

Методы синтеза и технология производства лекарственных средств

© Коллектив авторов, 2002

Н. А. Брусенцов¹, Ф. С. Байбуртский², В. В. Тарасов², Л. Х. Комиссарова³,
В. И. Филиппов³

ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫХ СУПЕРПАРАМАГНИТНЫХ ПРЕПАРАТОВ (ОБЗОР)

¹ Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва;

² Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, Москва;

³ Институт биохимической физики РАН, Москва

Современное состояние проблем синтеза суперпарамагнитных полифункциональных магнитоуправляемых препаратов (ПМП) для диагностики и лечения различных заболеваний характеризуется успехами, как в экспериментальных, так и клинических исследованиях [1 – 126]. В зависимости от использования *in vitro* или *in vivo*, системно или регионарно проявляется потребность в устойчивых к биогенным воздействиям [20, 21, 35, 40, 64 – 69] или биодеструктурируемых [8 – 19, 22 – 34, 38, 42 – 45, 63, 77, 88 – 90], взаимодействующих с магнитными полями препаратах и соответствующих системах для их управления [31, 32, 36, 39, 42 – 45]. Основная масса исходных веществ [1 – 7, 51, 57] и суперпарамагнитных ПМП [8 – 115] получается тремя способами [8, 10, 11, 24, 26, 45, 49, 61, 62, 64, 65, 74, 85, 96 – 105] по нескольким версиям общей схемы [113, 115, 117 – 126]:

а) Бис-О-(2,4-триметилсилильные производные оснований нуклеозидов + тетра-О-ацетил- α -D-глюкопиранозил бромид \rightarrow 1-(2,3,4,5-тетра-О-ацетил- β -D-глюкопиранозиды [1 – 7].

б) Нуклеозиды + $\text{IO}_4^- \xrightarrow[+\text{H}_2\text{O}]{+10^\circ\text{C}}$ Диальдегидные производные нуклеозидов (ДПН) [1, 2].

в) Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) $\text{pH } 9, + 80^\circ\text{C} \xrightarrow{+\text{H}_2\text{O}}$ Микроагрегаты (МА) человеческого сывороточного альбумина (МАЧСА) [3 – 5, 7]

г) МАЧСА + ДПН $\xrightarrow[+\text{H}_2\text{O}]{\text{pH } 6,9, + 18^\circ\text{C}}$ Депоформы противоопухолевых препаратов (ДПП) [3 – 5, 7]

д) Хлорное железо + хлористое железо $\xrightarrow[\text{pH } 10]{\text{NH}_4\text{OH}}$ Феррит [8 – 11, 13 – 17].

е) Феррит + хлористоводородная кислота \rightarrow Активированный феррит (АФ) — микрокристаллы феррита, поверхность которых модифицирована ионами Cl^- [8 – 10].

ж) АФ + ДПП \rightarrow Комплексные магнитоуправляемые противоопухолевые соединения (КМПС) — при-

витые поверхностные соединения оснований Шиффа МАЧСА с ДПН на кристаллах $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ [3 – 5, 7 – 10].

з) АФ + декстран $\xrightarrow[-\text{H}_2\text{O}]{+100^\circ\text{C}}$ декстранферрит (ДФ) [8 – 11, 13 – 17].

и) ДФ + $\text{IO}_4^- + \xrightarrow{18^\circ\text{C}}$ полиальдегиддекстранферрит (ПДФ) [8, 22, 26, 63].

к) ПДФ + Антрациклиновые противоопухолевые антибиотики (АА) \rightarrow Комплексные магнитоуправляемые соединения (КМПС) — привитые поверхностные соединения на кристаллах $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ [11 – 14].

л) КМПС $\xrightarrow[+\text{Сарколизин}]{+\text{Алкран}}$ Магнитоуправляемые депоформы (МД) противоопухолевых препаратов ДПП — композиты алкилирующих соединений с КМПС) [23 – 29].

м) $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3 \xrightarrow[+\text{Биодеструктурируемые стеринны}]{+\text{Биодеструктурируемые липиды}}$ Кри-

сталлы $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ в липидно-стериновой оболочке [96 – 103]

$\xrightarrow{+\text{Гидратация растворами лекарственных веществ}}$
 $\xrightarrow{+\text{Биодеструктурируемые полисахаридные капсулы}}$
Липосомы [43, 87, 96 – 103, 105, 109]

В процессе получения и применения МДПП и магнитоуправляемых липосом используются: постоянные магниты, электромагниты, сверхпроводящие магниты [13 – 27, 36, 39], ВЧ- и РЧ-генераторы [19, 25, 33, 44], фантомы опухолей [13, 14, 24, 26, 29], модели кровеносной системы, культуры клеток [18 – 20, 34, 35], переливаемые опухоли; экспериментальные животные [27, 28, 33, 42], собаки со спонтанными опухолями [24 – 26]; магнитометрия [9 – 11], термомагнитометрия [37], активационный и рентгеноструктурный анализы [23 – 26, 37], рентгеноскопия [45, 46, 58], ЯМР-томография [12, 23, 86, 87]; регионарная химиотерапия с индукционной гипертермией опухолей, при которой в качестве средств, трансформирующих энергию радиочастотных излучений в тепловую, используются ферро- [40, 63], или ферримагнетики [10, 25, 31 – 33, 44, 93], повышающие температуру клеток и

тканей [10, 19, 44, 49, 85, 90], определяются реологические характеристики феррижидкостей [16, 89, 92].

Перечисленные препараты имеют полифункциональное назначение: магнитоуправляемый направленный транспорт лекарственных и диагностических препаратов [10 – 29, 32, 35, 36, 39 – 45, 46, 58, 59, 61, 76, 80, 84, 87, 112], магнитоуправляемое контрастирование органов [10, 12, 45, 46, 69, 82, 86, 87, 94], лечение злокачественных опухолей [21, 31 – 34, 40 – 43, 61, 67, 72, 75], магнитоуправляемая сепарация клеток и антигенов [8, 18, 20, 22, 34, 35, 63, 66, 77, 78, 83, 115], магнитоуправляемая эмболизация сосудов и лизис тромбов [52, 53, 59, 62, 91], направленное действие курареподобных веществ [64, 109].

Такие материалы используются для производства магнитных препаратов, применяемых в терапии геморроя; для получения рентгеноконтрастных ферримагнитных жидкостей и магнитотехнических устройств в хирургии и протезировании [45, 46, 50, 58, 107, 111, 116], детоксикации крови [110].

Для решения прикладных медицинских задач ферромагнетики используются в виде компактных массивных материалов [54, 55, 107, 116], металлических кластеров (ультрадисперсных порошков, гидро- и органоэзолей) [60, 61, 117 – 126], магнитореологических суспензий [67, 70, 72], микрочастиц [49, 50, 116], микрокапсул и липосом [95 – 105, 109], ультрадисперсных частиц [30 – 32, 45 – 50, 61, 64, 65], включенных в биологические объекты (ферменты, тени эритроцитов, вирусы) [78, 80, 83].

Ультрадисперсные металлические частицы отличаются высокой биологической активностью вследствие особого конденсированного состояния вещества с большой избыточной энергией [46, 50, 53, 54, 58, 60, 66, 67, 81, 117 – 126].

