лекарственного вещества, снижение возникновения побочных эффектов, связанных с накоплением лекарственного вещества в крови;

- поддержание постоянной терапевтической концентрации в крови [53, 54].

Во всем мире ведутся разработки по созданию наноносителей PLGA уже известных и абсолютно новых лекарственных субстанций, направленных на лечение разных видов раковых заболеваний. Так, в работе [55] было показано, что группа мышей, которым вводили цисплатин загруженный в наночастицы PLGA имели более высокий коэффициент выживаемости, по сравнению со свободной цисплатин. Цисплатин загруженный в наночастицы PLGA-мПЭГ, также привел к пролонгации в системном кровотоке, при исследовании на мышах с раком простаты [56].

Куркумин является эффективным противоопухолевым препаратом для различных типов рака, однако он плохо растворим в воде и имеет низкую биодоступность при пероральном введении. Mukerjee и Vishwanatha было показано, что при загрузке куркумина в наносферические частицы PLGA (рис. 4), он обладает высоким потенциалом для терапии рака предстательной железы [57]. Результаты исследований показали внутриклеточное поглощение наносфер PLGA клетками опухоли. Исследования были проведены на наносферах в интервале от 35 до 100 нм. Было показано, что куркумин загруженный в наносферы PLGA размером примерно 45 нм (рис. 5), обладает эффективным действием для клинического применения при раке предстательной железы.

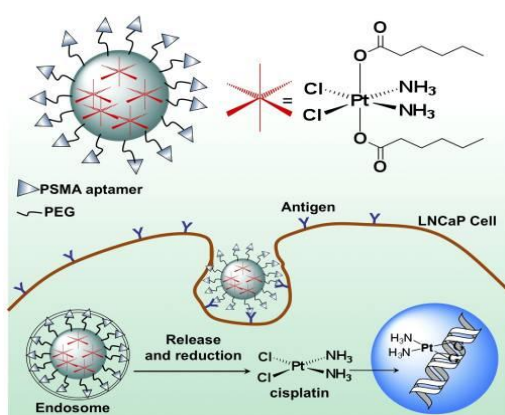


Рис. 4. Схематическое представление Pt-PLGA-наносферами PLGA м-ПЭГ-Апт-НЧ

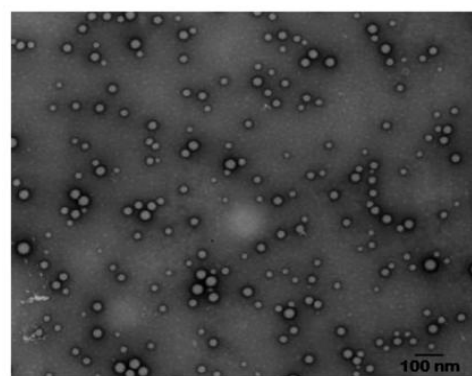


Рис. 5. Куркумин загруженный наносферами PLGA

Также было показано, что куркумин, загруженный в наночастицы целлюлозы, имеет высокое поглощение в клетках рака простаты и вызывает максимальные ультраструктурные изменения, связанные с апоптозом [58]. Исследования показали возможность использования целлюлозы для загрузки куркумина, и его потенциальное использование в терапии рака предстательной железы.

1.3. Углеродные нанотрубки

Углеродные нанотрубки (УНТ) образуют новый класс углеродных наноматериалов, или углеродных каркасных структур, со свойствами, которые значительно отличаются от других форм углерода, таких как графит и алмаз. УНТ принадлежат к семейству фуллереновых аллотропных модификаций углерода с цилиндрической наноструктурой [59-61]. Углеродные нанотрубки – соединения, представляющие собой протяженные цилиндрические структуры, диаметром от одного до нескольких десятков нанометров и длиной от одного до нескольких микрон. Нанотрубки состоят из одной или нескольких свернутых в трубку слоев, каждый из которых представляет гексагональную сетку графита (графен), основу которой составляют шестиугольники с расположенными в вершинах углов атомами углерода. Во всех случаях расстояние между слоями равно 3.4\AA (0,34 нм), то есть такое же, как и между слоями в кристаллическом графите. Верхние концы трубок закрыты полусферическими «крышечками», каждый слой которых составлен из шести- и пятиугольников, напоминающих структуру половины молекулы фуллерена.

Основная классификация нанотрубок проводится по способу сворачивания графитовой плоскости:

- прямые (ахиральные) нанотрубки: «кресло», или «зубчатые» и зигзагообразные;
- спиральные (хиральные) нанотрубки.

Различают также металлические и полупроводниковые нанотрубки [62, 63]. Металлические нанотрубки проводят электрический ток даже при абсолютном нуле температур, в то время как проводимость полупроводниковых трубок равна нулю при абсолютном нуле и возрастает при повышении температуры. Однако наиболее часто нанотрубки делятся на однослойные и многослойные. Однослойные углеродные нанотрубки (ОУНТ) – простейший вид

нанотрубок. Большинство из них имеют диаметр около 1 нм при длине, которая может быть во много тысяч раз больше. Структуру однослойных нанотрубок (рис. 6) можно представить как «обертывание» графита толщиной в один атом, называемого графеном, в бесшовный цилиндр. Основной особенностью однослойных нанотрубок являются его важные электрические свойства, которые позволяют использовать их в современной электронике [64, 65]. Многослойные нанотрубки имеют больший наружный диаметр (2,5...100 нм), по сравнению с однослойными (0,6...2,4 нм) [66, 67].

Большая часть нанотрубок обладает металлической проводимостью [62, 68], другие проявляют свойства полупроводника [63], характеризуются сверхпроводимостью [69], резком (около двух порядков величины) изменении проводимости при небольшом, на $5...10^\circ$, изгибе однослойной нанотрубки. Эти необычные свойства цилиндрических молекул углерода очень ценны не только для нанотехнологий, электроники, оптики и других областей материаловедения и технологии, однако и для наномедицины.

В литературе [70] описаны три способа использования нанотрубок для доставки и высвобождения лекарственных веществ (рис. 7). Первый способ заключается в сорбировании активных молекул препарата на сети нанотрубок или внутри их пучка (рис. 7а). Второй способ предполагает присоединение лекарства к функционализированной внешней стенке нанотрубки (рис. 7б). Третий способ заключается в помещении активного вещества внутрь просвета нанотрубок (рис. 7с).

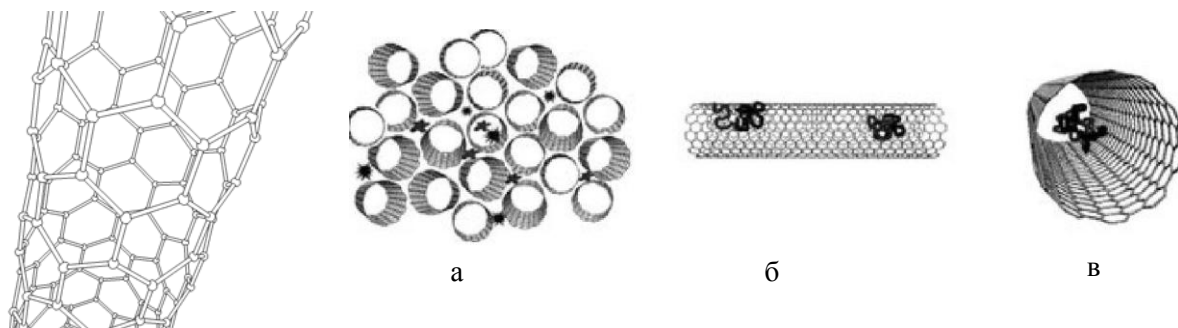


Рис. 6. Однослойные углеродные нанотрубки

Рис. 7. Варианты использования нанотрубок для доставки лекарственных веществ: а) сорбирование вещества в массиве нанотрубок, б) химическое присоединение вещества к функционализированной поверхности нанотрубки, в) помещение вещества в просвет нанотрубки

УНТ служат в качестве адресной доставки для терапевтических молекул [71-78], в частности, для противоопухолевых препаратов, ввиду их способности преодолевать биологические мембраны, проникать через гематоэнцефалический барьер. Для превращения нанотрубок в эффективный носитель лекарственного вещества поверхность нанотрубок функционализируется, т.е. к поверхности нанотрубки присоединяется химическое соединение, являющееся связующим между поверхностью и молекулой лекарственного препарата. Функционализации могут подвергаться дефектные участки стенки нанотрубок. Функционализация может обеспечиваться ковалентным или нековалентным связыванием химических групп с поверхностью стенки нанотрубок.

В работе [76] было показано, что функционализированные фолатом однослойные углеродные нанотрубки поглощались опухолевыми клетками, причём облучение опухоли ближним инфракрасным светом приводило к интенсивному разогреву нанотрубок, вызывающему лизис (разрушение) клеток опухоли без повреждения соседних клеток. Одним из наиболее широко используемых способов функционализации нанотрубок является присоединение к ним молекул ПЭГ. На рис. 8 показана схема доставки противоопухолевого препарата паклитаксел (ПТХ) с помощью УНТ. Молекулы паклитаксела подвергаются взаимодействию с функциональными группами разветвлённого ПЭГ [79].

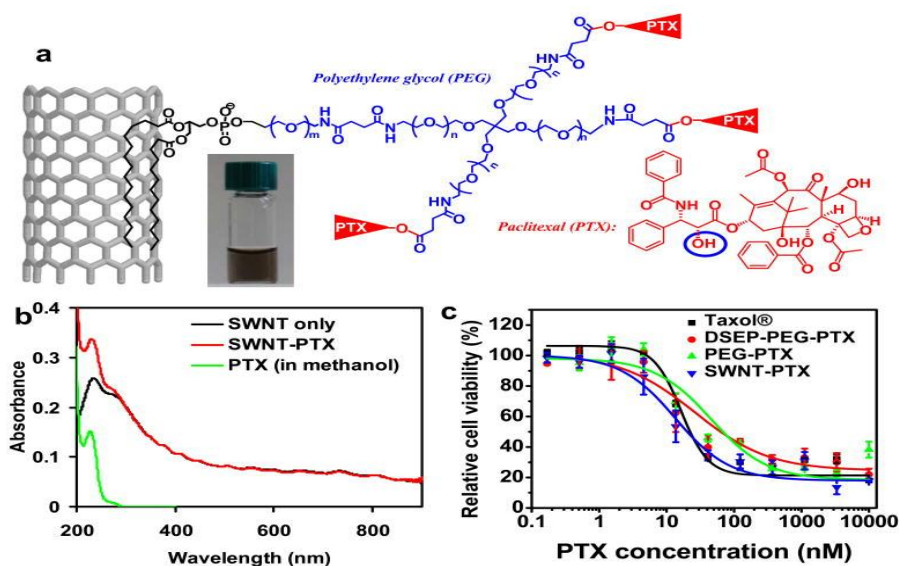


Рис. 8. УНТ для доставки паклитаксела: а) схематич. иллюстрация конъюгации ПТХ с УНТ; б) UV-Vis спектр УНТ до конъюгации (чёр. крив.) и после (красн. крив.); ПТХ при 230 нм (зел. крив.); в) зависимость жизнеспособн. клеток от концентрации ПТХ

Способность УНТ в качестве носителей широкого круга терапевтических молекул, их большая площадь поверхности, а также возможность модификации их поверхности была использована в фототермическом разрушении раковых клеток. Американские ученые разработали методику обнаружения и уничтожения раковых клеток в живом организме с помощью углеродных нанотрубок. Пользуясь методикой рамановской спектроскопии, они увидели движение раковой клетки, помеченной нанотрубками, в организме крысы [80]. Исследователи показали, что инъекция животным (мышам) разных доз раствора нанотрубок, а затем быстрый нагрев опухоли в течение 30 секунд лазерным импульсом на длине волны 1064 нм с плотностью энергии 3 Вт/см² приводят к уничтожению опухоли [81].

Известно, что при попадании ближнего ИК-излучения на нанотрубки они начинают вибрировать и разогревают вещество вокруг себя. Эффективность такой терапии оказалась весьма велика: у восьмидесяти процентов мышей, получивших наибольшую дозу раствора нанотрубок, опухоли через некоторое время полностью исчезли. Почти все мыши из этой группы дожили до конца исследования.

1.4. Нанотрубки нитрида бора

Разработана система уникального класса неорганических наночастиц, нанотрубки нитрида бора (НТНБ), которые представляют новые перспективы как для диагностических, так и терапевтических возможностей одновременно (терагностика) [84-97]. НТНБ являются структурными аналогами углеродных нанотрубок (УНТ): чередующиеся атомы В и N полностью замещают атомы С в графитоподобных структурах при практически полностью идентичном пространственном расположении. Несмотря на столь значительное структурное сходство, НТНБ и УНТ имеют существенное различие свойств, которое состоит в том, что нанотрубки нитрида бора – изоляторы с постоянной шириной щели (5 эВ), независимо от диаметра трубки, количества стенок и хиральности. Нанотрубки нитрида бора могут быть прикреплены к антителам или другим специфичным к мишени биомолекулам [85].

Разработана методика формирования наночастиц Fe₃O₄, плотно и равномерно распределенных на поверхностях многостенных нанотрубок нитрида бора. Такие наноконпозиты обладали нормальными ферромагнитными свойствами при низкой температуре (5 К) и сла-

бым магнетизмом с пренебрежимо малой коэрцитивной силой при комнатной температуре. Благодаря плотному и равномерному магнитному покрытию, многостенные нанотрубки нитрида бора могли подвергаться физическому манипулированию при сравнительно слабых магнитных полях. Магнитные наноконпозиты на основе нанотрубок нитрида бора потенциально могут применяться для доставки бора в опухолевую ткань [86]. Важным применением, основанном на молекулярном распознавании раковых клеток, является использование НТНБ в качестве вектора атомов бора при нейтрон-захватной терапии рака (нейтрон-захватная терапия – экспериментальный метод радиотерапии, при котором в опухоли предварительно накапливают бор, а затем ее облучают потоком тепловых нейтронов). В результате поглощения нейтрона бором происходит реакция с большим выделением энергии в клетке, что приводит к ее гибели. Терапия захвата нейтронами бора используется в лечении многих агрессивных видов рака [84, 87], в том числе глиобластомы головы. Главное требование к этой терапии является векторный транспорт атомов бора в злокачественную опухоль мозга. В определённых количествах облучение низкоэнергетических тепловых нейтронов необходимо для захвата бора опухолевыми клетками. В работе [88] показано избирательное поглощение НТНБ глиобластомой клеток (рис. 9, 10, 11) без поглощения нормальных клеток.

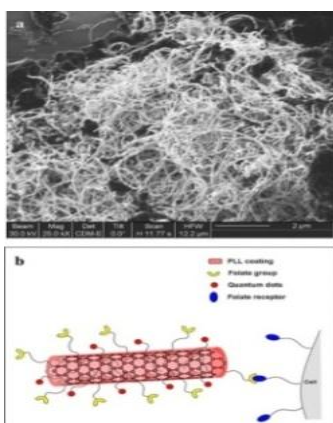


Рис. 9. ФИБ дисп. фолиевой кислоты, с F-PLL-BNNTs диагр. нано вектора (b)

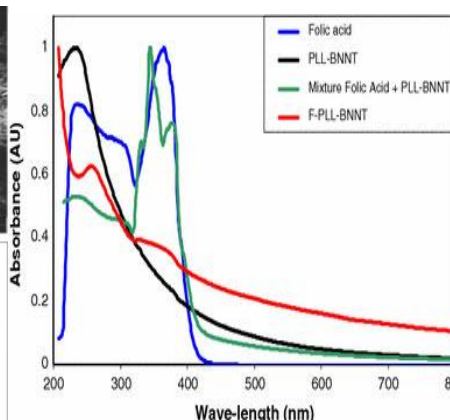


Рис. 10. UV-Vis F-PLL-BNNT, смесь фолиевой кислоты с PLL-BNNT и F-PLL-BNNT

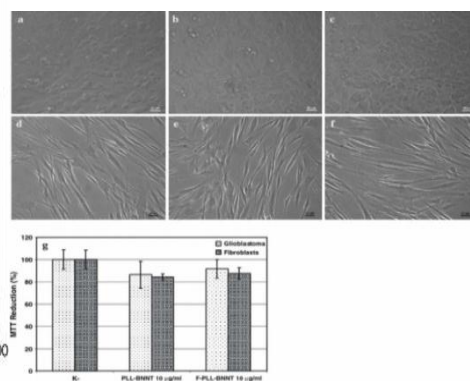


Рис. 11. Морфология контрольной культуры глиобластомы после 24 ч. обработки (a); глиобластома инкуб. 10 мг/мл PLL-BNNTs (b); глиобластома инкуб. 10 мг/мл F-PLL BNNTs (c) фибропласт контроль (d)

В исследовании впервые были использованы НТНБ в качестве носителей атомов бора для повышения избирательности, адресности и эффективности их для этих опухолей флуо-

ресцентным зондом (F) и фолиевой кислотой для доставки, в опухоль. Нанотрубки нитрида бора диспергировали в водной среде путем их покрытия поли-L-лизинном. После дисперсии в водном растворе поли-L-лизина (PLL), НТНБ были функционализованы. Полученные результаты показали, что фолат-функционализованный НТНБ выступает в качестве доставки бора в злокачественные клетки глиобластомы. *In vivo* исследования подтвердили селективное поглощение этих нановекторов глиобластомой клеток [89, 90]. Исследования привели к выводу о пользе потенциального клинического применения НТНБ для терапии злокачественных опухолей головного мозга. Осаждение нанотрубок нитрида бора на поверхность раковых клеток по мнению учёных может удвоить эффективность лечения опухолей.

Исследователями из National Institute for Materials Science (NIMS, Япония) предложена новая техника функционализации НТНБ [91], которая позволяет варьировать концентрацию гидроксильных групп, что дает возможность управлять свойствами наноструктур нитрида бора.

В работе показана возможность формирования супергидрофильных, гидрофильных и гидрофобных структур на исходных супергидрофобных пленках. Группа исследователей также отмечает, что возможно также создание поверхности с направленным смачиванием при помощи наноструктурированных пленок нитрида бора. При этом простая и быстрая техника их получения выгодно отличается от дорогих и сложных методов, предлагавшихся ранее для создания наноструктур на поверхности материалов. Предложенный учеными процесс функционализации начинается с подготовки нанолистов нитрида бора и нанотрубок в виде пленки из того же материала с использованием методики химического осаждения из парообразного состояния в электрической печи. Далее следует бомбардировка наноструктуры ионами и электронами в устройстве генерации плазмы, работающей при комнатных температуре и давлении. В результате нанотрубки нитрида бора были функционализованы гидроксильными группами (рис. 12).

Большая скорость и простота выделяет данную методику на фоне существовавших многоступенчатых и дорогих способов функционализации нанолистов и нанотрубок нитрида

бора, где традиционно использовались ультразвуковая обработка, гидролиз или химические реакции, проводящиеся при больших давлении и температуре.

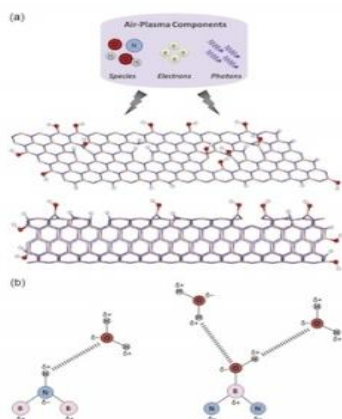


Рис. 12. Схематический процесс функционализации наноструктур из нитрида бора

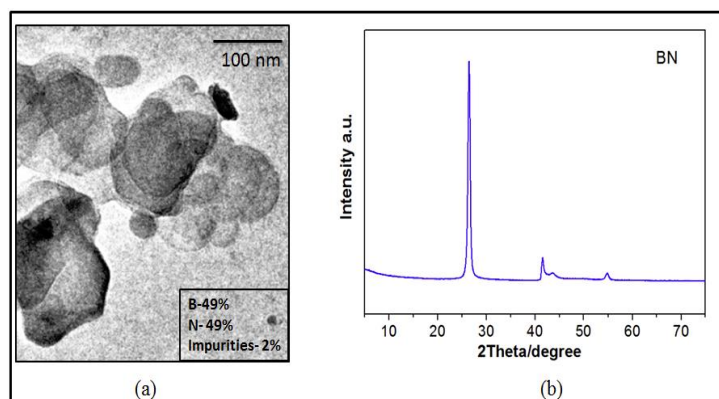


Рис. 13. Размер наночастиц нитрида бора: ЭДРС (а) и рентгенофазовый анализ: РФА (б)

Методика позволяет добавлять и другие функциональные группы к наноструктурам из нитрида бора. Функциональные группы потенциально могут улучшить межфазный контакт между нитридом бора и другими поверхностями, такими как металлы и полимеры, в нанокompозитах. Такие гибридные структуры могут быть использованы в качестве средств для доставки лекарственных препаратов к пораженным раком областям. Исследователями из Австралии (Institute of Health and Biomedical Innovation, Queensland University of Technology) [92] методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДРС), рентгенофазового анализа определён состав нитрида бора (НБ): бор (49%) и азот (49%), а просвечивающей электронной микроскопией было показано, что размеры наночастиц НБ в интервале от 100 до 250 нм (рис. 13).

На примере взаимодействия наночастиц НБ с клетками остеобластов было показано поглощение наночастиц НБ клетками. Процесс поглощения отчетливо делится на три отдельных этапа: адгезию к клеточной мембране, интерколяция в неё и далее интернализация (регулирование процесса доставки). Механизм захвата был идентифицирован методом просвечивающей электронной микроскопии. Локализация НЧ нитрида бора внутри клетки была изучена и проанализирована. В работе показано, что наночастицы нитрида бора перспективны для различных биомедицинских применений (доставки лекарственных препаратов, генов,

клеточной терапии и т.д.).

В работе [93] методом ЯМР авторами показана сравнительная характеристика двух методик бор захватной нейтрон терапии испытанной на меланоме крысы с использованием борокаптата натрия (БКН) и борон-фенилаланина (БФА). Показано, что для БФА захват бора был значительно выше чем для БКН, однако время захвата было выше у БКН, что указывает на сильный захват БФА клетками меланомы.

1.5. Наночастицы драгоценных металлов

Особое направление в терапии онкологических заболеваний, основано на использовании наночастиц, связанных с нагревом металлических наночастиц излучением ИК-лазера. Особенностью металлических наночастиц является наличие резонансного поглощения энергии электромагнитного поля для случаев, когда размер наночастицы гораздо меньше длины волны. Это поглощение связано с поверхностным плазмонным резонансом – коллективным колебанием электронного газа на поверхности наночастицы. Для большинства металлов длина волны плазменного резонанса лежит в области видимых и более коротких волн. Так, например, поверхностный плазменный резонанс золотого нанопшара, помещенного в воду, лежит вблизи 520 нм, а серебряного – вблизи 390 нм. Длина волны поверхностного плазменного резонанса зависит от размеров и формы наночастиц, расстояния между ними, нахождения в составе кластеров или агрегатов, а также свойств их локального диэлектрического окружения [94]. В настоящее время основные эксперименты по лазерному термическому повреждению патологических клеток выполнены в условиях *in vitro* на культурах клеток [95]. Это связано с тем, что для нагрева наночастиц золота на длине волны плазмонного резонанса их необходимо облучать лазерным излучением с длиной волны около 520 нм, а излучение с такой длиной волны практически не проходит в биологическую ткань. В работе авторов [96] показано, что для наночастиц золота эллипсоидальной формы частота плазмонного резонанса значительно сдвигается в красную область. Экспериментально было установлено, что золотые наностержни обладают уникальными оптическими свойствами. Они имеют два пика поверхностного плазмонного резонанса – поперечного с длиной волны 520 нм и продольного с длиной волны в области ближнего ИК-диапазона [97]. На культуре клеток HeLa была проде-

монстрирована их тепловая деструкция при облучении лазерным излучением с длиной волны 1064 нм (Nd:YAG лазер) после введения в клетки золотых наностержней с молекулами фосфатидилхолина на их поверхности, используемых в качестве стабилизатора [98]. Используемые наностержни золота с фосфатидилхолином имели продольный поверхностный плазмонный резонанс на длине волны около 900 нм. Облучение клеток в течение 2 минут излучением Nd:YAG лазера с частотой следования импульсов – 10 Гц и энергией в импульсе 250 мДж привело к 100% – ной гибели клеток, тогда как в случае сферических наночастиц при тех же условиях эксперимента погибли не более 10% клеток. В последнем случае эффект гибели клеток мог быть обусловлен двухфотонным взаимодействием лазерного излучения с поверхностным плазмонным резонансом сферических наночастиц золота на длине волны 520 нм. Наноструктуры с различными геометрическими формами по-разному взаимодействуют с биологическими структурами на клеточном и субклеточном уровнях и этот вопрос, конечно, требует детального изучения.

Наночастицы драгоценных металлов являются универсальными агентами для доставки лекарственных средств [99-111]. НЧ благородных металлов (например, золото, серебро), легко настраиваются на желательные длины волн в соответствии с их формой (например, наночастицы, наноболочки, наностержни и т.д.) и могут быть получены разных размеров (например, от 1 до 140 нм) (рис. 14).

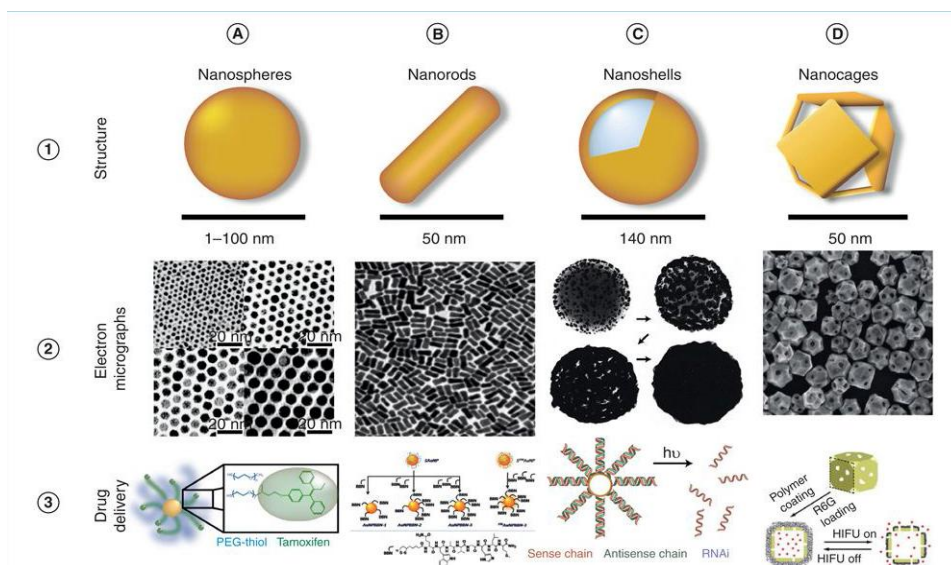


Рис. 14. Применение Au наночастиц в доставке лекарств и лазерная фототермальная терапия

Наночастицы золота (НЗ) являются перспективными для терапии в качестве носителя лекарственных препаратов ввиду их легкого синтеза, простоты функционализации, биосовместимости отсутствия или слабой токсичности. В интервале от 20 до 50 нм НЗ наиболее эффективно захватываются опухолевыми клетками. Частицы от 40 до 50 нм легко диффундируют в опухоли и восстанавливают её, наиболее крупные частицы, от 80 до 100 нм и более, не быстро диффундируют в опухоль, а остаются в крови дольше [99, 100]. На рис. 14 представлены наночастицы разных размеров и показано применение НЗ в доставке лекарств и фототермальной терапии. В работах [101-104] показано применение НЗ в фототермической, фотодинамической, радиочастотной, химиотерапии и лучевой терапии. В работе авторов [105] представлено использование радиочастотного (РЧ) излучения вместе с наночастицами золота, а также золото-золота сульфидных (ЗЗС) нано оболочек и показано, что уменьшение роста злокачественных опухолей значительнее в случае использования высокочастотного излучения с ЗЗС по сравнению только с РЧ [105].

Уникальные химические и физические свойства наночастиц золотых монослоев обеспечивают значительную селективность в доставке препаратов. В последнее время НЗ в качестве транспортёра лекарств получили большое применение [106-108]. Наночастицы золота были использованы в качестве векторных средств для доставки противораковых препаратов, таких как паклитаксел [106] или на основе (Pt-) препаратов (например, цисплатин, оксалиплатин и т.п.) [107, 108]. Доксорубин, конъюгированный наночастицами золота, которые были функционализированы фолат модифицированным полиэтиленгликолем, показали значительно более высокую противоопухолевую активность, по сравнению с самим DOX [109]. Гибсон и др. описали пример 2 нм ЗН ковалентно функционализированным с химиотерапевтическим препаратом паклитаксел [106]. Для увеличения растворимости комплекса НЗ-олигонуклеотид, он сопрягался с паклитакселом в водной среде.

Комплекс НЗ с цисплатин оказался значительно эффективен для замедления скорости высвобождения цисплатин из нанокапсул [110]. Согласно работе учёных [111] золотые нанотрубки могут использоваться для эффективного фототермального уничтожения раковых клеток, а также могут использоваться в качестве инструмента для доставки лекарственных средств.

ств или в роли нанозондов для медицинской визуализации пораженных областей с высоким разрешением. Учёные определили размер нанотрубок, обеспечивающий оптимальное поглощение света в ближней ИК области спектра электромагнитного излучения биологическими тканями. В результате, при помощи импульса лазерного луча, ученым удалось быстро увеличить температуру в непосредственной близости от нанотрубок (в процессе нагревались и сами нанотрубки), что позволило быстро и достаточно эффективно разрушить раковые клетки. В некоторых работах было отмечено, что инъекционное введение лабораторным животным КЗ может приводить к воспалительным реакциям, накоплению золота в ретикулярных клетках лимфоидной ткани, активации клеточного и гуморального иммунитета. В то же время, в работе по изучению действия на клетки иммунной системы золотых наночастиц, был сделан вывод о том, что частицы КЗ являются нецитотоксичным, неиммуногенным и биосовместимым материалом.

