

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **035516**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.06.29

(21) Номер заявки
201501106

(22) Дата подачи заявки
2014.05.19

(51) Int. Cl. **B01J 20/06** (2006.01)
B01J 20/26 (2006.01)
B01J 20/28 (2006.01)
A61L 15/18 (2006.01)
A61K 33/08 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
B82B 3/00 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ НИЗКОРАЗМЕРНЫХ СТРУКТУР И/ИЛИ ИХ АГЛОМЕРАТОВ, СФОРМИРОВАННЫХ ИЗ ОКСИГИДРОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ ИЛИ ИХ КОМПОЗИТОВ, В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ДЛЯ УГНЕТЕНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

(31) 2013123074

(32) 2013.05.20

(33) RU

(43) 2016.04.29

(86) PCT/RU2014/000354

(87) WO 2014/189412 2014.11.27

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ
ФИЗИКИ ПРОЧНОСТИ И
МАТЕРИАЛОВЕДЕНИЯ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ
НАУК (ИФПМ СО РАН)
(RU); ИНСТИТУТ ЙОЖЕФА
СТЕФАНА (SI); ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО**

**ОБРАЗОВАНИЯ
"НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ" (ФГАОУ ВО ТПУ)
(RU)**

(72) Изобретатель:
**Псахье Сергей Григорьевич, Лернер
Марат Израильевич, Глазкова
Елена Алексеевна, Бакина Ольга
Владимировна (RU), Васильева
Ольга, Михайлов Георгий Андреевич,
Турк Борис (SI)**

(56) БАКИНА О.В. et al., Zakonomernosti prevrascheniya nanoporoshkov aljumonitridnoi kompozitsii v vodnykh sredakh. Fundamentalnye issledovaniya, ID "Akademiya estestvoznaniya", №4, 14.03.2013, part 4, p. 862-867
RU-C1-2426557
RU-C2-2398628
RU-C2-2317843
RU-C2-2468129

(57) Предметом настоящего изобретения является применение низкоразмерных структур и/или их агломератов, сформированных из оксигидроксидов металлов или их композитов, состоящих по меньшей мере из двух оксигидроксидов металлов, выбранных из группы металлов, состоящей из Al, Fe, Mg и Ti, которые имеют складки и грани неправильной формы, и обладающих локальным уровнем напряженности электрического поля, формируемого поверхностными зарядами на упомянутых складках, гранях и ребрах граней, который составляет не менее 10^6 В/м, в качестве средства для угнетения пролиферативной активности опухолевых клеток.

B1

035516

035516 B1

Область техники

Изобретение относится к низкоразмерным структурам органических и/или неорганических веществ, представляющим собой главным образом двумерные (2D) складчатые структуры, и образованным ими агломератам, способным избирательно влиять на живые клетки, и может быть использовано в медицине и фармакологии для уничтожения раковых клеток.

Предшествующий уровень техники

Известно, что повреждение эпителиального слоя приводит к возникновению трансэпителиальной разности потенциалов (1, 2), увеличению эндогенных электрических полей раны и ускоренному заживлению. Рост напряженности электрического поля с помощью катода, расположенного в ране, приводит к увеличению скорости движения эпителия в рану (3).

Также связь между мембранным потенциалом клеток и раком наблюдалась во многих исследованиях с использованием нормальных и трансформированных клеточных линий.

Эти данные стали одной из причин, побудивших Кона (4) предположить, что трансмембранный потенциал может контролировать митотический цикл. Основная идея заключается в том, что снижение мембранного потенциала инициирует прохождение цикла клеточного деления. Онкогенез был объяснен на основе предположения, что после митоза клетка лишается возможности восстановить свой нормальный электроотрицательный мембранный потенциал покоя и, следовательно, вынуждена повторно войти в цикл деления. Впоследствии это предположение нашло подтверждение в ряде работ. Например, в работе (5) показано, что средний потенциал мембран клеток молочной железы с проницающей протоковой карциномой был в значительной мере деполяризованным по сравнению со значениями, измеренными в тканях с доброкачественным заболеванием молочной железы. Деполяризации наблюдалась также в трансформированных эпителиальных клетках груди по сравнению с нормальными клетками груди.

Исследования (6) показывают различия в электрических свойствах нормальных и раковых клеток. Сравнения мембранного потенциала нормальных и трансформированных клеток показали, что раковые клетки (саркомы) имеют более низкий отрицательный потенциал (например, у нормальных клеток потенциал $-42,5 \pm 5,4$ мВ, у раковых $-14,3 \pm 5,4$ мВ).

В работе (7) показано, что, регулируя мембранный потенциал клеток, в том числе и раковых, можно управлять их пролиферацией и дифференцировкой.

Известно использование нано- и микроструктурированных гидроксидов и оксигидроксидов в различных материалах и технологических процессах, в том числе в биологии и медицине.

Известен способ получения, усовершенствованного волокнистого фильтрующего материала (RU №2011116705 А, опубл. 10.11.2012), в результате которого на поверхности волокнистого материала формируют слой из оксигидроксидов алюминия и кремния с положительным поверхностным зарядом. С этой целью приготавливали раствор алюмосиликагеля и осуществляли обработку волокнистого керамического материала полученным составом.

К недостаткам можно отнести то, что для создания положительного заряда поверхности используются известные свойства структурированного кремния, покрытия из которого создаются при обработке волокнистого керамического материала.

Известен наноразмерный электроположительный волокнистый адсорбент, раскрытый в RU 2304463 С2 (опубл. 20.08.2007), состоящий из несферических частиц гидроксида алюминия, в виде волокон с диаметром менее 50 нм и отношением длины к толщине более 5:1, полученный в результате преобразования исходного алюминиевого компонента в водном растворе при температуре до 100°C и непосредственно нанесенный на поверхность волокнистой структуры, характеризующийся возможностью адсорбции по крайней мере одной электроотрицательной частицы из жидкости. Известен RU 2328447 С1, опубл. 10.07.2008, в котором раскрыт способ получения волокон оксидно-гидроксидных фаз со структурой бемита, который может быть использован для получения адсорбентов для тонкой очистки питьевой воды, а также промышленных и сточных вод. Получение нановолокон оксидно-гидроксидных фаз алюминия осуществляют гидролизом порошка, полученного методом электрического взрыва алюминиевой проволоки диаметром $0,3 < d \leq 0,4$ мм в атмосфере азота при давлении $P < 3$ атм и значении энергии, введенной в проволоку, $19,8 \text{ Дж/мм}^3 < E \leq 66 \text{ Дж/мм}^3$. При этом последующий гидролиз порошка проводят при температуре не более 70°C. Полученные нановолокна оксидно-гидроксидных фаз алюминия имеют длину 0,1-0,2 мкм, диаметр 0,001-0,013 мкм и удельную поверхность до 500 м²/г. Известен также патент США US 8033400 В2 (опубл. 11.10. 2011), в котором раскрыт фильтрующий материал, содержащий в качестве основы нетканое органическое синтетическое полотно и положительно заряженные агломераты нановолокон гидроксида алюминия. Известен (RU 2397781 С1, опубл. 27.08.2010) нетканый материал медицинского назначения, обладающий ранозаживляющей, антибактериальной и противовирусной активностью, и перевязочное средство на его основе, содержащий волокнистую основу, на волокнах которого закреплены высокопористые частицы гидрата оксида алюминия, образованные нановолокнами.

В качестве недостатков известных вышеприведенных наноразмерных волокнистых сорбентов, раскрытых в RU 2304463 С2 и RU 2328447 С1, RU 2397781 С1, US 8033400 В2, можно отнести относительно низкую сорбционную емкость, обусловленную формой и расположением волокон или нановолокон.