Ферроколлоиды (гидро- или органоэзоли ферримагнетиков) обладают достаточно высокой намагниченностью насыщения до 30 кА/м и, вместе с тем, ведут себя как жидкости. Сочетание этих свойств с высокой гравитационной и магнитной устойчивостью привлекло внимание биологов и медицинских работников к магнитным жидкостям [49, 50, 55, 61]. Благодаря развитию техники микрокапсулирования и новым технологическим разработкам были получены магнитоуправляемые частицы (микросферы), микрокапсулы, липосомы, которые также представляют большой интерес как магнитоуправляемые носители ЯМР-контрастных и лекарственных средств [73 – 75, 86, 87].

Многие исследования были посвящены получению магнитоуправляемых микросфер на основе феррита и альбумина, полимерных микрочастиц для разделения клеток при трансплантации костного мозга с помощью моноклональных антител. Присоединение антител происходит не к любым частицам на основе альбумина, оно затрудняется, если получают альбуминовые микрочастицы при нагревании. С другой стороны, на полистироловых магнитных частицах происходит физическая адсорбция антител, а не их химическая иммобилизация [63, 66, 70 – 83].

В Российском кардиологическом научном центре РАМН проводились исследования с целью иммобилизации различного рода ферментов (в частности, тромболитических) для их магнитоуправляемой доставки к тромбу с использованием магнитных взаимодействий [53, 59, 62, 91].

В Российском онкологическом научном центре имени Н. Н. Блохина РАМН проводились исследования по синтезу и магнитоуправляемому транспорту суперпарамагнитных цитостатиков в опухоли [1 – 11, 13, 14 – 17, 22 – 24, 26, 28, 29, 33, 34, 38, 42, 44, 45, 48 – 50, 63], разрабатываются системы направленной доставки фармакологических веществ [106].

Российским химико-технологическим университетом имени Д. И. Менделеева разработана технология получения суперпарамагнитных зольей металлов и магнитных жидкостей, изучены их свойства [15, 117 – 126].

В Российском гематологическом научном центре РАМН разрабатывались новые принципы получения биосовместимых ферримагнитных жидкостей на основе полиглобина [51].

В Институте биохимической физики РАН разрабатываются новые биосовместимые ферромагнитные сорбенты на основе углеродсодержащего соединения — феррокарбона и иммуномагнитных микросфер [10, 15, 35, 40, 108 – 111].

Важной задачей современной медицины является овладение способами направленного селективного транспорта лекарственных средств, что позволило создавать их оптимальную концентрацию в зоне реализации лечебного эффекта и существенно снизить системную токсичность, как за счет уменьшения общей дозы, так и продолжительного удержания в очаге поражения [10, 26, 48 – 50, 63, 65, 70 – 72, 74 – 76].

В качестве новых магнитных носителей лекарственных препаратов предложены как ферриколлоиды [59, 82, 85 – 91, 94], так и магнитоуправляемые микросферы [66 – 72, 75 – 80, 83, 84, 93], микрокапсулы [65], липосомы [95 – 105], тени эритроцитов [53], магнитные гели [92]. При использовании магнитных жидкостей по вышеуказанному назначению в основу положен принцип физического связывания лекарств с вязким ферриколлоидом в неоднородном магнитном поле, так называемый “принцип магнитной капли”. Предложен способ доставки фибринолитических препаратов с помощью ферримагнитной жидкости в закупоренную тромбом ветвь сосуда и показано, что данный способ позволяет в сотни раз повысить концентрацию тромболитика непосредственно у тромба по сравнению с традиционными способами введения, тем самым, повысить скорость лизирования тромба и снизить риск нежелательных осложнений [52, 59, 91], повысить температуру опухоли [31 – 33, 85, 88, 90, 92], выделить опухолевые клетки [83, 93].

При конструировании магнитоуправляемых лекарственных средств в качестве магнитного носителя предложен ферримагнитный коллоид с дисперсионной средой в виде водорастворимого полиэлектроли-

та, к которому ионными связями присоединяли лекарства. Технология получения комплексов “ферримагнитный коллоид — лекарственный препарат” достаточно проста, и при этом не требуется применение дополнительных стабилизаторов. Электростатические силы дополняются гидрофобными взаимодействиями, это делает связь лекарственного вещества с полимером более устойчивой к изменениям pH и ионной силы среды. В качестве дисперсионной среды также использовали лекарственные полимеры, в которых лекарственное вещество присоединяется к полимеру различными ковалентными связями [24 – 26, 64, 80].

Другой путь направленного магнитоуправляемого транспорта — это создание корпускулярных носителей. Различными группами ученых были разработаны методы получения магнитоуправляемых альбуминовых микросфер с включенными лекарственными средствами. Общим для всех предложенных методов является химическая или тепловая стабилизация белковой матрицы, содержащей ферримагнетики и лекарства (сшивка бифункциональными реагентами, термическая денатурация). Многими исследователями показано, что такой препарат, как гидрохлорид адриамицина, включенный в альбуминовые магнитоуправляемые микрочастицы, удается сконцентрировать локально, затрачивая при этом существенно меньшую дозу препарата. Исходя из этих данных, магнитоуправляемые микросферы были всесторонне изучены как потенциальные биологически совместимые носители для направленного транспорта лекарств [49, 59, 61, 68, 73, 75, 76, 80, 83].

Предложены магнитоуправляемые носители на основе различных природных и синтетических олигомеров и полимеров. В качестве матриц применялись аминокислоты, желатин, полисахариды, гликопротеины. Синтезированы микрокапсулы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот, глутарового альдегида; изучены частицы на основе этилцеллюлозы. Предпринимаются попытки создания магнитоуправляемых микрочастиц на основе нерастворимых в воде полиэлектролитных комплексов. Для синтеза магнитоуправляемых микросфер используется фибриноген [55, 64, 65, 74].

Как ферроколлоиды, так и суспензии магнитоуправляемых микрочастиц могут быть использованы в качестве магнитоуправляемых рентгеноконтрастных средств, в частности, для контрастирования полых органов. Основное их преимущество перед обычными рентгеноконтрастными средствами заключается в возможности управляемой локализации под действием внешнего магнитного поля в недоступных местах организма. Предложена многокомпонентная диагностическая композиция, содержащая магнитные частицы, предназначенная для комплексного исследования печени и селезенки методами ядерного магнитного резонанса, рентгенографии и ультразвуковой диагностики [56, 58, 69, 82].

Для магнитоуправляемого контрастирования лимфатической системы предложен фторферризол на

основе магнетита и перфторуглеродных биосовместимых соединений [47, 94]. Однако до настоящего времени не опубликовано данных о простых и технологичных способах получения биосовместимых магнитных жидкостей и микрочастиц. Синтез магнитной жидкости на основе декстрана характеризуется многоступенчатостью, трудоемкостью, наличием стадии получения активированного феррита при нагревании его до 100°C в хлористоводородной кислоте, потерями вещества при его агрегации и очистке [10].

