

Л.С. Семко, Л.П. Сторожук, М.В. Абрамов, П.П. Горбик

## Магніточутливі імуносорбенти з ковалентним приєднанням імуноглобулінів до поверхневого шару наноконкомпозитів

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України  
вул. Генерала Наумова 17, 03164 Київ-164. E-mail: storozhukl@mail.ru*

Розроблено методики синтезу магніточутливих наноконкомпозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /амінопропілсилоксан та імуносорбентів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /амінопропіл-силоксан/імуноглобулін з ковалентним приєднанням імуноглобуліну до поверхні наноконкомпозитів.

Встановлено взаємозв'язок між структурою, складом та магнітними властивостями наноконкомпозитів. Виявлено, що зв'язок між поверхнею наноконкомпозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /амінопропілсилоксан та імуноглобуліном в одержаних імуносорбентах (з ковалентним приєднанням імуноглобуліну) стійкий до фізіологічного розчину (рН = 7) та слабколужних буферних систем.

**Ключові слова:** модифікування поверхні, магнетит, амінопропілсилоксан, наноконкомпозит, імуносорбент, ковалентне приєднання, імуноглобулін.

*Стаття поступила до редакції 01.06.2010; прийнята до друку 15.09.2010.*

### Вступ

Створення магнітокерованих біоактивних наноконкомпозитів, адсорбентів та імуносорбентів – актуальна проблема нанотехнологій і біотехнологій. Інформацію стосовно магнітних адсорбентів наведено в [1-7], а магнітокерованих імуносорбентів в [8]. Особливий інтерес дослідників викликає розробка нових магнітних імуносорбентів. Такі препарати можуть бути застосовані для очистки крові від вірусів, в онкології, імунології, імуноаналізі тощо [7-10].

Магніточутливі імуносорбенти – це шаруваті матеріали, що складаються з магнітної основи (ядра), біосумісної немагнітної оболонки (сорбенту) та зовнішнього покриття з імунного компоненту (переважно імуноглобуліну (Ig)). Як магніточутливу фазу використовують переважно залізо, кобальт, нікель, оксиди заліза [7-10]. Для створення сорбційної оболонки застосовують оксиди кремнію, титану, олова або полімери [7-12]. Раніше нами було одержано серію наноконкомпозитів на основі магнетиту, модифікованого діоксидом кремнію, та досліджені їх структура і властивості [13, 15]. Встановлено, що мінімальна товщина шару, що перешкоджає окисленню частинок магнетиту, забезпечується модифікуванням 0,15-0,18 г  $\text{SiO}_2$  на 1 г поверхні магнетиту; 1,5-1,8 мг на  $1\text{ м}^2$  магнетиту. Показано, що таке покриття  $\text{SiO}_2$  на поверхні магнетиту підвищує термічну стабільність наноконкомпозитів, а також сприяє збільшенню їх поверхні у порівнянні з

немодифікованим магнетитом.

В залежності від вимог дослідника до матеріалу шари між адсорбентом і Ig можуть бути поєднані за рахунок адсорбційної взаємодії, хелатного зв'язування або хімічних зв'язків [13]. Наприклад, у випадку адсорбції Ig сорбентом з розчинів з малою його концентрацією (в кролячій сироватці) за рахунок десорбції Ig в розчин з малим об'ємом розчинника можна підвищити концентрацію Ig.

У випадку, коли імуносорбент використовується для утворення такого імуномагнітного комплексу, як магнітний компонент/ $\text{SiO}_2$ /Ig/вірус, тоді зв'язки між шарами в наноконкомпозиті магнетит/ $\text{SiO}_2$ /Ig повинні бути достатньо міцними, щоб не зруйнуватись у середовищі, в якому знаходиться вірус. Отже, міцність зв'язків на границі сорбент/Ig бажано вміти регулювати від характерної для адсорбційної взаємодії і аж до типової для хімічних зв'язків.

Раніше [13] нами було одержано та досліджено імуносорбенти з адсорбційним приєднанням Ig до поверхні композиту магнетит/ $\text{SiO}_2$ .

Метою цієї роботи є розробка нових перспективних магнітокерованих імуносорбентів з ковалентним приєднанням Ig до поверхні наноконкомпозитів та визначення їх стійкості до модельних середовищ.

Новизна роботи полягає в отриманні нових даних стосовно оптимальних умов одержання, особливостей побудови структури та поліфункціональних властивостей імуносорбентів на основі наноконкомпозитів типу

магнетит/SiO<sub>2</sub>/амінопропілсиліоксан, а також визначення умов руйнування вказаних супрамолекулярних комплексів в імуносорбентах.

