PACS numbers: 33.20.Kf, 33.20.Lg, 42.50.Gy, 78.40.Me, 87.19.xj, 87.53.-j, 87.64.kv

Вплив високоенергетичного електронного опромінення фізіологічного розчину на його оптичні характеристики та цитотоксичну/цитодинамічну активність

М. А. Заболотний¹, Л. І. Асламова¹, Г. І. Довбешко², О. П. Гнатюк², Г. І. Соляник³, В. П. Данкевич⁴, Д. С. Леонов⁵, М. Ю. Барабаш^{5,6}, В. А. Черняк¹

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64. 01033 Київ, Україна ²Інститут фізики НАН України, просп. Науки, 46, 03028 Київ, Україна ³Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, вул. Васильківська, 45, 03022 Київ, Україна ⁴Клініка «Оберіг», вул. Зоологічна, 3, 03057 Київ, Україна ⁵Технічний центр НАН України, вул. Покровська, 13, 04070 Київ, Україна 6Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», просп. Берестейський, 37, 03056 Київ, Україна

У роботі досліджено процеси, що зумовлюють характеристики методу підвищення ефективности протипухлинної дії доксорубіцину без використання сторонніх нанодомішок. Метод ґрунтується на використанні опромінення високоенергетичними електронами фізіологічного розчину (ΦP) перед розчиненням у ньому доксорубіцину. Енергія електронів опромінення дорівнювала 1 МеВ, а ввібрана доза (ґрей) знаходилася в межах 4–80 кҐр. У дослідженні був використаний доксорубіцин (Sigma, США), а для визначення фармакологічних характеристик доксорубіцину застосовували лінію клітин карциноми легені Льюїс (LLC) з Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології

481

(ІЕПОР) ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Доведено, що величина ввібраної дози впливає на спектри оптичного вбирання та флюоресценції зразків і приводить до посилення цитотоксичної/цитостатичної дії препарату, найбільш вираженої за відносно низьких концентрацій. Кількість живих клітин LLC під впливом доксорубіцину в опроміненому розчиннику за концентрацій, менших за 3 мкМ, зменшилася до 15% у порівнянні з відповідним показником за дії доксорубіцину без опромінення розчинника. Було проведено порівняльне дослідження гострої токсичности опроміненого ФР. Результати дослідження не надають переконливих даних, які б свідчили про відмінності профілів токсичности опромінених і неопромінених фізрозчинів.

The work investigates the processes determining the characteristics of the method of increasing the effectiveness of the antitumor effect of doxorubicin without the use of extraneous nanoimpurities. The method is based on the use of high-energy electron irradiation of physiological saline (PS) before dissolving doxorubicin in it. The energy of the irradiation electrons is equal to 1 MeV, and the absorbed dose (gray) is in the range of 4-80 kGy. Doxorubicin (Sigma, USA) is used in the study, and the Lewis lung carcinoma cell line (LLC) given by the R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology (IEPOR), National Academy of Sciences of Ukraine is used to determine the pharmacological characteristics of doxorubicin. It is proven that the amount of the absorbed dose affects the optical absorption and fluorescence spectra of the samples and leads to an increase in the cytotoxic/cytostatic effect of the drug, which is most pronounced at relatively low concentrations. The number of live LLC cells under the influence of doxorubicin in the irradiated solvent at concentrations less than 3 μ M is decreased to 15% compared to the corresponding indicator under the action of doxorubicin without irradiation of the solvent. A comparative study of the acute toxicity of irradiated PS is carried out. The results of the study do not provide convincing data that would indicate differences in the toxicity profiles of irradiated and non-irradiated PSs.

Ключові слова: фізіологічний розчин, доксорубіцин, бабстони, електронне опромінення, цитотоксичність, флюоресценція, екстинкція.

Key words: physiological salt solution, doxorubicin, bubstones, electron irradiation, cytotoxicity, fluorescence, extinction.

(Отримано 19 березня 2024 р.; остаточний варіянт — 7 квітня 2024 р.)

1. ВСТУП

Серед нових напрямів світового технологічного проґресу в медицині першочергової уваги заслуговують нанотехнології, використання яких актуальне під час вирішення проблем онкології, що зумовлено важливим місцем медикаментозної терапії у лікуванні онкологічних хворих [1, 2]. В той же час, призначення протипухлинних хеміопрепаратів пов'язане з низкою істотних проблем. До них відносяться неспецифічна дія та висока токсичність протипухлинних препаратів для неуражених пухлиною органів і тканин. Серйозною перешкодою на шляху лікувального ефекту під час медикаментозної терапії є резистентність злоякісних новоутворень до цитостатиків [3, 4]. Одним з найбільш перспективних новітніх шляхів модифікування протипухлинних препаратів зарекомендувала себе розробка КНУ імені Тараса Шевченка [5–7]. Зазначену електроннопроменеву технологію побудовано на використанні опромінення високоенергетичними (1 або 2 МеВ) електронами фізіологічного розчину (ФР) перед розчиненням у ньому протипухлинних препаратів.

