

УДК 615.015.14  
©Коллектив авторов

## РОЛЬ МЕКСИДОЛА (2-ЭТИЛ-6-МЕТИЛ-3-ГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА) В ПОЛУЧЕНИИ СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

*Е.М. Важничая<sup>1\*</sup>, Е.В. Мокляк<sup>1</sup>, Ю.А. Курапов<sup>2</sup>, А.А. Забозлаев<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Украинская медицинская стоматологическая академия,  
36011 Украина, Полтава, ул. Шевченко, 23; тел.: +38(0532)56-20-59;  
факс: +38(0532)60-20-51; эл. почта: vazhnychaya@ukr.net

<sup>2</sup>Институт электросварки имени Е.О. Патона, 03680 Украина, Киев, ул. Боженко, 11

<sup>3</sup>ООО Научно-производственная компания "Фармасофт",  
115280, Россия, Москва, ул. Автозаводская, 22

Наночастицы (НЧ) магнетита изучаются как препараты для магнитно-резонансного контрастирования, гипертермии злокачественных опухолей, адресной доставки лекарств и противоанемического действия. Одной из главных проблем таких НЧ является их агрегация, что требует создания способов стабилизации НЧ магнетита при получении на их основе жидких лекарственных форм. Представленная работа посвящена возможности применения мексидола (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината) для солюбилизации НЧ магнетита в гидрофильной среде и последующей их стабилизации. Конденсат, полученный методом электронно-лучевого испарения и конденсации, с частицами магнетита размерами 5-8 нм, осаждёнными в кристаллы хлорида натрия, использовали совместно с субстанцией мексидола (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината) и низкомолекулярным поливинилпирролидоном (ПВП). Конденсат НЧ магнетита диспергировали в дистиллированной воде, растворе мексидола или ПВП. Распределение НЧ по размерам в жидкой фазе систем определяли методом фотон-корреляционной спектроскопии, концентрацию железа (Fe) - с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии. В дисперсии, приготовленной на дистиллированной воде, основное количество НЧ имеет размеры 13-120 нм, с раствором мексидола - 270-1700 нм, в системе с раствором ПВП - 30-900 нм. В жидкости, содержащей НЧ магнетита вместе с мексидолом и ПВП, частицы основной фракции (99,9%) характеризуются размерами 14-75 нм с максимумом 25 нм. Концентрация Fe в данной системе наибольшая: она близка к таковой в образце с раствором мексидола и в 6,6-7,3 раза превышает концентрацию в образцах с дистиллированной водой или ПВП. Таким образом, в ходе приготовления водных дисперсных систем на основе конденсата НЧ магнетита мексидол обеспечивает переход Fe в жидкую фазу в количестве, необходимом для реализации его биологической активности, а ПВП стабилизирует модифицированные им НЧ.

**Ключевые слова:** наночастицы, магнетит, мексидол, поливинилпирролидон.

**DOI:** 10.18097/PBMC20156103384

### ВВЕДЕНИЕ

Свойства наночастиц (НЧ) оксидов железа, и, прежде всего, магнетита, определяют перспективы их применения для контрастирования при магнитно-резонансной томографии, а также для лечения злокачественных новообразований и фармакологической коррекции анемических состояний [1]. Применение супермагнитных НЧ возможно только при условии придания

им необходимой лекарственной формы. В этом плане особый интерес представляют стабилизированные (покрытые) НЧ, которые характеризуются сочетанием различных свойств в одной частице [2] и пригодны для парентерального введения [3]. Используют мономерные (фосфаты, кремнезем, золото, гадолиний) и полимерные покрытия (декстрин, полиэтиленгликоль, поливиниловый спирт) [4]. НЧ оксида железа, например, могут быть покрыты органическими неполимерными соединениями (бетаном) [5]

\* - адресат для переписки

или инкапсулированы в мембраны эритроцитов [6]. Агенты, образующие ракушку, обуславливают не только гидродинамический размер (ГДР) и физико-химические свойства НЧ, но и определяют взаимодействие с клетками-мишенями, поглощение макрофагами, токсичность [7, 8]. Исходя из этого, покрытие подбирают согласно конкретному предназначению НЧ. При всем многообразии возможных вариантов покрытия НЧ оксидов железа производные 3-гидроксипиридина (3-ГП) или их сочетания с полимерами ранее с такой целью не использовались.