Ученые открыли удивительную особенность серебра в борьбе с раковыми клетками. Исследование показало: металл не только заменяет препараты химиотерапии, но и снижает остроту побочных эффектов лечения. Серебро используется для производства повседневных продуктов, которые не имеют побочных действий, поэтому вполне может стать потенциально дешевой альтернативой для препарата Цисплатин, созданного на основе платины. Например, препарат Цисплатин, применяемый против ряда раковых опухолей, содержит в себе платину. Препарат получен на базе групп молекул, присоединенных к атому платины. В итоге получается соединение, вступающее в реакцию с ДНК в клетках рака. Реактивность соединения обуславливают молекулы, окружающие металл. Однако он обладает такими сильными побочными эффектами, как тошнота, рвота и даже нарушение функции почек.

Британские исследователи получили эффективное противораковое средство, присоединяя разные типы карбеновых лигандов к атомам серебра [112]. Лабораторные испытания показали, что воздействие этих химических соединений на основе серебра на раковые клетки груди и кишечника, в течение шести дней, столь же эффективно, что и действие Цисплатин, не вызывая, при этом, сильных побочных действий. Ученые считают, что ионы серебра проникают в клетки, когда противоопухолевое средство вводится в организм, уничтожая, таким

образом, раковые клетки.

В работе авторов [113] показано получение карбеновых лигандов серебра из кофеина, теофиллина и испытание их на клеточных линиях рака различных гистологических типов, по сравнению с Цисплатин. Комплексы были полностью охарактеризованы методами ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, элементного анализа и рентгеновской дифракции. Гидрофобность комплексов также была измерена. Противоопухолевая активность комплексов была испытана на клеточных линиях рака различных гистологических типов, по сравнению с Цисплатин на тех же клеточных линиях. Исследования показали, что важную роль в противоопухолевой активности и доставке противоопухолевых средств в опухолевую клетку играет как стерический эффект лиганда, так и его гидрофильность.

1.6. Наночастицы кремния

Среди наноматериалов особое место для адресной доставки лекарственных препаратов занимают кремниевые наночастицы (SiНЧ) ввиду их пористой структуры, легкого синтеза, равномерной морфологии, регулируемого объема пор с контролируемым диаметром, модифицируемой поверхности, легкой функционализации, и значительной биосовместимости [114-116].

Пористые Si-структуры пригодны для загрузки, хранения, транспортировки и эффективного высвобождения, заключенных в них лекарственных веществ [117, 118]. Высокая пористость наноструктурного кремния имеет высокую производительность для загрузки препаратов с терапевтическим агентом до 95%. При входе в опухолевую ткань, клетку пористый кремний медленно растворяется, высвобождая терапевтический агент с контролируемой скоростью. Введение лекарства на наноструктурированном носителе вблизи целевого органа, позволяет значительно снизить концентрацию препарата в других тканях, при сохранении эффективной концентрации в пораженной области, что позволяет уменьшить побочные эффекты. Попадая в организм, лекарственный контейнер встречается с рядом биологических, химических и физических барьеров, таких как, например, разрушающее действие ферментов, атака иммунной системы и клеточные мембраны [119]. В связи с этим наноконтейнер должен обладать прочностью, биосовместимостью и биодоступностью. Размер пор, морфологию

и химию поверхности можно менять в процессе получения пористого Si и его последующей обработки. Изменяя размер пор и химию поверхности, можно обеспечить требуемые сорбционные характеристики для конкретного лекарства [120].

Можно также менять размер и форму самих частиц. Пористый кремний может быть изготовлен в виде пленки, микроиглол, чипа и др. [121]. Кремниевая матрица может быть как однослойной, так и двухслойной [122]. Введение лекарства в поры кремниевого контейнера, т. е. его загрузка, может осуществляться различными способами, наиболее предпочтительным из которых является пропитка основы растворами лекарственных препаратов или же их адсорбция из растворов путем длительного выдерживания пористого Si в растворе, содержащем лекарство [123]. Эффективность лекарственной загрузки зависит от степени пористости частицы [124]. *Лекарство может быть иммобилизовано в кремниевом контейнере тремя способами: путем ковалентного связывания, окисления и электростатических взаимодействий* (рис. 15) [125]. Пористые кремниевые структуры являются легкодоступными для загрузки как гидрофильных, так и гидрофобных молекул [126]. Кинетика высвобождения лекарства контролируется изменением химических свойств пористой кремниевой матрицы [127]. Меняя свойства поверхности пористого Si, можно осуществлять контролируемое высвобождение лекарства, продлевая срок эффективного его использования до недель, месяцев. В последнее время Si наночастицы все чаще стали применять для лечения онкологических заболеваний [128].

В работе [129] исследователи при помощи компьютерного моделирования вычислили, что форма наночастиц в виде диска (рис. 16) является оптимальной при лечении рака.

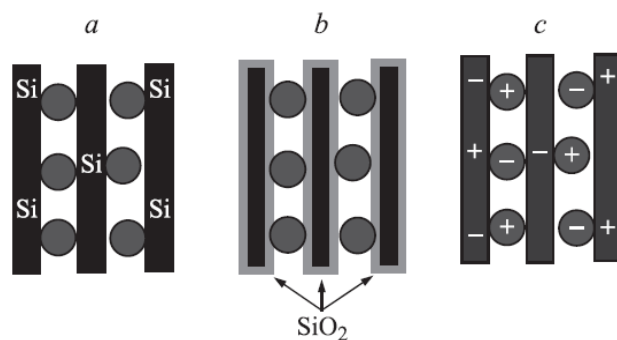


Рис. 15. Способы загрузки лекарств в кремниевый контейнер: а) ковалентное связывание; б) окисление; в) электростатические взаимодействия

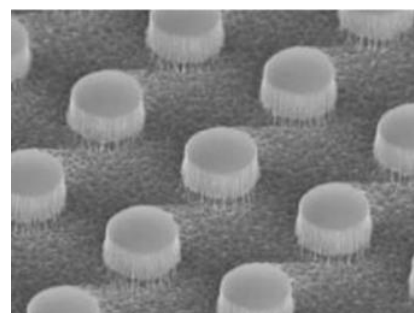


Рис. 16. Кремниевые наночастицы Контейнер: в форме диска

После того, как в ходе лабораторных экспериментов подтвердились все свойства наночастиц, предсказанные в ходе компьютерного моделирования, были проведены исследования на модельных животных. В процессе испытаний было доказано, что "нанодиски" легко прикрепляются к раковым клеткам меланомы, поэтому 5 - 10 % введенных наночастиц на грамм пораженного опухолью органа было достаточно для доставки требуемой дозы лекарства. Было установлено, что кремниевым "дискам" легче попасть в поражённые органы, ткани, чем наноразмерным сферам или палочкам.

В работе [130] было показано, что Si нанокристаллы могут выступать в качестве эффективных фотосенсибилизаторов активного кислорода. Данный вид возбужденного молекулярного кислорода отличается высокой химической активностью, что обуславливает его применение для фотодинамической терапии онкологических заболеваний. В экспериментах, проведенных на раковых клетках (модифицированные фибробласты мыши), показано, что Si наночастицы способны уменьшать количество раковых клеток до 80% [131]. В ходе эксперимента исследуемые клетки подразделяли на три группы. К клеткам первой и второй групп добавляли водную суспензию, содержащую определенное количество Si частиц. К контрольным клеткам (третья группа) Si частицы не добавляли. Клетки первой и третьей групп облучали светом ртутной лампы ДРШ 250-2, излучение которой предварительно пропускалось через фильтр из дистиллированной воды для подавления тепловой составляющей спектра и стеклянный фильтр с полосой пропускания 350...600 нм. Клетки второй группы не облучали. Анализ зависимости числа живых клеток фибробластов мышей первой и второй групп относительно контрольной группы от концентрации Si частиц показал, что после облучения при концентрации Si частиц в растворе $\sim 0,5$ г/л и выше имеет место значительное уменьшение числа живых клеток по сравнению с контрольной группой. При концентрации 2,5 г/л фиксировали гибель около 80% клеток. В то же время в темноте влияние Si частиц практически отсутствует во всем использованном диапазоне концентраций. Следовательно, можно было сделать вывод о том, что подавление размножения раковых клеток вызвано воздействием активного кислорода, возникающего при фотовозбуждении Si частиц. Проведенный анализ показал, что после облучения в присутствии Si частиц с концентрацией более 0,1...0,5 г/л происходит гибель клеток, а концентрационная зависимость числа выживших клеток близка

к представленной. По-видимому, гибель раковых клеток связана с воздействием фотосенсибилизированного активного кислорода, в частности, с окислением клеточного содержимого синглетным кислородом. Исследования, проведенные на клеточных линиях аденокарциномы толстой кишки человека LoVo и HT29, показали возможность применения двуслойной Si матрицы для контролируемой доставки антиракового препарата доксорубицин (DOX) [132]. В ходе эксперимента DOX загружали в двуслойные Si матрицы в промежутке времени от 30 мин до 24 ч., и затем клетки культивировали в растворе, не содержащем Si, в течение 72 ч. при $T = 37^{\circ}\text{C}$ в увлажненном воздухе, содержащем 5% CO_2 . Исследования показали, что присутствие незагруженных Si матриц в клетках LoVo и HT29 в течение 7 дней не влияет на клеточный рост в культуре по сравнению с контролем. Используя фазово-контрастную микроскопию, было показано, что клетки имеют сходную с контрольными морфологию. Кроме того, высвобождение DOX из Si матриц происходит контролируемым образом. Также исследовали цитотоксичность высвобождения DOX через 72 часа после загрузки лекарства. При этом наблюдали существенное подавление деления раковых клеток, связанное с высвобождением DOX.

1.7. Наночастицы оксида цинка

Наночастицы оксида цинка получили свое широкое распространение в медицине благодаря их особым оптико-электрическим свойствам, в связи с возможностью управления его сопротивлением в очень широких пределах: $3 \cdot 10^{-4} \div 2 \cdot 10^{11}$ Ом·см [133-135]. Оксид цинка является одним из уникальных веществ, проявляющих антиоксидантную, антимикробную активность, противоопухолевую активность, усиливающий иммунную систему организма [136-149].

В работе [136] показана антиоксидантная активность наночастиц оксида цинка на термическую стабилизацию полиэтилена, полипропилена и полистирена, в то время как микрочастицы ZnO не обладали этим свойством. Изучена регулирующая, иммунная роль ZnO на синтез дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), выработку интерлейкина (IL-2, IL-6, IL-10) и нормализацию концентрации цитокина у пациентов с циррозом печени [137]. Известно, что оксид цинка не токсичен и проявляет фотокаталитическую, антибактериальную, противоопухо-

левую активность под влиянием УФ-облучения [138-143], в то время как наночастицы ZnO проявляют подобные свойства без УФ облучения [144-150].

Электростатические характеристики наночастиц ZnO являются другой полезной особенностью для биомедицинских приложений. Наночастицы ZnO обычно содержат на поверхности нейтральные гидроксильные группы, которые играют важную роль для состояния их поверхностного заряда [151, 152]. Изoeлектрическая точка 9...10 [153] указывает на то, что у наночастиц ZnO в физиологических условиях имеется большой положительный поверхностный заряд. Учитывая, что раковые клетки содержат на своих внешних мембранах высокую концентрацию анионных фосфолипидов, а также высокий мембранный потенциал [154-156], можно ожидать, что взаимодействия с положительно заряженными наночастицами ZnO являются электростатическими взаимодействиями, тем самым способствуя поглощению клеток, и предельной цитотоксичности. Другой особенностью наночастиц ZnO является их способность содействовать генерации активных форм кислорода, что может привести к гибели раковых клеток при превышении их антиоксидантной способности [157-161, 12, 41, 82-84]. В настоящее время возможности получения наночастиц различных типов материалов не представляют проблем, однако вопросы совместимости с живыми клетками ограничивают типы наноматериалов, подходящих для использования их в биомедицине. Общий подход к повышению биологической совместимости и снижению агломерации частиц - это покрытие наночастиц полимерами определенных размеров с целью снижения их токсичности, легкому захвату клетками и, таким образом, более подходящих для применений, связанных с доставкой препаратов [157]. На основании все большего количества литературных данных, генерация активных форм кислорода является ключевым цитотоксическим механизмом наночастиц ZnO [144, 148 157, 158, 162, 163], приводящим к гибели раковых клеток. Было показано (рис. 17), что фотоактивация наностержней ZnO (терапия, основанная на действии света на организм), приводит к большим уровням генерации активных форм кислорода, селективно разрушающих раковые клетки [148].

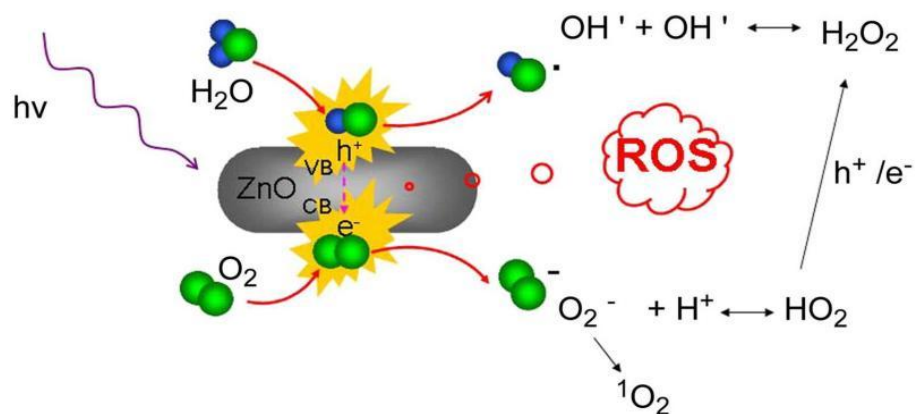


Рис. 17. Возможный механизм генерации активных форм кислорода (ROS) наностержнями ZnO под воздействием УФ облучения

В работе [164] исследователями была выявлена способность наночастиц ZnO вместе с порфирином синергистически вызывать цитотоксичность при раке яичников под действием ультрафиолета, в то время как небольшая цитотоксичность наблюдалась без УФ облучения или с УФ облучением, но без наночастиц.

Наноматериал оксида цинка может быть получен в разных формах: а) нанопроволок (NWS), б) нано-ёж, с) наночастиц и d) наностержней (рис. 18).

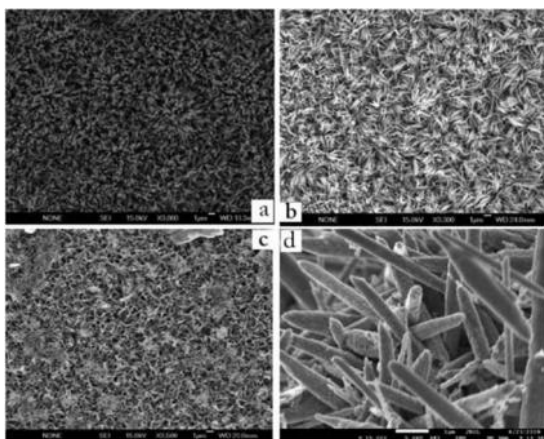


Рис. 18. а) Нанопроволоки ZnO, б) Нано-ёж ZnO с) Наночастицы ZnO, d) Наностержни ZnO

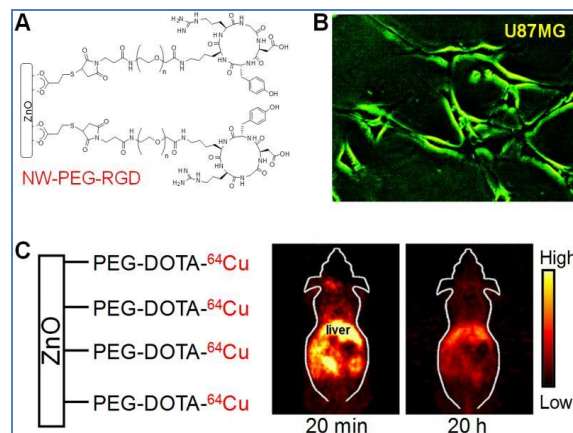


Рис. 19. А. Схематическое строение ПЕГилированного пептида, конъюгированного ZnO NWS. В) Флуоресцентная визуализация интегринa v_3 на U87MG клетках глиобластомы человека С.) позитронно-эмиссионная томография самок мышей после инъекции ^{64}Cu -меченного ZnO NWS

Возможность синтезировать ZnO в виде нанотрубок [165, 166] делает их очень *привлекательными* для доставки медицинских препаратов, особенно в случае медленного высвобождения лекарственного средства. На рис. 19 схематически представлено строение пегили-

рованного пептида конъюгированного ZnO NWS и позитронно-эмиссионная томография мышей после его инъекции животным.

В работах [167, 168] было показано, что использование квантовых точек ZnO, нагруженных DOX оказались эффективным носителем препарата и характеризуются быстрым высвобождением лекарственного средства. В этом исследовании, наночастицы ZnO инкапсулировали с хитозаном для повышения стабильности наноматериала ввиду его гидрофильности.

Все выше обозначенные факторы свидетельствуют о ценности наноматериалов на основе ZnO в междисциплинарных исследованиях физиков, химиков и биологов. Таким образом, наночастицы, нанопорошки оксида цинка обладают уникальными характеристиками, которые могут быть широко использованы в интересах здравоохранения и медицины. Способность безвредных веществ при сильном измельчении становиться опасными для здоровья было открыто давно, задолго до появления нанотехнологий. Характерная особенность веществ в наносостоянии – это способность “проходить” через защитные системы организма. Например, частицы мельче нескольких сотен нанометров легко проникают во внутрилегочное пространство, а нанометровые частицы свободно поступают из легких в кровотоки.

Решение проблем нанобиобезопасности связано с определением приоритетных техногенных наночастиц (ТНЧ). При их выборе исходят, прежде всего, из современного состояния нанотехнологий и имеющихся данных о факторах риска.

Экспертами Межведомственной программы по корректному управлению химическими препаратами (Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals. IOMC) и Организации экономической кооперации и развития (Organization for Economic Co-operation and Development OECD) был разработан перечень приоритетных наночастиц для характеристики их биологического действия и обеспечения безопасности. В него вошли фуллерены, одно- и многослойные нанотрубки, наночастицы серебра, золота, железа, оксида титана, диоксида кремния, оксида цинка, дендримеры и наноглины и т.д.

Данные по биологическому действию фуллеренов одно- и многослойных нанотрубок и оценка связанных с фуллеренами рисков для здоровья человека свидетельствуют о том, что для людей, подвергающихся воздействию фуллеренов на рабочем месте, степень угрозы в условиях хорошей гигиены невелика. В качестве основной проблемы биобезопасности ука-

зывается воздействие фуллеренов через кожу при прямом применении фуллеренсодержащих препаратов. С декабря 2010 г. из этого перечня были исключены наночастицы полистирола и сажи (аморфного углерода), но добавлено коллоидное золото.

ВЫВОДЫ И ПОСТАНОВКА ЗАДАЧ ИССЛЕДОВАНИЙ

В обзоре литературного материала проанализированы биомедицинские применения наноматериалов. Представлено обсуждение преимуществ, подходов и ограничений, связанных с использованием наночастиц для лечения рака и доставки медицинских препаратов. Представленное обсуждение сфокусировано на ZnO и его цитостатическом действии.

Обычную окись цинка Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) относит к категории GRAS (в целом, безопасные вещества), что делает ее разумным выбором для доставки лекарственных препаратов. Некоторые свойства и характеристики наночастиц ZnO, такие как присущая им токсичность по отношению к злокачественным клеткам, их способность индуцировать образование активных форм кислорода внутри клеток, приводящих к их гибели, физико-химические свойства, способствующие поглощению клеток, и облегченная функционализация выделяют их в качестве наноматериалов перспективных для биомедицинских применений.

Известно также, что в организме основные аминокислоты являются связующими для металлических оксидов, в частности для ZnO. Аминокислотные шиффовые основания образуют с двухвалентными ионами металлов d-ряда устойчивые незаряженные липофильные комплексы. Некоторые из них, например, медные, цинковые комплексы проявляют цитостатическое действие, обратимо ингибируя синтез ДНК [169-171]. Имея сравнительно низкие потенциалы окисления металлокомплексы с ионами меди, кобальта, цинка, железа принимают активное участие во многих реакциях с переносом электрона, в том числе, катализируя восстановление органических радикалов и распад перекисей [172, 173].

В представленной диссертационной работе показано модифицирование поверхности противоопухолевых средств, некоторых медных хелатов салицилиден аминокислот и известного в медицинской практике противоопухолевого препарата DOX, обладающего высокой токсичностью.

Целью диссертационной работы являлась разработка технологии получения цинкоксидных композиций противоопухолевых средств с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью, по сравнению с исходными соединениями и препаратом. Цинкоксидные композиты получены методом DC-магнетронного осаждения наноразмерных плёнок оксида цинка в вакууме, порядка 10^{-3} мм рт.ст, на их поверхности в виде покрытий и композиционных плёнок с ПВС, нанесённых на поверхности стеклянных подложек. В работе предлагается новая система доставки противоопухолевых соединений, хелатов салицилиден аминокислот и противоопухолевого препарата DOX, которая является альтернативой наночастицам и нанотрубкам. Транспорт цинкоксидных композиций противоопухолевых соединений и препарата в опухолевую ткань, опухолевую клетку обеспечивается без применения специфической адресации, как в случае рассмотренных выше наночастиц, нанотрубок. В новой системе доставки в качестве вектора выступает сам оксид цинка. Способ приготовления композиций и цинкоксидных композиций значительно прост, стерилен, отсутствует токсичность. Наноразмерные пленки оксида цинка определенной толщины методом DC-магнетронного напыления осаждаются на поверхности противоопухолевых средств в виде покрытий и композиционных пленок, нанесенных на стеклянную подложку. В работе предлагается новый подход к модифицированию поверхности биологически активных материалов в ряду салицилиден аминокислот и препарата доксорубицин, DC-магнетронным нанесением наноразмерных плёнок оксида цинка на их поверхности для создания наноразмерных композитов с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью.

Разработка материалов, способных благодаря своим структурным характеристикам ингибировать развитие и ускорять гибель опухолевых клеток, вместе с уменьшением токсичности соединений и препарата, является актуальной задачей в настоящее время. Тонкоплёночная технология формирования цинкоксидных композиций противоопухолевых средств отличается широкими возможностями управления процессом их получения, послойным нанесением плёнок в интервале температур $-30\text{ }^{\circ}\text{C} \leq T \leq 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, что позволит формировать композиты без побочных превращений, с заданными структурными параметрами, с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью.

2. МЕТОДИКИ МОДИФИЦИРОВАНИЯ ХЕЛАТОВ САЛИЦИЛИДЕН АМИНОКИСЛОТ (S2 - S8) И ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИН (DOX) В ВИДЕ ПОКРЫТИЙ, КОМПОЗИЦИОННЫХ ПЛЁНОК И ФОРМИРОВАНИЯ ИХ ЦИНКОКСИДНЫХ КОМПОЗИЦИЙ

2.1. Технологическая схема формирования цинкоксидных композиций противоопухолевых хелатов салицилиден аминокислот (S2 - S8) и противоопухолевого препарата DOX

В качестве модельных соединений и препарата для разработки технологии получения цинкоксидных композиций противоопухолевых средств взяты следующие: а) соединения ряда салицилиден аминокислот: Cu (II) хелат этилового эфира салицилиден-DL-тирозина (S2), Cu (II) хелат этилового эфира салицилиден-DL-β-фенил-α-аланина (S4), Cu (II) хелат этилового эфира салицилиден-ω-аминокапроновой кислоты (S6), Cu (II) хелат салицилиден-ω-аминокапроновой кислоты (S8); б) препарат DOX взят как модельный препарат в виду его широкого применения в противоопухолевой терапии, однако обладающий высокой токсичностью.

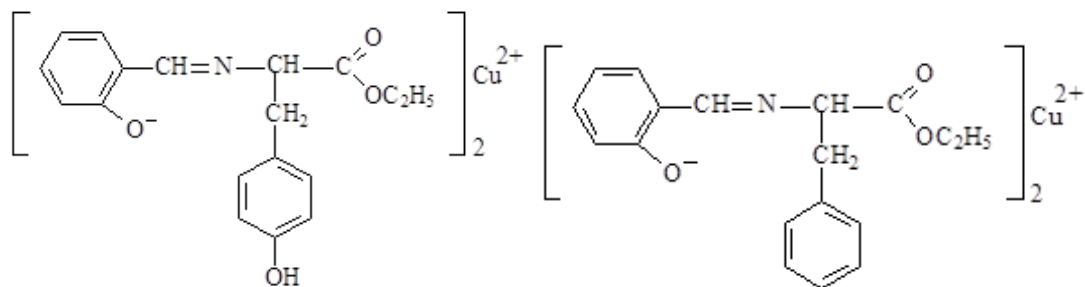
На рис. 20 представлены структуры противоопухолевых соединений S2 – S8 и противоопухолевого препарата DOX. Медные хелаты салицилиден аминокислот S2 - S8 синтезированы в Научно-технологическом центре органической и фармацевтической химии Национальной академии наук Республики Армения (НТЦОФХ).

Представлена новая технологическая схема получения цинкоксидных композиций противоопухолевых средств (рис. 21) на основе тонкопленочной технологии, формированием их цинкоксидных композиций, альтернативная традиционной методике получения противоопухолевых препаратов для доставки в опухолевую ткань, клетку в виде нанотрубок, наночастиц.

Наноразмерные пленки ZnO определенной толщины осаждались непосредственно на поверхность соединений или препарата в виде покрытия, нанесенного на стеклянной подложке или в виде композиционной плёнки препарата с ПВС.

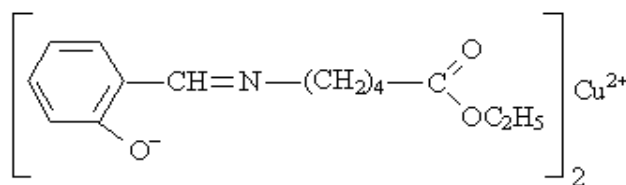
Любая система доставки противоопухолевых соединений, препаратов в опухолевую

ткань состоит из научных и инженерных принципов, включающих в себя *междисциплинарный подход*, характеризующийся химическими, физическими и биологическими подходами.

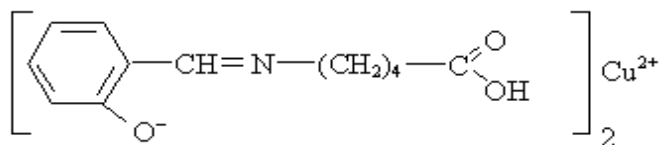


Cu (II) хелат этилового эфира салицилиден DL-тирозина (S2)

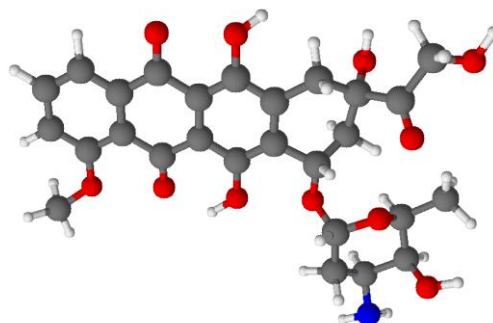
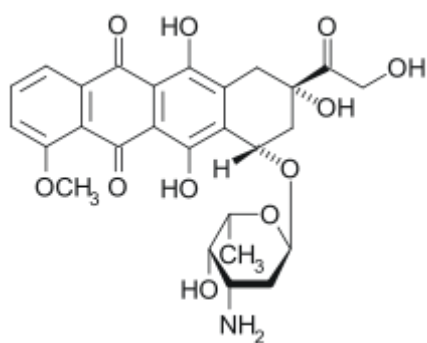
Cu (II) хелат этилового эфира салицилиденDL-β-фенил-α-аланина (S4)



Cu (II) хелат этилового эфира салицилиден-ω-аминокапроновой кислоты (S6)



Cu (II) хелат салицилиден-ω-аминокапроновой кислоты (S8)



Доксорубицин

Рис. 20. Структуры противоопухолевых соединений хелатов салицилиден аминокислот (S2 - S8) и противоопухолевого препарата DOX



Рис. 21. Технологическая схема получения цинкоксидных композиций S2 - S8, DOX

Наша система доставки представляет собой модель процесса, включающей в себя различные методики: формирование покрытий и композиционных плёнок из хелатов салицилиден аминокислот S2 - S8, DOX; метод DC-магнетронного осаждения тонких пленок ZnO на поверхности противоопухолевых соединений, препарата в виде покрытий и композиционных плёнок с ПВС; техники идентификации хелатов салицилиден аминокислот, DOX и их цинкоксидных композитов, на штаммах прививаемых опухолей и физико-химических характеристик, полученных продуктов (цинкоксидных композиций соединений и препарата), сформированных на основе модели процесса.

2.2. Формирование покрытий из S2 - S8, DOX

Покрытия из хелатов салицилиден аминокислот (S2 - S8) и DOX были получены на стеклянных подложках в виде пасты с диметилсульфоксидом. В качестве растворителей были опробованы: оливковое масло, этиленгликоль (ЭГ), полиэтиленгликоль (ПЭГ), диметил-

сульфоксид (ДМСО). Выбран ДМСО, как малотоксичное вещество, обладающее противовоспалительным, антимикробным действием, хорошей проницаемостью через биологические мембраны. Пасты из S2 - S8 и DOX были приготовлены, исходя из максимально переносимых суточных доз для животных.

Покрытия из растворов S2 - S8, DOX в ДМСО или физиологических солевых растворов формировались на определенных площадях стеклянных подложек, в соответствии с определенной терапевтической дозой этих средств и на различных площадях (рис. 22).

