Кафедра химии твёрдого тела

Институт химии

Санкт-Петербургский Государственный Университет

В.Н. Постнов, К.Н. Семёнов

БИОМЕДИЦИНСКОЕ МАТЕРИАЛОВЕДЕНИЕ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Рецензенты: д. х. н., проф. Н.А. Чарыков (Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)), канд. техн. наук. Д.В. Королев (Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова)

В учебном пособии представлены основные виды материалов биомедицинского назначения. Особое внимание уделяется наноматериалам, используемым для диагностики заболеваний и адресной доставки лекарственных препаратов. Освещаются проблемы, связанные с применением наноматериалов для лечения онкологических заболеваний.

Книга адресована аспирантам и студентам старших курсов, специализирующихся в области материаловедения, химии поверхности твёрдого тела, а также специалистам, работающим в данных областях.

# Введение

Биомедицинское материаловедение изучает материалы, которые непосредственно взаимодействуют с тканями и биологическими жидкостями живого организма. Биомедицинский материал можно определить как любое вещество (кроме лекарства) или комбинация веществ, имеющих природное или синтетическое происхождение, которое может использоваться на протяжении любого промежутка времени в качестве целой системы или её части, предназначенное для лечения или замены определённой ткани, органа или функции живого организма. Свойства живого организма – самовоспроизведение, сложная иерархическая организация, метаболизм – определяют требования к биомедицинским материалам, среди которых наиболее значимыми являются:

1) Биологическая совместимость (гемосовместимость, нетоксичность, отсутствие аллергических реакций, тромборезистентность, отсутствие опухолеобразования, бактерицидность);

2) Стабильность функциональных свойств в течение определённого времени;

3) Возможность стерилизационной обработки.

Живой организм довольно резко реагирует на внедрение инородных тел. Отсюда возникают определённые требования к материалам, определяющие их функциональные возможности.

Среди функциональных возможностей биомедицинских материалов наиболее важными являются:

1) Опорно-механические функции (материалы для протезирования костей, суставов, зубов и т.д.);

2) Биоклеевые функции (хирургические клеи);

3) Кровеостанавливающие функции;

4) Способность к усвоению организмом (биодеструктируемые материалы для хирургических швов);

5) Способность к кислородному обмену (искусственные лёгкие);

6) Функции заменителя крови;

7) Медикаментозные функции (антивирусные и антибактериальные свойства);

8) Способность к поглощению токсичных веществ (материалы для аппаратов «искусственная почка» и «искусственная печень»);

9) Функции медленного высвобождения лекарственных веществ (полимеры, связанные с лекарственными соединениями);

10) Сенсорные функции (различные датчики медицинского назначения);

11) Функции передачи нервного возбуждения (системы, передающие сердечные импульсы).

# Глава 1. Основные виды биомедицинских материалов.

## 1.1. Эндопротезы.

Это протезы, которые непосредственно внедряются в живой организм и контактируют с тканями и биологическими жидкостями. Они могут быть пожизненного действия (клапан сердца, подвижный сустав, хрусталик глаза) и временного действия, которые должны подвергаться биодеградации в определённое время с одновременным замещением тканевым регенератом. Отметим, что продукты биодеградации должны быть безвредными для организма – современные шовные материалы, медицинские клеи и протекторы кровеносных сосудов. В некоторых материалах используются полимеры, которые образуют депо лекарств в организме, например композиты, которые получают путём сополимеризации антибиотиков с изоцианатом, в результате образуется полиуретанпенициллин. По поводу материалов пожизненного действия стоит отметить, что в конструкции сердечных клапанов используется титан, полихром, а также различные полимеры, такие как кремнийорганический каучук, полиуретаны, поликарбонаты. Для протезирования сосудов часто используют полиэфиры и полиоксаны. Для протезирования скелетно-двигательного аппарата применяют композиты на основе полиэфиров, полиакрилатов, полиамидов, керамики, углеволокна и стекловолокна.

## 1.2. Мембраны для диализа.

Диализ – метод очистки коллоидных растворов и растворов высокомолекулярных веществ от низкомолекулярных примесей. Он основан на свойстве мембран пропускать вещества только с малой молекулярной массой. Диализ используются в аппаратах «искусственная почка» и «искусственная печень». Основное назначение – вывод из организма мочевины, креатинина и других вредных веществ. Диализ протекает в гемодиализаторах – двухкамерных аппаратах с мембранами, представляющими собой селективно проницаемую перегородку между кровью и диализатом. За счёт разности химических потенциалов через мембрану осуществляется транспорт растворенных веществ, а в результате перепада давления – транспорт воды. Мембраны для гемолиза должны быть проницаемыми в отношении воды и таких метаболитов, как мочевина, креатинин, мочевая кислота, ионы натрия и хлора, олигопептиды, и непроницаемыми для белков плазмы крови. В гемодиализаторах используется гидратцеллюлозная мембрана толщиной 15 – 35 мкм. Гемодиализаторы бывают пластинчатого и капиллярных типов. Пластинчатый гемодиализатор представляет собой пакет из 10 – 30 тонких пластин с фигурным продольным рифлением опорных сеток или плоских мембран, расположенными между пластинами или сетками. Схемы диализаторов с несимметричным и симметричным расположением опорных элементов приведены на Рис. 1. Кровь протекает тонким слоем между мембранами, а диализат – по каналам, образованным рифлением пластин.

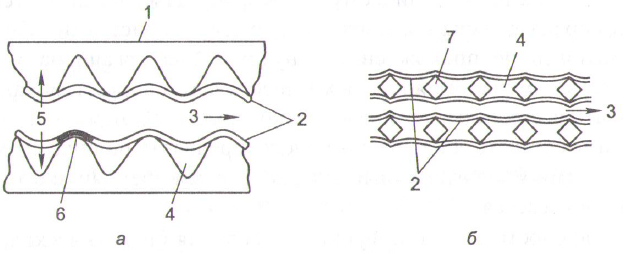


Рис. 1. Схема диализаторов с несимметричным и симметричным расположением опорных элементов:

1 – пластина из полипропилена;

2 – мембрана;

3 – кровь;

4 – диализат;

5 – давление;

6 – локализация механических напряжений;

7 – опорные элементы.

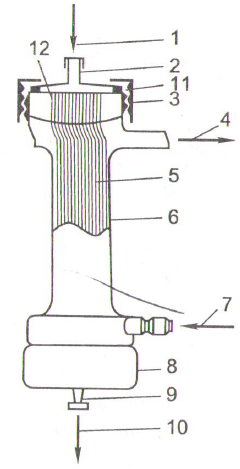


Рис. 2. Схема капиллярного гемодиализатора:

1 – вход крови;

2 – артериальный вход;

3 – накидная гайка артериального входа;

4 – выход диализата;

5 – полые волокна;

6 – стенка корпуса;

7 – вход диализата;

8 – накидная гайка венозного выхода;

9 – венозный выход;

10 – выход крови;

11 – уплотнительное кольцо;

12 – герметизирующая заливка.

Капиллярный гемодиализатор (Рис. 2) представляет собой выполняющий роль мембраны пакет из полых волокон, которые зафиксированы параллельно и помещены в герметичный корпус со входом и выходом для крови и диализата. Кровь, протекающая по капиллярам, омывается диализатом, циркулирующим в корпусе. Диализ осуществляется через стенки капилляров.

## 1.3. Мембраны для оксигенации.

Оксигенация крови – процесс насыщения крови кислородом с одновременным выделением углекислого газа – осуществляется на аппаратах «искусственное сердце – лёгкие». При оксигенации с помощью мембранных оксигенаторов отсутствует прямой контакт газа и крови. Мембраны для искусственных лёгких должны отвечать следующим требованиям:

1) Обладать полной совместимостью с кровью;

2) Быть проницаемыми для углекислого газа и кислорода;

3) Быть химически устойчивыми;

4) Не включать растворимых примесей;

5) Обладать устойчивостью к повышенному давлению (до 1 атмосферы);

6) Обладать термической устойчивостью, обеспечивающей дезинфекцию.

Используемые материалы для мембран: силиконы, силоксан-акрилатные, силоксан-карбонатные.

## 1.4. Кровезамещающие жидкости.

Кровезамещающие жидкости или кровезаменители – средства, применяемые в течение необходимого времени с лечебной целью в качестве заменителей или корректоров состава крови. Применяемые кровезаменители делят на пять групп:

1) Гемодинамического действия, противошоковые. Назначение – должны поддерживать кровяное давление, выполнять роль плазменных белков крови, выводить из организма продукты распада. Используемые материалы: декстрин (полимер глюкозы с молекулярной массой 60000 – полиглюкин), желатин (частично гидролизованный белок коллаген);

2) Дезинтоксикационного действия. Назначение – должны быстро выводить токсичные вещества. Для этих целей используют поливинилпирролидон (ПВП), который выводит змеиный яд, токсины дифтерии и столбняка. Используют также поливиниловый спирт.

3) Кровезаменители для парентерального питания (белковые гидролизаты, содержащие продукты расщепления белков – аминокислоты и короткие пептиды. Применяют следующие типы белковых гидролизатов: гидролизат казеина, гидролизаты крови крупного рогатого скота: гидролизин и аминопептид;

4) Регуляторы водно-солевого и кислотно-щелочного равновесия. Используют электролитические растворы;

5) Полифункциональные кровезаменители комплексного действия. Обеспечивают наполнение сосудов, транспорт кислорода, доставку к тканям питательных веществ, таких как аминокислоты, углеводы, водно-солевое равновесие, кислотно-щелочной баланс и удаление продуктов метаболизма. Эти кровезаменители содержат эмульсии перфторированных соединений или химически модифицированные молекулы гемоглобина.

Кровезамещающие жидкости используют для трансфузионной терапии при различных патологических состояниях. Их вводят внутривенно, внутриартериально, внутрикостно, иногда подкожно через зонд в желудочно-кишечный тракт.

Общими требованиями к кровезамещающим жидкостям являются следующие:

1) Данные жидкости должны полностью выводиться из организма, не повреждая тканей и не нарушая функции органов, или метаболизироваться ферментными системами;

2) Не должны повышать чувствительность организма к воздействию какого-либо фактора окружающей или внутренней среды;

3) Быть нетоксичными, апирогенными, стерильными;

4) Обладать способностью сохраняться в течение длительного времени без изменения свойств.

## 1.5. Биодеструктируемые эндопротезы.

Эти протезы должны разрушаться, выполнив определённую функцию. Биодеструкции подвергаются полиуретаны, полиамиды, полиэфиры. Биодеструкция идёт через гидролитическое разрушение. Регулирование процесса осуществляется введением в основную цепь легко гидролизующихся групп или введением в основную цепь фрагментов для ферментативного гидролиза (ди- и трипептидов). Увеличением поверхности контакта с тканями путём создания мелкозернистого материала также обеспечивается ускоренный процесс гидролиза. Рассмотрим свойства и особенности использования биодеструктируемых шовных материалов, медицинских клеев и протекторов. Шовный материал должен удерживать ткань до момента образования рубца. Скорость биодеструкции не должна превышать скорость образования рубца. Биодеструктирующие материалы: коллаген, материалы на основе целлюлозы (окцелон), материалы на основе полигликоидов (викрил), дексон, полиуретан. Нерассасывающиеся шовные материалы: шёлк, полиамиды, нейлон, капрон, полиэфиры, лавсан. К шовным материалам относятся также металлическая проволока и металлические скрепки.

Особым видом полимерных имплантатов являются медицинские клеи. Их назначение – прочное соединение живых тканей при минимальной воспалительной реакции. Наиболее распространённые клеи, которые используются в хирургии:

1) Полиуретаны – полимеры, имеющие родство с органическими молекулами живых тканей. Наличие влаги ослабляет химические связи клея с биоматериалом и ограничивает применение полиуретановых клеев в медицине;

2) Цианакрилаты – это материалы, которые образуют высокопрочные соединения. Их основное преимущество – быстрое затвердение в результате полимеризации;

3) Эпоксиды, смолы на основе эпоксидной смолы, в ряде случаев обладают высокой прочностью. Однако низкая скорость образования химических связей делает их малопригодными для хирургического применения;

4) Клеи на основе смеси натурального и синтетического каучуков имеют низкую стабильность свойств, что является серьёзным препятствием для хирургического применения.

Основой цианакрилатных клеев являются мономерные эфиры цианакриловой кислоты. Цианакрилаты проявляют склеивающую способность в отношении большинства материалов и во влажной атмосфере. Цианакрилаты подвергаются биодеструкции. Продукты их распада выводятся из организма естественными путями. Цианакрилатные клеи получили наиболее широкое применение при остеосинтезе в травматологии и ортопедии.

Ещё одним видом биодеструктируемых эндопротезов являются протекторы, применяемые для лечения аневризм сосудов. Одним из заболеваний кровеносной системы человека является нарушение прочностных свойств стенок сосудов. Аневризма – локальное расширение кровеносного сосуда или полости сердца вследствие растяжения или выпячивания стенки. Для лечения аневризм был создан биодеструктируемый полиуретановый протектор Поретан. Он полностью восполняет ёмкостную функцию сосуда и с течением времени (за 1,5 – 2 года) замещается собственным регенератом, естественным путём укрепляя истончённую стенку кровеносного сосуда. Этот протектор (Рис. 3) представляет собой эластичную трубку, винтообразно рассечённую, с крупными (2 мм) отверстиями в стенке. Такой имплантат постоянно сохраняет трубчатую форму и может изменять свой диаметр в зависимости от кровенаполнения вены. Это обеспечивается винтообразным разрезом, позволяющим протектору частично раскручиваться или скручиваться при колебаниях давления в вене. Наличие в стенке протектора отверстий является необходимым условием для проникновения в них новообразованной соединительной ткани, а также кровеносных сосудов и нервных волокон.

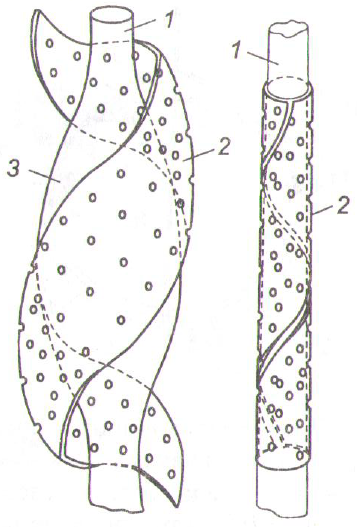


Рис. 3. Полиуретановый протектор Поретан для пластики аневризм сосудов:

1—кровеносный сосуд;

2—протектор Поретан;

3—аневризма.

## 1.6. Эндопротезы в офтальмологии.

Издавна в офтальмологии использовались стеклянные протезы, но в настоящее время их вытеснили полимерные протезы, которые изготавливают из полиметиметакрилата, тефлона и силиконовой резины. Отметим преимущества полимерных протезов:

1) Многократная стерилизация;

2) Долговечность;

3) Химическая устойчивость;

4) Возможность изготовления протезов любой формы.

Для улучшения зрения широко используют контактные линзы, которые надевают на роговую оболочку глаза. Отметим требования к контактным линзам:

1) Проницаемость для кислорода;

2) Недеформируемость во время моргания;

3) Смачиваемость слёзной жидкостью;

4) Оптические функции.

Контактные линзы бывают жёсткими и мягкими. Жёсткие контактные линзы изготавливаются из полиметилметакрилата, они обладают хорошими оптическими свойствами, легко обрабатываются, но имеют серьёзный недостаток: они непроницаемы для кислорода. Для улучшения проницаемости контактных линз для кислорода их изготавливают из сополимеров метилметакрилата и виниловых эфиров, содержащих силоксановую группу, в которых наличие гидрофильных виниловых соединений компенсирует гидрофобный эффект силоксановых групп. В настоящее время чаще используются мягкие контактные линзы, они удобнее, чем жёсткие, представляют собой гидрогели. Например, используют полимеры, которые получают путём сополимеризации N,N-диалкилакриламида с алкилметакрилатом или винипирролидоном с гидроксиэтилметакрилатом. Разработан для контактных линз гидрофильный полимерный материал ГИППОЛАН-2 на основе монометакрилэтиленгликоля и диметакрилэтиленгликоля в качестве сшивающего агента. Используют также силиконовый каучук, который обеспечивает хорошую проницаемость для кислорода, однако плохо смачивается слёзной жидкостью.

Для протезирования хрусталика применяют полиметилметакрилат, лейкосапфир, алмаз.

## 1.7. Искусственная кожа.

Искусственная кожа должна обеспечивать защиту организма, обмен веществ и терморегуляцию. Отметим требования к искусственной коже:

1) Препятствовать обезвоживанию;

2) Блокировать проникновение в рану микроорганизмов;

3) Обеспечивать интенсивное лечение;

4) Обеспечивать в некоторой степени проникновение паров воды.

Для изготовления искусственной кожи используют марли из нейлона и силикона, плёнки из отверждённой кровяной плазмы, плёнки из поли-2-оксиметилметакрилата, плёнки из полиэтиленгликоля, плёнки из фибрина, плёнки из силиконового каучука с каналами для ввода лекарств. Искусственная кожа используется для лечения ожогов с высокой степенью поражения, травм, повреждений кожного покрова.

## 1.8. Эндопротезы в ортопедии.

Заболевания и травмы опорно-двигательного аппарата нередко приводят к необходимости замещения дефектной костной ткани, замены суставов, мышц и сухожилий. В качестве имплантатов используются различные материалы. К ним предъявляются следующие требования:

1) Биоинертность;

2) Высокая механическая прочность;

3) Устойчивость к циклическим нагрузкам.

Кость, как всякая живая ткань, реагирует на давление со стороны имплантата с изменением собственной структуры. Многие материалы, используемые в качестве имплантатов, имеют существенные недостатки. Для металлов главный недостаток – высокая жёсткость, следствием чего является рассасывание костной ткани вокруг имплантатов с образованием фиброзной капсулы. Керамические материалы, используемые для протезирования костей, имеют пористую структуру, которая обеспечивает имплантатам биологическую фиксацию за счёт врастания в поверхностные поры кости почти без соединительной тканевой прослойки. Однако низкая сопротивляемость ударным нагрузкам и высокая хрупкость ограничивает применение керамических эндопротезов. Новое поколение керамики, например оксид циркония, пористый гидроксиапатит, по предварительным данным имеют высокий показатель прочности и низкий модуль упругости, но возможность их широкого применения требует их дальнейшего изучения. Общие отрицательные свойства полимерных материалов (полиэтилен, силиконовая резина, фторопласт, полиуретан) связаны с их биологическим старением. Углеродные композитный материал «Углекон-М» является по химическому составу чистым углеродом. Этот материал инертен по отношению к тканям организма, композиционная структура, представляющая собой сплетение углеродных нитей, связанных пироуглеродом, придаёт ему большую устойчивость при циклических нагрузках. Композитные материалы для имплантации на основе углеродных волокон составляют две большие группы, отличающиеся по своей природе:

1) Материалы на основе различных типов углеволокон с углеродной или карбидной матрицей;

2) Материалы на основе углеродных волокон с полимерной матрицей (углепласты).

Основной недостаток материалов первой группы состоит в том, что твёрдость углекерамики может превышать твёрдость кости в пять раз, что приводит к большим контактным напряжениям. Композитные материалы на базе полимерных матриц больше соответствуют биохимическим требованиям. Наибольшее внимание привлекли стеклянные волокна, угольные волокна (наиболее биоинертные и устойчивые), борные волокна (наиболее прочные, но жёсткое) и органические волокна (наиболее податливые и высокопрочные). В качестве матрицы используют полиметилметакрилат, полиэтилен с высокой молекулярной матрицей, полисульфоны, эпоксидные смолы и ряд других полимеров.

Композиты с составляющими биологического происхождения находят применение в качестве заменителей относительно небольших дефектов костной ткани. Исходным является предположение, что для искусственного заменителя кости больше всего подходят составляющие той же кости, лишённые биологической активности после специальной обработки. Различные комбинации коллагена и гидроксиапатита с добавлением полимерных связующих отличаются методами подготовки, количественным содержанием гидроксиапатита и коллагена. Композиционные материалы этого типа стимулируют врастание костного вещества в имплантат. Их модуль упругости близок по величине к модулю упругости костного вещества.

## 1.9. Материалы для протезирования мягких тканей.

В качестве имплантируемого материала часто используют силиконовую резину. Этот имплантат является достаточно надёжным, имеющим необходимую твёрдость для увеличения объёма мягких тканей. Установлено, что при подкожной инъекции жидкого силикона он образует мелкие капельки – вакуоли, которые быстро заключаются в капсулы фиброзной ткани с минимальными воспалительными реакциями вокруг.

В настоящее время используется три типа полимерных материалов:

1) Гладкие силиконовые, заполненные гелем или физиологическим раствором;

2) Текстурированные силиконом;

3) Силиконовые с полиуретановой пеной.

Имплантат представляет собой ёмкость из тонкостенной оболочки, которую перед имплантацией наполняют силиконовым гелем. Силиконовый гель должен обладать пластичностью, приближающейся к эластичности мягкой ткани и позволяющей вводить протез через отверстие в коже диаметром 4 – 5 см. Перечисленные выше материалы используются в маммарных протезах.

## 1.10. Эндопротезы кровеносных сосудов.

Искусственные кровеносные сосуды применяют для замены патологически изменённых участков кровеносного русла и создания обходных путей в системе кровообращения. К настоящему времени апробированы многочисленные синтетические материалы, такие как нейлон, тефлон (фторопласт-4), ордон и дакрон. Исследованиями было установлено преимущество дакрона (полиэстера). Был создан дакроновый протез сосуда, который успешно имплантировали больному после резекции аневризма брюшной аорты. В промышленных масштабах искусственные сосуды изготавливают из дакрона, тефлона и лавсана.

## 1.11. Материалы для эндоваскулярной хирургии.

Атеросклероз и его клинические осложнения жизненно важных органов и конечностей, а также пороки сердца являются основной причиной смерти в промышленно-развитых странах. Клапанные пороки составляют 25% всех заболеваний сердца. В настоящее время существует несколько модификаций клапанных протезов: шариковый, дисковый (Рис. 4) и др.

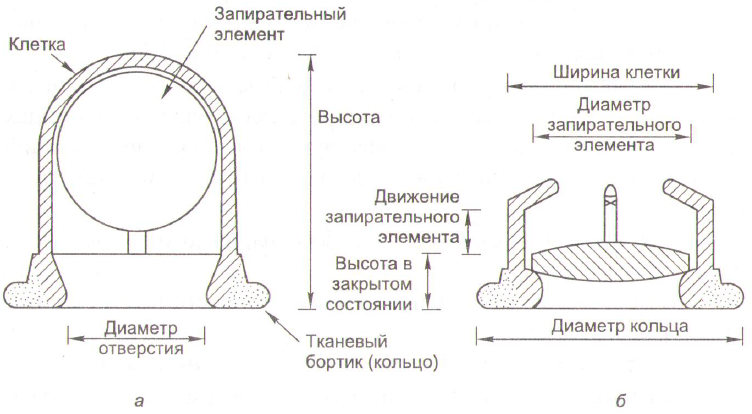


Рис. 4. Схематическое изображение шарикового (*а*) и дискового (*б*) протезов клапанов сердца.

К протезам предъявляются следующие требования:

1) Протез должен быть биологически совместимым и стерильным перед операцией;

2) Протез должен быть удобен для проведения имплантации;

3) Протез должен иметь такие размеры и форму, которые не нарушали бы нормальной деятельности сердца;

4) Гидродинамические и механические характеристики протеза должны соответствовать возникающим нагрузкам и не изменяться в процессе эксплуатации;

5) Гемолиз на клапане не должен превышать уровня, при котором возможна клинически выраженная анемия;

6) При эксплуатации клапан должен создавать минимальный шум.

К сожалению, ни одна из существующих конструкций не отвечает в полной мере всем требованиям. Вращающийся дисковый клапан способствует повышенному тромбообразованию. При неравномерном износе шарикового клапана может произойти его заклинивание и дисфункция. Для изготовления жёстких деталей клапанных протезов (опорных колец) используют титан или стеллит (сплав кобальта, хрома, молибдена и никеля). Створки клапана изготавливают из силиконовой резины или фторсодержащих полиуретанов. Металлическую часть клапана обшивают дакроновой велюровой манжеткой. Ведутся поиски новых материалов. Для устранения гемолиза был разработан протез клапана, покрытый пиролитическим углерод-силиконом.

## 1.12. Стоматологические материалы.

Стоматологические материалы традиционно делят на материалы, применяемые в ортопедической стоматологии и в клинической практике. Все материалы, используемые в ортопедической стоматологии, делят на конструкционные и вспомогательные. В состав конструкционных материалов входят металлические сплавы, пластмассы, керамические материалы. Вспомогательные материалы включают слепочные и абразивные материалы. Мы подробно рассмотрим клинические стоматологические материалы. К этим материалам предъявляют следующие требования:

1) Биологическая инертность к тканям зуба и всего организма в целом;

2) Высокая адгезия к тканям зуба, металлам, фарфору;

3) Отсутствие растворимости в ротовой полости;

4) Коэффициент термического расширения этих материалов должен приближаться по значению к термическому коэффициенту тканей зуба;

5) Низкая теплопроводность;

6) Минимальное водопоглощение;

7) Отсутствие изменения цвета с течением времени;

8) Возможность отверждения в присутствии воды или слюны;

9) Материал должен иметь рН около 7 при отверждении и после него;

10) Наличие твёрдости близкой к твёрдости зуба.

Рассмотрим основные виды стоматологических цементов:

1. ***Цинк-фосфатные цементы*** выпускаются в виде порошка и жидкости. Порошок состоит в основном из оксида цинка с добавлением 10% оксида магния. В жидкость входит раствор ортофосфорной кислоты, солей алюминия и цинка. Механизм отверждения этих цементов можно представить следующим образом. Образующиеся в результате реакции между оксидом цинка и ортофосфорной кислотой аморфный фосфат цинка связывает вместе непрореагировавший оксид цинка и другие компоненты цементов (Рис. 5) К числу достоинств цинк-фосфатных цементов можно отнести лёгкое замешивание и быстрое отвердевание. Их недостатками является раздражение пульпы, отсутствие антибактерицидного эффекта и адгезии, заметная деструкция в полости рта.

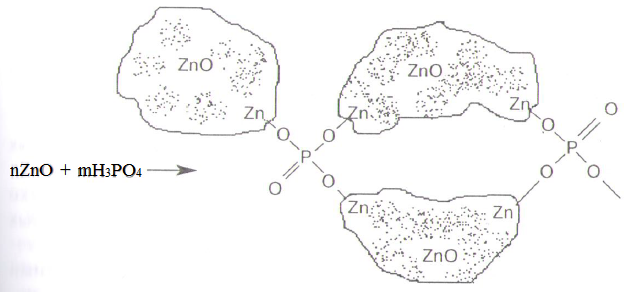


Рис.5. Механизм затвердевания цинк-фосфатного цемента.

2 ***Цинк-силикатные цементы.*** Присутствие силикатного стекла обеспечивает этим материалам некоторую степень прозрачности, повышает прочность и улучшает выделение фторида из цемента. Цемент представляет собой смесь, состоящую из оксида цинка и силикатного стекла, смешанных механическим способом или сплавленных и повторно измельчённых. Силикатное стекло содержит 12 – 25% фторидов. Жидкость, используемая для отвердевания, содержит от 2 до 5% солей алюминия, присутствующих в водном 45 – 50% растворе ортофосфорной кислоты. Реакция затвердевания может быть представлена следующим образом. Оксид цинка, алюмосиликатное стекло взаимодействуют с фосфорной кислотой и образуется цинк-алюмосиликатфосфатный гель. Затвердевший цемент заключает фазу непрореагировавших частиц стекла и оксида цинка, связанных вместе матрицей из алюмосиликатфосфатного геля. Фториды могут поглощаться дентином и оказывать противокариесное действие.