Это подтверждают данные, приведенные в статье Tepper Fred and Kaledin Leonid "Virus and Protein Separation Using Nano Alumina Fiber Media" (<http://www.argonide.com/publications/laboratory.pdf>). В статье приведены микрофотографии нановолокон, которые формируют плотноупакованные структуры. Вследствие этого поровое пространство сорбционного материала, состоящего из нановолокон, менее доступно для сорбата (бактерий, коллоидных частиц и т.д.), чем поровое пространство агломератов низкоразмерных складчатых структур. Кроме того, на микрофотографиях видно, что сорбция коллоидных частиц в основном происходит на торцах нановолокон. При этом коллоидные частицы не сорбируются между нановолокнами в объеме материала. Таким образом, нановолокна с достаточно высокой удельной поверхностью обладают небольшой сорбционной емкостью.

В работе (8) исследовался процесс гидролиза порошков алюминия марки порошок АСД-4, серийно производимый российской промышленностью, со средним размером частиц около 4 мкм. Окисление алюминия изучалось в дистиллированной воде и в водном насыщенном растворе $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (буферный активатор) в присутствии и в отсутствие УЗ поля. Без наложения ультразвукового поля степень окисления АСД-4 дистиллированной водой за разумное время (несколько суток) не превышает 30%. На поверхности исходных частиц алюминия образуется ячеистая структура из продуктов окисления. Применение ультразвуковой активации в сочетании с буферной позволяет существенно изменить процесс, степень окисления достигает 100%. При этом образуются наноразмерные палочкообразные структуры. Удельная поверхность таких продуктов (измеренная методом БЭТ) составляет всего $40 \text{ м}^2/\text{г}$.

В процессе были синтезированы палочкообразные структуры с низкой удельной поверхностью, поэтому следует ожидать, что сорбционные свойства таких частиц невелики. Также в статье не указано, способны ли полученные нановолокна формировать электрическое поле в водных средах.

Известен процесс приготовления адсорбента, содержащего оксигидроксид железа - $\text{FeO}(\text{OH})$, адсорбент и его применение, раскрытые в WO 2006032727 A1 (опубл. 2006-03-30). Изобретение относится к процессам для приготовления адсорбционных материалов. Процесс для производства адсорбента, содержащего оксигидроксид железа, характеризуется тем, что производят гранулированный гидроксид железа, который включает в количестве 5-15% по массе, имеющей влагу, в расчете на массу адсорбента. И где упомянутая масса гранулирована компактированием и просеиванием компактированного продукта, чтобы получить гранулы размером от 0,5 до 4 мм.

Раскрытый адсорбент представляет собой гранулы с размером между 0,5 и 4,0 мм. Гранулы такого размера не будут создавать электрическое поле с высокой напряженностью, необходимой для эффективной сорбции заряженных частиц и воздействия на клеточные мембраны.

Известен способ получения биопрепарата "Ферригель" (RU 2466713, опубл. 20.11.2012) на основе наноразмерного оксигидроксида железа. Способ получения биопрепарата включает смешивание оксигидроксида железа, выделенного на станциях обезжелезивания подземных вод, с водорастворимым полимером и глицерином.

В описании к патенту не указана форма частиц оксигидроксида железа и не обсуждается, с какими свойствами связана их биологическая активность, выражающаяся в ускоренном ранозаживлении. Кроме того, смешивание частиц с водорастворимыми полимерами и глицерином приведет к обволакиванию частиц оксигидроксида железа указанными веществами и блокированию значительной части поверхности, доступной для воздействия на биологические объекты.

Известны полимерные материалы для лечения раневых повреждений и подавления злокачественных новообразований.

В патенте RU 2471349 (опубл. 10.01.2013) предложен полимерный материал для уничтожения клеток-мишеней. Материал содержит по меньшей мере один нерастворимый гидрофобный анионный, катионный или амфотерный заряженный полимер. Указанный полимер при контакте с водосодержащей окружающей средой

- a) является носителем сильноокислых или сильноосновных функциональных групп;
- b) имеет значение рН меньше чем 4,5 или больше чем 8,0;
- c) обладает протонной проводимостью и/или электрическим потенциалом, достаточными, чтобы эффективно нарушать гомеостаз рН и/или электрический баланс внутри замкнутого объема указанной клетки.

Этот заряженный полимер сохраняет значение рН среды, изменяя значение рН только в клетке. Смещение величины рН водной среды в кислую (рН меньше 4,5) или щелочную область (рН больше 8,0) вызывает гибель как эукариот, так и прокариот. Указанный материал может быть регенерирован путем регенерации заряженного полимера, регенерации буферной емкости указанного материала, регенерации протонной проводимости указанного материала.

Вызывает сомнение предложенный авторами механизм гибели клеток, связанный с изменением рН и/или электрического баланса в их объеме. Отсутствует необходимая доказательная база этого механизма, т.к. измерение величины рН и/или электрического баланса внутри клетки при современном уровне науки и техники невозможно. Из представленных в патенте материалов и примеров следует, что гибель клеток вызывает локальное изменение рН водной среды, непосредственно окружающей клетку, при этом, вследствие небольших концентраций действующего материала, изменения рН всей среды может и

не происходить. Как следует из раскрытия изобретения, его целью является создание материалов (нерастворимых протонных резервуаров или источников) "...содержащих легко диссоциирующие катионные и/или анионные группы (ЛДКАГ), пространственно организованные так, чтобы эффективно минимизировать изменения значения pH среды...". Т.е. изменение значения pH среды, пусть и минимальное, все же наблюдалось. Действительно, как известно из учебников химии, при диссоциации вещества в водной среде на ионы неизбежно их поступление в среду.

Таким образом, взаимодействие на клетки происходит в результате создания на их поверхности или вблизи их поверхности условий (высокие или низкие значения pH), при которых жизнедеятельность как опухолевых, так и нормальных клеток невозможна. Поэтому применение подобных материалов для лечения онкологических больных или в качестве антимикробного средства даже наружного применения имеет серьезные ограничения.

Известна полимерная электретьная лечебная пленка (аппликатор) "Полимедэл" (9). В хирургии применение электретов способствует активации репаративных процессов при длительно незаживающих ранах, пролежнях, нейротрофических язвах, термических поражениях. Наблюдается значительное сокращение в сроках очищения ран от некротических масс, быстрее развиваются состоятельные грануляции в ране, в ранние сроки начинается эпителизация краев раны, задерживается или предотвращается переход процесса из второй стадии в третью (поражение кожи на всю ее глубину), из третьей в четвертую (деструкция кожи и глубжележащих тканей). Последние исследования показали, что при наложении электрета на болевые зоны различного происхождения достигается купирование болевого синдрома (артриты, остеохондроз, радикулит, ушибы, почечные колики и т.д.). В частности, при взаимодействии с электрическим полем в объеме биологической ткани возникают микровибрации и микроконвекции, обусловленные электрогидродинамическими силами. Это ведет к изменению скорости метаболических процессов, изменению проницаемости клеток, скорости доставки реагентов к функционирующим мембранным поверхностям и макромолекулам.

К недостаткам пленок электретов относится то, что воздействие на клетки осуществляется опосредовано, через возникающие в биологической ткани микровибрации и микроконвекции, обусловленные электрогидродинамическими силами. Прямое воздействие на мембранный потенциал клеток отсутствует. Вследствие чего эффективность пленок электретов низка. На ранах с обильным выделением экссудата и гнойных ранах наложение полимерной пленки из электретов ограничит доступ воздуха, что недопустимо и может осложнить течение болезни. Также отсутствуют задокументированные случаи излечения онкологических заболеваний с помощью электретьных материалов.

Известны физические методы воздействия на опухолевые клетки с помощью электрического поля.