Чаще всего магнитные НЧ получают путём химической копреципитации из раствора, содержащего  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  в щелочной среде [9], но с точки зрения практического использования представляет интерес физический метод получения магнитных НЧ путём распыления испаренного металла. Он позволяет при термическом или лазерном испарении получать граммовые количества порошков, состоящих из НЧ, и дает возможность диспергировать металлы, сплавы, оксиды [10]. Вопрос о солубилизации конденсатов НЧ оксида железа при такой технологии и стабилизации полученных жидких дисперсных систем остаётся практически не изученным.

Цель работы – изучить возможность применения мексидола (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината) для солубилизации конденсата НЧ магнетита в гидрофильной среде и последующей их стабилизации.

## МЕТОДИКА

В данном исследовании использован конденсат НЧ оксида железа, полученный в Институте электросварки им. Е.О. Патона НАН Украины (Киев, Украина) [11]. Конденсат НЧ получали смешением молекулярных потоков железа и натрия хлорида (NaCl) в вакуумной установке методом электронно-лучевого испарения и осаждения паровой фазы. Температура конденсации составляла +25-45°C.

Структуру и состав порошка исходного конденсата исследовали с помощью растрового сканирующего электронного микроскопа Cam Scan 4D ("CamScan Electron Optics Ltd", Великобритания) в режиме вторичной эмиссии упруго-отражённых электронов [12]. Полученный конденсат подвергали рентгенофазовому анализу на дифрактометре ДРОН-4-07 (ОАО НПП "Буревестник", Россия) с последующей идентификацией в базе данных PDF-2 [13]. Это позволило определить исходные параметры конденсата и охарактеризовать его как НЧ оксида железа (II, III) (магнетита) размерами 5-8 нм, осаждённые в кристаллы NaCl с элементным составом в % по массе: железо (Fe) – 26,9%; натрий – 22,5%; хлор – 34,4%; кислород – 16,2%.

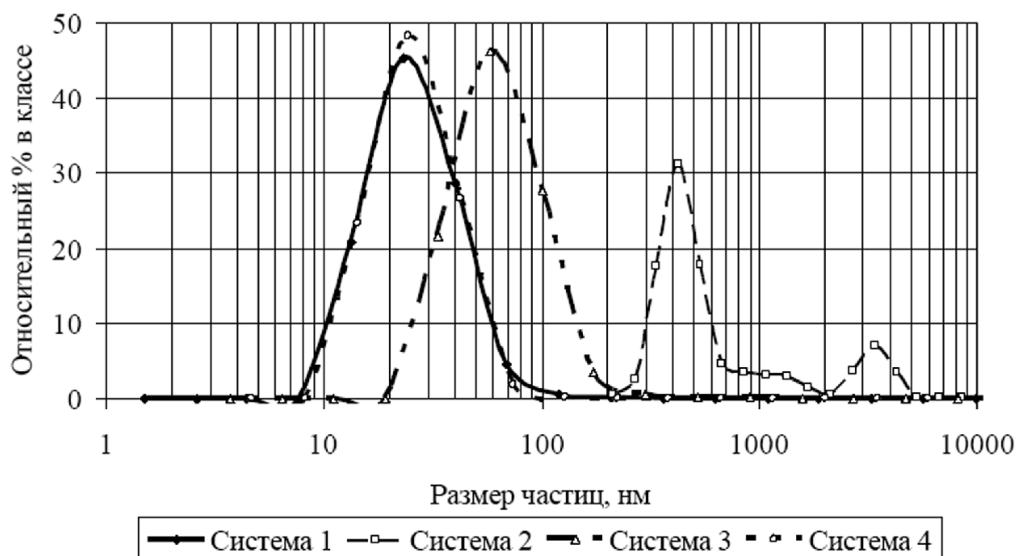
Конденсат НЧ использовали совместно с субстанцией мексидола, полученной от производителя (ООО "Бион", Россия). Она представляет собой белое кристаллическое вещество с эмпирической формулой

$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_5$  и молярной массой 255,26 г/моль, хорошо растворима в воде [14] и применяется в медицине как препарат "Мексидол®" и его генерики ("Мексикор", "Мексифин" и прочие), проявляя при этом антиоксидантный, антигипоксанта́нный, ангиолитический, ноотропный и другие полезные эффекты [15].