## I. Методики синтезу та дослідження

Об'єктами дослідження в даній роботі є нанокристалічний магнетит, який складає магнітне ядро нанокompatитів, а також нанокompatити Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> із різним вмістом відповідних оксидів в поверхневих шарах, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/амінопропілсиліоксан та імуносорбенти, одержані на їх основі.

Синтез магнетиту детально описаний в [2, 14]. Для його одержання використовували реакцію швидкої нейтралізації надлишком водного розчину аміаку суміші солей дво- і тривалентного заліза.

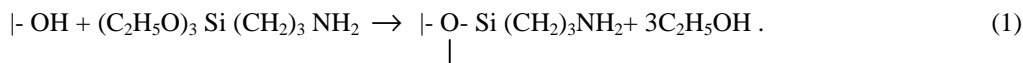
Для одержання вищезазначених нанокompatитів типу Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> можливе застосування як прекурсорів SiO<sub>2</sub> тетраметоксисилану (ТМЕС), тетраетоксисилану (ТЕОС), силікату натрію [2, 14, 15]. В даній роботі як прекурсор використовували ТЕОС. Одержання та властивості магнітокерованих нанокompatитів, синтезованих з використанням ТЕОС, наведено в [2,14,15]. Виготовлення цих нанокompatитів включає такі основні стадії: синтез магнетиту, попередній гідроліз прекурсора в суміші

відповідного спирту і води, обробка заданої наважки магнетиту продуктами попереднього гідролізу ТЕОС, змішування, нагрівання, поліконденсацію продуктів гідролізу на поверхні магнетиту та термообробку. Вміст SiO<sub>2</sub> на поверхні 1 г магнетиту змінювали від 0 до 0,7 г.

В зв'язку з тим, що шаруваті нанокompatити типу магнітний компонент/SiO<sub>2</sub> не утворюють хімічних зв'язків з імуноглобулінами, нами розроблена методика, в якій використано поєднуючий шар між поверхнею нанокompatитів та Ig. Для створення такого шару шляхом модифікування поверхні нанокompatитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> обрано γ-амінопропілтриетоксисилан (γ-АПТЕС), який широко застосовується для модифікування поверхні органічних і неорганічних матеріалів. Модифікування нанокompatиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> γ-АПТЕС-ом дозволяє не лише функціоналізувати поверхню аміногрупами, а і створити нанокompatит з високою адсорбційною здатністю [16].

Модифікування поверхні частинок нанокompatиту Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> проводили рідинно-фазовим способом – γ-АПТЕС у толуолі, аналогічно [17].

Реакцію поліконденсації можна відобразити схемою:



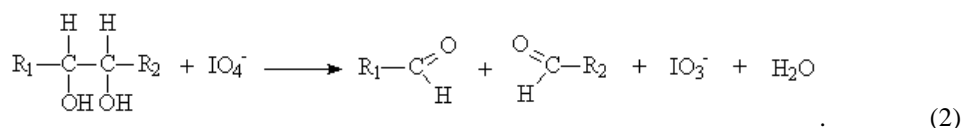
Спосіб модифікування поверхні нанокompatитів магнітний компонент/SiO<sub>2</sub> містить стадії попереднього висушування і диспергування в толуолі, змішування з γ-АПТЕС, кип'ятіння при перемішуванні за 110 °С протягом 6 год, очистку в магнітному полі від домішок і сушку.

Для ковалентного орієнтованого приєднання антитіл до функціоналізованих нанокompatитів застосовували методику Вільсона [21]. Раніше апробацію цієї методики здійснювали з використанням нанокompatитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/поліакриламід, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/полімер γ-АПТЕС [22]. Найпростіші молекули Ig(антитіл) мають форму букви Y. Відомо [18], що молекула Ig(антитіла) утворена з чотирьох поліпептидних ланцюгів. Два з них легкі та ідентичні (L-ланцюг із 220 амінокислот), а інші два важкі (H-ланцюг із 440 амінокислот). Всі чотири ланцюги поєднані між собою нековалентними та ковалентними (дисульфідними містками) зв'язками. Ланцюги, що зв'язують антиген, утворюються за рахунок одного H- та одного L-ланцюгів і мають на

кінці амінну групу. Ефективність реакції зв'язування антигена зростає завдяки гнучкій шарнірній ланці антитіла, яка дозволяє змінювати відстань між двома ланками, що зв'язують антиген. Шарнірна ланка знаходиться на H-ланцюгу. H-ланцюг також утворює «хвостову» ланку молекули, яка містить одну або декілька олігосахаридних ланцюгів та кінцеву карбоксильну групу.

Методика ковалентного приєднання Ig до магнітних адсорбентів ґрунтується на окисненні олігосахаридних ланцюгів Ig (антитіл) з наступним приєднанням до амінної групи нанокompatиту, орієнтованим закріпленням молекули Ig і утворенням основ Шиффа [18]. При цьому фрагменти, що зв'язують антиген залишаються вільними.

