ФИЗИЧЕСКАЯ
химия

УДК 541.64

# ФИБРИЛЛЯРНЫЙ БИОКОМПОЗИТ НА ОСНОВЕ НАНОВОЛОКОН ПОЛИ-3-ГИДРОКСИБУТИРАТА И МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА

В. Е. Прусаков<sup>1,\*</sup>, Ю. В. Максимов<sup>1</sup>, В. И. Беглов<sup>2</sup>, М. В. Герасимов<sup>2</sup>, А. В. Бычкова<sup>3</sup>, А. А. Ольхов<sup>1,4</sup>, А. Е. Чалых<sup>5</sup>, А. Л. Иорданский<sup>1</sup>, академик РАН А. А. Берлин<sup>1</sup>

Поступило 03.07.2019 г.

Методами трансмиссионной электронной микроскопии, мёссбауэровской спектроскопии, динамического светорассеяния, малоуглового рентгеновского рассеяния и измерения макроскопической намагниченности охарактеризованы новые терапевтические, биоразлагаемые, фибриллярные биокомпозиты на основе нановолокон поли-3-гидроксибутирата, содержащие магнитные наночастицы оксида железа, обогащённого изотопом железа  $^{57}$  Fe.

Ключевые слова: терапевтические фибриллярные биокомпозиты, магнитные наночастицы оксида железа.

**DOI:** https://doi.org/10.31857/S0869-56524892157-160

В последние годы для диагностики, визуализации и терапии различных заболеваний активно используются наночастицы (НЧ) [1, 2]. Для адресной и пролонгируемой доставки лекарственных веществ (ЛВ) всё чаще используются нанокомпозиты, содержащие НЧ. Особый интерес при этом вызывают гибридные магнитные системы (ГМС), состоящие из биоразлагаемой матрицы с инкапсулированными магнитными НЧ оксидов железа [3-8]. Гибридные магнитные системы характеризуются высокой биосовместимостью, контролируемым биоразложением и необходимым сочетанием магнитных, транспортных и других функциональных характеристик. Получение и механизм действия новых биоразлагаемых полимерных композиций для транспорта ЛВ представляет весьма актуальную задачу при разработке инновационных терапевтических систем.

Ранее методами мёссбауэровской спектроскопии, рентгеновской дифракции, малоуглового рентгеновского рассеяния (МРР) и др. были охарактеризованы ГМС на основе макроскопических образцов

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской Академии наук, Москва

биополимеров различной полярности: поли-3-гидроксибутирата (ПГБ) и хитозана (ХТ) [7, 8]. Для более эффективного функционирования биополимеров необходим переход от макро- и микроразмерных систем к субмикронным материалам с высоким отношением поверхности к объёму и, следовательно, с высокой адсорбционной ёмкостью ЛВ. В этой связи методом электроформования нами впервые были получены гибридные ультратонкие волокна ПГБ с инкапсулированными наночастицами оксида железа, которые характеризуются высокой удельной поверхностью и регулируемым диапазоном транспортных характеристик.

Инновационный характер работы определён не только спецификой электроформования гибридных волокон, но и анализом электронного, магнитного и структурного состояния железа ( $^{57}$ Fe) в нановолокие. Одним из оригинальных результатов исследования является включение частиц оксида железа в объём волокна при электроформовании, а не его поверхностная иммобилизация в межволоконном пространстве пор, что впервые было продемонстрировано методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). Ориентация магнитных моментов нанокластеров в объёме волокна <sup>57</sup> Fe ПГБ делает их практически сонаправленными, что повышает чувствительность отклика такого кластера на внешнее магнитное поле. Подобная инкапсуляция магнитных носителей создаёт перспективу для нового способа управления скоростью высвобождения лекарственных веществ (ЛВ) в магнитном поле,

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля Российской Академии наук, Москва

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской Академии наук, Москва \*E-mail: val-prus@yandex.ru

что было показано нами ранее для макроскопических объектов (плёнок) [6] и позиционным контролем наноструктурированных матриц в различных областях биомедицины, например в магнитных скаффолдах при клеточной регенерации органов и тканей [9], при локальной терапии [10] и др.

# МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения ПГБ-волокон использовался природный биоразлагаемый полимер полигидроксибутират серии 16F, полученный методом микробиологического синтеза компанией "BIOMER®" (Германия). Средневязкостная молекулярная масса ПГБ составляла 350 кДа, степень кристалличности ~69%. В качестве модифицирующего вещества для создания волокнистых матриксов с магнитными свойствами использовали наноразмерные частицы магнетита Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (наночастицы). Синтез наночастиц, обогащённых изотопом железа <sup>57</sup>Fe, проводили по методике [8] с использованием раствора, полученного в результате помещения навески <sup>57</sup>Fe в избыток концентрированной соляной кислоты. Содержание <sup>57</sup> Fe в реакционной системе при синтезе не превышало 20% от общего количества железа. Стабилизацию частиц в золе осуществляли с использованием фосфат-цитратного буфера рН 4,3. Для получения волокон готовили формовочные растворы ПГБ и ПГБ/наночастицы в хлороформе. Концентрация ПГБ в растворе составляла 7 мас.%. Формовочные (коллоидные) растворы ПГБ/наночастицы готовили при температуре 60 °C, используя автоматическую магнитную мешалку и ультразвуковую ванну. Волокна получали методом электроформования (ЭФ) с помощью однокапиллярной лабораторной установки с диаметром капилляра 0,1 мм, напряжением электрического тока 12 кВ, расстоянием между электродами 18 см, электропроводностью раствора 10 мкСм/см [11].

Размеры наночастиц в золе оценивали методом динамического светорассеяния (ДСР) на спектрометре Zetasizer Nano-S фирмы "Malvern" (Англия) с углом детектирования 173° при температуре 25 °C.

Микрофотографию участка образца фибриллярного материала на основе нановолокон ПГБ с кластерами оксида железа получали с помощью ТЭМ на приборе JEOL JEM 2100F/UHR.

Мёссбауэровские спектры получены на спектрометре электродинамического типа Wissel (Германия) при температуре 300 К. В качестве источника мёссбауэровского излучения использовали  $^{57}$ Co(Rh) активностью 1,1 ГБк. Спектры обрабатывали стандартными программами МНК (LOREN, ИХФ РАН;

NORMOS, Германия) в предположении лоренцевой формы линии. Изомерные сдвиги (δ) отсчитывали от центра магнитной сверхтонкой структуры (СТС) металлического железа.

Данные MPP получали на приборе Hecus S3-MICRO с коллиматором Кратки и использованием  $CuK_{\alpha}$ -излучения. Использовался вариант с точечной коллимацией и шириной щели коллиматора 200 мкм. Для регистрации кривых рассеяния применяли двумерный детектор "Photonic science" на основе CCD-матрицы с разрешением 1018×1368 точек и размерами 43-43 мкм. Диапазон векторов рассеяния q, регистрируемых системой, составляет  $0,005-0,65 \text{ Å}^{-1}$ . Расчёт характеристических размеров рассеивающих областей проводили в предположении сферической формы и одинаковых электронных плотностей с помощью программы MIXTURE. Функцию объёмного распределения частиц по размерам получали с помощью программы POLYMIX [12, 13].

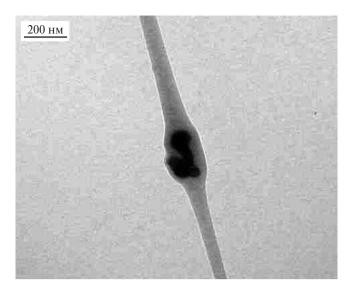
Магнитные измерения проводили на вибрационном магнитометре EZ11 с использованием моторизованного ротатора EZ1-VAR и системы детектирования x- и y-составляющих магнитного сигнала EV1-SCV. Температурная ячейка EZ1-LNA способна обеспечивать температуру образцов в диапазоне 77-1000 K при максимальном поле 27 к9.

# РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

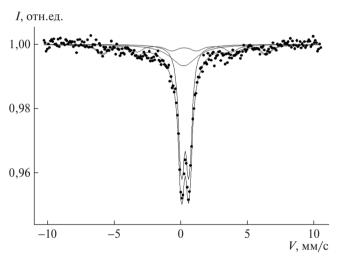
В соответствии с данными [6—8] и ДСР синтезированный в настоящей работе наноразмерный оксид железа (магнетит) в исходном коллоидном растворе (фосфат-цитратный буфер, pH = 4,3) существует в виде нанокластеров со средним диаметром 7—8 нм, находящихся в золе в виде коллоидных ассоциатов со средним диаметром 30—35 нм.