В патенте RU 2270663 С2 (опубл. 27.02.2006) представлен способ терапии пролиферативных раковых клеток организма, включающий выбор биологически активных точек и последующее воздействие на них, отличающийся тем, что выбирают биологически активную точку, соответствующую органу с патологической пролиферацией клеток, измеряют потенциал выбранной биологически активной точки относительно референтной точки, после чего к выбранным точкам подключают внешний источник постоянного электрического поля, полюса которого противоположны по знаку полюсам точек, к которым его подключают, а абсолютная его величина равна разности абсолютных величин измеренного потенциала и потенциала, соответствующего здоровому органу в выбранной точке, и воздействуют до значения величины мембранного потенциала раковой клетки, равного величине мембранного потенциала соответствующего здорового органа. Таким образом, происходит нормализация биохимических процессов клеток, что приводит к существенному снижению патологической активности раковых клеток, а в пределе - к их возврату в нормальное состояние. В патенте RU 2253903 (опубл. 10.06.2005) предложен способ блокирования деления раковых клеток, включающий воздействие на клетку или группу клеток внешнего источника энергии, отличающийся тем, что перед воздействием вводят по меньшей мере два электрода, один на цитоплазматическую поверхность мембраны клетки, а другой - на наружную поверхность мембраны клетки, и измеряют значение мембранного потенциала, после чего к введенным электродам подключают противоположно по полярности внешний источник ЭДС со значением разности потенциалов не меньше значения мембранного потенциала клетки.

Предлагаемые в патентах RU 2270663 и RU 2253903 способы подавления пролиферативной активности раковых клеток основаны на воздействии электрического потенциала на мембраны клеток при введении в опухоль электродов. Эти способы сложны и травматичны. Кроме того, будет подавляться только рост клеток непосредственно контактирующих с поверхностью электродов. Клетки опухоли, не контактирующие с потенциальными электродами, будут активны.

Также известен электропозитивный препарат против рака (10), действие которого основано на использовании молекул F16 с положительным зарядом. Молекула притягивается к отрицательно заряженным митохондриям раковых клеток и прилипает к ним. Митохондрии многих разновидностей раковых клеток имеют более высокий отрицательный заряд. В результате F16 накапливаются в митохондриях раковых клеток, приводя вскоре к их гибели. Исследования под электронным микроскопом показали, что, когда митохондрия слипается с F16, она раздувается, и в конечном счете внешние мембраны клетки под воздействием раздувшихся митондриев разрушаются, и раковая клетка гибнет.

К недостаткам указанного препарата относится то, что наряду с митохондриями раковых клеток часть молекул F16 может накапливаться в нормальных клетках, которые тоже заряжены отрицательно, и приводить к их гибели.

Как можно видеть из вышеприведенных аналогов, оксигидроксиды металлов, полимерные материалы, молекулы способны избирательно влиять на живые клетки вследствие воздействия на биологические структуры электрического заряда. Эти свойства используются для сорбции микроорганизмов, ранозаживления, снятия болевого синдрома, подавления пролиферации опухолевых клеток. Однако в настоящее время существует особая потребность в материалах, имеющих как более высокий уровень сорбционной емкости, так и более высокий уровень биологической активности, которые можно обеспечить, модифицируя электрические свойства материалов.

Раскрытие изобретения

Задачей настоящего изобретения является применение низкоразмерных структур и/или агломератов, сформированных из оксигидроксидов металлов или их композитов, состоящих по меньшей мере из двух оксигидроксидов металлов, выбранных из группы металлов, состоящей из Al, Fe, Mg и Ti, в качестве средства угнетения пролиферативной активности опухолевых клеток.

Настоящее раскрытие основано на неожиданном наблюдении, что упомянутые низкоразмерные структуры и/или агломераты, обладающие особой геометрической формой и размерными параметрами, способны подавлять рост раковых клеток.

Еще одной задачей настоящего изобретения является использование упомянутых низкоразмерных структур и/или их агломератов для подавления пролиферации раковых клеток, а также их применение в составе противоопухолевых средств.

Предлагаемые низкоразмерные, главным образом двумерные (2D), складчатые структуры органических и/или неорганических веществ и/или сформированные ими агломераты имеют складки и грани неправильной формы и обладают локально высоким уровнем напряженности электрического поля, формируемого поверхностными зарядами на упомянутых складках, гранях и ребрах граней.

Кроме того, упомянутые низкоразмерные структуры имеют складки и грани неправильной формы, один размер которых составляет от 200 до 500 нм и по меньшей мере один размер, предпочтительно поперечный размер (толщина), грани не более 10 нм.

Предпочтительно, что поперечный размер (толщина) грани составляет от 5 до 8 нм, предпочтительно не более 2 нм.

При этом агломераты состоят из чередующихся; перекрывающихся; сопряженных; гомогенно или гетерогенно смешанных фрагментов двумерных (2D) структур.

Кроме того, локальный уровень напряженности электрического поля, а именно на складках и гранях, образующих низкоразмерные складчатые структуры, составляет не менее 10^6 В/м.

Кроме того, упомянутые агломераты низкоразмерных складчатых структур имеют форму, близкую к сферической.

Упомянутые низкоразмерные структуры и/или агломераты применяют в составе композиции, состоящей из упомянутых низкоразмерных структур и/или их агломератов и веществ, обладающих фармакологическим и/или поглощающим действием.

Такое свойство как высокий локальный уровень напряженности электрического поля, присущий заявляемым низкоразмерным структурам и их агломератам из оксигидроксидов металлов, обеспечивается поверхностным зарядом, присущим оксигидроксидам металлов группы Al, Fe, Mg, Ti в водных средах;

низкой размерностью и складчатостью 2D структур и образованных ими агломератов упомянутых оксигидроксидов металлов вследствие малой толщины или радиуса кривизны ребер и складок электрически заряженных граней элементов, образующих агломераты.

Под агломератами в настоящем изобретении следует понимать: чередующиеся; перекрывающиеся; сопряженные; гомогенно или гетерогенно смешанные 2D структуры или их фрагменты.

В данном изобретении под оксидами и оксигидроксидами металлов понимают химические соединения, имеющие общую формулу $AlOOH$, $Al_2O_3 \cdot nH_2O$, где $n=0,8-3$, $FeOOH$, Fe_2O_3 , Fe_3O_4 , TiO_2 , $Mg(OH)_2$, MgO .

Известно (11), что поверхностная плотность зарядов δ для заряженного тела, пропорциональна кривизне поверхности k , $\delta \sim k$, где $k \sim 1/r$ (r - радиус кривизны). Соответственно максимальная плотность зарядов будет наблюдаться на ребрах граней и складках заявляемых низкоразмерных складчатых структур, составляющих агломераты/агрегаты и имеющих максимальное значение k . Таким образом, вследствие малого радиуса кривизны поверхности электрически заряженных ребер граней и складок оксигидроксидов металлов создается сильно неоднородное электрическое поле, действующее с силой F на заряженные частицы противоположного знака.

Под действием неоднородного электрического поля с локально высокой напряженностью на складках и ребрах граней низкоразмерных складчатых структур заряженные частицы движутся в сторону увеличения напряженности электрического поля, т.е. по градиенту модуля напряженности поля. Сила, дей-

ствующая между зарядом q_1 (заряд на гранях, ребрах и складах агломерата) и q_2 (заряд частицы сорбата), определяется законом Кулона:

$$F = \frac{q_1 q_2}{4\pi\epsilon_0 x^2},$$

где x - расстояние между сорбентом и сорбатом.

С учетом рассчитанной толщины грани низкоразмерных складчатых структур можно оценить напряженность ее электрического поля.

Напряженность электрического поля (мВ/нм):

$$E = \frac{\varphi}{R},$$

где φ - потенциал агломерата,

R - толщина грани.

Сила, действующая на заряженную частицу, находящуюся вблизи низкоразмерных складчатых структур, будет определяться выражением:

$$F = qE,$$

где q - заряд частицы (11).

Авторами было рассчитано (см. примеры), что у непористых частиц правильной сферической формы напряженность приблизительно на 3 порядка меньше, чем на ребре грани складчатой структуры.

Соответственно, при $q = \text{const}$ сила, действующая на частицу (низкоразмерную складчатую структуру и их агломераты), будет в 600 раз больше, чем для компактных непористых сферических частиц аналогичного размера.

