

НАНОКОМПОЗИТЫ В НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ

**С.П. Туранская, М.П. Турелик, А.Л. Петрановская, В.В. Туров,
П.П. Горбик**

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины,
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина*

Проанализировано современное состояние актуального научно-практического направления в области разработки метода нейтронозахватной терапии.

Основатель и первый директор Института химии поверхности НАН Украины академик НАН Украины А.А. Чуйко большое внимание уделял развитию новых перспективных научных направлений на стыке химии, физики и технологии поверхности, нанонауки, медицины и биологии. Предлагаемый обзор, по сути, фиксирует открытие в ИХП НАН Украины нового научного направления, связанного с созданием новейших наноматериалов для нейтронозахватной терапии, и современное состояние разработок в указанной области.

Введение

Бор- и гадолинийнейтронозахватная терапия – способ лечения онкологических заболеваний, идея которого была высказана Г. Лочером в 1936 г., однако является особенно актуальным сегодня, поскольку развитие нанотехнологий может существенным образом улучшить его эффективность. Сущность идеи состоит в следующем: если ввести в раковые клетки препарат, содержащий стабильный изотоп бора ^{10}B , а затем обработать его потоком тепловых нейтронов, атом бора, захватив нейтрон, превращается в радиоактивный изотоп, который распадается с образованием лития, α -частицы (ядра гелия) и γ -кванта. Так как энергия γ -квантов составляет не более 17 % всей выделяющейся энергии, основное лечебное воздействие оказывают α -частицы и ядра ^7Li . И те, и другие обладают преимуществом: длина их пробега крайне низка – сопоставима с размером клетки, – поэтому здоровые клетки не содержащие атомы бора или гадолиния, не разрушаются. Атомы бора имеют сечение захвата тепловых нейтронов на 4–7 порядков выше, чем атомы углерода, водорода, кислорода, азота, входящие в состав биомолекул, из которых построены все клетки [1]. Сечение захвата тепловых нейтронов ^{10}B – 3840 б (барн, 10^{-28} м^2), ^{16}O – 0,00019 б, ^{12}C – 0,0035 б, ^1H – 0,333 б, ^{14}N – 1,83 б. Наибольшее сечение захвата тепловых нейтронов имеет изотоп гадолиния ^{157}Gd – 254000 б [2]. Поэтому губительное для тканей вторичное излучение не будет оказывать на клетки, не содержащие бор или гадолиний, разрушающего действия.

Таким образом, основная проблема нейтронозахватной терапии – получение нетоксичных препаратов или наноконструкций, обладающих высокими нейтронозахватными свойствами и способностью селективно проникать в опухолевые клетки.

В составе различных наноконструкций в нейтронозахватной терапии могут использоваться в качестве носителей бор- или гадолинийсодержащих соединений нанотрубки, фуллерены, различные органические дендримеры, углеродные и кремниевые нанопроволоки, липосомы, а также полимерные соединения (например, капсулы из белков вирусной оболочки или других белков невирусного происхождения). Такие средства доставки бора или гадолиния модифицируются специфичными к мишени лигандами, например антителами и пептидами, которые взаимодействуют с

опухолевыми антигенами или рецепторами на поверхности опухолевых клеток. Поскольку не все разновидности опухолей имеют на поверхности клеток определенные антигены, узнаваемые специфичными к ним антителами, разрабатываются способы с применением взаимодействия лигандов с рецепторами растущих в опухоли сосудов; использованием новых производных карборана, способных проникать сквозь мембраны таких сосудов в опухолевые клетки и накапливаться в них в высокой концентрации.

Отметим, что для борнейтронозахватной терапии (BNCT) без использования нанокompозитов могут применяться, например, переносчики L-аминокислот, локализованные в плазматической мембране, которые осуществляют селективную доставку борфенилаланина в опухолевые клетки головного мозга человека. От экспрессии LAT-1 (переносчика L-аминокислот) в этих клетках зависит распределение борфенилаланина внутри опухолевой массы. В процессе BNCT, основанной на применении LAT-1, поражалось до 70 % опухолевых клеток [3].

Рассмотрим основные результаты исследований, направленных на усовершенствование технологий нейтронозахватной терапии.

Новые производные карборана

Новообразованные в растущей опухоли кровеносные сосуды обладают высокой проницаемостью для циркулирующих в кровеносной системе макромолекул и наночастиц. Благодаря указанной особенности [4, 5] происходит проникновение наночастиц и макромолекул из сосудов опухоли в межклеточное пространство. Поэтому наночастицы размером 10–100 нм накапливаются преимущественно в опухолевой ткани.

Одна из трудностей, препятствующих широкому применению BNCT, заключается в необходимости селективной доставки больших количеств бора в онкоклетки, поэтому актуальными являются разработки новых методик BNCT с применением синтезированных в последние годы соединений бора – производных карборана.

В [6] разработана эффективная методика синтеза нового семейства борированных порфиразинов, способных проникать сквозь мембраны опухолевых тканей в свободном виде или с помощью липосом. Авторы описывают синтез и основные физико-химические свойства нейтральных окта-*клозо*-карборанилалкилтиопорфиразинов, а также их водорастворимых аналогов, полученных мягким деборированием *клозо*-полиэдра. Предварительные исследования показали, что эти соединения имеют пренебрежимо малую токсичность и по сравнению с борфенилаланином хорошо накапливаются в клетках.

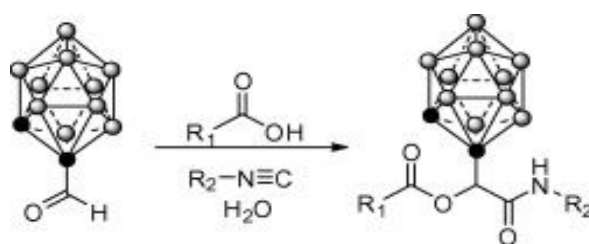


Рис. 1. Получение новых α -карборанил- α -ацилоксиамидов.

Новые α -карборанил- α -ацилоксиамиды синтезированы с использованием трехкомпонентной реакции Пассерини (рис. 1) [7]. Исследование цитотоксичности указанных соединений на двух клеточных линиях опухоли мозга (U-87 и A-172) показало отсутствие влияния на жизнеспособность клеток, что свидетельствует о возможности их применения в качестве препаратов для BNCT.

o-Карбораниловые аминоспирты получены по реакции Манниха (рис. 2), проверка их противоопухолевых свойств проводилась *in vitro* на опухолевых клетках СТ26.

Полярность аминспиртов, высокое накопление бора, низкая токсичность указывают на перспективность их использования для BNCT [8].

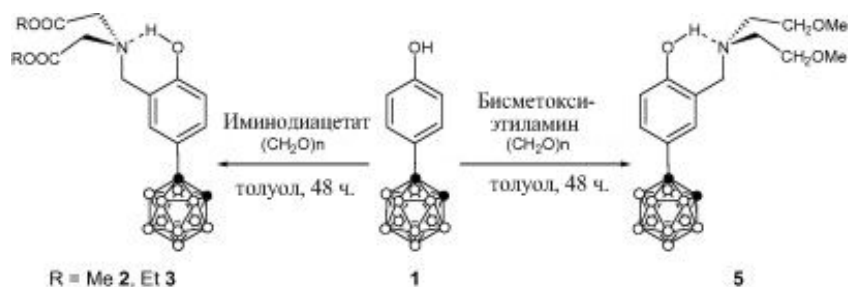


Рис. 2. Получение *o*-карбораниловых аминспиртов.

В [9] синтезированы два тетразамещенных цинк(II)фталоцианина, содержащих четыре связанные углеродными связями *o*-карбораниловые единицы (40 атомов бора, $^{10}\text{B} = 27,5\%$ масс., рис. 3.). Исследованиями *in vitro* показана хорошая фоточувствительность и эффективность новых соединений. Таким образом, подтверждена возможность их применения в фотодинамической и борнейтронозахватной терапии.

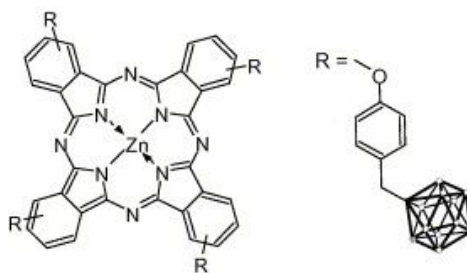


Рис. 3. Схематическое изображение тетразамещенных цинк(II)фталоцианинов, содержащих четыре связанные углеродными связями *o*-карбораниловые единицы.

Функционализированные карбораниловые спирты получены по реакции Бейлиса-Хиллмана взаимодействием карбораниловых альдегидов с α,β -ненасыщенными сложными эфирами, кетонами и нитрилами в присутствии катализатора DABCO (1,4-диазабисцикло[2.2.2]октана). Ацетаты этих спиртов подвергали изомеризации рядом нуклеофилов, что позволяет получить структурно интересные карбораны (рис. 4). При биологической оценке этих молекул установлена их значительная антипролиферативная активность по отношению к опухолевым клеткам мозга и молочной железы человека [10].

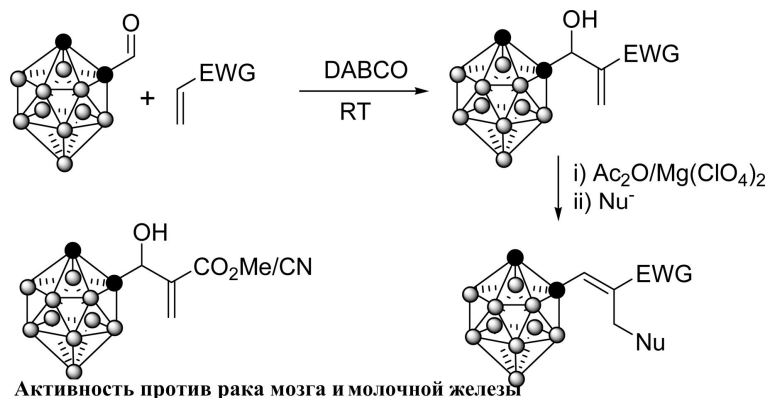


Рис. 4. Получение модифицированных карборанов (EWG – электроноакцепторная группа).

