

УДК 534.7

## ЛОКАЛИЗАЦИЯ АКУСТИЧЕСКОЙ ЭНЕРГИИ В ГЕЛЕВЫХ СИСТЕМАХ НА ТВЕРДОФАЗНЫХ НЕОДНОРОДНОСТЯХ

А.Л. Николаев, А.В. Гопин, Д.С. Чичерин, В.Е. Божевольнов, И.В. Мелихов

*(кафедра радиохимии; e-mail: nic@radio.chem.msu.ru)*

**Проведено сравнительное изучение тепловых эффектов ультразвукового воздействия на агарозный гель, содержащий наночастицы гидроксида железа (III) и сульфата бария. Было установлено различие в характере взаимодействия гидроксида железа (III) и сульфата бария с матрицей агарозы и оценено относительное изменение поглощения ультразвука за счет локализованных в геле частиц модификатора. Показано, что наибольшим тепловым эффектом обладают системы с модификаторами, локализованными на отдельных элементах объема матрицы. В качестве примера возможного использования возникающих эффектов рассмотрено создание “контейнеров” с управляемым ультразвуком выходом лекарственного вещества на основе термочувствительных гелевых тел, содержащих твердофазные включения.**

В последнее время повышенный интерес к проблеме локализации акустической энергии вызван активным применением ультразвука в терапии онкологических заболеваний. В этой области используют либо ультразвук очень высокой интенсивности (“выжигающая” терапия), либо ультразвук малой и средней интенсивности в сочетании с соносенсибилизаторами [1–3]. В присутствии соносенсибилизатора происходит деструкция опухоли, что приводит к замедлению ее роста, а иногда к полной регрессии. Сами соносенсибилизаторы часто не являются лекарственными веществами, а некоторые из них образуют внутриклеточные твердофазные включения.

В первом случае локализация достигается прецизионным фокусированием, которое контролируется томографическим оборудованием, во втором – особенно точного фокусирования не требуется, так как здоровая ткань при таком воздействии практически не страдает. Однако и в этом варианте дополнительное концентрирование акустической энергии в жизненно важных элементах опухолевых клеток существенно повысило бы эффективность воздействия. В качестве своеобразных соносенсибилизаторов, играющих роль “концентраторов” акустической энергии, мы предложили использовать искусственно создаваемые твердофазные включения, которые могут быть либо введены в биополимер, либо синтезированы непосредственно в нем [4]. Твердофазные соносенсибилизаторы, стимулируя тепловые (а также, возможно, и кавитационные) эффекты в примыкающих к ним элементах полимерных структур, обеспечивают локализацию акустической энергии в

объеме, размер которого определяется размерами включений и может быть существенно меньше длины волны ультразвука.

Целью настоящей работы является оценка величин тепловых эффектов воздействия ультразвука на модифицированные гидрогелевые системы и их связи с локализацией твердофазного модификатора.

### Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования были выбраны полимерные матрицы агарозного гидрогеля, который по своим физико-химическим свойствам приближается к реальным биологическим системам, и геля полидиэтилакриламида.

**Гель агарозы** готовили растворением твердой агарозы (“Difco”, США) в воде при нагревании до 90°C в концентрации 1,5 и 3,0 мас.%. Затем раствор медленно охлаждали до 20°C, в результате чего происходило его студнение.

В качестве модификаторов использовали сульфат бария, гидроксид железа (III) и гидроксиапатит. Твердую фазу гидроксида железа и сульфата бария вводили в виде распределенных по объему включений методом встречной диффузии реагентов.

Модификацию геля агарозы проводили последовательной пропиткой сначала 0,1 или 0,2 М раствором FeCl<sub>3</sub>, а затем 4 М раствором аммиака либо 0,04 или 0,08 М раствором BaCl<sub>2</sub>, а затем 1 М раствором Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Пропитка каждым из растворов проводилась в течение 48 ч. В результате были синтезированы образцы геля, содержащие 1 и 2 мас.% гидроксида железа (III) и сульфата бария.