На рис. 1 представлена микрофотография ТЭМ участка образца фибриллярного материала на основе нановолокон ПГБ с включённым наноразмерным образцом оксида железа (<sup>57</sup> FeПГБ). Наблюдаемый на микрофотографии образец оксида железа, инкапсулированный в волокне, представляет собой наноагрегат с размерами по ширине и длине ~45 и 230 нм соответственно, который включён в нановолокно диаметром ~25—30 нм, локально расширяет его и состоит из нескольких более мелких наночастии.

Этот вывод подтверждается данными мёссбауэровской спектроскопии и MPP. На рис. 2 приведён мёссбауэровский спектр волокна  $^{57}$  FeПГБ. Мёссбауэровский спектр образца  $^{57}$  FeПГБ при  $T=300~{\rm K}$ 



**Рис. 1.** Фрагмент нановолокна ПГБ с включённым оксидом железа.

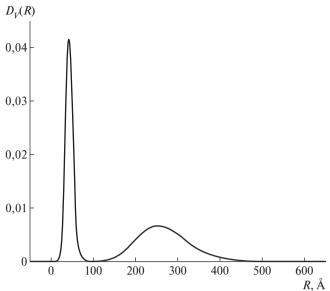


**Рис. 2.** Мёссбауэровский спектр волокна  $^{57}$  Fe ПГБ при T = 300 K.

включает релаксационную монолинию, "парамагнитный" дублет и линии магнитной сверхтонкой структуры. Параметры и относительное содержание этих компонентов характеризуют суперпарамагнитные кластеры оксида железа размером ~7—8 нм, ранее изученные в [9, 10].

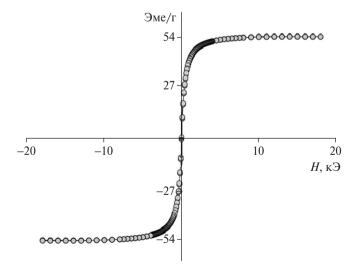
Полученные результаты согласуются с данными рентгеновской дифракции [9, 10] и MPP (рис. 3). В объёмном бимодальном распределении частиц  $^{57}$  FeПГБ на рис. 3, полученном с помощью программы POLYMIX, можно выделить наночастицы с размерами  $d \sim 7.6$  нм и  $d \sim 52$  нм. Первый соответствует нанокластерам оксида железа, второй — волокнам ПГБ.

В результате электроформования происходит инкапсуляция НЧ в объём волокон, а не его поверх-



**Рис. 3.** Функция объёмного распределения частиц по размерам  $D_{\nu}(R)$ , полученная с помощью программы POLYMIX.

ностная иммобилизация в межволоконном пространстве пор, что впервые было продемонстрировано методом ТЭМ. Комплексная морфология и значительные размеры ансамбля магнитных частиц оксида железа на рис. 1 свидетельствуют о высокой степени их самоорганизации. При этом отдельные нанокластеры оксида железа образуют более сложные структуры — протяжённые агрегаты. В результате наблюдается значительное увеличение удельной намагниченности насыщения в частицах  $^{57}$  Fe ПГБ ( $M_{\rm s} \sim 53$  эме/г, рис. 4) по сравнению с изолированными кластерами оксида железа в полимерной матрице ( $M_{\rm s} \sim 18-20$  эме/г) [9, 10].



**Рис. 4.** Магнитополевая зависимость для образца  $^{57}$  Fe $\Pi\Gamma$ Б.

Магнитополевая зависимость образца <sup>57</sup> FeПГБ характерна для суперпарамагнитных кластеров оксида железа. Об этом свидетельствует практическое отсутствие остаточной намагниченности и коэрцитивной силы.