У протипухлинній хеміотерапії важливе значення мають антибіотики з групи антрациклінів, які мають високу ефективність під час лікування різних пухлин. Найчастіше застосовується один із препаратів цієї групи — доксорубіцин та його напівсинтетичний аналог епірубіцин. Препарат має антимітотичну й антипроліферативну дію. Механізм дії полягає у взаємодії з ДНК, утворенні вільних радикалів і прямому впливі на мембрани клітин з придушенням синтези нуклеїнових кислот [1].

Істотним чинником, що обмежує застосування доксорубіцину, є наявність істотних побічних ефектів його використання [1–3]. Так, поширеною реакцією кровотворних органів на інфузію доксорубіцину є дозозалежна оборотня лейкопенія та нейтропенія, а також можливий розвиток тромбоцитопенії й анемії. Реакцією серцево-судинної системи на кардіотоксичність доксорубіцину є ураження міокарда, задишка, набряк легень, периферичні набряки, гепатомегалія, асцит і плеврит. Найбільш тяжкою формою, спричиненою антрациклінами, є небезпечна для життя застійна серцева недостатність, що обмежує кумулятивну дозу препарату, а також тромбоемболічні ускладнення, включаючи емболію легеневої артерії (у ряді випадків із летальним кінцем).

Проведені дослідження [5–7] показали, що цитостатична активність доксорубіцину за використання попереднього радіяційного опромінення ФР зростає. Цей результат свідчить про можливість *in vitro* на клітинному рівні зменшити дозу розчину доксорубіцину без зменшення його терапевтичного результату. Така перспектива зумовлює актуальність вивчення закономірностей взаємозв'язку між фізичними процесами, зумовленими високоенергетичним електронним опроміненням, і індукованим ним зростанням цитостатичної активности.

<u>Метою роботи</u> є дослідження механізмів впливу високоенергетичного електронного опромінення ΦP і розчину доксорубіцину в опроміненому ΦP на його оптичні характеристики та цитотоксичну/цитодинамічну активність щодо пухлинних клітин для створення базових основ технології модифікування наявних протипухлинних засобів.

2. МАТЕРІЯЛИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

Дослідження проводили з використанням ФР протипухлинного препарату доксорубіцину (Sigma, США та «Pharmacia Italia SpA», Італія). Розчинником був ФР (0,9% водний розчин NaCl) в скляних ампулах для інфузій 5 мл (ТОВ «Новофарм-Біосинтез», Україна).

Опромінення водного розчину хлориду натрію (ФР) проводили електронами з енергією у 1 МеВ на резонансному лінійному пришвидшувачі електронів «Аргус» (тривалість імпульсів — 3,3 мкс; частота імпульсів — 400 Гц) в лабораторії радіяційних технологій Інституту фізики НАН України. Середня густина струму пучка електронів становила 0,1 мкА/см², що відповідає густині потоку у $6,25 \cdot 10^{11}$ см⁻²·с⁻¹. Значення ввібраної дози *I* визначалися з розрахунку, що одному ґрею (1 Ґр) відповідає флюенс у $4,5 \cdot 10^9$ см⁻². ІЧ-спектри вбирання були зареєстровані на спектрометрі Bruker IFS-66, спектри вбирання у видимому й ультрафіолетовому (УФ) діяпазонах були зареєстровані на спектрофотометрі Shimadzu UV-260 з діяпазоном мірянь 190–900 нм. Величина дози (*I*) опромінення, ввібраної фізіологічним розчином, становила від 2 до 80 кҐр.

Для дослідження фармакологічної активности протипухлинного препарату доксорубіцину використовували лінію клітин карциноми легені Льюїс (LLC) з Національного банку клітинних ліній та пухлинних штамів ІЕПОР ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Клітини підтримували у поживному середовищі RPMI 1640 (Sigma, США) з додаванням 10% ЕТС (Sigma, США) 2 мкМ Lглютаміну та 40 мкг/мл гентаміцину за 37°С у вологих умовах із 5% CO_2 .