**Электронно-микроскопические исследования** проводили следующим образом. Образцы гелей объемом  $1 \text{ мм}^3$  помещали в жидкий пропан на 30 с, затем переносили в охлажденный до  $-95^\circ\text{C}$  ацетон и постепенно повышали температуру до комнатной. Материал высушивали (“HSP-2”, фирма “Hitachi”) в атмосфере  $\text{CO}_2$ . Образцы напыляли золотом (толщина слоя 10 нм) в ионно-напылительной установке “IB-3” (“EIKO”). Материалы просматривали в микроскопе “S-405A” (“Hitachi”) при ускоряющем напряжении 15 кВ.

**Рентгеновские дифрактограммы** получали на автоматизированном рентгеновском дифрактометре “ДРОН-4”, сфокусированном по Брэггу–Бретано, с графитовым монохроматором на дифрагированном пучке. Измерения проводили на излучении  $\text{CuK}_\alpha$  при  $\lambda = 0,154178 \text{ нм}$  в режиме пошагового сканирования с шагом  $(\Delta 2\Theta) = 0,1^\circ$ . Время экспозиции на одну точку составляло 3–5 с, интервал съемки  $2\Theta = 3,0\text{--}60,0^\circ$ .

**Тепловые эффекты** влияния акустического поля на модифицированные гелевые тела оценивали с помощью термпары. Излучатель ультразвука и образец цилиндрической формы (диаметр 3 см, высота 3 см) располагали соосно и погружали в термостатируемый сосуд с дегазированной водой. Ультразвук вводили в модифицированный гелевый образец с одного торца, а термопару – с другого (вдоль оси симметрии системы). Замер температуры проводили в центре образца. Расстояние от излучателя до гелевого образца составляло 10 см. При оценке тепловых эффектов акустического поля использовали ультразвук с частотой 2,64 МГц и интенсивностью  $2 \text{ Вт/см}^2$ .

**Гель полидиэтилакриламида (ПДЭАА)** получали сополимеризацией диэтилакриламида и N,N-метиленис-акриламида в водном растворе по методике, описанной в [5]. Нижняя критическая температура растворения (НКТР) синтезированных образцов ПДЭАА гидрогеля составляет  $31^\circ\text{C}$ .

Гель ПДЭАА с локализованными в центре образца включениями получали следующим образом. Гранулу гидроксиапатита диаметром 2 мм подвешивали в центре сферической формы. В форму заливали реакционную смесь и проводили полимеризацию при  $18\text{--}20^\circ\text{C}$ .

Полученные образцы геля ПДЭАА выдерживали в насыщенном растворе ферроцерона в течение 48 ч и в итоге получали “контейнеры”, содержащие лекарственное средство.

**Кинетика выхода ферроцерона исследовалась на образцах ПДЭАА геля.** Образец геля помещали в кювету со звукопрозрачным дном, наполненную водой. С помощью перистальтического насоса содержимое ячейки прокачивали через кювету детектора. Ячейку помещали в термостат и подвергали воздействию ультразвукового поля с частотой 2,64 МГц и интенсивностью  $1 \text{ Вт/см}^2$ . Кинетику выхода ферроцерона из геля определяли по изменению его концентрации во внешнем объеме. Концентрацию измеряли спектрофотометрически на приборе “Specol-221” в проточном режиме ( $\lambda = 495 \text{ нм}$ ).

### Результаты и их обсуждение

На рис. 1, 2 представлены микрофотографии и дифрактограммы образцов агарозного гидрогеля модифицированного гидроксидом железа (III) и сульфатом бария. На фотографии геля агарозы, модифицированного гидроксидом железа (III), наблюдается равномерное распределение высокодисперсного модификатора по нитям матрицы, и места преимущественной локализации твердой фазы не видны (рис. 1, а). Данные дифрактограммы (рис. 1, б) также подтверждают отсутствие кристаллитов гидроксида железа (III) заметных размеров.