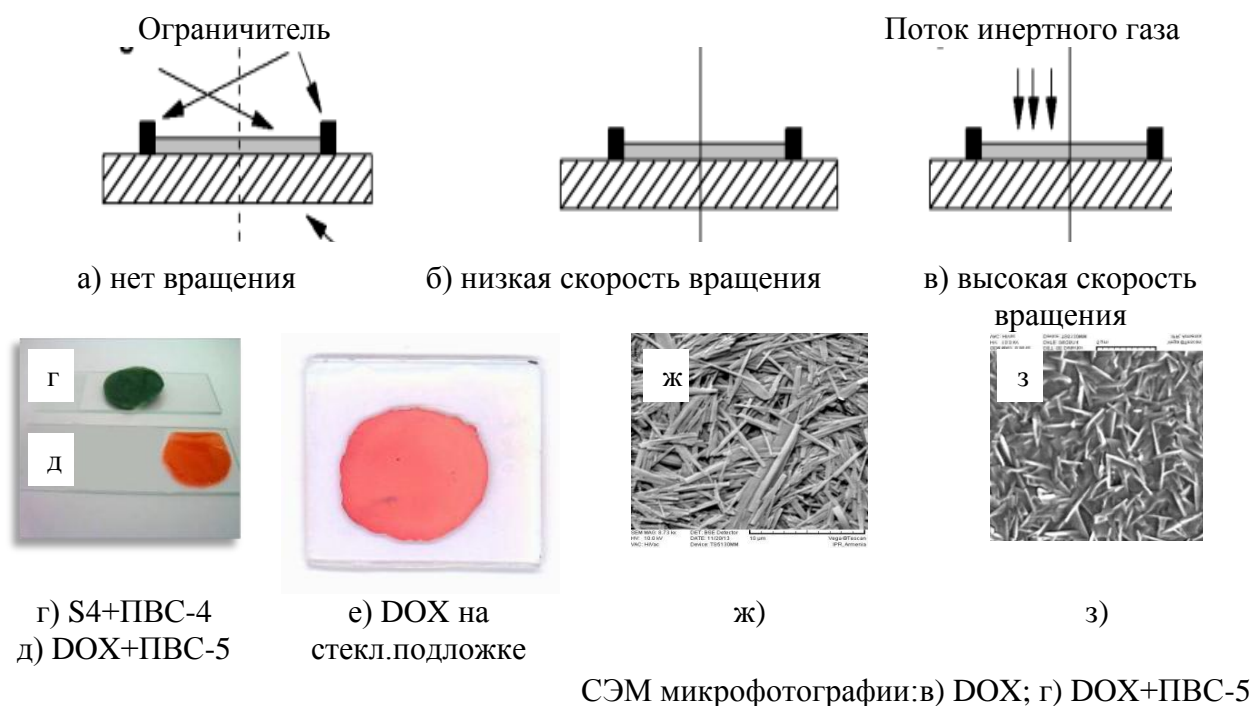


Рис. 22. Схема формирования Spin coating методом (а, б, в): соединения S4 в виде композиционных плёнок (г) и DOX в виде покрытий и композиционных плёнок на стеклянных подложках (д, е, ж, з)

Формирование покрытий из S2 - S8, DOX на различных площадях стеклянных подложек предусматривало определение оптимальных площадей покрытий, с целью осаждения на них наноразмерных плёнок ZnO, для формирования композиций с более высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью, по сравнению с исходными соединениями и препаратом. Процесс формирования цинкоксидных композиций противоопухолевых соединений и препаратов связан с их физико-химическими свойствами, а также размерами площади поверхности, которые определяют количество оксида цинка, толщину наноразмерной

пленки на поверхности соединений и противоопухолевого препарата.

В представленной работе противоопухолевые хелаты салицилиден аминокислот и противоопухолевый препарат DOX осаждались на стеклянных подложках Vacuum Spin Coater VTC-100 (MTI Corporation). Покрытия были получены при вращении подложки со скоростью 45...200 оборотов в минуту в течение 1...5 мин с постепенным повышением скорости вращения центрифуги до 600 об/мин и одновременным высушиванием полученных покрытий.

Соединения S2 - S8 и препарат DOX в форме паст были получены в течение 5...10 мин. Процесс осаждения S2 - S8, DOX Spin coating методом был проведен в соответствии со следующими принципами:

- определение оптимального времени осаждения для данного раствора (ДМСО), противоопухолевых средств S2 - S8, DOX и заданной поверхности осаждения;
- определение оптимальной скорости и времени вращения для получения равномерного покрытия;
- определение оптимальной скорости вращения для окончательной сушки полученных покрытий;
- контроль однородности пленки по толщине.

2.3. Формирование композиционных плёнок из S2 - S8, DOX с ПВС

Образцы ПВС и его модификации получали двухстадийным синтезом: (co) полимеризацией винилацетата с карбоксилсодержащими мономерами (производными малеинового ангидрида) и последующим щелочным алкоголизом поливинилацетата или его сополимеров. Содержание гидроксильных, ацетатных, кислотных и солевых групп в ПВС направленно варьировали, изменяя условия синтеза.

Состав функциональных групп в (co) полимерах определяли методами химического анализа и кондуктометрического титрования. Молекулярные массы полимеров определяли методом гель-проникающей хроматографии (Gel Permeation Chromatography) на хроматографе Waters (USA). Приготовлено несколько образцов ПВС, различающихся молекулярной массой (ММ) и функциональным составом для создания полимерной матрицы и выбора условий получения пленок, перспективно пригодных для совмещения их с S2 - S8, DOX и

оксидом цинка. Получены образцы ПВС и модифицированного поливинилового спирта (МПВС), отличающиеся ММ и функциональным составом (табл. 1). Образцы ПВС: ПВС-1, ММ ~ 20000, масс. доля ацетатных групп 1,5%; ПВС-2, ММ ~ 21000, масс. доля ацетатных групп 10,6%; ПВС-4, ММ ~ 50000...60000, ац. Группы – 5,3%. Образец ПВС-4 отличался от ПВС-1 и ПВС-2 более высоким значением ММ, а количество ацетатных групп являлось промежуточным между этими двумя ПВС. ПВС-5 отличается от ПВС-4 количеством ацетатных и гидроксильных групп. Как видно из табл. 1, ПВС-1 и ПВС-2 резко отличаются молекулярной массой от образцов ПВС-5 и МПВС (молекулярная масса ПВС-1 и ПВС-2 примерно в три раза ниже, чем у них), а содержание ацетатных групп (около 1,5% в ПВС-1 и более 10% по весу в ПВС-2, МПВС-13 и МПВС-14).

Таблица 1

Базовые характеристики образцов ПВС

Образцы ПВС	Молекулярная масса, 10 ³	Функциональные группы, вес. %	
		Гидроксильные группы	Ацетатные группы -ОСОСН ₃
ПВС-1	20	98,5	1,5
ПВС-2	20	88,4	10,6
ПВС-4	60	94,7	5,3
ПВС-5	65	98,4	1,6
МПВС-13	58	83,3	13,9
МПВС-14	62	83,1	13,5

Композиционные плёнки из S2 - S8 получены из их 0,5 мл 5%-го раствора с взвешенным количеством S2 - S8, соответствующим их терапевтическим дозам для белых беспородных мышей. Смесь перемешивали ультразвуковым диспергатором (SONICS VCX 130 PB, USA, амплитуда 50%, 10 сек.) и наносили на стеклянную подложку. Диаметр пленок – 2,8 см (площадь 6,1 см²). Для получения комбинированных плёнок равномерной поверхности, подложки вращали (как и в случае получения равномерных покрытий) в устройстве Vacuum Spin Coater VTC-100 со скоростью 45...200 оборотов в минуту, однако, время вращения существенно менялось от вязкости раствора и в течение определённого времени, с постепенным повышением скорости вращения центрифуги до 600 об/мин и одновременным высушиванием, были получены комбинированные плёнки, S2 - S8+ПВС (см. рис. 22).

Для получения комбинированных пленок DOX (“Белмедпрепараты”, Белоруссия; лиофилизированный порошок, содержащий DOX и маннитол в отношении 1:4) с ПВС и модифицированных ПВС (МПВС), готовили 5%-ные (вес.) водные растворы (со) полимеров. Затем препарат DOX смешивали с раствором (со) полимера из расчета 1 мг на 0,02 мл. Смесь перемешивали ультразвуковым диспергатором и наносили 0,02 мл смеси на стеклянную подложку (с таким расчетом, чтобы сформировать каплю площадью 0,8...1,0 см², которую затем высушивали на воздухе при комнатной температуре с образованием пленки (см. рис. 22). Таким образом, каждая сформированная пленка содержала 1 мг полимера, 0,2 мг DOX и 0,8 мг маннитола. Диаметр пленок – 2,8 см (площадь 6,1 см²). С целью получения композиционных пленок (DOX + ПВС или МПВС) равномерной толщины, стеклянную подложку с пленкой вращали в устройстве Vacuum Spin Coater VTC-100. Этот процесс также проводился с целью дальнейшего DC-магнетронного нанесения на поверхность композиционной пленки наноразмерной пленки ZnO для формирования цинкоксидных композитных пленок DOX + ПВС или МПВС + ZnO.

2.4. DC-магнетронное осаждение тонких пленок ZnO на поверхность S2 - S8 и DOX в виде покрытий и композиционных пленок с ПВС

Для осаждения наноразмерных пленок ZnO на поверхностях покрытий и композиционных пленок хелатов салицилиден аминокислот S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX, использовалась модернизированная установка УВН-71ПЗ, представляющая собой магнетронное устройство на постоянном токе, предназначенная для ионно-плазменного распыления металлической мишени (рис. 23). Установка УВН-71ПЗ оснащена системой измерения и контроля потока рабочего газа, состоящая из блока питания и индикации PR4000F и двух регуляторов расхода газа MFC1179 для газов Ar и O₂. Установка оснащена, также кварцевым измерителем толщины пленки Микрон-7. Микрон-7 предназначен для контроля и измерения толщины тонких пленок, наносимых на подложку. Для организации процесса напыления, в память прибора внесены параметры материалов. Прибор работает как автономно, так и в режиме автоматической системы управления (АСУ). В автономном режиме используется алгоритм напыления, записанный пользователем в прибор.

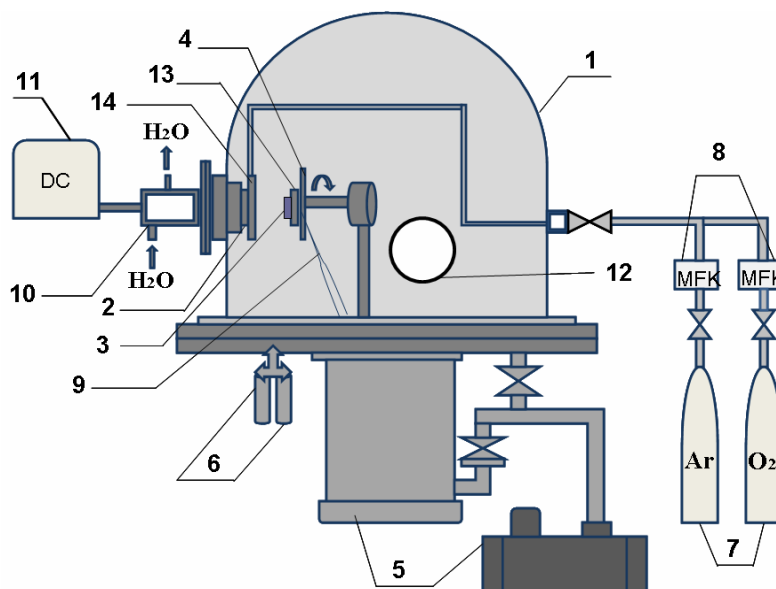


Рис. 23. Схема экспериментальной установки

1-вакуумная камера; 2-мишень; 3-подложка; 4-устройство для перемещения подложки; 5-вакуумный насос; 6-вакуумметр ионизационный; 7-газы; 8-регуляторы расхода газов; 9-термопара; 10-магнетрон ; 11-источник питания; 12-смотровое окно; 13-элемент Пелтье или нагреватель; 14-цилиндрическая трубка подвода газовой смеси

Результаты измерений выводятся на индикатор, прибор реагирует на клавиатуру, внешний сигнал запуска и вырабатывает сигнал остановки. В нашем случае Микрон-7 работает в режиме АСУ с контроллером потоков газов PR4000F. С помощью графического программирования LabVIEW составлена программа, которая позволяет одновременно измерять и контролировать потоки газов, скорость осаждения и толщину нанесенной пленки.

Чистота материала мишени (Zn 99,99% чистоты), осаждение наноразмерных пленок оксида цинка на поверхность противоопухолевого препарата DOX при вакууме 10^{-3} мм рт.ст., обеспечивает получение их цинкоксидных композиций высокой чистоты. Подложки из оптического стекла, на которые наносились покрытия или композиционные плёнки исследуемых соединений, с использованием специальных зажимов, закрепляются в устройстве, осуществляющем перемещение их внутри вакуумной камеры. Процесс осаждения наноразмерной пленки ZnO методом магнетронного распыления цинковой мишени проведен при параллельном расположении мишень-подложка.

Для проведения экспериментов по осаждению наноразмерных плёнок ZnO на подложки в исследуемом интервале температур использовалась система, основанная на элементе

Пельтье или резистивном нагревателе, обеспечивающая понижение и стабилизацию температуры подложки. Наноразмерные плёнки ZnO осаждались на вращающиеся подложки с S2 - S8, DOX или S2 - S8, DOX + ПВС для обеспечения равномерной толщины нанесения их на поверхности, при температурах подложки в интервале $-30^{\circ}\text{C} \leq T \leq 30^{\circ}\text{C}$ с точностью $\pm 0,1$ нм. При выборе технологических режимов осаждения тонких плёнок ZnO (соотношение рабочих газов Ar : O₂, рабочий ток магнетронного источника, расстояние мишень – подложка, температура подложки) на подложки были учтены условия, при которых отсутствуют нежелательные побочные превращения салицилиден аминокислот и их хелатов.

Для формирования цинкоксидных композиций исследуемых соединений S2 - S8 и препарата DOX в виде покрытий и композиционных плёнок, предварительно была отработана технология осаждения наноразмерных плёнок ZnO на стеклянных подложках. Наноразмерные пленки ZnO были осажжены на стеклянных подложках магнетронным распылением Zn мишени (диаметр мишени 55 мм) при рабочих токах от 80 до 500 мА, давлении 10^{-3} мм рт.ст, расстояниях мишень-подложка от 70 до 130 мм. В качестве рабочих газов использованы Ar и O₂ в соотношении 70...30%. Для обеспечения чистоты процесса осаждения, вакуумная система перед нанесением пленок откачивалась до уровня $2 \cdot 10^{-6}$ мм рт.ст.

2.5. Методика определения противоопухолевой активности S2 - S8, DOX и их цинкоксидных композиций на моделях Саркома 180 и Асцитной карциноме Эрлиха

Исследования осуществлены в лаборатории токсикологии и химиотерапии НТЦОФХ НАН РА в условиях, приближенных к принципам GLP и Европейским стандартам.

Исследование острой токсичности, противоопухолевой активности салицилиден аминокислот S2 - S8, композиционных плёнок S2 - S8 с ПВС, а также лекарственного препарата DOX, DOX + ПВС и их цинкоксидных композиций проведено на моделях Саркома 180 (С-180) и асцитной Карциноме Эрлиха (АКЭ) на белых мышах. Противоопухолевые покрытия и композиционные плёнки с ПВС цинкоксидных композитов S2 - S8, DOX и исходных соединений и препарата тестированы на штаммах прививаемых опухолей С-180 белым беспородным мышам. Предварительно в острых опытах определялись максимально переносимые дозы (МПД), а исходя из них – терапевтические дозы веществ, что обычно

составляет 1/5 от однократной МПД. Для перевивки в качестве трансплантанта служили кусочки опухолевой ткани, свободной от некроза и измельченной до гомогенной массы. К опухоли добавляли физиологический раствор в отношении 1:3...1:4 и полученную взвесь при помощи шприца вводили под кожу животного (исходный вес 22...26 г) в объеме 0,3 мл.

Цинкоксидные композиты в виде покрытий (S2 - S8, DOX + ZnO), вводили животным в виде взвеси в ДМСО, подкожно, спустя 48 ч. после перевивки опухоли, ежедневно, в течение 6 дней. Цинкоксидные композиты и исходные соединения S2 - S8, DOX в виде композиционных плёнок наносили оперативным методом, в стерильных условиях бокса, путем подкожных аппликаций на 6 дней, через надрез (5...7 мм), сделанный на спинной и лопаточной части животного. Через 48 часов после 6 дней эксперимента животных забивали, извлекали опухоль и определяли их вес. Противоопухолевую активность определяли по проценту торможения роста опухоли по отношению к контролю.

Минимальный критерий активности – процент торможения роста опухоли более 50%. Вычисление терапевтического эффекта проводится по формуле:

$$T\% = \frac{M_k - M_o}{M_o}$$

где M_k и M_o – средние массы опухоли в контрольной и опытной группах.

Статистическая обработка результатов проводится методом Стьюдента-Фишера.

В случае препарата DOX композиционные плёнки измельчали на Ultrasonic Processor с целью внутрибрюшинной инъекции мышам.

В экспериментах методом АКЭ трансплантацию опухоли проводили путем внутрибрюшинной инъекции животным асцитной жидкости. В стерильных условиях извлекали асцитическую жидкость у мыши-донора, разбавляли физиологическим раствором и вводили в брюшную полость здоровым животным в объеме 0,2 мл. Через 24 часа после перевивки животные были разделены на подопытные и контрольные группы, соответственно по 6 и 8 мышей в каждой. После однократного введения препаратов животные были оставлены на выживаемость. Противоопухолевая активность оценивалась по проценту увеличения продолжительности жизни подопытных животных по отношению к контролю.

2.6. Методы структурных исследований S2 - S8, DOX и их цинкоксидных композиций

На модернизированной установке УВН-71ПЗ проведено DC-магнетронное формирование цинкоксидных композитов медных хелатов салицилиден аминокислот S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX в виде покрытий и композиционных плёнок.

Рентгеноструктурные исследования S2 - S8, DOX проведены на дифрактометрах CAD4, Enraf-Nonius и ДРОН-2.0 (λ Cu K α).

ИК-спектры сняты на спектрометре NEXUS FT-IR.

UV-vis спектры получены на приборе UVvis spectrophotometer TF-C-UVIS-SR.

Спектры отражения исходных салицилиден аминокислот, лекарственного препарата DOX и их цинкоксидных композиций в виде покрытий и композиционных плёнок сняты и измерены на спектрометре Filmetrics F20.

Измельчение исследуемых соединений противоопухолевых соединений и препарата, как в виде композиционных плёнок, так и порошка проведено на приборе Ultrasonic Processor.

Spin Coating метод проведен на приборе Vacuum Spin Coater VTC-100.

Метод использовался для равномерного нанесения покрытий и композиционных плёнок на стеклянные подложки.

На поляризационном микроскопе Trinocular Polarizing Microscope ML 9430, CN905064 исследованы хелаты салицилиден аминокислот и противоопухолевый препарат DOX в виде покрытий и композиционных плёнок с поливиниловым спиртом. на стеклянных подложках

Микрофотографии наноразмерной плёнки оксида цинка на стеклянной подложке, противоопухолевого препарата DOX и его цинкоксидных композиций в виде покрытий на стекле получены на сканирующем электронном микроскопе Vega Tescan Vega TC 5130 MM.

ВЫВОДЫ

1. Представлена технологическая схема и мультидисциплинарные методики получения цинкоксидных композиций противоопухолевых средств: хелатов салицилиден аминокислот (S2 - S8), и противоопухолевого препарата доксорубицин (DOX) для разработки технологии их получения.

2. Методики получения покрытий и композиционных плёнок с ПВС из противоопухолевых соединений S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX позволяют выбор оптимальных площадей покрытий и композиционных плёнок с ПВС определённой молекулярной массы и функциональных групп с целью нанесения на их поверхности наноразмерной плёнки ZnO для пролонгированного действия цинкоксидных композиций в организме.

3. Метод DC-магнетронного формирования цинкоксидных композиций противоопухолевых средств S2 - S8, DOX в виде покрытий и композиционных плёнок с ПВС, прост и технологичен. Чистота материала цинковой мишени (99,99%), послойное нанесение наноразмерных плёнок ZnO в вакууме 10^{-3} мм рт.ст. на поверхности исходных соединений и препарата с точностью $\pm 0,1$ нм в интервале температур от -30°C до $+30^{\circ}\text{C}$ позволит выращивать цинкоксидные композиты с заданными технологическими параметрами.

3. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЦИНКОКСИДНЫХ КОМПОЗИЦИЙ ХЕЛАТОВ САЛИЦИЛИДЕН АМИНОКИСЛОТ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИН

3.1. Определение оптимальных площадей покрытий для S2 - S8 и DOX

Получены оптимальные площади покрытий хелатов салицилиден аминокислот S2 - S8 и лекарственного препарата DOX с ДМСО, с использованием установки Spin Coating (см. гл. 2, рис. 22) для формирования их равномерных покрытий на стеклянных подложках.

С целью технологичности процесса, покрытия S2 - S8, DOX были нанесены на определённые площади стеклянных подложек, с учётом суточной дозы соединения или препарата для 6 мышей. Оптимальные площади покрытий S2 - S8, DOX на стеклянных подложках были рассчитаны на основе упрощённого предположения: содержания исследуемой терапевтической дозы, в мг (рассчитанной на определённое количество животных (мышей)) на площади сферы определённого диаметра, а также, принимая во внимание 5...10% содержание ZnO, на количество S2 - S8, DOX суточной дозы для мышей. Учитывая грубую оценку поверхностей, были рассчитаны площади, также для различных диаметров стеклянных подложек, покрытых соединениями S2 - S8 или препаратом DOX. В табл. 2 представлена зависимость противоопухолевой активности от площади покрытий для различных суточных доз S2 - S8 и их цинкоксидных композиций, а также оптимальные толщины плёнок ZnO для цинкоксидных композиций S2 - S8 (оптимальные толщины наноразмерных плёнок ZnO в цинкоксидных композитах (S2 - S8 + ZnO, DOX + ZnO) определены исходя из зависимости противоопухолевой активности от толщин наноразмерной плёнки ZnO в цинкоксидных композитах (гл. 3.3).

Так, для соединения S2 (Cu (II) хелат этилового эфира салицилиден-DL-тирозина) с учётом суточных доз: $m_1 = 1,2$ мг/мышь, $m_2 = 1,4$ мг/мышь; $m_3 = 2,8$ мг/мышь, были сформированы покрытия на следующих площадях: $s_1 = 2,54$ см², $s_2 = 9,62$ см², $s_3 = 19,8$ см², $s_4 = 15,9$ см², $s_5 = 31,8$ см². Оптимальная толщина плёнки ZnO для цинкоксидных композиций (S2 + ZnO) составляла 130...140 нм [174, 175]. Химиотерапевтические исследования цинкоксидных композиций S2 + ZnO в виде покрытий показали значительное увеличение противоопухолевой активности от 27% ($s_1 = 2,54$ см²) до 42% ($s_4 = 15,9$ см²) при суточной дозе $m_1 = 1,2$ мг/мышь.

Однако при дальнейшем увеличении площади осаждения наноразмерных плёнок ZnO наблюдалось незначительное снижение активности. При увеличении суточной дозы до $m = 2,8$ мг/мышь и выборе оптимальной площади ($s = 31,8$ см²), соответственно для данной дозы наблюдалось повышение противоопухолевой активности до 48% [174, 175]. Расчёты оптимальных площадей осаждения S4, S6, S8 и оптимальные толщины плёнок ZnO на поверхности площадей, были проведены, исходя из вышеописанных рассуждений (табл. 2).

В табл. 2 приведены экспериментальные данные площадей для всех исследованных хелатов салицилиден аминокислот.

Таблица 2

Зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций на модели С-180 от площади покрытий наноразмерными плёнками ZnO

Соединение	Суточная доза, мг\мышь	Площадь поверхности (S2 - S8), см ²	Температура подложки, °С	Толщина плёнки ZnO, нм	Противоопухолевая активность, %
S2	1,4	-	-	-	18
S2	2,8	-	-	-	20
S2 + ZnO	1,2	2,54	30	130	27
S2 + ZnO	1,2	9,62			42
S2 + ZnO	1,4	15,9			42
S2 + ZnO	2,8	31,8			48
S4	0,5	-	-	-	22
S4	1,5	15,9	-	-	Гибель мышей
S4 + ZnO	1,5	15,9	30	195	48
S6	3,0	-	-	-	20
S6 + ZnO	3,0	26	30	200	22
S6 + ZnO	3,0		10		24
S6 + ZnO	3,0		-10		44
S8	0,5	-	-	-	30
S8 + ZnO	0,5	3,14	30	175	10
S8 + ZnO	0,5	4,91			30
S8 + ZnO	0,5	7,06			44

При подкожном введении мышам цинкоксидных композиций (S4 + ZnO), где содержание S4 (Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден DL-β-фенил-α-аланина) составляло 1,5 мг/мышь, а площадь 15,9 см² противоопухолевый эффект повышался более чем в два раза, по сравнению с исходным соединением S4, при введении которого, для суточной дозы 1,5 мг/мышь, наблюдалась гибель мышей [175].

Температура плавления Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден- ω -аминокапроновой кислоты (S6) $T = 27^{\circ}\text{C}$. Исходя из низкой температуры плавления данного соединения, с целью предотвращения необратимых превращений его, были сформированы покрытия из S6 на стеклянных подложках с оптимальными площадями, $S = 26 \text{ см}^2$ для осаждения наноразмерной плёнки ZnO на покрытия при трёх температурах подложечного материала S6: 30°C , 10°C и -10°C . При температуре подложки $T = -10^{\circ}\text{C}$ у цинкоксидных композиций с S6, (S6 + ZnO) наблюдался противоопухолевый эффект, превышающий вдвое исходное соединение S6.

Оптимальный результат, был рассчитан для площадей осаждения наноразмерных плёнок ZnO на S8 (Cu (II) хелат салицилиден- ω -аминокапроновой кислоты) для суточной дозы 0,5 мг/мышь. Сформированы цинкоксидные композиты на следующих площадях покрытий для S8: $s_1 = 3,14 \text{ см}^2$, $s_2 = 4,91 \text{ см}^2$ и $s_3 = 7,06 \text{ см}^2$. Химиотерапевтические исследования показали увеличение противоопухолевой активности от 27 до 42% при суточной дозе $m_1 = 0,5 \text{ мг/мышь}$ [176, 177].

Таким образом, при оптимальных площадях покрытий наблюдается увеличение противоопухолевой активности цинкоксидных композиций S2 - S8 в виде покрытий в два раза и более, по сравнению с исходными соединениями.

Для получения покрытий из DOX и его цинкоксидных композиций был взят препарат DOX (лиофилизированный порошок компании "Белмедпрепараты", Россия, содержащий DOX и маннит в соотношении 1: 4).

Изучена зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX от площадей покрытий, занимаемых наноразмерной плёнкой оксида цинка, а также её толщин ($d = 28...240 \text{ нм}$) на поверхности препарата в виде покрытий на модели C-180 при суточных дозах 0,03; 0,04; 0,05 мг/мышь значительно более низких, чем терапевтическая доза (0,1 мг/мышь) препарата (см. табл. 2) [178, 179].

С целью уменьшения токсичности цинкоксидных композиций DOX и исходя из острой токсичности для DOX равной 0,15 мг/мышь, формирование цинкоксидных композиций было проведено при значительно более низком содержании DOX в композитах, по сравнению с

исходным DOX при терапевтической дозе 0,1 мг/мышь. Исследование противоопухолевой активности цинкоксидных композиций было проведено при содержании в них DOX в следующих дозах: 0,03; 0,04; 0,05; 0,06 мг/мышь, с целью повышения противоопухолевой активности и уменьшения токсичности. Исследование проводилось с низкими дозами DOX в цинкоксидных композитах с учетом векторного характера транспорта в опухолевую ткань. Покрытия из DOX, в вышеуказанных дозах, были сформированы на различных стеклянных подложках, представляющих окружности различного диаметра для последующего осаждения тонких плёнок оксида цинка на их поверхностях.

Исследована зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX в виде покрытий от толщины наноразмерных пленок оксида цинка на модели С-180. Рассчитаны оптимальные площади покрытий DOX стеклянных подложек с учетом результатов, ранее полученные для Cu (II) хелатов салицилиден аминокислот [178, 179].

С целью получения оптимальных технологических параметров осаждения наноразмерных плёнок ZnO, расчёт проведен при 5...10% его содержании от общего веса DOX в цинкоксидных композитах для грубой оценки, с целью получения далее достоверных оптимальных результатов. Площадь поверхности покрытий DOX была рассчитана для дозы, рассчитанной на 6 мышей, на основе упрощенного предположения содержания этой дозы (в мг) внутри сферы определенного объема (см³).

В табл. 3 приведены данные по противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX для нескольких доз, а также представлены оптимальные площади покрытий и содержание ZnO для различных: (а) площадей поверхности стеклянных подложек покрытых DOX для каждой выбранной дозы DOX, (б) толщин наноразмерных пленок ZnO и (в) количеств ZnO, нанесенных на поверхность препарата. В табл. 3 и на рис. 24. представлена зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций от площади покрытий наноразмерными плёнками ZnO [178, 179]. Цинкоксидные композиты DOX для дозы 0,03 мг/мышь были сформированы на следующих площадях стеклянных подложек $S = 1,33; 1,54; 1,77; 2,00; 2,27$ и $2,54$ см². Формирование цинкоксидных композиций DOX было проведено при оптимальных технологических параметрах осаждения наноразмерных пле-

нок оксида цинка (см. гл. 3.3) на покрытиях DOX при температуре подложки T = 30°C.

Таблица 3

Зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX на модели C-180 от площади покрытий наноразмерными плёнками ZnO

Препарат	Суточная доза мг/мышь,	Площадь поверхности DOX, см ²	Толщина тонкой плёнки, нм	ZnO, мг/мышь	Противоопухоле- вая активность, %
DOX	0,1	-	-	-	32,4
DOX	0,03	-	-	-	19,0
DOX + ZnO		1,33	180	0,022	40,8
		1,54		0,026	43,7
		1,77		0,030	36,6
		2,00		0,034	36,6
		2,27		0,038	36,6
2,54	0,043	23,9			
DOX	0,1	-	-	-	31,1
DOX	0,04	-	-	-	19,7
DOX + ZnO		1,33	28	0,0035	9,8
			60	0,0075	21,3
			145	0,018	24,6
			180	0,022	50,8
240	0,030	32,8			
DOX	0,1	-	-	-	32,7
DOX	0,04	-	-	-	20,0
DOX + ZnO		1,33	180	0,022	49,3
		1,54		0,026	39,7
		1,77		0,030	39,7
		2,00		0,034	31,5
		2,27		0,038	30,1
		2,54		0,043	28,8
2,83	0,048	27,4			
DOX	0,1	-	-	-	32,9
DOX	0,05	-	-	-	22,7
DOX + ZnO		0,5	180	0,0083	32,9
		0,78		0,013	30,4
		1,13		0,019	54,4
		1,54		0,026	41,8
2,00	0,034	31,6			
2,54	0,043	31,6			
3,14	0,053	26,6			

Исследовалась зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX от площади покрытий препаратом стеклянных подложек. Результаты исследований противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX на модели C-180 в дозе

0,03 мг/мышь на площади 1,54 см² выявили увеличение противоопухолевой активности (43,7%), по сравнению с DOX при оптимальной терапевтической дозе 0,1 мг/мышь (32,4%) и значительно большее увеличение (в 2,3 раза), по сравнению с DOX в дозе 0,03 мг/мышь (19%). Для площадей покрытий: 1,77; 2,00; 2,27 см², наблюдалось уменьшение противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX и было выявлено плато (36,6%), а для площадей покрытий 2,54 см² наблюдалось резкое уменьшение активности до 23,9% (см. табл. 3).