Синтезированы уникальные наноразмерные клзомеры с высоким содержанием бора – потенциальные препараты для BNCT. Дизайн этих обогащенных бором наносфер частично основывался на использовании додека(карборанил)-замещенных клзомеров [11]. Сшивание частей *орто*-карборана через простые и сложноэфирные связи с жестким остовом [к*лозо*-B₁₂(OH)₁₂]²⁻ привело к созданию 12(12)-к*лозо*мер-сложноэфирного производного, додека[6-(1,2-дикарба-к*лозо*-додекаборан-1-ил)гексаноат]-к*лозо*-додекабората (2-); 12(12)-к*лозо*мер-простоэфирных производных, додека[6-(2-метил-1,2-дикарба-*нидо*-додекаборан-1-ил)гексил]-к*лозо*-додекаборана (14-), и додека[6-(7,8-дикарба-*нидо*-додекаборан-7-ил)гексил]-к*лозо*-додекаборана (14-). Эти клзомеры (рис. 5) изучали методами ультрафиолетовой и видимой спектроскопии и циклической вольтаметрии [12].

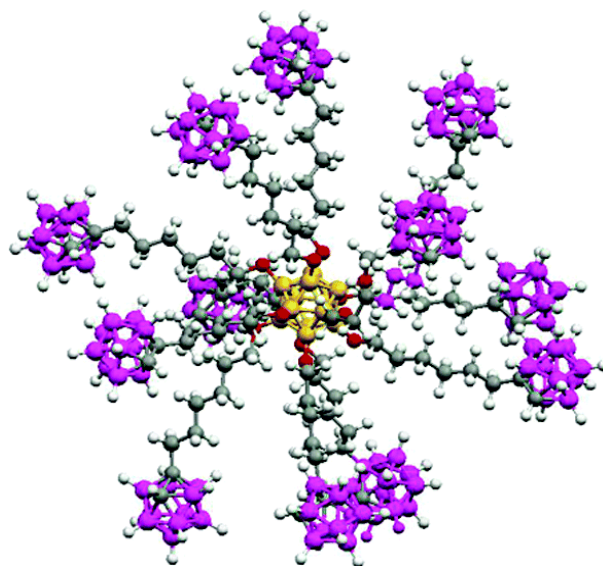


Рис. 5. Схема строения наноразмерных клзомеров с высоким содержанием бора.

В [13] разработаны подходы к синтезу полианионных многокластерных макромолекул с высоким содержанием бора.

В исследованиях *in vitro* (на модели клеток глиомы крысы) и *in vivo* (мышь) показано, что аналог 3-карборанилтимидина, - 3-[5-{2-(2,3-дигидроксипроп-1-ил)-*о*-карборан-1-ил}пентан-1-ил]тимидин, обозначенный как N5-2OH (рис. 6), может использоваться для селективной доставки бора в опухолевые клетки мозга и BNCT. N5-2OH – субстрат тимидинкиназы 1 (ТК1), активность которой обнаруживается только в пролиферирующих клетках. ТК1 экспрессируется в широком ряду злокачественных опухолей. N5-2OH после 5'-монофосфорилирования избирательно накапливался только в опухолевых клетках [14].

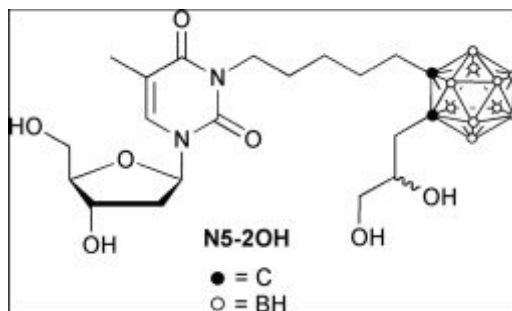


Рис. 6. Структура -[5-{2-(2,3-дигидроксипроп-1-ил)-*о*-карборан-1-ил}пентан-1-ил]тимидина. Необогатенный и обогащенный ¹⁰B N5-2OH синтезированы как смесь эпимеров.

Авторы [15] описывают новый биоконъюгат (HArCB), состоящий из *n*-пропилкарборана, присоединенного через сложноэфирную связь к гиалуронану (HA), степень замещения составляла около 30 %. Структуру и основные физико-химические характеристики нового водорастворимого производного гиалуронана определяли методами инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием, флуоресцентным анализом, ^1H , ^{13}C , ^{10}B ЯМР спектроскопии. Поскольку гиалуронан распознается антигеном CD44, находящимся в большом количестве на поверхности многих типов опухолевых клеток, предполагается возможность целевой доставки атомов бора HArCB непосредственно к клеткам-мишеням при проведении BNCT. В биологических экспериментах *in vitro* показано, что HArCB не являясь токсичным для ряда человеческих опухолевых клеток различных гистотипов, специфично взаимодействовал с рецептором CD44, как и обычный неконъюгированный HA, и накапливался опухолевыми клетками, приводя к аккумуляции большого количества атомов бора, значительно превышая количества, требуемые для успешного применения BNCT.

Углеродные нанотрубки

Среди семейства наноматериалов углеродные трубки представляют собой новое альтернативное и эффективное средство для доставки лекарственных препаратов. Углеродные нанотрубки могут быть функционализированы биологически активными веществами – пептидами, белками, нуклеиновыми кислотами и лекарствами. Функционализированные углеродные нанотрубки малотоксичны и неиммуногенны, поэтому они могут использоваться в нанобиотехнологии и наномедицине.

Одно- или многостенные углеродные нанотрубки обрабатывают кислотами для очистки и модифицирования карбоксильными группами. Нанотрубки взаимодействуют с производными аминокислот и альдегидами, с образованием на внешней поверхности химических групп, определяющих растворимость в воде.

В [16] после обработки кислотами многостенные углеродные нанотрубки последовательно модифицировали карбоксильными группами и монозащищенным диаминотриэтиленгликолем, затем осуществляли 1,3-диполярное циклоприсоединение. Заполнение лекарственными препаратами осуществляли после раскрытия торцов нанотрубок.

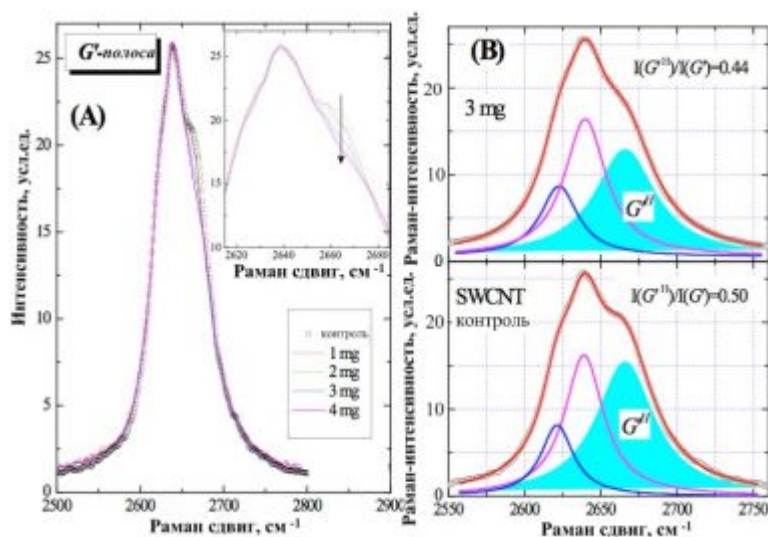


Рис. 7. Рамановские спектры контрольного образца (А) и дисперсии одностенных углеродных нанотрубок, приготовленных в присутствии *o*-карборана (В).

Поскольку фолатный рецептор (ФР) является опухолевым маркером, избыточно экспрессируемым клетками большинства опухолей человека, селективное

проникновение одностенных углеродных нанотрубок внутрь опухолевых клеток может достигаться при функционализации нанотрубок фолиевой кислотой, фосфолипидами молекулами полиэтиленгликоля (ПЭГ) [17].

В [18] методами масс-спектрометрии, раман-спектроскопии, ультрафиолетовой и видимой спектроскопии, атомной силовой микроскопии, измерения ζ -потенциала и гель-электрофореза, показано, что *o*-карборан может быть иммобилизован на одностенных углеродных нанотрубках, функционализированных лизофосфатидилхолином в стабильных водных дисперсиях (рис. 7). Результаты исследований свидетельствуют о возможности использования таких структур для BNCT.

Замещенные каркасы карборана C(2)B(10) были успешно присоединены к боковым стенкам одностенных углеродных нанотрубок (SWCNT) посредством циклоприсоединения с применением нитрена. Расщепление этих каркасов карборана C(2)B(10) с присоединенными интактными одностенными углеродными нанотрубками проводили реакцией с гидроксидом натрия при дефлегмации в этаноле. В процессе основной дефлегмации трехчленное кольцо, образованное нитреном и SWCNT, открывалось, и, таким образом, получали растворимые одностенные углеродные нанотрубки, в которых боковые стенки были функционализированы замещенными звеньями нидо-C(2)B(9) карборана и этоксидом. Все новые соединения были охарактеризованы методами электронномикроскопической ауторадиографии, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии, ультрафиолетовой и инфракрасной спектроскопии, ЯМР и химического анализа. При исследованиях тканевого распределения нанотрубок $\{([Na(+)] [1-Me-2-((CH_2)_4NH-)-1,2-C(2)B(9)H(10)] [OEt])(n)(SWCNT)\}$ (Va), установлено, что атомы бора концентрируются в опухолевых клетках в большей степени, чем в крови и других органах. Таким образом, нанотрубки могут быть средством доставки бора в опухолевые клетки для эффективной BNCT – метода лечения рака [19].