На першій стадії ковалентного приєднання Ig до амінофункціоналізованих нанокompatитів проводили окиснення карбогідратних бічних ланцюгів Ig (антитіл) в слабкокислому середовищі за допомогою KIO<sub>4</sub> протягом 20 хв за реакцією (2):



На наступній стадії здійснювали приєднання Ig до амінофункціоналізованих наноконкомпозитів.

Ковалентне зв'язування Ig на поверхні наноконкомпозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/ амінопропілсилоксан проводили у фосфатному буфері (pH 7,5) протягом 2

годин в динамічному режимі при кімнатній температурі.

Приєднання Ig до поверхні відбувалося за реакцією:



Для визначення властивостей магнетиту та одержаних наноконкомпозитів застосовували наступні методики. Питому поверхню вихідного Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> та зразків Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> визначали по адсорбції азоту (метод БЭТ) на устаткуванні "Kelvin-1042" (Costech International Instruments). Для ідентифікації магнетиту в наноконкомпозиті застосовували метод рентгенофазового аналізу (РФА). РФА проводили за допомогою дифрактометра (ДРОН-4-07) у випромінюванні кобальтового аноду ( $\lambda = 1,79021\text{\AA}$ ) з залізним фільтром у відбитих променях і геометрією зйомки за Брегом-Брентано. Для визначення наявності шару SiO<sub>2</sub> в наноконкомпозиті застосовували ІЧ-Фур'є спектроскопію. Дослідження наноконкомпозитів проводили на ІЧ-Фур'є спектрометрі NEXUS виробництва Thermo Nicolet (США) в діапазоні 600–4000 см<sup>-1</sup>.

Для дослідження магнітних властивостей порошок магнетиту і наноконкомпозитів на його основі використовували вібраційний магнітометр. Частота і амплітуда вібрації зразка задавалися генератором коливань і підсилювачем низької частоти. Вимірювання проведено на частоті 228 Гц при кімнатній температурі. Зразками для досліджень служили сухі розмагнічені порошки. Методика вимірів описана в [2, 14]. На основі експериментальних результатів будували циклічні залежності значень намагніченості ( $\sigma$ ) від напруженості магнітного поля (H) – петлі гістерезису. Використовуючи ці залежності, визначали наступні магнітні характеристики порошок магнетиту та наноконкомпозитів: індукцію та намагніченість насичення ( $B_s$  та  $M_s$ , відповідно), питому намагніченість насичення ( $\sigma_s$ ), залишкову намагніченість ( $\sigma_r$ ) та коерцитивну силу по індукції ( $H_c$ ).

Тестування адсорбційної здатності отриманих зразків та оцінку принципової можливості утворення імуносорбентів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/амінопропілсилоксан/Ig проводили з використанням розчину комерційного нормального імуноглобуліну людини. Останній був очищений від стабілізатора (гліцина) шляхом діалізу проти фізіологічного розчину протягом 24 годин за T = 4 °C. Вихідна концентрація Ig дорівнювала 86,37 мг/мл. Визначення адсорбційної здатності наноконкомпозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/амінопропілсилоксан проводили на зразках з вмістом SiO<sub>2</sub> в поверхневому шарі від 0,1 до 0,7 г та амінопропілсилоксану 0,05 –

0,15 г на 1 г магнетиту.

Для опису процесів адсорбції Ig на поверхні наноконкомпозитів використовували рівняння Ленгмюра типу  $A = A_{\max} \cdot K \cdot c / (1 + K \cdot c)$ , де A – величина адсорбції, K – коефіцієнт, c – відповідна концентрація.  $b = 1/A_{\max} \cdot K$ . Використовуючи лінеаризовану форму адсорбції Ig, за рівнянням Ленгмюра обчислювали параметри, які характеризують адсорбцію [19]. Це константа адсорбційної рівноваги b та величина максимальної адсорбції, яка відповідає повному заповненню поверхні мономолекулярним шаром адсорбата  $A_m$  (цей параметр зазвичай називають ємність моношару). E – середнє квадратичне відхилення при лінеаризації кривої.

Для оцінки процесів десорбції імуноглобулінів як модельний середовища обрано фізіологічний розчин і гліциновий буферний розчин (pH = 2,6, складається із суміші розчинів 0,2 М амінооцтової кислоти та 0,2 М розчину HCl).

## II. Експериментальні результати та їх обговорення

На основі аналізу одержаних результатів встановлено закономірності зміни структури і властивостей наноконкомпозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>. Із збільшенням вмісту SiO<sub>2</sub> в поверхневих шарах наноконкомпозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> питома поверхня переважно збільшується. Так, при зміні вмісту SiO<sub>2</sub> в наноконкомпозиті від 0 до 0,3 г на 1 г магнетиту питома поверхня зростає від 100 до 164 м<sup>2</sup>/г.

