

УДК 621.9237, 549.73, 537.6, 544.723

## Наноразмерные магнитные порошки на основе оксидов в медицине и биологии

О. Г. ТЕРЕХОВА<sup>1</sup>, А. А. МАГАЕВА<sup>1</sup>, Е. П. НАЙДЕН<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Отдел структурной макрокинетики ТНЦ Сбирского отделения РАН, проспект Академический, 10/4, Томск 634021 (Россия)

E-mail: terog@dsm.tsc.ru

<sup>2</sup>Томский государственный университет, проспект Ленина, 36, Томск 634050 (Россия)

### Аннотация

Изложен метод получения наноразмерных оксидных ферритмагнетиков с использованием механохимической активации из солевых систем и исследованы их фундаментальные свойства. Представлены результаты использования синтезированных оксидных ферритмагнетиков для магнитофекции ДНК, сорбции ДНК/РНК, микробных клеток, белков, контрастных средств для МРТ-диагностики. Обнаружено, что наночастицы нетоксичны, показаны их распределение во внутренних органах и динамика снижения, возможность использования их в качестве транспорта лекарственных средств.

**Ключевые слова:** оксидные наноферритмагнетики, механохимический синтез, адсорбция на наночастицах, магнитофекция

### СИНТЕЗ И ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА НАНОРАЗМЕРНЫХ ПОРОШКОВ ПРОСТЫХ КУБИЧЕСКИХ ФЕРРИТОВ

Наноразмерные порошки простых оксидных кубических ферритмагнетиков ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  и др.), оксидов олова и цинка ( $\text{SnO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ) представляют большой интерес для медицины и биологии. С их помощью можно решать задачи, связанные с разделением и очисткой биологических субстанций, фармакокинетическими исследованиями, целевой доставкой лекарств и генов, усилением контраста магниторезонансных изображений и т. д.

В Отделе структурной макрокинетики Томского научного центра СО РАН методом механохимического синтеза из солевых систем синтезированы наноразмерные порошки оксидных ферритмагнетиков –  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  и других, а также композиционный материал  $\text{SnO}_2 + \text{Fe}_3\text{O}_4$ . Размер их составляет от 3 до 15 нм, порошки образуют слабо-

связанные агрегаты, площадь удельной поверхности достигает 120–190 м<sup>2</sup>/г. Порошки кристаллические, характеризуются высоким уровнем внутренних упругих микронапряжений, “активные”. При уменьшении размера структурного элемента с 10<sup>5</sup> до 2–15 нм оксидный ферритмагнетик приобретает свойства спинового стекла с высокой температурой блокировки. При этом намагниченность насыщения и константа магнитной кристаллографической анизотропии существенно уменьшаются. Удельная намагниченность составляет 20–26 Г·см<sup>3</sup>/г, эффективное поле анизотропии – 520–2500 Э.

Существенные изменения фундаментальных магнитных свойств нанопорошков ферритов при сравнении с массивными образцами обусловлены большими вкладами поверхностной анизотропии и магнитоупругой составляющей. Наиболее полно условия синтеза и их фундаментальные свойства изложены в работах [1–4].

### ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ НАНОРАЗМЕРНЫХ ПОРОШКОВ ФЕРРИТОВ

Ввиду перспективного использования синтезированных наноразмерных порошков оксидов в биологии и медицине они исследованы, прежде всего, на цитотоксичность. Первые работы такого рода *in vitro* проводились в НИИ трансплантологии и искусственных органов Росздрава (Москва) и показали, что наноразмерные порошки  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  биосовместимые и не цитотоксичные.

В НИИ клинической иммунологии СО РАМН (Новосибирск) исследована токсичность нанопорошка  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (10 мг/кг) при внутривенном введении самцам мышей [5]. Видимых признаков токсичности не обнаружено. Состояние волосяного покрова, слизистых оболочек, потребление корма и воды не изменялись. Исследовано распределение  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в организме

мышей *in vivo*. После однократного внутривенного введения суспензии самцам мышей в среде RPMI-1640 в дозе 10 мг  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ /кг массы животных на 1-, 4-, 6-е сут проведен химический анализ содержания железа в печени, селезенке, почках, легком, головном мозге и в моче. Химический анализ содержания железа в исследуемых органах и биологических жидкостях на 1-е сутки после введения показал, что  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  преимущественно аккумулируется в печени (содержание железа более чем в 10 раз выше относительно контрольной группы), в селезенке и в легком (содержание железа выше в шесть раз относительно контрольной группы). В последующие дни (на 4-е и 6-е сутки) уровень железа в этих органах постепенно снижался. При этом установлено, что  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , покрытый полиэтиленгликолем (ПЭГ), в данных органах акку-