Качественно иная картина наблюдается в случае сульфата бария. На микрофотографии (рис. 2, а) наблюдается дисперсная кристаллическая фаза, локализованная на отдельных элементах матрицы-носителя, что подтверждается рентгенофазовым анализом (рис. 2, б).

Полученные данные свидетельствуют о наличии по крайней мере двух типов локализации кристаллизующейся в гидрогелях твердой фазы, вероятность реализации каждого из них определяется природой полимерной матрицы и модификатора. Аналогичные результаты были получены нами для гидроксида железа и кальциевой соли окта-4,5-карбокситфалоцианина кобальта, осажденных в матрице полиакриламидного геля [6]. Наличие двух типов локализации модификатора позволяет предположить, что и тепловые эффекты ультразвукового воздействия на такие системы могут существенно различаться.

Образцы модифицированных гидрогелевых систем были использованы для изучения тепловых эффектов, возникающих при воздействии на них ультразвука. На рис. 3 приведены типичные кривые динамики роста температуры подвергшихся действию ультразвука образцов гидрогеля агарозы, модифицированного гидроксидом железа и сульфатом бария.

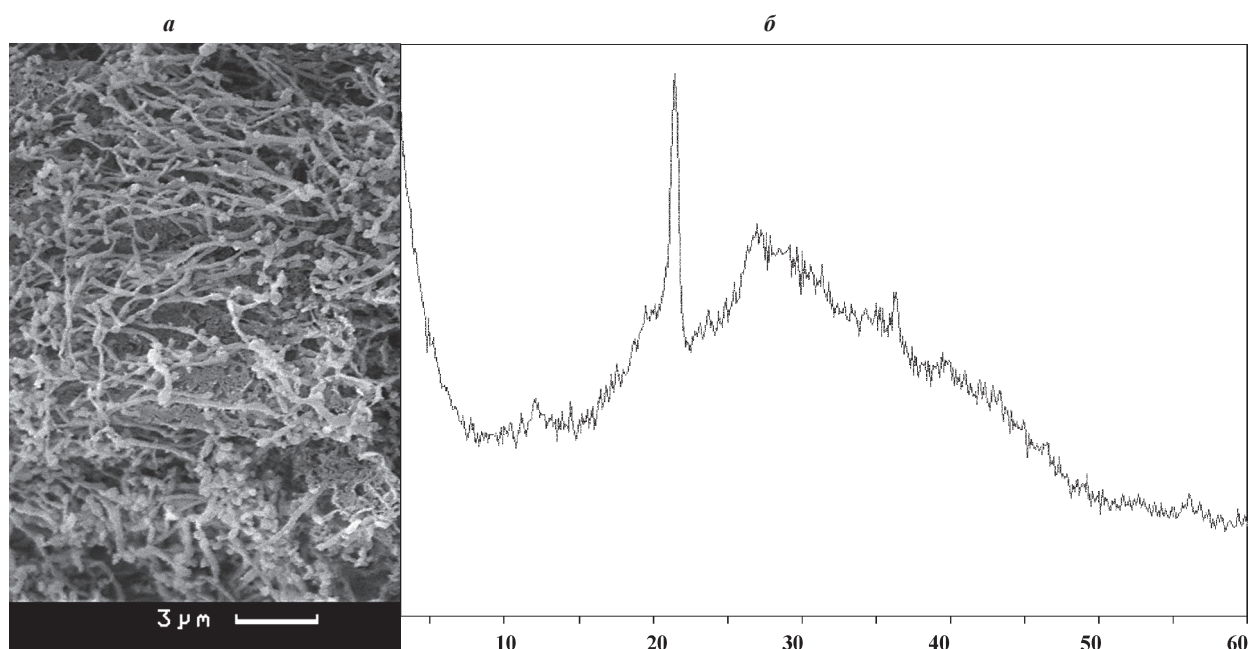


Рис. 1. Электронная микрофотография (а) и рентгеновская дифрактограмма (б) агарозного гидрогеля, модифицированного гидроксидом железа (III)