3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТІВ ТА ЇХ АНАЛІЗА

Результати вбирання ΦP у видимій і ближній У Φ -ділянках спектру екстинкції ілюструють криві, наведені на рис. 1. Дані свідчать про відмінності в спектрах вбирання ΦP , які залежать як від увібраної дози, так і від довжини хвилі. В короткохвильовій ділянці спектру величина вбирання зменшується, а в довгохвильовій — зростає. Однією з причин такої поведінки може бути зменшення розсіяння розчину зі зростанням увібраної дози опро-



Рис. 1. Залежність спектрів екстинкції $E(I, \lambda)$ від величини ввібраної дози *I*. Криві одержано: 1 —без опромінення; 2 — за опромінення із I = 10 кҐр, 3 — із 20 кҐр, 4 — із 40 кҐр, 5 — із 80 кҐр.¹



Рис. 2. Залежність КК спектрів екстинкції від величини ввібраних доз I зразками ФР: 1 ілюструє функцію КК(0 кҐр, I), 2 — КК(10 кҐр, I), 3 — КК(20 кҐр, I), 4 — КК(40 кҐр, I), 5 — КК(80 кҐр, I).²

мінення. Таку поведінку також може бути пояснено в рамках моделю бабстонів [6–8] із припущенням того, що максимум функції розподілу бабстонів за розмірами під опроміненням зміщується в довгохвильову область. Наведене припущення корелює з фактом збільшення просторових розмірів бабстонів із зростанням концентрації йонів у фізіологічному розчині [6, 7].

Для визначення числової ріжниці між спектрами екстинкції у 200–750 нм зразків, які одержали різні дози опромінення I, ввібраного ФР, було розраховано значення коефіцієнтів кореляції (КК(I_1, I_2), де I_1 та I_2 — ввібрані дози зразками, спектри яких

аналізуються) відповідних спектрів екстинкції. Одержані КК наведено на рис. 2.

Вигляд співвідношень, наведених на рис. 2, свідчить, що залежність КК (I_1, I) як функція I має екстремум в околі $I \cong 40$ кҐр за умови, що 10 кҐр < $I_1 \leq 80$ кҐр. За невеликих значень I_1 цей екстремум є мінімумом, за великих значень I_1 — максимумом. Це може свідчити, що в околі $I \cong 40$ кҐр змінюється характер процесів, які визначають структуру спектрів екстинкції.

Додаткову інформацію надає аналіза залежности ріжниці спектрів екстинкції опромінених і неопромінених електронами зразків $(\Delta(I,\lambda) = E(I,\lambda) - E(I,\lambda))$. З наведених на рис. З спектрів екстинкції видно, що спектри $\Delta(I, \lambda)$ ФР залежать як від величини



Рис. 3. Залежності ріжниці спектрів екстинкції криві: $1 - \Delta(10, \lambda)$; $2 - \Delta(20, \lambda)$; $3 - \Delta(40, \lambda)$; $4 - \Delta(60, \lambda)$; $5 - \Delta(80, \lambda)$.³



Рис. 4. Графік залежности базової лінії $\Delta(10 \text{ кfp}, \lambda)$ (крива 1) та її монотонної апроксимаційної кривої $\Psi(I_0 [\text{кfp}], \lambda)$ (крива 2).⁴

ввібраної дози, так і від довжини хвилі λ . Спектри екстинкції для $\lambda > 550$ нм монотонно спадають, що свідчить про домінування в цьому діяпазоні λ процесу світлорозсіяння на відміну від діяпазону $\lambda < 550$ нм, де процеси вбирання світла дають істотний внесок.

Залежність від λ інтенсивности світла, розсіяного частинками, лінійні розміри яких не більше λ , описується моделями Релея й Мі та може бути апроксимована степеневими функціями величини λ^{-1} [9].

Для подальшої аналізи $\Delta(I, \lambda)$ змінюємо базові лінії графіків рис. 4, використовуючи апроксимацію залежностей $\Delta(I, \lambda)$. Визначення базової лінії ($\Psi(I, \lambda)$ залежности $\Delta(I = 10 \text{ кГр}, \lambda)$ ілюструє рис. 4.

Результат ріжниці спектрів $A(10 \ \kappa \Gamma p, \lambda) = \Delta(10 \ \kappa \Gamma p, \lambda) - \Psi(I_0 \ \kappa \Gamma p, \lambda)$ наведено на рис. 5.

Аналогічним чином визначаються зміни спектрів вбирання ΦP за значень *I*, які дорівнюють 20, 40, 60, 80 кҐр, що ілюструє рис. 6.