Липосомы

Авторы [20] использовали липосомы в качестве носителей активных соединений для BNCT. Два производных карборана, *o*-клозокарборанил β -лактозид и 1-метил-*o*-клозокарборанил-2-гексилтиопорфиразин, загружали в липосомы, несущие различные поверхностные заряды. Эффективность этих соединений проверяли на модельных клеточных культурах. Концентрацию бора в обработанных клетках измеряли методом α -спектроскопии (рис. 8). При использовании катионных липосом концентрация ^{10}B в клетках повышалась по меньшей мере в 30 раз, по сравнению с борфенилаланином.

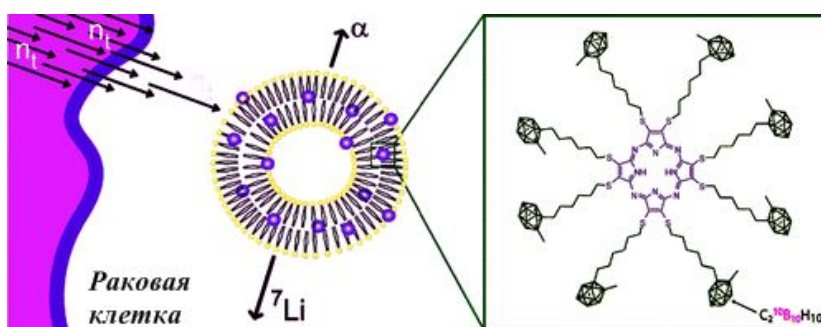


Рис. 8. Схема нейтронного облучения опухолевых клеток с применением производных карборана.

Реальная возможность селективной доставки бора к опухолевым клеткам связывается с применением липосом. Для построения борированных липосом, неспецифичных и специфичных к мишени (рецептору), для BNCT были приготовлены три новых карборанил-производных холестерина в качестве компонентов липидного

бислоя. Главная особенность структуры этих новых борированных производных холестерина – замещение кольца холестерина кластером карборана. Вычислительными методами показано, что структурные и физико-химические свойства борированных соединений очень близки к свойствам холестерина. Один из синтезированных борированных производных холестерина был включен в липосомы, неспецифичные и специфичные к фолатным рецепторам и рецепторам-2 к васкулярному эндотелиальному фактору роста (ВЭФРР-2). Значительных отличий в морфологии, распределении по размеру, количестве монослоев не обнаружено между обычными липосомами из дипальмитоилфосфатидилхолина и холестерина, неспецифичными и специфичными к ФР липосомами, содержащими это карборанил-производное холестерина. Когда борированные липосомы, специфичные к ФР, добавляли *in vitro* к клеткам карциномы носоглотки человека KB, экспрессирующим ФР в большом количестве, поглощение эффективно блокировалось в присутствии свободного фолата. В противоположном случае, при включении борированного производного холестерина в неспецифичные липосомы, поглощение их клетками было значительно более низким. При исследованиях *in vitro* не обнаружено очевидной цитотоксичности по отношению к клеткам KB, экспрессирующим в большом количестве ФР, и трансформированным эмбриональным клеткам почки человека 293/KDR, экспрессирующим в большом количестве ВЭФРР-2, при инкубации этих клеток со специфичными к ФР и ВЭФРР-2 борированными липосомами, соответственно, хотя первые в большом количестве аккумулялировались в клетках KB и вторые эффективно взаимодействовали с ВЭФРР-2, запуская процесс аутофосфорилирования и защищая клетки 293/KDR от Shiga-подобного токсина [21].

Нидо-карборан-содержащий липид-2 – борсодержащий липид с двумя гидрофобными «хвостами» – был синтезирован из гептадеканола в процессе пятистадийного химического преобразования. Липид-2 формировал стабильные липосомы при его концентрации 25 % мол. по отношению к смеси с дистеароилфосфатидилхолином (DSPC) и холестерином. К поверхности борсодержащих липосом (Tf(–)-ПЭГ-CL) прикрепляли трансферрин (к участкам ПЭГ-CO₂H), получая липосомы Tf(+)-ПЭГ-CL. При изучении биораспределения липосом Tf(+)-ПЭГ-CL, в которые были инкапсулированы ¹²⁵I-тираминил-инулины, установлено, что эти липосомы аккумулялировались в опухолевых тканях и оставались в них в течение достаточно длительного времени, что приводило к повышению соотношения концентраций в опухоли и крови, в то время как липосомы Tf(–)-ПЭГ-CL постепенно выходили из опухолевых тканей. Концентрация бора 22 м.д. достигалась в опухолевых тканях после инъекции липосом Tf(+)-ПЭГ-CL при концентрации бора 7,2 мг/кг веса мышей с опухолями. После нейтронного облучения мыши, которым не были введены липосомы Tf(+)-ПЭГ-CL, жили в среднем 21 день, а мыши, которым вводили эти липосомы – 31 день. Наибольшее время жизни после BNCT – 52 дня – наблюдалось для мышей, получивших Tf(+)-ПЭГ-CL [22].

Синтезирован новый класс липидов, содержащих кластер *клозо*-додекабората. Описаны два липида, S-(N, N-(2-димиристоилоксиэтил)ацетамидо)тиоундекагидро-*клозо*-додекаборат (2-) (В-6-14) и S-(N, N-(2-дипальмитоилоксиэтил)ацетамидо)тиоундекагидро-*клозо*-додекаборат (2-) (В-6-16). Оба липида имеют липофильную часть (два «хвоста») и «головку», несущую два отрицательных заряда. Методом дифференциальной сканирующей калориметрии показано, что температуры основного фазового перехода в бислоях В-6-14 и В-6-16 – 18.8 и 37.9 °С соответственно. Выше температуры 18.8 °С В-6-14 может образовывать липосомные везикулы, в состав которых входит борсодержащий липид. При охлаждении ниже температуры фазового перехода формируются жесткие бислои. При включении этого липида в смеси с DSPC и

холестеролом, в эквимольных соотношениях, в состав липосом, получались стабильные липосомы. При измерении ζ -потенциала было установлено, что везикулы, содержащие В-6–14 и В-6–16, отрицательно заряжены и имеют наибольший отрицательный потенциал, описанный до сих пор на липосомах. Такие липосомы могут использоваться в качестве переносчиков бора в опухолевые клетки для BNCT. Липосомы, приготовленные из В-6–14, были менее токсичны для клеток китайского хомяка V79 (концентрация, при которой погибает 50 % клеток, IC_{50} , 5,6 мМ), по сравнению с $Na_2B_{12}H_{11}SH$ (IC_{50} 3,9 мМ), в то время как липосомы, приготовленные из В-6–16, не были токсичны даже при 30 мМ [23].

С целью липосомной доставки бора при BNCT синтезированы кластерные липиды, содержащие бор, имеющие два гидрофобных «хвоста» и гидрофильную «голову» $B_{12}H_{11}S$, путем S-алкилирования $B_{12}H_{11}SH$ бромацетиловым и хлорацетокарбаматным производными диацилглицеролов. Эксперименты по инкапсулированию кальцеина показали, что липосомы, приготовленные из кластерного липида, содержащего бор, димиристоилфосфатидилхолина (DMPC), конъюгированного с полиэтиленгликолем дистеароилфосфатидилэтаноламина (ПЭГ-DSPE) и холестерина, были стабильными при 37 °С в растворе телячьей эмбриональной сыворотки в течение 24 ч (рис. 9) [24].

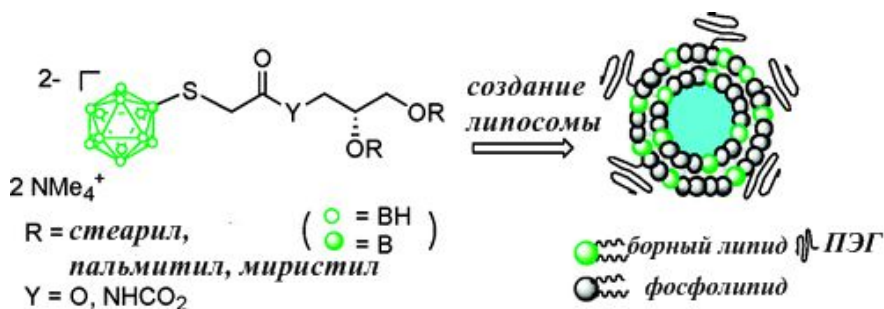


Рис. 9. Схема получения липосом из кластерного борсодержащего липида DMPC, конъюгированного ПЭГ-DSPE и холестеролом.

В [25] синтезированы девять новых липидов, состоящих из кластеров додекабората, которые потенциально могут использоваться для BNCT опухолей. Это новое поколение содержащих бор липидов имеет один отрицательный заряд и состоит из пиридиниевой сердцевины с C_{12} , C_{14} и C_{16} цепями – липидный остов, связанный атомом азота через бутиленовый, пентиленовый или этиленоксиэтиленовый линкер с атомом кислорода кластера додекабората, представляющего собой «голову» молекулы. Липиды получали нуклеофильной атакой 4-(бисалкилметил)пиридина на тетрагидрофурановом, диоксановом и недавно приготовленном тетрагидропирановом производных, соответственно, *клозо*-додекабората. Все эти содержащие бор липиды способны образовывать замкнутые везикулы, состоящие из нескольких бислоев, в чистом состоянии или в присутствии вспомогательных липидов. С увеличением длины алкильной цепи липидов наблюдалось значительное уменьшение их токсичности. Выбор линкера не имеет особого значения по отношению к способности образовывать липосомы, но влияет на токсичность в случае коротких алкильных цепей [25].

Конъюгированные с додекаборатом холестеролы были синтезированы для построения липосомных систем доставки бора для BNCT (рис. 10). Синтез основан на S-алкилировании цианоэтил-защищенного борокаптата натрия алкилгалогенидами. Липосомы, приготовленные из DMPC, холестерола, конъюгированного с додекаборатом холестерола, конъюгированного ПЭГ-DSPE (1:0,5:0,5:0,1), оказались более цитотоксичными, чем борокапнат натрия [26].

