

## Биофизические технологии создания наноизделий для биомедицины

Иваницкий Г.Р.

Член-корреспондент РАН, директор

Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

Использование нанотехнологий и создание наноизделий в технике и биологии отличается по реализации и целям. В технике основная цель - сбережение энергии и увеличение быстродействия. В биологии и медицине - «ремонт» и диагностика уже существующих систем организма. В технике пространственно-временные параметры наноизделий ограничены только физическими законами. В биологии и в медицине плюс к этому ограничены морфологией живых организмов, физико-химическим составом структур организма и кинетикой происходящих в организме процессов. В биологии и медицине на первый план выходит главное условие – биобезопасность наноизделий («не навреди»). Например, наночастицы и нанофибриллы могут вызывать патологические процессы в легких. Частицы из диоксида титана TiO размером 50 нм при пребывании в среде клеток от 3 до 24 час сорбируются на их поверхности, эндцитируются, скапливаются в эндосомах и локализуются в перинуклеарной области, вызывая серьезные осложнения. Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН в течение 30 лет работает в области создания наноизделий для биомедицины. В процессе работы накоплен значительный опыт. В докладе будут рассмотрены результаты наших исследований по пяти главным направлениям:

1. *потенциальный риск и биобезопасность наноизделий;*
2. *наноконтейнеры и наноплатформы для адресной доставки содержимого к определенным участкам внутри организма;*
3. *нанопокртия (интерфейсы) биообъектов (а именно – покрытия кожного покрова, суставов и тканей), согласующие функционирование биообъектов при повреждении и защите их поверхности при контакте с окружающей средой;*
4. *системы управления для перемещения диагностических роботов внутри организма;*
5. *технологии изготовления наноизделий на основе их самосборки и развитие биофизических методов и средств контроля наноизделий.*

Многие, из созданных нами наноизделий, прошли клинические испытания, лицензированы и широко используются в клиниках. В институте был разработан первый в мире **наконтейнерный** газотранспортный кровезаменитель – «Перфторан». Этот препарат является эмульсией, каждая частичка которой имеет размер в диапазоне 30 - 150 нм. Каждая частичка состоит из трех компонент: двух перфторуглеродов, 66% весовой композиции которых составляет перфтордекалин C<sub>12</sub>F<sub>18</sub>, а 34% - перфторметил-циклогексилпиперидин C<sub>12</sub>F<sub>23</sub>N. Поверхность каждой частички эмульсии покрыта поверхностно-активным веществом, повышающим устойчивость частичек и препятствующим их слипанию как в кровотоке организма, так и при хранении эмульсии. Этим веществом является проксанол 268 (блок - сополимера окиси этилена и окиси пропилена). Препарат предназначен для внутривенного введения с целью контейнерного переноса газов (кислорода и оксида азота) при борьбе с ишемиями органов или для улучшения микроциркуляции крови. При создании препарата были выяснены источники потенциального риска использования наноизделий, предназначенных для биомедицины, а именно: влияние на генетический аппарат, на рецепторно - мембранные процессы, на биоэнергетику клеток и органов, на возможность прохождения через гемато-энцефалитный барьер, тератогенность, эмбриотоксичность. Исследованы пути и кинетика выведения перфторуглеродов из организма. Определены критические размеры наночастиц и требуемые их физико-химические параметры для оптимального функционирования. В 1998 году приказом Главного военно-медицинского управления Министерства обороны РФ *перфторан* принят на снабжение Российских вооруженных сил. Препарат и

технология его изготовления запатентованы. Работа в 1999 году была отмечена премией Правительства РФ, а в 2002 году - первой национальной премией «Призвание» по номинации «За особый вклад фундаментальной науки в развитие медицины». В процессе разработки *Перфторана* были определены пути проникновения наночастиц внутрь организма, выяснены характеристики, характеризующие их биобезопасность.

Наряду с перфторуглеродными наноконтейнерами были исследованы другие возможности упаковок лекарственных соединений с целью их доставки в пораженный орган. Было изучено влияние состава липоплексов (EDOPC/EDLPC) и формы, образуемых ими наноконтейнеров, которые влияют на эффективность слияния с мембраной клеток реципиента при доставке, например, генетической информации. Были исследованы полиэлектролитные наноконтейнеры с белковым наполнением. Изучены механизмы «загрузки/разгрузки» наноконтейнеров путем регулирования проницаемости оболочек. Сейчас проводятся работы по доставке эритропоэтина и его комплексов с помощью наноплатформ в головной мозг.

Методика наноконтейнерной доставки физиологически активных соединений в пораженные органы внутри организма обладает многими преимуществами: длительное и контролируемое высвобождение переносимых веществ и возможность направленной их доставки в определенные области организма; защита содержимого наноконтейнеров в транзитных путях органов; снижение побочных эффектов, особенно при гастроэнтеральном, дермальном или окулярном введении лекарств.

Более 15 лет назад в институте были разработаны несколько вариантов раневых **покрытий** на основе наноматериалов, модулирующих свойства клеток кожи и подкожных слоев: биокolloидный гель «*Биокол-Гель*», биосинтетическое раневое покрытие «*Биокол-1*», биосинтетическое раневое покрытие с выращиванием клеток «*Цитокол*». Они предназначены для лечения различных типов повреждений кожного покрова (ожоги и ранения). Эти работы в 1999 году были отмечены премией Правительства РФ. В настоящее время созданы новые раневые покрытия на основе нанокомпозитных материалов, которые проходят клинические испытания. Создаются ультратонкие пленки из нано-фибрилл биологически деградируемых материалов (полиамиды, полисахариды, поли-цианоакрилаты), нагруженные антибиотиками, факторами роста, ферментами и другими биологически активными веществами. Пленки испытываются как в качестве материалов для защиты пораженных поверхностей, исключающих травмирования при перевязке, так и защиты от проникновения наночастиц в дыхательные пути. Разрабатываются различные варианты нанопокрывтия протезов путем самораспространяющегося высокотемпературного синтеза пористых материалов на основе сплавов титана и кобальта с включением гидроксипатита кальция. Использование нанодисперсного гидроксипатита (ГАП) в процессе формирования материалов Ti+Co+ГАП облегчает порообразование и приводит к модификации свойств поверхности порового пространства, что создает условия для адгезии, миграции и роста клеток и способствует интеграции материалов с костной тканью. Созданы на основе композитных наноматериалов люминофорные покрытия, преобразующие ультрафиолетовое излучение в красное. Состав таких покрытий (окисульфид иттрия, активированный европием) запатентован.