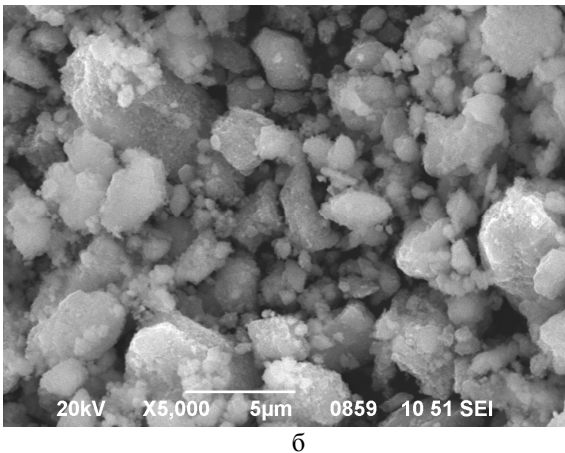
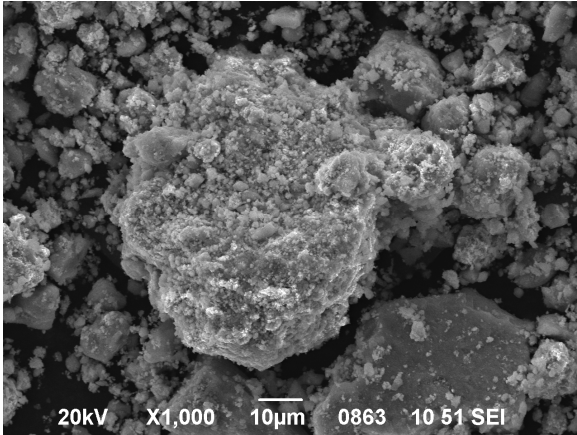
Ідентифікацію фази Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> в композитах було підтверджено даними РФА. На основі проведених досліджень, а також даних робіт [2, 14, 15] встановлено, що мінімальна товщина шару, яка перешкоджає окисненню частинок магнетиту, забезпечується модифікуванням 0,15-0,18 г SiO<sub>2</sub> на 1 г магнетиту; 1,5-1,8 мг на 1 м<sup>2</sup> магнетиту.

Наявність покриття SiO<sub>2</sub> в наноконкомпозитах підтверджено за допомогою методу ІЧ-Фур'є спектроскопії для всіх наноконкомпозитів [2, 13, 14]. Більш детально ІЧ-Фур'є спектри розглянутих наноконкомпозитів Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> обговорюються в [13].

На основі фізико-хімічних досліджень наноконкомпозитів магнітний компонент/SiO<sub>2</sub>/амінопропілсилоксан одержані такі основні результати. Питома поверхня вихідного

магнетиту і нанокompatивів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /амінопропілсилоксан склали відповідно 100, 130, 110  $\text{m}^2/\text{г}$ .

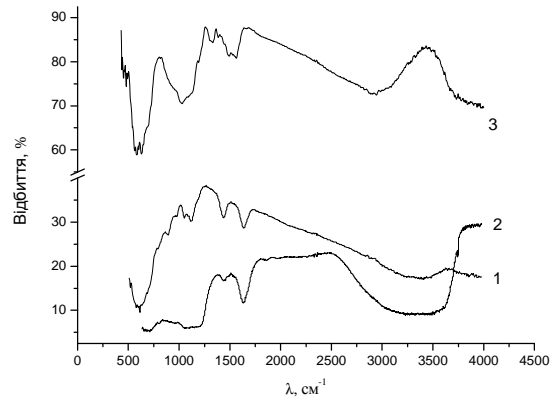
За допомогою скануючого електронного мікроскопа JEOL JSM-6490LV (Японія) досліджено морфологію порошків магнетиту та нанокompatивів. Оскільки використання оксиду кремнію дозволяє збільшити питому поверхню магнітокерованих адсорбентів, то модифіковані порошки більш однорідні і складаються з частинок менших розмірів, ніж відповідні немодифіковані порошки магнетиту (рис. 1).



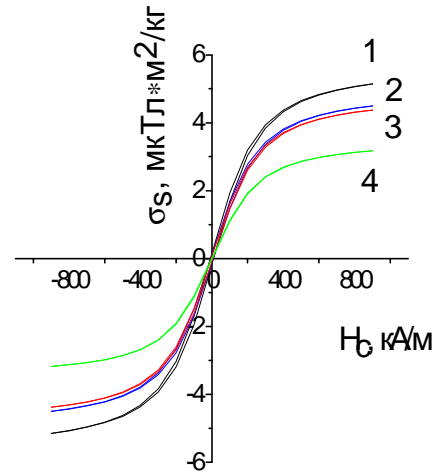
**Рис. 1.** Мікрофотографії нанокompatивів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$  (а),  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\gamma\text{-АПС}$ .