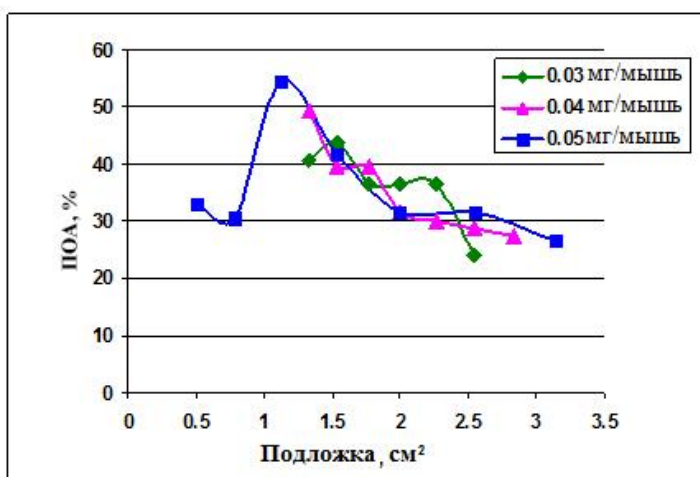


Рис. 24. Зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX от площади покрытий DOX на стеклянных подложках

Было установлено, что оптимальная площадь покрытий Dox + ZnO в дозе 0,03 мг/мышь составляет 1,54 см² и согласуется с расчетными данными, полученными при определении оптимальных площадей.

Сформированы цинкоксидные композиты DOX для дозы 0,04 мг/мышь на следующих площадях стеклянных подложек $S = 1,33; 1,54; 1,77; 2,00; 2,27; 2,54; 2,87; 2,83$ см². Как было упомянуто выше, осаждение наноразмерных пленок ZnO было проведено при оптимальных технологических параметрах (см. гл. 3.3). *Максимальная противоопухолевая активность цинкоксидных композиций DOX наблюдалась на образцах площадью 1,33 см² в дозе 0,04 мг/мышь (49,3%), которая значительно превышала активность DOX при терапевтической дозе 0,1 мг/мышь (31,1%) и в 2,5 раза была выше, по сравнению с DOX в дозе 0,04 мг/мышь (19,7%).*

С увеличением площади покрытий, уменьшалась противоопухолевая активность. Мини-

мальная противоопухолевая активность 27,4%, наблюдалось для образцов с площадью покрытий 2,83 см².

Цинкоксидные композиты DOX для дозы DOX 0,05 мг/мышь были получены по следующим площадях покрытий DOX стеклянных подложек: S = 0,5; 0,78; 1,13; 1,54; 2,0; 2,54; 3,14 см². Максимальная противоопухолевая активность в дозе 0,05 мг/мышь (54,4%) наблюдалась на образцах цинкоксидных композиций площадью 1,13 см². Активность DOX в той же дозе составляла 22,7% (см. табл. 3). Таким образом, в дозе 0,05 мг/мышь наблюдалось увеличение противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX (54,4%), по сравнению с самим DOX при его терапевтической дозе (32,2%) и значительно более высокая активность (с коэффициентом 2,4) выявлена, по сравнению с противоопухолевой активностью DOX в дозе 0,05 мг/мышь (22,7%).

Как следует из рис. 5, максимальная противоопухолевая активность цинкоксидных композиций DOX в зависимости от площади покрытий смещается в сторону меньших площадей с увеличением дозы DOX, и достигает своего максимума при площади S = 1,13 см² для дозы DOX 0,05 мг/мышь. Последний факт может быть, по-видимому, объяснён оптимальным соотношением вещества на подложке и количеством осажденного ZnO.

Оптимальными площадями цинкоксидных композиций DOX являются площади покрытий наноразмерными плёнками ZnO, на которых наблюдается высокая противоопухолевая активность.

Результаты исследований противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX на модели C-180 показали увеличение противоопухолевой активности при дозах 0,03 мг/мышь (44%), 0,04 мг/мышь (50%), 0,05 мг/мышь (54,4%), по сравнению с DOX для оптимальной 0,1 мг/мышь терапевтической дозы (32,4%) и значительно более высокой (в 2,3...2,5 раз), по сравнению с DOX в тех же дозах (19, 20, 22,7%) (см. табл. 3, рис.24).

Как следует из табл. 3, определенное количество ZnO (0,019...0,026 мг/мышь) необходимо для достижения высокой противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX. Для меньшего (0,013 мг/мышь) и большего количества ZnO (0,03 мг/мышь) наблюдалось снижение противоопухолевой активности.

3.2. Варьирование характеристик и соотношения компонентов в композиционных плёнках ПВС с S2 - S8, DOX

В качестве пленкообразователей для формирования цинкоксидных композиций S2 - S8, DOX в работе были рассмотрены различные образцы ПВС и МПВС отличающиеся ММ и функциональным составом (см. гл. 2, табл. 1). Роль полимерной пленки ПВС: основа для формирования комбинированных плёнок соединений (S2 - S8 + ПВС), препарата (DOX+ПВС) и их цинкоксидных композиций (S2 - S8 + ПВС + ZnO, DOX + ПВС + ZnO), а также средства для их пролонгированного действия. Мерой пролонгированности комбинированных плёнок, а также их цинкоксидных композиций является растворимость композиционных плёнок в организме. Формирование цинкоксидных композиций проведено нанесением наноразмерных плёнок ZnO на комбинированные плёнки S2 - S8 + ПВС, DOX + ПВС методом DC-магнетронного распыления цинковой мишени в среде Ar:O₂. Исходя из этого необходимо было оценить поведение полимерной основы S2 - S8, DOX и их композиций в этих условиях. Мерой такой оценки являлась растворимость.

Основные подходы:

- Определение условий получения комбинированных пленок ПВС с S2 - S8, DOX. Выявление разницы в поведении исследованных комбинированных пленок в зависимости от молекулярной массы и функционального состава (соотношение гидроксильных и ацетатных групп).
- Исследование растворимости плёнок после осаждения на них наноразмерных плёнок ZnO.
- Определение структуры плёнок методами ИК-спектроскопии и рентгеноструктурного анализа
- Определение характеристик ПВС принципиально пригодных для получения цинкоксидных композиций на их основе.
- Зависимость функционального состава ПВС, структуры S2 - S8, DOX, их цинкоксидных композиций на растворимость и на противоопухолевую активность.
- Формирование цинкоксидных композиций композиционных плёнок S2 - S8, DOX с более высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью, по сравнению с исход-

ными соединениями и препаратом.

При формировании композиционных пленок ПВС с S2 было установлено, что пленки, полученные из смеси ПВС-2 и S2 после высыхания растворялись в воде; пленка ПВС-1 и S2 плохо растворялась в воде, а после нанесения на её поверхности наноразмерных плёнок ZnO, осаждённых методом магнетронного распыления цинковой мишени не растворялась в воде, в то время как пленка ПВС-2 + S2 с ZnO – растворялась. Растворимость пленок до и после осаждения наноразмерных плёнок ZnO на их поверхность исследовалась *in vivo* путем введения пленки под кожу мышей и определения времени растворимости. Получены следующие результаты: Пленка (ПВС-1 + S2) в организме животного растворялась, но медленно, в течение 4 суток. Пленка (ПВС-1 + S2 + ZnO) под кожей мыши не рассосалась. Пленки ПВС-2 + S2) и (ПВС-2 + S2 + ZnO) растворялись в течение 1...2 суток, а (ПВС-4 + S2) и (ПВС-4 + S2 + ZnO) под кожей мыши рассосалась в течение 5...6 суток (табл. 4).

Таблица 4

Влияние структуры полимера на растворимость и противоопухолевую активность цинкоксидных композиционных плёнок

Соединение	Суточная доза, мг/мышь	Растворимость плёнки под кожей животного (в днях)	Температура, С	Противоопухолевая активность, %
S2	1,4	-	-	20,2
S2	2,8	-	-	22
S2 + ПВС-1 + ZnO	1,4	не растворяется	30	-
S2 + ПВС-2 + ZnO	1,4	растворяется, 1 - 2		24
S2 + ПВС-4 + ZnO	1,4	растворяется, 5 - 6		42
S2 + ПВС-4 + ZnO	2,8	растворяется, 5 - 6		48
S4	0,5	-	-	21,2
S4	1,5	-	30	Гибель мышей
S4 + ПВС-1 + ZnO	1,5	не растворяется		Нет эффекта
S4 + ПВС-4 + ZnO	1,5	растворяется, 5 - 6		47
S6	3,0	-	-	20
S6+ ПВС-4 + ZnO	3,0	растворяется, 5 - 6	10	20
S6+ ПВС-4 + ZnO	3,0	растворяется, 5 - 6	-10	30
S6+ ПВС-4 + ZnO	3,0	растворяется, 5 - 6	-20	42
S8	0,5	-	-	32
S8+ ПВС-4 + ZnO	0,5	растворяется, 1 - 2	30	0
S8+ ПВС-1 + ZnO	0,5	растворяется, 5 - 6		42

Таким образом, было выяснено, что для этилового эфира салицилиден DL-тирозина наиболее оптимальный вариант для создания композитной плёнки использование образца

ПВС-4 (см. табл. 4). Таким образом, для формирования композитной плёнки с S2 был выбран промежуточный вариант ПВС, образец ПВС-4, с количеством ацетатных групп между ПВС-1 и ПВС-2 и более высокой молекулярной массой (см. гл. 2, табл. 1).

Для выяснения изменений, происходящих в пленках в условиях нанесения тонких плёнок ZnO методом магнетронного распыления, необходимо было оценить поведение полимерной основы в этих условиях. Для этого были сняты и проанализированы ИК спектры пленок ПВС, ПВС + ZnO, S2 + ZnO и S2 + ПВС + ZnO. Анализ спектров показал следующее: в пленке ПВС-1 в спектре присутствуют все пики, соответствующие функциональному составу полимера – область OH (3270 см^{-1}) и связи C-O- гидроксильной группы в области (1087 см^{-1}); в пленке ПВС-1 + ZnO отсутствует область OH группы, но присутствует связь C-O от гидроксильной группы (1088 см^{-1}). При этом пленка перестает растворяться в воде, что является следствием внутри- и межмолекулярных сшивок, за счет образования связей O-Zn-O между гидроксильными группами. В пленке ПВС-2 в спектре присутствуют все пики, соответствующие функциональному составу полимера – область OH (3290 см^{-1}) и связи C-O- гидроксильной группы (1087 см^{-1}), а также карбонильного кислорода C=O (1731 см^{-1}).

В пленке ПВС-2 + ZnO в спектрах появились значительные изменения в области карбонильного кислорода, OH групп и появились новые пики, соответствующие валентным колебаниям ацетата цинка. При этом пленка ПВС-2 + ZnO растворилась в воде.

Исходя из ИК-спектров, при осаждении оксида цинка на пленку ПВС-2 происходит деструкция C-C связи основной цепи, а также отщепление ацетатной группы с образованием ацетата Zn.

Рентгенографические исследования образцов пленок ПВС + ZnO показали образование на поверхности пленки ПВС-4 кристаллической пленки ZnO, ориентированной вдоль кристаллографического направления 002. На образце ПВС-1 интенсивность рефлекса вдоль кристаллографического направления 002 наноразмерной пленки ZnO была незначительна, в то время, как на поверхности ПВС-2 не наблюдалось характерных рефлексов межплоскостных расстояний пленки ZnO (рис. 25). На основе полученных данных был сделан вывод, что ожидаемый эффект пролонгированности может обеспечить ПВС с более высоким значением ММ и средним значением между ПВС-2 и ПВС-4 содержанием ацетатных групп.

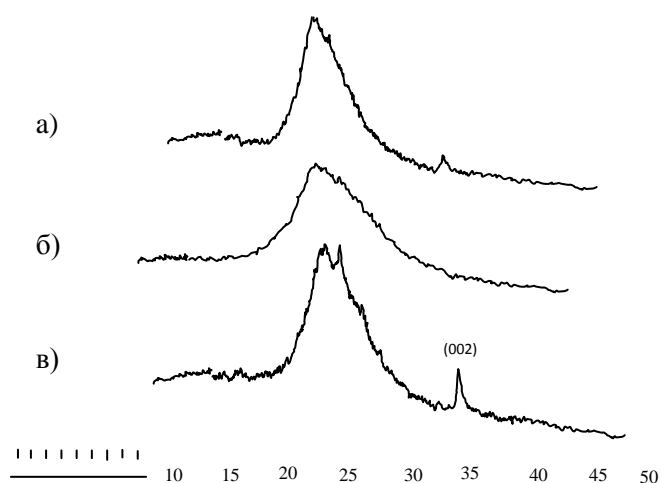


Рис. 25. Дифрактограмма образцов цинкоксидных композиционных пленок с ПВС: а) ПВС-1 + ZnO; б) ПВС-2 + ZnO; в) ПВС-4 + ZnO

Исследования на Cu (II) хелате этилового эфира салицилиден DL тирозина (S2) показали, что в соединении присутствует свободная гидроксильная группа салицилиденового фрагмента в области валентных колебаний 3309 см^{-1} . Сравнение спектров поглощения металлокомплекса и цинкоксидного композита S2 + ZnO показало смещение полосы поглощения в области валентных колебаний OH от 3309 см^{-1} в исходном металлокомплексе до 3335 см^{-1} в цинкоксидном композите. Вероятно это смещение связано с взаимодействием ZnO с OH группой салицилиденового фрагмента с образованием водородной связи ZnO...HO. А в случае композиционных плёнок (S2 + ПВС-4 + ZnO), как показали исследования имеет место взаимодействие ZnO как с функциональными группами ПВС так и S2.

Синтезированы образцы высокомолекулярного ПВС-4 с молекулярной массой 65000...70000 и количеством ацетатных групп 5...6%. Исследования противоопухолевой активности цинкоксидных композиционных плёнок S2 и S4 с ПВС-4 показали, что эти образцы ПВС с указанными характеристиками обеспечили эффект пролонгированности ПВС с S2 и S4.

В табл. 5 представлена противоопухолевая активность исходных соединений S2 - S8, и их цинкоксидных композиций при оптимальных толщинах наноразмерных плёнок оксида цинка нанесённых на композиционные плёнки. Показано усиление противоопухолевой активности цинкоксидных композиций (ПВС-4 + S2 + ZnO - 47%, ПВС-4 + S4 + ZnO - 48%), по сравнению с исходными соединениями S2, S4 (18, 20%).

Таблица 5

Противоопухолевая активность хелатов салицилиден аминокислот, S2 - S8 и их цинкоксидных композиций в виде плёнок с ПВС, S2 - S8 + ПВС + ZnO

Соединение	Доза, мг/мышь	Температура подложки, °С	Толщина плёнки, нм	Противоопухолевая активность, %
S2	1,4	-	-	20,2
S2	2,8	-	-	22
S2 + ПВС-4 + ZnO	2,8	30	88	47
S4	0,5	-	-	21,2
S4	1,5	-	-	Гибель мышей
S4 + ПВС-4	1,5	30	-	Гибель мышей
S4 + ПВС-4 + ZnO	1,5	30	195	47
S6	3,0	-	-	20
S6 + ПВС-4 + ZnO	3,0	10	195	20
S6 + ПВС-4 + ZnO	3,0	-10		30
S6 + ПВС-4 + ZnO	3,0	-20	200	42
S8	0,5	-	-	32
S8 + ПВС-1 + ZnO	0,5	30	200	44

Получены несколько серий композиционных плёнок из S6 и S8 с ПВС разной молекулярной массы, с целью обеспечения пролонгированного действия цинкоксидных композиций S6 и S8. 0,5 мл 5% раствора ПВС разной молекулярной массы смешивалось с взвешенным количеством S6 и S8, соответствующим их терапевтическим дозам для белых беспородных мышей методом полива на стеклянную подложку.

Для приготовления композиционных плёнок были взяты образцы ПВС: ПВС-1, ММ ~ 20000, масс. доля ацетатных групп 1,3% и ПВС-4, ММ ~ 65000...70000, ац. группы – 5,3%, исходя из полученных результатов экспериментальных исследований по пролонгированности и противоопухолевой активности S2 и S4 [175, 176]. Из отобранных ПВС плёнок были получены комбинированные плёнки с S6 и S8 для дальнейшего нанесения на их поверхность наноразмерных плёнок оксида цинка разной толщины методом магнетронного распыления цинковой мишени, с целью получения их цинкоксидных композиций и выявления зависимости противоопухолевой активности от толщины наноразмерной плёнки ZnO. Оценка растворимости цинкоксидных композиций S6 и S8 в виде композиционных плёнок с ПВС-1 и ПВС-4 в водной среде при различных рН позволила определить марку ПВС:

цинкоксидные композиции ПВС-4 + S6 обеспечивали пролонгированность плёнок в организме животных (мышей) ввиду их растворимости в условиях эксперимента, в то время как для цинкоксидных композиций S8, ПВС-1 + S8 обеспечивали растворимость в водной среде (см. табл. 4).

Химиотерапевтические исследования показали отсутствие противоопухолевой активности у цинкоксидных композиционных плёнок ПВС-4 + S8 + ZnO и увеличение противоопухолевой активности цинкоксидных композиций ПВС-1 + S8 + ZnO, по сравнению с исходным соединением S8. По-видимому, отсутствие противоопухолевой активности ПВС-4 + S8 + ZnO можно было объяснить быстрым растворением пленок на основе ПВС-4, как выяснилось в ходе экспериментов. Поэтому для комбинированных плёнок S8 с ПВС образец ПВС-4 был заменен на ПВС-1 (см. табл. 4).

Рентгеноструктурное исследование Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден- ω -аминокапроновой кислоты (S6) показало, что гидроксильная группа салицилиденового фрагмента принимает участие в комплексообразовании с медью (рис. 26). В ИК спектрах S6 в положении карбонильного кислорода не наблюдалось сдвигов (1733 см^{-1}), в то время как в ИК спектрах S8 полоса карбонильного кислорода $\nu\text{ C=O}$ проявлялась при 1626 см^{-1} . По-видимому, в S8 карбонильная группа образует комплекс с медью.

При смешении с раствором ПВС происходит взаимодействие функциональных групп (ФГ) ПВС с ФГ хелатов, причем взаимодействие это может быть как химическим (на это указывает потеря растворимости в воде некоторых комбинированных пленок), так и координационным за счет Ван-дер-Ваальсовых сил. Эти взаимодействия приводят к определенному расположению молекул хелатов между молекулами ПВС по мере пленкообразования, что должно сказываться на их дальнейшей связи с ZnO и, соответственно, высвобождению из полимерной матрицы при попадании в организм. Сложность взаимодействия в пленках следует уже из данных по растворимости пленок (ПВС-4 + S6 и ПВС-4 + S6 + ZnO; ПВС-4 + S8, ПВС-4 + S8 + ZnO и ПВС-1 + S8, ПВС-1 + S8 + ZnO), согласно которым различие в химической формуле S6 и S8 оказывает принципиальное влияние на поведение их пленок с ПВС (как без ZnO, так и с ZnO) в растворах при различных pH и различных температурах.

Исследования противоопухолевой активности цинкоксидных композиционных плёнок с ПВС (S6, S6 + ПВС-4) на модели С-180 показали, что при подкожном введении при оптимальных толщинах наноразмерных плёнок ZnO осаждённых на исходные соединения наблюдается значительное повышение противоопухолевой активности, по сравнению с исходными соединениями (см. табл. 5).

Таким образом, выбор полимерной матрицы с определённым молекулярным весом и количеством ацетатных групп, обеспечивающей пролонгацию цинкоксидных композиционных плёнок, (S2 - S8) + ПВС + ZnO в организме животных (мышей), приводит к увеличению их противоопухолевой активности и снижению токсичности, по сравнению с исходными соединениями.

Интересно варьирование характеристик ПВС при образовании комбинированных плёнок с DOX и формировании их цинкоксидных композиционных плёнок.

Данные по противоопухолевой активности DOX и цинкоксидных композиций DOX различными полимерами приведены в табл. 6. Результаты исследований на модели АКЭ показали значительное увеличение противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX в виде композиционных плёнок с ПВС-5, по сравнению с исходным препаратом. Из данных табл. 6 очевидно значительное увеличение продолжительности жизни мышей при инъекции цинкоксидных композиционных плёнок DOX с ПВС-5, 304% (в 1,8 раза), при содержании DOX вдвое меньших дозах (0,05 мг/мышь), по сравнению с исходным препаратом при терапевтической дозе 170% (0,1 мг/мышь) и в два раза для исходного DOX при той же дозе 150%. В отличие от обычного введения лекарственного вещества и его распространения по всему организму, направленная доставка позволяет снизить дозу вводимого лекарства и минимизировать его воздействие на другие клетки (побочное действие).

Интересен тот факт, что пролонгация цинкоксидных композиций DOX наблюдалась с ПВС-5, имеющей ММ = 65000, примерно одинаковую с ПВС-4 (64000), которая применялась для создания комбинированных плёнок с S2, S4, S6 (см. табл. 1). По-видимому, цинкоксидные композиты с ПВС, имеющие молекулярную массу более 50000, с трудом проходят через биологические барьеры и, поэтому, более длительное время находятся в крови, по сравнению с исходными соединениями и препаратом.

Противоопухолевая активность DOX и цинкоксидных композиций в форме композиционных плёнок с ПВС на модели АКЭ

Соединение	Суточная доза, мг/мышь	Толщина плёнки ZnO, нм	УПЖ (в % к контролю)
DOX	0,1	-	170
		-	150
DOX + ПВС-1 + ZnO	0,05	97	182,2
DOX + ПВС-5 + ZnO			304
DOX + МПВС-13 + ZnO			220
DOX	0,06	-	165
DOX + ПВС-5 + ZnO		31	108
		44	82,6
		100	390
		138	130,4

3.3. Оптимальные технологические параметры осаждения наноразмерных плёнок ZnO на покрытия и композиционные плёнки S2 - S8, DOX

Получены оптимальные технологические параметры DC-магнетронного осаждения наноразмерных пленок оксида цинка на поверхность покрытий S2 - S8, DOX и композиционных плёнок S2 - S8, DOX с ПВС.

Стабильность физико-химических характеристик S2 - S8, DOX и их цинкоксидных композиций обеспечивается кристаллической структурой. Исходя из этого DC-магнетронное нанесение тонких пленок ZnO на стеклянные подложки было исследовано с целью формирования кристаллических пленок оксида цинка для дальнейшего осаждения на поверхности S2 - S8, DOX с целью формирования их цинкоксидных композиций. Исследуя экспериментально зависимость качества тонких пленок ZnO от давления газов, можно получить зависимость “степени их кристалличности” от скорости осаждения. Качество пленок ZnO, характеризующееся степенью ориентации зерен вдоль 002 кристаллографического направления, варьировалось в зависимости от давления газов и расстояния мишень-подложка. Основными механизмами влияния давления газов в камере магнетрона на скорость осаждения пленок ZnO можно считать: 1) рассеяние расплывших атомов цинка ввиду их столкновения с атомами газов; 2) изменение вольт-амперных характеристик (ВАХ) плазмы, приводящих к зависимости напряжения анод-катод U от давления. В области рабочих давлений от 10^{-2} до 10^{-3} мм рт. ст. (применяемых в эксперименте) можно было пренебречь рассеянием

осаждаемых атомов. Экспериментальные результаты исследований свидетельствуют о том, что основным фактором, определяющим кристалличность пленок, является скорость осаждения R_{dep} : качество пленки ZnO улучшается при уменьшении R_{dep} . Формирование текстуры пленки во многом определяется кинетикой осаждаемых частиц на подложке. Эти частицы должны обладать достаточно большой энергией, чтобы быть способными мигрировать по поверхности и связываться в кластеры, формирующие регулярную кристаллическую решетку. Очевидно, что при больших давлениях, когда напряжение мишени падает, энергия распыляемых атомов цинка недостаточна для обеспечения такой кинетики, что является причиной плохой текстуры пленки. Если же давление газов слишком мало, из-за возрастания напряжения катода достигается очень большая скорость осаждения. При этом большой поток осаждаемых частиц приводит к тому, что образуемые кластеры мешают друг другу образовывать кристаллическую структуру, когда скорость роста плёнок составляет уже 36,6 нм/мин. В результате наблюдается ухудшение текстуры.

Оптимальная скорость роста качественных, текстурированных плёнок ZnO достигалась в области давлений от $5 \cdot 10^{-3}$ до 10^{-3} мм рт. ст., когда скорость роста плёнок составляет $\sim 6 \dots 7$ нм/мин. В интервале этих давлений газов и при соотношении смесей газов $Ar:O_2 = 3:1$ окисление поверхности мишени не наблюдалось.

Проведены систематические диффрактометрические исследования (ДРОН 2.0, $\lambda CuK\alpha$) образцов наноразмерных плёнок ZnO на стеклянных подложках, с целью их дальнейшего осаждения на поверхность покрытий, композиционных плёнок S2 - S8, DOX при определённых условиях осаждения. Исследована зависимость кристаллической структуры пленок ZnO, полученных на стеклянных подложках при температуре $30^\circ C$, давлении $P = 10^{-3}$ мм рт. ст и соотношении рабочих газов $Ar:O_2 = 3:1$ от мощности магнетронного источника. На рис. 27 а показана зависимость степени кристалличности плёнок ZnO от расстояния мишень–подложка. Очевидно, что при расстояниях мишень-подложка $l = 170$ мм и $l = 70$ мм ухудшается структура формируемой плёнки на стеклянных подложках, в то время как при $l = 110$ мм (рис. 27 б) наблюдается переход от аморфного, поликристаллического состояния к кристаллической структуре образцов, ориентированных вдоль 002 кристаллографического направле-

ния. Диффрактометрические исследования показали, что структура пленок зависит также от мощности магнетронного источника. Методом магнетронного распыления цинковой мишени получены аморфные образцы тонких плёнок оксида цинка на стеклянных подложках при давлениях порядка 10^{-3} мм рт.ст., мощности магнетронного источника, $W = 60$ Вт и времени осаждения $t = 20$ мин., при соотношении смеси газов $Ar:O_2 = 3:1$, расстояниях мишень-подложка в интервале: 70...130 мм (рис. 28 а, б). Для пленок ZnO, осажденных при мощности магнетронного источника 90 Вт наблюдалась поликристаллическая структура (рис. 28 с, d). Увеличение мощности магнетронного источника от 90 до 120 Вт и расстояния мишень-подложка от 70 до 110 мм приводит к переходу от поликристаллических образцов плёнок ZnO к образцам ориентированным вдоль 002 кристаллографического направления (рис. 28 е, f).

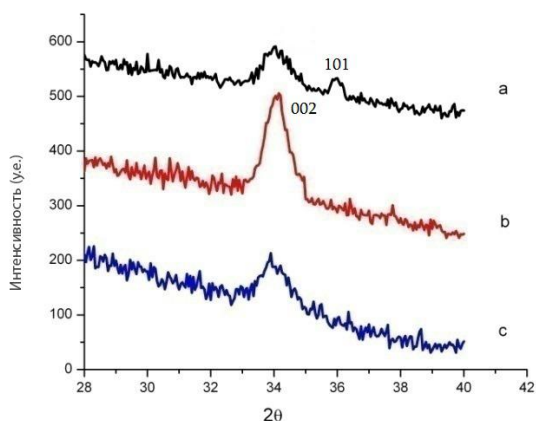


Рис. 27. Диффрактограммы образцов ZnO осажденных при давлении: $P = 10^{-3}$ мм рт.ст.: а) $l = 7$ см; б) $l = 11$ см; в) $l = 17$ см

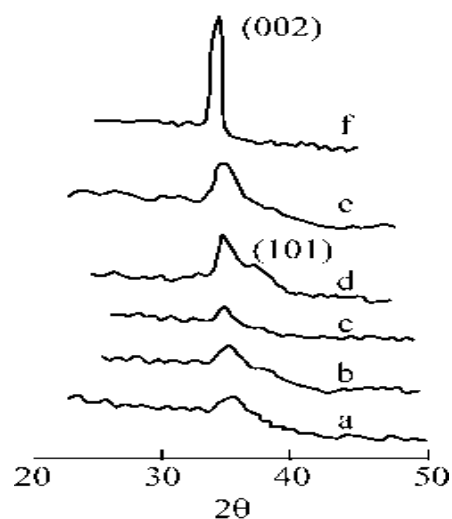


Рис. 28. Диффрактограммы образцов ZnO: $W = 60$ Вт (а, б), $W = 90$ Вт (с, d), $W = 120$ Вт (е, f)

Измерение толщины пленок ZnO показало, что пленки, осажденные на стеклянных подложках при расстоянии мишень-подложка $l = 70$ мм, неравномерны по толщине. Начиная с расстояний $l = 90$ мм, происходит равномерное осаждение пленок на площади $100 \cdot 100$ мм² (отличие толщин от центра до края менее 10%). При расстоянии мишень-подложка 130 мм и более наблюдается ухудшение кристаллической структуры пленок. В дальнейшем физические характеристики пленок ZnO в зависимости от технологических режимов их получения исследованы для пленок, полученных при расстоянии мишень-под-

ложка – 110 мм. Исследована зависимость скорости роста наноразмерной плёнки оксида цинка от расстояния мишень-подложка (рис. 29 а) и силы тока магнетронного источника (рис. 29 б). Сформированы цинкоксидные композиты в интервале толщин $30 \text{ нм} \leq d \leq 300 \text{ нм}$ и температур $-30^\circ\text{C} \leq T \leq 30^\circ\text{C}$ осаждением наноразмерных пленок ZnO на биологически активные соединения S2 - S8, DOX, нанесенных в виде покрытий или композиционных пленок на стекле, в следующем технологическом режиме: рабочий ток – 400 мА, газовая смесь – $\text{Ar}:\text{O}_2 = 3:1$; рабочее давление 10^{-3} мм рт. ст.; расстояние мишень-подложка – 110 мм, скорость роста пленок ~ 6 нм/мин.