3. ***Цинк-поликарбоксилатные цементы.*** Эти материалы используются для временного пломбирования зубов. Порошок представляет собой оксид цинка с добавками оксида магния и фторида олова. Иногда в порошок добавляют оксид алюминия. Жидкость, используемая для отвердевания, представляет собой 40% водный раствор полиакриловой кислоты. Использование этой композиции пломбирования зубов имеет один недостаток, который заключается в быстрой самополимеризации. В связи с этим была разработана новая схема, согласно которой в порошок добавляют твёрдую полиакриловую кислоту, замешивание цемента проводят с дистиллированной водой. Оксид цинка взаимодействует с полиакриловой кислотой, образуя сетчатую поперечно-сшитую структуру полиакрилата цинка. Затвердевший цемент состоит из частиц непрореагировавшего оксида цинка, связанных вместе аморфной гелеобразной матрицей.

4. ***Цементы на основе полимеров.*** Эти цементы используют для фиксации временных коронок. Порошок акриловых цементов представляет собой тонко измельчённый полимер метилметакрилата или сополимер, содержащий перекись бензоила в качестве инициатора. В состав порошка могут входить также минеральный наполнитель и пигменты. Жидкость состоит из мономера метилметакрилата, содержащего аминный ускоритель. Мономер размягчает частицы полимера и одновременно полимеризуется под воздействием свободных радикалов, образующихся при взаимодействии перекиси бензоила и аминного ускорителя. Достоинства этих цементов: высокая прочность, низкая растворимость. Недостатки: короткое рабочее время, неблагоприятное воздействие на пульпу и трудность удаления избытка цемента.

5. ***Стеклоиономерные цементы.*** Эти цементы представляют целый класс современных стоматологических материалов, созданных путём объединения свойств силикатных и полиакриловых систем. Они вытесняют цинк-фосфатные и поликарбоксилатные цементы. Порошок представляет собой мелкодисперсное алюмофторсиликатное стекло, состоящее из частиц с размером 25 – 50 мкм. Основные компоненты: оксид кремния и оксид алюминия. Соотношение этих оксидов отвечает за реакцию схватывания. В состав порошка также входит фторид кальция, который обеспечивает антикариесный эффект и в небольших количествах фториды натрия и алюминия. Жидкость для отвердевания представляет собой 50% водный раствор сополимера различных поликарбоновых кислот. При этом используют такие ненасыщенные кислоты, как акриловую, малеиновую и итаконовую. Рассмотрим процесс отвердевания традиционных стеклоиономерных цементов. При замешивании порошка и жидкости стеклоиономерного цемента в присутствии воды происходит диссоциация поликарбоновых кислот: водородные ионы диффундируют к частицам стекла и обеспечивают выбивание катионов металлов (Ca2+, Al3+). Происходит взаимодействие ионов кальция и гидроксильных групп поликарбоновых кислот. Это взаимодействие обеспечивает схватывание цемента и образования химических связей между поликарбоновой кислотой и твёрдыми тканями зуба. Далее происходит связывание цепей поликарбоновых кислот ионами алюминия. В тоже время на поверхности стеклянных частиц происходит образование силикагеля. Силикагель образуется из оксида кремния, частичек стекла при помощи полиакриловой кислоты. Окончательная структура отвердевшего стеклоиономерного цемента представляет собой частицы стекла, окружённые силикагелем и расположенные в матрице поперечно-сшитых молекул поликарбоновых кислот. Таким образом, традиционно стеклоиономерные цементы имеют один механизм отвердевания (по типу кислотно-щелочной реакции).

6. ***Гибридные стеклоиономерные цементы.*** Эти материалы в отличие от традиционных цементов имеют два механизма отверждения. Первый – инициированная светом полимеризация свободных радикалов метакрильных групп, за счёт чего происходит связывание между собой макромолекул поликарбоновых кислот. Второй механизм представляет собой классическую кислотно-основную стеклоиономерную реакцию (сшивание макромолекул поликислот ионами металлов). Гибридные стеклоиономерные цементы с двойным механизмом отвердения по сравнению с традиционными хотя и обладают удовлетворительными физико-механическими свойствами, тем не менее имеют недостаток: в участках, недоступных для проникновения света фотополимеризующей лампы, отвердение происходит лишь за счёт стеклоиономерной реакции, что сказывается на свойствах цемента. Этого недостатка лишены гибридные стеклоиономерные с тройным механизмом отвердения. Механизмы отверждения данной группы следующие:

1) Инициированная светом полимеризация свободных радикалов метакрильных групп полимера такая же, как и у гибридных стеклоиономерных цементов с двойным механизмом отверждения;

2) Классическая кислотно-основная стеклоиономерная реакция (сшивание макромолекул ионами металлов);

3) Инициированная каталитической редокс-системой самополимеризация метакрильных групп без воздействия света.

Достоинства стеклоиономерных цементов:

1) Хорошая адгезия к тканям зуба за счёт водородных и ионных связей;

2) Хорошая химическая адгезия к различным пломбировочным материалам;

3) Высокая биологическая совместимость к тканям зуба;

4) Противокариесное действие вследствие продолжительного (до трёх лет) диффузного выщелачивания фтора из цемента;

5) Высокая прочность на сжатие;

6) Коэффициент теплового расширения близок к таковому эмали и дентина;

7) Низкая теплопроводность;

8) Плохая растворимость в полости рта;

9) Устойчивость к воздействию кислот;

10) Низкая полимеризационная усадка;

11) Удовлетворительные эстетические характеристики;

12) Устойчивость цвета;

13) Незначительное выделение тепла в процессе твердения;

14) Рентгеноконтрастность;

15) Совместимость с другими стоматологическими материалами;

16) Прочность.

В последние годы для эстетической реставрации зубов используют нанокомпозиты, содержащие наночастицы оксидов.

Структура любого композита после полимеризации представляет собой некую полимерную матрицу с внедрёнными в её структуру частицами наполнителя. В качестве наполнителя в нанокомпозитах используются частицы, имеющие размер до ста нанометров. Следует отметить, что в композитах используются частицы разных размеров. В композитах могут применяться разноразмерные наночастицы и нанокластеры. Одним из материалов, в котором реализован этот подход, является не так давно вышедший на российский рынок стоматологический материал FiltekTM Supreme от компании 3M ESPEС. Схематическое изображение структуры этого материала представлено на Рис. 6.

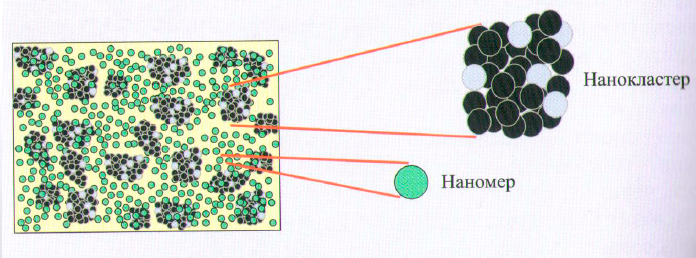


Рис. 6. Схематическое изображение структуры FiltekTM Supreme.

Размер частиц у этого наноматериала лежит в приделах от 5 до 75 нм, размер нанокластеров лежит в пределах от 0,6 до 1,4 мкм. При этом наполненность материала составляет 78,5%. Наполнителями служат частицы оксидов кремния и циркония. Этот материал используется для эстетической реставрации зубов. У нанокомпозита FiltekTM Supreme в процессе износа нанокластеры не выбиваются целиком из поверхности материала, а медленно разрушаются (нанометр за нанометром) и стираются с такой же скоростью, что и полимерная матрица. Это обеспечивает стойкость глянцевой поверхности и длительное сохранение «сухого» блеска после реставрации.

# Глава 2. Совместимость материалов с биологическими средами.

Организм резко отрицательно реагирует на контакт с инородным телом. Реакции организма на токсическое воздействие разнообразны: некробиотические процессы, воспалительные реакции, возбуждение нервной системы вплоть до судорог, патологическое торможение вплоть до комы и паралича. Существуют разнообразные лабораторные методы исследования взаимодействия материалов с биологическими средами:

1) Испытание материалов:

– Реплактация (временное оперативное приживление определённой ткани);

– Культура ткани (эксплантаты различных тканей и органов помещают на поверхность исследуемых образцов и оценивают гистотоксичность путём учёта морфологических изменений в растущих клетках);

– Свёртывание крови;

2) Испытание экстрактов материалов:

– Быстрая интоксикация;

– Кожные реакции;

– Испытание на пирогенные вещества;

– Испытание на гемолиз.

Испытание на свёртываемость обычно осуществляют *in vitro*. Результаты могут отличаться от контактирования с кровью *in vivo*. Следует отметить, что необходим предварительный анализ материалов *in vitro*, поскольку испытание *in vivo* осложняется большими расхождениями результатов испытаний, трудностями в объективной интерпретации результатов, длительностью опытов и большими материальными затратами.

## 2.1. Клеточные реакции на инородные тела.

Следует отметить, что любой инородный материал в ране влияет на процесс её заживления. Общая картина реакций ткани на инородные тела довольно сложная, здесь можно отметить следующие стадии: сначала полиморфно-ядерные лейкоциты накапливаются вокруг инородного тела, затем появляются макрофаги (моноядерные блуждающие клетки, образующиеся в тканях) и в некоторых случаях они становятся очень большими. Эти гигантские клетки организуются таким образом, чтобы прилегать к инородному телу. Появление гигантских клеток является деятельностью фибропластов (клеток соединительной ткани). В результате инородное тело окружается фиброзной тканью. В случае, когда материал имплантата инертен, реакция не отличается от обычного заживления ткани. Макрофаги, появляющиеся в начале заживления, могут не образовывать гигантские клетки вокруг инородного тела, и в этом случае образуется несколько утолщённый фиброзный шов. В результате этой реакции инородное тело окружается капсулой из фиброзной ткани. Таким образом, материал оказывается практически вне организма и дальнейшие негативные реакции отсутствуют. Клеточная реакция на инородное тело может заканчиваться грануляцией ткани, заживление в этом случае затягивается, шрам или фиброз ткани становится значительным. Последним типом реакции является омертвление ткани или некроз. Отметим основные виды реакции тканей на материал имплантата:

1. Минимальная реакция на материал, когда наблюдается несколько большее, чем обычное разрастание фиброзной ткани. Слой фиброзной ткани стремится отделить остальные ткани от имлантированного материала. Такие реакции наблюдаются при использовании твёрдых материалов, таких, как политетрафторэтилен, полиметилметакрилат, полиэтилен, полипропилен, полисилоксан.

2. Температурная реакция. Причины этой реакции могут быть вызваны полимеризацией материала, химической реакцией между полимером и тканью, физическим воздействием имплантированного материала. В некоторых случаях полимеризация с образованием полиметилметакрилата, полиуретана и клея метил-2-цианакрилата может привести к некрозу ткани. Если материал распадается на фрагменты, то возникает физический фактор воздействия на окружающие ткани. Обычно используемые материалы не вызывают воспалительных реакций. Следует отметить, что такие реакции могут давать гранулы политетрафторэтилена при износе тазобедренного сустава, полимеризующиеся клеи, полиэлектролитные комплексы. Появление гранул сопровождается либо острой, либо хронической воспалительной реакцией. Важный фактор – степень проникновения гранул в ткани. Установлено, что скорость образования гранул политетрафторэтилена значительно больше, чем у полиэтилена высокого давления. При постоянном воздействии имплантата на ткань существенным фактором может оказаться влияние продуктов распада на органы и среды, отдалённые от места имплантата.

## 2.2. Токсичность материалов.

Большое значение для совместимости материалов с биологическими средами имеет их токсичность. Рассмотрим в этом плане основные виды материалов.

*Металлы.*

При попадании свинца, бериллия и ртути возникает интоксикации живого организма с болезненными проявлениями. Поэтому все применяемые в медицине материалы проходят тщательный контроль на содержание этих металлов (допустимая концентрация этих металлов составляет около 10-4%). Пероральное и внутривенное введение кобальта безвредно, так как он быстро выводится. При использовании чистого никеля возможно возникновение дерматитов и канцерогенеза. Молибден считается малотоксичным металлом, так как выделяется из организма быстро и нигде не накапливается. Установлено отсутствие токсичности титана и тантала. Серебро накапливается в организме довольно быстро в ретикулоэндотелиальной системе. Аргироз – отравление серебром – может возникнуть в глазу. Абсорбция вольфрама при приёме внутрь в кишечнике незначительна. Он накапливается в костной ткани или селезёнке. Установлена возможность прорастания костной ткани в пористые титановые имплантаты.

*Полимеры.*

При введении в рот испытуемым животным не проявляли заметной токсичности следующие материалы: силиконовая резина, полипропилен, полиэтилен низкого давления, политетрафторэтилен, полистирол, поливинилхлорид, растворимые в воде эфиры целлюлозы. Токсичными для живых организмов являются мономеры и катализаторы полимеризации, которые могут присутствовать в полимерах. Степень токсичности зависит от физических свойств имплантата (твёрдый, жидкий). Установлено, что при длительном пребывании в организме катетеров из поливинилхлоридов возникают токсические проявления, связанные с действием пластификаторов, имеющих низкую молекулярную массу, которые могут выделяться из полимера в окружающие ткани. Обычно макромолекулы чистых полимеров с большой молекулярной массой обладают малыми токсическими свойствами. Чем больше молекулярная масса полимера, тем меньшей способностью к растворению в тканях и жидкостях организма обладает полимер и тем ниже его токсические свойства.

## 2.3. Гемосовместимость.

При циркуляции крови в аппаратах «сердце – лёгкие» и использовании катетеров возникает опасность образования тромбов. К биосовместимым относятся такие материалы, которые способствуют быстрому свёртыванию крови и такие, которые обладают антитромбогенными свойствами. Инородные материалы при контакте с кровью могут оказывать на неё вредное воздействие и вызывать сильное тромбообразование. Возможно также снижение жизни красных кровяных телец, разрушение тромбоцитов, абсорбция или деструкция белков. Кровь составляет от 6 до 8% общей массы человека. До 40 – 45% по объёму всей крови приходится на долю форменных элементов крови – эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и других кровеобразующих элементов крови. Остальная часть крови – плазма, в которой клетки – форменные элементы крови – находятся во взвешенном состоянии. Ток крови всегда ламинарный. Она соприкасается с поверхностью сосудов, которые находятся в пульсирующем режиме и обладают эластичностью.

Гидрофобные полимеры обладают малой свободной энергией. При контакте с кровью на их поверхности сразу адсорбируется белок плазмы крови, который резко уменьшает возможность непосредственного контакта поверхности полимеров с тромбоцитами. Белки плазмы, адсорбируясь на гидрофобной поверхности, делают поверхность более гидрофильной, чем до её соприкосновения с кровью.

Хорошую гемосовместимость синтетических гидрогелей связывают с тем, что вода в них в значительной мере способствует снижению межфазной энергии. Содержание воды в гидрогелях может изменяться от 35 до 90%. При синтезе гидрогелей используют сшивающие агенты. Молекулы воды в гидрогелях строго ориентированы. Среди гедрогелей, совместимых с кровью, можно отметить полиоксиметилметарилат (торговая марка polyHEMA) полиакриламид, гидрогель Loplex 101, который представляет собой полиионный комплекс полистиролсульфона натрия с поливинилбензилтриметиламмоний хлоридом. В настоящее время синтетические гидрогели используются в качестве антитромбогенных материалов и как материалы, успешно контактирующие с живой тканью.

# Глава 3. Наноматериалы в биомедицине.

В биомедицинских исследованиях используются наночастицы с размерами от 1 до 1000 нм, так и микрочастицы. При доставке лекарственных препаратов большую роль играет размер частиц. Пористые микрочастицы с размером около 20 мкм используются для доставки лекарств в лёгкие путём ингаляции. Отметим преимущество наночастиц с размером от 10 до 1000 нм по сравнению со свободными молекулами и микрочастицами:

1) Лучшая защита лекарственных препаратов;

2) Возможность доставки малорастворимых препаратов;

3) Продолжительное время выделение лекарственных препаратов;

4) Длительная циркуляция;

5) Направленное действие на органы;

6) Проникновение внутрь клеток;

7) Преодоление защитных барьеров организма.

Рассмотрим подробнее эти преимущества использования этих наночастиц:

1. ***Защита лекарственных препаратов и генов.*** Довольно часто необходимо обеспечить защиту лекарств (особенно белков, пептидов, нуклеиновых кислот) от быстрого выведения и преждевременного расщепления.

2. ***Доставка малорастворимых соединений.*** Плохая растворимость некоторых лекарственных препаратов приводит к их низкой биодоступности и снижает терапевтический эффект. Например, противоопухолевый препарат Паклитаксел плохо растворим в воде. Это цитостатический препарат, механизм действия которого связан с влиянием на процесс деления клеток. Для увеличения эффективности применения таких препаратов их целесообразно включать в наночастицы.

3. ***Продолжительное высвобождение лекарств.*** Для достижения максимального терапевтического эффекта необходимо добиваться продолжительного время высвобождения препарата. Например, в лабораторных экспериментах было установлено, что подкожные инъекции крысам-диабетикам полимерных наночастиц размером от 85 до 185 нм оказывают значительно более длительное гипоглекимическое воздействие по сравнению со свободным инсулином. Было показано, что при внутримышечной инъекции наночастиц сополимера молочной и гликолевой кислот, несущих плазмидную ДНК размером 600 нм, удалось достичь продолжительной экспрессии генов.

4. ***Длительное время циркуляции.*** Лекарственные препараты, предназначенные для внутривенного введения, должны длительное время находиться в крови. Это является обязательным условием их направленной доставки и продолжительного высвобождения. Верхний предел размера циркулирующих жёстких частиц ограничен диаметром мельчайших капилляров и составляет около 5 мкм. Частицы размером в несколько мкм быстро захватываются ретикулоэндотелиальной системой в отличие от частиц, размер которых не превышает 200 нм и которые могут циркулировать более длительное время.

5. ***Направленная доставка.*** Целевая доставка препарата в настоящее время является одним из важнейших принципов лекарственной терапии. Направленная доставка может происходить на разных уровнях от органов и тканей вплоть до отдельных клеток и даже внутриклеточных областей. Проникновение к органам и тканям может достигаться за счёт разного размера пор сосудистой системы. Например, кровеносные сосуды печени имеют поры размером от 106 до 175 нм. Таким образом, направленная доставка препаратов к ним достигается за счёт соответствующего размера частиц и определённых свойств поверхности. Многие типы опухолей характеризуются крупными сосудистыми порами с размерами до 380 нм. Поэтому циркулирующие наночастицы размером от 100 до 300 нм могут проходить через них и накапливаться в опухолевой ткани за счёт эффекта усиления проницаемости и удерживания. Этот процесс называют пассивной адресной доставкой. Кроме того, присоединение специфических лигандов позволяет производить доставку наночастиц к любому доступному типу клеток с известными клеточными рецепторами.

6. ***Усиление захвата клетками.*** Установлено, что фаготирующие клетки эффективно взаимодействуют с частицами, имеющие микрометровые размеры. Отметим, что фаготирующие клетки – это подвижные клетки крови (фагоциты), играющие защитную роль в организме. Фагоцитоз – поглощение фагоцитом крупных макромолекулярных комплексов, бактерий. Все фагоцирующие клетки организма по И.И. Мечникову подразделяются на макрофаги и микрофаги. Фаготирующие клетки могут существенно затруднить доступ крупных частиц к очагам поражения. В то же время нефаготирующие клетки обычно являются мишенями действия лекарств и преимущественно поглощают нанометровые частицы.

7. ***Преодоление защитных барьеров организма.*** Малый размер наночастиц облегчает их прохождение через разные барьеры. Наиболее распространённым способом введения препаратов является пероральный приём. Однако он не подходит для лекарств, разлагающихся в желудочно-кишечном тракте и плохо проникающих через кишечный эпителий. Полимерные наночастицы могут не только защитить содержащиеся в них лекарства от расщепления и продлить их пребывание в желудочно-кишечном тракте, но и позволяют им проникать сквозь слизистую оболочку кишечника. Таким образом, удалось повысить биодоступность инсулина, различных пептидов и паклитаксела. Довольно серьёзной преградой, которую не могут преодолеть многие лекарства, является гематоэнцефалический барьер. Он образуется за счёт тесного контакта между эндотолиальными клетками капилляров и защищает центральную нервную систему от воздействия опасных веществ, находящихся в крови. Вследствие этого большинство препаратов не могут проникнуть в центральную нервную систему. Таким образом, преодоление гематоэнцефалического барьера является важной проблемой при создании лекарств, предназначенных для лечения опухолей головного мозга. Исследования показали, что наночастицы с диаметром менее 100 нм преодолевают гематоэнцефалический барьер более эффективно, чем частицы большего размера. Рассмотрим некоторые виды материалов, которые используются для получения наночастиц, применяемых в биомедицинских исследованиях.

## 3.1. Кремнезёмы

Кремнезёмы бывают кристаллические (кварц, тридимит, кристобалит) и аморфные. В медицине используются в основном аморфные кремнезёмы. Рассмотрим основные виды аморфных кремнезёмов и химию их поверхности:

1. Наибольшее использование в медицине нашли аэросилы. Аэросил – это пирогенный кремнезём. Получают его путём гидролиза тетрахлорида кремния водородно-кислородным пламенем. Известны также методы получения аэросила путём испарения SiO2 в электрической дуге или плазменной струе с последующей конденсацией в потоке сухого инертного газа, путём окисления монооксида кремния в паровой фазе в потоке воздуха, окислением паров SiH4 в токе кислорода. Аэросил отличается высокой чистотой, высокой поверхностью и химической активностью.

2. Аэросилогель (силохром). Его получают в промышленных масштабах из аэросила золь-гель методом с последующей гидротермальной обработкой. Отличительной особенностью аэросилогеля является однородная пористая структура. Следует также отметить, что аэросилогель имеет крупные переходные поры в районе 30 – 40 нм. Пористая структура аэросилогеля обеспечивает возможность его использования как хроматографического материала в различных биомедицинских исследованиях. Аэросилогель также является удобной матрицей для иммобилизации ферментов.

3. Силикагель. В промышленности получают золь-гель методом, либо путём взаимодействия жидкого стекла с серной кислотой, либо путём гидролиза тетраэтоксисилана. Силикагель имеет высокую поверхность и используется для создания гемосорбентов.

4. Пористые стекла. Пористые стекла получают путем спекания SiO2 с другими оксидами с последующим вымыванием растворимых в кислоте или щелочи продуктов. Разработаны метода регулирования пористой структуры пористых стёкол. Макропористые стекла, имеющие размеры пор около 200 нм, используются для очистки противогриппозных вакцин от белковых примесей, вызывающих аллергические реакции.

5. Аэрогели. Это гели, в которых жидкая фаза заменена газообразной. Их синтезируют с использованием жидкостей, имеющих низкое поверхностное натяжение и способных испаряться при комнатной температуре. Аэорогели часто синтезируют в автоклаве, удаляя жидкость при температуре выше критической. Отличительной особенностью аэрогелей является их высокая удельная поверхность. К настоящему времени аэрогели не нашли широкого применения в биомедицинских исследованиях.

### 3.1.1. Химия поверхности кремнезёма.

Химия поверхности всех видов кремнезёма имеет общие черты. Рассмотрим основные виды функциональных групп, которые могут присутствовать на поверхности кремнезёма (Рис. 7).

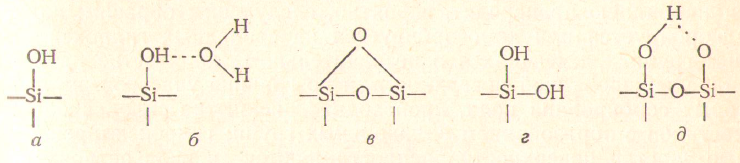


Рис. 7. Функциональные группы на поверхности кремнезёма.

На поверхности кремнезёма могут присутствовать одиночные силанольные группы (*а*), физически адсорбированная вода (*б*), силоксановые группы, которые образуются в результате высокотемпературной обработки поверхности кремнезёма (*в*), две силанольные группы, связанные с одним атомом кремния (*г*), силанольные группы, связанные водородной связью (*д*). Обычно химическое модифицирование поверхности кремнезёма проводят после удаления физически связанной воды. Для химического модифицирования кремнезёма используют различные типы гетеролитических реакций. Следует отметить, что деление гетеролитических реакций на электрофильные и нуклеофильные относительно, так как чисто условно одно из двух веществ можно считать реагентом, а другое субстратом. В случае поверхности кремнезёма фиксированные на поверхности центры целесообразно рассматривать как центры атаки. Направление атаки будет определяться природой реагента и характером распределения электронной плотности на атомах активного центра поверхности. Следует отметить, что подход атакующего реагента с тыла в случае поверхности кремнезёма практически исключён. Следовательно, реализуется механизм близкий к процессам внутримолекулярного замещения. SNi или SEi. По механизму SEi протекает большинство реакций с участием кремнийорганических соединений, на которых основаны методы функционализации поверхности. При этом на стадии, определяющей скорость реакции, постулируется образование квазициклических (главных образом, четырёх центровых) переходных комплексов с последующим разрушением существующих химических связей и образованием новых соединений. К реакциям электрофильного замещения протонов в силанольных группах SEi относят взаимодействия с хлор- и алкоксисиланами, дибораном, галогенидами различных элементов. К процессам нуклеофильного замещения относят галоидирование, аммонолиз, гидролиз и алкоголиз поверхностных групп, растворение в щелочах, а также реакции с реактивом Гриньяра. Выделяют также реакции нуклеофильного и электрофильного присоединения (AdN, AdE, AdN,E). В случае электрофильного присоединения атака осуществляется электрофильным реагентом по атому кислорода силанольной группы. В качестве примера можно отметить реакцию силанольных групп с бутилизоцианатом и этиленимином. Процесс электрофильного присоединения можно рассматривать как стадию электрофильного замещения протона в силанольной группе с последующим присоединением водорода к атому азота. Вероятно, что это происходит синхронно. Реакционноспособными центрами поверхности могут одновременно выступать атомы кремния и кислорода силоксановых связей. В этом случае реализуется механизм AdN,E. Примером такой реакции может служить взаимодействие силоксановых групп с фтористым водородом. Необходимо также учитывать возможности протекания процессов отщепления (Е) с участием поверхностных химических соединений.

Рассмотрим основные закономерности реакций замещения протона силанольных групп поверхности кремнезёма. Триметилхлорсилан используют для гидрофобизации поверхности кремнезёма. При хемосорбции этого регента на кремнезёме уменьшается потенциал дисперсионных сил из-за удаления молекул адсорбата от кремний-кислородного остова. Реакция триметилхлорсилана с изолированной силанольной группой поверхности рассматривается как бимолекулярное переходное состояние, имеющее структуру тригональной бипирамиды с атомом кремния в 3sp3d-гибридизации, при этом атом хлора и две метильные группы лежат в той же плоскости, что и атом кремния. А одну из вершин тригональной бипирамиды занимает атом кислорода силанольной группы поверхности, использующий для образования связи одну неподелённую пару. Удаление хлористого водорода из этого комплекса возвращает атом кремния в 3sp3-состояние с образованием стабильного продукта, связанного с поверхностью силоксанового мостика. Подробно было исследовано взаимодействие метилхлорсиланов ClnSi(CH3)4-n с одиночными силанольными группами, при этом установлено, что реакция протекает монофункционально и энергия активации уменьшается с увеличением количества хлор-групп (n).

Изолированные силанольные группы могут взаимодействовать также с триметилиодсиланом ISi(CH3)3 и с триметилбромсиланом BrSi(CH3)3. Интересно сравнить реакционную способность этих реагентов с триметилхлорсиланом ClSi(CH3)3. Было установлено, что поверхностные реакции с этими реагентами идут по механизму SEi. Отмечено, что концентрация групп –Si(CH3)3 соответствует концентрации –ОН групп. По активности в реакциях с изолированными силанольными группами поверхности триметилгалогенсиланы располагаются в следующий ряд:

ISi(CH3)3 >> BrSi(CH3)3 >> ClSi(CH3)3

В этом ряду уменьшение длины связи кремний-галоген приводит к увеличению энергии связи кремний-галоген и к уменьшению реакционной способности. Было установлено, что хемосорбция ClSi(CH3)3 по изолированным силанольным группам происходит при высокой температуре (выше 300°C), а хемосорбция BrSi(CH3)3 идёт при 50°C. Наиболее реакционноспособным из этого ряда является ISi(CH3)3, который взаимодействует с поверхностью кремнезёма при комнатной температуре.