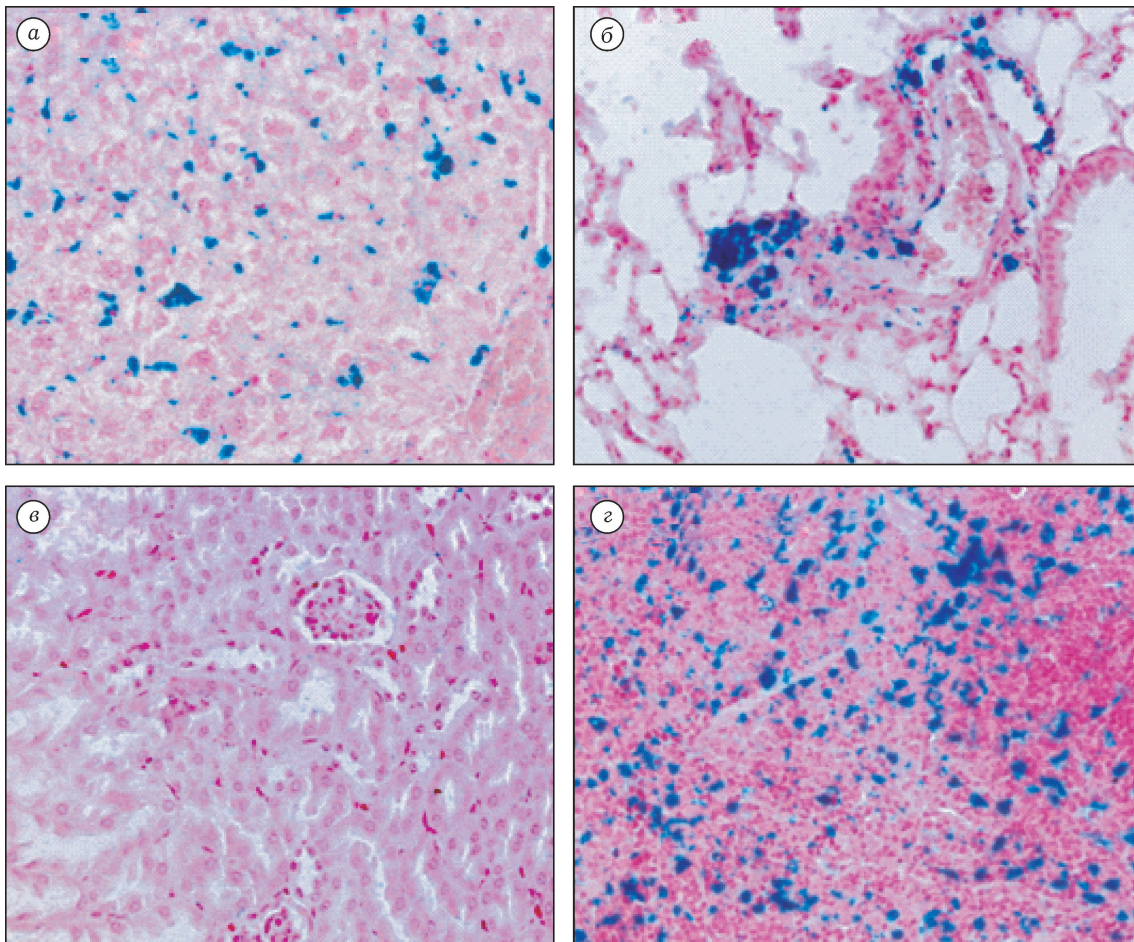


Рис. 1. Гистологические срезы внутренних органов мыши с введенными наночастицами  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ : а – печень, б – легкое, в – почка, г – селезенка. Ув. 400.



