



УКРАЇНА

(19) UA (11) 47930 (13) U  
(51) МПК (2009)  
A61K 9/133МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ СТАБІЛІЗОВАНОГО РОЗЧИНУ НАНОЧАСТИНОК МАГНЕТИТУ ДЛЯ АДРЕСНОЇ ДОСТАВКИ ПРОТИПУХЛИННИХ ПРЕПАРАТІВ**

1

2

(21) u200910195

(22) 08.10.2009

(24) 25.02.2010

(46) 25.02.2010, Бюл.№ 4, 2010 р.

(72) ЧЕХУН ВАСИЛЬ ФЕДОРОВИЧ, ХАЄЦЬКИЙ ІГОР КОСТЯНТИНОВИЧ, ЛУК'ЯНОВА НАТАЛІЯ ЮРІЇВНА, КУРАПОВ ЮРІЙ АНАТОЛІЙОВИЧ, ДІДІКІН ГЕННАДІЙ ГЕОРГІЙОВИЧ, ЛИТВИН СТАНІСЛАВ ЄГОРОВИЧ, МОВЧАН БОРИС ОЛЕКСІЙОВИЧ, ПАТОН БОРИС ЄВГЕНІЙОВИЧ

(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ ТА РАДІОБІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, ІНСТИТУТ ЕЛЕКТРОЗВАРЮВАННЯ ІМ. Є.О. ПАТОНА НАНУ

(57) Спосіб отримання стабілізованого розчину наночастинок магнетиту для адресної доставки протипухлинних препаратів, що включає використання наночастинок магнетиту в полімерній оболонці, який **відрізняється** тим, що перший шар покриття наночастинок з додаванням декстрану-90 або олеату натрію наносять в 4-5 етапів з інтервалом в 5 хвилин при температурі 90-100 °С до кінцевої концентрації 0,25-0,5%, а другий - з додаванням фосфоліпідів в 5 етапів при температурі 40-50°С з доведенням кінцевої концентрації фосфатидилхоліну до 1,5% маси в водній фазі.

Заявка належить до медичної технології і може бути використана для отримання засобу керованого підведення та накопичення діагностичних та лікувальних субстанцій в осередках патологічного процесу різного роду.

Магнітні наночастки, яким притаманні високий рівень магнетизації і магнітної чутливості в магнітному полі, викликають інтерес як перспективний напрямок в біотехнології і медицині. Особливо перспективним є їх застосування в якості засобу керованого транспорту лікарських препаратів в певні осередки організму.

Успіх в цій галузі залежить в значній мірі від можливості стабілізувати наночастки магнетиків, зокрема Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, оскільки висока активність їх поверхні призводить до агрегації наночастинок в рідинному середовищі.

На сьогодні відомо про ряд способів стабілізації наночастинок магнетиту, що ґрунтуються на використанні повністю насичених жирних кислот та Na-10-ундеканоату [1], полівінілового спирту [2, 3], поліметакрилової кислоти [4], поліетиленоксид-β-поліметакрилової кислоти [5], поліетиленоксиду [6], водного розчину оцтової кислоти з додаванням ангідридів жирних кислот [7], фосфоліпідів з аліфатичними

радикалами різної довжини [8] або лауринової кислоти з подальшим вкриванням фосфоліпідами [9].

За прототип обрано метод отримання і стабілізації наночастинок магнетиту способом конденсації молекулярних пучків магнетиту у вакуумі з наступним їх розбавленням у розчині низькомолекулярного декстрану [Наночастицы магнетита, полученные способом конденсации молекулярных пучков в вакууме / Курапов Ю.А., Дидикин Г.Г., Романенко СМ. та ін. // Современная электрометаллургия. - 2009. - №3. - С.26-28.].