Реакции силанольных групп поверхности кремнезёма с алкоксисиланами также протекают по механизму электрофильного замещения. Квантово-химический анализ электронной структуры метилэтоксисиланов и тетраэтоксисилана показал, что в ряду

(CH3)4-n Si(OC2H5)n (n = 1 – 4) с увеличением числа этокси-групп возрастает эффективный положительный заряд на атоме кремния, что и приводит к максимальной активности при взаимодействии со структурными гидроксилами. Максимальной реакционной способностью обладает тетраэтоксисилан Si(OC2H5)4.

Для химического модифицирования аэросилов, адсорбентов и твёрдых носителей, используемых в газо-адсорбционной и газо-жидкостной хроматографии, часто применяют гексаметилдисилазан (CH3)3Si-NH-Si(CH3)3. Следует отметить, что при взаимодействии с изолированными силанольными группами этот реагент более реакционно способен, чем хлор- и алкоксисиланы. Было установлено, что все указанные выше реагенты взаимодействуют с силанольными группами поверхности кремнезёма по механизму SEi с образованием четырёхцентовых переходных комплексов. При этом их можно расположить по реакционной способности в следующий ряд: органосилазаны >> органоалкоксисиланы >> органохлорсиланы. Следует отметить, что важное значение имеет величина положительного заряда на атоме кремния атакующей молекулы, а также степень нуклеофильного содействия со стороны уходящего заместителя, которая определяется его протоноакцепторными свойствами. Аммиак, который выделяется в реакции взаимодействия гексаметилдисилазана с силанольными группами поверхности кремнезёма, выступает как эффективный катализатор в процессах конденсации силанолов. Следует отметить, что гексаметилдисилазан активно взаимодействует как с одиночными силанольными группами, так и с гидратированной поверхностью кремнезёма.

Для модифицирования поверхности кремнезёма иногда используют алкилсилоксаны. Эти соединения уступают в реакционной способности указанным выше реагентам. Установлено, что хемосорбция гексаметилдисилоксана по изолированным силанольным группам начинает протекать при температуре 380°C. Основность кислорода в алкилсилоксанах ниже, чем в соответствующих алкоксисиланах. Это обусловлено взаимодействием между неподелёнными p-электронами атома кислорода и вакантными 3d-орбиталями кремния, которое получило название pπ-dπ сопряжения. Хемосорбция циклических метилсилоксанов (гексаметилциклотрисилоксана и октаметилциклотетрасилоксана протекает в более мягких условиях, чем хемосорбция гексаметилдисилоксана. Это объясняют следующим образом: в циклических метилсилоксанах уменьшается угол Si-O-Si и степень pπ-dπ сопряжения, в результате чего увеличиваются электроноакцепторные свойства атома кремния и электронодонорные свойства атома кислорода, что приводит к более высокой активности этих соединений.

Хлорирование кремнезёма является первой стадией многих синтезов органических соединений, которые могут быть использованы для иммобилизации различных лекарственных препаратов. Хлорирование кремнезёма можно проводить путём обработки его поверхности тетрахлоридом кремния, либо посредством обработки кремнезёма тетрахлорметаном. Однако наиболее простым методом хлорирования, является использование тионилхлорида. Этот реагент обеспечивает хлорирование кремнезёма при умеренных температурах (150°C). Механизм хлорирования кремнезёма с помощью тионилхлорида вызвал дискуссию среди учёных, занимающихся химией поверхности кремнезёма. В частности, была высказана гипотеза, что этот процесс идёт через нуклеофильное замещение структурной силанольной группы с образованием на стадии, определяющей скорость процесса, шестицентрового квазициклического переходного комплекса. Эта гипотеза предусматривала прямое хлорирование кремнезёма. Однако известно, что спирты и карбоновые кислоты взаимодействуют с SOCl2 не путём прямого хлорирования, а с образованием соответствующих ацил- или алкилгалогенидов. Поэтому вероятнее предположить, что процесс хлорирования кремнезёма протекает по схеме, включающей на первой стадии электрофильное замещение протона силанольной группы, а затем происходит нуклеофильная атака хлора на кремний. В пользу такого механизма говорит присутствие в аэросиле после реакции с SOCl2 небольшого количества сульфогрупп. Подобные перестройки поверхностных соединений представляют общий класс реакций, объединяющий процессы SNi и SEi. Примером этих процессов может служить хемосорбция WCl6 на изолированных ОН-группах. В результате этой хемосорбции образуются поверхностные соединения SiOWCl5, которые при нагревании разлагаются с элиминированием оксихлорида вольфрама.

Химическое модифицирование поверхности кремнезёма галогенидами и оксигалогенидами широко используют для синтеза сорбентов и катализаторов, а также для получения матриц, предназначенных для координационно-ионной иммобилизации ферментов. К настоящему времени изучено взаимодействие кремнезёма с галогенидами бора, алюминия, титана, олова, германия, циркония, ванадия, железа и других элементов. Галогениды представляют собой сильные кислоты Льюиса, являются электрофильными реагентами, и поверхностные реакции с их участием можно отнести к реакциям электрофильного замещения протона силанольной группы. В продуктах модифицирования кремнезёма галогенидами присутствует ковалентная связь элемент-галоген, которая легко гидролизуется с образованием поверхностных гидроксильных групп. В результате последовательной обработки поверхности парами галогенидов и воды происходит образование поверхностного оксида. Эти реакции послужили основой для метода молекулярного наслаивания (ALD), который в настоящее время широко используется в различных областях науки и техники. Рассмотрим некоторые особенности механизма взаимодействия галогенидов с поверхностью кремнезёма на примере хемосорбции тетрахлорида титана. Были подробно изучены влияния температуры этого процесса на строение поверхностных соединений. Установлено, что с предельно гидроксилированной поверхностью силикагеля тетрахлорид титана реагирует трифункционально, с изолированными силанольными группами, которые образуются на поверхности кремнезёма при высокотемпературной обработке, реакция идёт монофункционально. Высокая температура подготовки поверхности приводит к снижению содержания титана, а снижение температуры реакции способствует возрастанию содержания титана.

Хемосорбция спиртов является наиболее простым одностадийным способом введения на поверхность эфирных соединений заданного состава и строения. Этот путь позволяет регулировать свойства поверхности многих практически важных адсорбентов, наполнителей полимеров, загустителей дисперсионных сред. В результате хемосорбции спиртов происходит гидрофобизация поверхности, что может быть использовано для иммобилизации различных лекарственных препаратов. К настоящему времени осуществлены и хорошо изучены реакции кремнезёма с линейными и разветвлёнными алифатическими спиртами, бифункциональными молекулами (аминоспирты, оксикислоты, оксиперекиси, многоатомные спирты), ароматическими спиртами. Исследования показали, что этерификация поверхности кремнезёма идёт через нуклеофильное замещение ОН-группы у атомов кремния по механизму SNi через образование квазициклических комплексов. Методом меченых атомов (изотопная метка по кислороду) было доказано, что в конечное поверхностное эфирное соединение входит кислород атакующей молекулы спирта. Количественные данные по адсорбции H2O, CH3OH, HF показали, что активными центрами поверхности при взаимодействии с этими электронодонорными реагентами являются атомы кремния, несущие структурные гидроксильные группы. Следует отметить, что электроноакцепторные свойства атомов кремния привитых алкоксильных групп по отношению к молекулам воды являются основной причиной гидролитической нестабильности поверхностных соединений со связью Si-O-C. Рассмотрим факторы, определяющие хемосорбцию спиртов. Исследования показали, что на хемосорбцию спиртов влияют следующие факторы:

1) Режим термовакуумной обработки;

2) Концентрация реагента в поверхностном слое;

3) Строение и химические свойства спиртов;

4) Наличие катализаторов.

При высокой концентрации спиртов в поверхностном слое образуются многоцентровые переходные комплексы с включением атома кислорода и протона координационно связанной молекулы спирта. В таких комплексах сводится к минимуму разделение зарядов и облегчается выделение продуктов реакции. Установлено, что образование поверхностных эфирных соединений и их гидролиз ускоряются в присутствии паров органических соединений, таких, как н-пропиламин, триэтиламин, диэтиламин. Каталитическое действие этих соединений обусловлено акцепторными свойствами оснований по отношению к протонам спиртовых молекул. Введение катализаторов существенно влияет на температуру реакции этерификации, например без катализатора этерификация идёт при температуре 250°C, а с катализатором – при комнатной температуре.

Полная этерификация структурных силанольных групп кремнезёма протекает в жёстких условиях. В то же время, хемосорбция спиртов на хлорированных кремнезёмах осуществляется при комнатной температуре. Причина этого явления связана с различием электрофильности групп Si-OH и Si-Cl. Следует отметить, что активность групп Si-OR в реакции переэтерификации низка. Таким образом, реакционная способность указанных поверхностных групп по отношению к спиртам убывает в ряду:

Si-Cl >> Si-OH >> Si-OR.

В случае постоянного фиксированного центра глубина процесса этерификации определяется следующими факторами:

1) Электронодонорная способность молекулы атакующего спирта;

2) Строение молекулы спирта (геометрические характеристики);

3) Способность молекулы спирта к поляризации.

Установлено, что процесс этерификации поверхности эффективно протекает при атаке кремния реагентом с большей основностью. Нормальные алифатические спирты в целом обеспечивают более полное замещение гидроксилов поверхности на эфирные группы, чем разветвлённые спирты того же состава.

Если кремнезём подвергнуть высокотемпературной (700°C и выше) термовакуумной обработке, то происходит сильная деформация поверхности с образованием силоксановых групп. По этим центрам происходит хемосорбция спиртов, воды и аммиака. Следует отметить, что проведение реакции этерификации кремнезёма спиртами в жидкой фазе при высокой температуре и давлении в автоклаве приводит к высокому содержанию эфирных групп. В отдельных случаях наблюдается расщепление силоксановых связей и появления растворимых соединений кремния.

Электроно- и протонодоноры могут существенно влиять на скорость хемосорбции и на степень заполнения поверхности молекулами модификатора. Рассмотрим подробно этот вопрос на примере хемосорбции триметилхлорсилана, который часто используется для гидрофобизации поверхности кремнезёма. В качестве катализатора в этом процессе используют триэтиламин, который образует с поверхностными гидроксильными группами прочные водородные связи. Это приводит к увеличению эффективного заряда на кислороде силанольной группы, что облегчает процесс электрофильного замещения протона. Влияние триэтиламина существенно отражается на температуре, при которой происходит хемосорбция триметилхлорсилана. Обычно триметилхлорсилан реагирует с силанольными группами при температуре 300°C, а в присутствии триэтиламина (Et3N) реакция начинается при комнатной температуре. Эффект влияния катализатора проявляется при температуре до 100°C. Считают, что основное значение при хемосорбции триметилхлорсилана в присутствии триэтиламина имеет образование промежуточного комплекса, который разрушается при более высоких температурах. Действие триэтиламина связано с увеличением нуклеофиольности кислорода и ослаблением связи O–H–. Следует отметить, что активирующее влияние на процесс хемосорбции оказывают пары диэтилового эфира, ацетона и других электронодоноров. Указанные выше катализаторы оказывают влияние также на хемосорбцию органосиланолов, которая протекает по механизму электрофильного замещения.

Большое значение для получения различных сорбентов и носителей биологически-активных соединений имеет хемосорбция алкоксисиланов на поверхности кремнезёма. Установлено, что хемосорбция алкоксисиланов, имеющих аминогруппы, идёт легче, чем аналогичных алкильных аналогов. В частности, 3-аминопропилтриэтоксисилан ((EtO)3Si-(CH2)3NH2) реагирует легче, чем этилтриэтоксисилан ((EtO)3SiC2H5). В этом случае роль катализатора, очевидно, играет аминогруппа модификатора. Были проведены исследования влияния различных аминосодержащих катализаторов на процесс хемосорбции алкоксисиланов. Установлено, что при взаимодействии с аэросилом в толуольном растворе метилтриметоксисилана (CH3Si(OCH3)3) по каталитическому действию органические основания располагаются в ряду следующим образом:

C2H5NH2 >> (C2H5)2NH >> NH3 >> (C2H5)3N >> C5H5N (пиридин).

Предполагают, что в процессе хемосорбции этиламин, диэтиламин и аммиак поставляют метокси-группе протон, оказывая содействие выделению газообразного продукта. При этом образуются циклические переходные структуры. Установлено, что небольшие количества хлористого водорода, ускоряют хемосорбцию алкоксисиланов. При этом в процессе хемосорбции, образуются шестицентровые переходные комплексы с участием SiOH, HCl и алкоксисилана. Было обнаружено, что хемосорбция органосилоксанов также ускоряется в присутствие HCl. В этом процессе возможно образование переходных циклических структур, что объясняет высокую эффективность мдифицированния поверхности смесью хлорсиланов и органосилоксанов. Органические основания и аммиак также ускоряют хемосорбцию органосилоксанов. Однако следует подчеркнуть, что с увеличением температуры выше 180°C влияние катализаторов ослабевает. Можно предположить, что в этом процессе важную роль играют промежуточные комплексы, которые разрушаются с ростом температуры.

*Влияние функциональных групп реагентов.*

В результате многочисленных исследований было установлено, что прививка бифункциональных молекул, как правило, осуществляется в более мягких условиях, чем прививка алифатических спиртов. В этих случаях содействие протеканию реакции на поверхности осуществляется с помощью функциональных групп, атакующих молекулу. Для реакции SNi–Si на поверхности кремнезёма получен ряд:

HOCH2CH2NH2 >> HOCH(CH3)COOH >> HOCH2CH2OH >> HOCH2CH3.

В этом ряду наибольшей реакционной способностью обладает этаноламин, что, очевидно, связано с протоноакцепторными свойствами азота в аминогруппах. Следует отметить, что влияние азотсодержащих функциональных групп реагента характерно и для реакции нуклеофильного присоединения. Например, в отличие от окиси этилена, реакция кремнезёма с этиленимином протекает с образованием групп –Si–O–CH2–CH2–NH2 при комнатной температуре. Это связано с протоноакцепторными свойствами азота в этиленимине.

Важным свойством при изучении химии поверхности кремнезёма является плотность прививки – количество привитых групп на 1 нм2. Она играет большую роль при использовании модифицированных кремнезёмах в биомедицинских исследованиях. Отметим основные факторы, влияющие на плотность прививки:

1. Содержание гидроксильных групп на поверхности кремнезёма. Для получения высокой плотности прививки обычно проводят гидроксилирование поверхности кремнезёма с целью получения предельно гидроксилированной поверхности, на которой содержание гидроксильных групп составляет 4,6 – 4,8 групп/нм2. Следует отметить, что плотность прививки никогда не превышает содержания гидроксильных групп на поверхности исходного кремнезёма. С увеличением температуры прокаливания, содержание гидроксильных групп уменьшается, при этом при температуре прокаливания 800°C содержание гидроксильных групп не превышает одной группы на нм2. Плотность прививки различных модификаторов с ростом температуры прокаливания кремнезёма также уменьшается. Изменяя температуру прокаливания кремнезёма, можно регулировать плотность прививки модификатора.

2. Влияние строения модификатора на плотность прививки. Исследования влияния длины углеводородной ножки на плотность прививки химически модифицированных кремнезёмов показали, что плотность прививки заметно снижается с увеличением длины алкильных цепей. Было также установлено, что увеличение числа фенильных заместителей в ряду фенилметилхлорсиланов PhSi(CH3)Cl >> Ph2SiCH3Cl >> Ph3SiCl приводит к заметному снижению плотности прививки.

3. Влияние природы функциональной группы модификатора. В случае наличия аминогруппы в органическом радикале модификатора, плотность прививки существенно ниже, чем для других функциональных групп, что по- видимому, связывают с экранированием части силанольных групп вследствие образования прочных водородных связей. Было установлено, что нитрильная и сложноэфирная группы не приводят к заметному снижению плотности прививки.

4. Влияние пористой структуры. Уменьшение размера пор кремнезёмов при использовании модификаторов с большим органическим радикалом, как правило, приводит к уменьшению плотности прививки. Это объясняется стерическими препятствиями, которые возникают при хемосорбции модификатора в узких порах носителя.

5. Влияние строения якорной группы. Установлено, что для триэтоксисиланов характерна более низкая плотность прививки, чем для триметоксисиланов, что обусловлено размерами якорной группы. Обычно на практике для достижения максимальной плотности прививки используют предельно жёсткое условия (высокую концентрацию модификатора, повышенную температуру и большое время реакции), а также различные катализаторы, в качестве которых применяют органические основания.

В настоящее время для химического модифицирования кремнезёма используют два различных синтетических подхода, которые принято называть «метод иммобилизации» и «метод химической сборки». Метод иммобилизации заключается в одностадийном закреплении модификатора на поверхности матрицы. Преимуществами данного метода являются простота синтеза, однородность состава привитых поверхностных групп, высокая плотность прививки, возможность проведения газо- и жидкофазного модифицирования. Однако существуют трудности, связанные с ограниченным количеством свободных модификаторов из-за несовместимости в них якорных и функциональных групп, необходимых для синтеза, а также сложности синтеза некоторых модификаторов. В этом случае применяют метод химической сборки. Сущность метода состоит в том, что на первой стадии прививают относительно простой модификатор, который затем модифицируют до получения поверхностного соединения с требуемыми функциональными группами.

Для получения кремнезёмов, используемых в биомедицинских исследованиях, используют оба указанных выше синтетических подхода.

### 3.1.2. Применение кремнезёма в биомедицине.

#### 3.1.2.1. Онкотерапия.

Наночастицы аэросила применяли для иммобилизации фуллерена с целью его использования в фотодинамической онкотерапии благодаря его способности генерировать активные формы кислорода. По причине того, что фуллерены обладают гидрофобным характером, их введение в биологическую среду весьма затруднительно, однако иммобилизация его на гидрофильных частицах аминоаэросила позволяет использовать фуллерены в качестве лекарственного препарата. При изучении цитотоксичности полученных фуллеренсодержащих нанокомпозитов, было доказано, что без облучения они не влияют на жизнедеятельность клеток, но при облучении видимым или ультрафиолетовым светом деструкция клеток повышается, причём в большей степени это касается раковых клеток.

#### 3.1.2.2. Доставка лекарственных препаратов в головной мозг.

Для доставки мет-энкефалина в головной мозг использовались носители на основе гидрозоля наночастиц SiO2. При получении использовалась ультразвуковая обработка с последующей сорбцией лекарственных препаратов. Установлено, что за счёт небольшого диаметра частиц кремнезёма (6 – 10 нм) обеспечивалось прохождение лекарственного вещества через гематоэнцефалический барьер с последующим пролонгированным высвобождением медикамента за время присутствия комплекса носитель + лекарство в организме. Следует отметить, что органами ретикуло-эндотелиальной системы преимущественно поглощаются частицы диаметром более 100 нм, а частицы кремнезёма указанного выше размера не затрагиваются.

#### 3.1.2.3. Доставка лекарственных препаратов в миокард.

Отметим некоторые практически важные результаты исследований биологических свойств нанодисперсного кремнезёма. Была проведена оценка биосовместимости наночастиц модифицированного кремнезёма (аэросила) при их внутривенном введении путём регистрации возникающих изменений гемодинамических параметров и дыхательных функций. Опыты поводились на крысах. В частности, регистрировали систолическое и диастолическое, среднее и пульсовое артериальные давления (АД), частоту сердечных сокращений (ЧСС) и частоту дыхательных движений (ЧДД). После первого и последующих введений препарата кремнезёма уровень среднего АД и ЧСС достоверно не изменялся, а также не изменялось ЧДД. Биораспределение наночастиц кремнезёма (НЧК) оценивалось методом оптической флуоресценции после внутривенного введения дозы НЧК с иммобилизованным флуоресцеином. Через 30 минут после окончания введения НЧК максимальный прирост уровня флуоресценции был обнаружен в лёгком и составил 30%. В порядке убывания прирост уровня флуоресценции составил 23% (селезёнка), 22% (печень), 18% (сердце), 7,8% (почки) и 3,7% (головной мозг). Таким образом, было установлено, что многократное внутривенное введение наночастиц кремнезёма не сказывается на системных гемодинамических показателях и дыхании животного, что косвенно свидетельствует о хорошей биологической совместимости кремнезёмных биотранспортерах. Естественное биораспределение НЧК характеризуется их преимущественным накоплением в органах, содержащих большое количество фагоцитов. При исследовании биодеградации наночастиц кремнезёма опирались на гипотезу ступенчатой эрозии и преобразовании SiO2 в кремниевую кислоту с последующим выделением её почками. Анализ содержания кремния методом атомно-абсорбционной спектроскопии показал, что за 30 дней из организма крыс в результате процесса биодеградации выводится около 90% введённого кремнезёма. Принципиально важные данные, доказывающие эффективность концепции пассивной направленной доставки по конечному терапевтическому эффекту, были получены при анализе инфаркт-лимитирующего эффекта аденозина, адсорбированного на наночастицах кремнезёма. Адсорбция аденозина на НЧК позволяет уменьшить вводимый объем лекарственного препарата при системном введении, обеспечивая максимальную концентрацию аденозина в органе мишени, где он оказывает кардиопротективное действие. В ходе исследования распределения кремнезёма в здоровом организме крысы и во время ишемии сердца был установлен существенный рост содержания кремнезёма в повреждённом органе, что даёт право говорить о направленной доставке препаратов на основе наночастиц модифицированного аэросила в ишемизированый миокард.

В заключение отметим, что перспективность использования химически модифицированных кремнезёмов для создания лекарственных препаратов с адресной доставкой обусловлено следующими факторами:

1) Разнообразие нанодисперсных носителей: выбор необходимого осуществляется от цели эксперимента;

2) Наличие широкого круга методов химического модифицирования поверхности, которые могут быть использованы для иммобилизации биологически активных соединений на кремнезёмных носителях;

3) Возможность закрепления на поверхности одной наночастицы кремнезёма лекарственных соединений и лигандов, обеспечивающих адресную доставку;

4) На основе кремнезёмных матриц возможно создание лекарственных препаратов пролонгированного действия путём использования ковалентной и координационно-ионной иммобилизации биологически активных соединений;

5) Доступность осуществления контроля за биораспределением наночастиц путём иммобилизации на их поверхности молекул маркеров (флуоресцеин и др.);

6) Биосовместимость (антитромбогенные свойства, отсутствие аллергических реакций, отсутствие токсикоза, опухолеобразования, отсутствие заметного влияния на функциональные характеристики организма) и способность к биодеградации (распад вещества под действием биологических жидкостей, преимущественно гидролиз) нанодисперсных частиц кремнезёма.

#### 3.1.2.4. Адсорбция патогенной микрофлоры.

С использованием явления агглютинации были изучены количественные характеристики микробных клеток и частиц высокодисперсного кремнезёма (аэросила). Исследованы взаимодействия дисперсного кремнезёма с энтеропатогенными кишечными палочками, золотистым стафилококком, вульгарным протеем, синегнойной палочкой. Оказалось, что агглютинация наступает при определённых соотношениях между сорбентом и микроорганизмом: на одну микробную клетку должно приходиться не менее 6,6·105 частиц SiO2. Площадь поверхности кишечной палочки длинной 2 мкм и радиусом 0,25 мкм составляет примерно 3,5·106 нм2, проекция частицы SiO2 – 113 нм2. Соответственно на поверхности кишечной палочки может поместиться около 3·104 частиц SiO2 в виде сплошного монослоя. Даже если учесть, что реальная поверхность микроорганизма больше, то и в этом случае минимальное агглютинирующее число частиц на 1 – 2 порядка превышает количество, необходимое для создания монослоя для поверхности клетки. Вероятно, происходит образование конгломератов частиц сорбента с включением в них микробных клеток. Бактериологические исследования свидетельствуют, что образование агглютинатов микробных клеток и частиц SiO2 сопровождается достаточно прочным связыванием микроорганизмов. В результате изучения влияния высокодисперсного кремнезёма на раневую микрофлору установлено, что он одинаково интенсивно связывает как грамположительные кокки (стафилококки), так и грамотрицательные палочки (синегнойная палочка). Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что благодаря эффекту агглютинации высокодисперсный кремнезём способен связывать значительные количества микроорганизмов. Препарат связывает не только микробы, но и адсорбирует факторы их роста и размножения, а также микробные экзотоксины. Таким образом, высокодисперсный кремнезём, не проявляя прямого антибактериального действия, существенно ограничивает реализацию патогенных свойств микроорганизмов, что лежит в основе терапевтического действия препарата, например при лечении гнойных ран, и острых кишечных инфекций.

Раннее предполагалось, что любой сорбент должен вести себя в кишечнике как относительно инертный материал, но данные литературы последних лет свидетельствуют об обратном, и это относится даже к природным пищевым волокнам, влияние которых на организм исследовано в наибольшей степени. Выяснилось, что их применение заметно изменяет состояние пищеварительного тракта животных. Так, отруби, пектин, гуаровая смола и другие вещества изменяют состояния химуса, скорость его пассажа, в ряде случаев и рН в просвете кишечника. Сорбенты влияют также на состояние стенки кишечника, в первую очередь его слизистой оболочки. Длительный приём целлюлозы уменьшает длину тонкой кишки. Пищевые волокна могут стимулировать рост эпителиоцитов кишечника, увеличивая площадь поверхности слизистой, или оказывать «абразивный» эффект. Большинство энтеросорбентов стимулирует кишечную моторику, но некоторые из них замедляют транзит пищи, вызывая у пациента задержку стула (полифепан) или запоры (угольные сорбенты). Исследования слизистой кишечника у животных, получавших полифепан в дозе 1 г/кг, выявило внедрение частиц сорбента в межклеточное пространство и лимфатические капилляры, адсорбцию частиц на микроворсинах. Многие энтеросорбенты влияют на процессы пищеварения, всасывания и секреции. Гуаровые волокна в терапевтической дозе угнетают секрецию глюкагона поджелудочной железы и повышают абсорбцию кальция. Целлюлоза повышает активность дисахаридаз, а сапонины угнетают активность лактазы, но повышают активность альфа-амилазы. Хитиновые сорбенты способны модулировать активность целого ряда ферментов – липазы, амилазы, глюкокиназы и простагландисинтетазы. Энтеросорбенты воздействуют и на кишечную микрофлору, регулируя её рост как за счёт сорбции микроорганизмов, так и посредством изменения среды их обитания. При энтеросорбции может нарушаться всасывание микроэлементов и витаминов – степень этого действия определяется видом сорбентов, продолжительностью их приёма и дозы. В соответствии с требованиями, предъявляемыми к вновь разрабатываемым лекарственным средствам, на различных видах животных (крысы, свиньи, кролики) исследовалась токсичность высокодисперсного кремнезёма в остром и хроническом эксперименте. Было установлено в результате комплексного исследования, что этот препарат в терапевтической дозе – 100 мг/кг (и даже превышающих таковую в 3 – 10 раз) не оказывает токсического действия.