Получение альбуминовых частиц включает стадию предварительного эмульгирования смесей полимеров с коллоидным железом в рафинированных маслах (вазелиновом, хлопковом, оливковом) и стадию отмывки частиц от этих масел, где необходимо применение относительно больших объемов безводных органических растворителей (эфир, ацетон, этиловый спирт) и многократное центрифугирование [74, 75, 80].

В результате проведенных исследований разработаны новые методы получения биосовместимых полифункциональных магнитоуправляемых частиц, суспензий и коллоидных растворов и гелей [86, 88, 90, 92, 93].

Получение биосовместимых ферримагнитных жидкостей. Разработан способ получения биосовместимой ферримагнитной жидкости на основе ферримагнетика и декстрана или поливинилового спирта [8 – 11, 13 – 19, 23 – 28, 30, 31, 88 – 90], карбоксиметилдекстрана и фторуглеродов [89, 92 – 94]. Известны способы получения магнитной жидкости путем осаждения магнетита в присутствии декстрана [73]. Однако они характеризуются многоступенчатостью, трудоемкостью, потерями вещества при его агрегации и очистке. В то же время найдены способы введения в молекулу декстрана активных групп и на их основе синтезированы производные, вступающие в различные химические реакции [56, 57, 77, 88 – 94].

Одним из таких производных является карбоксиметилдекстран (КМД), получаемый модификацией препаратов декстрана: полиглюкина (ПГ) и реополиглюкина (РеоПГ) монохлоруксусной кислотой [57, 77]. Комплексная связь ионов окисного железа и карбоксиметилдекстрана достаточно прочна и гидролизуеться только при кипячении в растворе хлористоводородной кислоты. КМД, как и декстран, после внутривенного введения концентрируется в органах ретикулоэндотелиальной системы с последующим расщеплением декстранглюкозидазой. При этом скорость расщепления зависит от степени замещения — количества карбоксиметильных групп на 100 остатков ангидроглюкозы в молекуле декстрана.

Для синтеза лекарственных препаратов целесообразно использовать карбоксиметильные эфиры декстрана со степенью замещения около 60, так как они легче расщепляются ферментными системами организма и менее токсичны, чем производные с высокой степенью замещения [57]. Результатом проведенных исследований является упрощение способа получения биосовместимого гидрозоля ферримагнетика, проведение

процесса без нагревания и увеличение выхода конечного продукта [89, 90, 92 – 94].

Реакцию проводят при комнатной температуре (20 – 25°C), соли двух- и трехвалентного железа, взятые в соотношении 1:2, соответственно, смешивают с раствором нагреваемой соли карбоксиметилдекстрана (КМД) со средневесовой молекулярной массой 40 – 60 кД и степенью замещения карбоксиметильными группами равной 70 – 80. При этом образуется прочный комплекс железа с полимером, после чего смесь переводят в растворимое состояние титрованием 30 % раствором NaOH до pH 10,8 – 11,0, которое после полного растворения осадка устанавливается в пределах 6,8 – 7,6; осмолярность (осмотическое давление раствора соли) доводят до 300 – 400 мосм/л. В результате образуется биосовместимый стабильный во времени гидрозоль ферримагнетика с размером частиц, не превышающим 0,07 – 0,08 мкм, с весовой концентрацией магнитной фазы до 8 – 10 %, с регулируемой динамической вязкостью до 2,5 мПа · с, намагниченностью насыщения 1,0 – 1,5 кА/м. При этом исключается стадия нагревания, сокращается многостадийность и снижается трудоемкость процесса [89, 92, 94].

Получение ферримагнитных частиц на основе карбоксиметилцеллюлозы. По аналогии с карбоксиметилдекстраном для получения магнитного носителя используется отечественная карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) серийного производства: степень полимеризации 490 – 500, степень замещения 76 – 81, используется 1 % водный раствор, pH 7,0 – 7,3, осмолярность 21 – 27 мосм/л, относительная вязкость около 30. Из-за высокой вязкости растворов КМЦ исходные концентрации реагентов, участвующих в реакции замещения, составляют менее 0,5 %.

Ранее ферримагнитные частицы для медицинских целей получали на основе крахмала и магнетита [75, 76]. Эта методика характеризуется многоступенчатостью, наличием стадии нагревания выше 90°C, использованием дорогостоящих и малодоступных эмульгаторов и органических растворителей, а также потерями вещества при отмывке полученных ферримагнитных частиц в органических растворителях.

Упрощение способа, снижение температуры проведения процесса и повышение выхода конечного продукта достигается тем, что раствор солей двух- и трехвалентного железа, взятых в соотношении 1:2 соответственно, смешивают с раствором КМЦ со степенью полимеризации 490 – 500 и степенью замещения 77 – 81. При этом образуется комплекс полимера с железом, который титруют 30 % раствором NaOH до pH 10,5 – 11,0. Выпавшие в осадок частицы соединения “карбоксиметилцеллюлоза-магнетит” отмываются от примесей дистиллированной водой.

Частицы карбоксиметилцеллюлоза-магнетит имеют диаметр до 2 мкм. Водные суспензии частиц препарата “карбоксиметилцеллюлоза-магнетит” содержат от 30 % до 50 % феррита, намагниченность насыщения 1,5 – 2,1 кА/м [94].

Получение рентгеноконтрастного средства. В настоящее время известны рентгеноконтрастные средства, либо обладающие магнитными свойствами, либо пригодные для двойного рентгеноконтрастирования, однако среди них нет ни одного такого, которое бы сочетало в себе и те, и другие свойства. Одним из них является олеоферротраст, который содержит в качестве носителя вазелиновое масло [58]. Однако олеоферротраст предназначен для одинарного контрастирования только по железу магнетита, так как в его состав не входят рентгенопозитивные вещества. Кроме того, ввиду относительно большой вязкости вазелинового масла и его ограниченной биологической совместимости олеоферротраст рекомендуется только для диагностики полых органов, но не для лимфографии.

Предложено рентгеноконтрастное средство, лишенное этих недостатков и пригодное для лимфографии. Для этого в качестве дисперсионной среды были использованы перфторсоединения, характеризующиеся биологической инертностью и повышенной способностью растворять газы [94].

Средство получают следующим образом: высокодисперсный магнетит тщательно отмывают дистиллированной водой до pH 6,5 – 7,0 и осмолярности менее 5 мосм/кг и переводят его в этиловый спирт. Взвесь подвергают воздействию ультразвука в течение 1 мин при частоте 20 кГц и мощности 50 Вт и приливают в емкость, содержащую сложное органическое перфторуглеродное соединение (перфтордекалин, перфтортрибутил, перфтортрипропиламин) и полифтороксикарбоновую кислоту в качестве стабилизатора при соотношении компонентов: одна объемная часть взвеси высокодисперсного магнетита в спирте, две объемные части перфторуглеродных соединений (концентрация магнетита составляет 2,8 – 3,0 вес. %, концентрация стабилизатора 1,8 – 2,0 вес. %). Пептизация магнетита проводится при 78°C до тех пор, пока температура смеси не поднимется выше указанной, затем полученную магнитную жидкость концентрируют до 18 – 20 вес. %. Полученная этим способом 20 % магнитная жидкость имеет намагниченность насыщения 40 кА/м; газовую емкость по кислороду 45 – 48 об. %; поверхностное натяжение 12 – 14 Н/м; динамическую вязкость 8 – 10 мПа · с. Агрегативная устойчивость: не расслаивается в магнитном поле индукцией 0,15 Тл в течение 1 ч и центрифугировании при 8000 оборотах в минуту в течение 1 ч [94].