Аналогичный эффект будет наблюдаться и у неполярных полимерных материалов как природных, искусственных, так и синтетических с удельной проводимостью не более $10^{-10} \text{ Ом}^{-1}\text{см}^{-1}$, т.к. указанные полимеры могут приобретать электрический заряд при внешнем воздействии электрического поля, трения, при облучении электронным пучком, при помещении в область коронного разряда и т.д. (12). При этом на краях (гранях) и складах предлагаемых низкоразмерных полимерных структур, а также агломератов, сформированных этими структурами, будет формироваться высокий локальный уровень напряженности электрического поля.

При применении низкоразмерных структур (агломератов), имеющих складчатую форму (фиг. 1) и имеющих расстояние до 50 нм между низкоразмерными структурами, образующими агломерат, органические молекулы, ионы, микроорганизмы размером до 50 нм, (вирусы) могут проникать внутрь агломерата и удерживаться электрическим полем, возникающим как на гранях и складах.

Указанный выше эффект демонстрирует также фиг. 5 и 6. Из фиг. 5 и 6 видно, что дисперсные частицы - латексные сферы (фиг. 5) и частицы коллоидного серебра (фиг. 6) - сорбируются на гранях и проникают в объем агломерата, образованного низкоразмерными структурами. Таким образом, агломераты, образованные заявляемыми низкоразмерными структурами, обладают большой сорбционной емкостью.

По данным разных авторов (см., например, публикации 13 и 14) электрический потенциал нормальных клеток составляет минус 60...100 мВ, потенциал раковых клеток приблизительно равен минус 15...20 мВ. Когда нормальные клетки начинают деление, их электрический потенциал падает приблизительно до минус 15 мВ. При завершении деления клетки ее мембранный потенциал возвращается к естественному значению. По существующему мнению, ключевым компонентом лечения рака было бы восстановление естественного мембранного потенциала и, как следствие, нормального метаболизма клеток. Таким образом, регуляция потенциала клеточных мембран является одним из способов управления функциональным состоянием клеток.

При взаимодействии с клеточными мембранами, имеющими отрицательный заряд поверхности, положительно заряженные складчатые структуры будут притягиваться к поверхности клетки. При этом отрицательный заряд клеточной мембраны будет компенсироваться под воздействием положительного заряда складчатых структур. Увеличение потенциала клеточной мембраны вследствие воздействия электроположительных низкоразмерных складчатых структур приведет, с одной стороны, к активному делению нормальных клеток и к ускоренному ранозаживлению, с другой - к подавлению пролиферации раковых клеток.

Источники информации.

1. Reid, B., Song, B., McCaig, C. D. & Zhao, M. Wound healing in rat cornea: the role of electric currents. *FASEB J.* 19, 379–386 (2005).
2. Keese, C. R., Wegener, J., Walker, S. R. & Giaever, I. Electrical wound-healing assay for cells *in vitro*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 101, 1554–1559 (2004)
3. *Nature Letters* Vol 442|27 July 2006. P. 457 – 460
4. Cone CD: Unified theory on the basic mechanism of normal mitotic control and oncogenesis. *J Theor Biol* 97; 30:15U181.
5. Andrew A. Marino, Ilka G. Iliev, Michael A. Schwalke and at. al. Enriquer Association between Cell Membrane Potential and Breast Cancer // *Tumor Biol* 1994; 15:82-89
6. Richard Binggeli¹ and Ivan L. Cameron Cellular Potentials of Normal and Cancerous Fibroblasts and Hepatocytes // *CANCER RESEARCH*, Vol. 40, p.1830-1835, June 1980.
7. Sarah Sundelacruz & Michael Levin & David L. Kaplan Role of Membrane Potential in the Regulation of Cell Proliferation and Differentiation // *Stem Cell Rev and Rep* (2009) 5:231–246
8. Ларичев М. Н., Шайтура Н. С., Колокольников В. Н., Ларичева О. О., Школьников Е. И., Артемов В. В. Получение наноструктурных продуктов при окислении микронного порошка алюминия водой в ультразвуковом поле // *Перспективные материалы*, 2010, с. 290 -294
9. В. А. Дробышев ПОЛИМЕДЭЛ. Применение полимерной электретной пленки «Полимедэл» в медицине. Учебно-методическое пособие, издание 3-е. / Новосибирск, 2010, 36 с., отпечатано в ГУП «ИПК «Чувашия».
10. Fantin, V. R., Berardi, M. J., Scorrano, L., Korsmeyer, S. J., and Leder, P. A novel mitochondriotoxic small molecule that selectively inhibits tumor cell growth. *Cancer Cell*, 2: 29–42, 2002.
11. Савельев И. В. Курс общей физики, том II. Электричество // Издательство: «Наука», Москва, 1970, 501 с.]
12. Гороховатский Ю.А. Электретный эффект и его применение // *Соровский образовательный журнал*, №8, 1997, с. 92 – 98
13. Marino A., Iliev I., Schwalke M. Association between Cell Membrane Potential and Breast Cancer / *Tumor Biol* 1994;:15:82-89;
14. Steve Haltiwanger M.D. The Electrical Properties of Cancer Cells / <http://www.royalrife.com/haltiwanger1.pdf>

Изобретение поясняется графическими материалами

На фиг. 1 приведено ПЭМ-изображение агломерата оксигидроксида алюминия с заявляемой складчатой структурой и показаны ребра грани и складки: 1 - ребра грани, 2 - складки.

На фиг. 2 приведено СЭМ-изображение агломератов оксигидроксида алюминия с заявляемой складчатой структурой.

На фиг. 3 приведено СЭМ-изображение агломератов складчатых структур оксигидроксида железа.

На фиг. 4 приведено СЭМ-изображение агломератов складчатых структур оксида титана.

На фиг. 5 приведено ПЭМ-изображение агломератов складчатых структур с латексными сферами на ребрах граней и между складчатыми элементами агломерата оксигидроксида алюминия

На фиг. 6 приведено ПЭМ-изображение агломератов складчатых структур с частицами коллоидного серебра на ребрах граней и между складчатыми элементами агломерата оксигидроксида алюминия.

На фиг. 7 приведены результаты экспериментов на клетках линии Nos: количество живых клеток Nos, %, в зависимости от содержания оксигидроксида алюминия в 2 мл среды роста: 1 - 0,005 г, 2 - 0,01 г, 3 - 0,03 г

На фиг. 8. Приведены результаты на клетках линий HELA, MCF-7, UM-SCC-14C: количество живых раковых клеток (%) через 24 ч (а) и через 48 ч (б).

На фиг. 9. Приведены результаты на клетках линий HELA, MCF-7, UM-SCC-14C: пролиферация раковых клеток (%) через 24 ч (а) и через 48 ч (б).

На фиг. 10 приведено ПЭМ-изображение низкоразмерных складчатых структур (нанолистов) поливинилхлорида.

Примеры конкретного выполнения

Пример 1. Получение агломерата электроположительных низкоразмерных складчатых структур оксигидроксида алюминия (AlOOH).

Для получения агломератов с заявляемой формой и характеристиками проводили реакцию взаимодействия с водой исходного сырья, в качестве которого использовали порошок состава Al/AlN, полученный методом электрического взрыва алюминиевой проволоки в атмосфере азота, с размером частиц 80-100 нм, удельной поверхностью 21 м²/г и содержанием фазы AlN 70 мас. %.

Для проведения реакции 100 г порошка заливали 10,0 л воды, добавляли наночастицы оксида алюминия со средним размером 70 нм в количестве 0,1 мас. % относительно массы порошка, выступающие затравкой для увеличения скорости образования зародышей на частицах затравки и кристаллизации продуктов превращения, полученную суспензию нагревали от 25 до 60°C при интенсивном перемешивании механической мешалкой при скорости 200 об/мин.

Реакцию проводили при pH=9,4 в течение 60 мин до установления постоянного значения pH.

Полученный продукт высушивали при температуре 90°C до постоянной массы в течение 4 ч.

Масса полученного продукта составила 150 г. Удельная поверхность продукта, измеренная на приборе "Сорбтометр-М", составила 330 м²/г. Рентгенофазовый анализ, проведенный с помощью дифрактометра ДРОН-7, показал, что продукт представляет собой AlOOH.