#### 3.1.2.5. Применение кремнезёма в хирургической практике.

Применение высокодисперсного кремнезёма (силикса) в хирургической практике обусловлено такими его свойствами, как водопоглощение, осмотическая активность, сорбция белка, сорбция микроорганизмов, взаимодействие с клеточной мембраной, влияние на адгезию материалов раневой поверхности, гемостатическая и микролитическое действие. Раневой экссудат (особенно гной) содержит большое количество белка. Его концентрация может достигать 6%. Среди этих белков многие токсичны для организма. Белковую природу имеет большинство природных токсинов. Концентрация белка в экстрацеллюлярной слизи синегнойной палочки может достигать 9,2%. По способности сорбировать белок высокодисперсный кремнезём значительно превосходит другие сорбенты: дебризан в 4,5 – 5 раз; геливин, целесорб более, чем в 10 раз. Различные белки сыворотки крови (альбумин и глобулины), а, следовательно, и белки раневых экссудатов силикс сорбирует одинаково активно, т. е. не обладает избирательным действием. В клинической практике используют силикс в сочетании с марлевой повязкой при лечении гнойных ран. Следует отметить, что применение высокодисперсного кремнезёма упрощает смену повязки, уменьшает травматизацию ткани во время перевязки, что способствует улучшению результатов лечения. Были проведены исследования влияния этого материала на процесс свёртывания крови крыс *in vitro*. Выявлено, что препарат сокращает время свёртывания крови до 40%. Большинство исследователей выделяют три фазы раневого процесса – воспаление, регенерация и реорганизация рубца. Ведущими процессами, определяющими сущность первой фазы, являются инвазия патогенных микроорганизмов, нарушение микроциркуляции и гипергидратация тканей. Это сопровождается образованием биологически активных и токсических веществ бактериального и тканевого происхождения (большинство которых является белками и полипептидами), развитием и распространением некрозов. Именно в этой первой фазе течения раневого процесса высокодисперсный кремнезём проявляет себя как эффективный лечебный фактор. Следует отметить, что раневой процесс – это динамическое взаимодействие ряда патогенных факторов, деструктивных реакций и защитных сил организма. Определяющее значение для регенерации имеет характер течения первой фазы раневого процесса. В этот период часто развивается раневая инфекция, сепсис, кровотечения, вторичные некрозы и другие осложнения. Течение первой фазы во многом определяет общий результат лечения. Эта фаза достаточно лабильна и по сравнению с другими фазами более заметно откликается на лечебное воздействие. Большое значение для успешности последующего лечения имеет своевременность и эффективность оказания первой помощи, от которой в значительной степени зависит профилактика раневой инфекции. Последнее положение особенно актуально в тех ситуациях, когда доставка раненого в лечебное учреждение затягивается на сравнительно длительное время. В этом случае необходимо принять меры к «консервации» раны. Одним из ведущих элементов «консервации» ран является полифункциональная повязка. Высокодисперсный кремнезём наиболее полно отвечает требованиям «консервации» раны. Его применение в составе первичных повязок позволяет связать значительное количество микроорганизмов и предупредить их инвазию вглубь тканей. При этом следует отметить, отсутствие селективного действия сорбента относительно аэробной и анаэробной микрофлоры. Высокое и быстрое водопоглощение силиксом способствует обезвоживанию и мумификации нежизнеспособных тканей, переводу влажных некрозов в сухие, дегидратации отёчных тканей, купированию отёков. Исходя из этого была разработана повязка, содержащая высокодисперсный кремнезём, механически связанный с марлевой основой. Повязка имеет вид пластинок различных размеров и форм толщиной до 1 – 1,5 мм. Её накладывают на раневую поверхность и фиксируют бинтом. Данная повязка может применяться на этапах доврачебной и первой врачебной помощи. При отсутствии готовой повязки на раневую поверхность наносится порошок сорбента, на поверхность которого накладывается обычная асептическая повязка.

#### 3.1.2.6. Применение кремнезёма в стоматологии.

Сорбционные технологии открыли новые перспективы для лечения и профилактики стоматологических заболеваний. Уже первые публикации о дисперсном кремнезёме привлекли внимание широкого круга хирургов и стоматологов к этому сорбенту, чему способствовали такие его уникальные свойства, как высокое водопоглощение (до 950%), осмотическая активность, сорбция микроорганизмов, белков (до 800 мг/г), антисептическое и гемостатическое действие. Препарат не всасывается, снижает адгезию к поверхности раны, обладает иммуностимулирующими и антиаллергическими свойствами.

Наиболее частым видом поражения слизистой оболочки полости рта является катаральный стоматит. Проведённые клинические испытания высокодисперсного кремнезёма у 64 больных катаральным стоматитом и нарушением естественного, нормального самоочищения полости рта дали следующие результаты: при трёхкратном-пятикратном за сутки протирании или полоскании полости рта 2 – 4% взвеси сорбента в воде или в слабом растворе антисептика (фурацилина, перманганата калия) обеспечивалось исчезновение гиперемии слизистой (у 56 пациентов), неприятного запаха изо рта (у 62), инфильтрации (у 53).

Высокодисперсный кремнезём в сочетании с раствором хлоргексидина и раствором декаметоксина оказался высокоэффективным средством для лечения герпитического стоматита у детей, многоформной экссудативной эритемы, эрозивно-язвенной формы красного плоского лишая.

Высокодисперсный кремнезём успешно может быть использован для профилактики и лечения осложнений при удалении зубов. Разработана методика профилактики кровотечения из альвеолы удалённого зуба, заключающаяся в заполнении лунки порошком сорбента с последующим наложением на рану марлевого шарика. Спустя 20 – 30 минут шарик удаляют. Такой способ позволил снизить частоту рецидивов кровотечения. При удалении многокорневого зуба альвеолу каждого корня тампонируют отдельно. Тампонирование с применением высокодисперсного кремнезёма по своей эффективности превышает действие гомеостатической губки и свежей плаценты. При удалении тампона через сутки визуально можно проконтролировать состояние лунки окружающих тканей за счёт способности сорбента ускорять распад кровяного сгустка и модифицировать нежизнеспособные ткани. Это позволяет на ранних этапах произвести адекватную хирургическую коррекцию ткани раны.

Как известно, для лечения кариеса зубов и его осложнений в настоящее время применяют антибиотики, сульфаниламиды, ферменты, гормональные препараты, антисептики, средства растительного происхождения. Их разные лекарственные формы-растворы, пасты, эмульсии, мази, используемые путём аппликаций, орошений, ингаляций для лечения заболеваний зубов, острых и хронических воспалительных процессов тканей пародонта и слизистой оболочки рта, не позволяют в полной мере реализовать их фармакологический потенциал. Это обусловлено тем, что слюна постоянно уменьшает концентрацию применяемых веществ, снижая их эффективность. С целью усиления и пролонгирования действия применяемых препаратов стоматологи используют такие методы интенсивного введения, как электрофорез, ультрафонофорез, защитные повязки, которые требуют специальной аппаратуры, значительных затрат времени, больших количеств лекарственных препаратов. При этом не устраняется низкий уровень утилизации лекарств тканями (6 – 21%). Следует отметить, что в патогенезе заболеваний органов и тканей полости рта значительную роль играет микрофлора, токсические продукты её жизнедеятельности и патологические метаболиты. Это вызывает необходимость мер детоксикации с использованием, прежде всего препаратов, обладающих выраженными детоксиционными и пролонгированными свойствами. Именно такими свойствами обладают лекарственные препараты, иммобилизованные (закреплённые) на высокодисперсном кремнезёме. Его использование для иммобилизации лекарств позволяет решить проблему равномерного распределения небольших количеств биологически активных веществ в системе, продлить сроки их действия. Была проведена клиническая апробация нескольких иммобилизованных на высокодисперсном кремнезёме биологически активных препаратов, предназначенных для лечения острого, глубокого кариеса и заболеваний тканей пародонта. Биологическая паста, эффективность которой изучалась, состоит из сорбента, несущего на поверхности биологически активные вещества-микроэлементы (фтор, медь, цинк, марганец), антибиотики (смесь пенициллина, стрептомицина, левомицетина), и дистиллированной воды. Такая паста обладает высокой антимикробной активностью в отношении микрофлоры дентина на кариесные полости и синергизмом действия составных компонентов. Клиническая эффективность лечения глубокого кариеса зубов разработанной пастой оценивалась через 24 месяца у 325 пациентов, при этом положительные результаты были достигнуты у 89% пациентов.

Среди заболеваний пародонта большая доля принадлежит пародонтиту – воспалению тканей пародонта, которая характеризуется прогрессирующей деструкцией периодонтальной связки. Важную задачу его лечения составляет воздействие на микрофлору, которая играет существенную роль в патогенезе заболевания. Недостатки существующих препаратов антимикробного действия и сложности их использования в стоматологии стимулировали поиски новых путей лечения. Для лечения пародонтита были использованы иммобилизованные на высокодисперсном кремнезёме препараты растительного и синтетического происхождения: эвкалипт, фуразолидон, риванол, линкомицин, этоний с мочевиной, настойка календулы и аира, сальвин. Перечисленные лекарственные средства служат составными компонентами суспензий и паст для нанесения на десну и введения в десневые карманы. Под наблюдением находилось 1085 больных пародонтитом лёгкой и средней степени тяжести в возрасте 18 – 65 лет, которым было проведено лечение как неиммобилизованными препаратами (первая группа – 285 человек), так и иммобилизованными (вторая группа – 800 человек). Жалобы больных в обеих группах были идентичны и сводились к кровоточивости и болезни дёсен разных степеней интенсивности. Большинство больных указывало на наличие гноетечения из патологических зубодесневых карманов – от незначительного до множественных абсцессов, оголения корней и патологической подвижности зубов. Руководствуясь рекомендациями ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения), для учёта возрастных особенностей больных разделили на подгруппы: 20 – 44 и 45 – 64 года. У последних заболевания, как правило, имеют хроническое течение. У лиц пожилого возраста отмечается тенденция к повышению стойкости капилляров десны, возможно за счёт возрастных и атеросклеротических изменений в стенках периферических сосудов. Стандартный лечебный комплекс включал тщательную санацию полости рта: лечение кариеса зубов, удаление зубов и корней по показаниям, устранение травматических узлов, тщательное удаление зубных отложений с орошением дёсен растворами цитраля, соды, настоев трав. Параллельно больные получали витамины. Затем проводили местное лечение пародонтита одним из указанных препаратов (у пациентов первой группы путём аппликаций или инстилляции применяли пасту неиммобилизованного препарата, второй группы – иммобилизованого). Курс лечения составил 10 сеансов. Повторяли клинико-лабораторные обследования, после чего по показаниям назначили физиотерапевтические процедуры: гидро- и вакуум-массаж, электрофорез витаминов C и P аэрозольной ингаляцией. Наиболее выраженный и стойкий терапевтический стойкий эффект был получен у больных, которые лечились иммобилизованными на высокодисперсном кремнезёме препаратами.

По-видимому, это обусловлено пролонгированием основных лечебных свойств препаратов и сорбцией токсических продуктов из десны. Анализ результатов лечения пародонтита лёгкой и средней степеней тяжести линкомицином, риванолом, фуразолидоном, эвкалиптом, этонием, фурацилином, календулой, аиром, сальвином даёт основание заключить, что эффективность терапии зависит и от тяжести патологических процессов в пародонте. У больных с лёгкой степенью пародонтита после проведённого лечения полностью нормализовался цвет десны, исчезли отёчность и кровоточивость, значительно снизилась подвижность зубов. У большинства пациентов глубина патологических зубодесневых карманов уменьшилась в среднем на 1 мм. Исчезли неприятные ощущения в дёснах, стойкость капилляров десны при первичном обследовании у больных обеих групп после лечения значительно увеличилась. Лечение пародонтита средней степени тяжести было менее результативным, неприятные субъективные ощущения исчезали медленнее, воспалительные явления уменьшались через 4 – 5 сеансов терапии, в то время как у больных пародонтита лёгкой степени – через 2 сеанса. Тем не менее препараты-пролонги с этонием или индометацином, иммобилизованными на кремнезёме, успешно применялись и у больных с тяжёлым течением заболевания. Проведённые исследования показали, что в процессе лечения уменьшаются воспалительные явления в дёснах, причём, хотя каждый из испытуемых препаратов проявлял наилучшую эффективность при определённых формах заболевания, во все случаи действие иммобилизованного лекарства превосходило эффект исходного вещества. Повышение терапевтических активностей изучаемых препаратов, при иммобилизации их на сорбенте, вероятно, объясняется не только пролонгированием их фармакологического действия, но и сорбционными свойствами кремнезёма, позволяющими выводить из патологического очага токсины микроорганизмов и продукты распадов тканей. На основании проведённых исследований можно заключить, что апробированные иммобилизованные лекарственные препараты синтетического и растительного происхождения обладают терапевтическим эффектом в консервативном и хирургическом лечении заболеваний зубов, тканей пародонта и слизистой полости рта различной степени тяжести независимо от возраста. Это позволяет рекомендовать в широкую стоматологическую практику следующие иммобилизованные на высокодисперсном кремнезёме лекарственные средства: линкомицин, риванол, фуразолидон, индометацин, эвкалипт, растворы этония (0,5%), этония с мочевиной (0,5%), фурацилина (5%), календулы (10%), сальвина (1%), эвкалипта (0,1%).

## 3.2. Углеродные нанотрубки.

Со времён открытия углеродных нанотрубок (С. Ииджима, 1991) они привлекают внимание учёных для создания новых углеродных наноматериалов. Углеродные нанотрубки – цилиндрические каркасные наноструктуры (Рис. 8), которые можно представить как результат сворачивания графеновой сетки в бесконечный цилиндр. Они обладают уникальными свойствами: химической стабильностью, механической и термической устойчивостью, высокой удельной поверхностью, поэтому привлекательны для использования в различных областях науки и техники, а также в биомедицинских исследованиях. Трубки бывают однослойные (ОУНТ) и многослойные (МУНТ). Возможности применения нанотрубок существенно зависят от их структуры, которая определяется способом получения, а также методами очистки и функционализации.

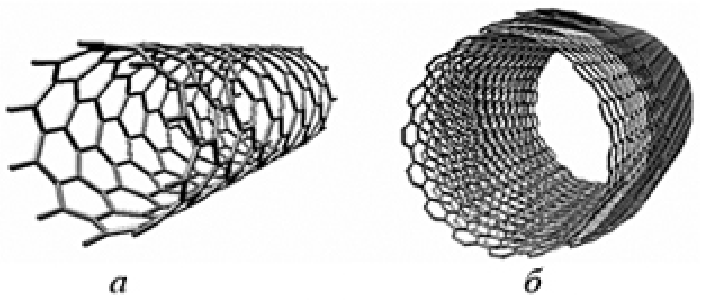


Рис. 8. Строение углеродных нанотрубок.

### 3.2.1. Методы получения углеродных нанотрубок.

В настоящее время для синтеза УНТ широко используют электродуговой метод, лазерную абляцию, метод химического осаждения из газовой фазы, а также плазмохимический синтез. Рассмотрим основные возможности этих методов.

*Метод химического осаждения из газовой фазы (CVD).*

В этом методе газообразный углеводород пропускают через трубчатую печь, нагретую до температуры 500 – 1000°C. В качестве катализаторов используют металлы, такие, как, железо, кобальт, никель. В качестве газа-носителя часто применяют водород. Механизм роста нанотрубок включает образование и распад неустойчивых карбидов. Конечный продукт содержит некоторое количество катализаторов, поэтому необходима очистка продукта. При очистке продукта вместе с катализатором удаляется аморфный углерод. При этом применяют кислотную обработку, тепловую обработку, ультразвуковую обработку и микрофильтрацию. Свойства углеродных нанотрубок, полученных методом CVD, зависят от температуры синтеза, концентрации углеводорода, размера частиц катализатора, предварительной обработки катализатора, времени реакции.

*Электродуговой синтез.*

При использовании этого метода в инертной атмосфере гелия или аргона между двумя графитовыми электродами создаётся электрическая дуга. Высокая температура вызывает испарение углерода, приводящее к формированию нанотрубок. Для получения конечного продукта часто используют очистку под действием потока кислорода или диоксида углерода. Метод электрической дуги позволяет получать однослойные и многослойные УНТ. Синтез проводят в присутствии металлического катализатора. Важными параметрами процесса являются расстояние между электродами, сила тока, напряжение и размеры электродов.

*Лазерная абляция.*

При абляции графит с металлическим катализатором подвергают выпариванию под воздействием лазерного излучения в инертной атмосфере газообразного гелия или аргона. Катализаторами служат кобальт и никель. Под воздействием лазера в газовой среде образуется УНТ, которые затем уносятся потоками газа в охлаждаемый коллектор. Очистку проводят в окислительной атмосфере при высокой температуре. Определяющими параметрами процесса являются глубина проникновения лазерного луча, его энергия, длительность импульса и длина волны. При тщательном наборе параметров можно синтезировать УНТ достаточно высокой чистоты. Лазерная абляция является наиболее предпочтительным методом для получения чистых УНТ.

*Плазмохимический синтез.*

В качестве катализаторов в плазмохимическом синтезе углеродных нанотрубок используют кобальт, никель и железо. Электроды, на который подают плазмообразующий газ, состоят из расплавленного металла. В специальной камере получают вихревой поток плазмообразующего газа. При конденсации образуются частицы металла, на которых разлагаются газообразные углеводороды. Продукты разложения углеводородов в виде нанотрубок выводят из зоны реакции. Конечный продукт состоит из однослойных УНТ и имеет металлические примеси. Такой способ упрощает процесс синтеза за счёт совмещения получения катализатора и синтеза нанотрубок в одном реакторе. Исключается сложный, дорогостоящий и многостадийный процесс синтеза наноструктурированного катализатора. Плазмохимический метод обладает высокой производительностью и позволяет существенно снизить стоимость углеродных нанотрубок. По предварительным данным цена на однослойные нанотрубки при использовании этого метода снижается почти в 10 раз.

Углеродные нанотрубки, получаемые различными методами обычно содержат значительное количество примесей. Для их удаления, как отмечалось выше, часто используют кислотную обработку. При этом применяют азотную кислоту, смесь азотной и серной кислот. Однако в этих условиях углеродные нанотрубки расщепляются на отдельные фрагменты, на концах которых находятся карбоксильные группы, что изменяет их химические и физические свойства. Следует отметить, что функционализация углеродных нанотрубок часто используется для связывания биологически активных соединений. Очистка УНТ и их функционализация существенно влияют на их биомедицинские свойства, включая токсичность.

### 3.2.2. Токсичность углеродных нанотрубок.

Токсичность и биосовместимость УНТ чрезвычайно важны при оценке возможностей их использования для доставки лекарственных препаратов. Исследования влияния УНТ на кератиноциты кожи человека показали, что их присутствие вызывает воспалительную реакцию, снижение жизнеспособности клеток и их морфологические изменения. Исследования *in vivo*, проведённые на морских свинках и крысах, выявили лёгочное воспаление и образование гранулем под воздействием УНТ, ненесущих лекарственные препараты. Однако нанотрубки в этих работах не подвергались очистке. Поэтому их токсическое действие могло быть обусловлено присутствием ионов металлов, связанных с трубками. В ряде работ изучали воздействие очищенных УНТ на клетки сердечной мышцы крыс. Результаты экспериментов не показали токсических эффектов очищенных УНТ, которые оказались биосовместимы с кардиомиоцитами. Токсичность УНТ также может быть вызвана их низкой растворимостью. Поэтому при ковалентном связывании молекул, повышающих растворимость УНТ, их токсичность значительно понижается. УНТ становятся, по мнению ряда учёных, вполне безопасными для использования в биологических системах.

### 3.2.3. Биомедицинское применение УНТ.

Возможности доставки небольших молекул лекарственных препаратов с помощью функционализированных УНТ исследовались в ряде работ. Рассмотрим некоторые примеры. Была проведена двойная функциональная модификация УНТ с флуоресцеином и антибиотиком амфотерицином (АМВ), который используют для лечения хронических грибковых заболеваний. Была исследована противогрибковая активность конъюгата АМВ-УНТ по отношению к трём видам грибков, заражающих человека. Флуоресцентный зонд служил для контроля захвата УНТ. Установлено, что связанный амфотерицин сохраняет высокую противогрибковую активность, что указывает на возможность применения нанотрубок для доставки противогрибковых препаратов.

Был получен конъюгат путём ковалентного связывания УНТ-NH2 c флуоресцентным зондом и противоопухолевым препаратом метатрексатом (препарат для лечения лейкимии). Установлено, что конъюгат на основе УНТ проникает в цитоплазму опухолевых клеток, причём захват метокриксата клетками стимулировался при конъюгации с УНТ. В ряде работ исследовали возможность доставки нуклеиновых кислот с помощью функционализированных углеродных нанотрубок. УНТ-NH2 связывали с плазмидной ДНК. Конъюгаты проходили сквозь клеточные мембраны и захватывались клетками. При этом УНТ обладали низкой цитотоксичностью, а связанная с ними плазмидная ДНК эффективно проникала в клетки. При этом, уровень экспрессии генов в 10 раз превышал уровень, достигаемый при использовании свободной ДНК.

Исследовалась возможность доставки белков с помощью УНТ. Был получен конъюгат белка стрептавидина с одностенными УНТ, содержащими кислотные группы. Эффективность действия такой системы *in vitro* оценивалась по влиянию на человеческие опухолевые клетки. Модифицированные нанотрубки были нетоксичны для клеток. Конъюгат белка с УНТ проникал в клетки посредством эндоцитоза и приводил к дозозависимой гибели клеток, хотя стрептавидин сам по себе не способен проникать в клетки. Эти исследования указывают на возможность использования УНТ в качестве переносчиков белков в терапевтических целях.

Большой интерес представляет изучение возможности доставки вакцины пептидов с помощью УНТ. Основной подход к использованию УНТ для доставки вакцин состоит в связывании антигена с нанотрубками, при этом должна сохраняться конформация антигена и, следовательно, вырабатываться антитела. Модифицированный УНТ ковалентно связывали с пептидной последовательностью вируса ящура (FMDV). Были получены трубки с одной или двумя пептидными последовательностями. Оба варианта пептидных производных УНТ вызывали сильные иммунные ответы у мышей. Это означает, что конформация антигена в процессе доставки сохранилась. Следует отметить, что это является обязательным условием выработки антител необходимой специфичности. Синтетические олигонуклеотиды с последовательностью цитозин-фосфодиэфир-гуанин у модельных мышей вырабатывают иммунитет против различных вирусных и бактериальных инфекций. Однако биологическая активность данных олигонуклеотидов быстро исчезает и требуется многократное введение высоких доз препаратов. Клетки слабо захватывают олигонуклеотиды из-за электростатического отталкивания отрицательных зарядов клеточной мембраны и антигена. Для доставки этих олигонуклеотидов в клетки мышей использовали УНТ с аминогруппами. Отрицательный заряд олигонуклеотидов нейтрализовался модифицированными УНТ. В результате отталкивание мембраны ослабевала и облегчалось проникновение олигонуклеотидов в клетки.

Приведённые примеры иллюстрируют способность УНТ доставлять биологически важные антигены в нужной конформации и, следовательно, указывают на потенциальную возможность использования УНТ для доставки вакцин.

## 3.3. Фуллерены.

### 3.3.1. Общие сведения и способы получения фуллеренов.

Открытие фуллеренов – новой аллотропной модификации углерода – одно из выдающихся достижений в области химии конца XX века (1985 год). Молекула фуллерена – это полая каркасная молекула сфероидальной формы, состоящая из чётного числа ковалентно связанных атомов углерода, расположенных в вершинах шести-пятиугольных циклов (Рис. 9).

Фуллерены получают различными способами. В 1990 году Крэчмэр и Хаффман с соавторами впервые предложили способ получения кристаллического фуллерена (фуллерита) при помощи дугового разряда. Позднее фуллерены начали получать путём испарения графита с помощью

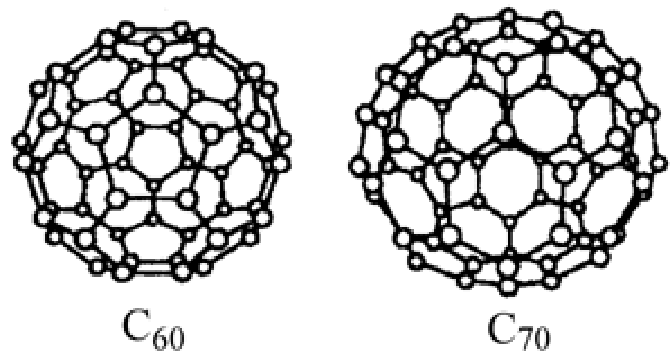


Рис. 9. Строение фуллеренов.

мощного излучения лазера. Предложены также несколько вариантов плазменного синтеза фуллеренов, методы омического электрического нагрева, высокочастотного нагрева, коронного разряда и метод сжигания углеродсодержащих веществ. Разработан также способ получения фуллеренов твердофазным синтезом. Согласно этому методу, графит смешивают с предварительно измельчённым катализатором, в качестве которого используют карбидообразующий металл (железо, никель, марганец, кобальт), гидрид лантана, оксид иттрия. Полученный материал подвергают ударно-сдвиговому воздействию в силовом поле с высокой энергонапряженностью в инертной среде. Фуллерены, полученные твердофазным синтезом, экстрагируют и выделяют. Этот метод позволяет осуществлять синтез фуллеренов с меньшими энергетическими затратами при упрощении аппаратурного оформления. Наиболее распространённым вариантом плазменного синтеза является метод дугового разряда. Разделить фуллерены с разной структурой и молекулярной массой можно, используя различия в их политермической растворимости, а также методами возгонки и жидкостной хроматографии. Среди методов разделения фуллеренов наиболее эффективна жидкостная хроматография. Для получения чистых индивидуальных фуллеренов определённой молекулярной массой в качестве стационарных фаз в жидкостной хроматографии используют углеродные материалы и кремнезёмы с привитыми органическими группами. Кроме указанных материалов для разделения фуллеренов также предложены минерально-углеродные сорбенты, сочетающие пористую структуру кремнезёмной матрицы и сорбционные свойства поверхности углеродных материалов. Эти сорбенты показали высокую эффективность при разделении смеси лёгких фуллеренов. В качестве кремнезёмного носителя при синтезе минерально-углеродных сорбентов используют силохром. При нанесении на поверхность силохрома углеродного слоя сохраняется глобулярная морфология, характерная для кремнезёмной матрицы. Такие сорбенты обладают высокой удельной поверхностью (120 – 130 м2/г) и мезопористой структурой.

Внутри молекулы фуллерена имеется полость, в которую можно ввести атомы других элементов. По строение фуллерены сходны с ароматическими соединениями и имеет единую π-электронную систему. Сочетание относительного высокого сродства к электрону и низкой энергией ионизации у фуллеренов указывает на то, что они могут служить как донорами, так и акцепторами электронов. В конденсированном состоянии С60-молекулярный кристалл, молекулы которого связаны силами Ван-дер-Ваальса.

Сравнение поведения фуллеренов с другими органическими молекулами показывает, что фуллерен С60 ведёт себя как электронодефицитный полиолефин, для которого делокализация электронов не имеет такого выраженного значения, как для ароматических соединений. Отметим, три основных правила, сформулированные Хиршем для фуллерена С60, которая определяет реакционную способность фуллеренов:

1. Общая связь двух гексагонов (6-6 связь) короче, чем общая связь гексагонов и пентагонов (5-6 связь), т.е. связь 6-6 имеет характер двойной связи, а связь 5-6 – одинарной.

2. Атом углерода в sp2-гибридизации вызывает высокую стерическую напряжённость молекулы.

3. Молекула С60 представляет собой электроотрицательную молекулу, которая может быть легко восстановлена, но трудно окислена.

Поэтому, подобно алкенам, фуллерены легко образуют продукты циклоприсоединения и вступают реакции присоединения с различными нуклеофилами. Основные реакции, используемые для получения водорастворимых производных, предназначенных для биомедицинских исследований, представлены на Рис. 10.