Установлены оптимальные технологические параметры DC-магнетронного осаждения наноразмерных пленок оксида цинка на поверхность покрытий S2 - S8, DOX и комбинированных плёнок S2 - S8, DOX с ПВС.

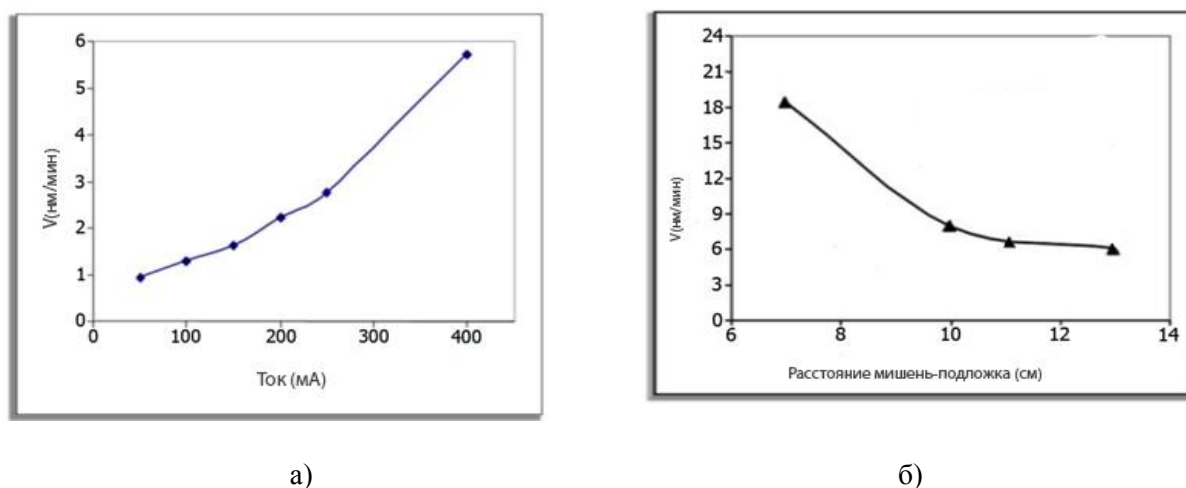


Рис. 29. Зависимость скорости роста (V , нм/мин) наноразмерной плёнки ZnO от: а) силы тока (I , мА) и б) от расстояния мишень-подложка

На рис. 30 а, представлена зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций в виде покрытий (модель С-180) S2 - S8, DOX от толщины наноразмерной плёнки ZnO, а на рис. 30 б цинкоксидных композиций S2 - S8 в виде композиционных плёнок от толщины тонкой плёнки ZnO.

В табл. 7 - 10 представлены результаты исследований противоопухолевой активности для образцов S2 - S8 в виде покрытий, композиционных плёнок и их цинкоксидных композиций на модели С-180, а в табл. 11 представлены результаты УПЖ для образцов DOX

в виде покрытий и композиционных плёнок на модели АКЭ.

Результаты исследований получены при разных толщинах наноразмерных плёнок ZnO, нанесённых на поверхности покрытий и композиционных плёнок с ПВС, МПВС соединений S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX.

Изучена зависимость толщины наноразмерных плёнок оксида цинка на противоопухолевую активность цинкоксидных композиций S2 - S8, DOX.

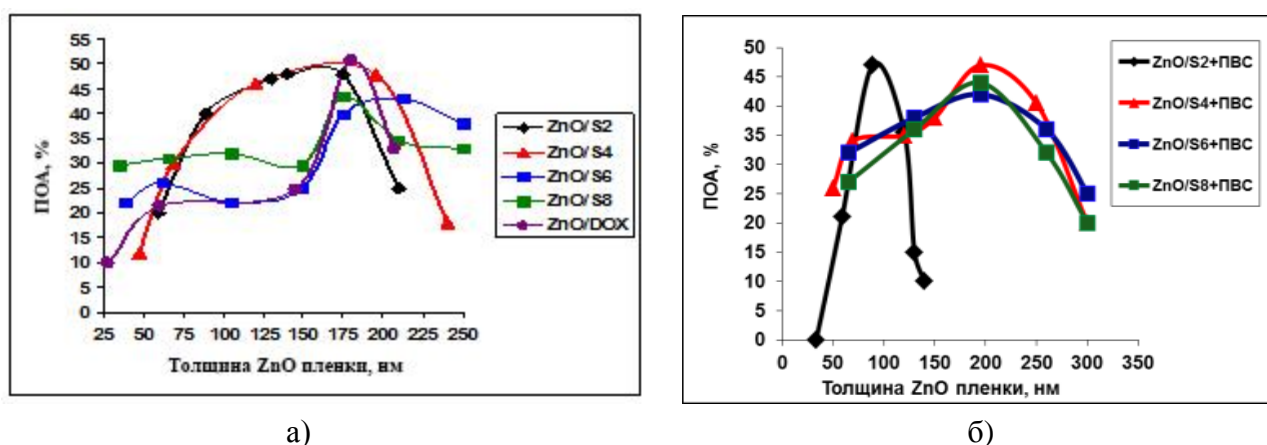


Рис. 30. Зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций от толщины наноразмерных плёнок ZnO: а) (ZnO/S2 - S8, ZnO/DOX) в виде покрытий; б) ZnO/S2 - S8 + ПВС в виде композиционных плёнок

Таблица 7

Зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций S2 на модели С-180 от толщины наноразмерных плёнок ZnO

Образец, композиционная плёнка	Толщина плёнки ZnO на стекле (d), нм	Противоопухолевая активность, %	Образец, покрытия	Толщина плёнки ZnO на стекле (d), нм	Противоопухолевая активность, %
S2	-	20		-	
S2+ПВС-4	-	гибель животных	S2 + ДМСО	-	гибель животных
S2+ПВС-4+ZnO	33,4	гибель животных	S2 + ZnO	33,4	гибель животных
S2+ПВС-4+ZnO	58,8	20	S2 + ZnO	58,8	20
S2+ПВС-4+ZnO	88,8	40	S2 + ZnO	88,8	40
S2+ПВС-4+ZnO	110		S2 + ZnO		42
S2+ПВС-4+ZnO	130	48	S2 + ZnO	130	48
S2+ПВС-4+ZnO	140	47	S2 + ZnO	140	47

Таблица 8

Зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций S4 на модели C-180 от толщины наноразмерных плёнок ZnO

Соединение	Толщина плёнки ZnO на стекле (d) нм,	Противоопухолевая активность, %	Соединение	Толщина плёнки ZnO на стекле (d) нм,	Противоопухолевая активность, %
S4+ПВС-4	-	23	S4 + ДМСО	-	24
S4+ПВС-4+ZnO	45-50	26	S4 + ZnO	45-50	12
S4+ПВС-4+ZnO	69	34	S4 + ZnO	69	30
S4+ПВС-4+ZnO	120	35	S4 + ZnO	120	42
S4+ПВС-4+ZnO	150	38	S4 + ZnO	150	44
S4+ПВС-4+ZnO	195	47	S4 + ZnO	195	48
S4+ПВС-4+ZnO	240	40,5	S4 + ZnO	240	18

Таблица 9

Зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций S6 на модели C-180 от толщины наноразмерных плёнок ZnO

Соединение	Толщина плёнки ZnO на стекле, (d) нм	Противоопухолевая активность, %	Соединение	Толщина плёнки ZnO на стекле, (d) нм	Противоопухолевая активность, %
S6 + ПВС-4	-	20	S6 + ДМСО	-	23
S6 + ПВС-4 + ZnO	50	32	S6 + ZnO	50	26
S6 + ПВС-4 + ZnO	120	37	S6 + ZnO	120	34
S6 + ПВС-4 + ZnO	195	42	S6 + ZnO	195	44
S6 + ПВС-4 + ZnO	250	36	S6 + ZnO	250	38
S6 + ПВС-4 + ZnO	290	24	S6 + ZnO	290	32

Таблица 10

Зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций S8 на модели C-180 от толщины наноразмерных плёнок ZnO

Соединение	Толщина плёнки ZnO на стекле (d) нм,	Противоопухолевая активность, %	Соединение	Толщина плёнки ZnO на стекле (d) нм,	Противоопухолевая активность, %
S8+ПВС-1	-	23	S8 + ДМСО	-	24
S8+ПВС-1+ZnO	45-50	26	S8 + ZnO	45-50	28
S8+ПВС-1+ZnO	69	28	S8 + ZnO	69	32
S8+ПВС-1+ZnO	120	35	S8 + ZnO	120	34
S8+ПВС-1+ZnO	150	38	S8 + ZnO	175	44
S8+ПВС-1+ZnO	195	42	S8 + ZnO	195	34
S8+ПВС-1+ZnO	240	34	S8 + ZnO	240	32

Исследования противоопухолевой активности на модели C-180 показали гибель животных (мышей), в случае нанесения наноразмерных пленок оксида цинка толщиной 35 нм на поверхность S2 (см. табл. 7), низкую противоопухолевую активность в интервале 50...60 нм для S6, S8 и DOX на модели C-180 в виде покрытий и композиционных плёнок (см. рис. 30, табл. 9, 10).

Химиотерапевтические исследования на модели C-180 показали увеличение противоопухолевой активности цинкоксидных композиций S2 - S8 и DOX при оптимальных параметрах DC-магнетронного нанесения наноразмерных плёнок ZnO на их поверхности в виде покрытий и композиционных плёнок. Значительное увеличение (в два и более раза) противоопухолевой активности и снижение токсичности цинкоксидных композиций S2 - S8 в форме покрытий, по сравнению с исходными соединениями, было обнаружено при толщине наноразмерной плёнки оксида цинка в интервале от 130 до 200 нм (см. рис. 30, табл. 7 - 10) и от 88 до 200 нм для композиционных пленок с ПВС (табл. 7 - 10). Исследования противоопухолевой активности на модели C-180 показали, что при подкожном введении цинкоксидных композиционных плёнок с ПВС (S2 - S8 + ПВС) при толщинах наноразмерных плёнок ZnO в интервале 35...50 нм, наблюдается гибель мышей или же низкая противоопухолевая активность. Для цинкоксидных композиций в виде покрытий S2 - S8 этот интервал оказался несколько больше (35...70 нм).

Значительное усиление противоопухолевой активности и снижение токсичности наблюдалось на цинкоксидных композиционных плёнках S2 + ПВС-4 + ZnO при осаждении наноразмерной плёнки оксида цинка толщиной порядка 88 нм, а для композиций в виде покрытий при толщине 130...140 нм [180, 181]. Как видно из табл. 7 и рис. 30 для цинкоксидных композиционных плёнок S2 + ПВС-4 + ZnO при толщинах плёнок 130...140 нм наблюдается отсутствие эффекта противоопухолевой активности. Результаты по исследованию противоопухолевой активности цинкоксидных композиционных плёнок S4, S6, S8 показали увеличение противоопухолевой активности при толщинах наноразмерной плёнки ZnO в интервале 195...200 нм (см. табл. 7 - 10). Показано, что противоопухолевая активность цинкоксидных композиций исследованных хелатов салицилиден аминокислот примерно в 2...2,5 раза

больше, по сравнению с исходными соединениями. При толщине наноразмерной плёнки ZnO порядка 250 нм в цинкоксидных композитах хелатов салицилиден аминокислот противоопухолевая активность значительно уменьшается (см. рис. 30), как и в случае покрытий, так и композиционных плёнок [180, 181].

По-видимому, в этом случае, как и для цинкоксидных композиций S2 - S8 в виде покрытий, присутствует избыточное количество Zn, приводящее к уменьшению противоопухолевой активности. Исследования противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX на модели C-180 (см. рис. 30 б) и АКЭ (табл. 11) показали значительное увеличение противоопухолевой активности и снижение токсичности, по сравнению с исходным препаратом при осаждении наноразмерных пленок оксида цинка толщиной 180 нм на поверхность покрытий препарата стеклянных подложек.

Таблица 11

Зависимость противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX на модели АКЭ от толщины наноразмерных плёнок ZnO

Соединение	Суточная доза, мг/кг	Толщина плёнки ZnO, нм	УПЖ (в % к контролю)
DOX	5	-	170
		-	150
DOX+ZnO	2,5	180	290
DOX+ПВС-5+ZnO		97	304
DOX+МПВС-13+ZnO	2,5		220
DOX	3,0	-	165
DOX+ZnO		70	100
		130	293,8
		180	332,3
		250	280
DOX+ПВС-5+ZnO		31	108
	44	82,6	
	100	390	
	138	130,4	

Исследования противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX на модели АКЭ для композиционных плёнок с ПВС показали усиление противоопухолевой при толщине наноразмерной плёнки оксида цинка порядка 100 нм (см. табл. 6). Генерация электроно-дырочных пар при формировании цинкоксидных композиций во время плазменной обработки при DC- магнетронном осаждении наноразмерных плёнок ZnO на поверхности

S2 - S8, DOX стимулирует взаимодействие электронов с ионами решётчного цинка, что, возможно, приводит к образованию цинкоксидного комплекса с переносом заряда. Цинкоксидные композиты в виде покрытий, композиционных плёнок соединений S2 - S8 и препарата DOX с ПВС, по-видимому, являются альтернативой наночастицам, нанотрубкам. Транспорт цинкоксидных композиций DOX в виде покрытий и композиционных плёнок с ПВС в опухолевую ткань, опухолевую клетку обеспечивается при меньших дозах препарата в цинкоксидном композите и значительно большей противоопухолевой активностью, по сравнению с исходным препаратом при терапевтической дозе, без применения специфической адресации, как это принято при векторной доставке лекарственных препаратов с помощью наночастиц, нанотрубок. По-видимому, в цинкоксидных композитах, в качестве вектора, выступает сам ZnO.

Способ приготовления композиций и цинкоксидных композиций прост, стерилен, отсутствует токсичность. Точность измерения и контроля толщины плёнок ZnO устройством «Микрон», входящей в систему аппаратуры DC-магнетронного распыления цинковой мишени составляет 0,1 нм, что превышает или же соответствует точности формирования наночастиц, наноконтейнеров для векторной доставки лекарств другими методами, представленных в мировой литературе.

3.4. Результаты химиотерапевтических исследований

Повышение избирательности действия лекарств является одной из основных проблем современной химиотерапии. Наряду с высокой противоопухолевой активностью большинство известных химиотерапевтических средств обладают выраженными побочными действиями. Они оказывают отрицательное влияние на различные органы и системы организма, ограничивая возможность длительного применения. Повышение эффективности химиотерапии ведется по двум основным направлениям – создание новых препаратов с большей противоопухолевой активностью с меньшим повреждающим действием на здоровые ткани организма и поиск возможных путей снижения токсического действия широко применяемых в медицинской практике противоопухолевых средств.

В связи с этим большое значение имеет разработка эффективных систем доставки лекарств в организм, что позволяет удлинить время действия препаратов, увеличить их биодоступ-

ность, обеспечить их направленный транспорт к очагу патологического процесса, а также уменьшить дозу и предотвратить их побочное действие. В настоящее время для достижения целенаправленной доставки химиотерапевтических препаратов в опухоль были разработаны различные способы. Известно, что наночастицы существенно изменяют биораспределение лекарственного вещества и, таким образом, могут оптимизировать его воздействие на организм, снизить неспецифическую токсичность и/или расширить спектр действия. [71-92, 99-110, 114-149].

В работе предлагается новая система доставки лекарств, основанная на тонкоплёночной технологии для получения цинкоксидных композиций противоопухолевых средств (учитывая важное биологическое значение ZnO и Zn содержащих производных), альтернативной традиционным наночастицам, нанотрубкам [177]. Этот подход согласуется с результатами исследований, проведенных на некоторых хелатах салицилиден аминокислот (S2 - S8) и противоопухолевом препарате, DOX [174-176]. Химиотерапевтическими исследованиями установлено заметное снижение токсичности и усиление противоопухолевой активности вышеуказанных хелатов при использовании их в виде цинкоксидных композиций в форме покрытий и композиционных пленок (табл. 12).

Таблица 12

Противоопухолевая активность S2 - S8 и их цинкоксидных композиций в виде покрытий (S2 - S8 + ZnO) и композиционных плёнок с ПВС (S2 - S8 + ПВС + ZnO) на модели С-180

Хелаты салицилиден аминокислот, S2 - S8 и их цинкоксидные композиты в форме покрытий			Хелаты салицилиден аминокислот, S2 - S8 и их цинкоксидные композиты в виде композиционных плёнок с ПВС		
Соединение	Доза, мг/кг	Ингибирование роста опухоли (в % к контролю)	Соединение	Доза, мг/кг	Ингибирование роста опухоли (в% к контролю)
S ₂	50	20,2	S2	50	20,2
S ₂	140	22,0	S2	140	22
S ₂ + ZnO	140	48,0	S2 + ПВС-4+ZnO	140	47
S ₄	25	21,2	S4	25	21,2
S ₄ + ZnO	75	48	S4 +ПВС-4+ZnO	75	47
S ₆	130	20	S6	130	20
S ₆ + ZnO	130	44	S6 + ПВС-4+ZnO	130	42
S ₈	25	32	S8	25	32
S ₈ + ZnO	25	44	S8 + ПВС-1+ZnO	25	44

Из табл. 12 очевидно значительное усиление противоопухолевой активности цинкоксидных композиций S2 - S8 в виде покрытий и композиционных плёнок салицилиден аминокислот, по сравнению с исходными соединениями. Полученные данные послужили предпосылкой для использования данного подхода в отношении высокотоксичных противоопухолевых препаратов, в частности DOX, с целью снижения его токсичности, с одновременным повышением активности. Исследования показали, что в отличие от DOX, его цинкоксидные композиты в виде покрытий и плёнок, отличаются меньшей токсичностью (значение ЛД₁₆ увеличивается в 2 и более раза) и большей противоопухолевой активностью. Наряду с этим отмечается значительное увеличение противоопухолевой активности препарата в отношении АКЭ. Так, однократное внутрибрюшинное введение DOX в дозе 5 мг/кг вызывает УПЖ мышей на 170%, а в случае использования цинкоксидных композиций в виде покрытий и композиционных плёнок в дозах с вдвое меньшим содержанием DOX (2,5 мг/кг), а также в дозах (3 мг/кг) относительно терапевтической дозы (5 мг/кг) терапевтический эффект достигал 290,1 и 332,3% на покрытиях, а также 304 и 390% на композиционных плёнках. В целом, за счет снижения токсичности и уменьшения дозы препарата, удалось существенно повысить лечебный эффект DOX (табл. 13).

Таблица 13

Противоопухолевая активность DOX и цинкоксидных композиций в виде покрытий (DOX + ZnO) и композиционных плёнок на модели АКЭ

Соединение	Суточная доза, мг/кг	УПЖ (в % к контролю)
DOX	5	170
DOX		150
DOX+ZnO	2,5	290
DOX+ПВС-5+ZnO		304
DOX		165
DOX+ZnO	3,0	332,3
DOX+ПВС-5+ZnO		390

3.5 Результаты структурных исследований и их обсуждение

Методом DC-магнетронного нанесения наноразмерных плёнок ZnO различной толщины на покрытия хелатов салицилиден аминокислот S2 - S8 и лекарственного препарата DOX, получены их цинкоксидные композиции с высокой противоопухолевой активностью и низ-

кой токсичностью, по сравнению с исходными соединениями и препаратом.

Проведены ИК-спектроскопические исследования S2 - S8, DOX на спектрометре NEXUS FT-IR. Исследования на Cu (II) хелате этилового эфира салицилиден DL тирозина (S2) показали, что в соединении присутствует свободная гидроксильная группа салицилиденового фрагмента в области валентных колебаний 3309 см^{-1} (рис. 31 а). В металлокомплексе заметен сдвиг полосы поглощения C до 1668 см^{-1} и сдвиг $-\text{CH}=\text{N}$ в области 1652 см^{-1} из-за взаимодействия Cu с азотом за счет свободной электронной пары (см. рис. 31 а, б). Сравнение спектров поглощения металлокомплекса и цинкоксидного композита S2 показало смещение полосы поглощения в области валентных колебаний OH от 3309 см^{-1} в исходном металлокомплексе до 3335 см^{-1} в цинкоксидном композите (см. рис. 31 б). Вероятно, это смещение связано с взаимодействием ZnO с OH группой салицилиденового фрагмента с образованием водородной связи $\text{ZnO}\dots\text{HO}$. А в случае композиционных плёнок (S2 + ПВС + ZnO), как показали исследования, имеет место взаимодействие ZnO как с функциональными группами ПВС так и S2.

Исследованы структурные параметры S2 и его цинкоксидных композиций в виде покрытий и композиционных плёнок. Цинкоксидные композиты получены при оптимальных технологических параметрах и оптимальных толщинах наноразмерных плёнок оксида цинка, нанесённых на поверхность исследуемых соединений, методом DC-магнетронного распыления цинковой мишени. Результаты исследований показали, что цинкоксидные композиты обладают более высокой противоопухолевой активностью как в форме покрытий (40...48%), так и композиционных плёнок (41...47%), по сравнению с исходным S2, при осаждении наноразмерных плёнок ZnO толщиной в интервале 90...140 нм (см. рис. 30 б, табл. 7 - 10) при осаждения на поверхность в виде покрытий и 88...110 нм композиционных плёнок.

По-видимому, при осаждении тонких плёнок ZnO на поверхность покрытий, в интервале 90...140 нм, образуется межмолекулярная водородная связь ZnO с свободной гидроксильной группой салицилиденового фрагмента, а в композиционных плёнках имеет место взаимодействие ZnO как с функциональными группами ПВС так и S2. Однако исследование противоопухолевой активности цинкоксидных наноконпозиций в случае осаждения наноразмерных плёнок ZnO размером от 15 до 35 нм, как на поверхность покрытий (S2 + ZnO), так и

КОМПОЗИЦИОННЫХ плёнок с ПВС (S2 + ПВС + ZnO) показало, что имеет место гибель животных (мышей).

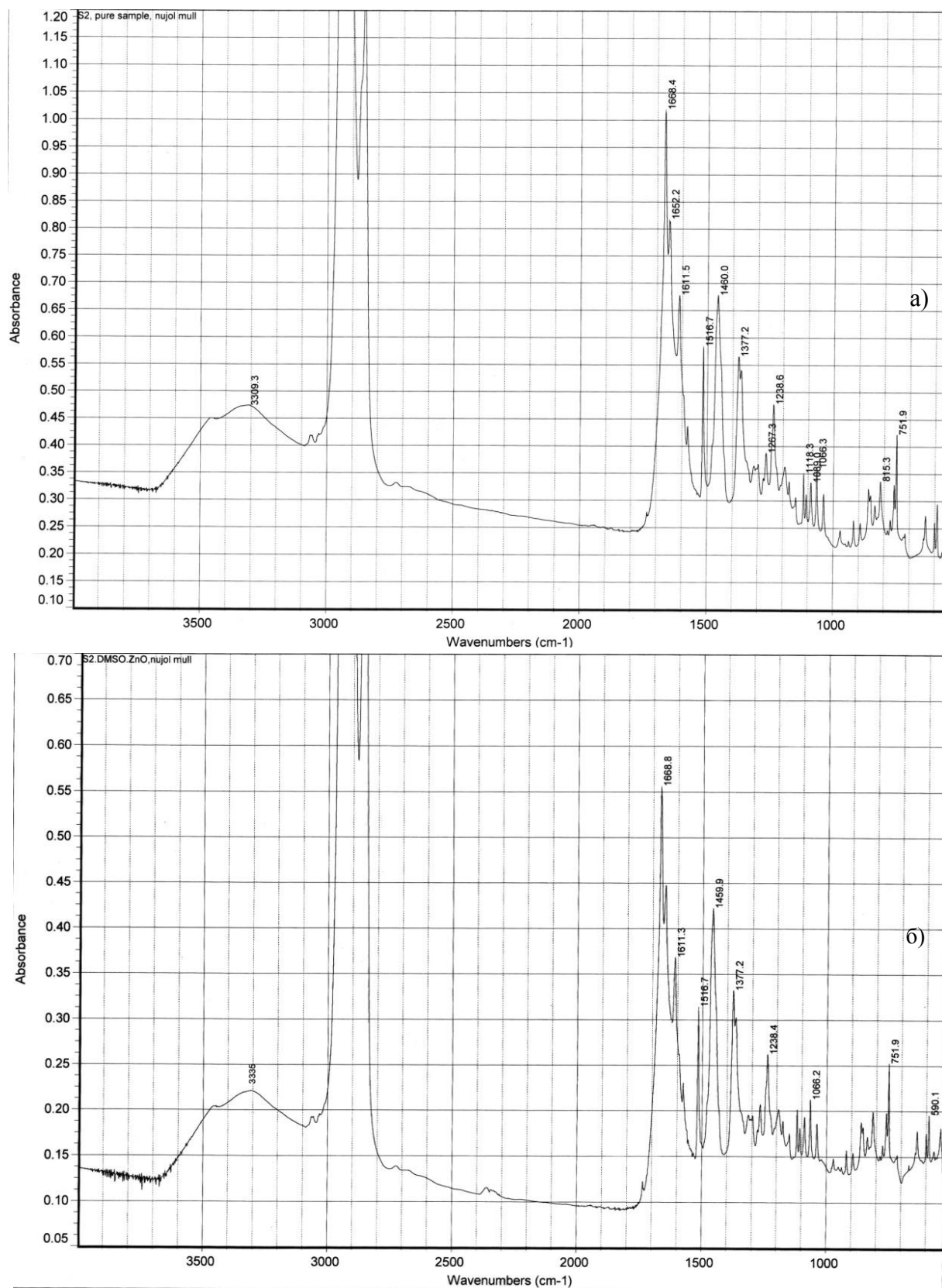


Рис. 31. ИК-Спектры: Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден DL-тирозина (S2) (а) и цинкоксидного композита (S2 + ZnO) (б)

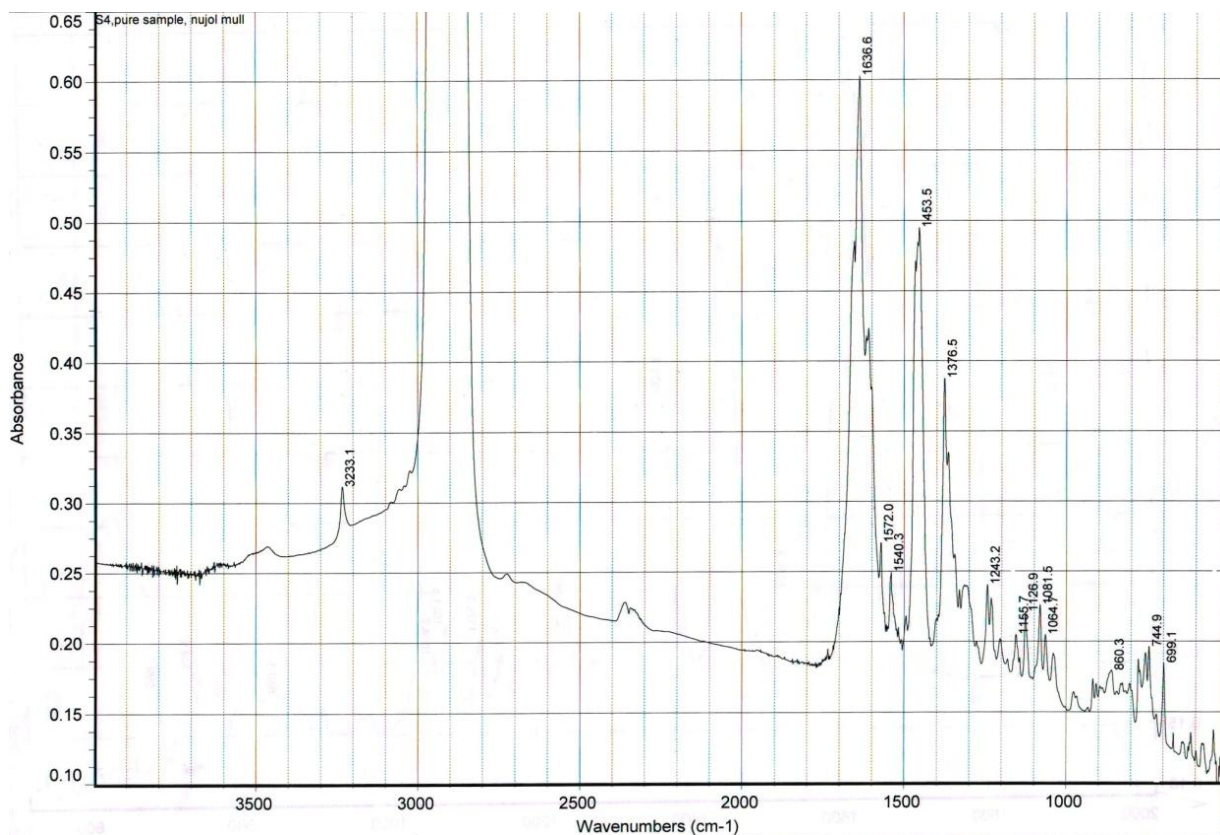
Осаждение наноразмерных плёнок ZnO при оптимальных технологических параметрах и времени осаждения $t = 5$ мин, приводит к образованию наночастиц размером от 15 до 35 нм. По-видимому, наночастицы ZnO в интервале 15...35 нм не взаимодействуют с поверхностью покрытий и композиционных плёнок с образованием цинкоксидных композиций. Наночастицы ZnO, а не наноразмерные композиции, воздействуют на животное (мышь), приводят к гибели последних.

Проведены ИК-спектроскопические исследования (NEXUS FT-IR) и рентгенографические исследования (ДРОН 2.0, $\lambda\text{CuK}\alpha$) Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден DL- β -фенил- α -аланина (S4) и его цинкоксидных композиций в виде покрытий. В структуре соединения присутствует кето-енольная таутомерия, благодаря которой образуется сопряжение с C-C=N группой. Сравнение спектров поглощения S4 и цинкоксидного композита не показывает различия в области валентных колебаний гидроксильной группы (рис. 32). Рентгенографические исследования показали значительный сдвиг межплоскостных расстояний в цинкоксидном композите Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден DL- β -фенил- α -аланина, по сравнению с исходным S4. В S4 + ZnO наблюдались характерные пики межплоскостных расстояний поликристаллического ZnO, которые несколько смещены в область больших углов, как и рефлексы межплоскостных расстояний S4, по сравнению с исходным S4. Возможно, в этом случае имеет место интерколяция ZnO в межслоевое пространство S4.