На фиг. 1 приведена микрофотография агломератов низкоразмерных складчатых структур оксигидроксида алюминия, полученных с помощью просвечивающего микроскопа JEM 2100, которая демонстрирует наличие граней и складок.

На фиг. 2 приведена микрофотография агломератов низкоразмерных складчатых структур, полученных с помощью сканирующего микроскопа LEO EVO 50.

Размер агломератов составил от 0,5 до 7 мкм.

Дзета-потенциал агломератов определялся с помощью прибора ZetaSizer Nano ZS и составил около 60 мВ. С учетом толщины граней в среднем 5 нм можно оценить напряженность электрического поля на ребре грани. Напряженность электрического поля:

$$E = \frac{\varphi}{R},$$

где φ - потенциал агломерата,

R - толщина грани.

Напряженность электрического поля на ребре грани составляет $E=12$ мВ/нм или $1,2 \times 10^7$ В/м. Напряженность электрического поля на поверхности непористой сферической частицы оксигидроксида алюминия размером 3 мкм составляла бы 20 мВ/мкм или 2×10^4 В/м, т.е. приблизительно на 3 порядка меньше, чем на ребре грани.

Сила, действующая на заряженную частицу, находящуюся вблизи агломерата, будет определяться выражением:

$$F = qE,$$

где q - заряд частицы [Савельев И.В. Курс общей физики, том II. Электричество//Издательство: "Наука", Москва, 1970, 501 с].

Соответственно при $q=\text{const}$ сила, действующая на частицу, для агломерата, состоящего из низкоразмерных складчатых структур, будет в 600 раз больше, чем для непористой сферической частицы с аналогичным размером и химическим составом.

Пример 2. Получение агломератов низкоразмерных складчатых структур оксигидроксида железа (FeOOH).

Биметаллический нанопорошок Fe-Al с размером частиц около 100 нм получали параллельным электрическим взрывом железной и алюминиевой проволоки в атмосфере азота при соотношении Fe:Al=90:10 мас. %. 20 г порошка заливали 2000 мл дистиллированной воды и нагревали при постоянном перемешивании до 60°C. Контролировали и поддерживали pH реагирующей смеси на уровне 9,0 раствором аммиака. Реакцию проводили в течение 60 мин. Затем суспензию отфильтровывали, промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод и сушили при температуре 90°C в течение 4 ч.

Масса полученного продукта составила 25,4 г. Удельная поверхность продукта измерялась прибором "Сорбтометр-М" и составляла 220 м²/г.

Рентгенофазовый анализ, проведенный с помощью дифрактометра ДРОН-7, показал наличие в продукте в основном гетита FeOOH и небольшого содержания бемита AlOOH.

На фиг. 3 приведена микрофотография агломерата композита FeOOH/AlOOH, полученная с помощью сканирующего микроскопа LEO EVO 50, которая демонстрирует, что агломераты образованы из

множества низкоразмерных складчатых структур. Свойства указанного композита в основном определяются морфологией и свойствами гетита.

Размер агломератов составлял от 1,0 до 12,0 мкм. Дзета-потенциал агломератов, определенный с помощью прибора ZetaSizer Nano ZS, составил около 50 мВ.

Далее проводили расчеты, аналогичные указанным в примере 1.

Напряженность электрического поля на торце грани составила $E=2,5 \times 10^7$ В/м.

Для сравнения напряженность электрического поля на поверхности непористой сферической частицы с аналогичным химическим составом размером 1 мкм $E=5 \times 10^4$ В/м.

Пример 3. Получение агломерата низкоразмерных складчатых структур оксида Ti.

Агломераты низкоразмерных складчатых структур оксида Ti получали гидротермальным синтезом при температуре 130°C в течение 12 ч. Для этого к 100 г бутилата титана приливали 30 мл ацетилацетона и 10 мл дистиллированной воды при постоянном перемешивании. Затем добавляли 10 мл концентрированного раствора аммиака. Смесь нагревали до 130°C и проводили гидротермальную обработку в течение 12 ч при постоянном перемешивании. Полученную суспензию отфильтровывали и промывали изопропиловым спиртом и дистиллированной водой. Влажный порок сушили на воздухе при температуре 105°C в течение 10 ч.

Получено 18 г низкоразмерных складчатых структур оксида титана.

Удельная поверхность оксида титана, измеренная аналогично примерам 1 и 2, составила 380 м²/г.

На фиг. 4 приведена микрофотография агломератов оксида титана, полученных с помощью сканирующего микроскопа LEO EVO 50, которая демонстрирует, что агломераты образованы из множества низкоразмерных складчатых структур.

Размер агломератов составлял от 0,3 до 5,0 мкм.

Дзета-потенциал агломератов, определенный с помощью прибора ZetaSizer Nano ZS, составил около 40 мВ.

Далее проводили расчеты, аналогичные приведенным в примере 1.

Напряженность электрического поля на торце грани составила $E=1,3 \times 10^7$ В/м. Для сравнения напряженность электрического поля на поверхности непористой сферической частицы размером 0,3 мкм $E=1,3 \times 10^5$ В/м.

Пример 4. Получение низкоразмерных структур из поливинилхлорида.

Гранулы поливинилхлорида размером не более 1 мм помещались в растворитель тетрагидрофуран исходя из соотношения 10 вес.% поливинилхлорида, остальное растворитель. Суспензия выдерживалась в течение 8 дней при периодическом взбалтывании. После растворения поливинилхлорида в тетрагидрофуране образовывалась тягучая бесцветная жидкость. К 10 мл раствора поливинилхлорида в тетрагидрофуране добавляли 5 мг пористого AlOOH, приготовленного согласно примеру 1. Приготовленная смесь выдерживалась в течение 72 ч при периодическом перемешивании. После чего излишки раствора сливались, а осадок помещался в 30 мл метанола и выдерживался в течение 1 ч до полного выпадения осадка. Осадок отфильтровывался с помощью фильтровальной бумаги и помещался в печь, в которой сушился при 30°C в течении суток. Полученный сухой порошок помещался в 50% раствор щелочи NaOH и выдерживался в течение нескольких 5 дней под визуальным контролем. После полного растворения AlOOH и образования мутного осадка осадок отмывался большим количеством этилового спирта и высушивался при 30°C 24 ч.

На фиг. 10 приведено изображение низкоразмерных структур поливинилхлорида, полученное с помощью просвечивающей электронной микроскопии (микроскоп JEM 2100). Из микрофотографий следует, что исследованный образец состоит из перекрывающихся пластинок полимера.

Пример 5. Сорбция микроорганизмов оксигидроксидами металлов.

Культуры микроорганизмов E.coli 7935, St.aureus 209, P.aeruginosa 27583 культивировали на МПА в течение 24 ч в термостате при температуре 37±1°C, затем готовили взвесь микроорганизмов в концентрации $1,0 \times 10^3$ КОЕ/мл. E.coli 7935 - это короткие (длина 1-3 мкм, ширина 0,5-0,8 мкм) полиморфные подвижные и неподвижные грамтрицательные палочки; St.aureus 209 - грамположительные шаровидные клетки диаметром 0,5-1,5 мкм; P.aeruginosa 27583 - грамтрицательная прямая палочка длиной 1-3 мкм, шириной 0,5-0,7 мкм.

Измерение эффективности сорбции проводили на бактериях E.coli, St.aureus и P.aeruginosa согласно рекомендациям [Ворошилова А.А., Дианова Е.Д. Окисляющие нефть бактерии - показатели интенсивности биологического окисления нефти в природных условиях//Микробиология, 1952. - т.21. - вып.4. -С. 408-415]. Для определения эффективности сорбции образцы стерилизованного в автоклаве продукта с массой 100 мг помещали в стерильные колбы и добавляли 30 мл бактериальной суспензии с концентрацией $1,0 \times 10^3$ КОЕ/мл. Адсорбцию микроорганизмов на образцах проводили при постоянном перемешивании суспензии в течение 30 мин на магнитной мешалке со скоростью 500 об/мин. Далее пробы центрифугировали в течение 3 мин при скорости вращения 1300 об/мин и осуществляли посев 1 мл надосадочной жидкости на МПА, посеы инкубировали в термостате при температуре 37±1°C в течение 24 ч. Через сутки после инкубирования проводили подсчет колоний.