З аналізу ІЧ-спектрів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$  і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /амінопропілсилоксан ідентифіковано фази  $\text{SiO}_2$  та амінопропілсилоксану в нанокompatивах. Так, з ІЧ-Фур'є спектру нанокompatиву  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ , модифікованого  $\gamma\text{-АПТЕС}$  (рис. 2, крива 3), бачимо наступне. Смуга поглинання  $2939\text{ cm}^{-1}$  належить симетричним і антисиметричним валентним коливанням  $\text{CH}_2$ -груп амінопропільного радикалу. СП в області  $1573\text{ cm}^{-1}$  обумовлені деформаційними коливаннями молекул води, адсорбованої на поверхні магнетиту. СП  $1481\text{ cm}^{-1}$  належить деформаційним коливанням  $\text{NH}_2$ -груп [20]. Широка смуга поглинання в області  $1041\text{ cm}^{-1}$  і  $1137\text{ cm}^{-1}$  обумовлена утворенням полімерної структури  $-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$  з достатньо високим ступенем полімеризації [13], тобто на поверхні магнетиту відбувається

гідролітична поліконденсація молекул модифікатора з утворенням полімерної структури прищепленого



**Рис. 2.** ІЧ-Фур'є спектри вихідного магнетиту (1) та нанокompatивів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$  (2) і  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\gamma\text{-АПС}$  (3).



**Рис. 3.** Залежність питомої намагніченості ( $\sigma$ ) від напруженості магнітного поля ( $H$ ) для вихідного магнетиту (1) та нанокompatивів з концентрацією 0,1 (2), 0,3 (3), 0,68 (4) г  $\text{SiO}_2$  в поверхневому шарі на 1 г магнетиту, та були піддані термообробці при  $450^\circ\text{C}$  протягом 2 годин.

шару модифікатора.

Досліджено магнітні властивості одержаних композитів. Для зразків нанокompatивів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$  (рис. 3) та  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /амінопропілсилоксан характерні вузькі петлі гістерезису, типові для нанокристалічних матеріалів [13].

Збільшення вмісту  $\text{SiO}_2$  до 0,2 г на 1 г магнетиту зумовлює утворення суцільного покриття і перешкоджає окисненню магнетиту. Такий факт сприяє підвищенню значень  $\sigma_s$  нанокompatиву. Проте подальше підвищення маси немагнітного шару із  $\text{SiO}_2$  в нанокompatиві призводить до зменшення значень  $\sigma_s$ . Порівняння величини  $\sigma_s$  зразків із вмістом  $\text{SiO}_2$  в поверхневому шарі 0,68 г на 1 г магнетиту із відповідними значеннями немодифікованого магнетиту свідчить, що таке збільшення маси

зумовлює зниження  $\sigma_s$  на 38 % (з 5,15 до 3,18 мкТл·м<sup>2</sup>/кг). При цьому величина коерцитивної сили  $H_c$  зменшується майже в 4 рази (з 8,36 до 2,15 кА/м). Для зразка  $Fe_3O_4/SiO_2$ /амінопропілсілоксан також спостерігається тенденція зменшення значень  $\sigma_s$  із збільшенням маси немагнітного покриття. Отже можна стверджувати, що для забезпечення високих значень питомої намагніченості при насиченні необхідно вибирати оптимальну масу немагнітного покриття в нанокompозиті. Для цього потрібно ретельно проводити синтез нанокompозитів, витримувати оптимальні умови синтезу і враховувати адсорбційну здатність поверхневого шару.

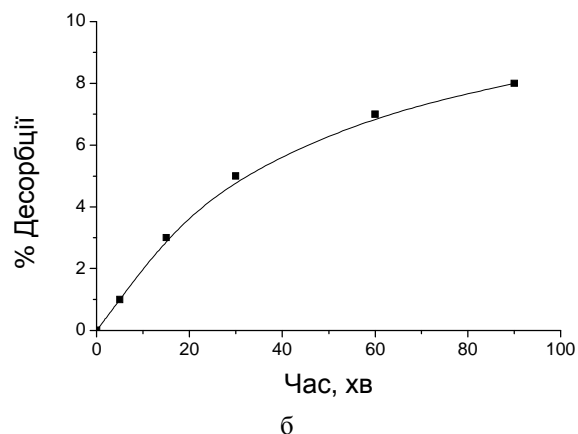
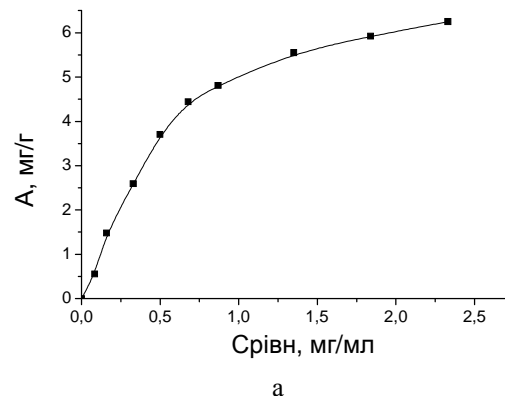
Розглянемо процеси адсорбції окисненого Ig на поверхні нанокompозитів  $Fe_3O_4/SiO_2$ /амінопропілсілоксан на прикладі зразка з вмістом 0,2 г  $SiO_2$  в поверхневому шарі та 0,15 г амінопропілсілоксану на 1 г магнетиту і отримання імуносорбентів на їх основі (рис. 4).