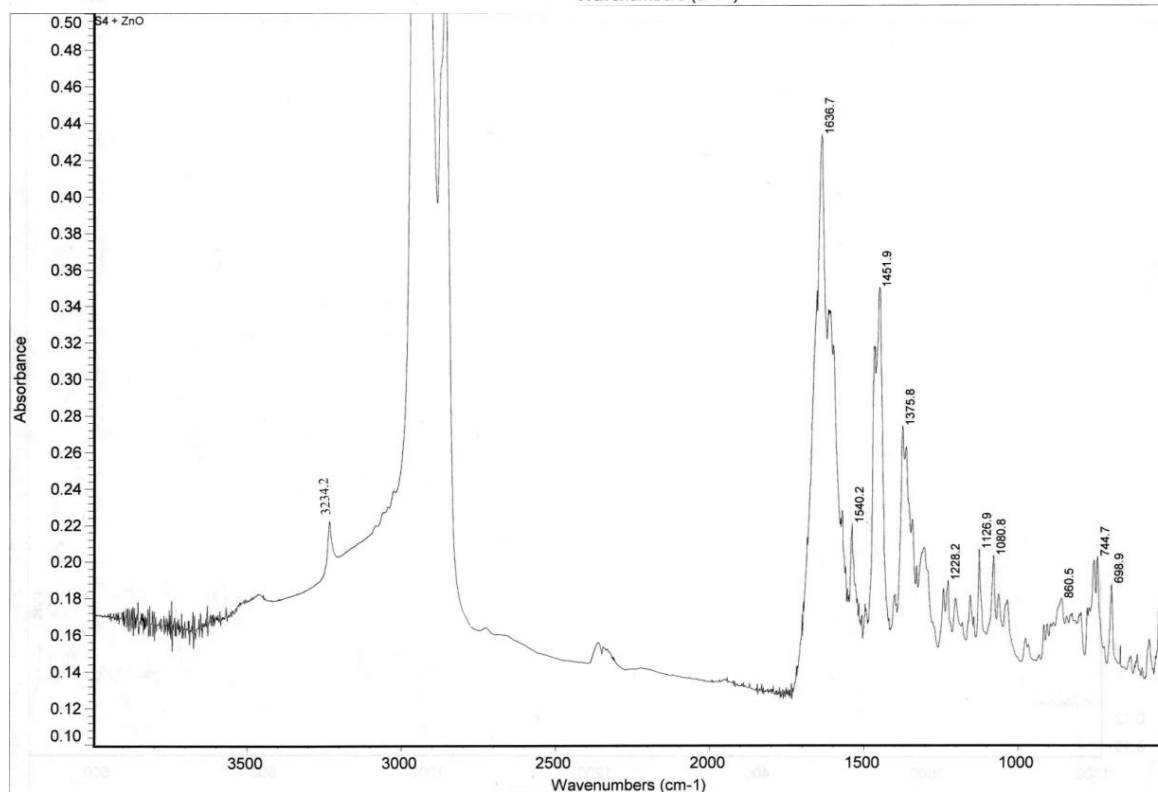
Исследованы структурные параметры S4 и его цинкоксидных композиций в виде покрытий и композиционных плёнок при оптимальных технологических параметрах и разных толщинах наноразмерных плёнок оксида цинка, осажденных на поверхность исследуемых соединений методом DC-магнетронного распыления цинковой мишени. Химиотерапевтические исследования показали, что цинкоксидные композиты обладают более высокой противоопухолевой активностью, как в форме покрытий (48%), так и композиционных плёнок (47%), по сравнению с исходным S4 при осаждении наноразмерных плёнок ZnO толщиной в интервале 195...200 нм.

Однако, цинкоксидные композиты, полученные в форме покрытий (S4 + ZnO) и композиционных плёнок с ПВС (S4 + ПВС-4 + ZnO) при осаждении наноразмерных плёнок ZnO,

толщиной 35 нм, как на поверхность покрытий, так и композиционных плёнок, обладали очень низкой противоопухолевой активностью.



а)



б)

Рис. 32. ИК-спектры: Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден DL-β-фенил-α-аланина (S4) (а) и цинкоксидного композита (S4 + ZnO) (б)

При увеличении времени осаждения тонких плёнок ZnO, $t = 10$ мин и толщине плёнки порядка 70...80 нм, наблюдалось увеличение противоопухолевой активности, как у цинкоксидных композиций в виде покрытий (30%), так и композиционных плёнок (34%). Показано, что при осаждении наноплёнок ZnO при оптимальных технологических параметрах и времени осаждения $t = 5$ мин образуются наночастицы размером от 45 до 50 нм. По-видимому, в этом случае, нет взаимодействия ZnO с поверхностью покрытий и композиционных плёнок. Однако воздействию наночастиц в интервале 45...50 нм на животное (мышь) не приводит к гибели последних, как наблюдалось в случае Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден DL-тирозина (S2).

Рентгеноструктурное исследование и ИК-спектроскопические исследования Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден ω -аминокапроновой кислоты (S6) (рис. 33, 34) показали, что в комплексообразовании с медью принимают участие неподелённая электронная пара азота (C=N) и гидроксильная группа салицилиденового фрагмента.

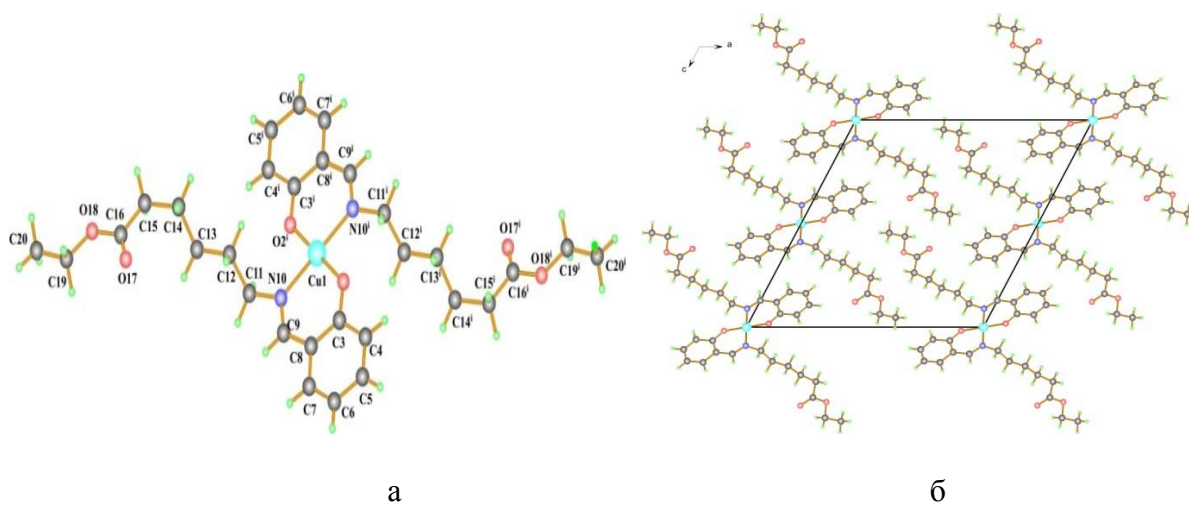


Рис. 33. Молекулярная структура (а) и кристаллическая упаковка в плоскости ac (б) Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден ω -аминокапроновой кислоты

Сравнение спектров поглощения S6 и его цинкоксидного композита не показывает различия в их спектрах. Возможно, ZnO связан с хелатным комплексом Ван-дер-Ваальсовой связью. Увеличение противоопухолевой активности цинкоксидных композиций S6, по сравнению с исходным S6 можно связать как с множественностью слабых Ван-дер-Ваальсовых контактов ZnO с хелатным комплексом, так и синергитическим вкладом ZnO.

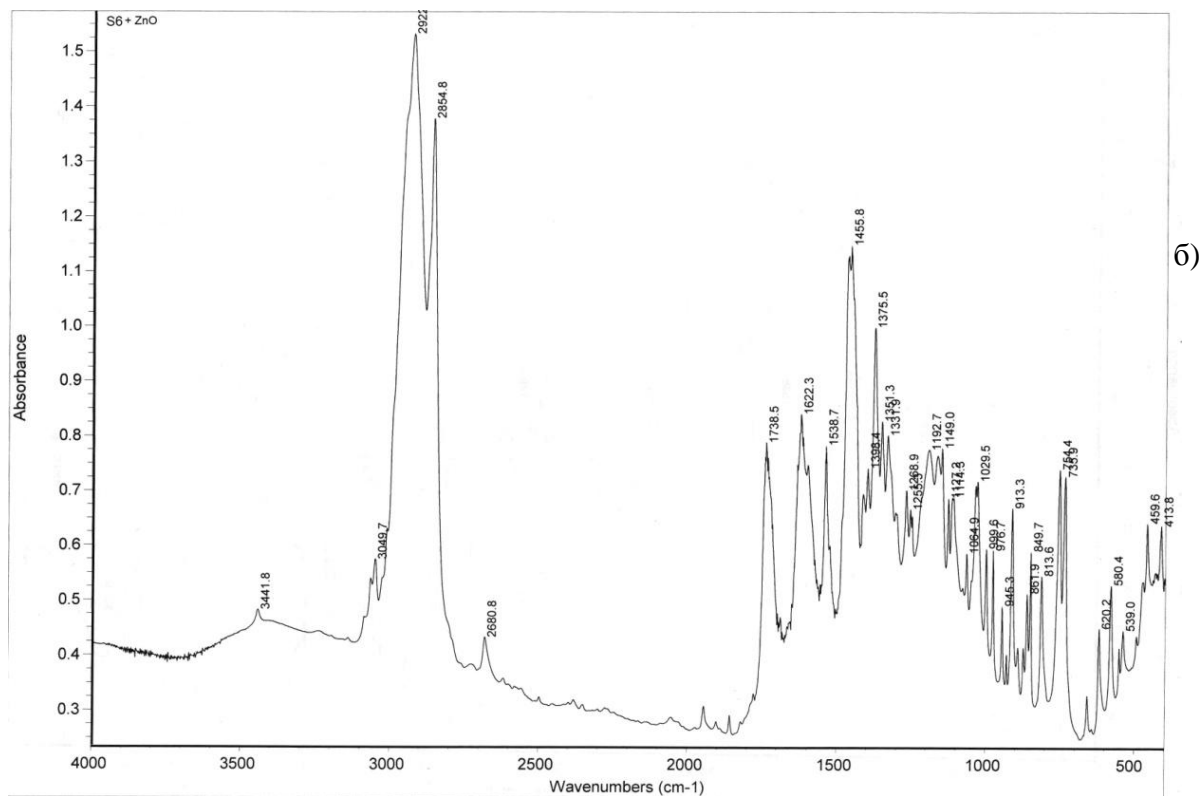
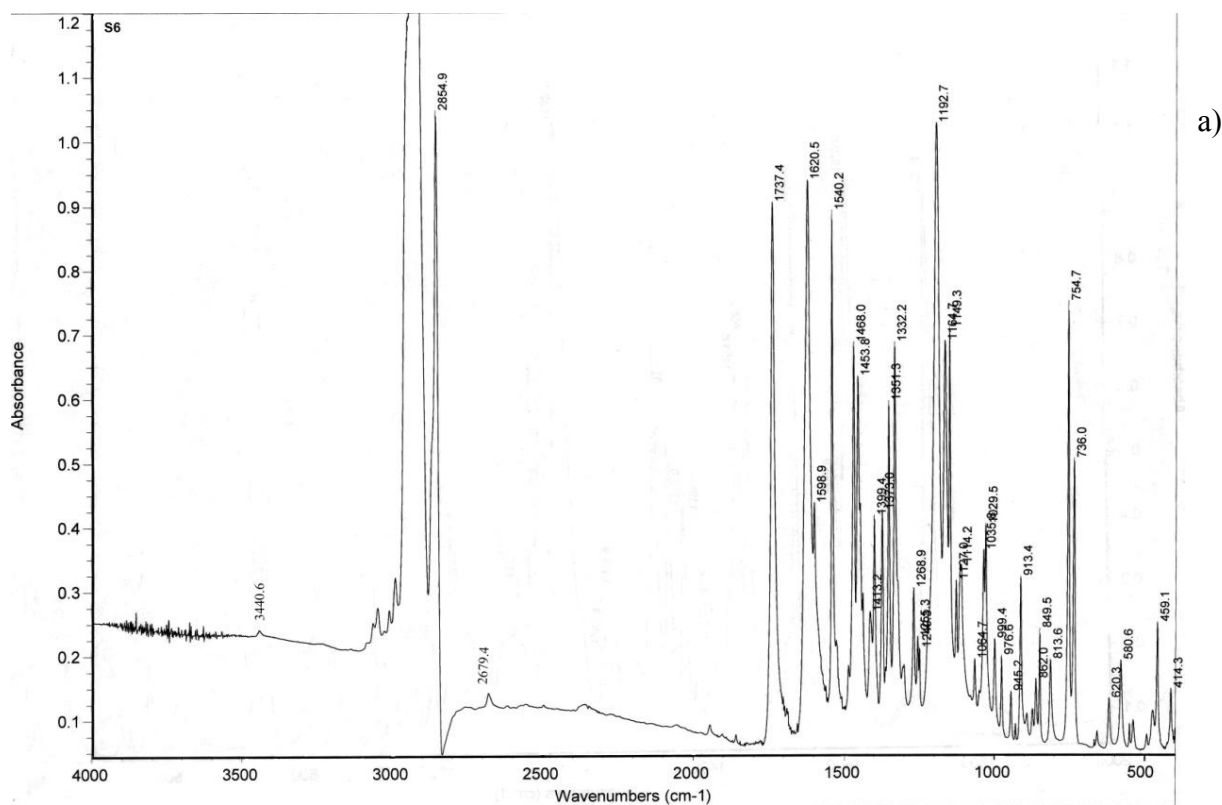


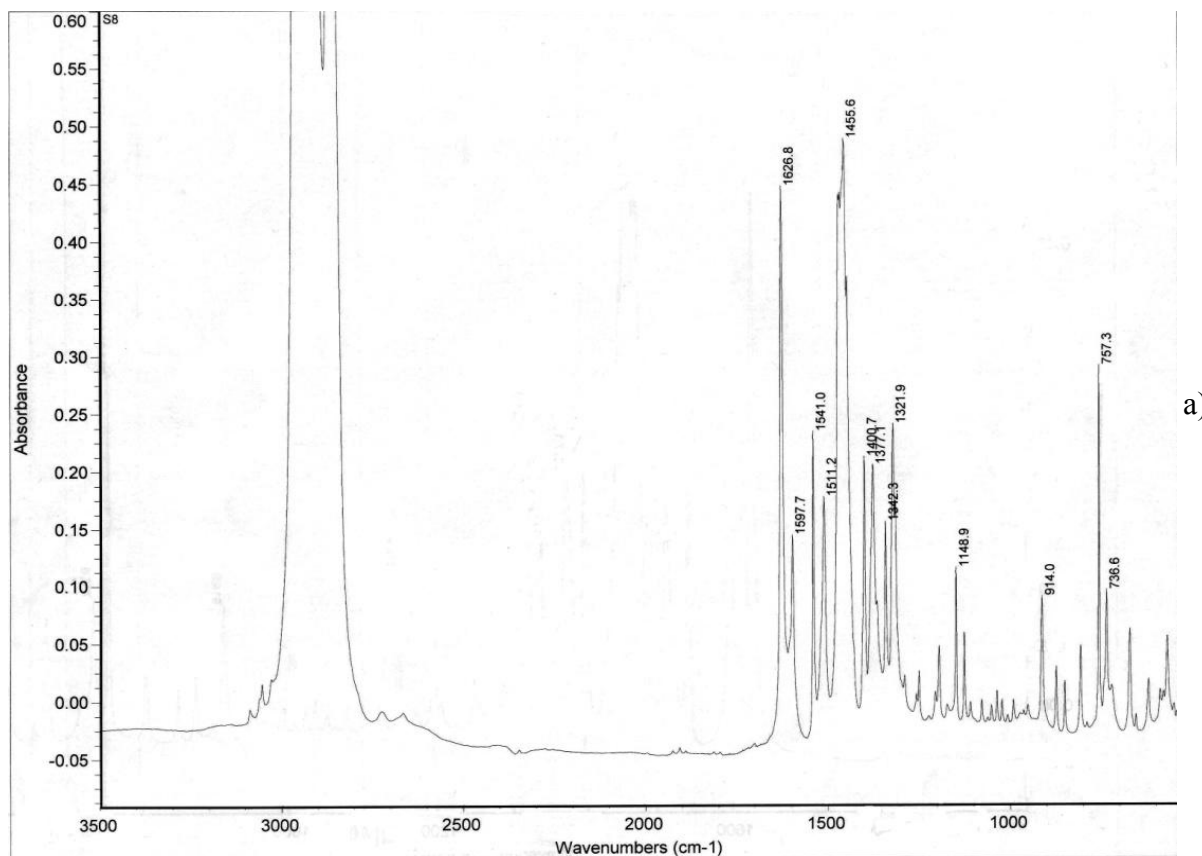
Рис. 34. ИК-спектры: Cu (II) хелата этилового эфира салицилиден- ω -аминокапроновой кислоты (S6) (а) и цинкоксидного композита (S6 + ZnO) (б)

В S8 полоса карбонильного кислорода $\nu_{C=O}$ сдвинута с 1669 см^{-1} и проявляется при 1626 см^{-1} , таким образом, карбонильная группа принимает участие в комплексообразовании

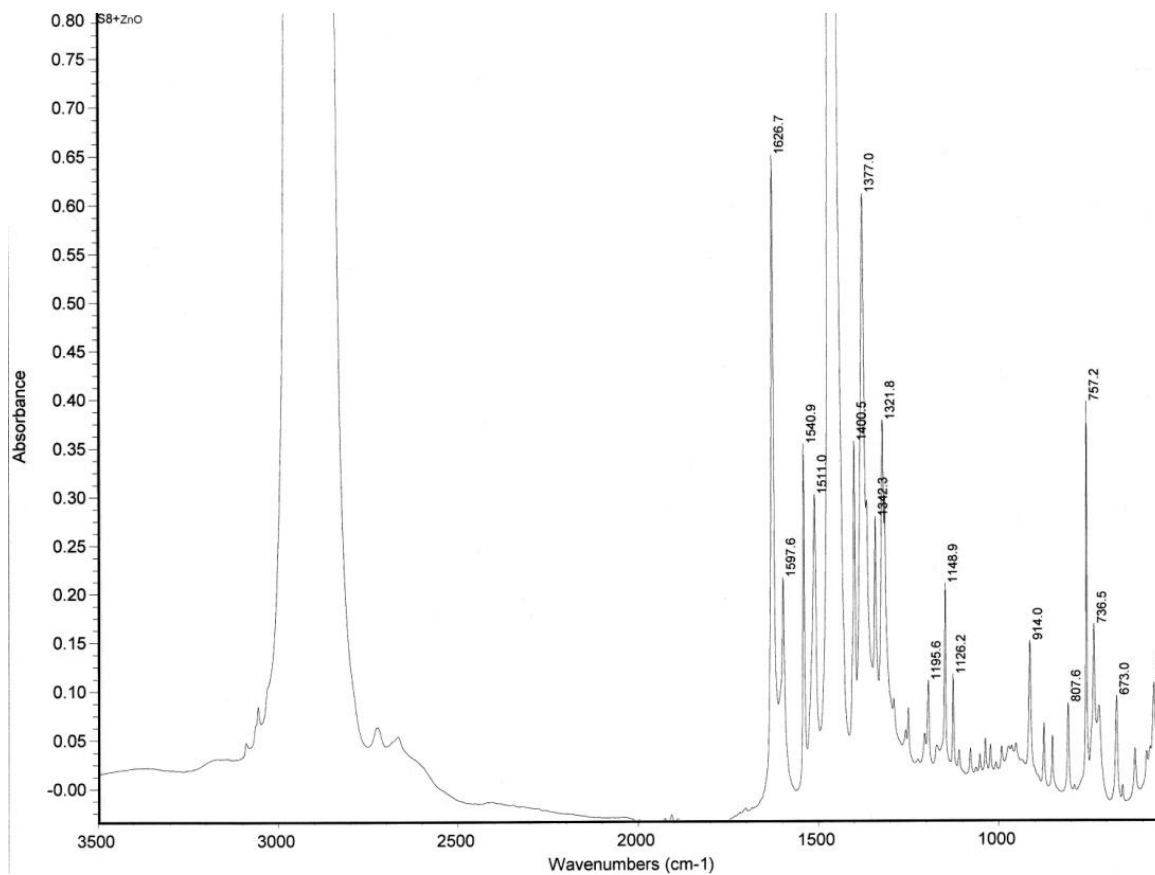
с медью (рис. 35). Спектр поглощения C=N сдвинут в сторону ароматических колец. По-видимому, хелатный комплекс образован взаимодействием меди с COOH, C=N и OH ароматического кольца. Сравнение спектров поглощения S8 и его цинкоксидного композита не показывает различия в их спектрах. Возможно, как и в цинкоксидных композитах S6, ZnO связан с хелатным комплексом S8 Ван-дер-Ваальсовой связью. Увеличение противоопухолевой активности цинкоксидных композиций S8, по сравнению с исходным S8, можно также как и в случае с S6 связать с множественностью слабых Ван-дер-Ваальсовых контактов ZnO с хелатным комплексом S8, так и синергетическим вкладом ZnO.

При смешении S2 - S8 с раствором ПВС происходит взаимодействие функциональных групп (ФГ) ПВС с ФГ хелатов, причем эти взаимодействия могут быть как химические (на это указывает потеря растворимости в воде некоторых комбинированных пленок), так и координационными, за счет Ван-дер-Ваальсовых сил. Такого типа взаимодействия приводят к определенному расположению молекул хелатов между молекулами ПВС по мере пленкообразования, что должно сказаться на их дальнейшей связи с ZnO, и, соответственно, высвобождении из полимерной матрицы при попадании в организм.

Увеличение противоопухолевой активности цинкоксидных композиций S6 и S8 (см. рис. 34, 35) наблюдается при толщине наноразмерной плёнки ZnO порядка 180...200 нм, как и в случае с S4, в то время как для цинкоксидных композиций S2 толщина наноразмерной плёнки ZnO составляла 140 нм для покрытий и 88 нм для композиционных плёнок. По-видимому, это можно объяснить следующим образом: в цинкоксидных композитах S2 в виде покрытий образование комплекса обеспечивается силами водородной связи между ZnO и гидроксильными группами салицилиденового фрагмента, в то время как в цинкоксидных композитах в виде композиционных плёнок ZnO образует связь не только с S2, а также с функциональными группами полимеров. Возможно, поэтому оптимальная толщина наноразмерной плёнки ZnO в цинкоксидных композитах в виде покрытий составляет 130 нм, а для композиционных плёнок 88 нм, в то время как в случае S4 - S8 требуется множество контактов ZnO, обеспечиваемых Ван-дер-Ваальсовыми связями с исходными соединениями для обеспечения стабильности комплекса.



a)



b)

Рис. 35. ИК-спектры: Cu (II) хелата салицилиден- ω -аминокапроновой кислоты (S8) (а) и цинкоксидного композита (S8 + ZnO) (б)

В цинкоксидных композитах S4 - S8 толщина наноразмерной плёнки оксида цинка составила примерно 195...200 нм. Проведены рентгенографические исследования лекарственного препарата DOX и его цинкоксидных композиций в виде покрытий на стеклянных подложках при разных толщинах наноразмерных плёнок ZnO.

Исследованы структурные параметры DOX и его цинкоксидных композиций полученные при оптимальных технологических параметрах нанесения наноразмерных плёнок оксида цинка разных толщин на поверхность исходного препарата в виде покрытий и композиционных плёнок методом DC-магнетронного распыления цинковой мишени.

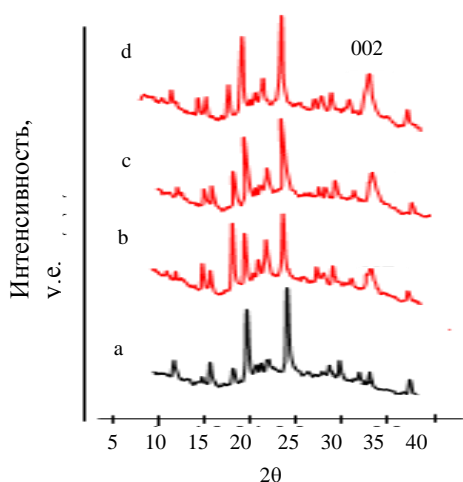


Рис. 36. Дифрактограммы образцов DOX (a) и их цинкоксидных композиций при разных толщинах плёнок ZnO: 70 нм (b), 130 нм (c), 180 нм (d)

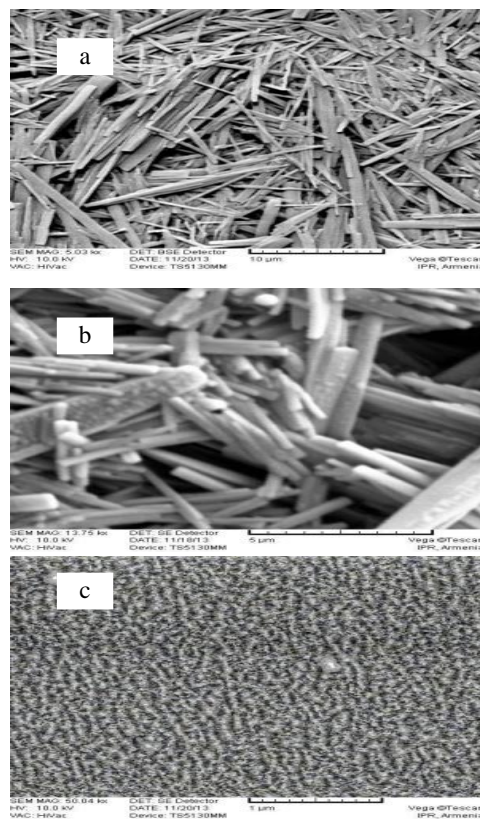


Рис. 37. СЭМ микрофотографии: а) DOX; б) DOX + ZnO; в) плёнка ZnO на стеклянной подложке

На рис. 36 представлены дифрактограммы DOX и его цинкоксидных композиций. На рис. 37 а показаны микрофотографии DOX на стеклянной подложке, DOX + ZnO (рис. 37 б) и наноразмерных пленок ZnO толщиной 180 нм на стеклянной подложке (рис. 37 в). Показано, что при оптимальных технологических параметрах их нанесения ($W = 120$ Вт, $Ar:O_2 = 3:1$; рабочее давление 10^{-3} мм рт.ст., $l = 110$ мм), наноразмерная плёнка ZnO на покрытиях цинкоксидных композиций DOX (см. рис. 37) ориентирована вдоль 002 крис-

таллографического направления. Как видно из рис. 37 а, поверхность DOX состоит из вытянутых частиц цилиндрической формы разных размеров: длиной в интервале 2...10 мкм и диаметром 0,3...0,7 мкм. Микрофотографии DOX + ZnO (рис. 37 б) представляют наноразмерные образования ZnO на частицах DOX, примерно того же размера (180 нм), что и толщина плёнки ZnO при оптимальных технологических параметрах её осаждения на поверхности стеклянной подложки.

ИК-спектроскопические исследования DOX (рис. 38 а, б) показали, что в спектрах лекарственного препарата DOX и цинкоксидных композитах DOX (DOX и DOX + ZnO) в вазелиновом масле присутствуют следующие характерные полосы поглощения: 3398, 3285 см^{-1} (валентные колебания OH), 1720, 1616 см^{-1} (C=O), 1565 см^{-1} (ароматическое кольцо), 1281, 1260, 1209, 1082, 1020 см^{-1} (деформационные колебания OH), 701, 631, 584 см^{-1} (1, 2, 3 замещённое ароматическое кольцо). Сравнение спектров поглощения DOX и DOX + ZnO показало наличие в спектре DOX + ZnO новых полос валентных и деформационных колебаний OH в областях 3325 и 1043 см^{-1} соответственно, а также полосы поглощения ZnO в области 418 см^{-1} . В UV-Vis спектре DOX, снятого в физиологическом растворе, на спектрофотометре Specord-40 в ультрафиолетовой и видимой областях, при длине волны падающего света 200...800 нм, присутствуют выраженные поглощения с максимумами 234, 255, 288 нм в УФ области и 495 нм в видимой области. В UV-Vis спектре DOX + ZnO присутствуют все вышеуказанные поглощения в УФ области, однако в видимой области спектра наблюдается сдвиг соответствующей полосы поглощения на 5...10 нм в более длинноволновую область. Сдвиг максимума поглощения на 5...10 нм в видимой области спектра цинкоксидных композитов DOX может свидетельствовать о присутствии определенных взаимодействий между ZnO и DOX в композите. Таким образом, исходя из вышеприведенных данных по исследованию ИК спектров, а также UV-Vis спектров DOX + ZnO, можно сделать заключение о наличии взаимодействия между ZnO и DOX, предположительно в виде водородной связи (рис. 38).

ИК-спектроскопические исследования цинкоксидных композиций DOX в форме композиционных плёнок с ПВС не различались от ИК спектров комбинированных плёнок ПВС (МПВС) с DOX. Исходя из этого проанализированы отдельно FTIR-спектры лекарственного

препарата DOX, цинкоксидные композиты DOX в виде покрытий на стеклянных подложках (рис. 39 а, б), плёнки ПВС (МПВС), а также цинкоксидные композиты DOX в виде композиционных плёнок.