Также использовали низкомолекулярный поливинилпирролидон (ПВП) (ООО "АК Синтвита", Россия), который представляет собой вещество с молекулярной массой  $8000 \pm 2000$  а.е.м., желтоватого цвета со слабым специфическим запахом, легко растворимое в воде [16].

Для приготовления жидких дисперсных систем навески конденсата НЧ магнетита вносили в сухие стеклянные или пластиковые пробирки в количестве, необходимом для создания в конечной системе концентрации конденсата 0,1% (здесь и далее концентрация дана как соотношение масса/объём). Одну из навесок диспергировали в дистиллированной воде. В часть проб вносили точные навески субстанции мексидола, достаточные для получения 2% раствора этого вещества. Отдельно готовили 3% раствор ПВП на дистиллированной воде, в который дополнительно вводили 0,275% натрия хлорида, 0,021% калия хлорида, 0,025% кальция хлорида, 0,00025% магния хлорида, 0,0115% натрия бикарбоната. Прибавляли раствор ПВП к порошку НЧ оксида железа или его смеси с 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинатом. Все образцы тщательно перемешивали встряхиванием до максимально возможного уменьшения осадка и выдерживали при +60°C на протяжении 2 ч. Полученные жидкости постепенно охлаждали до комнатной температуры (+20°C) и в дальнейшем использовали их жидкую фазу (надосадочную жидкость после гравитационной седиментации). Таким путём были получены жидкости, содержащие 0,1% конденсата НЧ магнетита в дистиллированной воде (система 1) или такую же его концентрацию в 2% растворе мексидола (система 2), 3% растворе ПВП (система 3) и в среде с 2% мексидола и 3% ПВП (система 4).

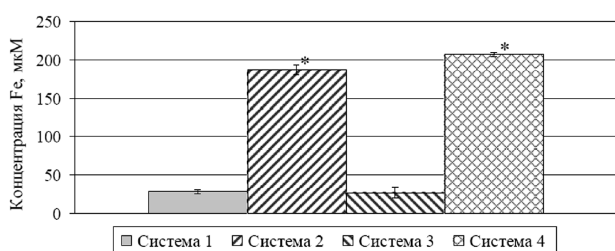
Распределение НЧ по размерам в указанных системах определяли методом фотон-корреляционной спектроскопии [17] на лазерном корреляционном спектрометре Zeta Sizer-3 ("Malvern", Великобритания). Спектрометр был оборудован коррелятором (Multi Computing Correlator Type 7032ce). Расчёт объёмного или количественного относительного процента распределения наночастиц по классам в зависимости от их ГДР проводили из экспериментально полученной автокорреляционной функции с помощью программы PCS Size Mode v.1.61 в режиме CONTIN. О стабильности дисперсных систем судили по соотношению кривых, полученных в результате трёх последовательных измерений в течение 10 мин. Концентрация Fe в дисперсных системах была определена с помощью метода атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой на приборе Optima 2100 DV ("Perkin Elmer", США) и приведена как среднее трёх измерений [18].



**Рисунок 1.** Количественное распределение наночастиц по размеру в дисперсных системах на основе конденсата наночастиц магнетита, мексидола и поливинилпирролидона. Здесь и на рисунке 2: система 1 - НЧ магнетита, диспергированные в дистиллированной воде; система 2 - НЧ магнетита, диспергированные в 2% растворе мексидола; система 3 - НЧ магнетита, диспергированные в 3% растворе ПВП; система 4 - НЧ магнетита, диспергированные в 2% растворе мексидола с 3% ПВП.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Образец состава “конденсат НЧ магнетита – дистиллированная вода” (система 1) имеет буроватый цвет и через 3-5 мин после встряхивания образует осадок темно-коричневого цвета. Он содержит фракцию частиц размерами 13-120 нм с максимумом 23 нм (рис. 1, кривая 1). Их количество 99,9%, а массовая часть равна 46%. Другая фракция – частицы с ГДР от 209 до 3270 нм и максимумом 209 нм. Количество таких частиц 0,1%, а массовая доля – 54%. Образец стабилен во времени по результатам трёх измерений. Концентрация железа составляет  $28,6 \pm 0,1$  мкМ Fe/л (рис. 2).