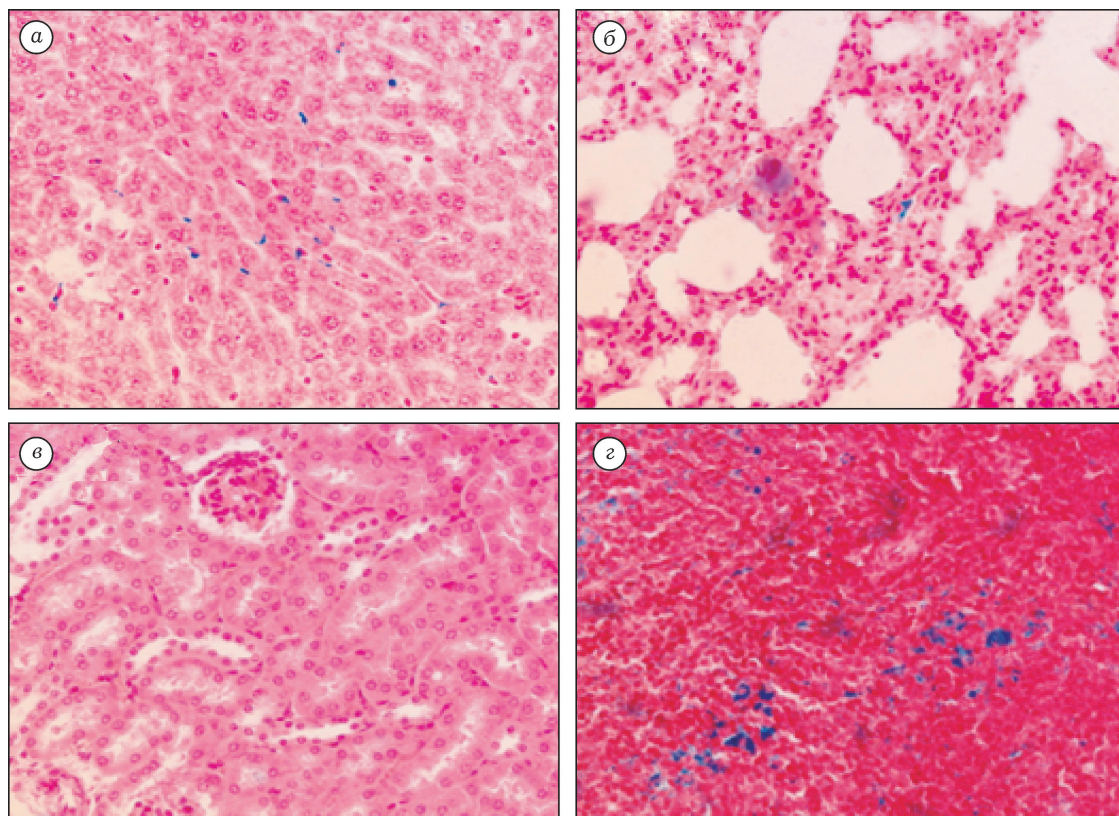


Рис. 2. Микрофотографии гистологических срезов внутренних органов мыши с введенными наночастицами  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и вшитым в бедро магнитом: а – печень, б – легкое, в – почка, г – селезенка. Ув. 400.