Ізотерми адсорбції Ig на композитах  $Fe_3O_4/SiO_2$ /амінопропілсілоксан (рис. 4, а), мають насичення. Така форма кривої може бути описана рівнянням Ленгмюра, яке справедливе для мономолекулярної адсорбції на адсорбенті з енергетично еквівалентними адсорбційними центрами. Тому, ізотерма була обрахована за допомогою рівняння Ленгмюра, записаному у лінійній формі:  $A = A_{max} \cdot K \cdot c / (1 + K \cdot c)$ , де  $A$  – величина адсорбції,  $K$  – коефіцієнт,  $c$  – відповідна концентрація.  $b = 1/A_{max} \cdot K$ . Використовуючи лінеаризовану форму адсорбції Ig, за рівнянням Ленгмюра обчислювали параметри, які характеризують адсорбцію. Характеристики адсорбції Ig складають відповідно:  $A = 6,25$  мг/г,  $A_m = 0,69$  мг/г,  $K_{ривн} = 2,56$ , похибка  $E = 0,068$ .

Десорбцію Ig з поверхні нанокompозитів  $Fe_3O_4/SiO_2$ /амінопропілсілоксан проводили у модельне середовище протягом 2 годин в динамічному режимі при кімнатній температурі. В якості модельного середовища були обрані фізіологічний розчин та буферний розчин, який має рН=2,6 і складається із суміші розчинів 0,2 М амінооцтової кислоти ( $C_2H_5NO_2$ ) та 0,2 М розчину HCl.

При вивченні кінетики десорбції встановлено, що десорбція імуноглобуліну з поверхні нанокompозиту  $Fe_3O_4/SiO_2$ /амінопропілсілоксан в модельне середовище (фізіологічний розчин) не відбувається, проте вона частково відбувається в кисле середовище гліцинового буферу з рН=2,6, при цьому величина десорбції складала 8,1 % (рис. 4, б).

Порівняння процесів десорбції Ig з поверхні імуносорбентів  $Fe_3O_4/SiO_2$ /Ig, одержаних за допомогою фізичної адсорбції в роботі [13] та ковалентного приєднання ( $Fe_3O_4/SiO_2$ /амінопропілсілоксан/Ig) дало наступні результати. Вивільнення імуноглобуліну, що іммобілізований за допомогою ковалентного зв'язку, перебігає повільніше і в меншій мірі, ніж у випадку неспецифічної іммобілізації при використанні імуносорбенту  $Fe_3O_4/SiO_2$ /Ig. Отримані



**Рис. 4.** Ізотерма адсорбції (а) окисненого Ig людини на прикладі нанокompозиту  $Fe_3O_4/SiO_2/\gamma$ -АПС (0,2 г  $SiO_2$  в поверхневому шарі та 0,15 г амінопропілсілоксану на 1 г магнетиту) та його десорбції (б) в модельне кисле середовище.

нанокompозити  $Fe_3O_4/SiO_2$  можуть бути застосовані для утворення магнітних імуносорбентів типу  $Fe_3O_4/SiO_2$ /Ig,  $Fe_3O_4/SiO_2$ /амінопропілсілоксан/Ig, а також одержання біомагнітного комплексу магнітний адсорбент-антиген (Ang), тобто  $Fe_3O_4/SiO_2$ /Ig/Ang. Як антиген можуть бути, зокрема, віруси гепатиту (А, В, С). Вище зазначені імуномагнітні супрамолекулярні комплекси можуть створюватися при деконтамінації плазми крові від вірусів.

## Висновки

Розроблено методики синтезу нанокompозитів  $Fe_3O_4/SiO_2$ ,  $Fe_3O_4/SiO_2$ /амінопропілсілоксан, а також магнітокерованих імуносорбентів типу  $Fe_3O_4/SiO_2$ /амінопропілсілоксан/Ig різного складу з ковалентним приєднанням імуноглобулінів до поверхні нанокompозитів.