Получение магнитоуправляемых альбуминовых микросфер. Направленный транспорт лекарств представляет собой одну из актуальных задач современной фармакологии, поскольку он предполагает создание в определенной части организма концентрации лекарственного препарата, необходимой для терапевтического эффекта при общей переносимой дозе. Для этого создаются биосовместимые контейнеры-носители, содержащие ферримагнитные частицы и соответствующие магнитные системы, способные удерживать носители с лекарством в заданном участке сосудистого русла. Локальное концентрирование магнитных носи-

телей с лекарственным препаратом в заданных участках организма описано многими авторами [14, 64, 65, 70 – 74, 78 – 82, 91, 94].

Сформулированы требования, предъявляемые к магнитным носителям. Так, во избежание риска эмболизации мелких сосудов и капилляров, диаметр ферритовых ядер носителя не должен превышать 1 мкм, а для предотвращения их агрегации в магнитном поле — 11 нм. Для увеличения доли полезной нагрузки носителя лекарством содержание в нем ферримагнетика должно быть минимальным. С другой стороны, сила, обусловленная приложенным внешним магнитным полем, удерживающая носитель в кровеносном русле, пропорциональна диаметру частицы носителя в третьей степени и количеству ферримагнетика в нем. Противодействующая гидродинамическая сила, стремящаяся унести из участка-мишени остановленную на внутренней стенке сосуда частицу-носитель, пропорциональна диаметру частицы лишь во второй степени. Следовательно, при уменьшении диаметра ядра носителя магнитная сила убывает быстрее, чем гидродинамическая, и поэтому диаметр частицы-носителя и содержание в нем ферримагнитного материала приходится увеличивать до оптимальной величины [14, 91]. Химический состав и структура носителя должны быть такими, чтобы исключить или хотя бы уменьшить накопление ферримагнетика в печени [14, 60, 62].

Большое распространение в медико-биологических исследованиях получили биоструктурные магнитные носители. Их получают, “нагружая” магнетитом клетки (тени эритроцитов, лейкоциты) и липосомы или заключая кластеры магнетита в пространственную сетку, образованную макромолекулами (альбумина, декстрана, полиэтиленгликоля и других малотоксичных веществ) [72, 74]. Различного рода трудности, связанные с получением и хранением магнитных эритроцитов, лейкоцитов и липосом, делают микрочастицы, полученные из ферритов и биополимеров [110, 127 – 131], более перспективными для детоксикации крови и направленной доставки лекарств. Чаще всего это альбуминовые микросферы [14, 77 – 82] и декстран-феррит [10, 14]. Однако описанные способы их получения путем тепловой или химической денатурации альбумина понижали его сродство к ферментам, антигенам и другим биополимерам [72 – 75].

Получены магнитовосприимчивые альбуминовые микрочастицы с повышенной сорбционной активностью к белкам (антитела, ферменты) за счет уменьшения денатурирующих воздействий и сохранением типичной структуры исходного альбумина. Для этого смесь магнетита с сывороточным альбумином подвергают периодическому воздействию ультразвука при охлаждении, температура в активной зоне не превышает +38°C при градиенте температур 2 – 4 град/см.

Процесс проводится следующим образом: водную суспензию магнетита концентрацией 20 – 28 вес. % подвергают воздействию ультразвука мощностью 50 Вт в течение 18 – 20 мин. После контроля концент-

рации магнетита прибавляют раствор 20 % сывороточного альбумина в таком количестве, чтобы соотношение по сухому веществу “магнетит-альбумин” составляло 1,5/1,0. Смесь перемешивают и охлаждают до 0 °С. При этом важны геометрические формы и размеры сосуда, чтобы при ультразвуковой обработке выдерживалась температура в активной зоне не выше +38°C. В химическом стакане диаметром 50 мм охлаждение смеси и периодическое воздействие ультразвука достигается чередованием озвучивания в течение 45 с и паузы 65 с, во время которой смесь непрерывно перемешивают. После 18 – 20 таких циклов с последующей очисткой, вымораживанием образца и лиофильной сушкой в вакууме получают магнитоуправляемые микрочастицы диаметром 0,8 – 1,2 мкм, удельной намагниченностью $\sigma = 60 \text{ А} \cdot \text{м}^2/\text{кг}$. Для контроля сорбционных свойств полученных магнитоуправляемых микрочастиц к их суспензии добавляют раствор олеиновокислого натрия и антитела к эритроцитам, три раза обрабатывают ультразвуком. Полученные микрочастицы отмывают от несвязанных антител, смешивают с суспензией соответствующих эритроцитов и помещают в неоднородное магнитное поле индукцией 0,01 Тл. При поднесении постоянного магнита к предметному стеклу с каплей испытуемой суспензии в микроскоп (кратностью увеличения 4×10) наблюдается движение агрегатов и отдельных эритроцитов, адсорбированных на своей поверхности магнитные частицы, к магниту. Это означает, что антитела адсорбировались на альбуминовых микрочастицах. Положительная реакция агглютинации эритроцитов с образованием магнитоуправляемых агрегатов, состоящих из эритроцитов и магнитоуправляемых альбуминовых микрочастиц, подтверждает сохранение типичных свойств антител и эритроцитов. При аналогичном определении сорбционных свойств магнитоуправляемых антител, полученных тепловой обработкой [72 – 74], установлено, что эритроцитарные антитела практически не адсорбируют частицы вследствие блокирования аминокрупп альбумина. Реакция агглютинации при этом происходит лишь между свободными антителами и антигенами эритроцитов, и образующиеся агрегаты неуправляемы.

Получение магнитоуправляемых частиц из полиглобина. Для получения частиц был использован белковый плазмозамещающий раствор, получаемый из эритроцитов крови (донорской и ксеногенной), с использованием в качестве сшивающего агента формальдегида. Этот белок не обладает реактогенностью и анафилактикогенностью, у него снижены антигенные свойства. Толерантность к этому белку доказана на животных [51]. Молекулярно-массовое распределение полиглобина имеет полимодельный вид со среднемолекулярной массой, равной 150 кД, и среднечисленной молекулярной массой, равной 27 кД. Средний диаметр молекулы полиглобина составляет 29,6 нм [51]. Раствор полиглобина концентрацией 6 %

в воде имеет рН 6,95, осмоляльность 44 мосм/л, относительную вязкость 1,17.

Магнитовосприимчивые частицы получают путем осаждения магнетита из солей двух- и трехвалентного железа щелочью в 0,5 – 1,0 % растворе полиглобина, соотношение полиглобин, железо 3/1, 4/1, 5/1. Чем меньше концентрация солей железа в исходном растворе, тем меньше размер получаемых частиц. Так, при соотношении полиглобин – железо 5/1 размер частиц 160 нм, а при соотношении 3/1 – 2230 нм. Частицы отмывают дистиллированной водой от несвязанных исходных веществ и сохраняют в лиофильно высушенном состоянии. Содержание железа (%): общего — 20, двухвалентного — 10 [89, 92, 93].