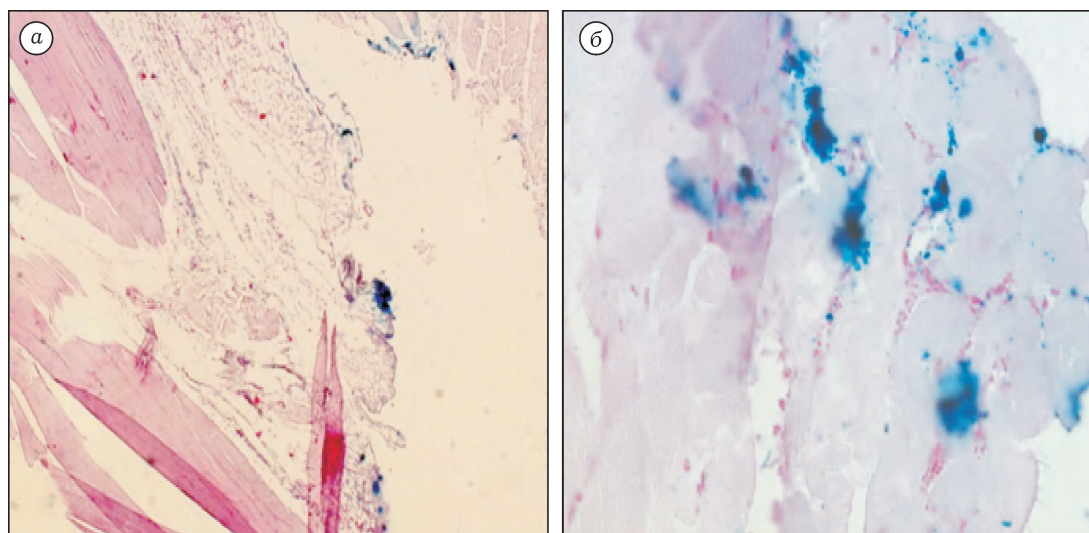


Рис. 3. Микрофотографии гистологических срезов мышцы бедра мыши с введенными наночастицами  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и вшитым в бедро магнитом. Окрашивание реакцией Перлса. Ув. 400.

мулируется в меньшей степени по сравнению с чистым  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . В почках, головном мозге и в моче исследуемых мышей при внутривенном введении  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  содержание железа не изменилось. Полученные данные по химическому анализу полностью подтверждают результаты гистологического исследования внутренних органов мышей, которым вводили внутривенно суспензию  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Эти исследования показали, что  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  накапливается преимущественно в печени и селезенке (рис. 1).

Уменьшить количество наночастиц во внутренних органах удается с помощью магнита, вшитого в бедро мыши (рис. 2, 3).

#### СОРБЦИОННЫЕ СВОЙСТВА НАНОРАЗМЕРНЫХ ПОРОШКОВ ФЕРРИТОВ

Совместно с институтом химии нефти СО РАН (Томск) исследована сорбция микроорганизмов в статических и динамических условиях. Результаты отдельных опытов представлены в табл. 1 и 2.

Видно, что сорбция микроорганизмов с использованием наночастиц в статических условиях гораздо выше по сравнению с силикагелем, а использование нанопорошков для

сорбции в динамических условиях позволяет получать практически стерильные растворы.

Проведены эксперименты по адгезии микробных клеток и нефти при сорбции в динамических условиях. Видно (табл. 3), что оба исследованных наносорбента имеют высокую адгезию. Введение наносорбентов в нефтезагрязненную культуральную среду обеспечивает одновременную адсорбцию углеводов и адгезию бактериальных клеток нефтеуваивающих микроорганизмов. Такое совмещение в одном объеме углеводородного субстрата и агентов его утилизации способствует накоплению биомассы и стимуляции оксигеназной активности микроорганизмов [6].

#### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОРАЗМЕРНОГО ПОРОШКА $\text{SnO}_2 + \text{Fe}_3\text{O}_4$ ДЛЯ СОРБЦИИ ДНК/РНК

Исследования выполнялись совместно с Сибирским государственным медицинским университетом (СибГМУ, Томск). Установлено, что при проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР-диагностики) с использованием наноразмерного порошка  $\text{SnO}_2 + \text{Fe}_3\text{O}_4$  в качестве сорбента эффективность сорбции составляет 98 %, десорбции – 100 %. При этом отсутствуют ингибирующие свойства нанопо-

ТАБЛИЦА 1

Поглощающая способность сорбентов  $\text{SnO}_2 + \text{Fe}_3\text{O}_4$  и  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  в статических условиях по отношению к микроорганизмам рода *Micrococcus* (масса сорбента 1 г)

Сорбенты	Число микроорганизмов, млн клеток			Сорбция, %
	в исходной взвеси	после сорбции	сорбированных	
$\text{SnO}_2 + \text{Fe}_3\text{O}_4$	102	0.012	101.988	99.9882
$\text{CoFe}_2\text{O}_4$	102	0.018	101.982	99.9824
Силикагель	102	0.360	101.640	99.6470

ТАБЛИЦА 2

Сорбция подвижных клеток рода *Bacillus* на поверхности наносорбентов в динамических условиях (масса сорбента в колонке 3 г)

Сорбенты	Число микроорганизмов, млн клеток		Сорбция микроорганизмов, млн кл./г	Сорбция, %
	в исходной взвеси	после фильтрации		
$\text{SnO}_2 + \text{Fe}_3\text{O}_4$	890	0.0050	296.665	99.9994
$\text{CoFe}_2\text{O}_4$	890	0.0045	296.665	99.9995
Силикагель	890	0.0300	296.656	99.9662