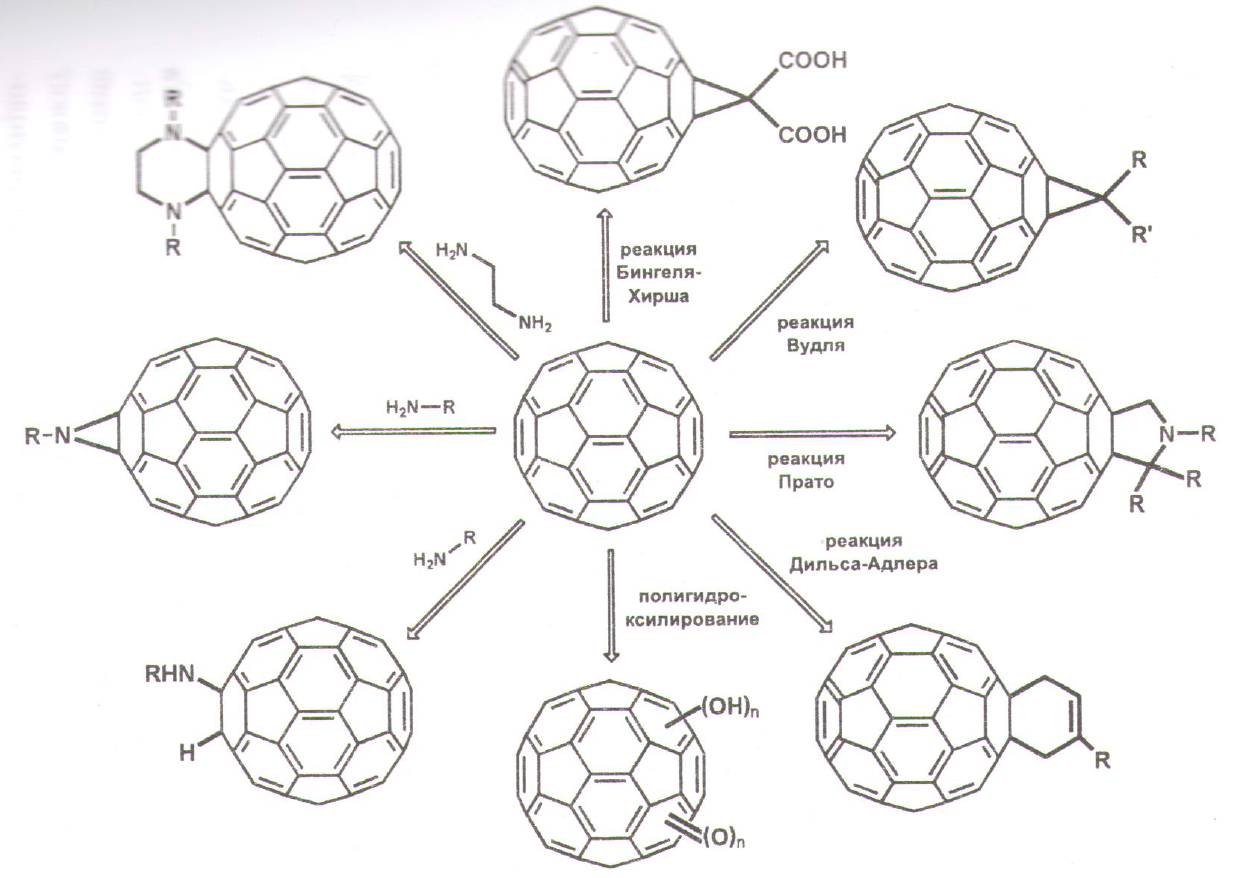


Рис. 10. Основные реакции присоединения к фуллеренам.

### 3.3.2. Биомедицинское применение фуллеренов.

Фуллерены – сильные антиоксиданты, способные нейтрализовать различные свободные радикалы, возникающие в патогенезе некоторых заболеваний, в частности в нейродегенеративных нарушениях. Свободные радикалы кислорода за счёт присутствия неспаренных электронов разрушают химические связи в важных биологических молекулах, например в нуклеиновых кислотах, вызывая повреждения и гибель клеток. Считается, что фуллерены прерывают этот процесс, поглощая повреждающие электроны. Модификация фуллеренов остатками малоновой кислоты привела к созданию соединений с высокой активностью при нейродегенеративных заболеваниях у модельных животных. Установлено, что производные фуллеренов проникают сквозь внешнюю клеточную мембрану и преимущественно накапливаются в митохондриях. Фуллерены используют также для ингибирования ВИЧ-протеазы. Установлено, что сильное гидрофобное взаимодействие между производными фуллерена и ферментом приводят к ингибированию вируса. Показано, что фуллерен с бис-фосфатными группами может связываться с костными тканями. Трис-малонат фуллерена С60 обладает антибактериальной активностью по отношению к стафилококкам. Гибель бактерий происходит из-за проникновения фуллерена в клетки и разрушении их структуры. Тетрааминопроизводное фуллерена связывает плазмидную ДНК и обеспечивает её введение в клетки млекопитающих. Захват клетками комплекса ДНК с фуллереном происходит посредством эндоцитоза. Введённая таким образом ДНК защищена фуллереном от ферментного расщепления. Получено и охарактеризовано растворимое в воде производное фуллерена, ковалентно связанное с антителами, распознающими антигены на опухолевых клетках человека. Сделан первый шаг в области создания систем направленной доставки противоопухолевых препаратов на основе фуллеренов. Установлен значительный противоопухолевый эффект и медленное высвобождение активного компонента в системе на основе конъюгатов фуллерена с паклитакселом. Металлофуллерены обладают потенциалом при использовании в качестве контрастных агентов для магнитно-резонансной томографии. Препарат Gd@C82(OH)40 как контрастирующий агент превосходит обычно применяемые для МРТ Magnevist (гадолиний-диэтилентетрааминопентауксусная кислота).

Отметим основные методы создания препаратов на основе фуллеренов, которые могут быть использованы для биологических исследований:

1. Покрытие с иммобилизованными фуллеренами. Покрытые фуллереном С60 поверхности были получены путём испарения бензольного раствора и могут быть использованы для выращивания клеточных культур. Плёнки можно получать испарением растворов фуллерена С60 в хлористом метилене или гексане. Данные микроскопии указывают, что на поверхности образуются отдельные фуллереновые кластеры.

2. Суспензии фуллеренов. Суспензии микромизированного кристаллического фуллерена использовались в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической инактивации оболочечных вирусов. В этом эксперименте смесь кристаллического фуллерена С60 с водой помещали в стальную мельницу и перемалывали до полной гомогенизации суспензии. После стерилизации суспензия была стабильна как минимум в течение двух месяцев, размеры частиц зависели от времени перемалывания.

3. Стабильные коллоидные растворы. Фуллерены С60 и С70 способны образовывать стабильные коллоидные растворы, которые иногда называют дисперсиями. Имеются три варианта получения дисперсий фуллерена. Дисперсию можно получить путём смешения фуллерена в органическом растворителе с водой с последующей отгонкой органического растворителя, путём обработки ультразвуком смеси раствора фуллерена в бензоле с водой, а также путём длительного перемешивания с водой. Рассмотрим подробнее один из этих методов. Насыщенный раствор фуллерена С60 в тетрагидрофуранесмешивали с водой, а затем удаляли растворитель продувкой током азота. Размер кластеров в конечном продукте составлял около 60 нм. Была установлена высокая (до 9 месяцев) устойчивость этих растворов. Следует отметить, что все эти дисперсии стабильны в чистой воде. В физиологическом растворе происходит коагуляция и выпадение осадка.

4. Водорастворимые комплексы с различными органическими соединениями. Среди этих соединений различают супрамолекулярные комплексы (комплексы включения) с относительно низкомолекулярными веществами или полимерами, а также комплексы, полученные путём растворения с помощью поверхностно активных веществ. В комплексах включения типа гость-хозяин используются циклодекстрины. Известны три вида циклодекстринов: α-циклодекстрины, β-циклодекстрины, γ-циклодекстрины. Только последний способен образовывать комплексы с фуллеренами. Внутренний диаметр полости γ-циклодекстрина составляет 7,5 – 8,3 ангсрема. Диаметр молекулы С60 составляет около 1 нм. Поэтому он может войти в полость молекулы γ-циклодекстрина не полностью, поэтому образуется комплекс включения, имеющий стехиометрию 1/2 (С60/γ-циклодекстрин). При кипячении водного раствора γ-циклодекстрина со смесью фуллеренов С60 и С70 только С60, образуя водорастворимый комплекс, переходит в раствор. Этот комплекс не очень стабилен, фуллерен легко можно экстрагировать из водного раствора толуолом. Заметная концентрация фуллерена С60 в устойчивом водном растворе достигается при избытке γ-циклодекстрина, что ограничивает биологическое применение комплексов. Следует отметить, что в таких комплексах способность фуллеренового кора выступать в роли ловушки свободных радикалов резко снижается. Корзиноподобную структуру кроме комплексов фуллерена С60 с γ-циклодекстрином имеют и другие органические соединения, например каликсарены, в которых жёсткость стенкам корзины придают бензольные кольца. Эти комплексы более стабильны, в них молекула С60 сохраняет способность к генерации синглетного кислорода. Представляет интерес для биомедицинских исследований комплексы фуллеренов с полимерами, в частности комплексы с поли-N-винилпиролидоном (ПВП). Такие комплексы получают путём смешения фуллерена в толуоле с раствором ПВП в хлороформе. После отгонки органических растворителей остаток растворяют в воде, обрабатывают ультразвуком и получают прозрачный раствор фуллерена в воде. Это комплекс донорно-акцепторного типа. Следует отметить, что перевод фуллеренов в водную фазу возможен с помощью различных ПАВ. С помощью неионного ПАВ Triton X-100 можно получать мицеллярные и везикулярные растворы или включать фуллерены в лецитиновые липосомы. Следует отметить, что многие комплексы можно получить путём перетирания.

## 3.4. Фуллеренолы.

Полигидроксилированный фуллерен (фуллеренол) обладает простой структурой, удобной для практического применения (Рис. 11), низкой токсичностью и возможностью дальнейшей модификации.

В настоящее время фуллеренолы являются самыми изученными и многообещающими водорастворимыми производными фуллеренов. Необходимо сразу выделить следующие важные моменты:

1) Термин «фуллеренол» (в англоязычной литературе также используется термин «фуллерол») включает в себя не только производные индивидуального фуллерена С60 состава С60(ОН)х (наиболее доступной формы), но также гидроксипроизводные других индивидуальных фуллеренов Сn(ОН)х (n = 60, 70, 76, 78, 84, 90);

2) Помимо гидроксильных групп, фуллеренолы также могут включать другие функциональные группы, например кислородсодержащие группы (=О, –О–) Сn(ОН)хОy, и группы солевого типа, например [Сn(ОН)xОy](ONa)z;

3) К фуллеренолам может быть отнесена смесь индивидуальных фуллеренолов различного состава, либо индивидуальные фуллеренолы низкой чистоты (т.е. менее 95%).

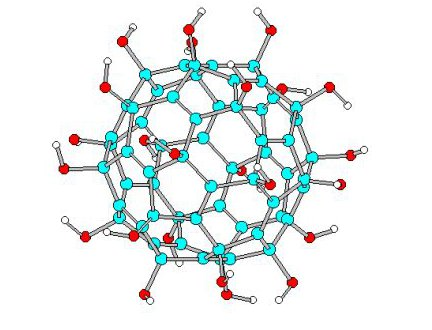
****

Рис.11. Структурная формула фуллеренола С60(ОН)24 (голубым цветом обозначены атомы углероды, красным – атомы кислорода).

### 3.4.1. Синтез фуллеренолов.

Анализ литературы выявляет достаточно большое количество методов синтеза полигидроксилированных фуллеренов из индивидуальных лёгких фуллеренов (C60, C70), промышленных фуллереновых смесей различного состава, а также из других производных фуллеренов (галоген-, нитро-, сульфо- и т.д.). При этом представленные стратегии синтеза фуллеренолов можно разделить на две группы: прямые реакции фуллеренов и гидролиз производных фуллеренов. Следует подчеркнуть, что практически все представленные в литературе методики приводят не к индивидуальным продуктам состава C60(70)(OH)x, а к сложной смеси продуктов со средним составом C60(70)(OH)x–y, C60(70)Ox(OH)y или C60(70)(OH)x(ONa)y. Рассмотрим некоторые методики синтеза фуллеренолов. Реакция гидроксилирования фуллерена C60 гидроксидом натрия в присутствии четвертичного аммониевого основания (гидроксида тетрабутиламмония,), выполняющего роль межфазного катализатора, приводит к образованию продукта с усреднённым составом C60(OH)26,5.

В случае использования нитрующей смеси для синтеза фуллеренолов (HNO3/H2SO4) образуется полигидроксилированный фуллерен состава C60(OH)16-20. Процесс синтеза фуллеренолов в данном случае включает две стадии: нитрование фуллерена с образованием полинитрофуллерена и щелочной гидролиз полинитропроизводного фуллерена с образованием фуллеренола. В результате взаимодействия C60 с перекисью водорода в присутствии межфазного катализатора был синтезирован гидратированный полигидроксилированный фуллеренол, содержащий 44 гидроксильные группы и 8 молекул воды (C60(OH)44·8H2O). Был разработан эффективный метод синтеза фуллеренола состава C60(OH)10-12, основанный на гидролизе полициклосульфированного фуллерена в присутствии воды или водного раствора NaOH. Для получения фуллеренолов используют также щелочной гидролиз галогенпроизводных фуллеренов. В зависимости от условий проведения реакций можно получить два типа продуктов: смесь продуктов с усреднённым составом C60OnHm, n = 10–26, m = 14–30 и C60OnHmMk, M = K, Na; n = 17 – 24, m = 16 – 28, k = 3 – 8), обладающих различной растворимостью в воде. В качестве примера в таблице 1 представлены условия проведения и продукты реакций образования фуллеренолов из галогенпроизводных фуллеренов.

Таблица 1. Условия проведения реакций синтеза фуллеренолов из галогенпроизводных C60.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Реагент | Условия реакции | Состав продукта |
| С60Br8 | H2O-диоксан, перемешивание при 25°C | C60O10±0,4H14±6 |
| С60Br24 | H2O-диоксан, кипячение | C60O26±0,4H30±6 |
| С60Cl6 | бензол-диоксан-H2O-KOH, кипячение | C60O30±0,4H28±6K6,0±0,4 |
| С60Br8 | H2O-KOH, перемешивание при 25°C | C60O17±0,4H22±6K5,0±0,4 |
| С60Br24 | H2O-KOH, перемешивание при 25°C | C60O24±0,4H16±6K8,0±0,4 |
| С60F36 | H2O-KOH, перемешивание при 25°C | C60O34±0,4H20±6K8,0±0,4 |

Представляет несомненный практический интерес метод получения фуллеренолов из фуллереновой сажи при помощи водного раствора щелочи и межфазного катализатора, поскольку исключается стадия выделения фуллеренов из сажи при помощи органических растворителей.

Высокая растворимость большинства фуллеренолов в воде открывает широкие перспективы их использования в биомедицине.

### 3.4.2. Применение фуллеренолов в биологии и медицине.

Биологические свойства фуллеренолов являются предметом интенсивных исследований в последнее десятилетие. Благодаря полой сферической форме, гидрофильным свойствам и возможностям дальнейшей модификации с последующей иммобилизацией различных биологически активных молекул водорастворимые фуллеренолы являются перспективными наноразмерными носителями лекарственных препаратов. Рассмотрим основные направления исследований, посвящённым биомедицинскому применению полигидроксилированных фуллеренов.

Антиоксидантные свойства фуллеренола были впервые описаны в условиях индуцирования продукции активных форм кислорода, вызванного обратимым повреждением гиппокампа в экспериментах *in vitro*, а также в естественных условиях на животных моделях с кишечной ишемией-реперфузией и трансплантации тонкой кишки. Позже было показано, что фуллеренол C60(OH)24 обладает способностью захватывать радикалы моноксида азота (NO) при добавлении к раствору нитропруссида натрия (донора NO-радикалов). В последних исследованиях, была найдена корреляционная взаимосвязь между антиоксидантными свойствами фуллеренола C60(OH)24 и активностью ядерного фактора-2, родственного эритроидному фактору 2 (Nrf2), регулирующего экспрессию антиоксидантных ферментов. Nrf2 является фактором транскрипции, который регулирует экспрессию нескольких антиоксидантных генов путём связывания с регуляторными элементами генов антиоксидантного отклика и, таким образом, играет ключевую роль в защите клеток от окислительного стресса. С60(ОН)24 способен стимулировать транслокацию Nrf2 в ядро, что в свою очередь приводит к увеличению экспрессии антиоксидантных ферментов, в том числе гемоксигеназы-1 (HO-1), NAD(P)H: хинин оксидоредуктазы 1 и γ-глутамат-цистеин-лигазы в клетках А549 (перевиваемая клеточная линия карциномы лёгкого человека). Добавление фуллеренола С60(ОН)24 к клеткам А549 приводило к фосфорилированию митоген-активированных протеинкиназ (МАРК) – киназы р38, киназы, регулируемой внеклеточными сигналами – ERK и c-Jun N-концевой киназы ― JNK. Практически во всех случаях активация протеинкиназ семейства ERK связана с клеточным выживанием и стимуляцией пролиферации, а активация протеинкиназ семейств р38 и JNK с индукцией апоптоза (программируемой гибели клетки). Кроме того, было показано, что предварительная обработка клеток А549 специфическим ингибитором р38 МАРК (SB203580) приводила к блокированию ядерной транслокации Nrf2 и увеличению экспрессии HO-1, индуцированной фуллеренолом С60(ОН)24, что указывает на участие p38 МАРК в активации Nrf2/HO-1, обусловленной наличием фуллеренола.

Кроме того, предварительная обработка фуллеренолом C60(OH)24 снижает количество клеток в апоптозе, вызванном действием перекиси водорода на клетки А549 и приводит практически к полному исчезновению Nrf2. Несмотря на то, что к настоящему времени установлены различные важные эффекты действия фуллеренолов в биологических системах, мало известно о возможном генотоксическом действии фуллеренолов. Анализ хромосомных аберраций и блокировка цитокинеза показали, что присутствие фуллеренола C60(OH)24 в различных концентрациях в контрольных и обработанным митомицином C клеток яичника китайского хомячка, проявляло защитный эффект, который в свою очередь не вызывал генотоксического действия. Было установлено, что фуллеренол может уменьшить токсические эффекты некоторых опасных токсикантов. Например, модель, основанная на гепатотоксичности и нефротоксичности, вызванного действием четыреххлористого углерода (CCl4) была использована для изучения возможных механизмов защитного действия фуллеренола на крысах линии Спрег-Доули (англ. Sprague Dawley). Животные получали внутривенные или внутрибрюшные инъекции фуллеренола (в концентрациях 0, 1, 1.5 и 5 мг/кг) в течение трёхдневного периода после воздействия CCl4. Воздействие CCl4 приводило к значительному увеличению активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, а также повышении концентрации мочевины и креатинина в сыворотке крови, что свидетельствует о нарушении функции печени и почек. Концентрация маркёра нарастания оксидативного стресса – малонового диальдегида – была также значительно увеличена, а отношение концентраций восстановленного глутатиона к окисленному глутатиону в тканевых гомогенатах уменьшалось. Гистопатологическое обследование выявило тяжёлое заболевание печени и почек крыс в результате воздействия CCl4. Предварительное введение фуллеренола останавливало увеличение уровня сывороточных маркеров повреждения этих органов и, соответственно, развитие гистологических признаков поражения печени и почек. Кроме того, предварительная обработка фуллеренолом приводила к увеличению соотношения восстановленного/окисленного глутатиона. Это наблюдение позволяет предположить, что клетки печени и почек были защищены от CCl4-индуцированного окислительного стресса путём активации систем антиоксидантной защиты фуллеренолом.

Диметилсульфоксид (ДМСО) широко применяется как растворитель и криоконсервирующий агент, который может вызвать нарушение кровотока, снижение внутричерепного давления, отёк лёгких, остановку сердца, бронхоспазм. Несмотря на то, что побочные эффекты при использовании ДМСО в клинически установленных концентрациях достаточно редки, в настоящее время не существует безопасного антагониста в случае передозировки данным препаратом. Проводились исследования влияния на свойства изолированной крысиной матки ДМСО фуллеренола C60(OH)24, растворенного в ДМСО. В случае использования ДМСО снижались как спонтанные, так и кальций-индуцированные сокращения мускулатуры матки, а в случае использования раствора фуллеренола в ДМСО снижались только спонтанные сокращения. Также при использовании раствора фуллеренола в ДМСО снижалась активность Cu/Zn супероксиддисмутазы и удавалось предотвратить ДМСО-индуцированное увеличение активности глутатионредуктазы. Таким образом, фуллеренол может рассматриваться в качестве эффективной нанодобавки для модуляции свойств ДМСО, вследствие минимизации побочных эффектов последнего.

Представляет интерес информация о лёгочной токсичности фуллеренолов. Было исследовано влияние введения в трахею крыс полигидроксилированных производных фуллерена С60 (С60(ОН)х, х = 22, 24) в дозе 1, 5 или 10 мг на животное. После трёхдневного воздействия уровни маркеров воспаления были измерены в жидкости бронхоальвеолярного лаважа и были оценены данные гистологического исследования ткани лёгкого. Воздействие фуллеренола в дозе 1 мг на одно животное не вызывало токсического эффекта, в то время как две другие дозы индуцировали повреждение клеток, стимулируя окислительный/нитрозативный стресс и воспаление, т.е. воздействие фуллеренола С60(ОН)х на лёгочную ткань носит дозозависимый характер. Эти результаты имеют важное значение при рассмотрении вопроса об использовании С60(ОН)х в качестве вдыхаемого носителя для ингаляционных препаратов.

Фуллерены могут быть использованы в качестве фотосенсибилизаторов. Способность фуллерена С60 и его водорастворимого производного C60(OH)18 вызвать повреждение клеточных мембран после фотоактивации изучали на микросомах печени крыс. Фуллерен С60 и С60(ОН)18 вызвали временную и концентрационную зависимости окислительного повреждения. Роль различных активных форм кислорода на повреждение мембраны исследовалось с помощью различных поглотителей активных форм кислорода и путём дейтерирования буфера. Изменения, вызванные С60, были преимущественно из-за наличия 1O2, в то время как изменения, вызванные C60(OH)18, были главным образом обусловлены радикальными частицами. Биологические антиоксиданты, такие, как глутатион, аскорбиновая кислота и токоферол были способны ингибировать повреждения мембраны, вызванные действием обоих нанокластеров (фуллерена и фуллеренола). Описанные исследования показали, что фуллерен и фуллеренол могут генерировать активный кислород в результате фотовозбуждения и вызывать значительное перекисное окисление липидов и окисление белка в мембранах. Эти явления могут быть предотвращены путём добавления в исследуемую систему эндогенных природных антиоксидантов.

Несмотря на высокую токсичность, доксорубицин (Dox) используется в химиотерапии рака. На модели крыс исследовали вопрос о том, насколько фуллеренол С60(ОН)24 в дозах 25, 50 и 100 мг/кг в неделю может защитить от хронической кардио- и гепатотоксичности, индуцированной Dox (в количествах 1,5 мг/кг в неделю в течение трёх недель). Для сравнения использовался хорошо известный антиоксидант ― витамин С (в количестве 100 мг/кг в неделю в течение трёх недель). Согласно макроскопическим, микроскопическим, гематологическим, биохимическим, физиологическим, фармакологическим и фармакокинетическим результатам было подтверждено, что, при всех изученных концентрациях фуллеренол оказывает защитное действие на сердце и печень в отношении хронической токсичности, вызванной Dox.

Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе Dox-индуцированной нефротоксичности. Было изучено влияние нефропротективных свойств фуллеренола на Dox-индуцированную нефротоксичность. Исследование проводилось на взрослых крысах-самках линии *Спрег-Доули* с химически индуцированным раком молочной железы (1-метил-1-нитрозомочевина в дозе 50 мг/кг). Крысы были разделены на следующие группы: здоровые крысы, крысы с раком молочной железы, крысы с раком молочной железы, получающие Dox (8 мг/кг, внутрибрюшинно), крысы с раком молочной железы, получающие Dox и фуллеренол (8 мг/кг и 100 мг/кг, соответственно), и крысы с раком молочной железы, получающие фуллеренол (100 мг/кг, внутрибрюшинно). В конце второго дня после введения препарата анализировали кровь и почечную ткань. Определялась активность лактатдегидрогеназы и гидроксибутират-дегидрогеназы, а также уровень малонового диальдегида, глутатиона, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, каталазы и супероксиддисмутазы. Было установлено, что введение Dox вызывало нефротоксичность, но предварительная обработка фуллеренолом позволила предотвратить окислительный стресс в ткани почек, вызванного Dox. Результаты этого исследования подтверждают удовлетворительное нефропротективное действие фуллеренола в острой фазе токсичности.

Была исследована потенциальная защитная функция фуллеренола С60(ОН)24 против Dox-индуцированной токсичности печени в экспериментах *in vivo* (используя самок крыс линии *Спрег-Доули*) и *in vitro* (используя гепатоцеллюлярную карциному человека – HepG2 и линию клеток аденокарциномы – Caco-2). При этом установлено, что фуллеренол может быть потенциальным гепатопротектором в условиях Dox-индуцированной гепатотоксичности.

Эффект поглощения свободных радикалов фуллеренолом может быть полезным в профилактике ишемии-реперфузии трансплантируемого органа во время его хранения. Например, во время трансплантации тонкой кишки, ишемия может активировать ксантиноксидазы, которые генерируют неконтролируемое образование активных форм кислорода при реоксигенации. Образование активных форм кислорода приводит к травмам слизистой оболочки, которые были ранее отнесены к аноксии. Это связано с повышением кишечной проницаемости и расширением межклеточных пространств.

Эндогенные и экзогенные ловушки свободных радикалов были тестированы на способность предотвращать окисление липидов и повышать антиоксидантную защиту в тканях. Тем не менее эти эффекты все ещё являются спорными. Было изучено влияния фуллеренола на поглощение активных форм кислорода в трансплантате после пересадки тонкого кишечника. Результаты этого исследования показали, что фуллеренол можно рассматривать как мощный поглотитель активного кислорода после трансплантации тонкого кишечника.

Функционализация фуллеренов гидроксильными группами может повысить их растворимость и повлиять на взаимодействие с клетками, но эффекты безопасности фуллеренолов, содержащих различное число гидроксильных групп при введении в биологические системы, плохо изучены. Существующие результаты о токсичности и индукции воспаления фуллеренолами достаточно противоречивы. Для выяснения потенциальной токсичности фуллеренолов эпидермальные кератиноциты человека были подвергнуты воздействию фуллеренолов с низким (С60(ОН)20), средним (С60(ОН)24), и высоким (С60(ОН)32) содержанием гидроксильных групп в концентрационном диапазоне 0,000544 – 42,5 мкг/мл в течение 24 и 48 ч. Статистически значимое снижение жизнеспособности клеток было отмечено только в случае использования фуллеренола с высоким содержанием гидроксильных групп – C60(OH)32 (концентрация водного раствора – 42,5 мкг/мл) через 24 ч. Был сделан вывод о том, что разные гидроксилированные производные фуллеренов не вызывают цитотоксического или воспалительного эффектов при использовании растворов с концентрациями, не превышающими 8,55 мкг/мл.