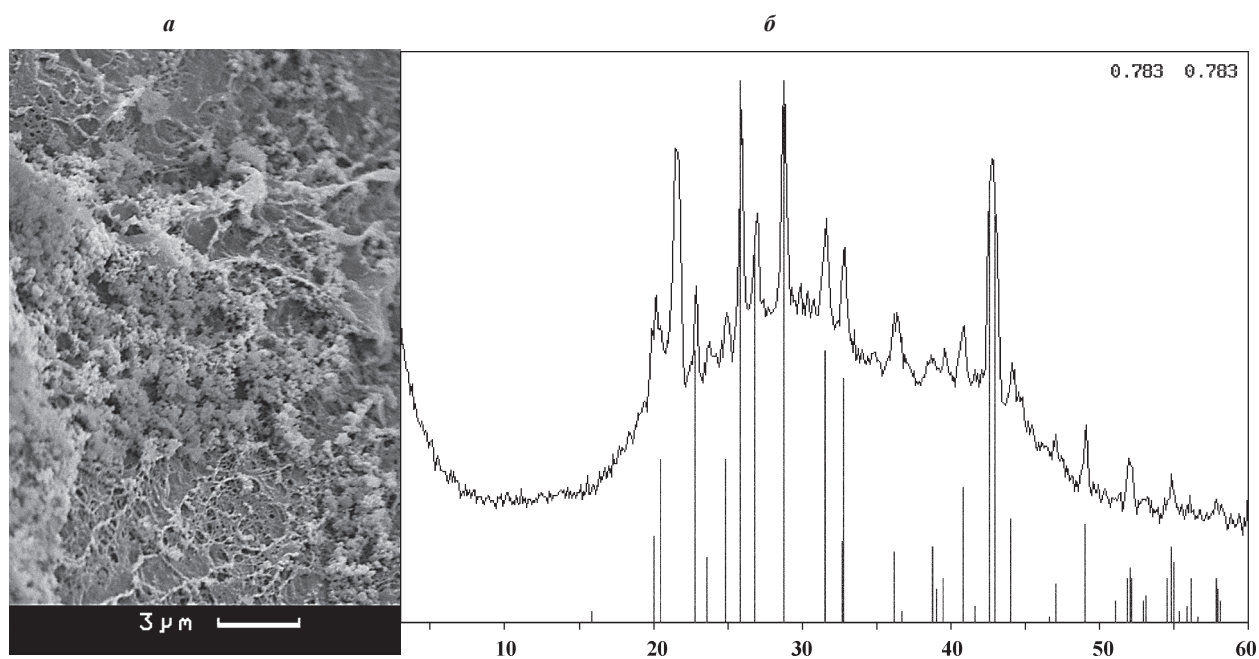


Рис. 2. Электронная микрофотография (а) и рентгеновская дифрактограмма (б) агарозного гидрогеля, модифицированного сульфатом бария

Для сравнительного анализа величин тепловых эффектов воздействия ультразвука зависимости роста температуры от времени были аппроксимированы следующей функцией:

$$\Delta T = A[1 - \exp(-Bt)].$$

Это уравнение может быть получено из условий теплового баланса в приближении равномерного рас-

пределения температуры по объему образца. При этом коэффициент  $A$  пропорционален поглощаемой мощности и обратно пропорционален коэффициенту теплоотдачи, а коэффициент  $B$  прямо пропорционален коэффициенту теплоотдачи. Физический смысл параметра  $A$  представляет собой максимально достижимую (стационарную) температуру в данных условиях поглощения энергии и теплоотдачи. Тогда отношение стационарной температуры для модифицированного