Предложен способ получения магнитоуправляемого конъюгата белка, применяемого для разделения клеток или биополимеров, а также в диагностических целях. Пример: 0,5 мл коммерческой суспензии магнитных частиц (BioMag M 4100 Sebak) трижды промывают фосфатным буферным раствором NaH_2PO_4 (рН 7,2) и повторно диспергируют в 6 мл того же буферного раствора. Суспензию смешивают со свежеприготовленным раствором, содержащим 20 мг N-(γ -малеинимидбутирилокси)сукцинимид в 4 мл абсолютного диметилформамида и смесь встряхивают 1 ч при 20°C. Суспензию центрифугируют, промывают (3 × 20 мл) буферным раствором, повторно диспергируют в 6 мл того же буферного раствора и сочетают с моноклональными антителами [93, 95].

Получение магнитоуправляемых липосом. В последнее десятилетие возрос интерес к липосомам, которые широко используются в качестве модельных систем при изучении принципов молекулярной организации, механизмов функционирования биологических мембран, ЯМР-контрастировании и терапии [43, 87, 96 – 105]. Они оказались пригодны для изучения пассивного транспорта ионов и “алых молекул” через липидный бислой. Изменяя состав липидов в липосомах, можно направленно менять свойства мембран. Включением мембранных белков в липидный бислой получают протеолипосомы, которые используют для моделирования разнообразных ферментативных, транспортных и рецепторных функций клеточных мембран. Липосомы используют также в иммунологических исследованиях, вводя в них различные антигены или ковалентно присоединяя к липосомам антитела. Они представляют собой удобную модель для изучения действия на мембраны многих лекарственных средств и биологически активных веществ. Во внутренний водный объем липосом можно включать лекарства, пептиды, белки и нуклеиновые кислоты, что создает возможность практического применения липосом в качестве средства доставки различных веществ в определенные органы и ткани [43, 96, 97]. На этом свойстве липосом специалисты по разработке магнитных дистанционно-управляемых носителей биологически активных веществ сконцентрировали свое внимание. В работах, посвященных данной проблеме [43, 98 – 101], рассматривают различные вариан-

ты получения магнитоуправляемых липосом, общим в которых является включение в их внутренний липидный объем микрокристаллов Fe_3O_4 или $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ в сочетании с лекарственными препаратами.

Технологическая схема получения магнитоуправляемых липосом [98 – 105]:

I. Исходными веществами и реагентами являлись: высокодисперсный магнетит, получаемый соосаждением солей двух- и трехвалентного железа в щелочной среде и отмытый до рН 7,6 – 8,2 (диаметр частиц до 25 нм), производные лецитина: *L*- α -фосфатдикролин (или овотин-200), полученные из яичного желтка; *D*- α -токоферол, хлороформ, метиловый спирт, *C*-холестерол [96, 99, 100, 101].

II. Получение магнитоуправляемых липосом:

1. Смесь *L*- α -фосфатдикролин (20 микромоляр) и *D*- α -токоферол (0,5 микромоляр) растворяли в 10 мл хлороформа и прибавляли к суспензии свежеприготовленного феррита в метиловом спирте, туда же вносили *C*-холестерол.

2. Полученную смесь обрабатывали ультразвуком до полного диспергирования магнетита, затем лиофильно высушивали, что позволяло сформировать на поверхности кристаллов магнетита тонкую устойчивую пленку липида — то есть получить липидную капсулу с включенным внутрь ее ферритовым ядром.

3. Липидные капсулы с ферритовым ядром диспергировали в 1 мл солевого буферного раствора, содержащего *N*-инулин; процесс проводили при интенсивном встряхивании емкости с содержимым на установке “Vortex” до полной гидратации капсул с образованными липосомами.

4. 1 мл полученной суспензии липосом пропускали через гель-хроматографическую колонку (Сефакрил, S-1000, 1,0 × 10 см) для отделения сформировавшихся липосом от свободного инулина и агрегировавшего феррита; последний оставался в начале гель-хроматографической колонки.

5. Собирали фракции по 2 мл липидосодержащего элюата. В стандартном препарате (в процессе получения магнитоуправляемых липосом использовали 1,9 мг магнетита) общие концентрации липида и магнетита составляли соответственно: 8,6 мкм/мл и 133 мкг/мл.

6. Средний диаметр липосом составлял 1,54 мкм (фотонный корреляционный спектрометр, модель 49 Couther).

III. Оценка магнетита: содержание магнетита, инкапсулированного в липосомах, определяли *o*-фенантролиновым методом:

1. Образец липосомосодержащего элюата (0,1 мл) смешивали с 0,1 мл 5 % раствора Тритона X-100.

2. Магнетит растворяли в смеси 0,5 мл концентрированной хлороводородной кислоты и 1,0 мл 10 % раствора гидрохлорида хлорамина для перевода всего железа до трехвалентного состояния.

3. Через 15 мин добавляли 1,0 мл 0,5 % раствора *o*-фенантролина.

4. Смесь нейтрализовывали 0,5 мл 12 н. раствора NaOH и рН доводили до 4,0 прибавлением 30 % раствора цитрата натрия.

5. Образец объемом около 10 мл помещали в кювету фотонного корреляционного спектрометра и определяли оптическую плотность раствора при $\lambda_{\text{макс}}$ 509 нм.

IV. Аппаратурное оформление процесса.

В изогнутую под прямым углом стеклянную трубку подавали перистальтическим насосом раствор фосфатно-буферной смеси. Сверху, через специальный инжектор, вводили суспензию липосом Соленоид электромагнита располагали так, чтобы фиксированные магнитным полем в трубке липосомы, содержащие феррит, не уносились потоком буферной смеси, нагнетаемой перистальтическим насосом. Электромагнит индукцией 0,4 Тл представлял собой индукционную катушку из медного провода общей массой 1,7 кг [102, 103]. После магнитной сепарации суспензии магнитоуправляемые липосомы имели намагниченность насыщения 2 – 4 кА/м, могли нести противоопухолевые препараты: адриамицин, доксорубицин. Для визуального обнаружения липосом их нагружали флюоресцирующими составами [96, 99, 104, 105].

Таким образом в работе представлены материалы по технологии получения, свойствам и способам применения полифункциональных магнитоуправляемых суперпарамагнитных препаратов на основе ферримагнетиков, декстрана и карбоксиметилдекстрана, фторуглеродов, человеческого сывороточного альбумина, полиглобина и феррокарбона. Показана возможность использования таких феррижидкостей в качестве магнитных носителей лекарственных веществ, антител и ферментов, рентгено- и ЯМР контрастных веществ путем физической и химической иммобилизации их частицами вязкой магнитной капли; средств, трансформирующих энергию радиочастных излучений в тепловую — повышающих температуру клеток и тканей. Рассмотрены некоторые технологические аспекты получения магнитоуправляемых липосом, способных нести противоопухолевые препараты и контрастные вещества. Магнитная технология и перспективные полифункциональные магнитоуправляемые суперпарамагнитные препараты представляют новые возможности для диагностики и лечения опухолей, сепарации клеток крови и костного мозга, направленного транспорта лекарств и иммунодиагностических средств, управляемого рентгено- и ЯМР контрастирования. Результаты работы используются в экспериментальной гематологии, трансфузиологии, экстракорпоральной детоксикации крови, микробиологии, иммунологии, онкологии и других областях науки.