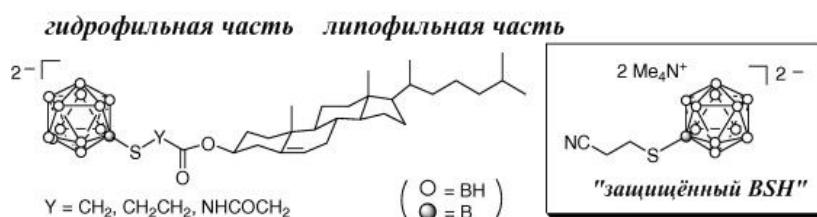


Рис. 10. Схема строения конъюгированных с додекаборатом холестерина.

Борокапнат натрия инкапсулировали в липосомах, составленных из содержащего никель липида, затем липосомы конъюгировали с антителами к рецептору эпидермального фактора роста. Такие иммунолипосомы использовали для доставки борокапната натрия в клетки глиомы, избыточно экспрессирующие рецептор эпидермального фактора роста (ЭФР). Однако эта система не может использоваться для лечения глиом, клетки которых экспрессируют недостаточное количество рецепторов ЭФР [27].

Поскольку опухолевые клетки экспрессируют больше рецепторов к трансферрину по сравнению с нормальными клетками, липосомы, покрытые трансферрином, представляют собой эффективную систему доставки бора. Поверхность липосом, содержащих борокапнат натрия, покрывали полиэтиленгликолем, затем готовили покрытые трансферрином липосомы. Результаты исследований показали, что из трех систем доставки бора (борокапнат натрия; липосомы, покрытые ПЭГ, содержащие борокапнат натрия; липосомы, покрытые ПЭГ и трансферрином) концентрация бора в клетках была выше при использовании последней системы [28].

Полиамидамин-дендримеры

Полиамидамин (РАМАМ) -дендримеры имеют разветвленно-цепочечную структуру, позволяющую удерживать разнообразные молекулы либо ковалентно прикрепленные к поверхности дендримера, либо инкапсулированные в его внутреннем пространстве [29].

Поскольку уровень экспрессии фолатного рецептора увеличен в широком ряду опухолей человека, фолатный рецептор потенциально может быть молекулярной мишенью для BNCT. Изучалась возможность специфичного взаимодействия с ФР, представленным на поверхности опухолевых клеток, конъюгатов фолиевой кислоты с РАМАМ 3-го поколения, содержащими борированный полиэтиленгликоль. Изучалась также возможность достижения концентраций ^{10}B , необходимых для BNCT, при снижении поглощения этих конъюгатов ретикулоэндотелиальной системой. Сначала ковалентно прикрепляли 12–15 кластеров декабората к РАМАМ дендримерам 3-го поколения. Затем, для уменьшения поглощения клетками печени, различные количества субъединиц ПЭГ, при различных длинах цепи, присоединяли к этим борированным дендримерам. Из всех приготовленных комбинаций, борированные дендримеры с 1–1,5 субъединицами ПЭГ₂₀₀₀ наименее поглощались печенью (показано на мышях C57BL/6; 7,2–7,7 % введенной дозы/г печени). Таким образом были приготовлены два специфичных к ФР борированных РАМАМ дендримера 3-го поколения: один содержал ~ 15 кластеров декабората и ~ 1 субъединицу ПЭГ₂₀₀₀ с прикрепленной к дистальному концу молекулой фолиевой кислоты; второй – ~ 13 кластеров декабората, ~ 1 субъединицу ПЭГ₂₀₀₀ и ~ 1 субъединицу ПЭГ₈₀₀ с прикрепленной к дистальному концу молекулой фолиевой кислоты. В исследованиях *in vitro* с использованием клеток карциномы носоглотки человека KB, имеющих на поверхности ФР, наблюдалось рецептор-зависимое поглощение последнего конъюгата. При изучении биораспределения этого конъюгата на клетках мышей C57BL/6, содержащих ФР и саркому 24JK-FBP, обнаружено селективное поглощение опухолевыми клетками (6,0 % введенной дозы/г опухоли), но также высокое поглощение гепатоцитами (38,8 %

введенной дозы/г) и ренальными клетками (62,8 % введенной дозы/г). Это указывало, что прикрепление второй субъединицы ПЭГ и/или фолиевой кислоты может неблагоприятно воздействовать на фармакодинамику этого конъюгата [30].

По данным [31] ген рецептора эпидермального фактора роста часто экспрессируется в клетках мультиформной глиобластомы человека и других основных опухолях мозга. Из серии 33 срезов глиомы человека в 15 выявлена амплификация гена рецептора ЭФР, в то время как этот ген не экспрессируется или слабо экспрессируется в нормальных клетках мозга.

Рецептор ЭФР ν III экспрессируется в 57 % случаев мультиформной глиобластомы и 75 % – анапластической астроцитомы. Поскольку количество рецепторов на опухолевых клетках может быть до 100 раз больше, чем количество рецепторов на нормальных глиальных клетках, эти рецепторы представляют интерес для направленного лечения опухолей мозга с использованием антител к этим рецепторам: рекомбинантных химерных (смесь человеческих с мышиными) антител cetuximab и антител L8A4. Цель исследования [31] состояла в определении возможности лечения методом BNCT глиомы крысы, составленной из двух популяций опухолевых клеток (одна популяция экспрессировала ген рецептора ЭФР дикого типа, вторая – ν III), с применением борированных моноклональных антител: cetuximab и L8A4. Готовили борированные дендримеры и присоединяли их этим антителам. РАМАМ дендример 5-го поколения, содержащий 128 реакционноспособных концевых аминогрупп, борировали метилизоцианатным полиэдральным борсодержащим анионом $\text{Na}(\text{CH}_3)_3\text{NB}_{10}\text{H}_8\text{NCO}$ с использованием методики, описанной в [32], и получали борированный дендример (BD). Для сайт-специфичного присоединения BD к участку F_c моноклональных антител проводили взаимодействие BD с N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионатом и полученный продукт расщепляли DTT, получая SH-содержащий BD. Проводили взаимодействие последнего с КМУН (N-[k-малеимидоундеканоэвая кислота]гидразидом, получая КМУН-BD. Антитела L8A4 и cetuximab (последнее ранее называли C225) окисляли NaIO_4 и затем присоединяли к гидразидной группе КМУН-BD, получая биоконъюгаты BD-L8A4 и BD-C225 [32]. Биоконъюгаты очищали методом колоночной хроматографии (Sephacryl S-300), элюировали фосфатным буфером (0,1 моль/л) и NaCl (0,2 моль/л), pH 7,5. Концентрации белка в собранных фракциях определяли методом спектрофотометрии с использованием голубого Кумасси, измеряя поглощение при 495 нм. Количественный анализ содержания бора проводили методом прямой проточной плазма-атомной эмиссионной спектроскопии, как описано в [33]. Для исследования биораспределения антител конъюгаты борированного дендримера с моноклональными антителами метили ^{125}I [31].

При использовании борсодержащих конъюгатов возникает проблема их выведения из кровеносной системы раньше, чем они будут селективно связаны с опухолевыми клетками. Одним из подходов для разрешения этой проблемы может быть присоединение к содержащим бор биоконъюгатам молекул полиэтиленгликоля, что приводит к увеличению времени их циркуляции в кровеносной системе. Другим подходом может быть взаимодействие биоконъюгатов, содержащих бор, с эндотелиальными клетками новообразованных в растущей опухоли кровеносных сосудов. Такие клетки экспрессируют в значительно большем количестве, чем неопухолевые эндотелиальные клетки, рецептор васкулярного эндотелиального фактора роста-2. В работе [34] описан синтез борированного дендримера, связанного с васкулярным эндотелиальным фактором роста. Использовали РАМАМ дендример 5-го поколения, содержащий 128 первичных аминогрупп, с присоединенными 105-110 молекулами декабората. Для облегчения анализа биораспределения и поглощения бора в экспериментах *in vivo* (на модельных мышах) эти дендримеры метили красителем Cy5,

поглощающим в области, близкой к инфракрасной. Борированные дендримеры, связанные с васкулярным эндотелиальным фактором роста, поглощались клетками в процессе опосредованного рецептором эндоцитоза. Цитотоксичности и стимуляции роста клеток не наблюдалось. Методом флуоресцентного анализа установлено, что *in vivo* эти биоконъюгаты накапливались в кровеносных сосудах опухоли [34].

Нанотрубки нитрида бора

Синтезированы нанотрубки нитрида бора, свойства которых во многих случаях соответствуют свойствам их углеродных аналогов. Например, они так же скапливаются в агрегаты, удерживаемые силами Ван-дер-Вальса. Кроме того, они могут существовать в виде одно- или многостенных структур. Однако существенное различие свойств состоит в том, что нанотрубки нитрида бора – изоляторы с постоянной шириной щели (5 эВ), независимо от диаметра трубки, количества стенок и хиральности. Нанотрубки нитрида бора могут быть прикреплены к антителам IgG или другим специфичным к мишени биомолекулам [35].

Разработана методика формирования наночастиц Fe_3O_4 , плотно и равномерно распределенных на поверхностях многостенных нанотрубок нитрида бора. Нанокompозиты обладали нормальными ферромагнитными свойствами при низкой температуре (5 K) и слабым магнетизмом с пренебрежимо малой коэрцитивной силой при комнатной температуре. Благодаря плотному и равномерному магнитному покрытию, многостенные нанотрубки нитрида бора могли подвергаться физическому манипулированию при сравнительно слабых магнитных полях. Новые магнитные нанокompозиты на основе нанотрубок нитрида бора потенциально могут применяться для BNCT [36].