ТАБЛИЦА 3

Адгезия микробных клеток и загрязняющей нефти при сорбции в динамических условиях с использованием наноразмерных порошков ферритов

Бактерии, род	Исходная микробная взвесь		Микробная взвесь после фильтрации через колонку с наносорбентом			
	Число клеток, млн	Загрязнение нефтью, %	SnO <sub>2</sub> + Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>		CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	
			Адгезия микробных клеток, %	Загрязнение нефтью, %	Адгезия микробных клеток, %	Загрязнение нефтью, %
<i>Pseudomonas</i>	102	2.0	99.999	0	100	0
<i>Micrococcus</i>	85	2.0	100	0	100	0

рошка на ферментативные реакции. Установлено повышение эффективности ПЦР и выхода амплификата, что связано со стабилизирующим действием нанопорошков на ферменты синтеза нуклеиновых кислот [7]. Результаты проведенных исследований защищены совместным патентом [8].

**ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРИТОВ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ**

Исследовано влияние наноразмерных порошков кубических оксидных ферритмагнетиков на стабильность и активность ферментов, которые широко используются в клинической диагностике (ПЦР) и молекулярно-биологических исследованиях (совместно с СибГМУ). Обнаружено, что благодаря иммобилизации на наночастицах кобальтовой феррошпинели ферментативная активность при комнатной температуре сохраняется на протяжении длительного времени (рис. 4).

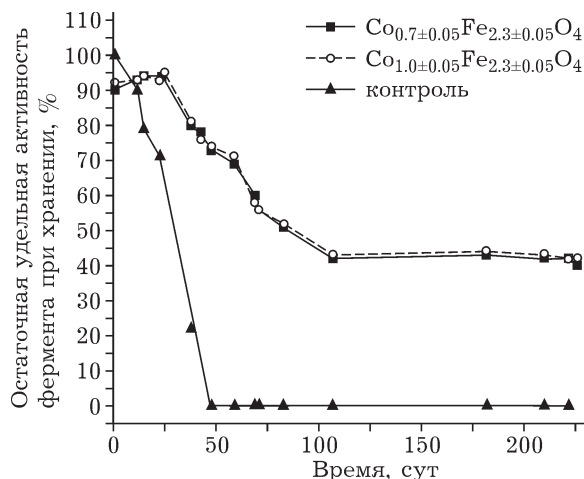


Рис. 4. Влияние наночастиц феррита кобальта на активность фермента.

Так, после выдержки в течение 40 сут остаточная активность фермента, не сорбированного на наночастицах, не превышает 3 % от первоначальной, в то время как иммобилизованный на наночастицах фермент сохраняет не менее 40 % исходной активности в течение 250 сут. Отсутствие прочной химической связи фермент – наночастица и присущие наночастицам магнитные свойства позволяют при необходимости удалить наночастицы из реакционной смеси или ферментативного препарата методом магнитной сепарации [9].

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРИТОВ ДЛЯ МАГНИТОФЕКЦИИ**

Совместно с Институтом химической биологии и фундаментальной медицины (ИХБФМ) СО РАН (Новосибирск) исследована эффективность использования наноразмерных частиц маг-

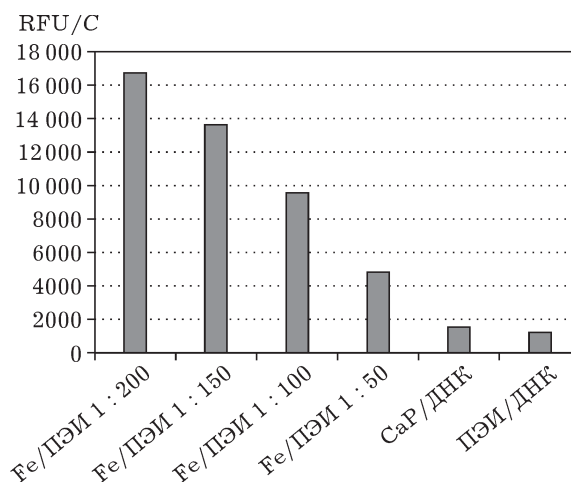


Рис. 5. Эффективность магнитофекции в зависимости от концентрации частиц Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ПЭИ по сравнению с комплексами CaP/ДНК и ПЭИ/ДНК.