Встановлено взаємозв'язок між структурою, складом та магнітними властивостями нанокompозитів. Показано, що величини питомої намагніченості при насиченні зразків нанокompозитів магнітний компонент/ $SiO_2$  з вмістом 0,15-0,2 г немагнітних компонентів (на 1 г магнітного)

наближаються до відповідних значень вихідних компонентів магнітної фази. Виявлено зменшення питомої намагніченості при насиченні зразків і нелінійна зміна коерцитивної сили при збільшенні вмісту немагнітних компонентів.

Показано, що максимальна кількість імуноглобуліну при ковалентному приєднанні до поверхні нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /амінопропілсилоксан при вмісті 0,2 г  $\text{SiO}_2$  і 0,15 г амінопропілсилоксану (на 1 г магнетиту) складає відповідно 6,25 мг на 1 г нанокompозиту.

Для опису процесів адсорбції Ig на поверхні нанокompозитів магнітний компонент/ $\text{SiO}_2$ /амінопропілсилоксан використано рівняння Ленгмюра. Обчислено основні параметри, які характеризують адсорбцію Ig на поверхні цього нанокompозиту.

Виявлено, що зв'язок між поверхнею нанокompозитів  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /амінопропілсилоксан та

імуноглобуліном в одержаних імуносорбентах (з ковалентним приєднанням Ig) стійкий до фізіологічного розчину (pH = 7) та слабколузких буферних систем. При використанні як модельного середовища гліцинового буферу (суміші амінооцтової кислоти та соляної за умови pH = 2,6) відбувається часткова десорбція імуноглобулінів з поверхні імуносорбентів.

**Семко Л.С.** – д.т.н., пров.н.с. від. № 9 Інституту хімії поверхні НАН України;

**Сторожук Л.П.** – к.х.н., н.с. від. № 9 ІХП НАН України;

**Абрамов М.В.** – к.ф.-м.н., н.с. від. № 9 Інституту хімії поверхні НАН України;

**Горбик П.П.** – д.ф.-м.н., професор, зав.від. № 9 ІХП НАН України.

- [1] П.П. Горбик, А.Л. Петрановська, Л.П. Сторожук, І.В. Дубровін, Л.С. Семко, В.Ф. Чехун. Медико-біологічні нанокompозити на основі магнетиту: синтез, модифікація, функціоналізація поверхні для застосування in vitro // *Хімія, фізика та технологія поверхні*, (11-12), сс. 374-397 (2006).
- [2] Л.С. Семко, П.П. Горбик, Л.П. Сторожук, І.В. Дубровін, О.О. Чуйко, О.І. Оранська, О.І. Скрипка. Синтез та властивості нанокompозитів на основі магнетиту, модифікованого оксидом кремнію // *Доп. НАН України*, **3**, с. 153-160 (2007).
- [3] L.S. Semko, P.P. Gorbik, L.P. Storozhuk, I.V. Dubrovin and al. Nanocomposites based on the magnetite modified by silica // *NATO advanced research workshop "Pure and applied surface chemistry and nanomaterials for human life and environmental protection"*. – *International conference "Nanomaterials in chemistry, biology and medicine"*. – *Book of abstracts*. – Kyiv, Ukraine. p.120. (2005).
- [4] М.Ю. Ларин, П.К. Иванов, Д.Ю. Блохин, Н.В. Голубцова, Е.А. Голенкина, В.И. Филиппов, О.Л. Ершов, Н.Г. Мошечков. Биодegradируемые иммуномагнитные сорбенты в онкологии // *Росс. биотерапевт. Журн*, **3**(4), сс. 2429 (2005).
- [5] П.М. Перехрестенко, Л.В. Назарчук, Н.І. Ларічева. *Діяльність закладів служби крові в Україні за 2004 рік*, 231 с. (2005).
- [6] А.Т. Латкин. *Иммуномагнитная сепарация с последующей АТФ-метрией в экспрессиндикации шигелл Зонне./ Автореферат дис. Канд. Мед. Наук*. Москва, 25 с. (2005).
- [7] Пат. 6447911 США, МКИ В32В 005/16. *Silica adsorbent on magnetic substrate*: J. Neil, L. Lee. – № 723446, 09.2002; (2002).
- [8] Л.С. Семко, Л.П. Сторожук, Е.И. Кручек, П.П. Горбик. Синтез и свойства перспективных магнитоуправляемых адсорбентов и иммуносорбентов // *XIII Всерос. Симп. с участием иностранных ученых «Актуальные проблемы теории адсорбции, пористости и адсорбционной селективности»*. – Москва-Клязьма, с. 127 (2009).
- [9] Пат. 6924033 США, Int. Cl. В32В 005/16. *Silica adsorbent on magnetic substrate*: J. Neil, L. Lee. – № 615998, 07.2003; (2005).
- [10] Пат. 6274387 США, Int. Cl. B01D035/06. *Magnetic carrier, preparation thereof, and method of extraction of nucleic acid*: Yamauchi, Syoichi, Kasai, Kiyoshi. – № 220848, 28.12.1998; (2001).
- [11] J. Chatterjee, Y. Naik, C-J. Chen. Modification and characterization of polystyrene-based magnetic microspheres and comparison with albumin-based magnetic microspheres // *J. Magn. Magn. Mater*, **225**(1-2), pp. 21-29 (2001).
- [12] В.В. Павліщук, С.В. Колотілов, FR, Б.А. Снопок, П.М. Болтовець, В.Д. Походенко. *Спосіб приготування магнітного нанорозмірного сорбенту для імунологічних і біохімічних об'єктів* // патент України, 7 В01J20/02, 20/30, (2005).
- [13] Л.С. Семко, Л.П. Сторожук, П.П. Горбик. Магнітні нанокompозити  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$  та імуносорбенти на їх основі // *Хімія, фізика та технологія поверхні*. (15), сс. 311-319 (2009).
- [14] Л.С. Семко, П.П. Горбик, Л.П. Сторожук, Л.С. Дзюбенко. Модифікування магнетиту діоксидом кремнію // *Фізика і хімія твердого тіла*, **8**(3), сс. 526-532 (2007).
- [15] Л.С. Семко, П.П. Горбик, М.В. Абрамов, О.Г. Сіренко, І.В. Дубровін, О.І. Оранська. Структура та магнітні властивості нанокompозитів магнетит/діоксид кремнію // *Хімія, фізика та технологія поверхні*, (14), сс. 374-382 (2008).