Нанотрубки нитрида бора диспергировали в водной среде путем их нековалентного покрытия поли-L-лизинном, функционализировали флуоресцентным зондом (для наблюдения) и фолиевой кислотой (лигандом для селективного связывания с фолатными рецепторами на поверхности опухолевых клеток). Исследованиями *in vitro* показано селективное накопление этих нановекторов клетками мультиформной глиобластомы, что подтверждает потенциальную возможность их клинического применения для BNCT этих злокачественных опухолей мозга [37].

Кремниевые носители

В качестве средства доставки борокаптата цезия в опухолевые клетки для BNCT могут быть использованы кремниевые нанопроволоки [38]. Кремниевые нанопроволоки синтезировали в системе пар-жидкость-твердое тело. В качестве субстрата использовали графитовую ткань с распыленными наночастицами золота (катализатор) размером 20 нм. Рост нанопроволок происходил при 600 °C в потоке силана (0,5 %) в гелии. Средний диаметр таких кремниевых нанопроволок составлял 124+(-)52 нм, длина – до десятков мкм.

Покрытие кремниевых нанопроволок борокаптатом натрия осуществляли в электрохимической ячейке с использованием в качестве электролита раствора борокаптата натрия, анода – кремниевых нанопроволок, катода – платиновой фольги. На рис. 11 приведены изображения непокрытых (а) и покрытых (б) борокаптатом натрия нанопроволок, полученные методом сканирующей электронной микроскопии. Для проведения элементного анализа использовали также аналог борокаптата натрия – меркаптододекаборат цезия, который обнаруживается методом дисперсии рентгеновских лучей [38]. Нанесение меркаптододекабората цезия на кремниевые нанопроволоки проведено в водном растворе меркаптододекабората цезия в качестве электролита, анодом служила графитовая ткань, катодом – платиновая фольга [39].

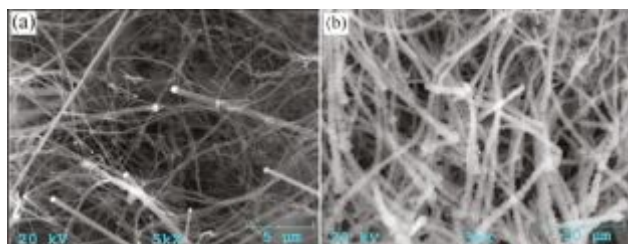


Рис. 11. Изображения непокрытых (а) и покрытых (б) борокапталом натрия нанопроволок, полученные методом сканирующей электронной микроскопии.

Авторы [39] также сорбировали молекулы борной кислоты, D,L-4-борфенилаланина и меркаптододекабората цезия в порах мезопористого кремния. Подходящий размер пор, способность к биодеструкции и химия поверхности мезопористого кремния обуславливают возможность его применения в качестве носителя лекарств для BNCT [39].

Гадолинийнейтронозахватная терапия

Как уже отмечалось, перспективным химическим элементом, соединения которого можно использовать в качестве нейтронозахватного агента (НЗА), является гадолиний. Изотоп ^{157}Gd имеет рекордное (255000 барн) сечение захвата нейтронов и высокий (98 %) выход конверсионных и Оже-электронов. Перспективным представляется также использование соединений, одновременно содержащих бор и гадолиний.

Синтез наночастиц оксида гадолиния, заключенных в полисилоксановую оболочку, выполнен в [40] с целью их применения как для визуализации опухоли (диагностики), так и для лечения рака. Присутствие ионов гадолиния в сердцевине нанокомпозита позволяет обнаружить их биораспределение после внутривенной инъекции малым животным, используя метод магнитнорезонансного получения изображений (MRI). Также эти наночастицы детектируются флуоресцентным методом, поскольку к полисилоксановой оболочке могут ковалентно присоединяться органические красители. Такие люминесцентные частицы были функционализированы низкомолекулярным ПЭГ для обеспечения их коллоидной стабильности в водной среде. Полученные гибридные нанокомпозиты, несмотря на присутствие полисилоксановой оболочки, способны оказывать влияние на протонную релаксацию воды. Эти частицы могут внедряться в различные типы клеток (макрофаги, фибробласты, лимфоциты и др.). В результате меченые клетки могут быть визуализированы методом MRI и флуоресцентным анализом. Метаболическая активность клеток почти не изменяется в присутствии таких гибридных частиц, однако при их облучении тепловыми нейтронами или рентгеновскими лучами происходит разрушение клеток, что свидетельствует о возможности терапевтического применения наночастиц оксида гадолиния для лечения рака методом нейтронного захвата.

Методами MRI и люминесцентного анализа показано, что нежелательного накопления в легких, печени, селезенке и мозге не наблюдалось: частицы свободно циркулировали в кровеносных сосудах, после чего удалялись из организма посредством почечной экскреции. Такое поведение гибридных частиц объясняется их малым размером (< 10 нм) и присутствием цепей ПЭГ, присоединенных к частицам. Однако у крыс с опухолями мозга наблюдалось накопление частиц в мозге [41].

Ключевым фактором успешного применения гадолинийнейтронозахватной терапии для борьбы с раком является доставка и поддержание достаточных количеств Gd внутри опухолей. Большие количества Gd могут быть введены в опухолевые клетки путем непосредственной инъекции внутрь опухоли. Однако требуется разработка способа поддержания высокой концентрации Gd в опухоли [42].

Авторы [42] инкапсулировали соединения гадолиния в липосомах с последующим их диспергированием в термочувствительном полимерном геле. На

моделях (мышь с опухолями) было показано, что при использовании такой системы время удерживания соединений гадолиния в опухолях значительно увеличивается.

Липосомы, содержащие соединения гадолиния, обладают преимуществами для использования в качестве систем доставки гадолиния для нейтронозахватной терапии опухолей малого и среднего размера. При использовании нейтронозахватной терапии для лечения больших, распространенных солидных опухолей должны применяться альтернативные стратегии, хотя в этом случае гадолинийнейтронозахватная терапия может иметь преимущество перед BNCT [43].

Наноконъюгаты, составленные из наночастиц TiO_2 , олигонуклеотидов ДНК и контрастирующего агента гадолиния, были синтезированы [44] для использования в MRI. После трансфекции культивируемых опухолевых клеток этими наноконъюгатами было установлено, что, по сравнению со свободным контрастирующим агентом того же состава наноконъюгаты лучше накапливаются и удерживаются внутри клеток. Так, было показано, что через 48 ч после обработки клеток наноконъюгатом концентрация гадолиния в этих клетках была в 1000 раз выше, чем в клетках, обработанных неконъюгированным контрастирующим агентом. Таким образом, контрастное усиление изображения удавалось получить только после обработки клеток наноконъюгатами. Наноконъюгат этого типа с повышенной аккумуляцией гадолиния и временем его удерживания в клетках может найти применение в гадолинийнейтронозахватной терапии [44].

В [45] сообщается о ковалентном присоединении фоточувствительных наночастиц TiO_2 к одноцепочечным олигонуклеотидам ДНК, выполняющим функцию расщепления внутриклеточной геномной ДНК в специфической последовательности, таким образом «выключая» экспрессию определенных генов. Эти фотоиндуцируемые наноконъюгаты могут детектироваться методом магнитнорезонансного получения изображений после введения в их состав контрастирующих агентов, содержащих гадолиний.

Авторами [45] описывается два подхода к мечению наночастиц TiO_2 и наноконъюгатов TiO_2 -ДНК оптическими флуоресцентными агентами, позволяющих непосредственно подсчитывать поглощение флуоресцентно меченых наночастиц TiO_2 в большой популяции живых клеток ($> 10^4$ клеток). Метод рентгеновской флуоресцентной микроскопии в сочетании с флуоресцентной микроскопией использовали для определения сравнительной внутриклеточной стабильности наноконъюгатов и для подсчета внутриклеточных наночастиц.

Получение изображения лимфатических узлов обычно производится перед хирургической операцией рака груди и меланомы. Магнитнорезонансная лимфангиография позволяет улучшить пространственное разрешение без применения ионизирующего излучения. Авторы [46] выясняли размер наночастиц контрастирующих препаратов, содержащих гадолиний, а также состав подходящих дендримеров для наиболее быстрой доставки и в большом количестве, в лимфатические узлы на модели мышей с лимфатическими метастазами. Среди различных дендримеров, содержащих гадолиний, дендример РАМAM-G6 после инъекции во внутриклеточное пространство лимфатических узлов обеспечивал не только получение изображения, но и потенциальную возможность их направленного лечения. На основании снимков лимфатических узлов *ex vivo* в них накапливались высокие концентрации ионов Gd^{3+} (1,7–4,4 мМ/270–680 м.д.) при высоком соотношении содержания Gd в мишени к фону (>100). Такие концентрации достаточны для того, чтобы использовать гадолинийнейтронозахватный метод для терапии региональных лимфатических узлов.

Для концентрирования лекарственных препаратов и контрастирующих агентов в определенных органах, тканях и клетках были приготовлены полупроводниковые нано-

частицы ДНК–TiO₂, модифицированные Gd(III). Такие частицы обнаруживаются в клетках методом магнитнорезонансного получения изображений. Эти меченые частицы удерживаются в определенных внутриклеточных мишенях посредством гибридизации ДНК [47]. Таким образом, реализуется взаимодействие наночастиц или нанокомпозитов с определенными последовательностями ДНК, и такая система детектируется методом MRI.

Аккумуляцию гадолиния (в виде соединения с диэтилентриаминпентауксусной кислотой – Gd-DTPA), содержащегося в наночастицах хитозана, для гадолинийнейтронозахватной терапии рака изучали *in vitro* с применением культивируемых клеток. Данные просвечивающей электронной микроскопии свидетельствовали о поглощении (посредством эндоцитоза) наночастиц хитозана, сильно удерживающих Gd-DTPA. По-видимому, клетки имеют высокое сродство к наночастицам хитозана, чем объясняется накопление и удерживание этих частиц в опухолевых клетках [48].