Все описанные нами соединения, препараты и средства находятся на стадии доклинических испытаний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Брусенцов, Я. В. Добрынин, Т. Г. Николаева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **29**(5), 22 – 27 (1995).
2. Н. А. Брусенцов, М. Н. Преображенская, *Биоорганическая химия*, **22**(3), 221 – 224 (1996).
3. Н. А. Брусенцов, В. М. Бухман, М. Н. Преображенская и др., *Хим.-фарм. журн.*, **14**(3), 5 – 14 (1980).
4. Н. А. Брусенцов, В. М. Бухман, Б. С. Кикоть и др., *Хим.-фарм. журн.*, **15**(8), 58 – 65 (1981).
5. М. N. Preobrazhenskaya, N. D. Chkanikov, V. N. Tolkachev, et al., *Nucleic Acids Research*, Symposium series, № 9, 87 – 89 (1981).
6. М. N. Preobrazhenskaya, N. D. Chkanikov, V. M. Buhman, et al., *Proceedings 13th Int. Cancer Congress*, 1982, № 747, Seattle, Washington USA (1982).
7. В. М. Бухман, Н. А. Брусенцов, Н. А. Лесная и др., *Эксперим. онкол.*, **5**(1), 55 – 57 (1983).
8. A. L. Autenshlyus, N. A. Brusentsov, A. Loclshin, *J. Magn. Magn. Mater.*, **12**, 360 – 363 (1993).
9. Н. А. Брусенцов, В. В. Гогосов, М. В. Лукашевич, *Хим.-фарм. журн.*, **30**(10), 48 – 53 (1996).
10. N. A. Brusentsov, V. V. Gogosov, T. N. Brusentsova, *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 113 – 117 (2001).
11. Н. А. Брусенцов, М. В. Лукашевич, В. В. Гогосов, *Магнит. гидродинам.*, **30**(2), 215 – 218 (1994).
12. J. W. Bulte and R. A. Brooks, *An overview 527 544. Scientific and clinical applications of magnetic carriers*, Ed. Hafeli, et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 527 – 544.
13. О. П. Анашкин, Н. А. Брусенцов, В. В. Лыков и др., *Вопросы атомной науки и техники. Сер. Общая ядерная физика*, сс. 52, 53 (1987).
14. Н. А. Брусенцов, *ЖВХО им. Д. И. Менделеева*, **32**(5), 562 – 569 (1987).
15. О. А. Kuznetsov, N. A. Brusentsov, A. A. Kuznetsov, et al. *J. Magn. Magn. Mater.*, **194**, 83 – 89 (1999).
16. N. A. Brusentsov, T. S. Gendler, E. A. Haliulina, et al., *Book of abstracts of 9-th IPCMF-2000*, Plyos (2000), pp. 77 – 79.
17. В. В. Гогосов, Т. Н. Брусенцова, Н. А. Брусенцов, *Девятая международная плесская конференция по магнитным жидкостям*, Сб. научн. тр., Плес (2000), сс. 186 – 189.
18. N. A. Brusentsov, V. V. Gogosov, T. N. Brusentsova, *Book of abstracts of 9-th IPCMF*, Ples (2000), pp. 74 – 76.
19. N. A. Brusentsov, T. N. Brusentsova, A. V. Sergeev, et al., *Book of Abstracts of 9-th IPCMF*, Ples (2000), pp. 71 – 73.
20. H. Yu, *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*, Ed. Hafeli, et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 341 – 352.
21. S. K. Pulfer and J. M. Gallo, *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*, Ed. Hafeli, et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 445 – 456.
22. Н. Л. Лукьянчикова, Н. А. Брусенцов, А. И. Аутеншлюс, *Бюл. сиб. отделения АМН СССР*, № 1, 17 – 21 (1989).
23. N. A. Brusentsov, M. V. Lukashovich, V. V. Lykov, et al., *Abstracts of fifth int. conf. on magnetic fluids*, Salaspils (1989), pp. 258, 259.
24. Н. А. Брусенцов, В. В. Лыков, *ЖВХО им. Д. И. Менделеева*, **34**(5), 566 – 572 (1989).
25. Н. А. Брусенцов, *ЖВХО им. Д. И. Менделеева*, **35**, 759 – 766 (1990).
26. Н. А. Брусенцов, *Хим.-фарм. журн.*, № 9, 3 – 11 (1996).
27. А. Б. Сыркин, С. Ф. Юшков, Ю. Н. Бульчев и др., *Эксперим. онкол.*, **12**(5), 71 – 73 (1990).
28. Н. А. Брусенцов, Т. Ю. Глазкова, Н. П. Яворская и др., *Эксперим. онкол.*, **12**(6), 59 – 60 (1990).
29. О. П. Анашкин, Н. А. Брусенцов, В. В. Лысенко и др., *Магнитная гидродинамика*, № 1, 77 – 81 (1990).
30. H. Pardoe, W. Chua-anusorn, T. Pierre, et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 41 – 46 (2001).
31. A. Jordan, R. Scholz, K. Maier-Hauff, et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 118 – 126 (2001).
32. A. Jordan, R. Scholz, H. Fahling, R. Felix, *J. Magn. Magn. Mater.*, **201**, 413 – 419 (1999).