**Рисунок 2.** Содержание железа в дисперсных системах на основе конденсата наночастиц магнетита, мексидола и поливинилпирролидона. \* -  $p < 0,05$  по сравнению с дисперсной системой, содержащей наночастицы магнетита в дистиллированной воде.

Дисперсная система, которая содержит конденсат НЧ магнетита в 2% растворе мексидола (система 2), имеет вид прозрачной жидкости буроватого цвета, которая через 3-5 мин после встряхивания образует небольшое количество коричневого осадка. В этом образце обнаружено несколько фракций частиц

(см. рис. 1, кривая 2). Первый пик образуется за счёт частиц размерами 270-1700 нм с максимумом 1350 нм; их массовая доля составляет 3,4%. Второй пик формируется частицами размерами 2140-4270 нм с максимумом 3390 нм. Массовая доля частиц этой фракции 77,3%. Третий пик создается за счёт частиц размерами 5380-10740 нм с максимумом 8530 нм и массовой частью в жидкости 18,4%. Содержание железа в такой системе в 6,6 раза выше, чем в предыдущей ( $p < 0,001$ ) (рис. 2). Как видим, внесение мексидола ведёт к некоторому укрупнению НЧ магнетита в гидрофильной среде, изменяет профиль их распределения и способствует существенному увеличению концентрации железа в жидкой фазе, что позволяет предположить наличие взаимодействия между НЧ оксида железа и производным 3-гидроксипиридина.

Система состава “НЧ магнетита – 3% раствор ПВП” (система 3) прозрачная, почти неокрашенная, с небольшим количеством легкого тёмно-коричневого осадка при отстаивании. Она стабильна и характеризуется присутствием НЧ размерами 30-900 нм с максимумом 58 нм (см. рис. 1, кривая 3). Их количество в дисперсной системе 99,9%, а массовая часть – 0,1%. Концентрация железа не отличается от таковой в образце, содержащем НЧ магнетита в дистиллированной воде (рис. 2). Это свидетельствует о том, что данная жидкость достаточно однородна и все её частицы лежат в пределах нанодиапазона, что согласуется с литературными данными о применении ПВП для получения стабилизированных (покрытых) НЧ оксида железа [1, 2, 4]. Судя по концентрации Fe, ПВП стабилизирует НЧ магнетита в жидкой фазе, но не усиливает их переход из микрогранул конденсата в жидкость.

Приготовленная на основе конденсата жидкая дисперсная система “НЧ магнетита – мексидол – 3% ПВП” (система 4) прозрачная, гомогенная, имеет желтоватый цвет, при отстаивании в течение 3-5 мин образует следовые количества осадка, который легко мобилизуется при встряхивании.

По данным лазерной корреляционной спектроскопии, эта жидкость содержит два типа частиц. Малые НЧ – с ГДР 14-75 нм и максимумом 25 нм. Их общая масса составляет 5% от массы всех частиц, а количество преобладающее – 99,9% (см. рис. 1, кривая 4). Крупные частицы имеют средний диаметр 4,5 мкм; их общая масса равна 95% от массы всех частиц, а количество – менее 0,1%. Образец стабилен во времени.

Концентрация Fe в жидкости, содержащей НЧ магнетита с мексидолом и ПВП, в 7,3 раза ( $p < 0,001$ ) превышает содержание этого элемента в системе с конденсатом НЧ, диспергированным в дистиллированной воде (рис. 2). Эта концентрация являлась достаточной для протективного эффекта при постгеморрагической анемии у лабораторных животных, когда улучшение гематологических показателей наблюдалось при парентеральном введении жидкости, идентичной системе 4, в дозе, почти втрое меньшей, чем доза железа (III) гидроксида полиизомальтозата, известного как препарат “Феррум Лек<sup>®</sup>” (“ЛЕК”, Словения) [19], вычисленная, исходя из уровня гемоглобина, и равная 3,75 мг Fe/кг массы тела [20]. Хотя дозы препаратов железа всегда варьируют в зависимости от выраженности дефицита этого элемента в организме [21], данные экспериментов свидетельствуют о том, что жидкая дисперсная система на основе НЧ магнетита, мексидола и ПВП может иметь определенные преимущества перед известными лекарственными средствами за счёт уменьшенной нагрузки железом и наличия в составе мексидола с его антигипоксантами и антистрессорными свойствами [15].