Значения эффективности сорбции емкости приведены в табл. 1.

Таблица 1. Эффективность сорбции микроорганизмов

Продукт	Эффективность сорбции		
	<i>E.coli</i>	<i>St.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>
Оксигидроксид Al	99,8±0,24 (n=11)	93,7±0,22 (n=6)	96,5±0,39 (n=14)
Оксигидроксид Fe	92,1±0,20 (n=10)	95,5±0,25 (n=10)	87,3±0,40 (n=10)
Оксид Ti	89,0±0,25 (n=11)	96,3±0,20 (n=8)	87,3±0,30 (n=10)

Аналогично проводили эксперименты по сорбции микроорганизмов в зависимости от величины pH (табл. 2).

Таблица 2. Эффективность сорбции микроорганизмов оксигидроксидом Al в зависимости от значения pH

Исходная концентрация штамма <i>E.coli</i> , КОЕ/мл	Значение pH суспензии перед фильтрацией	Концентрация штамма надосадочной жидкости <i>E.coli</i> , КОЕ/мл	Адсорбированные клетки, %
$3,00 \cdot 10^3$	5,0	$<1 \cdot 10^2$	> 99,99
$2,80 \cdot 10^3$	7,0	$1,6 \cdot 10^3$	> 99,94
$2,50 \cdot 10^3$	9,0	$<1 \cdot 10^2$	> 99,99

Пример 6. Сорбция неорганических ионов оксигидроксидом железа с заявляемой формой и характеристиками.

Готовили модельный раствор ионов металлов, содержащий 0,25 мг/л мышьяка в форме арсенат-ионов, 0,4 мг/л марганца, 0,5 мг/л свинца и 3 мг/л меди. К 100 мл модельного раствора прибавляли 1 г агломератов складчатых структур оксигидроксида железа, полученную смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Определяли содержание ионов металлов после адсорбции. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3. Остаточное содержание неорганических загрязнений в воде

Показатель	Содержание компонента мг/л		ПДК для питьевой воды, мг/л
	До очистки	После очистки	
Мышьяк	0,25±0,02	0,037±0,004	0,05
Марганец	0,40±0,05	0,06±0,01	0,1
Свинец	0,50±0,03	0,18±0,03	0,3
Медь	3,0±0,2	0,55±0,04	1,0

При адсорбции неорганических ионов из воды низкоразмерными складчатыми структурами оксигидроксида железа в статических условиях остаточная концентрация неорганических загрязнений была ниже ПДК для питьевой воды [СанПиН 2.1.4.1074-01 Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества].

Пример 7. Применение оксидов/оксигидроксида металлов с заявляемой формой и характеристиками для заживления ран.

Для проведения исследования использовались белые беспородные крысы-самцы весом 140-210 г, всего 100 животных, по 20 животных на каждое испытание (4 вида гидроксидов) и 20 животных - контрольная группа. У животных удалили шерсть в области правой лопатки, поле чего через трафарет выделяли участок площадью 2 см². На выделенном участке проводили иссечение кожного лоскута и подкожной клетчатки до подлежащей фасции. Края и дно раны подвергали размозжению при помощи зажима Кохера.

Рану орошали взвесью микроорганизмов *St.aureus* в концентрации 5×10^5 КОЕ/мл (Способ моделирования инфекционной раны мягких тканей /Суховой Ю.Г., Цирятьева С.Б., Минин А.С., Самусев Р.С., Сыч А.С., Костоломова Е.Г.//патент РФ № 2321898 от 10.04.2008 г., опубл. Бюл. № 1). Инфицирующая

доза составляла 2 мл на 200 г массы крысы. Инфицированную рану закрывали атравматичными тефлоновыми кольцами с крышками, которые препятствовали механическому раздражению раны животным при груминге.

Операция проводилась под баночным эфирным наркозом в нестерильных условиях. Лечение раны начинали через 48 ч, когда рана имела признаки острого гнойного воспаления, оксигидроксиды металлов, полученные по примерам 1-3, в виде сухого порошка массой 2 г наносили на рану один раз в сутки. Курс лечения длился в зависимости от скорости очищения раны.

Оценка динамики гнойного раневого процесса проводилась путем ежедневного наблюдения за животным в течение 25 дней.

Оценивались следующие параметры:

- наличие гнойного или сукровичного отделяемого из раны;
- местная воспалительная реакция (гиперемия и отек в области раны);
- скорость санации раны (очищение от некротических масс и прекращение раневого отделяемого);
- скорость формирования вторичного рубца.

Критериями заживления являлись сроки очищения раны от гнойно-некротических тканей, сроки появления грануляций, сроки начала и полной эпителизации раны. Также оценивались исходы заживления раны. Данные представлены в табл. 4.

Таблица 4. Результаты санации и заживления кожной раны в группах животных*

№ группы	Видимое очищение раны, сутки	Появление видимых грануляций, сутки	Начало видимой эпителизации или (краевая), сутки	Видимая эпителизация раны на 50 %, сутки	Полная эпителизация, сутки
Контроль	14,5±1,7	12,5±1,3	11,5±1,0	18,0±2,5	21,0±2,6
Оксигидроксид Al	3,0±0,3	2,5±0,3	2,0±0,2	4,4±0,4	8,5±0,9
Оксигидроксид Fe	3,5±0,3	2,0±0,2	2,0±0,2	5,0±0,5	8,0±0,5
Оксид Ti	4,5±0,4	5,5±0,5	3,5±0,5	4,0±0,4	9,5±1,0

*p < 0,05

Из приведенных данных следует, что относительно контрольной группы животных при применении оксигидроксидов металлов процесс ранозаживления резко ускорился. Время полной эпителизации относительно контрольной группы уменьшилось на 40-62%. Очевидно указанный эффект связан как с очищением раны от микроорганизмов, так и с пролиферацией клеток (эпителизацией) тканей. Характерно, что заживление ран произошло без образования грубых рубцов.

Содержание животных осуществлялось в соответствии с Приказом №267 от 19 июня 2003 г. "Об утверждении правил лабораторной техники" и правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях типового вивария в пластиковых клетках (по одной особи в клетке) на подстилке из опилок, в условиях свободного доступа к воде и пище (стандартный рацион), при естественном световом режиме.

Пример 8. Применение оксигидроксида алюминия с заявляемой формой и характеристиками для подавления роста раковых клеток.

Для проведения эксперимента культура Nos (TE85, clone F5,) постоянная линия, из ткани остеосаркомы человека рассеивались в 50 мл культуральные сосуды (матрасы) в количестве 1,1 млн на один матрас. Монослой формировался на 2-3 сутки. Сформированный монослой промывали ростовой средой без добавления сыворотки, порошок оксигидроксида алюминия в количестве 0,005, 0,01 и 0,03 г суспендировали в 2 мл сред роста и помещали на монослой клеток. Затем добавляли по 5 мл ростовой среды с 2% эмбриональной сыворотки. Клетки инкубировали в термостате при 37±1°C. Культивирование клеток в эксперименте проводилось согласно рекомендациям паспорта на используемую линию клеток. Для определения индекса пролиферации (ИП, отношение числа выросших клеток к числу посеянных) монослой снимали смесью трипсина и версена через 24, 48 и 72 ч после начала контакта с порошком оксигидроксида алюминия. Далее производили подсчет клеток в гемоцитометре (камере Горяева), используя при этом витальную окраску трипановым синим, для параллельного определения количества живых и погибших клеток. При окраске трипановым синим живые клетки остаются бесцветными, а поврежденные окрашиваются в сине-голубой цвет. Все эксперименты сопровождалось контролем, проводились в 2 по-

вторностях, а подсчет клеток осуществляли в 3 повторностях.