Вредные эффекты ионизирующего излучения на живой организм, в основном, проявляются в результате генерирования активных форм кислорода. Фуллеренолы могут быть использованы в качестве потенциальных радиопротекторов. Проведено исследование эффективности фуллеренола С60(ОН)24 (в концентрации 10 и 100 мг/кг) и стандартного радиопротектора амифостина (в концентрации 300 мг/кг) при защите крыс от вредного воздействия ионизирующего излучения. В экспериментах животных подвергали рентгеновскому излучению (8 Гр). Оба соединения были введены крысам за 30 минут до облучения. Для того чтобы оценить общую эффективность радиопротекторного действия фуллеренола и амифостина, крыс облучали летальной дозой рентгеновского излучения (8 Гр), при этом проводился мониторинг выживаемости и массы тела в течение 30 дней после облучения. Цель второй части исследования состояла в изучении защитного действия указанных соединений на ткани животных (при этом в организм крыс вводили фуллеренол в концентрации 100 мг/кг и амифостин в концентрации 300 мг/кг за 30 мин до облучения). При проведении второй части исследований использовалась сублетальная доза рентгеновских лучей (7 Гр). Влияние ионизирующего излучения на гематопоэз, а также радиопротекторная эффективность указанных соединений оценивались путём определения количества эритроцитов в крови в течение 28 дней после облучения. Для этой цели кровь брали из хвостовой вены перед облучением и на 3, 7, 14, 21 и 28 день после облучения. Для того чтобы оценить радиопротекторное влияние фуллеренола и амифостина на ткани крыс, на 7 и 28 день после облучения основные органы крыс (лёгкие, сердце, печень, почки, тонкий кишечник и селезёнка) были взяты для гистопатологического анализа. В эксперименте, в котором была рассмотрена радиопротекторная эффективность фуллеренола и амифостина, было установлено, что наилучшая защита тканей наблюдалась при введении фуллеренола в концентрации 100 мг/кг. При этом эффект фуллеренола был сопоставим с действием амифостина. Результаты гематологических исследований показали, что фуллеренол лучше амифостина предотвращает индуцированное радиацией снижение уровня лейкоцитов (гранулоцитов и лимфоцитов), особенно в течение первых семи дней после облучения. Патогистологическое изучение выявило, что радиопротекторный эффект фуллеренола (по сравнению с амифостином) лучшим образом проявляется на селезёнке, тонком кишечнике и лёгких, в то время как амифостин превосходит фуллеренол по радиопротекторным свойствам при защите сердца, печени и почек. Эти результаты подтверждают радиопротекторную эффективность фуллеренола.

Эффект захвата свободных радикалов и цитопротективный эффекты трёх типов фуллеренолов (C60(OH)6-12, С60(ОН)32-34·7H2O, и С60(ОН)44·8H2O) на повреждённых под действием UV-облучения клетках были изучены на примере человеческих кератиноцитов (НаСаТ). Было установлено, что активность С60(ОН)32-34·7H2O и С60(ОН)44·8H2O по отношению к свободным радикалам более сильная, чем в случае C60(OH)6-12. Вызванные действием UVA или UVВ облучения повреждения НаСаТ кожи человека значительно подавлялись фуллеренолами С60(ОН)32-34·7H2O и С60(ОН)44·8H2O и в меньшей степени фуллеренолом C60(OH)6-12. Цитопротекторные эффекты С60(ОН)44·8H2O имели тенденцию превосходить аналогичные эффекты С60(ОН)32-34·7H2O. Цитопротекторные эффекты фуллеренола С60(ОН)44·8H2O против UVB-индуцированных повреждений были более эффективными, чем в случае повреждений в результате UVA-облучения. В результате UVB-облучение НаСаТ вызывает быстрое возникновение симптомов повреждения клетки, а именно: уровня внутриклеточного окислительного стресса, формирование циклобутановых пиримидиновых димеров и конденсацию хроматина. Все перечисленные эффекты подавлялись в присутствии С60(ОН)44·8H2O. Таким образом, разнообразные вредоносные последствия UVB-облучения могут быть предотвращены с помощью фуллеренола С60(ОН)44·8H2O, который обладает цитопротекторным действием в результате поглощения реактивного кислорода в кератиноцитах.

Установлена возможность использования фуллеренолов для доставки лекарственных препаратов при лечении онкопатологий. Доступная методика функционализации фуллеренового кора гидроксильными группами является необходимым условием для эффективности препарата в дополнение к проявлению гидрофильных свойств. Dox связывали с фуллеренолом посредством сшивающего агента (карбамата). Полученный лекарственный конъюгат оказался относительно стабильным в фосфатном буферном солевом растворе, но во время инкубирования с клеточным лизатом опухоли происходит гидролиз конъюгата фуллеренол-доксорубицин и Dox присутствовал в виде активного лекарственного средства. Конъюгат фуллеренол-доксорубицин подавлял пролиферацию раковых клеточных линий в экспериментах *in vitro* через блокирование клеточного цикла G2-M, приводящему к апоптозу. В экспериментах *in vivo* на мышах конъюгат фуллеренол-Dox показал высокую противоопухолевую эффективность (Рис. 12) без системной токсичности свободного Dox.

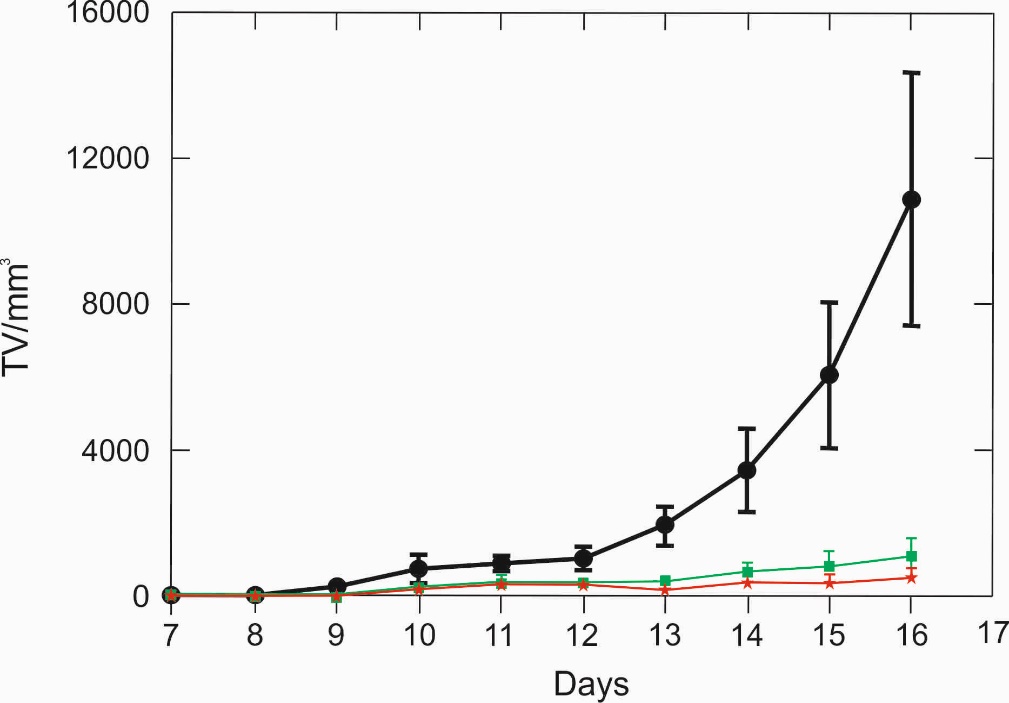


Рис. 12. Эффективность в экспериментах *in vivo* конъюгатов наночастиц с лекарственным препаратом на модели меланомы мышей. Животным с меланомой вводили три дозы доксорубицина или конъюгата углеродная наноструктура-Dox на 9, 12 и 15 день, эквивалентного дозе 6 мг/кг доксорубицина (Dox). ● – контрольный опыт, ■ – фуллеренол + Dox; 🟊 – Dox. TV – объём опухоли.

Комплекс проведённых исследований показал, что на основе фуллеренолов могут быть созданы и другие химиотерапевтические агенты.

Детальные исследования физико-химических и биологических механизмов действия фуллеренолов и разработка на их основе новых препаратов для тераностики является перспективным направлением в современной биомедицине. Важно отметить, что возможные негативные или побочные эффекты фуллеренолов на организм человека требуют дополнительных исследований.

## 3.5. Дендримеры.

Дендримеры – разветвлённые глобулярные молекулы с трёхмерной структурой. Слово «дендример» происходит от греческого слова дерево – «dendron» и «mers» – часть. Дендример – это полимер, состоящий из множества соединённых между собой мелких звеньев (Рис. 13). Ветви с повторяющейся структурой образуют несколько концентрических слоёв, называемых генерациями (G1, G2, G3 и т.д.).

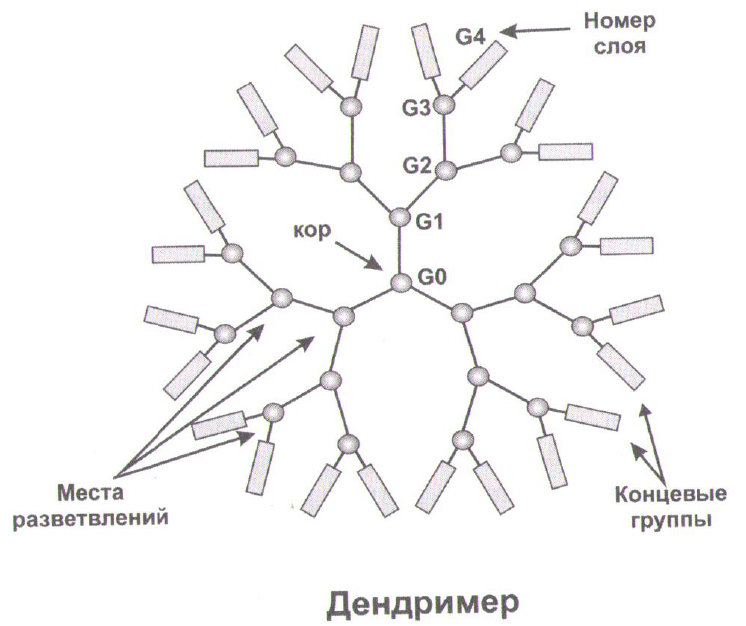


Рис. 13. Схема строения молекулы дендримера.

Для синтеза дендримеров существует два основных способа (Рис. 14). Первый, предложенный Томалиа, представляет дивергентный метод, где дерево «произрастает» из центрального ядра. Иными словами, происходит сборка мономерных модулей в радиальном направлении, ветка от ветки. Второй метод, разработанный Хоукером и Фречетом, называется конвергентным. Он реализуется путём соединения звеньев от будущей поверхности к фокусной точке, в результате чего также образуется дерево. Этот подход удобен для создания дендримеров, которые затем используются в качестве строительных блоков более крупных наноструктур. Конвергентная модель обеспечивает доступ к клиньям дендримера с различной реакционной способностью в фокусной точке. Дендримеры можно синтезировать поэтапно, что позволяет контролировать их размер. Можно создавать дендримеры определённого размера от 70 до 300 нм. Дендримеры имеют уникальные особенности: высокую степень разветвлённости, глобулярное строение и определённую молекулярную массу. Именно эти свойства помогают с высокой воспроизводимостью создавать эффективные системы доставки лекарств. Ступенчатый синтез дендримеров позволяет получать молекулы с регулярным ветвлением, низким индексом полидисперсности и

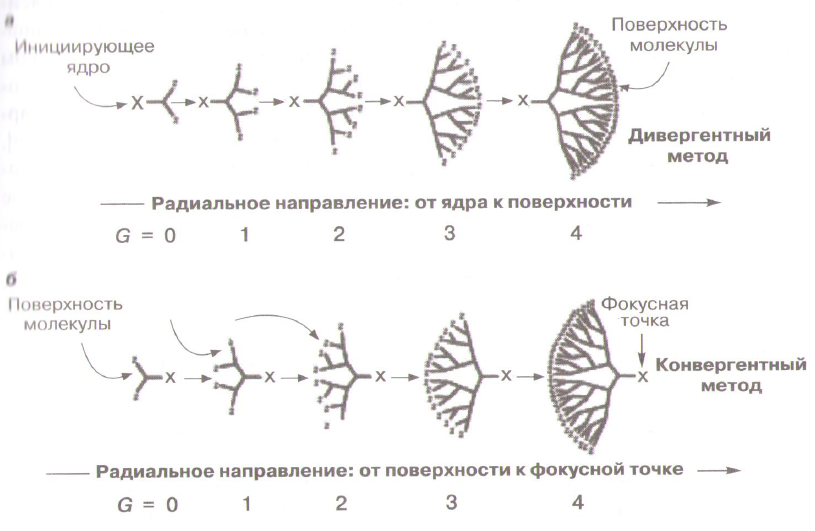


Рис.14. Схематическое изображение двух методов синтеза дендритных макромолекул (дендронов): *а* – дивергентный метод, где синтез начинается от полифункционального ядра и продолжается в радиальных направлениях за счёт последовательных стадий активации и конденсации; *б* – конвергентный метод, где синтез начинается с тех ветвей, которые образуют периферию окончательно сформированной молекулы в направлении к фокусной точке.

определённым числом периферических групп. Таким образом, дендримеры, образующиеся путём поэтапного синтеза, выгодно отличаются идеальным характером ветвления от более распространённых глобулярных молекул, получаемых полимеризацией, поскольку последние отличаются излишней и нерегулярной разветвлённостью. Архитектура дендримеров также интересна. Полости и каналы в ядре и в ветвях могут обладать гидрофильной или гидрофобной природой, в зависимости от свойств мономеров. Кроме того, в процессе синтеза в молекулу удаётся включить участки связывания требуемых лигандов. Следовательно, выбор метода синтеза дендримеров и исходных мономеров позволяет определить форму, размер, плотность, полярность, реакционную способность и растворимость молекул. Поверхность, внутреннее пространство и ядро носителя можно модифицировать в зависимости от свойств активного вещества и в соответствии с поставленной задачей. В настоящее время известно свыше пятисот семейств дендримеров, причём каждый из них отличается от других по ряду свойств. Первое семейство, выпускающееся в промышленных масштабах, составляют дендримеры на основе полиамидоамина (ПАМАМ). Внутренние третичные аминогруппы ПАМАМ (Рис. 15) доступны для кислотно-основных реакций, образования водородных связей и других нековалентных взаимодействий с инкапсулированными молекулами, что позволяет использовать этот полимер как носитель многих лекарственных препаратов. Рассмотрим некоторые примеры. Поверхность полимера модифицировали введением гидроксильных групп, что значительно повысило его растворимость. Также к дендримеру ковалентно присоединяли метатрексат. Помимо этого, изучали нековалентный комплекс терапевтического агента с дендримером, в котором лекарство располагалось

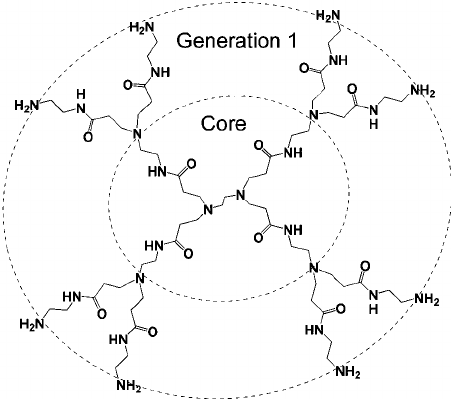


Рис. 15. Схема строения полиамидоамина.

внутри полимера. Исследование кинетики высвобождения метатрексата показало, что из нековалентного комплекса лекарство выходит сразу. Однако конъюгаты метатрексата с дендримером были устойчивы в воде и водно-фосфатном солевом буфере. Таким образом, было установлено, что, ковалентный конъюгат лекарства с дендримером пригоден для доставки, поскольку преждевременный выход препарата в биологических условиях не происходит. Простейшим способом получения конъюгатов лекарств с дендримерами является присоединение молекул терапевтического агента непосредственно к поверхности. Поскольку она может иметь полифункциональные свойства, к одной молекуле дендримера присоединяют много молекул лекарства. Их число можно изменить путём выбора условий реакции присоединения. Был получен конъюгат дендримера на основе ПАМАМ с солью платиновой кислоты и установлена противоопухолевая активность по отношению ко всем модельным опухолям, включая опухоль, устойчивую к платиновым препаратам. Были синтезированы конъюгаты ПАМАМ с 5-фторурацилом (противоопухолевый препарат, ингибирующий деление клеток путём блокирования ДНК). Гидролиз конъюгатов в фосфатном буфере приводил к высвобождению 5-фторурацила. Нестероидные противовоспалительные препараты (НСПВП) относятся к разряду часто применяемых лекарств, особенно при остеоартрите и других хронических скелетно-мышечных заболеваниях. Из фармакологических средств данного типа, как правило, используют кетопрофен (нестероидный противовоспалительный препарат, используемый для лечения опорно-двигательного аппарата), ибупрофен (препарат, используемый для лечения артрита), дифлумизал (препарат для лечения ревматоидного артрита) и напроксен (препарат для лечения остоартроза). Однако применение НСПВП связано с рядом побочных эффектов, включая нарушения работы почек, желудочно-кишечные кровотечения и реакции гиперчувствительности. Была исследована растворимость в воде кетопрофена, ибупрофена, дифлумизала в присутствии дендримеров ПАМАМ с этилендиамином во внутренней полости. Оказалось, что дендримеры в значительной степени повышают растворимость НСПВП. Причиной повышения растворимости лекарств, по-видимому, является электростатические взаимодействия и образования водородных связей между поверхностными аминогруппами дендримера и карбоксильными группами НСПВП. Был исследован конъюгат гидроксилированного дендримера ПАМАМ с ибупрофеном. Установлено, что конъюгат попадает в клетки лёгочного эпителия и преимущественно локализуется в цитоплазме. Наносистемы на основе дендримеров с высоким содержанием лекарственных препаратов позволяет быстро достичь необходимого фармакологического действия. Дендримеры на основе ПАМАМ были использованы для доставки кетопрофена. Оказалось, что *in vitro* время полужизни кетопрофена в комплексе с дендримерами значительно повышалось по сравнению со свободным кетопрофеном. Изучение циркуляции препарата на мышах показало более длительное пребывание в крови комплекса препарата с дендримером по сравнению с контрольным образцом. Таким образом, дендримеры на основе ПАМАП можно рассматривать как потенциальные переносчики лекарственных препаратов, обеспечивающие более длительную циркуляцию и снижение побочных эффектов. Дендримеры также можно использовать для доставки генов сквозь клеточную мембрану в ядро. Концевые аминогруппы молекулы дендримера ПАМАМ взаимодействует с фосфатными группами нуклеиновых кислот. Это обеспечивает образование трансфекционных комплексов. В настоящее время уже налажен промышленный выпуск реагента для трансфекции «Superfect», состоящего из активированных дендримеров. Они способны переносить больше генетического материала нежели вирусы. Комплексы «Superfect» с ДНК устойчивы и обеспечивают эффективный транспорт ДНК в ядро. Высокая способность к трансфекции связана не только с определённой формой дендримеров, но, вероятно, и с низкими значениями pKa аминов (3,9 и 6,9). Данное значение pKa позволяет дендримеру нивелировать изменения рН в эндосомах. Ещё раз отметим достоинство дендримеров как кандидатов для генной терапии:

1) Определённые размеры молекул этого класса полимеров;

2) Нанодиапазон размеров дендримеров;

3) Множество участков связывания различных лигандов и биологически активных соединений;

4) К поверхности дендримеров можно присоединять вещества, способствующие проникновению дендримеров в ядро клетки.

В результате сочетания дивергентного и конвергентного синтеза удалось создать новые дендримеры на основе сополимеров простых и сложных эфиров, содержащих гидрофильное ядро. Для этого внутрь дендримеров помещали полиэтиленоксид (ПЭО). Такие дендримеры могут включать в свой состав гидрофильные и гидрофобные модельные соединения в значительных количествах. Помещение лекарства внутрь дендримеров происходило путём физического захвата и/или образования водородных связей с ПЭО как внутри молекулы дендримера, так и снаружи. Выход гидрофильных и гидрофобных препаратов в фосфатном буфере был медленным и равномерным: за 170 часов высвобождалось около 90% лекарственного вещества. Такие дендримеры можно рассматривать в качестве потенциальных систем доставки лекарств. Описан синтез пептидных дендримеров для доставки противомалярийного препарата «Артеметер». Был синтезирован пептидный дендример с полиэтиленгликолем в качестве ядра и L-лизином как повторяющимся звеном. Артеметер образовывал комплекс с внутренней поверхностью дендримера за счёт водородных связей и гидрофобных взаимодействий. В эту же систему вводили хондроитинсульфат-А (вещество, которое принимает участие в образовании костной и хрящевой ткани), что повышало степень связывания противомалярийного препарата. Помимо этого, конъюгация с хондроитинсульфатом приводило к ослаблению гемолиза и токсического воздействия. Изучения таких комплексов *in vivo* на мышах показало продолжительное высвобождение артеметера (до 13 часов после внутримышечного введения) в системах хондроитинсульфатом так и без него. Эти исследования подтверждают потенциальную возможность применения дендримеров для контролируемой доставки противомалярийных препаратов.

Таким образом, дендримеры предоставляют возможность для присоединения и высвобождения лекарств по нескольким механизмам, что имеет большое значение для рассмотрения дендримеров как потенциальных носителей в системах доставки лекарственных препаратов. Дендримеры могут служить платформой для создания новых, противовирусных средств, основанных на поливалентном связывании вирусных частиц со специфическими элементами на поверхности дендримеров. На основе полилизинового дендримера разработан вагинальный гель, предотвращающий передачу вируса иммунодефицита и вируса герпеса.

## 3.6. Липосомы.

Липосомы представляют собой наночастицы шаровидной формы, ограниченные билипидной мембраной (Рис. 16).

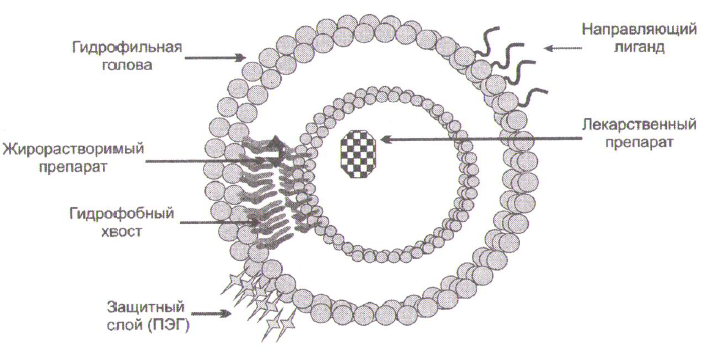


Рис. 16. Строение липосомы.

Активное вещество может располагаться в ядре липосомы, либо в её липидной части (оболочке). В ядре находится водорастворимое вещество, а в оболочке жирорастворимое вещество. Несмотря на то, что размеры липосом могут быть очень вариабельны, большинство липосом имеют диаметр 400 нм.

Липосомы классифицируют на три группы: однослойные малые, однослойные большие и многослойные. В зависимости от состава и пути попадания в клетку липосомы могут быть разделены на 5 классов:

1) Стандартные липосомы;

2) Липосомы чувствительные к рН;

3) Катионные липосомы;

4) Липосомы с иммунными свойствами;

5) Длительно циркулирующие липосомы.

Высвобождение содержимого из липосом при контакте с клетками происходит по одному из четырёх механизмов: адсорбции, эндоцитоза, липидного обмена или слияния. Липосомы могут доставлять лекарства как пассивным, так и активным способом. Макрофаги ретикулоэндотелиальной системы (РЭС) быстро высвобождают из кровотока нативные липосомы. Это свойство в сочетании с лёгкостью изменения размеров липосом позволило их использовать для пассивного направленного транспорта ряда лекарственных препаратов. Была изучена способность липосом взаимодействовать с РЭС и включать в себя препараты с токсическим побочным эффектом. Так, применение антибиотика амфотерацина B для лечения системных грибковых инфекций сопряжено с токсическим действием на почки. Липосомальный препарат амфотерацина B, амбизом, стал первым применяться в клинической практике. За счёт пассивного связывания с клетками печени и селезёнки амбизом снижает токсическое действие на почки в обычных дозах. Амбизомом также лечат лейшманиоз – паразитарную инфекцию, затрагивающую РЭС. Липосомы используются в качестве иммуноадъювантов, усилителей иммунного ответа, повышающих иммунитет. В липосомальные вакцины можно включать микроорганизмы, растворимые антигены и ДНК. Установлено, что липосомы с помещёнными в них антигенами стимулируют иммунный ответ на антиген. Такие вакцины можно хранить при пониженной температуре вплоть до одного года. Липосомы используют в качестве носителя для доставки ДНК. Такие носители синтезируют из фосфолипидов с гидрофильными головками, содержащими аминогруппы. Аминогруппы липосом взаимодействуют с фосфатными группами ДНК с образованием так называемых катионных липосом, поскольку при физиологическом значении рН их поверхность положительно заряжена. Применение катионных липосом как систем доставки генов началось в конце 1980-х годов, когда было показано, что образование комплексов между генами и липосомами способствует захвату генов клетками *in vitro*. Такой тип липосом – удобный инструмент для доставки генов к определённым клеткам организма. Однако существует ряд проблем:

1) Быстрое выделение катионных липосом из организма;

2) Неспецифичность доставки;

3) Необходимость переноса генетического материала в клеточное ядро.

Разработаны липосомы, внутри которых содержатся до 20 – 45% этанола (этосомы). Их преимущество состоит в том, что высокое содержание этанола способствует лучшему проникновению липосом через кожу. Однако липосомы имеют ряд недостатков, ограничивающих их использование:

1) Низкая эффективность инкапсуляции препаратов;

2) Низкая устойчивость при хранении;

3) Относительно быстрый распад в присутствии компонентов крови.

Поэтому были разработаны липосомы, покрытые полиэтиленгликолем. Это увеличивает их стабильность и продлевает время циркуляции в кровотоке, так как они не обнаруживаются иммунной системой организма, в частности, клетками РЭС. Такие липосомы получили название «невидимых липосом». На поверхности невидимых липосом могут быть иммобилизованы различные биологические лиганды, способствующие адресной доставке к определённой мишени. Это могут быть, в частности, моноколональные антитела, позволяющие направленно доставлять диагностики и терапевтические средства в нужные зоны мозга. В настоящее время на мировом фармацевтическом рынке уже есть липосомальные препараты дауномицин, доксорубицин, морфин. Липосомы очень востребованы в косметологии и дерматологии. Увядание кожи человека обусловлено нарушением водно-солевого обмена, процессами окисления ненасыщенных жирных кислот и дегидратации. Так как молекулы многих компонентов, входящих в состав косметических средств, гораздо крупнее промежутков между клетками эпидермиса, их проникновение в «живые» слои кожи затруднено, а внутрь клеток практически невозможно. Данного недостатка лишены липосомальные препараты. Они обладают сродством к коже, так как состоят из тех же липидов, что и мембрана клетки. Сливаясь с мембраной клетки, липидная везикула доставляет внутрь клетки влагу и биологически активные вещества. Более того, увлажняющее действие липосомальных кремов объясняется также тем, что фосфолипиды липосом образуют на поверхности кожи влагоудерживающую «плёнку». Существенно и то, что фосфолипиды не вызывают аллергических реакций и уменьшают раздражение кожи, проявляя противовоспалительное действие. В качестве фосфолипидов при синтезе липосом используют продукты животного происхождения: фосфатидилхолин из яичного желтка, подкожный жир морских тюленей, якутских лошадей и т.д., которые характеризуются высокой органотропностью.

Для контролируемого высвобождения лекарственного препарата возможно применение термо- или рН-чувствительных липосом, имеющих довольно прочную мембрану при нормальных (физиологических) условиях. Однако при понижении рН среды и повышении температуры, которые свойственны определённым патологическим процессам или создаются искусственно, проницаемость мембран увеличивается. Ещё одним подходом в применении липосомных композиций для направленной доставки препаратов является создание липосом с инкапсулированным магнитным веществом, что позволяет управлять их распределением в организме посредством внешнего магнитного поля, снижая негативное воздействие на здоровые ткани. В качестве ферромагнетиков чаще используют наноразмерные порошки железа, кобальта, никеля, гидроксиды и оксиды железа. Для предотвращения взаимодействия ферромагнетиков с внутренней средой организмов их покрывают пироуглеродной оболочкой.

## 3.7. Липидные наночастицы.

Интерес к липидным частицам вырос за последнее десятилетие. В качестве носителей для контролируемой доставки лекарств и снижения побочного, токсического эффекта используют твёрдые липидные наночастицы (ТЛН). ТЛН были использованы для пролонгированного высвобождения паклитаксела, доксорубицина и идарубицина, которые являются эффективными противораковыми препаратами. Для изучения доставки активных компонентов в головной мозг с помощью ТЛН исследовали механизм высвобождения камптоцитина (противоопухолевый препарат) из ТЛН, синтезированных из стеариновой кислоты. Суспензию, содержащую композицию камптоцитина с ТЛН, вводили в хвостовую вену мышей. Оказалось, что препарат с высокой эффективностью достигал головного мозга, проникая сквозь гематоэнцефалический барьер.