Полученные результаты показывают, что одновременное применение мексидола и ПВП способствует формированию однородной жидкой дисперсной системы (коллоидного раствора) с мелкими частицами, пределы размеров которых для основной фракции значительно меньше, чем в других рассмотренных системах, а концентрация Fe соответствует таковой при “растворении” конденсата в 2% растворе мексидола и значительно выше этого показателя для систем с использованием дистиллированной воды или 3% ПВП. Можно предположить, что в силу химического (или физико-химического) взаимодействия 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат “провоцирует” переход НЧ оксида железа в водную фазу, а ПВП стабилизирует эти модифицированные НЧ. В основе такой модификации может находиться формирование хелатных связей, как было предположено в своё время Клебановым и соавт. при изучении антиоксидантной активности производных 3-гидроксипиридина [22].

Таким образом, в ходе приготовления водных дисперсных систем на основе конденсата НЧ магнетита мексидол обеспечивает переход Fe в жидкую фазу в количестве, необходимом для реализации его биологической активности, а ПВП стабилизирует модифицированные им НЧ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Petri-Fink A., Hofmann H. (2007) IEEE Trans. Nanobioscience, **6**(4), 289-297.
2. Behrens S. (2011) Nanoscale, **3**, 877-892.
3. Liu J., Sun Z., Deng Y., Zou Y., Li C., Guo X., Xiong L., Gao Y., Li F., Zhao D. (2009) Angew Chem. Int. Ed. Engl., **48**(32), 5875-5879.
4. Чекман І.С., Ульберг З.Р., Маланчук В.О. (2012) Нанонаука, нанобіологія, нанофармація, Поліграф плюс, К.
5. Du L., Chen J., Qi Y., Li D., Yuan C., Lin M.C., Yew D.T., Kung H.F., Yu J.C., Lai L. (2007) Int. J. Nanomedicine, **2**(4), 805-812.
6. Antonelli A., Sfara C., Manuali E., Bruce I.J., Magnani M. (2011) Nanomedicine (Lond.), **6**(2), 211-223.
7. Simberg D., Park J.H., Karmali P.P., Zhang W.M., Merkulov S., McCrae K., Bhatia S.N., Sailor M., Ruoslahti E. (2009) Biomaterials, **23-24**, 3926-3933.
8. Gupta A.K., Gupta M. (2005) Biomaterials, **26**(18), 3995-4021.
9. Sun J., Zhou S., Hou P., Yang Y., Weng J., Li X., Li M. (2007) J. Biomed. Mater. Res. A., **80**(2), 333-341.
10. Ha J.K., Ahn H.J., Kim K.W., Nam T.H., Cho K.K. (2012) J. Nanosci. Nanotechnol., **12**(1), 531-538.
11. Патон Б.Є., Мовчан Б.О., Курапов Ю.А., Яковчук К.Ю. (2010) Патент UA 92556, МПК B82B 3/00, C23C 14/24, C23C 14/54. - №a200905985; заявл. 10.06.2009; опубл. 10.11.2010, Бюл. №21/2010.
12. Гулдстейн Дж., Ньюбери Д., Эчлин П. (1984) Растровая электронная микроскопия и рентгеновский микроанализ (пер. с англ.), Мир, М.
13. Горелик С.С., Расторгуев Л.Н., Скаков Ю.А. (1994) Рентгенографический и электроннооптический анализ, МИСИС, М.
14. Этилметилгидроксипиридина сукцинат. Субстанция-порошок. Фармакопейная статья предприятия - ФСП42. Производитель: ООО “Бийон”. Выпускающий контроль качества: ООО “Бийон”. Заявитель (в ФГУ “НЦЭСМП”): ООО “Бийон”. ЛСР-001704/07-260707. - (Стандарт качества лекарственного средства РФ).
15. Патон Б.Є., Мовчан Б.О., Курапов Ю.А., Яковчук К.Ю. (2010) Патент на изобретение №20090598 от 10.06.2009. Бюл. Изобрет. №21. 10.11.2010.
16. <http://www.sintvita.ru/docs/povidone8000.pdf>
17. Лебедев А.Д., Левчук Ю.Н., Ломакин А.В., Носкин В.А. (1987) Лазерная корреляционная спектроскопия и биология, Наукова думка, Киев.
18. Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой: 4.1.1482-03. - Офиц. изд. - М.: Минздрав России, 2003. - 16 с. - (Нормативный документ Минздрава РФ. Методические указания).