При подсчете ИП учитывалась посевная доза на 1 культуральный сосуд, она всегда была равна 1,1 млн, а объем среды для снятия и ресуспендирования клеток равнялся 3,0 мл.

Клетки линии Nos согласно плану проведения эксперимента были выращены в виде монослоя, на который действовали возрастающими количествами оксигидроксида алюминия: 0,005; 0,01 и 0,03 г.

Для измерения пролиферации культуры клеток HELA (рак шейки матки человека), MCF-7 (рак молочной железы человека) и UM-SCC-14C (плоскоклеточный рак кожи) в количестве 1×10^5 клеток/лунка рассеивали в 96-луночный планшет (Saphire) в ростовой среде DMEM или MEM, содержащей 2 mM L-глутамин, 100 единиц пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 10% фетальной бычьей сыворотки. Порошок оксигидроксида алюминия в концентрации 0,005 г/мл суспендировали в фосфатном буфере (pH 7,4) и помещали на монослой клеток. В контрольной группе оксигидроксид алюминия отсутствовал. Клетки инкубировали 24 и 48 ч в термостате при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ во влажной атмосфере с содержанием CO_2 5%. Проллиферация клеток детектировалась с помощью встраивания 5-бром-2'-диоксиуридина (BrdU) в de novo синтезирующуюся ДНК реплицирующихся клеток (синтетическая фаза клеточного цикла) с заменой тимидина в процессе репликации ДНК. Флюоресцентная детекция BrdU проводилась с помощью микропланшетного фотометра Tecan (Австрия) при длине волны возбуждения 370 нм и длине волны эмиссии 470 нм.

Для изучения влияния оксигидроксида алюминия на жизнеспособность раковых клеток культуры клеток HELA (рак шейки матки человека), MCF-7 (рак молочной железы человека), UM-SCC-14C (плоскоклеточный рак кожи) рассеивали в 15 см культуральные чашки Петри и культивировали в ростовой среде DMEM или MEM содержащей 2 mM л-глутамин, 100 единиц пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 10% фетальной бычьей сыворотки до образования конфлюэнтного монослоя. Порошок оксигидроксида алюминия в концентрации 0,005 г/мл суспендировали в фосфатном буфере (pH 7,4) и помещали на монослой клеток. Клетки инкубировали 24 и 48 ч в термостате при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ во влажной атмосфере с содержанием CO_2 5%. Для определения количества живых клеток монослой снимали раствором TrypLE Select (Gibco) и производили подсчет клеток в полученной суспензии с помощью гемоцитометра (камера Горяева). Для параллельного определения количества живых и погибших клеток использовалась витальная окраска 0,1% трипановым синим.

Перед проведением экспериментов навески порошка оксигидроксида алюминия стерилизовали паром трехкратно с интервалом 24 ч при 121°C в течение 20 мин.

Результаты экспериментов на клетках линии Nos приведены на фиг. 7: количество живых клеток Nos,%, в зависимости от содержания оксигидроксида алюминия в 2 мл среды роста: 1 - 0,005 г, 2 - 0,01 г, 3 - 0,03 г; и в табл. 5 (W - процентное содержание клеток). Результаты экспериментов на клетках линий HELA, MCF-7, UM-SCC-14C приведены на фиг. 8 и 9. На фиг. 8 приведено количество живых раковых клеток (%) через 24 ч (а) и через 48 ч (б). На фиг. 9. Приведены результаты пролиферации раковых клеток (%) через 24 ч (а) и через 48 ч (б).

Как следует из приведенных данных, воздействие на культуру опухолевых клеток оксигидроксида алюминия заметно угнетает их жизнедеятельность. Оксигидроксид алюминия можно использовать как в виде порошка, так и нанесенным на волокнистый или пористый носитель.

Пример 9. Сорбция микроорганизмов низкоразмерными структурами поливинилхлорида.

Культуры микроорганизмов E.coli 7935 культивировали на МПА в течение 24 ч в термостате при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$, затем готовили взвесь микроорганизмов в концентрации $1,0 \times 10^3$ КОЕ/мл.

Измерение эффективности сорбции проводили на бактериях E.coli согласно рекомендациям [Ворошилова А.А., Дианова Е.Д. Окисляющие нефть бактерии - показатели интенсивности биологического окисления нефти в природных условиях//Микробиология, 1952. - т.21. - вып.4. - С. 408-415.]. Для определения эффективности сорбции образцы стерилизованного в автоклаве продукта с массой 10 мг помещали в стерильные колбы и добавляли 3 мл бактериальной суспензии с концентрацией $1,0 \times 10^3$ КОЕ/мл. Адсорбцию микроорганизмов на образцах проводили при постоянном перемешивании суспензии в течение 30 мин на магнитной мешалке со скоростью 500 об/мин. Далее пробы центрифугировали в течение 3 мин при скорости вращения 1300 об/мин и осуществляли посев 1 мл надосадочной жидкости на МПА, посева инкубировали в термостате при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. Через сутки после инкубирования проводили подсчет колоний.

Значения эффективности сорбции емкости приведены в табл. 5.

Таблица 5. Эффективность сорбции микроорганизмов низкоразмерными структурами поливинилхлорида

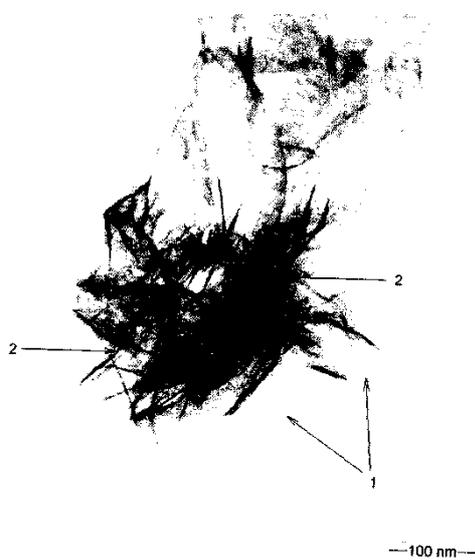
Продукт	Эффективность сорбции
	E.coli
Поливинилхлорид	94,0 \pm 0,35 (n=14)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

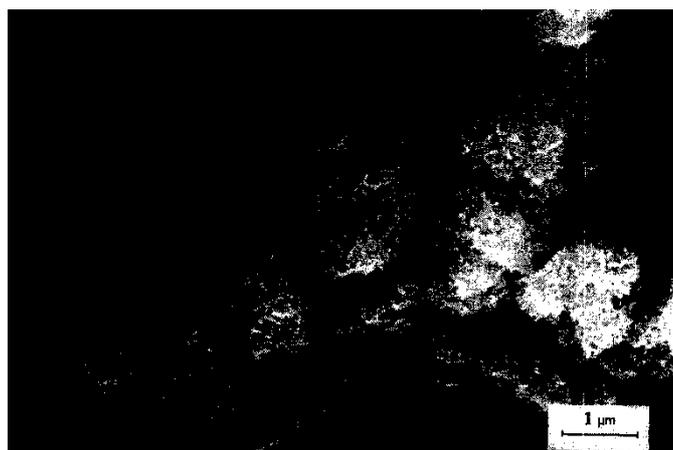
1. Применение низкоразмерных структур и/или их агломератов, сформированных из оксигидроксидов металлов или их композитов, состоящих по меньшей мере из двух оксигидроксидов металлов, выбранных из группы металлов, состоящей из Al, Fe, Mg и Ti, которые имеют складки и грани неправильной формы, и обладающих локальным уровнем напряженности электрического поля, формируемого поверхностными зарядами на упомянутых складках, гранях и ребрах граней, который составляет не менее 10^6 В/м, в качестве средства угнетения пролиферативной активности опухолевых клеток.