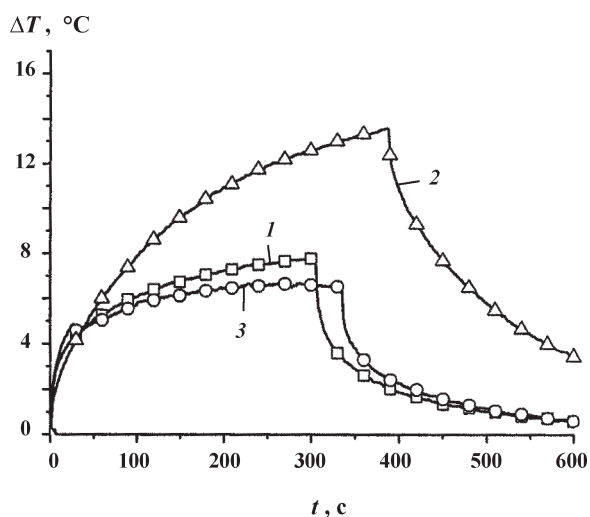


Рис. 3. Тепловые эффекты, возникающие при воздействии акустического поля на агарозный гидрогель без модификатора (1) и модифицированный сульфатом бария (2) и гидроксидом железа (III) (2 мас.%) (3). Параметры ультразвука: частота 2,64 МГц, интенсивность 2 Вт/см<sup>2</sup>

геля ( $A_M$ ) к стационарной температуре немодифицированного геля ( $A_0$ ) покажет изменение поглощаемой гелем акустической мощности в результате введения модификатора  $K = A_M/A_0$ . В таблице приведены значения параметров стационарных температур ( $A$ ) и изменения поглощаемой акустической мощности ( $K$ ) для модифицированных гидрогелевых систем.

Из таблицы видно, что тепловые эффекты для образцов, модифицированных сульфатом бария и гидроксидом железа (III), существенно различаются. В среднем величины поглощения акустической мощно-

сти для образцов, модифицированных сульфатом бария, в 1,5–2,0 раза выше, чем в случае гидроксида железа (III). Следует отметить, что для образцов, модифицированных гидроксидом железа (III), иногда наблюдается уменьшение поглощения ультразвука. Это может быть связано с изменением механических характеристик сетки матрицы, которая инкрустируется модификатором, что в свою очередь приводит к изменению вязкоупругих характеристик образца. Максимальное увеличение поглощаемой мощности достигается в случае 3%-го агарозного геля, модифицированного 2% сульфата бария.

Тепловые эффекты, возникающие при воздействии ультразвука на гидрогелевые системы, на наш взгляд, дают возможность создания материалов с дистанционно управляемыми свойствами. Основой таких материалов может быть, например, термочувствительный полимерный гидрогель, способный претерпевать структурный фазовый переход при определенной температуре. При наложении ультразвукового поля гидрогель нагревается за счет поглощения ультразвука и при достижении критической температуры происходит резкое изменение его объема [5], что в свою очередь может быть использовано для выделения из объема геля введенного в него заранее лекарственного вещества.

Исследована кинетика выхода ферроцерона из гидрогелевого контейнера под действием ультразвука. На рис. 4 приведены данные по скорости выхода ферроцерона в зависимости от времени для “контейнера”, не содержащего и содержащего поглотитель ультра-

Вычисленные стационарные температуры ( $A$ ) и повышение поглощаемой акустической мощности ( $K$ )

Образец	Массовая доля агарозы, %			
	1,5		3,0	
	$A$ , °C	$K$	$A$ , °C	$K$
Немодифицированный	5,7	1,0	8,0	1,0
BaSO <sub>4</sub> 1%	8,8	1,5	11,3	1,4
BaSO <sub>4</sub> 2%	9,6	1,7	14,5	1,8
FeOOH 1%	6,0	1,0	7,8	1,0
FeOOH 2%	7,4	1,3	6,8	0,9