Накопление гадолиния в клетках, обработанных наночастицами хитозана, содержащими соединение гадолиния с диэтилентриаминпентауксусной кислотой, было больше, чем в клетках, обработанных Gd-DTPA. Целью дальнейших исследований может быть определение терапевтических возможностей гадолинийнейтронозахватной терапии [49].

Для успешного проведения гадолинийнейтронозахватной терапии требуется доставка и удерживание достаточного количества гадолиния в опухолевых тканях в течение времени нейтронного облучения. Авторы [50] предложили способ приготовления системы доставки гадолиния: комплексообразование Gd-DTPA с поликатионным пептидом – поли-L-лизином (pLL) и инкапсулирование полученных молекул в покрытых полиэтиленгликолем липосомах. Комплексообразование Gd-DTPA с pLL не только повышает эффективность инкапсулирования Gd-DTPA в липосомы, но и значительно ограничивает выход Gd-DTPA из липосом. Такие липосомы, содержащие Gd-DTPA, могут использоваться для доставки гадолиния в обширные опухоли для нейтронозахватной терапии и получения изображения опухоли.

Фуллерены

С целью синтеза фуллерена для нейтронозахватной терапии к раствору C₆₀ (15 мг, 0,022 ммоль) в 25 мл свежедистиллированного (от LiAlH₄) тетрагидрофурана (THF) добавляли каплями при перемешивании раствор 1-Li-2-CH₃-C₂B₁₀H₁₀ в THF, приготовленный реакцией 17,4 мг CH₃C₂B₁₀H₁₁ с эквивалентным количеством *n*-бутиллития (1,6 М в гексане, Aldrich) в 10 мл THF. Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 ч, затем избыток солей лития промывали водой, а органическую фазу отделяли и высушивали (MgSO₄). Методом масс-спектрометрии показано присутствие смеси C₆₀, меченых единицами карборана, о чем свидетельствует *m/e* 720 (C₆₀), 877 (C₆₀C₂B₁₀H₃), 1034 [C₆₀(C₂B₁₀H₁₀CH₃)₂]. Эти материалы могут использоваться в противоопухолевой терапии методом нейтронного облучения [51].

Интерес представляет содержащий гадолиний эндоэдральный металлофуллеренол (например, Gd@C₈₂(OH)₂₂) – фуллерен, функционализированный гадолинием). Химические и физические свойства содержащих гадолиний эндоэдральных металлофуллеренолов зависят от количества и расположения гидроксильных групп на фуллереновом каркасе. При модифицировании внешнего каркаса Gd@C₈₂ большим количеством гидроксильных групп изменяются электронные свойства внутреннего атома металла, так же как и электронная плотность и поляризуемость электронов на поверхности каркаса [52–55].

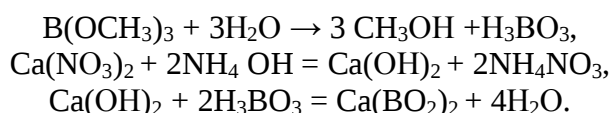
Хотя $Gd@C_{82}(OH)_{22}$ первоначально был разработан в качестве нового высокоэффективного контрастирующего агента для MRI [56], на моделях животных было показано, что агрегаты наночастиц $Gd@C_{82}(OH)_{22}$ ингибируют рост опухоли [57].

Как фуллерены, так и углеродные нанотрубки могут накапливаться внутри органов различных животных моделей в цитотоксичных количествах, хотя молекулярные и клеточные механизмы цитотоксичности этого класса наноматериалов еще полностью не выяснены. Для того чтобы выяснить эти механизмы, изучалась полная экспрессия генома клеточных популяций фибробластов кожи человека, подвергнутых воздействию многостеночных углеродных нанолуковиц и нанотрубок. Показано, что при воздействии цитотоксичных доз этих наноматериалов происходит остановка клеточного цикла и повышается вероятность апоптоза или некроза. Многостеночные углеродные нанотрубки и нанолуковицы активируют гены, вовлеченные в клеточный транспорт, метаболизм, регуляцию клеточного цикла, ответ на стресс. Многостеночные углеродные нанотрубки индуцируют гены, ответственные за сильный иммунный и воспалительный ответ фибробластов кожи, в то время как многостеночные углеродные нанолуковицы изменяют экспрессию генов, вовлеченных в ответ на внешние воздействия [58].

Синтез борсодержащих магнитных жидкостей

В Институте химии поверхности им. А.А.Чуйко НАН Украины разработаны биосовместимые полифункциональные магниточувствительные нанокомпозиты путем иммобилизации борсодержащих соединений на поверхности наноразмерного магнетита. Исследования направлены на создание магнитоуправляемых препаратов нейтронозахватного действия для применения в области онкомедицины и синовектомии в форме магнитной жидкости.

Поверхность наночастиц магнетита, стабилизированных олеатом натрия, модифицировали метабора́том кальция, который является одним из нейтронозахватных агентов, используемых в радиомедицине. Синтез метабора́та кальция проводили с использованием триметоксибора в качестве исходного соединения при $pH > 7$ в соответствии с реакцией:



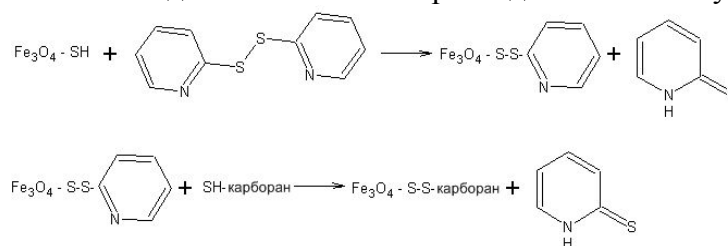
Изучены магнитные свойства полученных образцов. Количественный анализ синтезированных коллоидных систем проводили методом масс-спектрометрии (прибор ELEMENT-2; $B^{11} - 139 \cdot 10^{-6}$ ppb, $Fe^{56} - 19 \cdot 10^3$ ppb).

Кривые намагничивания и петли гистерезиса изучены с помощью вибрационного магнитометра на частоте 228 Гц при комнатной температуре. Магнитные исследования показали, что синтезированные коллоидные жидкости характеризуются коэрцитивной силой $H_c \approx 9$ Э и намагниченностью насыщения $\sigma_s \approx 5$ Г·см³/г.

Синтез карборансодержащих нанокомпозитов по реакции тиол-дисульфидного обмена

Идея другого перспективного направления создания нанокомпозитов для нейтронозахватной терапии, разрабатываемого в ИХП им. А.А. Чуйко НАН Украины, состоит в иммобилизации борсодержащих соединений (например карборанов) на поверхности магниточувствительных нанокомпозитов, модифицированных биосовместимым агентом с необходимыми функциональными группами. Использование мезо-2,3-димеркаптосукциновой кислоты (DMSA) для капсулирования магниточувствительных частиц решает проблему стабильности коллоидной системы в водной среде, биосовместимости материала и позволяет иммобилизацию необходимых соединений через тиольные и карбоксильные функциональные группы поверхности.

Биоактивность DMSA характеризуется способностью к образованию ионных связей функциональных групп покрытия с ионами тяжелых металлов и выведением токсичных ионов из организма. Результаты исследований свидетельствуют о способности тиольных групп к образованию связи с остатками цистеина в молекулах белков крови и облегченном выведении DMSA из организма. Тиольные группы DMSA позволяют формирование дисульфидных мостиков между адсорбированными молекулами и образование прочной полимерной нанокапсулы. Покрытие, образованное с помощью DMSA содержит как тиольные, так и карбоксильные группы, и оба типа групп могут быть использованы для ковалентного присоединения молекул карборана.



Иммобилизация на поверхности DMSA-покрытия карборанов, в состав которых входят свободные тиольные группы осуществлялась по реакции тиол-дисульфидного обмена с дипиридилдисульфидом. Пиридилдисульфиды вступают в реакцию со свободными сульфогидрильными группами по реакции дисульфидного обмена в широком спектре pH с образованием дисульфидной связи.

Заключение

Исследования с целью разработки нетоксичных медпрепаратов для онкотерапии, обладающих высокой селективностью доставки в опухоли, остаются актуальными. В связи с этим на передний план выходит задача целенаправленного химического конструирования нанокомпозитных препаратов нового поколения с оптимизированными функциональными структурными элементами, отвечающими за необходимые уровни захвата нейтронов, селективной доставки и накопления в клетках опухоли.

Литература

1. Брегадзе В.И., Сиваев И.Б. Лекарство–снайпер, или химический прицел для нейтрона // Природа. – 2004. – № 4. – С. 1–12.
2. Gadolinium in human glioblastoma cells for gadolinium neutron capture therapy / G. De Stasio, P. Casalbore, R. Pallini, B. Gilbert, F. Sanità, M.T. Ciotti, G. Rosi, A. Festinesi, L.M. Larocca, A. Rinelli, D. Perret, D.W. Mogk, P. Perfetti, M.P. Mehta, D. Mercanti // Cancer Research. – 2001. – V. 61. – P. 4272–4277.
3. Detta A., Cruickshank G.S. L-Amino Acid transporter–1 and boronophenylalanine–based boron neutron capture therapy of human brain tumors // Cancer Res. – 2009. – V. 69, N 5. – P. 2126–2132.
4. Development of Multifunctional Nanoparticles for Targeted Drug Delivery and Noninvasive Imaging of Therapeutic Effect / H.K. Sajja, M.P. East, H. Mao, Y.A. Wang, S. Nie, L. Yang // Current Drug Disc. Technolog. – 2009. – V. 6. – P. 43 – 51.
5. Duncan R. Designing polymer conjugates as lysosomotropic nanomedicines // Biochem. Soc. Trans. – 2007. – V. 35. – P. 56 – 60.
6. Pietrangeli D., Ricciardi G. Neutral and polyanionic carboranylporphyrazines: Synthesis and physico–chemical properties // Appl. Radiat. and Isotop. – 2009. – V. 67, N. 7–8. – P. 97 – 100.
7. Synthesis of α -carboranyl- α -acyloxy-amides as potential BNCT agents / S.C. Jonnalagadda, J.S. Cruz, R.J. Connell, P.M. Scott, V.R. Mereddy // Tetrahedron Lett. – 2009. – V. 50, N. 30. – P. 4314 – 4317.