2. Применение низкоразмерных структур и/или их агломератов по п.1, отличающееся тем, что они имеют складки и грани неправильной формы, один размер которых составляет от 200 до 500 нм и по меньшей мере один размер, предпочтительно поперечный размер (толщину), грани не более 10 нм, предпочтительно от 5 до 8 нм, предпочтительно не более 2 нм, при этом агломераты состоят из чередующихся, перекрывающихся, сопряженных, гомогенно или гетерогенно смешанных фрагментов двумерных (2D) структур.

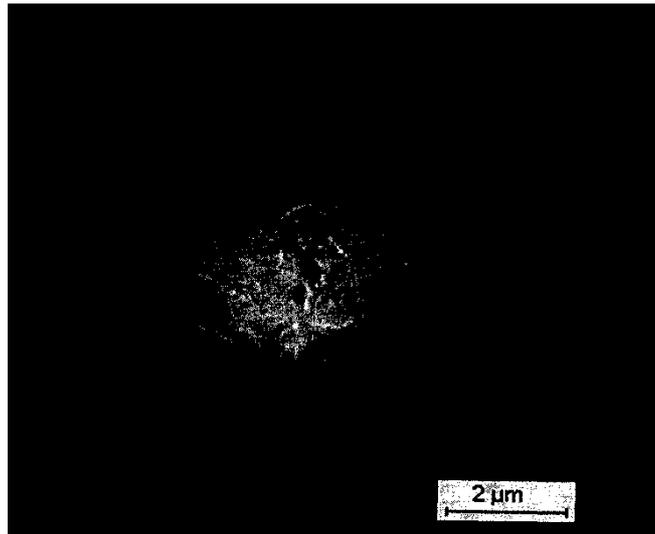
3. Применение низкоразмерных структур и/или их агломератов по п.1 или 2 в составе композиции, состоящей из упомянутых низкоразмерных структур и/или их агломератов и веществ, обладающих противоопухолевым действием.



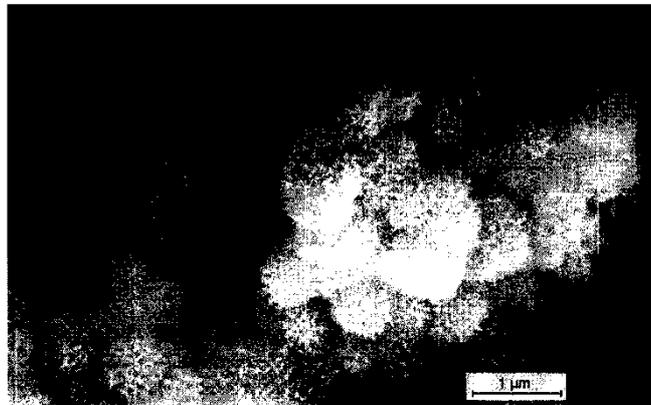
Фиг. 1



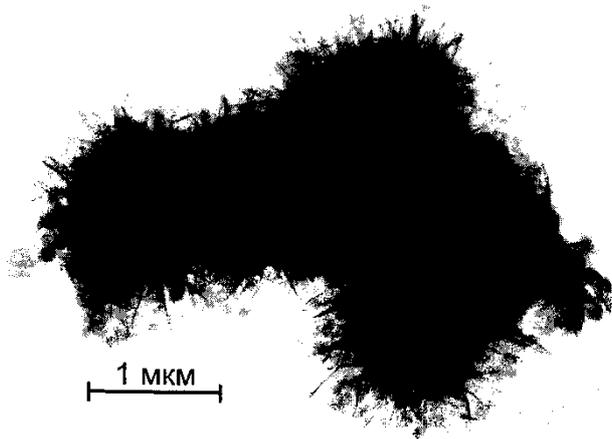
Фиг. 2



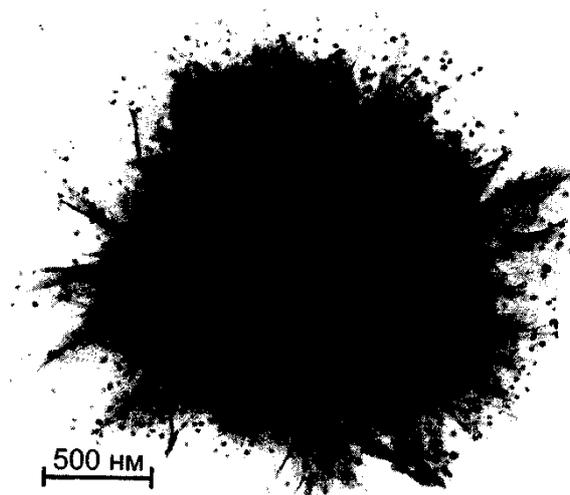
Фиг. 3



Фиг. 4



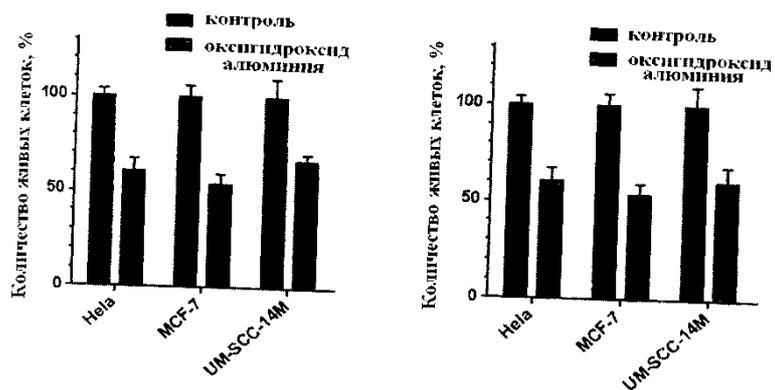
Фиг. 5



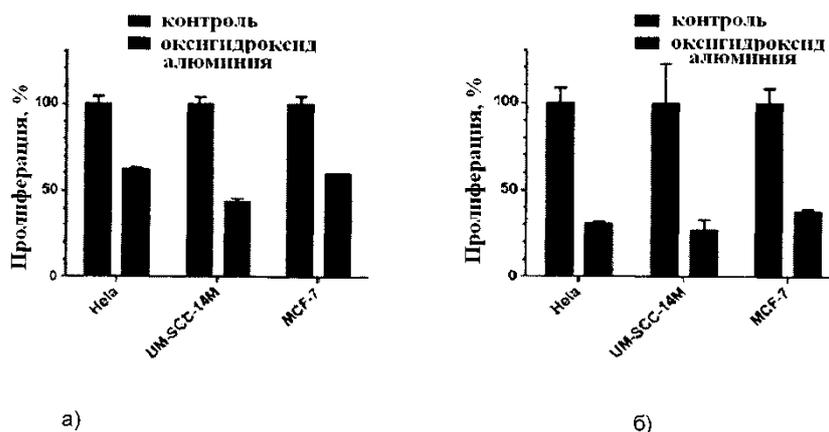
Фиг. 6



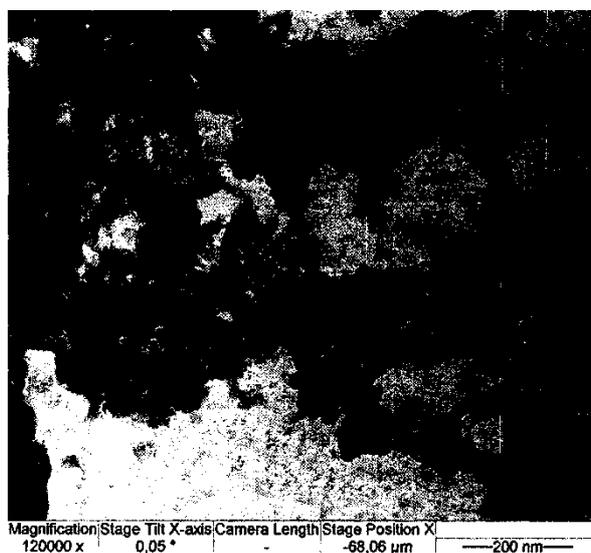
Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10