## 3.8. Методы синтеза липосом и липидных частиц.

Липосомы образуются путём самопроизвольной сборки фосфолипидов в воде. Используют также обращено-фазовое упаривание, реакции с детергентами. ТЛН получают путём гомогенизации под высоким давлением (ГВД). Липид и лекарство расплавляют при температуре на 5 градусов выше температуры плавления липида и соединяют с водным раствором поверхностно-активного вещества при той же температуре. В процессе интенсивного перемешивания образуется первичная эмульсия, которую переносят в гомогенизатор высокого давления с контролем температуры. Для получения микроэмульсий достаточно трёх циклов гомогенизации при давлении 500 бар. При охлаждении до комнатной температуры наноэмульсия кристаллизуется, образуя ТЛН. ГВД при низкой температуре подходит для включения термочувствительных или гидрофильных лекарственных препаратов. В этом процессе липид и лекарство расплавляются совместно, затем быстро размельчают в жидком азоте. В результате формируются ТЛН. Пресуспензия возникает при интенсивном перемешивании частиц в холодном водном растворе поверхностно активного вещества. Затем её гомогенизируют при пониженной температуре при давлении 500 бар. При этом используют пять циклов гомогенизации. Для получения ТЛН из липидных микрочастиц используют высокоскоростное перемешивание или обработку ультразвуком. Недостатком высокоскоростного перемешивания является широкое распределение частиц по размерам, которое служит причиной физической нестабильности, проявляющейся в увеличении размеров частиц при хранении. В ходе ультразвуковой обработки ТЛН могут загрязняться металлом. Создана технология, объединяющая эти методы.

## 3.9. Магнитные наночастицы.

Особое место среди наночастиц, применяемых в биомедицине, занимают магнитные наночастицы. Ещё в 1960 году было показано, что мелкие частицы железа могут переноситься сосудистой системой и под воздействием магнитного поля концентрироваться в определённом месте. Наиболее часто в биомедицинских исследованиях используются частицы из оксида железа, а именно магнетита (Fe3O4) или его окислённой формы маггемита (Fe2O3). Другие материалы, как, например, кобальт и никель, высокотоксичны и практически не применяются. Применяемые в биологии и медицине коллоидные растворы, состоящие из нанометровых частиц оксида железа, находящихся во взвешенном состоянии в жидкости, называются ферромагнитными жидкостями. Размеры магнитных наночастиц могут быть от нескольких нанометров до десятков нанометров. Отметим, что несмотря на название ферромагнитные жидкости не проявляют ферромагнитных свойств, поскольку не сохраняют остаточной намагниченности после исчезновения внешнего магнитного поля. На самом деле ферромагнитные жидкости являются парамагнетиками, и их часто называют «суперпарамагнетиками» из-за их высокой магнитной восприимчивости. Преимущество магнитных наночастиц перед другими наночастицами заключается в их чувствительности к действию внешнего магнитного поля. Такое «воздействие на расстояние» вкупе со способностью магнитного поля проникать сквозь ткани создаёт возможности для их прямого транспорта и/или иммобилизации в определяемых тканях. Выделяют четыре основных пути применения магнитных наночастиц:

1) Разделение с помощью магнитного поля меченых клеток и других биологических структур;

2) Использование для доставки лекарственных веществ, генов, радионуклидов;

3) Применение в качестве контрастирующих препаратов для МРТ;

4) Применение в качестве гипертермических агентов.

В оксиде железа поверхностные атомы представляют собой кислоты Льюиса и координируются с донором неподелённой электронной пары. В водных растворах атом железа координируется с водой, которая диссоциирует и образует на поверхности оксида железа оболочку из гидроксильных групп. Эти гидроксильные группы амфотерны и могут реагировать как с кислотами, так и с основаниями, т.е. поверхность магнетита в зависимости от рН может быть заряжена положительно или отрицательно. Так как величина рН изоэлектрической точки равна 6,8, то вблизи неё частицы выпадают в осадок. Поэтому для получения стабильных наночастиц оксиды железа необходимо как электрическая, так и стерическая стабилизация ферромагнитных наночастиц путём создания покрытия, образующего защитную оболочку вокруг частиц и препятствующего их слипанию. Для успешного применения *in vivo* магнитные наночастицы должны быть нетоксичны и неиммуногенны, причём размер частиц должен быть достаточно мал для того, чтобы они оставались в системной циркуляции после введения и проникали через капилляры в органы и ткани, не вызывая тромбозов. Поэтому на практике используются наночастицы, покрытые оболочкой из органических молекул (Рис. 17).

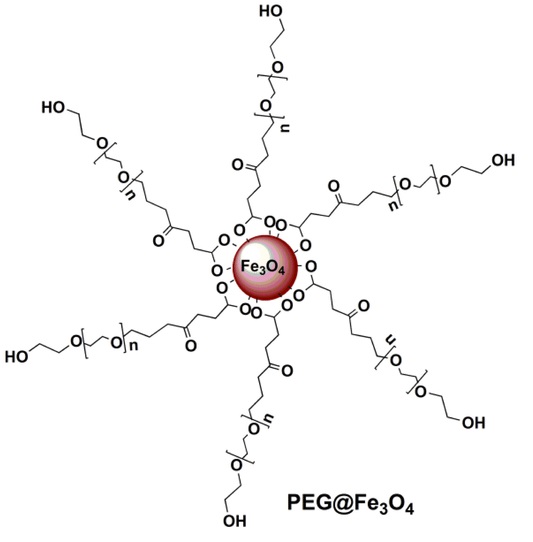


Рис. 17. Магнитные наночастицы, покрытые полиэтиленгликолем, предназначенные для доставки лекарственных препаратов.

В качестве покрытий могут использоваться как органические соединения (жирные кислоты, полимеры типа декстрана, крахмала, полиэтиленгликоля, поливинилового спирта и т.д.) так и неорганические вещества (кремний, золото, углерод). Эти покрытия не только стабилизируют наночастицы в растворе, но и могут быть использованы для присоединения к поверхности различных лигандов. Так как частицы меньшего размера имеют большую площадь поверхности, возможно присоединение к поверхности большего числа лигандов. Они также должны иметь высокую намагниченность, что позволяет управлять ими в крови с помощью магнитного поля и иммобилизовать близко к паталогической ткани. Рассмотрим подробнее использование магнитных наночастиц в качестве контрастных агентов для МРТ. Установлено, что эффективность их применения в этой области зависит от размера, материала покрытия поверхности, заряда. При проведении МРТ у пациентов с нейродегенеративными нарушениями магнитные наночастицы могут захватываться выросшей популяцией макрофагов в разрушающихся тканях. Кроме того, можно исследовать возможность введения в ткани нагруженных наночастицами клеток-предшественников или стволовых клеток. Последнее применение имеет особое значение при нейродегенеративных состояниях, например болезнях Паркинсона или Хантингтона, когда стволовые клетки-предшественники могут заменить пострадавшие клетки. После введения таких клеток необходимо следить за ними *in vivo*, определяя долю клеток, достигших намеченного участка, и время, за которое это произошло. Включение магнитных наночастиц позволяет наблюдать за клеточными популяциями методом МРТ.

На сегодняшний день существует широкий спектр ферромагнетиков, отличающихся по размерам (гидродинамический размер колеблется от 10 до 500 нм) и типу покрытия. Так как размер частиц влияет на их физико-химические и ферромагнитные свойства, в частности на период полужизни в плазме и распределение в организме, то ферромагнетики подразделяются на две основные группы. Первую группу называют SPIONs, включающую в себя наночастицы размером более 50 нм (с учётом покрытия). Вторую группу называют USPIONs, куда входят наночастицы размером менее 50 нм. Магнитные наночастицы обладают высокой способностью проникать в клетки, локализуясь в эндосомах и не проявляя цитотоксичности, и могут также использоваться для доставки ДНК-вакцин в опухоли.

Разработаны различные методы синтеза магнитных наночастиц. Рассмотрим типичную методику синтеза магнитных наночастиц на примере наночастиц ZrО2·Fe3O4, где цирконий использовался в качестве маркера. К раствору, содержащему смесь сульфатов железа (II), железа (III) и нитрат циркония в мольном соотношении 2:1:1 и объёмом 700 мл при постоянном перемешивании со скоростью 4 мл/мин добавляли смесь 20% раствора гидроксида аммония и 1% раствор ацетата аммония. Синтез проводили до фиксации насыщенно-чёрной окраски и при рН 8 – 9. На следующий день полученный коллоидный раствор отделяли центрифугированием и промывали дистиллированной водой. Для подготовки сухой пробы полученные наночастицы отфильтровывались и подвергались лиофильной сушке при температуре -48°C в течение 48 часов. Для покрытия магнитных наночастиц использовали полиэтиленгликоль. Была установлена возможность магнитных наночастиц для направленной доставки лекарственных препаратов в ишемизированную скелетную мышцу.

## 3.10. Наночастицы золота и серебра.

В химии лекарственных веществ золото используется как химический элемент в составе различных терапевтических молекул. Первые сведения о коллоидном золоте содержатся в трактатах V – IV вв. до нашей эры. Оно представляет собой суспензию (или коллоид) частиц субмикрометрового размера в воде. Коллоидное золото получали китайские, арабские и индийские учёные. Наночастицы золота, используемые в наномедицине, могут быть нескольких типов: квазисферические частицы со средним размером от 3 до 100 нм (наносферы), золотые наностержни с толщиной около 15 мм и длиной от 30-100 нм, золотые нанооболочки размером от 50 до 150 нм и полые пористые наночастицы (золотые наноклетки) размером 30 – 50 нм. Золотые нанооболочки представляют собой ядро из оксида кремния или оксида железа диаметром от 50 – 150 нм, на которое нанесён тонкий слой золота (14 нм). Золотые наноклетки – это полые наночастицы 35 – 100 нм. Они биосовместимы, нетоксичны и их поверхность можно легко модифицировать для придания направленной доставки к органам или тканям. Для золотых наностержней, поглощение света в ближней ИК области зависит от соотношения толщины и длины. Предполагается, что усиление поглощения излучения в результате плазмонного резонанса из всех наночастиц золота и серебра различной формы наиболее ярко выражена для наностержней. В дополнение к их особым оптическим свойствам наностержни под воздействием облучения в близкой ИК-области могут менять форму, превращаясь в сферические частицы. Это свойство может быть использовано для контролируемого выделения биологических молекул из системы с носителем. Сферические наночастицы получаются при приготовлении наночастиц в растворе, так как сфера обладает наименьшей площадью поверхности при заданном объёме. Однако в действительности описываемые в литературе сферические наночастицы золота не являются истинными сферами, а представляют собой частицы (иногда даже агрегированные) с более или менее круглым профилем и наличием грани. Их лучше называть квазисферическими. В медицине наночастицы золота используются для лечения ревматоидных артритов. Широко применяются они для диагностических целей: в цветных реакциях на белки, диагностике опухолей, для изучения транспорта различных веществ. Наиболее широко наночастицы применяются в качестве иммуннохимических маркеров. В экспериментах на животных наночастицы золота использовались, в частности, для лечения рака, так как, блокируя ангиогенез, они не вызывают атрофию кровеносных сосудов опухоли. Практически все наночастицы золота могут быть функционализированы, причём функционализация, как и в случае других наночастиц, может быть как ковалентной, так и нековалентной (физическая адсорбция). В случае ковалентной функционализации присоединения групп к атомам золота происходят через тиольные группы. Функционализированные наночастицы золота представляют собой основу многих наномедицинских сенсорных систем. Наночастицы золота интенсивно поглощают излучение в области ближнего ИК-излучения, а поглощение энергии приводит к нагреву частиц. Поэтому предпринимаются попытки использовать наночастицы золота в относительно новом методе борьбы со злокачественными опухолями – гипертермической (или фототермической) терапии. Принцип метода заключается в специфическом связывании раковых клеток с конъюгатами наночастиц с телами против фактора некроза опухоли. Последующее облучение наносекундными лазерными импульсами приводит к быстрому локальному разогреву частиц за счёт резонансного поглощения, что и приводит к повреждению только меченных клеток, оставляя здоровые клетки неповреждёнными. Эта стратегия может быть реально использована только в спектральном окне прозрачности биологических тканей в области 800 – 1000 нм, а «подстраиваемость» пиков плазмоидного резонанса для наночастиц золота как раз и даёт возможность попасть в окно прозрачности ткани. Рассмотрим пример. Рыбе-зебре имплантировали раковые опухоли и направляли в них меченные антителами наночастицы золота. Затем наночастицы нагревали короткими лазерными импульсами, что приводило к испарению небольшого объёма окружающей микросреды. Образующиеся при этом мелкие пузырьки пара расширяются и разрушаются в пределах нескольких наносекунд. Клетки при этом остаются неповреждёнными, но при этом генерируется сильный сигнал оптического рассеяния, который достаточно ярок для обнаружения отдельной раковой клетки. Затем импульс второго, более сильного лазера генерирует нанопузырьки большего размера, которые взрывают (механически удаляют) клетки мишени без повреждения окружающей опухоль ткани. При таком подходе первый лазер используется как оптовизуализирующий агент, тогда как действие второго является терапевтическим, вызывающим гипертермию. Наночастицы серебра представляют собой одну из наиболее широко используемых категорий продуктов нанотехнологий. Они применяются при производстве одежды, пищевых продуктов, красок, косметики, товаров медицинского назначения.

Среди потребительских товаров, относящихся к нанотехнологическим, больше всего в описании продуктов упоминается серебро. Наночастицы серебра обладают такими же физическими свойствами, что и наночастицы золота, и иногда даже превосходят их по своим фотофизическим параметрам, но наночастицы серебра проще получать. Более того наночастицы серебра токсичны для некоторых организмов, они могут индуцировать стрессовую реакцию. На сегодняшний день наночастицы золота и серебра являются коммерческими продуктами: наночастицы золота в виде водных растворов, покрытые декстраном, полиэтиленгликолем, бычьим сывороточным альбумином, биотином, стрептовидином, а также наночастицы серебра, как чистые, так и покрытые декстраном.

## 3.11. Перфторуглеродные наночастицы.

Перфторуглеродные наночастицы (ПФНЧ) имеют ядро из жидкого перфторуглерода, которое покрыто фосфолипидной оболочкой. Размер этих частиц лежит в пределах 200 – 250 нм. Жидкостные ПФНЧ нелетучи, биологически инертны, химически стабильны и не подвергаются распаду в организме. Наличие фосфолипидов позволяет присоединять к наружной поверхности ПФНЧ лекарственные препараты и антитела. ПФНЧ обладают исключительно высокой способностью связывать атомы гадолиния (50 – 100 тыс. на одну частицу). Это ставит ПФНЧ в ряд наиболее перспективных контрастных агентов для МРТ. Направление доставки ПФНЧ в клетки мишени обычно достигается путём ковалентного связывания липидов поверхностью мембран с антителами. Большинство наноразмерных носителей лекарственных препаратов обеспечивает высвобождение последних только после интернализации в клетку или разрушения наночастицы. По сравнению с ними ПФНЧ обладает серьёзным преимуществом, поскольку липофильные препараты, внедрённые в наружную оболочку ПФНЧ, могут высвобождаться при простом контакте поверхности ПФНЧ с плазмалеммой клетки-мишени. Этот процесс получил название «контактного облегчённого липидного обмена». Усиление взаимодействия между наружной оболочкой ПФНЧ и клеточной мембраной с помощью облучения ультразвуком усиливает перенос вещества в клетку, по меньшей мере в 10 раз. ПФНЧ используются для молекулярной визуализации вновь сформированных опухолевых сосудов за счёт взаимодействия с мембранным белком интегрином αVβ3. Такого рода специфические взаимодействия ПФНЧ обеспечиваются за счёт их соединения с пептидомиметином, распознающим интегрин αVβ3. Поскольку интегрин усиленно экспрессируется не только в опухолевых сосудах, но и в прогрессирующей атеросклеротической бляшке, ПФНЧ успешно применялись для визуализации атерослеротических повреждений. ПФНЧ представляют собой неоценимый инструмент для наблюдения судьбы клеток, вводимых в организм с терапевтической целью.

## 3.12.Полимерные биодеградируемые наночастицы.

Цельные наночастицы представлены сферическими наноразмерными объектами из биодеградируемого материала, например белка (альбумин, коллаген), жиров или синтетических полимеров. Размер цельных наночастиц колеблется от 10 до 1000 нм. Это даёт возможность использовать их для одновременной визуализации повреждённых тканей и направленной доставки лекарственных препаратов. Цельные наночастицы в настоящее время лидируют среди нанообъектов, используемых в терапевтических целях.

Исторически первым препаратом, доставка которого опосредована НЧ, стал одобренный для клинического испытания в США в 2000 году рапамун (Сиролимус) – иммунодепресант, применяемый для профилактики отторжения трансплантата. НЧ рапамуна имеют размер от 80 – 400 нм и создаются путём измельчения лекарственного препарата с водой и со стабилизатором. Несколько лет назад была разработана технология создания, стабилизированных альбумином НЧ паклитаксела, которая во многом позволила преодолеть плохую растворимость в воде. Исходной посылкой для создания этой рецептуры было желание избавиться от использования высокотоксичного растворителя паклитаксела кремофора. Особое внимание исследователей привлекают цельные липидные частицы. Эти НЧ в качестве нанотранспортеров препаратов могу вводиться в организм разными путями, включая энтеральный, трансдермальный, парентеральный, ректальный и внутриглазной. Положительные результаты были получены при исследовании терапевтической эффективности перорального приёма липидных НЧ, нагруженных тобрамицином (антибиотик широкого спектра действия из группы гликозидов), клозапином (нейролептик, используемый для лечения шизофрении), рифампицином и изонназидом. Широкое распространение в последние годы получили полилактидные и поли(лактид-ко-гликолид)ные НЧ. Изучение судьбы данных частиц после их введения в организм показало, что они интернализируются в клетке путём эндоцитоза. Изменение поверхностного заряда НЧ, происходящее в условиях кислотной среды внутри лизосом, способствует их быстрому высвобождению из лизосом и накоплению в цитоплазме. Исключительно важным этапом синтеза полимерных НЧ является химическая модификация их поверхности, которая, во-первых, позволяет избежать их фагоцитоза, во-вторых, обеспечивает усиление их захвата клетками и, в-третьих, позволяет направить частицы к специфическим внутриклеточным органеллам. Интересным примером улучшения захвата и уменьшения экзоцитоза поли (лактид-ко-гликолид)ных НЧ может служить их конъюгация с трансферином. В экспериментах на мышах с раком предстательной железы было показано, что НЧ, содержащие паклитаксел и конъюгированные с трансферином, оказывали более выраженный противоопухолевый эффект, чем неконъюгированные НЧ.

## 3.13. Квантовые точки.

Флуоресцентные метки широко используются в биологии и медицине. Их недостатком является необходимость использования различных красителей для получения каждого цвета и подбора лазера соответствующей длины волны для индукции флуоресценции этих красителей. Кроме того, цвета флуоресцентных меток часто сливаются и быстро бледнеют. Полупроводниковые нанокристаллы лишены этих недостатков. Они представлены мельчайшими наночастицами, сопоставимыми по размеру с молекулами белков и нуклеиновых кислот. При возбуждении они дают практически непрерывную палитру чётких цветов. Флуоресценция квантовых точек (КТ) возбуждается белым светом. КТ могут быть присоединены к биомолекулам и обеспечивать длительно существующий сигнал, многократно превосходящий по яркости используемые в настоящее время красители. Применение КТ может существенно расширить возможности диагностики многих заболеваний. В настоящее время КТ активно используются для детекции опухолевых клеток, маркирования внутриклеточных органелл, визуализации микрососудов и многих других биомедицинских исследований. В качестве квантовых точек используются нанокристаллы GaAs, AlGaAs. Оптические свойства квантовых точек существенно зависят от их размеров. С увеличением радиуса квантовых точек от 5 до 20 нм, длина волны излучения увеличивается от 400 до1000 нм. В отличие от других флуоресцентных систем полупроводниковые квантовые точки имеют пороговую энергию возбуждения, поэтому их можно возбуждать и этой и большей энергией. Пороговая энергия не должна совпадать с энергией излучательного перехода внутри квантовых точек. Это позволяет возбуждать на одной длине волны квантовые точки, каждая из которых излучает на своей длине волны. Применение квантовых точек в флуоресцентной интроскопии по сравнению с традиционными методами имеют ряд преимуществ. Во-первых, они в отличие от традиционных химических красителей не подвержены обесцвечиванию, во-вторых, интенсивность свечения КТ примерно в 3000 раз сильнее, чем обычных красителей. Таким образом, уникальные спектральные свойства квантовых точек являются весьма перспективными для исследований в биомедицине.

## 3.14. Вирусные векторы и вирусоподобные частицы.

Вирусы – внутриклеточные паразиты, которые в ходе эволюции приобрели способность инфицировать клетки и часто обладают специфичностью по отношению к их определённому типу. Вирусы состоят из генетического материала, заключённого в защитную белковую оболочку – капсид. Они очень успешно внедряют свою ДНК в клетки организма-хозяина, где она экспрессируется для воспроизведения дочерних вирусных частиц. В процессе эволюции вирусы «разработали» стратегию, состоящую из нескольких этапов связывания и интернализации и позволяющую с высокой эффективностью проникать в клетки. Кроме того, вирусы способны управлять генетическим аппаратом клетки-хозяина, заставляя её производить вирусные белки. Эти свойства делают вирусы идеальными системами для доставки генетического материала. Однако ввиду инфекционной природы вирусов в нативном виде их нельзя использовать для доставки лекарств и генов. Удобной системой для генной терапии могут служить вирусные частицы, сохраняющие способность к эффективному переносу и экспрессии генов, но лишённую патогенных свойств. На этом основано создание рекомбинантных вирусных частиц, в которых генетический материал исходных вирусов модифицирован таким образом, что данные частицы напоминают природные вирусы, но лишены способности к репликации и распространению инфекции в клетках. Для создания рекомбинантных вирусных векторов гены, необходимые для репликации вируса, заменяют чужеродными генами. В результате, модифицированный вирус по-прежнему способен инфицировать клетку организма-хозяина, но не может «заставить» её воспроизводить вирусные белки. Вирусные векторы активно используются в генной терапии, поскольку они обеспечивают эффективный перенос генетической информации и длительную экспрессию. Однако, кроме проблемы патогенности вирусов, которую удалось решить, есть задача стимуляции иммунного ответа, связанная с длительной экспрессией вирусных генов. Клетки, экспрессирующие вирусные гены, быстро выводятся из организма посредством иммунной реакции.

Сложность наладки крупномасштабного производства рекомбинантных вирусных векторов ограничивает применение данных систем в качестве переносчика генов, поэтому требуется поиск альтернативных систем доставки генов. Альтернативой вирусным частицам служит вирусоподобные частицы (ВЧ), сохраняющие высокую трансфецирующую активность вирусных частиц, но не несущие инфицирующих генов. ВЧ лишь имитируют общую структуру вирусных частиц. ВЧ полностью лишены геномной ДНК или РНК вирусов, но их белковый капсид аналогичен вирусным частицам. Сборка ВЧ основана на том, что экспрессия белков капсида многих вирусов приводит к спонтанному образованию дочерних частиц по структуре идентичных родительским. В отличие от вирусов ВЧ состоят только из капсидов и не содержат нуклеиновые кислоты. Рекомбинантные вирусные векторы и вирусоподобные частицы могут использоваться для вакцинации и доставки генетического материала.

Рассмотрим рекомбинантные вирусные векторы на основе аденовирусов. Аденовирусы содержат линейную двунитиевую молекулу ДНК длиной около 35 тысяч пар нуклеотидов. Геном упакован в белковый капсид, диаметр которого составляет около 70 нм. Векторы на основе аденовирусов достаточно просты, производство их недорого. Аденовирусы эффективно переносят гены как в делящиеся, так и в неделящиеся клетки. Данные векторы широко применяют для доставки генов *in vivo*. В настоящее время подобные системы для лечения онкологических заболеваний проходят стадию клинических испытаний. При создании рекомбинантного аденовируса для переноса генов важный для репликации и экспрессии вируса ген Е1 удаляют, а образующиеся плазмиды внедряют в клетки организма-хозяина. Например, в человеческие зародышевые клетки. Синтез вирусных продуктов, часто стимулирует иммунный ответ в инфицированных клетках, что приводит к прекращению экспрессии через одну-две недели после инъекции. Это в значительной степени ограничивает применение описанной системы.

Ретровирусы относят к классу оболочечных вирусов. Их геном состоит из однонитиевой молекулы РНК. Диаметр типичной ретровирусной частицы находится в диапазоне 90 – 140 нм. После инфицирования клеток организма хозяина вирусный геном в ходе обратной транскрипции превращается с двунитиевую ДНК, которая внедряется в геном клетки хозяина и заставляет её воспроизводить вирусные белки. Ретровирусы поражают клетки путём специфического взаимодействия между белками оболочки вируса и рецепторами на клеточной поверхности. Рекомбинантные ретровирусы получают путём замены генов, ответственных за репликацию вируса, новыми генами. Модифицированный вирус по-прежнему способен проникать в клетку-мишень и внедряться в её геном. Векторы на основе ретровирусов представляют особый интерес для лечения генетических заболеваний, когда требуется стабильное введение нового препарата в геном организма хозяина. Системы доставки генов на основе ретровирусов наиболее стабильны и позволяют добиться непрерывной экспрессии необходимых генов.

Аденоассоциированные вирусы (ААВ) – вирусы, реплицирующие только в присутствии аденовирусов. ААВ – простой непатогенный вирус, геном которого построен из однонитиевых ДНК и содержит два гена – cap и rep. Ген cap кодирует белки вирусного капсида, продукт гена rep участвует в репликации вируса и его интеграции в клетки организма-хозяина. ААВ не может реплицироваться самостоятельно; необходимо, чтобы клетка была одновременно инфицирована аденовирусом. В векторе на основе ААВ гены cap и rep заменяют на трансгены и встраивают полученные вектор в клетки, инфицированные аденовирусом, где образуются новые ААВ-векторы. В настоящее время созданы векторы на основе других рекомбинантных вирусов: вируса коровьей оспы, вируса простого герпеса, вируса герпеса крупного рогатого скота.

Успешное проведение генной терапии зависит от правильной интернализации генетического материала клетками и от уровня экспрессии генов в ядре клеток мишеней. Векторы на основе рекомбинантных аденовирусов достаточно широко применяются для введения в организм генов и вакцин. В эксперименте с крысами с ишемией спинного мозга была продемонстрирована возможность переноса генов в центральную нервную систему с помощью аденовирусов. Показана возможность доставки генов в слюнные железы крыс рекомбинантными аденовирусами *in vivo*. Рекомбинантные аденовирусы успешно применялись для иммунотерапии и в других исследованиях на модельных животных: крысах, мышах, кроликах, свиньях, шимпанзе и собаках для борьбы с различными инфекционными заболеваниями. Рекомбинантные векторы на основе ААВ имеют ряд преимуществ при использовании генной терапии, так как не оказывают токсического действия, способны проникать в делящиеся и неделящиеся клетки, обеспечивают длительную экспрессию чужеродного гена и могут быть получены в лабораторных условиях в виде препаратов с высокой концентрацией. В экспериментах *in vivo* была показана возможность доставки функциональных генов с помощью ААВ векторов для многих типов тканей, включая сердечную мышцу взрослой мыши, скелетную мышцы мыши, печень мыши, соматические клетки приматов. Векторы на основе рекомбинантных вирусов используют для генной терапии нейродегенеративных нарушений, сердечно сосудистых заболеваний.