8. New types of potential BNCT agents, *o*-carboranyl aminoalcohols / C.-H. Lee, G.F. Jin, J.G. Joung, J.-D. Lee, H.S. Ban, H. Nakamura, J.-K. Cho, S.O. Kang // *Tetrahedron Lett.* – 2009. – V. 50, N 24. – P. 2960–2963.
9. Synthesis of tetrasubstituted Zn(II)-phthalocyanines carrying four carboranyl-units as potential BNCT and PDT agents / F. Giuntini, Y. Raoul, D. Dei, M. Municchi, G. Chiti, C. Fabris, P. Colautti, G. Jori, G. Roncucci // *Tetrahedron Lett.* – 2005. – V. 46, N 17. – P. 2979–2982.
10. Synthesis of Functionalized Carboranes as Potential Anticancer and BNCT Agents / V.J. Reddy, M.M. Roforth, C. Tan, M.V. Reddy // *Inorg. Chem.* – 2007. – V. 46, N 2. – P. 381–383.
11. Thomas J., Hawthorne M.F. Dodeca(carboranyl)-substituted клазомеры: toward unimolecular nanoparticles as delivery vehicles for BNCT // *Chem. Commun.* – 2001. – V. 18. – P. 1884–1885.
12. Клазомеры of High Boron Content: Synthesis, Characterization, and Potential Application as Unimolecular Nanoparticle Delivery Vehicles for Boron Neutron Capture Therapy / L. Ma, J. Hamdi, F. Wong, M.F. Hawthorne // *Inorg. Chem.* – 2006. – V. 45, N 1. – P. 278–285.
13. Toward the Synthesis of High Boron Content Polyanionic Multicluster Macromolecules / P. Farràs, A.M. Cioran, V. Sîlcha, F. Teixidor, B. Strib, B. Gruner, C. Viñas // *Inorg. Chem.* – 2009. – V. 48, N 17. – P. 8210–8219.
14. Thymidine kinase 1 as a molecular target for boron neutron capture therapy of brain tumors / R.F. Bartha, W. Yanga, G. Wua, M. Swindalla, Y. Byunb, S. Narayanasamyb, W. Tjarksb, K. Tordoffc, M.L. Moeschbergerc, S. Erikssond, P.J. Binnse, K.J. Rileye // *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A* – 2008. – V. 105, N 45. – P. 17493–17497.
15. Hyaluronan as carrier of carboranes for tumor targeting in boron neutron capture therapy / C.D. Meo, L. Panza, D. Capitani, L. Mannina, A. Banzato, M. Rondina, D. Renier, A. Rosato, V. Crescenzi // *Biomacromolec.* – 2007. – V. 8, N 2. – P. 552–559.
16. Bianco A., Kostarelos K., Prato M. Applications of carbon nanotubes in drug delivery // *Curr. Opinion in Chem. Biol.* – 2005. – V. 9, N 6. – P. 674–679.
17. Nanomedicine: An Emerging Modality Based on Nanotechnology for Therapy and Diagnosis / S. Gurusamy, J.H. Park, K. Kim, I.C. Kwon // *J. Korean Ind. Eng. Chem.* – 2007. – V. 18, N 3. – P. 199–204.
18. Physisorbed *o*-carborane onto lyso-phosphatidylcholine-functionalized, single-walled carbon nanotubes: a potential carrier system for the therapeutic delivery of boron / S.N. Yannopoulos, G.D. Zouganelis, S. Nurmohamed, J.R. Smith, N. Bouropoulos, G. Calabrese, D.G. Fatouros, J. Tsibouklis // *Nanotechnology.* – 2010. – V. 21, N 8. – P. 1–9.
19. Substituted carborane-appended water-soluble single-wall carbon nanotubes: new approach to boron neutron capture therapy drug delivery / Z. Yinghuai, A.T. Peng, K. Carpenter, J.A. Maguire, N.S. Hosmane, M. Takagaki // *J. Am. Chem. Soc.* – 2005. – V. 127, N 27. – P. 9875–9880.
20. Carborane derivatives loaded into liposomes as efficient delivery systems for boron neutron capture therapy / S. Altieri, M. Balzi, S. Bortolussi, P. Bruschi, L. Ciani, A.M. Clerici, P. Faraoni, C. Ferrari, M.A. Gadan, L. Panza, D. Pietrangeli, G. Ricciardi, S. Ristori // *J. Med. Chem.* – 2009. – V. 52, N 23. – P. 7829–7835.
21. Receptor-Targeted Liposomal Delivery of Boron-Containing Cholesterol Mimics for Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) / B.T.S. Thirumagal, X.B. Zhao, A.K. Bandyopadhyaya, S. Narayanasamy, J. Johnsamuel, R. Tiwari, D.W. Golightly, V. Patel, B.T. Jehning, M.V. Backer, R.F. Barth, R.J. Lee, J.M. Backer, W. Tjarks // *Bioconjugate Chem.* – 2006. – V. 17, N 5. – P. 1141–1150.
22. Transferrin-Loaded нидо-Carborane Liposomes: Tumor-Targeting Boron Delivery System for Neutron Capture Therapy / Y. Miyajima, H. Nakamura, Y. Kuwata, J.-D. Lee,

- S. Masunaga, K. Ono, K. Maruyama // *Bioconjugate Chem.* – 2006. – V. 17, N 5. – P. 1314–1320.
23. Synthesis, Liposomal Preparation, and *in Vitro* Toxicity of Two Novel Dodecaborate Cluster Lipids for Boron Neutron Capture Therapy / E. Justus, D. Awad, M. Hohnholt, T. Schaffran, K. Edwards, G. Karlsson, L. Damian, D. Gabel // *Bioconjugate Chem.* – 2007. – V. 18, N 4. – P. 1287–1293.
 24. Synthesis of Boron Cluster Lipids: κ1030 -Dodecaborate as an Alternative Hydrophilic Function of Boronated Liposomes for Neutron Capture Therapy / J.-D. Lee, M. Ueno, Y. Miyajima, H. Nakamura // *Organ. Lett.* – 2007. – V. 9, N 2. – P. 323–326.
 25. Pyridinium Lipids with the Dodecaborate Cluster as Polar Headgroup: Synthesis, Characterization of the Physical–Chemical Behavior, and Toxicity in Cell Culture / T. Schaffran, A. Burghardt, S. Barnert, R. Peschka-Süss, R. Schubert, M. Winterhalter, D. Gabel // *Bioconjugate Chem.* – 2009. – V. 20, N 11. – P. 2190–2198.
 26. Synthesis of dodecaborate-conjugated cholesterol for efficient boron delivery in neutron capture therapy / H. Nakamura, M. Ueno, J.-D. Lee, H.S. Ban, E. Justus, P. Fan, D. Gabel // *Tetrahedron Lett.* – 2007. – V. 48, I. 18. – P. 3151–3154.
 27. Delivery of sodium borocaptate to glioma cells using immunoliposome conjugated with anti-EGFR antibodies by ZZ-His B. Feng, K. Tomizawa, H. Michiue, S. Miyatake, X.-J. Han, A. Fujimura, M. Seno, M. Kirihata, H. Matsui // *Biomaterials.* – 2009. – V. 30, I. 9. – P. 1746 – 1755.
 28. Disposition of TF-PEG-Liposome-BSH in tumor-bearing mice / Y. Ito, Y. Kimura, T. Shimahara, Y. Ariyoshi, M. Shimahara, S. Miyatake, S. Kawabata, S. Kasaoka and K. Ono // *Appl. Radiat. and Isotop.* – 2009. – V. 67, I. 7–8, S. 1. – P. 109–110.
 29. Bryant L.H., Bulte J.W.M. Dendrimers. Chemical principles and biotechnology applications // *Focus on Biotechnol. Phys. and Chem. Basis of Biotechnol.* – 2006. – V. 7. – P. 47–69.
 30. Synthesis and biological evaluation of folate receptor-targeted boronated PAMAM dendrimers as potential agents for neutron capture therapy / S. Shukla, G. Wu, M. Chatterjee, W. Yang, M. Sekido, L.A. Diop, R. Muller, J.J. Sudimack, R.J. Lee, R.F. Barth, W. Tjarks // *Bioconjugate Chem.* – 2003. – V. 14, N 1. – P. 158–167.
 31. Molecular targeting and treatment of composite EGFR and EGFRvIII positive gliomas using boronated monoclonal antibodies / W. Yang, G. Wu, R.F. Barth, M.R. Swindall, A.K. Bandyopadhyaya, W. Tjarks, K. Tordoff, M. Moeschberger, T.J. Sferra, P.J. Binns, K.J. Riley, M.J. Ciesielski, R.A. Fenstermaker, C.J. Wikstrand // *Clin Cancer Res.* – 2008. – V. 14, N 3. – P. 883–891.
 32. Site-specific conjugation of boron-containing dendrimers to anti-EGF receptor monoclonal antibody cetuximab (IMCC225) and its evaluation as a potential delivery agent for neutron capture therapy / G. Wu, R.F. Barth, W. Yang, M. Chatterjee, W. Tjarks, M.J. Ciesielski, R.A. Fenstermaker // *Bioconjugate Chem.* – 2004. – V. 15. – P. 185–194.
 33. Determination of boron in tissues and cells using direct-current plasma atomic emission spectroscopy / R.F. Barth, D.M. Adams, A.H. Soloway, E.B. Mechetner // *Anal Chem.* – 1991. – V. 63. – P. 890–893.
 34. Vascular endothelial growth factor selectively targets boronated dendrimers to tumor vasculature / M.V. Backer, T.I. Gaynutdinov, V. Patel, A.K. Bandyopadhyaya, B.T.S. Thirumamagal, W. Tjarks, R.F. Barth, K. Claffey, J.M. Backer // *Mol. Cancer Ther.* – 2005. – V. 4, N 9. – P. 1423–1429.
 35. Nanotubes for cancer therapy and diagnostics / D.A. Buzatu, J.G. Wilkes, D. Miller, J.A. Darsey, T. Heinze, A. Biris, R. Berger, M. Diggs // *US Pat. Application N:20060067939.*
 36. BN nanotubes coated with uniformly distributed Fe_3O_4 nanoparticles: novel magneto-operable nanocomposites / H. Yang, L. Jing, Y. Bando, T. Chengchun, Z. Chunyi, S.