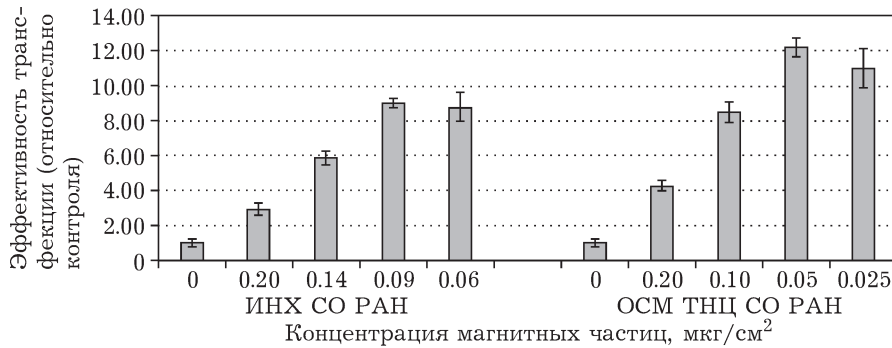


Рис. 6. Сравнение эффективности магнитофекции двух типов наноразмерных частиц магнетита, полученных сосаждением растворов солей (ИНХ СО РАН) и механохимическим синтезом (ОСМ ТНЦ СО РАН).

нетита  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и кобальтовой феррошпинели  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  в качестве переносчиков ДНК-конструкций в культуру клеток методом магнитофекции (МФ) – трансфекции под воздействием магнитного поля.

Установлено, что при использовании одинаковых доз ДНК результат магнитофекции частицами магнетита превышает в 3–12 раз результаты трансфекции комплексом фосфата кальция СаР/ДНК и комплексом полиэтиленimina с ДНК (ПЭИ/ДНК) (рис. 5). Известно, что в зависимости от метода получения наночастицы различаются по некоторым характеристикам, в частности, по магнитным и сорбционным свойствам. В этой связи экспериментально изучена эффективность использования в магнитофекции наночастиц магнетита, полученных механохимическим методом, и наночастиц, синтезированных методом химического сосаждения (рис. 6).

Для обоих типов магнетита установлена следующая тенденция: эффективность магнитофекции повышается обратно пропорционально концентрации магнитных частиц. После прохождения точки оптимальной концентрации эта тенденция изменяется на противоположную. Однако максимальная эффективность магнитофекции для частиц магнетита, полученных сосаждением, соответствует концентрации примерно  $0.09 \text{ мкг/см}^2$ , а для частиц, полученных методом механосинтеза, –  $0.05 \text{ мкг/см}^2$ . При этом в точке оптимальной концентрации она на 25 % выше по сравнению с частицами первого типа [10].

#### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОРАЗМЕРНОГО ПОРОШКА МАГНЕТИТА ДЛЯ ТРАНСПОРТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Совместно со институтом Jozef Stefan (Словения) разработан магнитный нанобиокомплекс

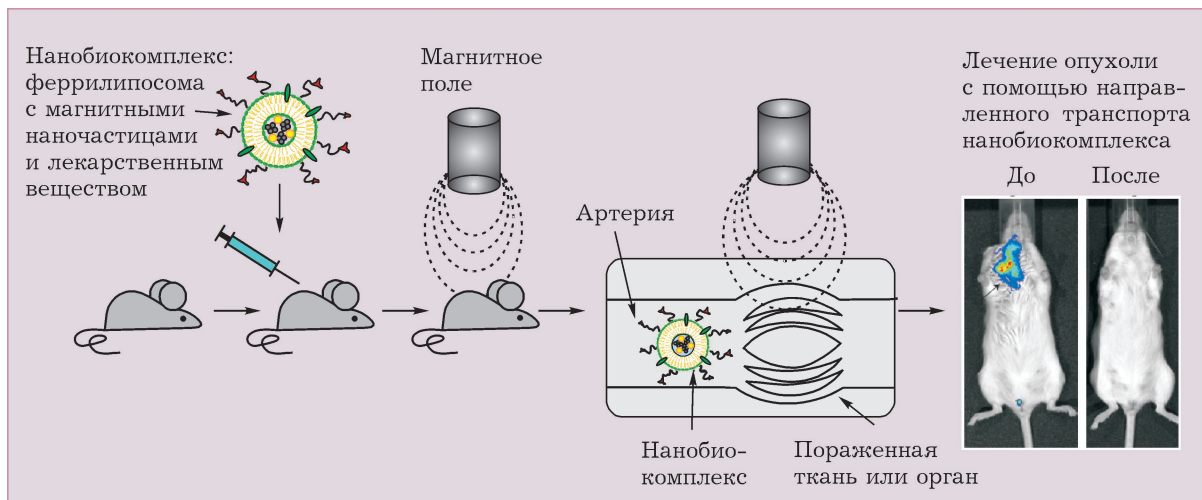


Рис. 7. Лечение опухоли молочной железы мыши с помощью направленного транспорта.