Исследуется возможность управления движением биологических наномоторов переменным магнитным полем низкой интенсивности: амплитуда 192 нанотесла, частотный диапазон от 0 до 6000 Гц. Обнаружено влияние этих полей на скорость регенерации ткани планарий. Для сравнения магнитное поле - Земли порядка 50 микротесла. Разрабатывается новый метод детоксикации организма с помощью магнитоуправляемой наносорбции высокомолекулярных токсинов в экстракорпоральном контуре. Исследуется возможность использования фуллеренов как «наногубок» и «наноножниц» для расщепления некоторых видов неправильно собранных белковых компонент в мозге.

## Патенты

1. Воробьев С.И., Иваницкий Г.Р., Маевский Е.И., Склифас А.Н., Исламов Б.И., Шibaев Н.В., Белоярцев Ф.Ф. / *Способ получения перфторуглеродных эмульсий для медицинских целей.* // Патент РФ, № 2070033 от 10 декабря 1996 г.
2. Ivanitsky G.R., Maevsky E.I., et al / *Emulsion of perfluororganic compounds for medical purposes, Method for producing said Emulsion and Methods for Curing and Preventing Diseases with the aid of Emulsion* // European Patent № 00970349.7-2112-RU0000309. Date of filing: 20.07.00. Notification of the data mentioned In Article 128(5) EPC pursuant to Rule 17(3) EPC from 26.02.03.
3. Маевский Е.И., Иваницкий Г.Р., Макаров К.Н., Кулакова Г.М., Архипов В.В., Мороз В.В., Старовойтова Л.Н., Сенина Р.Я., Пушкин С.Ю., Ивашина А.И. / *Эмульсия перфторорганических соединений для медицинских целей, способы ее приготовления и способы лечения и профилактики заболеваний с ее использованием.* // Патент РФ: (19) RU (11) 2206319 (13) C2 Per. № 2001126062/14 от 20.06.2003.
4. Gervits L.L., Makarov K.N., Maevsky E.I., Ivanitsky G.R., Pushkin S.J., Maslennikov I.A.. / *Perfluorinated cycle-containing tertiary amines used as a basi for gas-conveying emulsions and device for the production thereof.* // European Patent № EP1354868. Date of filing: 22.10.2003.
5. Гаврилюк Б.К. / *Средство для лечения ран* // Патент РФ №2180856 от 27.03.2002
6. Гаврилюк Б.К. / *Покрытие для ран.* // Патент РФ №2193895 от 10.12 2002г.
7. Гаврилюк Б.К. / *Покрытие для ран.* // Патент РФ №2193896 от 10.12 2002г.
8. Гаврилюк Б.К. / *Средство для лечения ран.* // Патент РФ №2194535 от 20.12.2002
9. Гаврилюк Б.К., Гаврилюк В.Б. / *Средство для предупреждения и лечения капиллярных нарушений кожи (телеангиоэктазий)* // Патент РФ №2242217 от 20.12 2004г.
10. Ivanitsky G.R., Maevsky E.I., et al / *Emulsion of perfluoroorganic compounds for medical purposes, a process for the preparation thereof and methods for treating and preventing diseases with the use thereof*". Patent No.: US 6,562,872 B1. Date of Patent: May 13, 2003.
11. Gervits L.L., Makarov K.N., Maevsky T.I., Ivanitsky G.R., Pushkin S.Yu., Maslennikov I.A. / *Perfluorinated Cycle –Containing Tertiary Amines used as Basis for Gas-Coveying Emulsions and Device for Production Thereof*// Patent No: US 6,878,826 B2. Date of Patent: Apr.12, 2005.
12. Morozov V.N., Morozova T.Ya. / *Electrospraying solutions of substances for mass fabrication of chips and libraries.* // Patent US 6350,609 B1; Feb. 26, 2002.
13. Morozov V.N., Morozova T.Ya. / *Methods and Devices for Active Bioassay.* // USPTO #20040115709, June 17, 2004 .
14. Morozov V. / *Electrocapturing flow cell.* // USPTO #20060260942, November 23, 2006
15. Morozov V., Bailey C. / *Electrospray Neutralization Process and Apparatus for Generation of Nano-Aerosol and Nano-Structured Materials.* // USPTO , # 20070113530, May 24, 2007
16. Granovsky I.E., Beletsky I.P., Shlyapnikova E.A., Gavryushkin A.V., Biryukov S.V. / *Method for detection uro-genital infection, oligonucleotide, oligonucleotide combination, biochip and a set based thereon.* // WO 2007/136303 A1, November 29, 2007.
17. Грановский И.Э., Белецкий И.П., Шляпникова Е.А., Шляпников Ю.М., Гаврюшкин А.В., Бирюков С.В. / *Биочип.* // Патент РФ на полезную модель № 69866, 10 января 2008.
18. Шляпникова Е.А., Шляпников Ю.М., Бирюков С.В. / *Способ получения ДНК- чипов.* // Патент РФ №2315114, 20 января 2008.