33. Н. А. Брусенцов, Г. М. Порубова, Ю. К. Евелев и др., *Четвертая Всесоюзная конф. по применению магнитных жидкостей в биологии и медицине*, Сухуми (1991), сс. 27 – 30.
34. N. A. Brusentsov, *Abstracts of the eighth international 2 Timisoura, Romania* (1998), pp. 152, 153.
35. M. A. Vladimirovsky, V. I. Philippov, A. A. Kuznetsov, et al., *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*, Ed. Hafeli, et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 353 – 358.
36. O. P. Anashkin, N. A. Brusentsov, V. V. Lysenko, et al., *Proc. of the first Japan CIS joint seminar on electromagnetomechanics in structures*, *The Japan Soc. of Applied Electromagnetics (JSAEM)*, Tokio (1992), pp. 85 – 88.
37. A. A. Novakova, T. S. Gendier, N. A. Brusentsov, *Hyperfine Interactions*, **71**, 1315 – 1318 (1992).
38. N. A. Brusentsov, M. V. Lucashevich, A. Lockshin, *Programme and abstracts sixth international conference on magnetic fluids*, Paris (1992), pp. 482 – 483.
39. O. P. Anashkin, N. A. Brusentsov, V. E. Dmitrieva, et al., *Programme and abstracts sixth international conference on magnetic fluids*, Paris (1992), pp. 484 – 485.
40. A. A. Kuznetsov, A. R. Harutyunyan, E. K. Dobrinsky, et al., *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*, Ed. Hafeli, et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 379 – 390.
41. A. S. Lubbe, C. Bergemann, *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*, Ed. Hafeli et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 457 – 480.
42. A. B. Syrkin, N. A. Brusentsov, Programme and abstract sixth international conference on magnetic fluids, Paris (1992), pp. 480 – 481.
43. D. Muller-Schulte, F. Fussl, I. I. Luken, et al., *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*, Ed. Hafeli, et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 517 – 526.
44. N. A. Brusentsov, N. Y. Jurchenko, V. A. Razumovsky, et al., *Abstracts of the seventh international conference on magnetic fluids*, Bhavnagar, India (1995), pp. 275, 276.
45. N. A. Brusentsov, N. Y. Jurchenko, N. P. Javorskay, et al., *Abstracts of the seventh international conference on magnetic fluids*, Bhavnagar, India (1995), pp. 239, 240.
46. И. С. Амосов, Л. И. Волкова, Е. П. Демидчик и др., А. с. СССР № 1061821, *Бюл. изобрет.*, № 47, (1983).
47. M. H. Sousa, J. C. Rubim, P. G. Sobrinho, et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 67 – 72 (2001).
48. Н. А. Брусенцов, В. В. Гогосов, А. А. Новакова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **33**(1), 9 – 12 (1999).
49. Н. А. Брусенцов, Т. Н. Брусенцова, А. В. Сергеев и др., *Хим.-фарм. журн.*, **34**(4), 38 – 44 (2000).
50. Н. А. Брусенцов, А. А. Шевелева, Н. А. Машалова и др., *Девятая международная плесская конференция по магнитным жидкостям. Сб. научн. тр.*, Плес (2000), 309 – 313.
51. М. В. Гуджабидзе, *Автореф. дисс. канд. фармац. наук*, Москва (1985).
52. В. Г. Бендикене, Й. Ю. Сабаядускас, *Тезисы докладов IV всесоюзной конференции по магнитным жидкостям*, Плес (1985), т. 1, сс. 36 – 37.
53. Ю. Н. Данилов, С. А. Руденко, Г. П. Самохин и др., *Бюл. экперим. биол. мед.*, № 12, 701 – 702 (1985).
54. Э. Г. Денисенко, О. П. Кулик, Т. В. Еремина, *Порошковая металлургия*, № 4, 4 – 14 (1983).
55. А. Ю. Барышников, Н. А. Брусенцов, Т. Н. Брусенцова, *Девятая международная плесская конференция по магнитным жидкостям. Сб. научн. тр.*, Плес (2000), сс. 285 – 290.
56. S. Roath, *J. Magn. Magn. Mater.*, **122**, 329 – 334 (1993).
57. Т. В. Полушина, В. М. Кузнецова, В. А. Жестков, *Проблемы гематологии и переливания крови*, XXI(4), 46 – 48 (1976).
58. В. И. Петров, О. Г. Черкасова, Б. А. Руденко и др., *Тез. докл. IV всесоюзной конференции по магнитным жидкостям*, Плес (1985), т. 2, сс. 33 – 34.
59. А. П. Русецкий, М. И. Паписов, Э. К. Рууге и др., *Бюл. Всесоюзного Кардиологического Научного Центра. АМН СССР*, № 1, 100 – 105 (1985).
60. В. И. Рымарчук, А. Г. Маленков, Л. А. Радкевич, *Биофиз.*, **35**(1), 145 – 152 (1990).
61. U. Hafeli, G. Pauer, S. Failing, et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 73 – 78 (2001).
62. В. П. Торчилин, А. С. Бобкова, В. П. Смирнов и др., *Биоорганическая химия*, **2**(1), 116 – 124 (1976).
63. П. К. Иванов, Н. А. Брусенцов, Д. Ю. Блохин и др., *Девятая международная плесская конференция по магнитным жидкостям. Сб. научн. тр.*, Плес (2000), сс. 303 – 308.
64. Д. А. Харкевич, Р. Н. Аляутдин, С. А. Каспаров и др., *Фармакол. и токсикол.*, № 5, 32 – 35 (1985).
65. F. Ishii, A. Takamura, S. Noro, *Chem. Pharm. Bull.*, **32** (4), 679 – 684 (1984).
66. J. T. Kemshead, L. Hcath, F. M. Gibson, et al., *Br. J. Cancer*, **54**, 771 – 778 (1986).
67. S. S. Davis, I. M. Hunneball, L. Jllum, et al., *Drugs Expli. Clin. Res.*, **XI**(9), 633 – 640 (1985).
68. P. Gehr, J. D. Drain, S. B. Bloom, et al., *Nature*, **302**(24), 336 – 338 (1983).
69. H. Gries, W. Mutzel and C. Zurth, Patent N-EP-186616-A (8627), PR-1986, A 61 K-049/00 АИ-8550225-A(8629).
70. K. J. Widder, A. E. Senyei, and D. G. Scarpelli, *Proc. Soc. Exp. Biol. And Med.*, **58**, 141 – 146 (1978).
71. A. Senyei, K. Widder, G. Czerlinski, *J. Appl. Phys.*, **49**(6), 3578 – 3583 (1978).
72. K. J. Widder, R. M. Morris, G. Poore, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**(1), 579 – 581 (1981).
73. R. S. Molday and L. L. Molday, *FEBS Lett.*, **170**(2), 232 – 238 (1984).
74. Y. Morimoto, K. Sugibayaschi, M. Okomora, et al., *J. Pharm. Dyn.*, **3**, 264 – 267 (1980).
75. Y. Morimoto, K. Sugibayaschi, M. Akimoto, et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **28**(10), 3087 – 3093 (1980).
76. K. Mosbah, U. Schroder, *FEBS Lett.*, **102**(1), 112 – 116 (1979).
77. R. S. Molday, S. P. S. Yen, A. Rembaum, *Nature*, **268**(4), 437 – 438 (1977).
78. A. Rembaum, W. J. Drever, and S. Margel, *Rure Appl. Chem.*, **56**(10), 1305 – 1308 (1984).
79. S. Margel, S. Zisblatt and A. Rembaum, *J. Immunol. Meth.*, **28**, 341 – 353 (1979).
80. A. Rembaum and W. J. Dreyer, **208**(5), 364 – 368 (1980).
81. Ch. Shimazaki and D. Wiesnewski, *Blood*, **72**(4), 1248 – 1254 (1988).
82. A. F. Tsyb, J. S. Amosov, B. M. Berkovsky, *J. Magn. Magn. Mater.*, **39**(1 – 2), 183 – 186 (1983).
83. J. G. Treleaven, J. Ugelstad, T. Philip, et al., *Lancet*, № 14, 70 – 73 (1984).
84. K. J. Widder, R. M. Morris, G. A. Poore, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, **19**(1), 135 – 139 (1983).
85. D. C. Chan, D. B. Kirpotin, P. A. Bunn, *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*, Ed Hafeli, et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 607 – 618.
86. M. Kresse, S. Wagner, M. Taupitz, *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*, Ed. Hafeli, et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 545 – 560.
87. S. Pauser, R. Reszka, S. Wagner, et al., *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*, Ed. Hafeli, et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 561 – 568.
88. D. C. Chan, D. B. Kirpotin, P. A. Bunn, *J. Magn. Magn. Mater.*, **122**, 374 – 378 (1993).
89. N. A. Btuscenbov, *Abstracts of the eighth international conference on magnetic fluids*, Timisoura, Romania (1998), pp. 152, 153.
90. R. Herght, W. Andra, C. G. d'Ambly, et al., *IEEE Transactions on magnetics*, **34**(5), 3745 – 3754 (1998).
91. Э. К. Рууге, А. Н. Русецкий, *ЖВХО им. Д. И. Менделеева*, **5**, 556 – 561 (1987).
92. M. Babincova, D. Leszczynka, P. Souriong, et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 109 – 112 (2001).
93. S. Sicben, C. Bergemann, A. Lubbe, et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 73 – 78 (2001).