Таким образом, магнитные моменты нанокластеров в <sup>57</sup> FeПГБ становятся практически сонаправленными, что повышает отклик такого кластера на внешнее магнитное поле и, следовательно, создаёт предпосылки для создания биоразлагаемых терапевтических систем с контролируемым высвобождением ЛВ в магнитном поле.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема V.45.12, 0082-2014-0012, № AAAA-A17-117040310008-5 и AAAA-A17-117040610309-0).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Бычкова А.В., Сорокина О.Н., Розенфельд М.А., Коварский А.Л.* // Успехи химии. 2012. Т. 81. № 11. С. 1026—1050.
- 2. Laurent S., Henoumont C., Stanicki D., Boutry S., Lipani E., Belaid S., Muller R.N., Vander Elst L. MRI Contrast Agents: From Molecules to Particles. Springer Briefs in Applied Sciences and Technology. Nanotheranostics. Springer, 2017. 128 p.

- 3. Иорданский А.Л., Роговина С.З., Косенко Р.Ю., Иванцова Е.Л., Прут Э.В. // ДАН. 2010. Т. 431. С. 500–502.
- 4. *Gerasin V.A.*, *Antipov E.M.*, *Karbushev V.V.*, *et al.* // Rus. Chem. Rev. 2013. V. 82. № 4. P. 303.
- 5. Иорданский А.Л., Бычкова А.В., Сорокина О.Н. и др. // ДАН. 2014. Т. 457. № 1. С. 61—63.
- 6. *Бычкова А.В.*, *Иорданский А.Л.*, *Коварский А.Л. и др.* // Рос. нанотехнологии. 2015. Т. 10. С. 132—139.
- 7. Прусаков В.Е., Максимов Ю.В., Нищев К.Н., Голубьев А.В., Иорданский А.Л., Бычкова А.В., Крупянский Ю.Ф., Берлин А.А. // ДАН. 2015. Т. 463. № 5. С. 563—565.
- 8. Прусаков В.Е., Максимов Ю.В., Нищев К.Н., Голубьев А.В., Беглов В.И., Крупянский Ю.Ф., Бычкова А.В., Иорданский А.Л., Берлин А.А. // Химическая физика. 2018. Т. 37. № 1. С. 83—90.
- 9. *Xia Y.*, *Sun J.*, *Zhang F.*, *Xu H.H.K.* // Biomaterials. 2018. V. 183. P. 151–170.
- 10. *Yun J.S.*, *Im Y.S.*, *Lee H.*, *Kim Il.* // Eur. Polym. J. 2011. V. 47. P. 1893–1902.
- 11. Drdohlavova J., Hdry R., Kizek V.A.R., Schneeweiss O., Hubalek J. // Sensors. 2009. V. 9. P. 2352–2362.
- 12. *Нищев К.Н., Голубьев М.А., Максимов Ю.В., Беглов В.И., Кяшкин В.М., Панов А.А.* // Журнал технической физики. 2015. Т. 85. В. 5. С. 66–70.

# FIBRILLAR BIOCOMPOSITE ON THE BASE OF POLY(3-HYDROXYBUTYRATE) NANOFIBERS AND IRON OXIDE MAGNETIC NANOPARTICLES

V. E. Prusakov<sup>1</sup>, Yu. V. Maksimov<sup>1</sup>, V. A. Beglov<sup>2</sup>, M. V. Gerasimov<sup>2</sup>, A. V. Bychkova<sup>3</sup>, A. A. Olhov<sup>1,4</sup>, A. E. Chalih<sup>5</sup>, A. I. Iordanskii<sup>1</sup>, Academician of the RAS A. A. Berlin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>Ogarev Mordova State University, Saransk, Russian Federation

<sup>3</sup>Emanuel Institute of Biochemical Physics, Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup>Plekhanov Economical University, Moscow, Russian Federation

<sup>5</sup>Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Moscow, Russian Federation

### Received July 3, 2019

The novel biodegradable biocomposites on the base of poly(3-hydroxybutyrare) nanofibers with embedded iron oxide nanoparticles have been studied by transmission electron microscopy (TEM), Mössbayer spectroscopy, small angle X-ray scattering (SAXS), and macroscopic magnetization techniques.

*Keywords*: transmission electron microscopy (TEM), Mössbayer spectroscopy, small angle X-ray scattering (SAXS), and macroscopic magnetization techniques, biodegradable biocomposites, poly(3-hydroxybutyrate) iron oxide nanoparticles.