- Youguo, E. Takayama–Muromachi, D. Golberg // *J. Mater. Chem.* – 2010. – V. 20, N 5. – P. 1007–1011.
37. Folate Functionalized Boron Nitride Nanotubes and their Selective Uptake by Glioblastoma Multiforme Cells: Implications for their Use as Boron Carriers in Clinical Boron Neutron Capture Therapy / G. Ciofani, V. Raffa, A. Mencias, A. Cuschieri // *Nanoscale res. lett.* – 2009. – V. 4, N 2. – P. 113–121.
 38. Incorporation of Cesium Borocaptate onto Silicon Nanowires as a Delivery Vehicle for Boron Neutron Capture Therapy / K. Jiang, J.L. Coffey, J.G. Gillen, T.M. Brewer // *Chem. Mater.* – 2010. – V. 22, N 2. – P. 279–281.
 39. Incorporation and characterization of boron neutron capture therapy agents into mesoporous silicon and silicon nanowires / K. Jiang, A. Loni, L.T. Canham, J.L. Coffey // *Phys. status solidi (a)*. – V. 206, I. 6. – P. 1361–1364.
 40. Multifunctional gadolinium oxide nanoparticles: towards image-guided therapy / S. Roux, A.-C. Faure, C. Mandon, S. Dufort, C. Rivière, J.-L. Bridot, B. Mutelet, C.A. Marquette, V. Jossierand, G. Le Duc, A. Le Pape, C. Billotey, M. Janier, J.-L. Coll, P. Perriat, O. Tillement // *Imaging in Medicine*. – 2010. – V. 2, N 2. – P. 211–223.
 41. Hybrid gadolinium oxide nanoparticles combining imaging and therapy / J.L. Bridot, D. Dayde, C. Riviere, C. Mandon, C. Billotey, S. Lerondel, R. Sabattier, G. Cartron, A. Le Pape, G. Blondiaux, M. Janier, P. Perriat, S. Roux, O. Tillement // *J. Mater. Chem.* – 2009. – V. 19. – P. 2328–2335.
 42. A thermo-sensitive polymeric gel containing a gadolinium (Gd) compound encapsulated into liposomes significantly extended the retention of the Gd in tumors / U. Minh Le, D.S. Shaker, B.R. Sloat, Z. Cui // *Drug Develop. and Ind. Pharmacy*. – 2008. – V. 34, N 4. – P. 413–418.
 43. Le U.M., Cui Z. Biodistribution and tumor-accumulation of gadolinium (Gd) encapsulated in long-circulating liposomes in tumor-bearing mice for potential neutron capture therapy // *Intern. J. Pharmaceutics*. – 2006. – V. 320, N 1–2. – P. 96–103.
 44. Gadolinium conjugated TiO₂-DNA oligonucleotide nanoconjugates show prolonged intracellular retention period and T₁-weighted contrast enhancement in Magnetic Resonance images / T. Paunesku, T. Ke, R. Dharmakumar, N. Mascheri, A. Wu, B. Lai, S. Vogt, J. Maser, K. Thurn, B. Szolc-Kowalska, A. Larson, R.C. Bergan, R. Omary, D. Li, Z.-R. Lu, G.E. Woloschak // *Nanomedicine*. – 2008. – V. 4, N 3. – P. 201–207.
 45. Labeling TiO₂ nanoparticles with dyes for optical fluorescence microscopy and determination of TiO₂-DNA nanoconjugate stability / K.T. Thurn, T. Paunesku, A. Wu, E.M. Brown, B. Lai, S. Vogt, J. Maser, M. Aslam, V. Dravid, R. Bergan, G.E. Woloschak // *Small*. – 2009. – V. 5, N 11. – P. 1318–1325.
 46. Delivery of gadolinium-labeled nanoparticles to the sentinel lymph node : Comparison of the sentinel node visualization and estimations of intra-nodal gadolinium concentration by the magnetic resonance imaging / H. Kobayashi, S. Kawamoto, M. Bemardo, M.W. Brechbiel, M.V. Knopp, P.L. Choyke // *J. control. release*. – 2006. – V. 111, N 3. – P. 343–351.
 47. DNA-TiO₂ Nanoconjugates Labeled with Magnetic Resonance Contrast Agents / P.J. Endres, T. Paunesku, S. Vogt, T.J. Meade, G.E. Woloschak // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2007. – V. 129, N 51. – P. 15760–15761.
 48. *In vitro* cellular accumulation of gadolinium incorporated into chitosan nanoparticles designed for neutron-capture therapy of cancer / F. Shikata, H. Tokumitsu, H. Ichikawa, Y. Fukumori // *Europ. J. Pharmac. and Biopharmac.* – 2002. – V. 53, N 1. – P. 57–63.
 49. Accumulation of MRI contrast agents in malignant fibrous histiocytoma for gadolinium neutron capture therapy / T. Fujimoto, H. Ichikawa, T. Akisue, I. Fujita, K. Kishimoto, H. Hara, M. Imabori, H. Kawamitsu, P. Sharma, S.C. Brown, B.M. Moudgil, M. Fujii, T.

- Yamamoto, M. Kurosaka, Y. Fukumori // Appl. Radiat. and isotopes. – 2009. – V. 67, N 7–8. – P. S355–358.
50. Le U.M., Cui Z. Long-circulating gadolinium-encapsulated liposomes for potential application in tumor neutron capture therapy // Intern. J. Pharmaceutics – 2006. – V. 312, N 1–2. – P. 105–112.
 51. Use of fullerenes in diagnostic and/or therapeutic agents/Watson A. D., Klaveness J., Jamieson G.C., Fellmann J.D., Vogt N.B. // US Pat. Application N:08/284606. – 1994–1997.
 52. Modulation of structural and electronic properties of fullerene and metallofullerenes by surface chemical modifications / J. Tang, G. Xing, F. Zhao, H. Yuan, Y. Zhao // J. Nanosci. Nanotechnol. – 2007. – V. 7. – P. 1085–1101.
 53. Periodical variation of electronic properties in polyhydroxylated metallofullerene materials / J. Tang, G. Xing, Y. Zhao, L. Jing, X. Gao, Y. Cheng, H. Yuan, F. Zhao, Z. Chen, H. Meng, H. Zhang, H. Qian, R. Su, K. Ibrahim // Adv. Mater. – 2006. – V. 18. – P. 1458–1462.
 54. Antioxidative function and biodistribution of [Gd@C82(OH)22]n nanoparticles in tumor-bearing mice / C. Chen, G. Xing, J. Wang, Y. Zhao, B. Li, J. Tang, G. Jia, T. Wang, J. Sun, L. Xing, H. Yuan, Y. Gao, H. Meng, Z. Chen, F. Zhao, Z. Chai, X. Fang // Nano. Lett. – 2005. – V. 5. – P. 2050–2057.
 55. Biopharmaceutics and Therapeutic Potential of Engineered Nanomaterials / X.-J. Liang, C. Chen, Y. Zhao, L. Jia, P.C. Wang // Curr. Drug. Metab. – 2008. – V. 9, N 8. – P. 697–709.
 56. Active oxygen species generated from photoexcited fullerene (C60) as potential medicines: O2-* versus 1O2 / Y. Yamakoshi, N. Umezawa, A. Ryu, K. Arakane, N. Miyata, Y. Goda, T. Masumizu, T. Nagano // J. Am. Chem. Soc. – 2003. – V. 125. – P. 12803–12809.
 57. One-dimensional metallofullerene crystal generated inside single-walled carbon nanotubes / J. Wang, C. Chen, B. Li, H. Yu, Y. Zhao, J. Sun, Y. Li, G. Xing, H. Yuan, J. Tang, Z. Chen, H. Meng, Y. Gao, C. Ye, Z. Chai, C. Zhu, B. Ma, X. Fang, L. Wan // Biochem. Pharmacol. – 2006. – V. 71. – P. 872–881.
 58. Molecular Characterization of the Cytotoxic Mechanism of Multiwall Carbon Nanotubes and Nano-Onions on Human Skin Fibroblast / L. Ding, J. Stilwell, T. Zhang, O. Elboudwarej, H. Jiang, J.P. Selegue, P.A. Cooke, J.W. Gray, F.F. Chen // Nano Lett. – 2005. – V. 5, N 12. – P. 2448–2464.

НАНОКОМПОЗИТИ У НЕЙТРОНОЗАХВАТНІЙ ТЕРАПІЇ

С.П. Туранська, М.П. Турелик, А.Л. Петрановська, В.В. Туров, П.П. Горбик

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України,
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна*

*Проаналізовано сучасний стан актуального науково-практичного напрямку в галузі
розробки методу нейтронозахватної терапії.*

NANOCOMPOSITES IN NEUTRON CAPTURE THERAPY

S.P. Turanska, M.P. Turelyk, A.L. Petranovska, V.V. Turov, P.P. Gorbyk

*Chuiko Institute of Surface Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine,
17 General Naumov Str. Kyiv, 03164, Ukraine*

*The state of art of the scientific-practical field of current interest concerning the development of
neutron capture therapy method has been analyzed.*