94. В. М. Нестеренко, Ю. Д. Апросин, В. М. Шлимак и др., *Тез. докл. III Всесоюзной конференции по применению магнитных жидкостей в биологии и медицине*, Сухуми (1989), сс. 158, 159.
95. P. Hermentin, Patent. Заявка ФРГ 38079046 21.09.89, МКИ С 07 К 17 / 14; С 12 № 15 / 00.
96. T. De Paoli, A. A. Hager, J. C. Ferroni, Заявка Франции 2712190 19.05.95.; *РЖ Химия*, № 12 (1997).
97. A. N. Zakhlevnykh and P. A. Sosnin, *Int. J. Polym. Mater.*, **27**(1–2), 89–99 (1994).
98. M. Tadachi and T. Noriyuki, *Biomagnet. Seramikkusu*, **30**(4), 359–396 (1995), *Chem. Abstr.*, V. 123 (7), 77306v (1995).
99. T. Yuki and O. Kotaro, *Drug Delivery Syst.*, **12**(1), 43–48 (1997), *Chem. Abstr.*, V. 126, No. 24. 320998k (1997).
100. M. Babincova and P. Babinec, *Pharmazie*, **50**(12), 828–829 (1995), *Chem. Abstr.*, V. 124, No. 12. 155827c (1996).
101. M. De Cuyper, *Handb. Nonmed. Appl. Liposomes*, No. 3, 325–342 (1996), *Chem. Abstr.*, V. 124. No. 17, 224490b (1996).
102. M. De Cuyper and M. Joniau, *Charact. Metab.*, Novel Biol. Appl., Proc. Int Colloq., 6th 1993 (Pub. 1995), P. 101–110. С. А. 1996, V. 124. No. 23. 315111v.
103. M. De Cuyper and W. Noppe, *J. Colloid Interface Sci.*, **182**(2), 478–482 (1996), *Chem. Abstr.*, V. 125. No. 26, 339635r (1996).
104. B. Donia, *Rom. Rep. Phys.*, V. 47 (3–5), 265–272 (1995), *Chem. Abstr.*, V. 126, № 1. 13809r (1997).
105. Y. Morimoto, K. Sugibayaschi, M. Okomora, et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **34**(10), 4253–4255 (1986).
106. П. В. Лопатин, *Актуальные проблемы создания лекарственных форм с заданными биофармацевтическими свойствами. Всесоюзная научно-техническая конференция*, Харьков (1989), с. 101.
107. О. Г. Черкасова, *Хим.-фарм. журн.*, **25**(5), 4–12 (1991).
108. O. A. Kuznetsov, K. H. Hasendtein, *Scientific and clinical applications of magnetic carriers.*, Ed. Hafeli, et al., Plenum Press, New York (1997), pp. 429–444.
109. A. A. Kuznetsov, V. I. Filippov, R. N. Alyautdin, et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 95–100 (2001).
110. L. Kh. Komissarova, A. A. Kuznetsov, *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 197–201 (2001).
111. A. A. Kuznetsov, A. M. Yunin, A. A. Savichev, et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 202–208 (2001).
112. U. O. Hafeli, G. J. Pauer, W. K. Roberts, et al., *Scientific and clinical applications of magnetic carriers.*, Ed. Hafeli, et al. Plenum Press, New York (1997), pp. 501–516.
113. C. Gruttner, S. Rudershausen and J. Teller, *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 1–7 (2001).
114. D. K. Kim, Y. Zhang, W. Voit, et al., *J. Magn. Magn. Mater.*, **225**, 30–36 (2001).
115. Н. А. Брусенцов, Т. Н. Брусенцова, *Хим.-фарм. журн.*, **35**(6), 10–14 (2001).
116. В. Г. Беликов, А. Г. Курегян, *Хим.-фарм. журн.*, **35**(2), 27–34 (2001).
117. Ф. С. Байбуртский, Н. А. Брусенцов, В. А. Разумовский и др., *Фундаментальные науки и альтернативная медицина*, 1 Международный симпозиум, Тез. докл., Пушкино (1997), сс. 50, 51.
118. Ф. С. Байбуртский, Н. А. Брусенцов, А. А. Кузнецов, *Восьмая международная плесская конференция по магнитным жидкостям. Сб. науч. тр.*, Плес (1998), 167–169.
119. Н. А. Брусенцов, Н. Я. Юрченко, Н. Е. Осипов и др., *Восьмая международная плесская конференция по магнитным жидкостям. Сб. науч. тр.*, Плес (1998), сс. 170–173.
120. Ф. С. Байбуртский, Н. А. Брусенцов, В. А. Разумовский и др., *Восьмая Международная плесская конференция по магнитным жидкостям. Сборник научных трудов*, Плес (1998), сс. 174, 175.
121. F. S. Bayburtzky, N. A. Brusentsov, and A. A. Kuznetsov, *The 8-th international Plyos Conference on magnetic fluids*, Book of abstracts (1998), сс. 84–86.
122. N. A. Brusentsov, N. Y. Jurchenko, N. F. Osipov, et al., *The 8-th international Plyos Conference on magnetic fluids*, Book of abstracts (1998), сс. 87, 88.
123. F. S. Bayburtzky, N. A. Brusentsov, A. A. Kuznetsov, et al., *Second international conference on the scientific and clinical applications of magnetic carriers. Program and abstracts*, Cleveland, Ohio, USA (1998), с. 73.
124. Ф. С. Байбуртский, Г. М. Семенова, Н. А. Брусенцов и др., *Влияние электромагнитных полей на организм человека*, Фонд “Новое тысячелетие”, Москва (1998), сс. 170–193.
125. Ф. С. Байбуртский, Н. А. Брусенцов, *Влияние электромагнитных полей на организм человека*, Фонд “Новое тысячелетие”, Москва (1998), сс. 194–203.
126. Ф. С. Байбуртский, Н. А. Брусенцов, *Хим.-фарм. журн.*, **33**(2), 3–7 (1999).
127. Л. Х. Костенко, В. И. Филиппов, А. А. Кузнецов и др., *Известия АН СССР (сер. биол.)*, № 5, 785–788 (1988).
128. Л. Х. Комиссарова, В. И. Филиппов, А. А. Кузнецов и др., *Сб. науч. тр. 9-й международной плесской конференции по магнитным жидкостям*, Плес (2000), Т. 2, 345–348.
129. Патент России № 1836105, *Бюл. изобрет.*, № 31 (1993).
130. Патент России № 4955557, *Бюл. изобрет.*, № 5 (1994).
131. Патент России № 96116004/14, *Бюл. изобрет.*, № 12 (1998).

Поступила 12.07.01