Позитивним у прототипі є можливість отримання наночастинок Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> бажаних розмірів, регулюючи температуру підложки, на якій конденсуються наночастки, стримуючи їх конденсацію шляхом введення у магнетит солей, які випарюються одночасно з ним, а також використання водного розчину декстрану для подальшого подрібнення агрегатів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

Недоліком прототипу є те, що в отриманому розчині наночастинки утворюють агломерати значних розмірів і швидко випадають в осад, що робить неможливим подальше використання розчину.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб отримання стабілізованого

(19) UA (11) 47930 (13) U

розчину наночастинок магнетиту для адресної доставки протипухлинних препаратів шляхом диспергації наночастинок магнетиту та їх двошаровим покриттям декстраном-90 або олеатом натрію та сумішшю природних фосфоліпідів під час обробки розчину ультразвуком, що дасть можливість отримати стабільний розчин наночастинок, які не утворюють агломератів та з часом не утворюють осаду.

Поставлена задача вирішується таким чином.

Вихідний порошок  $Fe_3O_4$  та супутньої солі подрібнюють механічно та розбавляють водою або 2% розчином KCl до кінцевої концентрації  $Fe_3O_4$  2-20% для вимивання супутньої солі, з подальшою обробкою ультразвуком (22кГц) при температурах від 60 до 100°C. Суспензію центрифугують, зливають надосадову рідину і 3-5 разів повторюють промивання дистильованою водою або KCl.

Надалі в отриману суспензію під час обробки ультразвуком вводять розчин декстрану-90 або олеату натрію в 4-5 етапів з інтервалами 5хв. при температурі 90-100°C до кінцевої концентрації 0,25-0,5%.

На наступному етапі під час обробки ультразвуком, з метою утворення переважно двошарових оболонок ліпосом, в охолоджений до 40-50°C розчин в 5 етапів вводять суспензію фосфоліпідів (лецитин сої, яечний жовток) у дистильованій воді та доводять кінцеву концентрацію фосфатидилхоліну до 1,5% маси в водній фазі.

Очистку отриманого розчину від ліпосом, не завантажених магнетитом, або завантажених магнетитом у малій кількості та концентрування магніторухомих ліпосом проводять з використанням постійних магнітів.

Розчин консервують шляхом дегазації інертним газом (аргоном або азотом) з додаванням KCl до кінцевої концентрації 2% та глюкози - до 18% з подальшою фільтрацією від випадкових великих агрегатів. Отриману субстанцію розливають у флакони чи ампули в асептичних умовах.

Розміри часток контролюють методом фотон-кореляційної спектроскопії на лазерно-кореляційному спектрометрі, а вміст елементарного заліза - методом атомно-сорбційної спектроскопії. Розміри часток  $Fe_3O_4$  контролюються методом трансмісійної електронної мікроскопії. Магнітна сприйнятливість визначається методом вібраційної магнітометрії.

Отримані за заявленим способом наночастинок можуть бути використані для створення магнітокерованих форм лікарських засобів, застосування яких дозволить покращити результати хіміотерапії та знизити шкідливий вплив цитостатиків на здорові тканини.

Прикладами реалізації заявленого способу можуть бути результати проведених лабораторних досліджень:

I. Конденсат  $Fe_3O_4$  з NaCl (25 і 75% за масою відповідно) розбавляють 2% розчином KCl в дистильованій воді до кінцевої концентрації  $Fe_3O_4$  2% і обробляють ультразвуком при температурі

60°C. Після осадження суспензії протягом 1 години надосад видаляють. Промивання повторюють 3 рази.

До осаду додають розчин декстрану-90 в 4 етапи з інтервалами 5 хвилин при температурі 90°C до кінцевої концентрації 0,5% в водній фазі під час обробки суміші ультразвуком. Суміш охолоджують до 40°C, додають 2% дисперсію фосфатидилхоліну (соєвий лецитин, чда) в дистильованій воді.

Фосфоліпіди додають в 5 етапів під час послідовних повторів диспергації з доведенням кінцевої концентрації фосфатидилхоліну до 1,5% маси в водній фазі. Дисперсію піддають магнітній сепарації, виділяють магніторухому фракцію, в яку додають глюкозу до кінцевої концентрації 18%.