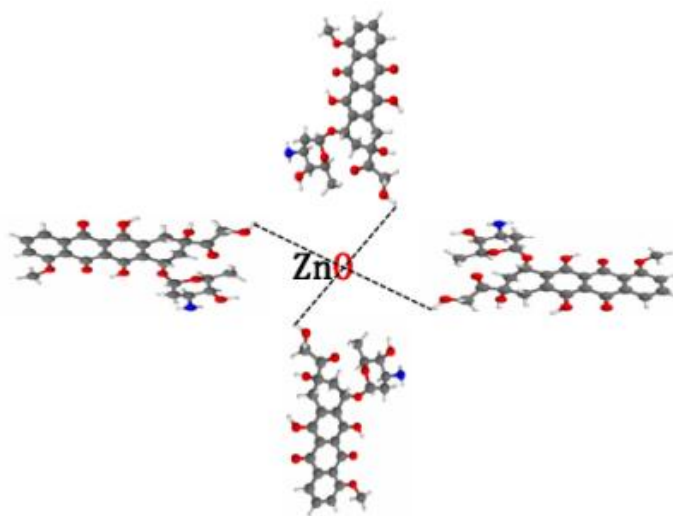
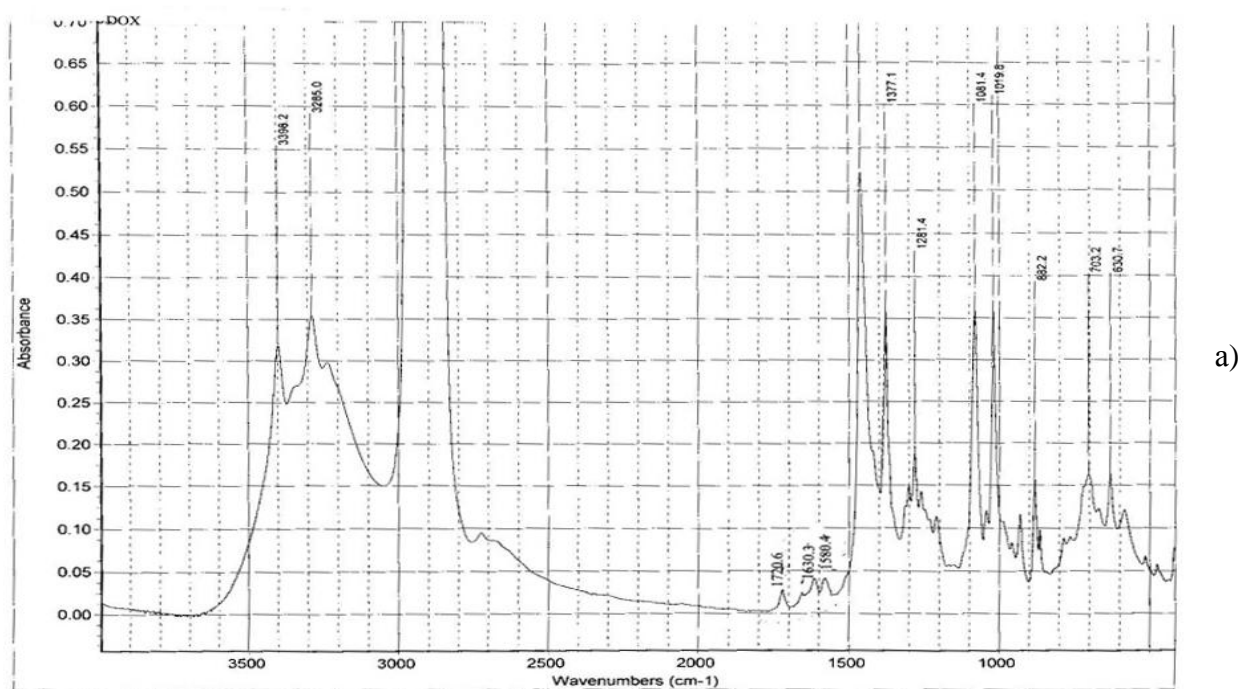


Рис. 38. Цинкоксидный композит DOX в форме водородной связи: $ZnO \dots H-O$

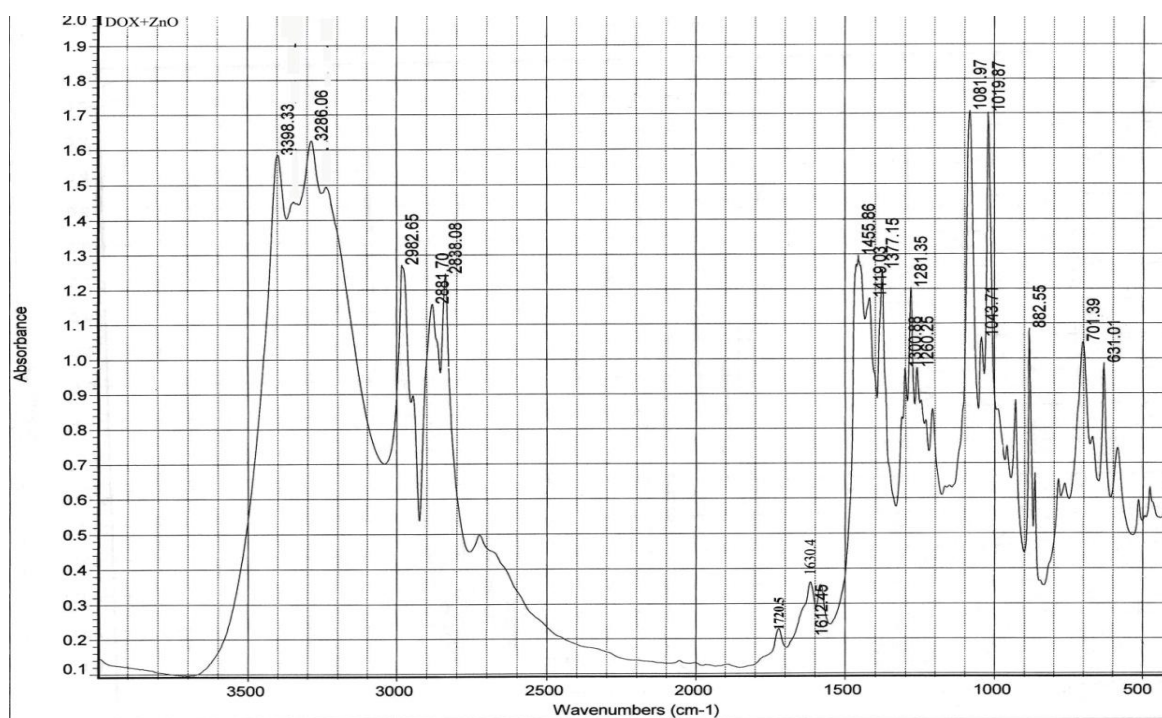
Результаты сравнительного анализа ИК-спектральных характеристик пленок ПВС до и после нанесения ZnO свидетельствуют о том, что после нанесения наноразмерных плёнок ZnO на (ПВС-1 и ПВС-5), содержащих минимальное количество ацетатных групп, в спектральных характеристиках наблюдаются значительные изменения в области $-OH$ -групп (широкая полоса при $3500 \dots 3000$ и $1084 \dots 1050 \text{ см}^{-1}$ для ПВС-1 и при $3800 \dots 3200$ и $1085 \dots 1030 \text{ см}^{-1}$ для ПВС-5). В ПВС-1 также появляется полоса ненасыщенной связи при 1655 см^{-1} и изменяется область деформационных колебаний при 1427 см^{-1} , что говорит о формировании двойной связи в результате деструкции молекулы либо протекания химических реакций.

В ПВС-5 изменяется полоса ненасыщенной связи в области 1658 см^{-1} и расширяется полоса $1750 \dots 1600 \text{ см}^{-1}$ (что относят к валентным колебаниям $C=O$, сопряженной с $C=C$). Меняются также полосы, отражающие структурные характеристики полимера ($945 \dots 606 \text{ см}^{-1}$).

Таким образом, тонкая плёнка ZnO, осажденная на пленки ПВС-1 и ПВС-5, взаимодействует с гидроксильными группами полимера, возможно, с образованием внутри- и межмолекулярных связей $O-Zn-O$ и протеканием окислительной деструкции полимерной макромолекулы по $C-C$ -связи основной цепи.



a)



б)

Рис. 39. ИК-спектры лекарственного препарата DOX (а) и цинкоксидного композита (DOX + ZnO) (б)

При взаимодействии оксида цинка с ПВС-2, для которого характерно высокое содержание ацетатных групп, имеют место значительные изменения в области карбонильных групп: появляется полоса ненасыщенной связи при 1625 см^{-1} , расширяется полоса 1732 см^{-1} , обнаруживается полоса в области $1500\text{--}1600\text{ см}^{-1}$ и 1450 см^{-1} , что относят к валентным коле-

баниям группы -COO- солей карбоновых кислот, в частности карбоксилата цинка. Можно предположить, что в этих условиях происходит отщепление сложноэфирной группы с образованием ацетата Zn и ненасыщенных связей C=C. При осаждении ZnO на пленки МПВС-13 и МПВС-14 основные изменения спектральных характеристик заметны в области ОН-групп, причем степень изменения зависит от образца МПВС: в случае МПВС-13 + ZnO наблюдаются широкие полосы при 3400...3200 см⁻¹ и 1100...1086 см⁻¹, а для МПВС-14 - при 3400...3250 см⁻¹ при отсутствии изменений в области 1093 см⁻¹.

Из сказанного очевидно, что такие значительные изменения ИК-спектров ПВС и МПВС после осаждения на них наноразмерной плёнки ZnO, которые определяются молекулярной массой и функциональным составом (со) полимеров, могли бы привести к весьма драматическим ситуациям, которые способствовали бы к существенным структурным перестройкам, деструкции полимера.

Результаты UV-Vis-спектрометрического анализа комбинированных плёнок доксорубина с ПВС-1 и ПВС-2 и их цинкоксидных композиций представлены на рис. 40.

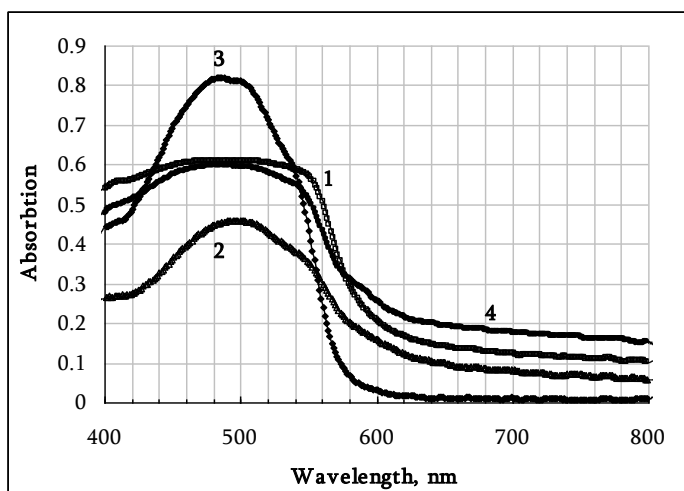


Рис. 40. Абсорбционные UV-Vis-спектры комбинированных пленок: 1 - ПВС-1 + DOX; 2 - ПВС-1 + DOX + ZnO; 3 - ПВС-2 + DOX; 4 - ПВС-2 + DOX + ZnO

Из рассмотрения кривых (см. рис. 40) следует, что цинкоксидные композиты ПВС-1 + DOX + ZnO и ПВС-2 + DOX + ZnO располагаются ниже, чем ПВС-1 + DOX и ПВС-2 + DOX. При этом у кривой поглощения ПВС-1 + DOX + ZnO формируется пик на 495,3 нм, а кривые ПВС-1 + DOX и ПВС-2 + DOX + ZnO очень сходны между собой и по форме, и по высоте. Можно предположить, что нанесение тонкой плёнки ZnO на комбинированные плён-

ки ПВС + DOX снимает эффект ацетатных групп препятствующих связыванию DOX с полимером, число которых в ПВС-2 значительно выше чем в ПВС-1.

Таким образом, осаждение наноразмерной плёнки ZnO на комбинированные плёнки DOX + ПВС-2 способствует усилению взаимодействия DOX с полимерами. Однако, рассмотрение взаимодействия отдельных компонент ПВС + ZnO и DOX + ZnO столь сложной системы как цинкоксидные композиты DOX в форме комбинированных плёнок с ПВС имеет смысл лишь для представления степени их взаимодействия с DOX для активного, векторного транспорта последнего в опухолевую ткань.

*Как было отмечено выше, ИК спектры цинкоксидных композиций DOX с ПВС не различались от ИК спектров комбинированных плёнок ПВС с DOX, несмотря на то, что значительные изменения наблюдались при взаимодействии отдельных компонентов: DOX + ZnO и ПВС + ZnO. Результаты исследований свидетельствуют о существенном конкурентном взаимодействии ZnO с ПВС и ZnO с DOX, что в конечном итоге, по-видимому, и определяет направленный, векторный характер транспорта цинкоксидных композиций DOX в опухолевую ткань, как показали *in vivo* исследования на цинкоксидных композитах DOX в виде покрытий на стекле и в виде композиционных плёнок с ПВС.*

Плазма источник ультрафиолетового излучения и обработка Zn мишени в плазме аналогична обработке в ультрафиолете. При облучении ультрафиолетом цинковой мишени, как известно, генерируются электронно-дырочные пары и при взаимодействии электронов с решёточными ионами цинка образуются Zn⁺ дефектные места. Генерация электронно-дырочных пар в плазме при осаждении наноразмерных плёнок ZnO на поверхности S2 - S8, DOX и S2 - S8 + ПВС, DOX + ПВС может вызвать на границе раздела ZnO- противоопухолевое соединение или препарат образование-комплекс с переносом заряда. По-видимому, ZnO выступает в роли вектора для доставки противоопухолевых соединений и препарата в опухолевую клетку, чем и объясняется увеличение противоопухолевой активности и снижение токсичности цинкоксидных композиций хелатов салицилиден аминокислот и противоопухолевого препарата DOX.

Таким образом, увеличение противоопухолевой активности и снижения токсичности цинкоксидных композиций DOX связано с выбором оптимальных технологических пара-

метров DC-магнетронного процесса осаждения, в частности, толщины пленки ZnO на поверхности DOX (см. табл. 3, 11), что в свою очередь приводит к образованию комплекса противоопухолевого препарата с оксидом цинка. На примере DOX показано, что имеет место векторный транспорт цинкоксидных композиций противоопухолевых препаратов в опухолевую ткань, опухолевую клетку, который обеспечивается без применения специфической адресации и без эффекта магнитных полей, так как в качестве вектора выступает сам ZnO.

ВЫВОДЫ

1. Разработана технология получения цинкоксидных композитов хелатов салицилиден аминокислот S2 - S8 и противоопухолевого препарата DOX с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью.

2. Цинкоксидные композиты получены методом DC-магнетронного нанесения наноразмерных плёнок оксида цинка на поверхности S2 - S8, DOX в виде покрытий и композиционных плёнок при оптимальных технологических параметрах осаждения в интервале температур $-30^{\circ}\text{C} \leq T \leq 30^{\circ}\text{C}$, при рабочем давлении 10^{-3} мм рт. ст, когда отсутствуют нежелательные побочные превращения соединений и препарата.

3. Модификация поверхности S2 - S8 и DOX, осаждением наноразмерной плёнки оксида цинка оптимальной толщины на их поверхности, в виде покрытий с оптимальными площадями и оптимальных соотношений компонентов композиционной плёнки с соединениями и препаратом, приводит к образованию цинкоксидных композиций со значительно большей противоопухолевой активностью и низкой токсичностью, по сравнению с исходными соединениями и препаратом.

4. Выбор оптимальных технологических параметров процесса DC-магнетронного напыления, в частности толщины наноразмерной пленки ZnO на поверхностях DOX в виде покрытий, композиционных пленок, определяет векторный характер транспорта цинкоксидных композиций DOX в опухолевую ткань, что приводит к увеличению их противоопухолевой активности и снижению токсичности, по сравнению с исходными соединениями и препаратом.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

1. Разработана технология получения противоопухолевых средств, цинкоксидных композиций медных хелатов этиловых эфиров салицилиден аминокислот S2 - S8 и препарата доксорубицин (DOX). Технология включает в себя следующие мультидисциплинарные методики: формирование покрытий и композиционных плёнок из S2 - S8, DOX; метод DC-магнетронного нанесения наноразмерных плёнок ZnO на поверхности S2 - S8, DOX; техники определения противоопухолевой активности S2 - S8, DOX, их цинкоксидных композиций на штаммах прививаемых опухолей C-180 и АКЭ.
2. Сформированы покрытия из S2 - S8, DOX с ДМСО на стеклянных подложках. Определена оптимальная площадь покрытий S2 - S8, DOX на стеклянных подложках для осаждения на этих площадях наноразмерных плёнок ZnO, с целью получения их цинкоксидных композиций с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью, по сравнению с исходными противоопухолевыми соединениями и препаратом.
3. Получены композиционные плёнки из S2 - S8 и DOX с ПВС оптимальной молекулярной массой и количеством ацетатных групп, обеспечивающих их пролонгацию в организме животных.
4. Сформированы цинкоксидные композиты S2 - S8, DOX методом DC-магнетронного нанесения наноразмерных плёнок ZnO на поверхности исходных соединений и препарата в виде покрытий и композиционных плёнок с ПВС.
5. Установлены оптимальные технологические параметры формирования цинкоксидных композиций: рабочий ток магнетронного источника – 400 мА, соотношение газов $Ar:O_2 = 3:1$; расстояние мишень–подложка – 110 мм; температура подложки в интервале $-30^{\circ}C \leq T \leq 30^{\circ}C$.
6. Оптимальная толщина наноразмерной плёнки ZnO для цинкоксидных композиций в виде покрытий: 130...200 нм для S2 - S8 и 180 нм для DOX; для композиционных плёнок: 88...200 нм для S2 - S8 + ПВС и 100 нм для DOX + ПВС.
7. Результаты исследований противоопухолевой активности цинкоксидных композиций противоопухолевых соединений S2 - S8, на модели C-180 показали существенное

усиление их активности в виде покрытий: S2+ZnO (48%), S4+ZnO (47%), S6+ZnO (43%), S8+ZnO (44%) и композиционных плёнок с ПВС: S2+ПВС+ZnO (47%), S4+ПВС+ZnO (47%), S6+ПВС+ZnO (42%), S8+ПВС+ZnO (44%), по сравнению с S2 (22%), S4 (20%), S6 (20%), S8 (32%).

8. Увеличение противоопухолевой активности цинкоксидных композиций DOX на модели С-180 наблюдалось при дозах значительно более низких (0,03 мг/мышь (44%); 0,04 мг/мышь (50%); 0,05 мг/мышь (54,4%)), по сравнению с DOX для терапевтической дозы 0,1 мг/мышь (32,4%) и гораздо более высокой (в 2 и более раза), по сравнению с DOX в тех же дозах (19; 20; 22,7%).
9. Результаты исследований цинкоксидных композиций DOX в виде покрытий и композиционных плёнок с ПВС на модели АКЭ в дозе 0,05 и 0,06 мг/мышь показали значительное увеличение противоопухолевой активности: 290 и 332% для покрытий, 304 и 390% для композиционных плёнок, по сравнению с DOX при терапевтической дозе 0,1 мг/мышь, 170%, и большее увеличение (в два раза), по сравнению с DOX в тех же дозах (150 и 165%).
10. Осуществлена модификация соединений ряда салицилиден аминокислот и противоопухолевого препарата DOX, формированием их цинкоксидных композиций. Изучено влияние площади модифицируемой поверхности, толщины осаждённой на неё наноразмерной плёнки оксида цинка на противоопухолевую активность и токсичность полученных композиций. Получены эффективные противоопухолевые цинкоксидные композиты, проявляющие более высокую (в 2 и более раза) противоопухолевую активность и низкую токсичность, по сравнению с исходными соединениями и препаратом.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nel A., Xia T., Madler L., Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel // *Science*. Thorough review of experimental toxicological effects from nanoparticle-treated assays including ZnO nanoparticles.- 2006.- 311.- P. 622–627.
2. Portney N.G., Ozkan M. Nano-oncology: drug delivery, imaging, and sensing // *Anal Bioanal Chem*.- 2006.- 384.- P. 620–630.
3. Rawat M., Singh D., Saraf S., Saraf S. Nanocarriers: promising vehicle for bioactive drugs // *Biol Pharm Bull*.- 2006.- 29.- P. 1790–1798.
4. Gupt S., Agrawal M., Uhlmann P., Simon F. et al. Gold Nanoparticles Immobilized on Responsive Polymer Brushes as Nanosensors // *Macromolecules*.- 2008.- 41 (21).- P. 8152–8158.
5. Fraikin J.L., Teesalu T.M., McKenney C.M., Ruoslahti E. & Andrew Cleland N. A high-throughput label-free nanoparticle analyser // *Nature Nanotechnology*.- 2011.- 6.- P. 308-313.
6. Cho K., Wang X., Nie S. et al. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer // *Clin Cancer Res*.- 2008.- 14.- P. 1310–1316.
7. Li S.D., Huang L. Pharmacokinetics and biodistribution of nanoparticles // *Mol Pharm*.- 2008.- 5.- P. 496–504.
8. Ohgaki M., Kizuki T., Katsura M., Yamashita K. Manipulation of selective cell adhesion and growth by surface charges of electrically polarized hydroxyapatite // *J Biomed Mater Res*.- 2001. - 57.- P. 366–373.
9. Xu P., Van Kirk E.A., Zhan Y. et al. Targeted charge-reversal nanoparticles for nuclear drug delivery // *Angew Chem Int Ed Engl*.- 2007.- 46.- P. 4999–5002.
10. Abdelbary M.A. Elhissi, Waqar Ahmed, Israr U.I. Hassan, Vinod. R. Dhanak and Antony D'Emanuele. Carbon Nanotubes in Cancer Therapy and Drug Delivery // *Journal of Drug Delivery*.- 2012.- P. 1-10.
11. Liu Z., Chen K., Davis C. et al. Drug delivery with carbon nanotubes for in vivo cancer treatment // *Cancer Research*.- 2008.- 68 (16).- P. 6652–6660.
12. Hagens W.I., Oomen A.G., de Jong W.H. et al. What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body // *Regul Toxicol Pharmacol*.- 2007.- 49.- P. 217–229.

13. Takenaka S., Karg E., Roth C. et al. Pulmonary and systemic distribution of inhaled ultrafine silver particles in rats // *Environ Health Perspect.*- 2001.- 109 (Suppl 4).- P. 547–551.
14. Wang B., Feng W., Wang M. et al. Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice // *J Nanopart Res.*- 2008.- 10.- P. 263–276.
15. Sayes C.M., Reed K.L., Warheit D.B. Assessing toxicity of fine and nanoparticles: comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles // *Toxicol Sci.*- 2007.- 97.- P. 163–180.
16. Nohynek G.J., Dufour E.K., Roberts M.S. Nanotechnology, cosmetics and the skin: is there a health risk // *Skin Pharmacol Physiol.*- 2008.- 21.- P. 136–149.
17. Zvyagin A.V., Zhao X., Gierden A. et al. Imaging of zinc oxide nanoparticle penetration in human skin in vitro and in vivo // *J Biomed Opt.*- 2008.- 13.- P. 064031–064038.
18. Moghimi S.M., Szebeni J. Stealth liposomes and long circulating nanoparticles: critical issues in pharmacokinetics, opsonization and protein-binding properties // *Prog. Lipid Res.*- 2003.- 42.- P. 463.
19. Laverman P., Carstens M.G., Storm G., Moghimi S.M. Recognition and clearance of methoxypoly (ethyleneglycol) 2000-grafted liposomes by macrophages with enhanced phagocytic capacity. Implications in experimental and clinical oncology // *BiochimBiophysActa.*- 2001.- 1526.- P. 227–229.
20. Gref R., Minamitake Y., Peracchia M.T. et al. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres // *Science.*- 1994.- 263.- P. 1600–1603.
21. Cinteza L.O. Quantum dots with biomedical applications: advances and challenges // *J. Nanophoton.*- 2010.- 4.- P. 042503.
22. Блынская Е.В., Алексеев К.В., Аляутдин Р.Н. Перспективы развития фармацевтической нанотехнологии // *Рос. хим. журн.*- 2010.- №6.- С. 38-44.
23. Gaur U., Sahoo S.K., De T.K. et al. Biodistribution of fluoresceinated dextran using novel nanoparticles evading reticuloendothelial system // *Int J Pharm.*- 2000.- 202.- P. 1–10.
24. Dong-Hwan Kim, Ubongvan Termsarasab, Hyun-Jong Cho, In-Soo Yoon, et al. Preparation and characterization of self-assembled nanoparticles based on low-molecular-weight heparin and

- stearylamine conjugates for controlled delivery of docetaxel. *International Journal of Nanomedicine*.- 2014.- 9 (1).- P. 5711-5727.
25. Kim J.H., Kim Y.S., Kim S. et al. Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles as carriers for paclitaxel // *J Control Release*.- 2006.- 111 (1–2).- P. 228–234.
 26. Dinarvand R., Sepehri N., Manoochehri S., Rouhani H., Atyabi F. Polylactide-co-glycolide nanoparticles for controlled delivery of anticancer agent's // *International journal of nanomedicine*. Dove Medical Press.- 2011.- 6.- P. 877 – 895.
 27. Mattheolabakis G., Taoufik E., Haralambous S., Roberts M.L., Avgoustakis K. In vivo investigation of tolerance and antitumor activity of cisplatin-loaded PLGA-mPEG nanoparticles // *Eur J Pharm Biopharm*.- 2009.- 71 (2).- P. 190–195.
 28. Gryparis E.C., HatziaPOSTOLOU M., Papadimitriou E., Avgoustakis K. Anticancer activity of cisplatin-PLGA-mPEG nanoparticles on LNCaP prostate cancer cells // *Eur J Pharm Biopharm*.- 2007.- 67 (1).- P. 1–8.
 29. Mukerjee A., Vishwanatha J.K. Characterization and evaluation of curcumin-loaded PLGA nanospheres for cancer therapy // *Anticancer Res*.- 2009.- 29 (10).- P. 3867–3875.
 30. Yallapu M., Gupta B., Jaggi M., Chauhan S. Fabrication of curcumin encapsulated PLGA nanoparticles for improved therapeutic effects in metastatic cancer cells // *J Colloid Interface Sci*.- 2010.- 351 (1).- P. 19–29.
 31. Chan J.M., Valencia P.M., Zhang L., Langer R., Farokhzad O.C. Polymeric nanoparticles for drug delivery // *Methods Mol Biol*.- 2010.- 624.- P. 163-175.
 32. Haxton K.J., Burt H.M. Polymeric drug delivery of platinum-based anticancer agents // *Journal of Pharmaceutical Sciences*.- 2009.- 98 (7).- P. 2299–2316.
 33. Radhika P.R., Sasikanth K. and Sivakumar T. Nanocapsules: A new approach for drug delivery // *Int J Pharma Sci Res*.- 2011.- 2 (6).- P. 1426-1429.
 34. Wong H.L., Rauth A.M., Bendayan R., Wu X.Y. In vivo evaluation of a new polymer-lipid hybrid nanoparticle (PLN) formulation of doxorubicin in a murine solid tumor model // *Eur J Pharm Biopharm*.- 2007.- 65.- P. 300–308.
 35. Алексеев К.В., Грицкова И.А., Кедик С.А. Полимеры для фармацевтической технологии // учебное пособие / М.: Институт фармац. технологий.- 2011.– 511 С.

36. Alai M., Lin W.J. Novel lansoprazole-loaded nanoparticles for the treatment of gastric acid secretion-related ulcers: in vitro and in vivo pharmacokinetic pharmacodynamic evaluation // AAPS J.- 2014.- Vol. 16 (3).- P. 361-372.
37. Патент 2396945 РФ, МПК А61К9/51. Способ получения поли-D,L-лактид-со-гликолидных наночастиц с инкапсулированием в них противотуберкулезными лекарственными средствами / Кхуллер Гопал Кришан, Пандей Раджеш, Шарма Садхна, Верма Джитендра Натх (IN).- № 2007141620/15; заявл. 20.05.2009; опубл. 20.08.2010.
38. Кузнецова И.Г., Северин С.Е. Использование сополимера молочной и гликолевой кислот для получения наноразмерных лекарственных форм // Разработка и регистрация лекарственных средств.- 2013.- №5.- С. 30-38.
39. Полимеры для систем замедленной доставки лекарственных веществ (обзор). Полимеры и сополимеры молочной и гликолевой кислот / С. А. Кедик Е. С. Жаворонок, И. П. Седишев и др. // Разработка и регистрация лекарственных средств.- 2013.- №2 (3).- С. 18-35.
40. Odds F.C., Oris M., Van Dorsselaer P. Activities of an intravenous formulation of itraconazole in experimental disseminated Aspergillus, Candida, and Cryptococcus infections // Anti-microb Agents Chemother.- 2000.- Vol. 44 (11).- P. 3180–3183.
41. Husmann M., Schenderlein S., Lück M. et al. Polymer erosion in PLGA microparticles produced by phase separation method // Int. J. Pharm.- 2002.--Vol. 2.- P. 277-280.
42. Седуш Н.Г. Кинетика полимеризации лактида и гликолида, свойства и биомедицинские применения полученных полимеров // автореф. дис. канд. физ.-мат. наук.– Москва.- 2015.- 26 С.
43. Бондарь О.В. Исследование цитотоксической активности и взаимодействия с компонентами клеточных мембран конъюгатов амфифильных полимеров с янтарной кислотой // автореф. дис. канд. биолог. наук.- Казань.- 2013.- 25 С.
44. Avgoustakis K. Pegylated poly (lactide) and poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles: preparation, properties and possible application in drug delivery // Curr. Drug Deliv.- 2004.- Vol. 1.- P. 321-330.
45. Jalil, R., Nixon J.R. Biodegradable poly (lactic acid) and poly (lactide-co-glycolide) microcap-

- sules: problems associated with preparative techniques and release properties // *Microencapsulation. J.*- 1990.- Vol. 7.- P. 297-325.
46. Rudzinski D., Soppimat K. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices // *J. Controlled Release.*- 2001.- Vol. 70.- P. 1-20.
 47. Quintiliani R., Owens Jr.E. Grant Clinical role of fluoroquinolones in patients with respiratory tract infections // *Infect Dis ClinPract.*- 1999.- Vol. 8.- P. 28-41.
 48. Qiu S.,Wei Q., Lianget Z.Biodegradable polylactide microspheres enhance specific immune response induced by Hepatitis B surface antigen // *Hum VaccinImmunother.*- 2014.- Vol. 10 (8).- P. 2350-2356.
 49. Bodmeier R., Meginity J.W. Solvent selection in the preparation of poly (D,L- lactide) microspheres prepared by the solvent evaporation method // *Int. J. Pharm.*- 1998.- Vol. 43.- P. 179-186.
 50. Aso Y., Yoshioka S., Po A.L.W.et al. Effect of temperature on mechanisms of drug-release and matrix degradation of poly (D,L-lactide) microspheres // *J. Controlled Release.*- 1994.- Vol. 31.- 3339 P.
 51. Kissel T. Syntesis, characteristics and in vitro degradation of star-block copolymers consisting of L-lactide, glycolide and branched multi-arm poly (ethylene oxide) // *Polymer.*- 1998.- Vol. 39.- P. 4421-4427.
 52. Almajhdi F.N., Fouad H., Khalil K.A. In-vitro anticancer and antimicrobial activities of PLGA/silver nanofiber composites prepared by electrospinning // *Mater Sci Mater Med. J.*- 2014.- Vol. 25 (4).- P. 1045-1053.
 53. Климова О.В. Разработка новой наносомальной лекарственной формы ломефлоксацина на основе биodeградируемых полимеров // Автореф. дис. канд. фармац. наук.- М.- 2011.- 23 С.
 54. Минько Н.И., Нарцев В.М. Методы получения и свойства нанообъектов // Белгород: БГТУ.- 2007.- 104 С.
 55. Mattheolabakis G., Taoufik E., Haralambous S., Roberts M.L., Avgoustakis K. In vivo investigation oftolerance and antitumor activity of cisplatin-loaded PLGA-mPEG nanoparticles. *Eur J Pharm Biopharm.*- 2009.- 71 (2).- P. 190–195.