для направленного транспорта лекарственных средств к опухоли. В качестве контейнера для доставки лекарственных средств выбраны липосомы (рис. 7). Липосомальный нанобиокомплекс содержит во внутреннем объеме магнитные наночастицы  $Fe_3O_4$  и лекарственное вещество. С помощью магнита феррилпосомы доставляют в орган или ткань, где обнаружено новообразование, где они проникают в клетки опухоли, растворяются и высвобождают лекарственное вещество. Таким образом, не происходит токсического воздействия на весь организм.

Наиболее полно результаты исследований представлены в работе [11].

#### КОНТРАСТНЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ ПОРОШКОВ ФЕРРИТОВ

Магнитно-резонансная томография (МРТ) представляет собой современный метод диаг-

ностической визуализации различных тканей, с помощью которого можно выявлять опухоли, очаги воспаления, патологию сосудов и др. При МРТ определяется время релаксации T1 и T2. Подавляющее большинство контрастных средств обладают свойствами, присущими средствам с T1- или T2-релаксацией. Представляется актуальной и важной разработкой контрастных средств, интенсивно воздействующих на величины T1 и T2 и обладающих способностью влиять на оба вида релаксаций одновременно.

Совместно со институтом Jozef Stefan разработан способ усиления контраста для МРТ на основе наноразмерных частиц магнетита и кобальтовой феррошпинели. Проведенные исследования показали, что синтезированные нанопорошки кобальтовой феррошпинели и магнетита могут одновременно усиливать время релаксации T1 и T2