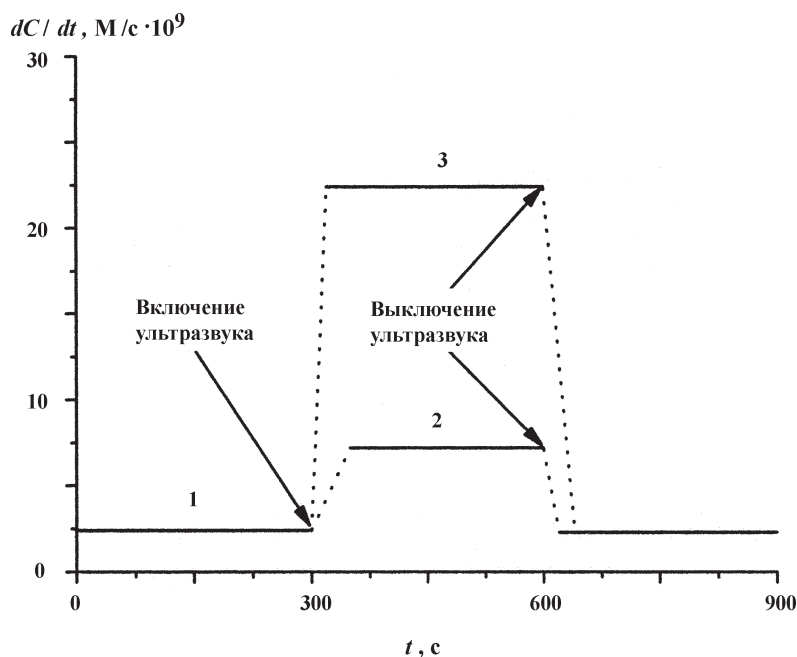


Рис. 4. Влияние ультразвука на динамику выхода ферроцерона из образцов, не содержащих и содержащих модификатор. Участок 1 отвечает фоновому выходу ферроцерона вне ультразвукового поля, 2 – выходу ферроцерона из немодифицированного геля под действием ультразвука и 3 – выходу ферроцерона из геля, содержащего в центре гранулу ГАП, под действием ультразвука. Пунктирные линии соответствуют не определенным экспериментально скоростям выхода ферроцерона. Параметры ультразвука: частота – 2,64 МГц, интенсивность – 1 Вт/см<sup>2</sup>.

звука. Область 1 на графике отвечает фоновому выходу ферроцерона вне ультразвукового поля, области 2 и 3 – выходу ферроцерона из геля под действием ультразвука. Из приведенных данных видно, что скорость выхода вещества под действием ультразвука возрастает, причем из образца с модификатором (ГАП) она в 3 раза больше, чем для образца без модификатора.

Экспериментальные данные, относящиеся к транспорту лекарственных веществ, позволяют предположить, что при создании подобных материалов логичным является использование макроскопических включений с акустическими свойствами, существенно отличными от свойств гидрогеля. За счет этого происходит сильное поглощение ультразвука и соответственно выделение тепла. Включение твердой фазы в центре образца обеспечивает направление градиента плотности сжатия геля при переходе через НКТР от центра к периферии. Так как переход геля через критическую точку сопровождается возникновением потоков раствора вследствие сжатия, то внесение поглотителя ультразвука в центр гелевой матрицы позволяет не только уменьшить время ультразвукового воздействия, но и создать направленность потока раствора вещества от центра геля к периферии (рис. 5).

По нашему мнению, наиболее перспективным для направленного транспорта представляется контейнер, содержащий в центре относительно крупный ( $10^{-3}$  м) поглотитель ультразвука.

Для других случаев, когда направление потоков растворов в “контейнере” не играет роли (например, для ферментативных реакторов с управляемой ультразвуком активностью), а важным является изменение его структуры, предпочтительным представляется равномерное распределение высокодисперсного модификатора ( $10^{-6}$  м).

Полученные данные показывают, что на проявление акустических тепловых эффектов существенно влияет характер взаимодействия и распределения модификатора в матрице гидрогелей, который определяется химической природой модификатора и полимерной матрицы. Причем наибольший эффект проявляется в системах с модификаторами, локализованными на отдельных элементах объема матрицы.