Рассмотрим вирусоподобные частицы с капсидом папилломавируса. Белки капсида разных типов папилломавируса человека экспрессируют в клетках насекомых с помощью рекомбинантных векторов на основе вирусов коровьей оспы. Вирусоподобные частицы с капсидным папилломавирусом применяли для иммунотерапии. Иммунизация кролика ВЧ приводила к образованию антител, нейтрализующих вирус. Таким образом, обеспечивалась длительная и надёжная защита кроликов, заражённых папилломавирусом. В клетках насекомых проводили экспрессию нативной формы основного белка капсида папилломавируса собак. У привитых животных начинали вырабатываться антитела против собачьего вируса. Установлено, что вирусоподобные частицы с капсидом папилломавируса – эффективный инструмент для иммунотерапии, позволяющей снизить распространение заболеваний человека, вызванных папилломовирусом.

Капсид полиомавируса не покрыт внешней оболочкой, диаметр этой частицы составляет около 45 нм. Белки полиомавируса экспрессировали в клетках насекомых, бактерий и млекопитающих. Образующиеся мономерные белки при повышении ионной силы немедленно собирались в капсиды. Данные вирусоподобные частицы стабилизировали добавлением ионов кальция или образованием дисульфидных мостиков. ВЧ с капсидом полиомавируса оказались пригодными для переноса ДНК в клетки мышей *in vitro* и *in vivo* с последующей экспрессией генов. Во многих исследованиях вирусоподные частицы с капсидом полиомавируса использовали для доставки лекарств и белков.

## 3.15. Материалы для тканевой инженерии.

Для замены повреждённых человеческих тканей и органов используют биосовместимые нановолокна. Поскольку у нановолокон, изготовленных из биосовместимых полимеров, большая удельная поверхность их использование для создания протезов, косметических компонентов и кремов, заменителей костной ткани и искусственных сосудов представляется вполне перспективным. В настоящее время задача исследователей состоит в подборе условий электроспиннинга для использования массивов нановолокон из разных полимеров в качестве полифункциональных мембран, биомедицинских структурных элементов, защитных покрытий ткани, наполнителей фильтров для разделения частиц размером менее микрометра, композитной арматуры и элементов наноэлектронных приборов. Недавно всеобщее внимание привлёк проводящий полимер полианилин. Было установлено, что нановолокна из полианилина и желатина представляют собой новый проводящий материал, пригодный для получения биосовместимых каркасов для тканевой инженерии. Кроме того, большой интерес представляет создание систем доставки лекарств на основе нановолокон. Например, трёхмерные каркасы из нановолокон, обеспечивающие контролируемое высвобождение заключённых в них факторов роста, с успехом применяются для регенерации тканей. В настоящее время полимерные нановолокна стали использоваться и в других областях биомедицины и биотехнологии.

## 3.16. Детонационные наноалмазы.

Для синтеза детонационных наноалмазов используют смесь взрывчатых веществ тротила и гексогена. Взрывы зарядов при получении детонационного наноалмаза осуществляют в специальном оборудовании – взрывной камере. Технический углеродный продукт, получаемый после взрыва и содержащий наноалмаз, содержит примеси аморфного углерода. Для выделения наноалмаза из детонационного углерода используют различные химические методы, применяя газофазное и жидкофазное окисление. Наиболее распространённым газовым окислителем является кислород воздуха. Для жидкофазного окисления используют концентрированную серную кислоту с хромовым ангидридом, перекись водорода, смесь перекиси водорода и азотной кислоты. В промышленности для очистки наноалмаза применяют азотную кислоту в сочетание с концентрированной серной кислотой. Детонационные наноалмазы состоят из агрегатов наночастиц размером от 4 до 5 нм. В настоящее время разработаны методы получения суспензий деагломерированных наноалмазов.

Наноалмазы гидрофильны, содержат на своей поверхности набор различных кислородсодержащих функциональных групп, их поверхность может легко может быть модифицирована. Это определяет возможность применения наноалмазов в биомедицине. Было установлено, что наноалмазные частицы легко проникают в клетки и могут использоваться для доставки различных лекарственных препаратов. Следует отметить, что иммобилизованное на наноалмазе (ковалентно или нековалентно) сложное химическое соединение (белки, ферменты) практически полностью сохраняет природную активность. Однако преимущественно используется нековалентная иммобилизация, что существенно облегчает высвобождение активного начала в области очага поражения. Молекулы лизоцима, связанные с наноалмазом не теряют свои биологические функции. Ковалентное связывание иммуноглобулина, бычьего сывороточного альбумина и антител с поверхностью наноалмаза, приводящее к аддуктам, сохраняет биологическую активность присоединённых белков. Наноалмазы за счёт ионных связей образуют аддукты с противоопухолевым препаратом доксорубицином. Этот процесс обратим и может регулироваться концентрацией ионов хлора. Связывание с наноалмазом способствует проникновению доксорубицина в макрофаги мышей и опухолевые клетки. По-видимому, такая композиция может использоваться для доставки лекарственных веществ в клетки колоректальной карциномы. Одной из проблем химии лекарственных веществ является низкая растворимость активных соединений, затрудняющая их доставку к органу или ткани-мишени в достаточной для терапевтической цели концентрации. Поэтому представляет интерес использования наноалмазов для перевода малорастворимых соединений в водную фазу. Установлено, что такие вещества, как противоопухолевые препараты пурваланол А, 4-гидрокситамоксифен и противовоспалительный препарат дексаметазон, могут сорбироваться на кластер наноалмазов и сохранять своё терапевтическое действие.

В настоящее время одним из важных направлений наномедицины является разработка методов введения в живые системы различных флуорофоров. Для этого широко применяются различные органические молекулы, содержащие флуороформы, однако у них есть существенный недостаток – их флюоресценция недолговечна и не всегда удобна для исследования длина волны излучения. Поэтому в качестве флуоресцентных маркеров для клеток активно разрабатываются квантовые точки, представляющие собой стабильный, яркий флуороформ. Однако у большинства квантовых точек есть серьёзный недостаток – они содержат в себе такие соединения, как селенид кадмия, сульфид кадмия, арсенид индия и фосфит индия. Присущая ионам этих металлов токсичность делает квантовые точки опасными при использовании *in vivo*. Поэтому необходима разработка новых видов материалов, которые не будут иметь этих ограничений. В качестве таких материалов могут использоваться наноалмазы. Наноалмазы, содержащие оптические центры на основе азот-вакансионных комплексов, способны к люминесценции в красной и зелёных областях спектра, что делает возможным их использование в качестве оптических маркеров при изучении биологических объектов. Преимущество таких наноалмазов как флуоресцентных зондов заключается, во-первых, в том, что они излучают свет в красной области спектра (575 – 750 нм), что позволяет работать вне области, где наблюдается собственная флуоресценция клеток (300 – 500 нм), во-вторых эти флуоресцентные зонды фотостабильны. Флуоресценция наноалмазов может быть такой же или даже сильнее чем у квантовых точек.

## 3.17. Наноструктуры в диагностике и лечении рака.

Онкологические заболевания являются второй по частоте причиной смертности населения, уступая лишь сердечно-сосудистым. Важнейшим условием успешного лечения раковых заболеваний является ранняя диагностика. В настоящее время постановка диагноза связана с исследованием изменений в клетках или тканях, которые обнаруживаются при врачебном осмотре или с помощью приборной диагностики. Однако медикам хотелось бы иметь возможность диагностировать самые ранние изменения на молекулярном уровне. Возможности применения нанотехнологии в молекулярной диагностике перечислены ниже.

1. Нанотехнологии на чипах.

Микрожидкостные чипы для определения объёмов на уровне нанолитров. Наночипы. Белковые наночипы.

2. Технологии с использованием наночастиц.

Частицы золота. Магнитные наночастицы в сочетании с МРТ. Квантовые точки. Зонды на основе наночастиц.

3. Нанозонды.

4. Кантилеверные частицы.

Одноразовые чипы, позволяющие одновременно проводить несколько тестов (например, анализировать белки и ДНК).

5. ДНК наномашины для молекулярной диагностики.

6. Иммуноанализ с использованием наночастиц.

Конъюгаты ДНК или белков с наночастицами.

7. Резонансное светорассеяние.

8. Наносенсоры.

Живые споры – нанодетекторы. Нанопоровые наносенсеры. Наносенсорный детектор глюкозы. Оптические биосенсоры на основе метода поверхностного плазмонного резонанса. Капсулированные зонды, полученные путём биологически локализованного встраивания.

9. Фотостимулированная люминесценция в наночастицах.

Рассмотрим подробней использование наночастиц для ранней диагностики рака. Для решения этой проблемы используют квантовые точки. Меняя состав и размер КТ можно добиться извлечения ими света в широком диапазоне волн – от ультрафиолетового до инфракрасного. Они эффективно поглощают и излучают свет. Интенсивность излучения КТ в 10 – 20 раз превышает интенсивность излучения органических красителей. Поверхность квантовых можно покрывать гидрофильными полимерами. Или присоединять к ней биоафинные лиганды: моноклональные антитела, пептиды, олигонуклеотиды или небольшие молекулы ингибиторов (Рис. 18).

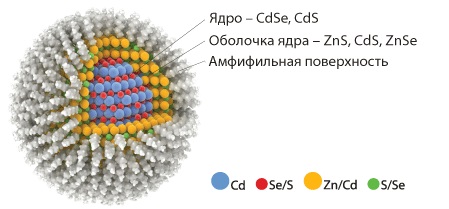


Рис. 18. Схема строения квантовой точки.

Благодаря высокому отношению площади поверхности к объёму удаётся получать полифункциональные конъюгаты квантовых точек. КТ используют в диагностике рака как *in vivo*, так и *in vitro*. Скрининг биологических жидкостей на опухолевые маркёры *in vitro* – распространённый диагностический тест, который отличается от традиционных быстротой и высокой чувствительностью. Конъюгаты КТ позволять одновременно определить несколько маркеров. Ещё одним возможным применением КТ *in vitro* является получение изображения клеток. Недавно были синтезированы водосовместимые КТ с очень низким уровнем неспецифического связывания для иммунофлуоресцентного лечения раковых клеток. Появилась возможность получения изображения опухолевых тканей *in vivo* с помощью настраиваемых КТ. Таким образом, одновременно обнаруживают несколько опухолевых маркеров, что невозможно при использовании традиционных контрастных агентов. Квантовые точки для использования в экспериментах *in vivo* и *in vitro* выпускаются под торговыми марками QdotR, PLxBeadsR, BioPixelsR. Однако клиническое применение КТ ограничено из-за их цитотоксичности. Кроме того, необходимо более подробно изучить процессы распада и метаболизма КТ, поскольку по некоторым данным, введённые в организм нанокристаллы накапливаются в почках, печени и селезёнке. Пока неизвестно, могут ли КТ быть полностью удалены из организма. Однако успехи в области модификации поверхностей и создании конъюгатов, безусловно, будут способствовать внедрению КТ в клиническую практику.

Наряду с квантовыми точками используются наноконтейнеры. Наноконтейнеры – структуры, построенные из диэлектрического ядра (обычно кремния), окружённого тонкой металлической оболочкой (как правило, золотом) толщиной 10 – 300 нм. Действие наноконтейнеров основано на опосредованном плазмонами превращении электрической энергии в свет. Как и квантовые точки, наноконтейнеры можно «настраивать» оптически: спектр излучения данных структур распространяется от ультрафиолетовой до инфракрасной области. Интерес к наноконейнерам связан с возможностью их использования для получения изображения; кроме того, в составе этих частиц нет тяжёлых металлов, поэтому, в отличие от КТ, они нетоксичны. Недостатком данных наноструктур является их сравнительно небольшой размер. Покрытые полиэтиленгликолем длительно циркулирующие наноконтейнеры используются *in vivo* в качестве контрастных агентов для оптической когерентной томографии и фотоакустической томографии. Наноконтейнеры также находят терапевтическое применение для лечения рака, поскольку с их помощью можно доставлять противоопухолевый препараты. Кроме того, они способны поглощать свет, выделяя при этом тепло, на чем основан терапевтический метод фототермальной абляции. Одним из коммерческих вариантов наноконтейнеров является продукт AurоShellTM, который используется для диагностики лечения опухолей. В отличие от металлов и других материалов частицы AurоShellTM сконструированы таким образом, что поглощают свет на определённой длине волны и превращают его в теплоту. В результате происходит быстрый распад опухоли.

Наночастицы золота – один из наиболее многообещающих инструментов для диагностики и лечения рака. Преимущество этих частиц состоит в простоте их получения и способности рассеивать и поглощать свет с желаемой длиной волны. Кроме того, золото разрешается использоваться в терапевтических целях, поскольку оно значительно менее токсично, чем другие металлы, используемые для изготовления квантовых точек. Наночастицы золота можно применять как для диагностики *in vitro*, так и для получения изображений опухолей *in vivo* методом фотоакустической томографии. Наночастицы золота поглощают свет гораздо интенсивнее любого органического красителя, что делает их удобным инструментом для обнаружения раковых клеток, а при активации лазером они убивают их.

Магнитные наночастицы – продукты нового поколения, предназначенные для диагностики рака методами магнитно-резонансной томографии (МРТ) и компьютерной томографии. Преимущество этих частиц связано с большей чувствительностью к изменениям магнитного поля, чем у традиционных контрастных веществ, например гадолиния. Наночастицы из оксида железа представляют интерес в качестве лимфотропов – нового класса контрастных агентов для МРТ, уникальные свойства которых определяют их широкое клиническое применение. Сначала парамагнитные наночастицы оксида железа применялись для получения изображения печени. Оказалось, что малые размеры частиц позволяют им проникать сквозь стенки капилляров и концентрироваться в лимфатических узлах, что позволило надёжно охарактеризовать лимфатические узлы любого размера. Таким образом, появилась новая технология, позволяющая проводить неинвазивное обследования узлов у пациентов с различными видами опухолей. Магнитные наночастицы – пример наиболее успешного диагностического внедрения нанотехнологии. Уже созданы коммерческие системы ferumoxtran-10, AMI-227 и СombidexR.

Рассмотрим использование наночастиц для лечения рака. Липосомы были первыми продуктами нанотехнологии, допущенными к применению в терапевтических целях, и первыми нанофармацевтическими средствами в химиотерапии раковых заболеваний. Для достижения продолжительной циркуляции липосом *in vivo* было предложено несколько подходов, в том числе покрытия поверхности липосом инертными биосовместимыми полимерами. Например, полиэтиленгликоль, образует на поверхности липосом защитный слой и снижает вероятность распознавания липосом опсонинами (антитела и факторы комплемента, усиливающие фагоцитоз) и, следовательно, их выведение из циркуляции. Данные липосомы ныне широко изучаются и используются как в исследованиях *in vitro* и *in vivo*, так и в клинической практике. Липосомы с полиэтиленгликолем называются «стерически стабилизированными». Применение технологии длительно циркулирующих липосом позволило наладить выпуск противоопухолевого препарата доксорубицина, заключённого в липосомальные капсулы. Этот препарат, известный под торговой маркой Доксил, был допущен к клиническому использованию в США в 1995 году. Гидрохлорид доксорубицина является известным антибиотиком антрациклинового ряда. К сожалению, доксорубицин оказывает дозозависимое кардиотоксическое действие. Включение гидрохлорида доксирубицина в липосомальные капсулы качественно меняет фармокинетику препарата. Доксил – жидкая суспензия везикул со средним размером 80 – 90 нм, заполненная гидрохлоридом доксорубицина. Общее содержание липидов в препарате составляет примерно 16 мг/мл, концентрата доксорубицина – 2 мг/мл. Препарат (Рис. 19) содержит три липидных составляющих: гидратированный фосфатидилхолин сои, холестерин и конъюгат дистероилфосфатидилэтаноламина с полиэтиленгликолем в молярном соотношении 56:58:5. Данное соотношение придаёт двойному слою прочность при температуре 37°C и ниже, обеспечивая удерживание лекарства. Продолжительное время циркуляции и стабильное удерживание Доксила – ключевые факторы, позволяющие нагруженным лекарством липосомам достичь в капиллярной сети в тканях замедленной циркуляции, которой характеризуются опухоли и некоторые участки организма.

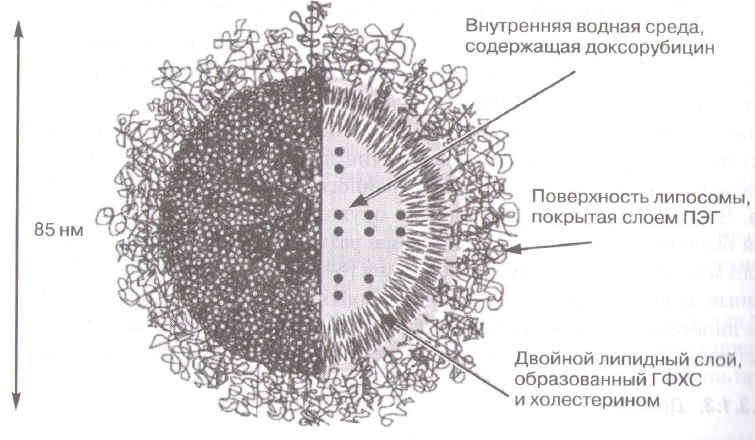


Рис. 19. Схема строения препарата Доксил. Двухслойная липидная мембрана, состоящая из гидратированного фосфатидилхолина сои, отделяет внутреннюю водную среду от внешней среды. Доксорубицин включён во внутреннее пространство липосомы и плотно упакован, образуя гелеобразную фазу. Линейные полимерные сегменты полиэтиленгликоля встроены во внешнюю поверхность липосомы и формируют защитный слой, обеспечивающий стабильность частиц.

При лечении Доксилом пациента с раком молочной железы концентрация лекарства в опухоли была примерно в 10 раз выше таковой в прилегающей мышечной ткани. В настоящее время Доксил применяется для лечения больных с раком яичников. Показана эффективность использования Доксила при лечении саркомы Капоши у больных СПИДом.

Цисплатин – один из наиболее широко применяемых химиотерапевтических препаратов, используемых для лечения онкологических заболеваний людей и животных. Применение цисплатина ограничивается дозозависимым токсическим действием, например нефротоксичностью. Для снижения токсического действия цисплатин инкапсулируют в длительно циркулирующие липосомы.

Липосомы находят применение в противоопухолевой терапии в качестве системы доставки лекарственных средств с медленным высвобождением. Первым выпущенным препаратом такого рода стал DepoCytR. Он предназначен для лечения пациентов с лимфоматозным менингитом, который является осложнением лимфомы на поздней стадии заболевания. Больным лимфатозным менингитом назначают цитарабин, однако из-за малого времени полужизни препарата показаны ежедневные спинномозговые инъекции, что тяжело переносится пациентами и значительно повышает стоимость ухода за ними. Применение препарата DepoСytR позволяет снизить частоту введения до одного раза в неделю и проводить амбулаторное лечение.

В классических вакцинах иммуногеном служит или очищенный антиген, либо ослабленный патогенный организм. В последнем случае может возникнуть инфекционное заболевание, против которого проводится иммунизация. С другой стороны, очищенные антигены зачастую неспособны вызвать долгосрочный иммунный ответ. Исследования показали, что некоторые липосомы способны образовываться из мембран злокачественных клеток, содержащих потенциальные антигены. Благодаря присутствию мембранносвязанных антигенов препараты на основе мембран могут использоваться в качестве противоопухолевых вакцин. Была разработана липосомальная вакцина StimuvaxR. Этот продукт применяется при лечении немелкоклеточного рака лёгкого и рака простаты на поздних стадиях заболевания.

Липосомы идеально подходят для доставки нерастворимых в воде лекарств при внутривенном введении, поскольку они усиливают физическую и биологическую стабильность препаратов. Одним из примеров служит липосомальный аннамицин. Аннамицин – антибиотик антрациклинового ряда, который не вызывает перекрёстного привыкания и обладает высоким сродством к липидным мембранам. Это соединение нерастворимо в воде, и в качестве его переносчика при внутривенном введении используют липосомы. Показано, что липосомы усиливают противоопухолевую активность аннамицина *in vivo*, причём небольшие липосомы эффективнее крупных или суспензии антибиотика.

Для переноса противоопухолевых препаратов с различными физико-химическими свойствами используют ряд природных и синтетических полимеров.

*Альбуминовые наночастицы.*

Паклитаксел – химиотерапевтический препарат с широким спектром противоопухолевой активности, который используется как в рамках монотерапии, так и в сочетании с другими лекарствами. Паклитаксел широко применяется для лечения пациентов с прогрессирующим раком молочной железы, яичников, головного мозга, лёгких. Однако приём препарата вызывает побочные эффекты: снижение числа лейкоцитов, общую слабость, повышенную чувствительность кожи и инфекционные заболевания. Эти побочные эффекты ограничивают использование препарата. Преодолеть токсичность паклитаксела можно, заключив его в наночастицы из альбумина. Наночастицы образуются за счёт кавитации и сил сдвига, возникающих при ультразвуковом воздействии. Сначала паклитаксел растворяют в хлористом метилене, затем раствор добавляют к человеческому сывороточному альбумину. Смесь гомогенизируют до образования грубой эмульсии, затем опять подвергают воздействию ультразвука, после чего помещают в роторный испаритель для удаления хлористого метилена. Полученную дисперсию лиофилизуют. Порошок легко превратить в исходную дисперсию, добавляю к нему стерильную воду или физиологический раствор. Данная форма паклитаксела используется для быстрого введения, причём у пациентов отсутствует гиперчувствительность к препарату. Эта форма паклитаксела выпускается под торговым названием Абраксан.

Известно, что амфифильные полимеры в водной среде способны самопроизвольно собираться в мицеллы, захватывая внутрь нерастворимые в воде частицы. Полимерные мицеллы более устойчивы, нежели мицеллы поверхностно активных веществ. В настоящее время применяют мицеллярные наночастицы, образующиеся в результате самопроизвольной сборки биоразлагаемых диблок-сополимеров метоксиполиэтиленгликоля и полимолочной кислоты. Размер частиц составляет 20 – 200 нм. В доклинических испытаниях было установлено, что включение паклитаксела в состав полимерных мицелл приводит к трёхкратному повышению максимально переносимой дозы и значительному увеличению противоопухолевой активности по сравнению с таксолом. Таксол – применяемая в клинике форма паклитаксела, которая содержит неионное поверхностно-активное вещество (полиоксиэтилированное касторовое масло) и этиловый спирт для повышения растворимости лекарства. Ещё одним примером применения мицеллярных наночастиц служит система, полученная блок-сополимеризацией этиленгликоля и гидрофобного производного полиаминокислоты. В данные структуры включали цисплатин. Средний размер мицелл составил 30 нм. Противоопухолевая активность частиц, несущих цисплатин сохраняется, а нефро- и нейротоксическое действие цисплатина снижается. Поэтому мицеллярная форма препарата рассматривается в качестве эффективного средства для длительного применения.

В заключение отметим, что интеграция нанотехнологических подходов в области диагностики и лечения рака происходит чрезвычайно быстро. Развитие новых технологий направленно на повышение эффективности терапии онкологических заболеваний.

# ЛИТЕРАТУРА

*Вихров С.П., Холомина Т.А., Бегун П.И., Афонин П.И.* Биомедицинское материаловедение. М.: Горячая линия-Телеком, 2006. 383 с.

*Гонсалвес К., Хальберштадт К., Лоренсин К., Наир Л.* Наноструктуры в биомедицине. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. 519 с.

*Попков В.А., Нестерова О.В., Решетняк В.Ю., Аверцева И.Н.* Стоматологическое материаловедение. М.: МЕДпресс-информ, 2006. 384 с.

*Пиотровский Л.Б., Киселев О.И.* Фуллерены в биологии. СПб.: Росток. 2006.336 с.

*Пиотровский Л.Б.* Очерки о наномедицине. СПб.: Европейский дом. 2013. 204 с.

*Дубова М.А., Салова А.В., Хиора Ж.П.* Расширение возможности эстетической реставрации зубов. Нанокомпозиты. СПб.: Издательский Дом СПбГУ. 2005. 142 с.

*Тертых В.А., Белякова Л.А.* Химические реакции с участием поверхности кремнезёма. Киев.: Наук.думка. 1991. 264 с.

*Чуйко А.* Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния. Киев.: Наук.думка. 2003. 415 с.

*Лисичкин Г.В., Фадеев А.Ю., Сердан А.А.,Нестеренко П.Н.* Химия привитых поверхностных соединений. М.: Физматлит, 2003. 592 с.

*Семенов К.Н., Шаройко В.В., Чарыков Н.А., Постнов В.Н.* Водорастворимые фуллеренолы. СПб.: СПбГТИ(ТУ). 2015. 70 с.

*Вуль А.Я., Шендерова О.А.* Детонационные наноалмазы. Технология, структура, свойства и применение. СПб.: Изд-во ФТИ им А.Ф.Иоффе. 2016. 384 с.

# ОГЛАВЛЕНИЕ

**Введение..................................................................................................................3**

**Глава 1. Основные виды биомедицинских материалов.................................5**

1.1. Эндопротезы......................................................................................................5

1.2. Мембраны для диализа.....................................................................................5

1.3. Мембраны для оксигенации.............................................................................8

1.4. Кровезамещающие жидкости..........................................................................8

1.5. Биодеструктируемые эндопротезы...............................................................10

1.6. Эндопротезы в офтальмологии......................................................................12

1.7. Искусственная кожа........................................................................................14

1.8. Эндопротезы в ортопедии..............................................................................14

1.9. Материалы для протезирования мягких тканей...........................................16

1.10. Эндопротезы кровеносных сосудов............................................................16

1.11. Материалы для эндоваскулярной хирургии...............................................17

1.12. Стоматологические материалы....................................................................18

**Глава 2. Совместимость материалов с биологическими средами..............25**

2.1. Клеточные реакции на инородные тела.........................................................25

2.2. Токсичность материалов................................................................................27

2.3. Гемотоксичность.............................................................................................28

**Глава 3. Наноматериалы в биомедицине........................................................29**

3.1. Кремнезёмы.....................................................................................................32

3.1.1. Химия поверхности кремнезёма.......................................................34

3.1.2. Применение кремнезёма в биомедицине.........................................46

3.1.2.1. Онкотерапия..........................................................................46

3.1.2.2. Доставка лекарственных препаратов в головной мозг......47

3.1.2.3. Доставка лекарственных препаратов в миокард................47

3.1.2.4. Адсорбция патогенной флоры.............................................49

3.1.2.5. Применение кремнезёма в хирургической практике.........51

3.1.2.6. Применение кремнезёма в стоматологии...........................54

3.2. Углеродные нанотрубки.......................................................................59

3.2.1. Методы получения углеродных нанотрубок.........................59

3.2.2. Токсичность углеродных нанотрубок....................................62

3.2.3. Биомедицинское применение углеродных нанотрубок.......62

3.3. Фуллерены.............................................................................................64

3.3.1. Общие сведения и способы получения фуллеренов.............64

3.3.2. Биомедицинское применение фуллеренов............................67

3.4. Фуллеренолы.........................................................................................71

3.4.1. Синтез фуллеренолов..............................................................72

3.4.2. Применение фуллеренолов в биологии и медицине.............74

3.5. Дендримеры..........................................................................................83

3.6. Липосомы..............................................................................................90

3.7. Липидные наночастицы.......................................................................94

3.8. Методы синтеза липосом и липидных частиц....................................95

3.9. Магнитные наночастицы......................................................................95

3.10. Наночастицы золота и серебра...........................................................99

3.11. Перфторуглеродные наночастицы..................................................102

3.12. Полимерные биодеградируемые наночастицы..............................103

3.13. Квантовые точки...............................................................................104

3.14. Вирусные векторы и вирусоподобные частицы............................106

3.15. Материалы для тканевой инженерии..............................................110

3.16. Детонационные наноалмазы............................................................111

3.17. Наноструктуры в диагностике и лечении рака...............................113

**Литература..........................................................................................................123**