19. Важничая Е.М., Мокляк Е.В., Мовчан Б.А., Курапов Ю.А., 21. [http://amt.allergist.ru/gelezaslt\\_1.html](http://amt.allergist.ru/gelezaslt_1.html)  
Забозлаев А.А. (2013) Патент RU 2493857 C1, МПК A61K 33/26; B82Y 5/00; B82Y 40/00.- №2012142117/15; 22. Клебанов Г.И., Любицкий О.Б., Ильина С.Е. (2006) Биомед. химия, **52**, 69-82.  
заявл. 03.10.2012; опубли. 27.09.2013, бюл. №27.  
20. [http://www.vidal.ru/poisk\\_preparatov/ferrum-lek-23505.htm](http://www.vidal.ru/poisk_preparatov/ferrum-lek-23505.htm)

Поступила: 13. 01. 2014.

**ROLE OF MEXIDOL (2-ETHYL-6-METHYL-3-HYDROXYPYRIDINE SUCCINATE)  
IN THE OBTAINING OF STABILIZED MAGNETITE NANOPARTICLES  
FOR BIOMEDICAL APPLICATION**

*Ye.M. Vazhnichaya<sup>1</sup>, Ye.V. Mokliak<sup>1</sup>, Yu.A. Kurapov<sup>2</sup>, A.A. Zabozlaev<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Ukrainian Medical Stomatological Academy,  
23 Shevchenko str., Poltava, 36011 Ukraine; tel.: +38(0532)56-20-59; fax: +38(0532)60-20-51;  
e-mail: vazhnichaya@ukr.net

<sup>2</sup>Paton Electric Welding Institute of National Academy of Sciences of Ukraine,  
11 Bozhenko str., Kyiv, 03680 Ukraine

<sup>3</sup>Company "PHARMASOFT", 22 Avtozavodskaya str., Moscow, 115280, Russia

Magnetite nanoparticles (NPs) are studied as agents for magnetic resonance imaging, hyperthermia of malignant tumors, targeted drug delivery as well as anti-anemic action. One of the main problems of such NPs is their aggregation that requires creation of methods for magnetite NPs stabilization during preparation of liquid medicinal forms on their basis. The present work is devoted to the possibility of mexidol (2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate) use for solubilization of magnetite NPs in hydrophilic medium. For this purpose, the condensate produced by electron-beam evaporation and condensation, with magnetite particles of size 5-8 nm deposited into the crystals of sodium chloride were used in conjunction with substance of mexidol (2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate), and low molecular weight polyvinylpyrrolidone (PVP). The NP condensate was dispersed in distilled water or PVP or mexidol solutions. NPs size distribution in the liquid phase of the systems was determined by photon correlation spectroscopy, iron (Fe) concentration was evaluated by atomic emission spectrometry. It is shown that in the dispersion prepared in distilled water, the major amount of NPs was of 13-120 nm in size, in mexidol solution - 270-1700 nm, in PVP solution - 30-900 nm. In the fluid containing magnetite NPs together with mexidol and PVP, the main fraction (99.9%) was characterized by the NPs size of 14-75 nm with maximum of 25 nm. This system had the highest iron concentration: it was similar to that in the sample with mexidol solution and 6.6-7.3 times higher than the concentration in the samples with distilled water or PVP. Thus, in the preparation of aqueous dispersions based on magnetite NPs condensate, mexidol provides a transition of Fe to the liquid phase in amount necessary to achieve its biological activity, and PVP stabilizes such modified NPs.

**Key words:** nanoparticles , magnetite, mexidol, polyvinylpyrrolidone.