- [16] Г.В. Лисичкин, А.Ю. Фадеев, А.А. Сердан, П.Н. Нестеренко, П.Н. Мингалов, Д.В. Фурман. *Химия привитых поверхностных соединений* / Под редакцией Лисичкина. Физматлит, М. 592 с. (2003).
- [17] А.Л. Петрановська, О.М. Федоренко, Л.П. Сторожук, П.П. Горбик, О.О. Чуйко, Л.С. Дзюбенко, О.І. Оранська Рідиннофазне модифікування поверхні магнетиту  $\gamma$ -амінопропілтриетоксисилоном // *Доповіді НАН України*, (1), с. 157-162 (2006).
- [18] Н.Е. Кучеренко, Ю.Д. Бабенюк, А.Н. Васильев и др. *Биохимия*. Выща шк., К. 432 с. (1988).
- [19] Пальтиель Л.Р., Зенин Г.С., Волюнец Н.Ф. *Физическая химия. Поверхностные явления и дисперсные системы: Учеб. пособие*. СПб.: СЗТУ, 68 с. (2004).
- [20] Л. Литтл. *Инфракрасные спектры адсорбированных молекул / Перевод с англ.* Мир, Москва, 514 с. (1969).
- [21] В.М. Wilson, P. K. Nakane. Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies // *Immunofluorescence and Related Staining Techniques* , pp. 215-224 (1978).
- [22] P.P. Gorbyk, I.V. Dubrovin, A.L. Petranovska, N.V. Abramov, D.G. Usov, L.P. Storozhuk, S.P. Turanska, M.P. Turelyk, V.F. Chekhun, N.Yu. Lukyanova, A.P. Shpak, O.M. Korduban. Chemical construction of polyfunctional nanocomposites and nanorobots for medico-biological applications. // *Nanomaterials and Supramolecular Structures. Physics, Chemistry, and Applications. Springer Netherlands*. pp. 63-78 (2009).

L.S. Semko, L.P. Storozhuk, N.V. Abramov, P.P. Gorbyk

## Magnetosensitive Immunosorbents Modified by Covalent Coupling of Immunoglobuline with Nanocomposites Surface

*O.O. Chuiko Institute for Surface Chemistry of NAS Ukraine  
17, General Naumova str., 03164 Kiev, Ukraine. E-mail: [storozhukl@mail.ru](mailto:storozhukl@mail.ru)*

Methods of the synthesis of magnetosensitive nanocomposites  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /aminopropylsiloksan and immunosorbent  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /aminopropylsiloksan/immunoglobuline were developed. They were modified by covalent coupling of immunoglobuline with nanocomposites surface.

The relation between the structure, the composition and magnetic properties of nanocomposites was determined. It was set, that the relation between the surface of nanocomposites  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ /aminopropylsiloksan and immunoglobuline in observed immunosorbents (with covalent coupling of immunoglobuline) was resistant to saline (pH = 7) and alkaline buffer systems.

**Key words:** modifying of surface, magnetite, aminopropylsiloksan, nanocomposite, immunosorbent, covalent coupling, immunoglobuline.