56. Gryparis E.C., Hatziapostolou M., Papadimitriou E., Avgoustakis K. Anticancer activity of cisplatin-PLGA-mPEG nanoparticles on LNCaP prostate cancer cells // *Eur J Pharm Biopharm.*- 2007.- 67 (1).- P. 1–8.
57. Mukerjee A., Vishwanatha J.K. Characterization and evaluation of curcumin-loaded PLGA nanospheres for cancer therapy // *Anticancer Res.*- 2009.- 29 (10).- P. 3867–3875.
58. Yallapu M., Gupta B., Jaggi M., Chauhan S. Fabrication of curcumin encapsulated PLGA nanoparticles for improved therapeutic effects in metastatic cancer cells // *J Colloid Interface Sci.*- 2010.- 351 (1).- P. 19–29.
59. Елецкий А.В. Углеродные нанотрубки // *Успехи физических наук.*- 1997.- 167 (9).- С. 952–957.
60. Huhtala M., Kuronen A., Kaski K. Carbon nanotube structures: Molecular dynamics simulation at realistic limit // *Computer Physics Communications.*- 2002.- 146 (1).- P. 30–37.
61. Zheng L.X. et al. Ultralong Single-Wall Carbon Nanotubes // *Nature Materials.*- 2004.- 3.- P. 673–676.
62. Mintmire J.W., Dunlap B.I., White C.T. "Are Fullerene Tubules Metallic" // *Phys. Rev. Lett.*- 1992.- 68 (5).- P. 631–634.
63. Martel R., Derycke V., Lavoie C., Appenzeller J. et al. "Ambipolar Electrical Transport in Semiconducting Single-Wall Carbon Nanotubes" // *Phys. Rev. Lett.*- 2001.- 87 (25).- P. 256805–1–256805–4.
64. Wang X., LiQunqing, Xie Jing, JinZhong et al. "Fabrication of Ultralong and Electrically Uniform Single-Walled Carbon Nanotubes on Clean Substrates" // *Nano Letters.*- 2009.- 9 (9).- P. 3137–3141.
65. Yu Kehan, Ganhua Lu, Zheng Bo, Shun Mao, Junhong Chen. "Carbon Nanotube with Chemically Bonded Graphene Leaves for Electronic and Optoelectronic Applications" // *J. Phys. Chem. Lett.*- 2011.- 132 (13).- P. 1556–1562.
66. Flahaut E., Bacs Revathi, Peigney Alain, Laurent Christophe. "Gram-Scale CCVD Synthesis of Double-Walled Carbon Nanotubes" // *Chemical Communications.*- 2003.- 12 (12).- P. 1442–1443.
67. Cumings J., Zettl A. "Low-Friction Nanoscale Linear Bearing Realized from Multiwall Carbon

- Nanotubes" // Science.- 2000.- 289 (5479).- P. 602–604.
68. Liu L., Guo G., Jayanthi C., Wu S. "Colossal Paramagnetic Moments in Metallic Carbon Nanotubes" // Phys. Rev. Lett.- 2002.- 88 (21).- 217206 P.
 69. Parafilo A.V., Krive I.V., Bogachek E.N., Landman U. et al. Chiral effects in normal and superconducting carbon nanotube-based nanostructures // FizikaNizrikhTemperatur.- 2010.- Volume 36.- №10-11.- P. 1193–1203.
 70. Foldvari M, Bagonluri M. Carbon nanotubes as functional excipients for nanomedicines: II. Drug delivery and biocompatibility issues // Nanomedicine.- 2008.- Sep.- 4 (3).- P. 183–200.
 71. Zhou, M., Liu, S., Jiang, Y., Ma, H., Shi, M., Wang, Q., Zhong, W., Liao, W. and Xing, M. M. Q. Doxorubicin-Loaded Single Wall Nanotube Thermo-Sensitive Hydrogel for Gastric Cancer Chemo-Photothermal Therapy // Adv. Funct. Mater.- 2015.- 25.- P. 4730–4739.
 72. Achraf Al Faraj, Asma Sultana Shaik, Elaref Ratemi, Rabih Halwani. Combination of drug-conjugated SWCNT nanocarriers for efficient therapy of cancer stem cells in a breast cancer animal model // Journal of Controlled Release.- 2016.- 225.- P. 240-251.
 73. Feazell R.P., Nakayama-Ratchford N., Dai H., Lippard S.J. Soluble Single-Walled Carbon Nanotubes as Longboat Delivery Systems for Platinum(IV) Anticancer Drug Design // J Amer Chem Soc.- 2007.- 129.- P. 8438–8439.
 74. Liu Z., Sun X., Nakayama N., Dai H. Supramolecular Chemistry on Water-Soluble Carbon Nanotubes for Drug Loading and Delivery // ACS Nano.- 2007.- 1.- P. 50–56.
 75. Bianco A, Kostarelos K, Prato M. Applications of carbon nanotubes in drug delivery // Curr Opin Chem Bio.- 2005.- 9.- P. 674–679.
 76. Kam N.W.S., O'Connell M., Wisdom J.A., Dai H. Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction // Proc Natl AcadSci U.S.A.- 2005.- 102.- P. 11600–11605.
 77. Liu Z., Cai W., He L. et al. In vivo biodistribution and highly efficient tumour targeting of carbon nanotubes in mice // Nat.Nanotechnol.- 2007.- 2.- P. 47–52.
 78. Schipper M.L., Nakayama-Ratchford N., Davis C.R. et al. Pilot toxicology study of single-walled carbon nanotubes in a small sample of mice // Nat Nanotechnol.- 2008.- 3.- P. 216–221.
 79. Zhuang Liu, Kai Chen, Corrine Davis, Sarah Sherlock et al. Drug delivery with carbon nano-

- tubes for in vivo cancer treatment // *Cancer Res.*- 2008.- 68(16).- P. 6652 – 6660.
80. Liu Z., Davis C., Cai W., He L., Chen X., Dai H. Circulation and Long-Term Fate of Functionalized, Biocompatible Single-Walled Carbon Nanotubes in Mice Probed by Raman Spectroscopy // *Proc Natl AcadSci U S A.*- 2008.- 105.- P. 1410–1415.
 81. Cherukuri P., Gannon C.J., Leeuw T.K. et al. Mammalian pharmacokinetics of carbon nanotubes using intrinsic near-infrared fluorescence // *Proc Natl AcadSci U S A.*- 2006.- 103.- P. 18882–18886.
 82. McDevitt M.R., Chattopadhyay D., Kappel B.J. et al. Tumor targeting with antibody-functionalized, radiolabeled carbon nanotubes // *J Nucl Med.*- 2007.- 48.- P. 1180–1189.
 83. Daranciang D., Dai H. Selective Probing and Imaging of Cells with Single Walled Carbon Nanotubes as Near-Infrared Fluorescent Molecules // *Nano Lett.*- 2008.- 8.- P. 586–590.
 84. Liong M., Lu J., Kovochich M., Xia T. et al. Multifunctional inorganic nanoparticles for imaging, targeting, and drug delivery // *ACS Nano.*- May 2008.- 2 (5).- P. 889-896.
 85. Buzatu D.A., Wilkes J.G., Miller D., Darsey J.A. Nanotubes for cancer therapy and diagnostics // US Patent Application N: 20060067939.
 86. Yang H., Jing L., Bando Y., Chengchun T. et al. BN nanotubes coated with uniformly distributed Fe₃O₄ nanoparticles: novel magneto-operable nanocomposites // *J. Mater. Chem.*- 2010.- V. 20(5).- P. 1007–1011.
 87. Selvan S.T., Tan T.Y., Yi D.K. and Jana N.R. Functional and multifunctional nanoparticles for bioimaging and biosensing // *Langmuir.*- 2010.- 26 (14).- P. 11631–11641.
 88. Ciofani G., Raffa V., Menciassi A., Cuschieri A. Boron nitride nanotubes: an innovative tool for nanomedicine // *Nano Today.*- 2009.- 4.- P. 8–10.
 89. Ciofani G., Raffa V., Menciassi A. and Cuschieri A. Folate Functionalized Boron Nitride Nanotubes and their Selective Uptake by Glioblastoma Multiforme Cells: Implications for their Use as Boron Carriers in Clinical Boron Neutron Capture Therapy Nanoscale // *Research Letters.*- 2009.- 4.- P. 113-121.
 90. Ciofani G., Danti S., Genchi G.G., Alessandro D. et al. Pilot in vivo toxicological investigation of boron nitride nanotubes // *International Journal of Nanomedicine.*- 2012.- 7.- P. 19-24.

91. Amir Pakdel, Yoshio Bando, and Dmitri Golberg. Plasma-Assisted Interface Engineering of Boron Nitride Nanostructure Films // *ACS Nano*.- 2014.- 8 (10).- P. 10631–10639.
92. Md. Alim Iftekhar Rasel, Tong Li, Trung Dung Nguyen, Sanjleena Singh et al. Biophysical response of living cells to boron nitride nanoparticles: uptake mechanism and bio-mechanical characterization // *Journal of Nanoparticle Research*.- 2015.- 17.– P. 441-452.
93. Panov P., Salomon Y., Kabalka G.W., Bendel P. Uptake and washout of borocaptate sodium and borono-phenylalanine in cultured melanoma cells: a multi-nuclear NMR study // *Radiat.*- 2000.- 154.- P. 104–112.
94. Дыкман Л.А., Богатырев В.А., Щеголев С.Ю., Хлебцов Н.Г. Золотые наночастицы. Синтез, свойства, биомедицинское применение // *Наука*.- М.- 2008.- 319 С.
95. El-Sayed I.H., Huang X., El-Sayed M.A. Selective laser photo-thermal therapy of epithelial carcinoma using anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles // *Cancer Lett.*- 2006.- 239.- P. 129-135.
96. Ораевский А.А., Ораевский А.Н. О плазмонном резонансе в наночастицах эллипсоидной формы // *Квантовая электроника*.- 2002.- 32.- С. 79-82.
97. Link S., Mohamed M.B., El-Sayed M.A. Simulation of the optical absorption spectra a goldnanorods as a function of their aspect ratio and the effect of the medium dielectric constant // *J. Phys.Chem.*- 1999.- B103.- P. 3073.
98. Takahashi H., Niidome T., Nariai A., Niidome Y. et al. Photo thermal reshaping of gold nanorods prevents further cell death // *Nanotechnology*.- 2006.- 17.- P. 4431-4435.
99. Cai W. and Chen X. Nanoplatforms for targeted molecular imaging in living subjects small // *Nanoscale Platforms for Medical Research*.- 2007.- 3.- P. 1840-1854.
100. El-Sayed I., Huangand X. and El-Sayed A.M. Selective laser photo-thermal therapy of epithelial carcinoma using anti-EGFR antibody conjugated gold // *Cancer Letters*.- 2006.- 239 (1).- P. 129-135.
101. Lal S., Clare S.E. and Halas N.J. Nanoshell-enabled photothermal cancer therapy: impending clinical impact // *Acc. Chem. Res.*- 2008.- 41.- P. 1842–1851.
102. Cheng Y., Samia A.C., Meyers J.D., Panagopoulos I. et al. Highly efficient drug delivery with gold nanoparticle vectors for in vivo photodynamic therapy of cancer // *J. Am. Chem. Soc.*-

- 2008.- 130.- P. 10643–10647.
103. Bawarski W.E., Chidlowsky E., Bharali D.J. and Mousa S.A. Emerging nanopharmaceuticals // *Nanomedicine*.- 2008.- 4.- P. 273–282.
 104. Hainfeld J.F., Slatkin D.N., Dilmanian F.A. and Smilowitz H.M. Radiotherapy enhancement with gold nanoparticles // *J. Pharm. Pharmacol.*- 2008.- 60.- P. 977–985.
 105. Hamid R., Bahreyni-Toosi S., Meybodi N.T., Esmaily H. et al. Gold-gold sulphide-nanoshells as a novel intensifier for antitumor effects of radiofrequency field // *Iran J. Basic Med. Sci.*- 2014.- 17.- P. 516-521.
 106. Gibson J.D., Khanal B.P., and Zubarev E.R. Paclitaxel-functionalized gold nanoparticles // *Journal of the American Chemical Society*.- 2007.- 129 (37).- P. 11653–11661.
 107. Dhar S., Daniel W.L., Giljohann D.A., Mirkin C.A. et al. Polyvalent oligonucleotide gold nanoparticle conjugates as delivery vehicles for platinum (IV) warheads // *Journal of the American Chemical Society*.- 2009.- 131 (41).- P. 14652–14653.
 108. Brown S.D., Nativo P., Smith J.A. et al. Old nanoparticles for the improved anticancer drug delivery of the active component of oxaliplatin // *Journal of the American Chemical Society*.- 2010.- 132 (13).- P. 4678– 4684.
 109. Madhusudhanan J., Sandhya S. and Malathi S. Folate Mediated Drug Delivery using Nanoparticle // *Asian J. Pharm. Tech.*- 2013.- 3 (4).- P. 155-160.
 110. Kumar K.S. and Jaikumar V. Gold and Iron Oxide Nanoparticle-Based Ethylcellulose Nanocapsules for Cisplatin Drug Delivery Services // *Iranian J. Pharmaceutical Res.*- 2011.- 10(3).- P. 415-424.
 111. Ye S., Marston G., McLaughlan J.R., Sigle D.O. et al. Engineering gold nanotubes with controlled length and near-infrared absorption for theranostic applications // *Advanced Functional Materials*.- 2015.- 25.- P. 2117–2127.
 112. Mohamed H.A. and Willans C.E. Silver-N-heterocyclic carbene complexes as promising anticancer compounds // *Organometallic Chemistry (RSC Book)*.- 2014.- 39.- P. 26.
 113. Mohamed H.A., Lake B.R.M., Laing T., Phillips R.M. et al. Synthesis and anticancer activity of silver(I)-N-heterocyclic carbene complexes derived from the natural xanthine products caffeine, theophylline and theobromine // *Dalton Transactions*.- 2015.- 44.- P. 7563-7569.

114. Salonen J. and Lehto V.-P. Fabrication and chemical surface modification of mesoporous silicon for biomedical applications // *Chemical Engineering Journal*.- 2008.- Vol. 137.- P. 162-172.
115. Canham L.T. Silicon quantum wire array fabrication by electrochemical and chemical dissolution of wafers // *Appl. Phys. Lett.*- 1990.- Vol. 57.- №10.- P. 1046-1048.
116. Salonen J., Kaukonen A.M., Hirvonen J., Lehto. Mesoporous Silicon in drug delivery applications // *V. J. Pharm. Sci.*- 2008.-Vol. 97.- N 2.- P. 632–653.
117. Vivero-Escoto J.L., Slowing I.I., Trewyn B.G., Lin V.S. Mesoporous Silica Nanoparticles for Intracellular Controlled Drug Delivery // *Small*.- 2010.- Vol. 6.- N 18.- P. 1952–1967.
118. Haidary S.M., Corcoles E.P., Ali N.K. Nanoporous Silicon as Drug Delivery Systems for Cancer Therapies // *J. of Nanomat.*- 2012.-Vol. 2012.- P. 1–15.
119. Sanhai W.R., Sakamoto J.H., Canady R., Ferrari M. Seven challenges for nanomedicine // *Nat. Nanotechnol.*- 2008.- Vol. 3.- P. 242–244.
120. Margarita Hernandez, Gonzalo Recio, Raul J Martin-Palma, Jose V Garcia-Ramos et al. Surface enhanced fluorescence of anti-tumoral drug emodin adsorbed on silver nanoparticles and loaded on porous silicon // *Nanoscale Research Letters*.- 2012.- 7.- 364.- P. 1-7.
121. Tao S.L., Desai T.A. Microfabricated Drug Delivery Systems: From Particles to Pores. *Adv Drug Deliver. Rev.*- 2003.- Vol. 55.- P. 315–328.
122. Shang Y., Zhao W., Xu E., Tong C. et al. FTIRIS biosensor based on double layer porous silicon as a LC detector for target molecule screening from complex samples // *Biosens. Bioelectron.*- 2010.- Vol. 25.- P. 1056–1063.
123. Prestidge C.A., Barnes T.J., Lau C., Barnett C. et al. Mesoporous silicon: a platform for the delivery of therapeutics // *Expert Opin. Drug Deliv.*- 2007.- Vol. 4.- N 2.- P. 101–110.
124. Jarvis K.L., Barnes T.J., Prestidge C.A. Surface chemical modification to control molecular interactions with porous silicon // *Adv. Colloid Interfac.*- 2012.- Vol. 175.- P. 25–38.
125. Anglin E.J., Cheng L., Freeman W.R., Sailor M.J. Porous silicon in drug delivery devices and materials // *Adv. Drug Deliv. Rev.*- 2008.- Vol. 60.- P. 1266–1277.
126. Bimbo L.M., Makila E., Laaksonen T., Lehto V. et al. Drug permeation across intestinal epithelial cells using porous silicon nanoparticles // *Biomater.*- 2011.- Vol. 32.- P. 2625–2633.

127. Stewart M.P., Buriak J.M. Chemical and biological applications of porous silicon // *Technology Adv. Mater.*- 2000.- Vol. 12.- N 12.- P. 859–869.
128. Arruebo M. Drug delivery from structured porous inorganic materials // *WIREs Nanomed. Nanobiotech.*- 2012.- Vol. 4.- P. 16–30.
129. Giulia Adriani, Marco D. de Tullio, and Paolo Decuzzi. The preferential targeting of the diseased microvasculature by disk-like particles // *Biomaterials.*- 2012.- 33 (22).- P. 5504–5513.
130. Тимошенко В.Ю., Кудрявцев А.А., Осминкин Л.А., Воронцов А.С. и др. Кремниевые нанокристаллы как эффективные фотосенсибилизаторы синглетного кислорода для биомедицинских применений // *Письма в ЖЭТФ.*- 2006.- Т. 83.- Вып. 9.- С. 492–495.
131. Xiao L., Gu L., Howell S.B., Sailor M.J. Porous silicon nanoparticle photosensitizers for singlet oxygen and their phototoxicity against cancer cells // *ACS Nano.*- 2011.- Vol. 5.- N 5.- P. 3651–3659.
132. Vaccari L., Canton D., Zaffaroni N., Villa R. et al. Porous silicon as drug carrier for controlled delivery of doxorubicin anticancer agent // *Microelectron. Eng.*- 2006.- Vol. 83.- P. 1598–1601.
133. Cheng W.X., Ding A.L., Zheng X.S., Qiu P.S. et al. Optical and electrical properties of ZnO nanocrystalline textured films prepared by DC reactive magnetron sputtering // *Journal of Physics: Conference Series.*- 2009.- 152.- P. 1-7.
134. Zhiyong Fan and Jia G. Lu. Zinc Oxide Nanostructures: Synthesis and Properties // *Journal of Nanoscience and Nanotechnology.*- 2005.- 5 (10).- P. 1561–1573.
135. Zhong Lin Wang. Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications // *J. Phys.: Condens. Matter.*- 2004.- 16.- P. 829–858.
136. Kwang Soo Cho, Jung-Il Hong and Chan I. Chung. Effect of ZnO Nano Particles on Thermal Stabilization of Polymers // *Polymer Engineering and Science.*- 2004.- V. 44.- N9.- P. 1702-1706.
137. Reinhold D., Ansorge S., Grungriff K. Zinc regulates DNA synthesis and IL-2, IL-6, and IL-10 production of PWM-stimulated PBMC and normalizes the peripherocyte concentration in chronic liver disease // *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*

- (USA).- 1997.- 10/1.- P. 19-27.
138. Yogendra K., Mahadevan K.M., Sunee IN. Madhusudhana. Photocatalytic activity of synthetic ZnO composite against Coralene red F3BS dye in presence of solar light // International Journal of Environmental Science.- 2011.- 1 (5).- P. 839-846.
 139. Hua Wang, Denise Wingett, Mark H. Engelhard, Kevin Feriset al. Fluorescent dye encapsulated ZnO particles with cell-specific toxicity for potential use in biomedical applications // MaterSci: Mater Med.- 2009.- 20.- P. 11–22.
 140. Kalyani Ghule, Anil Vithal Ghule, Bo-Jung Chen and Yong-Chien Ling. Preparation and characterization of ZnO nanoparticles coated paper and its antibacterial activity study // Green Chem.- 2006.- 8.- P. 1034–1041.
 141. Guo D., Wu C., Jiang H. et al. Synergistic cytotoxic effect of different sized ZnO nanoparticles and daunorubicin against leukemia cancer cells under UV irradiation // J Photochem Photobiol B.- 2008.- 93.- P. 119–126.
 142. Jingyuan L., Dadong Xuemei G., Wang H., Jiang Wang H. et al. The photodynamic effect of different size zno nanoparticles on cancer cell proliferation in vitro // Nanoscale Res. Lett.- 2010.- vol 5.- P. 1063-1071.
 143. Nair S., Sasidharan A., Divya Rani V. et al. (). Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells // J Mater Sci Mater Med.- 2009.- 20.- P. 235–241.
 144. Hanley C., Thurber A., Hanna C. et al. The influences of cell type and ZnO nanoparticle size and immune cell cytotoxicity and cytokine induction // Nanoscale Res Lett.- 2009.- 4.- P. 1409–1420.
 145. Hanley C., Layne J., Punnoose A. et al. Preferential killing of cancer cells and activated human T cells using ZnO nanoparticles // Nanotechnology.- 2008.- 19.- P. 1-10.
 146. John W. Rasmussen, Ezequiel Martinez, Panagiota Louka, and Denise G. Wingett. Zinc Oxide Nanoparticles for Selective Destruction of Tumor Cells and Potential for Drug Delivery Applications // NIH PA.- 2010.- vol. 7 (9).- P. 1063–1067.
 147. Selvakumari D., Deepa R., Mahalakshmi V., Subhashini P. et al. Anti Cancer Activity Of Zno Nanoparticles On Mcf7 (Breast Cancer Cell) And A549 (Lung Cancer Cell) // ARPN Jour-

- nal of Engineering and Applied Sciences.- 2015.- 10 (12).- P. 5418-5421.
148. Zhang H., Chen B., Jiang H., Wang C. et al. A strategy for ZnO nanorod mediated multi-mode cancer treatment // *Biomaterials*.- 2011.- Vol. 32.- P. 1906-1914.
 149. Stella Ostrovsky, Gila Kazimirsky, Aharon Gedanken, and Chaya Brodie. Selective Cytotoxic Effect of ZnO Nanoparticles on Glioma Cells // *Nano Res*.- 2009.- 2.- P. 882-890. DOI 10.1007/s12274-009-9089-5.
 150. Lin W., Xu Y., Huang C.C. et al. Toxicity of nano- and micro-sized ZnO particles in human lung epithelial cells // *J Nanopart Res*.- 2009.- 11.- P. 25–39.
 151. Qu F., Morais P.C. Energy levels in metal oxide semiconductor quantum dots in water-based colloids // *J of Chem Physics*.- 1999.- 111.- P. 8588–8594.
 152. Qu F., Morais P.C. The pH dependence of the surface charge density in oxide-based semiconductor nanoparticles immersed in aqueous solution // *IEEE Transactions on Magnetics*.- 2001.- 37.- P. 2654–2656.
 153. Degen A., Kosec M. Effect of pH and impurities on the surface charge of zinc oxide in aqueous solution // *J European Ceramic Society*.- 2000.- 20.- P. 667– 673.
 154. Abercrombie M., Ambrose E.J. The surface properties of cancer cells: a review // *Cancer Res*.- 1962.- 22.- P. 525–548.
 155. Bockris J.O.M., Habib M.A. Are there electrochemical aspects of cancer // *J Biol Physics*.- 1982.- 10.- P. 227– 237.
 156. Papo N., Shahr M., Eisenbach L., Shai Y. A novel lytic peptide composed of DL-amino acids selectively kills cancer cells in culture and in mice // *J Biol Chem*.- 2003.- 278.- P. 21018–21023.
 157. Xia T., Kovoichich M., Brant J. et al. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm // *Nano Lett*.- 2006.- 6.- P. 1794–1807.
 158. Ryter S.W., Kim H.P., Hoetzel A. et al. Mechanisms of cell death in oxidative stress // *Antioxid Redox Signal*.- 2007.- 9.- P. 49–89.
 159. Long T.C., Saleh N., Tilton R.D. et al. Titanium dioxide (P25) produces reactive oxygen species in immortalized brain microglia (BV2): implications for nanoparticle neurotoxicity //

- Environ Sci Technol.- 2006.- 40.- P. 4346–4352.
160. Lovric J., Cho S.J., Winnik F.M., Maysinger D. Unmodified cadmium telluride quantum dots induce reactive oxygen species formation leading to multiple organelle damage and cell death // Chem Biol.- 2005.- 12.- P. 1227–1234.
161. Lewinski N., Colvin V., Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles // Small.- 2008.- 4.- P. 26–49.
162. Moos P.J., Chung K., Woessner D. et al. ZnO Particulate Matter Requires Cell Contact for Toxicity in Human Colon Cancer Cells // Chem Res Toxicol.- 2010.- 23.- P. 733–739.
163. Jeng H.A., Swanson J. Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells // J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.- 2006.- 41.- P. 2699–2711.
164. Zhang Y., Chen W., Wang S.P. et al. Phototoxicity of zinc oxide nanoparticle conjugates in human ovarian cancer // J Biomed Nanotechnol.- 2008.- 4.- P. 432–438.
165. Wang R.M., Xing Y.J., Yu D.P. Fabrication and microstructure analysis on zinc oxide nanotubes // New J Physics.- 2003.- 5.- P. 115–117.
166. Wu H.Q., Wei X.W., Shao M.W., Gu J.S. Synthesis of zinc oxide nanorods using carbon nanotubes as templates // J Crystal Growth.- 2004.- 265.- P. 184–189.
167. Cai R., Kubota Y., Shuin T. et al. Induction of cytotoxicity by photoexcited TiO₂ particles // Cancer Res.- 1992.- 52.- P. 2346–2348.
168. Bakalova R., Ohba H., Zhelev Z. et al. Quantum dots as photosensitizers // Nat Biotechnol.- 2004.- 22.- P. 1360–1361. [PubMed: 15529155]
169. Sorenson J.R.J., Rainsford K. D., Milanino R., Velo G.P. Copper complexes for therapy of cancer and autoimmune diseases. Copper and Zinc in Inflammatory and degenerative Diseases // Kluwer Academic Publishers.- 1998.- P. 113–125.
170. Parashar R.K., Sharma R.C., Mohab G. Synthesis and Biological activity of some copper tridentate Schiff Bases, in: J. R. J. Sorenson. Ed. Biology of copper complexes // Humana Press, Clifton NJ.- 1987.- P. 533–540.
171. Nath M.Kamaluddin, Cheema J. Copper (II) complexes of salicylidene amino acid Schiff bases as models. Peroxidase and catalase. Indian // J. Chem.- 1993.- 32A (2).- P. 108–113.
172. De Alvare L.R., Goda K., Kimura T. Mechanism of superoxide anion scavenging reaction

- by bis-(salicylato)-copper (II) complex // BiochemBiophys Res Commun.- 1976.- 69 (3).- P. 687–694.
173. Rainsford K.D., Milanino R., Sorenson J.R.J., Velo G.P. Copper and Zinc in inflammatory and Degenerative Diseases, Biological chemistry of copper compounds // Kluwer Academic Publishers.- 1998.- P. 19–46.
174. Arakelova E., Khachatryan A., Avdjyan K., Voskanyan A., Farmazyan Z., Mirzoyan A., et al. Zinc oxide nanocomposite coatings and polymer composite films with antitumor activity // European Conference on Nano Films, Belgium, Liege, Abstract.- 2010.- P. 78.
175. Мирзоян А.А., Фармазян З.М., Аракелова Э.Р. Формирование цинкоксидных наноконпозиций с противоопухолевой активностью на основе поливинилового спирта для пролонгированного действия // Сборник научных и методических статей, Вестник.- 2011.- 1 (1).- С. 424–430.
176. Мирзоян А.А., Фармазян З.М., Аракелова Э.Р. Противоопухолевые цинкоксидные композиции салицилиден аминокислот // Вестник.- 2012.- 15 (2).- С. 492-500.
177. Мирзоян А.А., Аракелова Э.Р. , Фармазян З.М. Противоопухолевые цинкоксидные композиции ряда салицилиден аминокислот // Вестник, Metallurgy, materials science, mining.- 2013.- 16, № 1.- С. 49–59.
178. Arakelova E., Farmazyan Z., Mirzoian A., Khachatryan A., Grigoryan S., Arsenyan F., Muradyan R. Zinc oxide composite antitumor drugs // ASME Global Congress on Nano Engineering for Medicine and Biology, Abstract, Boston, MA.- Feb. 4 – 6, 2013.
179. Мирзоян А.А., Аракелова Э.Р., Фармазян З.М., Григорян С.Л. Цинкоксидные композиты противоопухолевого лекарственного препарата доксорубин // Вестник, Metallurgy, materials science.- 2015.- 16, №2.- С. 41-51.
180. Мирзоян А.А. Цинкоксидные композиционные плёнки противоопухолевых средств с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью // Фарма.- 2015.- №11.- С. 43-50.
181. Мирзоян А.А. Метод получения цинкоксидных композиций противоопухолевых средств с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью // Фарма.- 2015.- №11.- С. 61-66.