Отриманий розчин пропускають крізь фільтр з розміром пор 500нм, надалі продувають інертним газом (аргоном або азотом) і розливають в асептичних умовах у флакони або ампули. Матеріал стерилізують на водяній бані (температура 100°C).

II. Конденсат  $Fe_3O_4$  з KCl (масове співвідношення 3:7) розбавляють 2% розчином KCl в дистильованій воді до кінцевої концентрації  $Fe_3O_4$  2% і обробляють ультразвуком при температурі 100°C. Після осадження суспензії протягом 1 години надосад видаляють. Промивання повторюють 5 разів.

До осаду матеріалу під час обробки суміші ультразвуком в 5 етапів додають 2% розчин олеату натрію з перервами 5 хвилин при температурі 90°C до кінцевої концентрації 0,3% в водній фазі. Отриману суміш охолоджують до 40°C, додають 2% дисперсію повністю гідрогенізованих фосфоліпідів яєчного жовтка в дистильованій воді.

Фосфоліпіди додають 5-ма порціями під час послідовних повторів диспергації з доведенням кінцевої концентрації фосфатидилхоліну до 1,5% маси в водній фазі. Дисперсію піддають магнітній сепарації, виділяють магніторухому фракцію, в яку додають глюкозу до кінцевої концентрації 18%.

Отриманий розчин пропускають крізь фільтр з розміром пор 500нм, надалі продувають інертним газом (аргоном або азотом) і розливають в асептичних умовах у флакони або ампули. Матеріал стерилізують на водяній бані (температура 100°C).

Джерела інформації:

1. Polymerization of Olefin-Terminated Surfactant Bilayers on Magnetic Fluid Nanoparticles / Shen L., Stachowiak A., Hatton T.A., et al. // Langmuir. - 2000. - Vol.16. - P.9907-9911.

2. Structural and magnetic properties of nanoscale iron oxide particles synthesized in the presence of dextran and poly vinyl alcohol / Pardoe H., Chua-anusorn W., St. Pierre T.G., et al. // Journal of Magnetism and Magnetic Materials. - 2001. - Vol.255. - P.41-46.

3. Lee J., Isobe T., Senna M. Preparation of Ultrafine  $Fe_3O_4$  Particles by Precipitation in the Presence of PVA at High pH // Journal of Colloid and Interface Science. - 1996. - Vol.177. - P.490-494.

4. Mendenhall G.D., Geng Y., Hwang J.

Optimization of Long-Term Stability of Magnetic Fluids from Magnetite and Synthetic Polyelectrolytes // *Journal of Colloid and Interface Science*. - 1996. - Vol. 184. P.519-526.

5. Wormuth K. Superparamagnetic Latex via Inverse Emulsion Polymerization // *Journal of Colloid and Interface Science*. - 2001. - Vol.241. - P.366-377.

6. Preparation of thermosensitive magnetic particles by dispersion polymerization / Ding X.B., Sun Z.H., Wan G.X., et al. // *Reactive & Functional Polymers*. - 1998. - Vol.38. P.11-15.

7. Пат. 2208584 РФ. МПК 7С01G49/08. Способ получения магнитной жидкости / Ю.О. Михалев, Т.А. Арефьева; Заявл. 23.04.2001. Оpubл.

20.03.2003

8. Marra J. Direct measurement of the interaction between phosphatidylglycerol bilayers in aqueous electrolyte solutions // *Biophys. J.* - 1986. - Vol.50. - P.815-825.

9. Cuyper M., Joniau M. Mechanistic Aspects of the Adsorption of Phospholipids onto Lauric Acid Stabilized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanocolloids // *Langmuir*. - 1991. - Vol.7. - P.647-652.

10. Наночастицы магнетита, полученные способом конденсации молекулярных пучков в вакууме / Курапов Ю.А., Дидкин Г.Г., Романенко СМ. и др. // *Современная электрометаллургия*. - 2009. - №3. - С.26-28. (прототип).