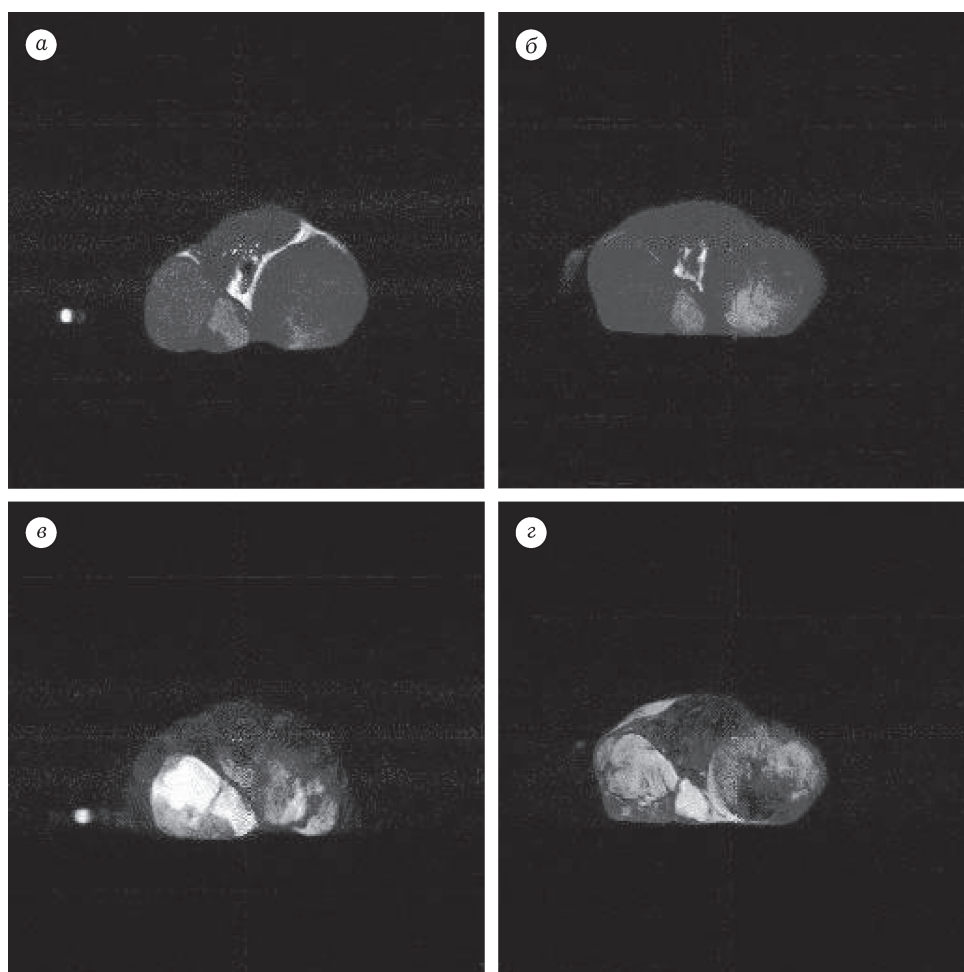


Рис. 8. Магнитно-резонансное сканирование (*in vivo*) нацеленных магнитолпосом трансплантированной опухоли молочной железы у мыши: а, б – T1-МР сканограммы, в, г – T2-МР сканограммы.

(рис. 8). Результаты проведенных исследований защищены патентом РФ [12].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтезированные методом механохимии из солевых систем наноразмерные оксидные ферритмагнетики не токсичны, обладают хорошими сорбционными свойствами как в отношении ДНК/РНК, так и в отношении различных микроорганизмов, повышают продолжительность срока хранения ферментов. Их можно использовать для магнитофекции ДНК в клетки, а также для доставки лекарственных и контрастных средств, используемых при проведении МРТ. Указанные положительные свойства наноразмерных ферритмагнетиков открывают перспективы для использования их в биологии и медицине.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Терехова О. Г., Итин В. И., Магаева А. А., Найден Е. П., Иванов Ю. Ф., Максимов Ю. М., Болдырев В. В. // Изв. вузов. Порошковая металлургия и функциональные покрытия. 2008. № 1. С. 45–50.
- 2 Магаева А. А., Терехова О. Г., Итин В. И., Радишевская Н. И., Найден Е. П., Егорова Л. А., Иванчук И. И., Першина А. Г. // Журн. прикл. химии. 2009. Т. 82, Вып. 2. С. 220–223.
- 3 Найден Е. П., Итин В. И., Магаева А. А., Терехова О. Г. // Физика тв. тела. 2009. Т. 51, Вып. 8. С. 1576–1579.
- 4 Найден Е. П., Итин В. И., Магаева А. А., Терехова О. Г., Костикова В. А., Загребин Л. В., Шестов С. С. // Порошковая металлургия и функциональные покрытия. 2011. № 1. С. 3–7.
- 5 Перминова Е. И., Гришина Л. В., Щепотина Е. Г., Пашкина Е. А., Итин В. И., Магаева А. А., Терехова О. Г., Якушенко Е. В., Козлов В. А. // Материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием “Дни иммунологии в Сибири”. Красноярск, 2010. С. 139–140.
- 6 Сваровская Л. И., Терехова О. Г., Итин В. И., Магаева А. А., Найден Е. П. // Рос. нанотехнологии. 2010. Т. 5, № 11–12. С. 32–35.
- 7 Pershina A. G., Sazonov A. E., Novikov D. V., Knyazev A. S., Izaak T. I., Itin V. I., Naiden E. P., Magaeva A. A., and Terechova O. G. // *Nanosci. and Nanotechnol.* 2011. Vol. 11. P. 2673–2677.
- 8 Пат. 2319153 РФ, 2008.
- 9 Пат. 2445271 РФ, 2012.
- 10 Сукоян М. А., Храпов Е. А., Воронина Е. Н., Боярских У. А., Губанов А. И., Итин В. И., Магаева А. А., Терехова О. Г., Найден Е. П., Филиппенко М. Л. // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. 2012. Т. 154, № 11. С. 633–637.
- 11 Mikhaylov G., Mikac U., Magaeva A. A., Itin V. I., Naiden E. P., Psakhye I., Babes L., Reinheckel T., Peters C., Zeiser R., Bogyo M., Turk V., Psakhye S. G., Turk B., Vasiljeva O. // *Nature Nanotechnol.* 2011. Vol. 6, No. 9. P. 594–602.
- 12 Пат. 2471502 РФ, 2013.