Таким образом, твердофазные включения различных размеров можно рассматривать как своеобразные концентраторы акустической энергии.

Использование крупных включений в термочувствительные гелевые тела позволяет создать “контейнеры” с управляемым ультразвуком выходом ле-

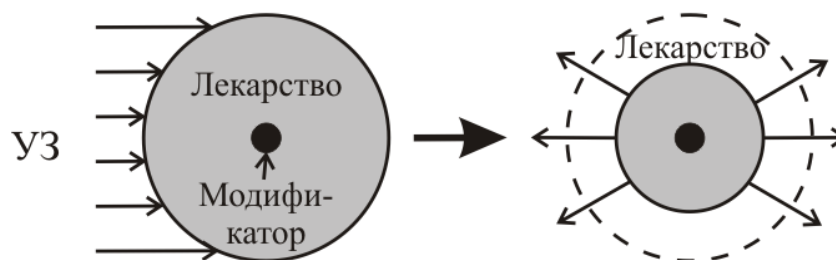


Рис. 5. Схема выхода лекарственного вещества под действием ультразвука из термочувствительного гидрогеля, содержащего в центре твердофазный модификатор

карственного вещества. При решении задач направленного транспорта введением различных модификаторов возможно менять степень поглощения ультразвука “контейнером”, а следовательно, и проникаемость последнего для лекарственного вещества.

Дальнейшее развитие этого направления предполагает решение следующих задач: 1) выявление зако-

номерностей фазообразования в гелевых телах, определяемых природой включения и матрицы, 2) оценка изменения вязкоупругих характеристик гидрогелей в результате их модифицирования, 3) исследование механизмов возникновения тепловых и кавитационных эффектов ультразвукового воздействия на твердофазно модифицированные гидрогелевые системы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 06-03-32960)

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rosenthal I., Sostaric J.Z., Riesz P. // *Ultrason. Sonochem.* 2004. № 11. P. 349.
2. Николаев А.Л., Раевский П.М. // *РХЖ-ЖРХО им. Д.И. Менделеева.* 1998. 42. №5. С. 105.
3. Николаев А.Л., Гопин А.В., Трещалина Е.М. // *Рос. Биотер. ж.* 2004. 3. № 2. С. 12.
4. Мелихов И.В., Николаев А.Л., Андропова Н.В., Трещалина Е.М. // *Докл. РАН.* 2003. 390. № 1. С. 53.
5. Николаев А.Л., Чичерин Д.С., Синани В.А., Ноа О.В., Мелихов И.В., Платэ Н.А. // *ВМС. Сер. А.* 2001. 43. № 1. С. 27.
6. Николаев А.Л., Гопин А.В., Божевольнов В.Е., Андропова Н.В., Филоненко Д.В., Трещалина Е.М. // *Сборник трудов. XVIII сессия Российского акустического общества, 11-15 сентября 2006 г. Т. 3. Таганрог.* С. 105.

Поступила в редакцию: 10.10.07

## LOCALIZATION OF ACOUSTIC ENERGY IN GEL SYSTEMS ON SOLID-PHASE INHOMOGENEITIES

A.L. Nikolaev, A.V. Gopin, D.S. Chicherin, V.E. Bozhevolnov, I.V. Melikhov

(Division of Radiochemistry)

Comparative investigation of thermal effects of ultrasound action on agarous gel containing iron (III) hydroxide and barium sulfate nanoparticles was performed. Differences in interaction of iron (III) hydroxide and barium sulfate with agarose matrix were established. Relative changes in ultrasound adsorption due to modifier particles present in a gel were estimated. It was shown that systems with modifiers localized on separate elements of matrix volume possess higher thermal effects. Production of “containers” with ultrasound-controlled drug release on the basis of thermosensitive gels containing solid phase inclusions was discussed as an example of possible application of the effects described.