Аналіза залежностей на рис. 6 свідчить, що напрямки зміни спектрів вбирання ΦP не змінюються за фіксованого λ і не залежать від величини I; в той же час амплітуди спектрів A зростають із збільшенням I в діяпазоні 10-40 кГр, та амплітуда A не залежить від *I* в діяпазоні 40–80 кГр, якщо 430 нм $\leq \lambda \leq 850$ нм. До особливих властивостей $A(I, \lambda)$ відноситься те, що в діяпазоні 210–365 нм амплітуда піків $A(I, \lambda)$ збільшується із збільшенням увібраної дози опромінення; в діяпазоні 430–850 нм піки $A(I, \lambda)$ зростають із збільшенням I в діяпазоні $I \le 40$ кГр; для I > 40 кГр амплітуда піків не залежить від I (в цьому діяпазоні залежність спектрів вбирання від І має нелінійний характер, який зумовлює утворення рівня наситу ($I_{\text{нас}} \cong 40 \text{ кfp}$), що не реєструється в діяпазоні 210-365 нм). Така поведінка зумовлює висновок, що природа переходів під час вбирання силових центрів ФР в діяпазоні 210-365 нм відмінна від природи електронних переходів під час вбирання в діяпазоні 430-850 нм.

Були проведені дослідження змін параметрів розчину доксорубіцину у ФР, попередньо опроміненому перед розчиненням в ньому доксорубіцину. Результати вимірів оптичної густини зразків в УФ- та видимому діяпазонах ілюструє рис. 7.

Для визначення характеристик спектрів екстинкції використовували апроксимації їх у вигляді лінійної комбінації розподілів, що ілюструє рис. 8.

Координати максимумів Ґауссових розподілів, які входять до апроксимації ними функції $E(I, \lambda)$, наведено в табл. 1.

Дані рисунку 7 і таблиці 1 інформують, що під дією радіяційного опромінення реалізуються як гіпсохромні, так і батохромні



Рис. 5. Ріжниця спектрів $A(I, \lambda)$ ФР для I = 0 кҐр і 10 кҐр після врахування нової базової лінії.⁵



Рис. 6. Зміна ріжниці спектрів поглинання ФР; криві для I [кҐр]: 1 - 10, 2 - 20, 3 - 40, 4 - 60, 5 - 80 відносно спектру неопроміненого зразка.⁶

смуги спектрів УФ- і видимого діяпазонів. Ще однією особливістю впливу радіяційного опромінення є нелінійна залежність величини зсуву від величини ввібраної дози I, що може свідчити про багатофункціональну природу центрів вбирання зразків.

Для дослідження особливостей релаксаційних процесів у доксорубіцині, розчиненому в опроміненому ФР, були також визначені спектри поглинання через 18 днів після радіяційного опромінення, яких представлено на рис. 9.

Положення максимумів Ґауссових розподілів, лінійна комбінація яких апроксимує спектри екстинкції розчинів доксорубіцину, наведено в табл. 2.

Одержані результати були використані для порівняння оптич-



Рис. 7. УФ-спектри вбирання розчинів доксорубіцину в ФР, поглинута доза яким дорівнювала I = 0 (крива 1), 10 (2), 40 (3), 80 (4) кҐр, виміряні в день опромінення.⁷



Рис. 8. Апроксимація спектру вбирання розчину доксорубіцину в опроміненому ΦP ($I = 40 \ \kappa \Gamma p$) за використання лінійної комбінації Гауссових розподілів.⁸

них спектрів вбирання розчину доксорубіцину в опроміненому ΦP для I = 10, 40, 80 кҐр, знятих одразу та через 18 днів після опромінення розчинника, що ілюструє рис. 10 і рис. 11.

Порівняння спектрів на рис. 7 і 9 свідчить, що координати максимумів Ґауссових розподілів, що входять до апроксимаційних виразів спектрів вбирання в УФ- та видимій ділянках спектру, змінюються не більше, ніж на 0,5%, із зміною *I* в діяпазоні 0– 80 кҐр. Отже, істотно (до 50%) величина відношення амплітуд ційного опромінення розчинника в УФ- і видимому діяпазонах.

_				
	<i>I</i> =0 кҐр: λ, нм	<i>I</i> = 10 кҐр: λ, нм	<i>I</i> = 40 кҐр: λ, нм	<i>I</i> = 80 кҐр: λ, нм
	193,30	191,98	192,07	192,50
	228,78	229,07	225,87	227,2
	256,00	255,81	254,19	255,24
	281,90	284,23	283,91	286,09
	394,25	406,39	406,36	401,87
	487,20	488,76	491,59	489,76
	531,06	533,67	530,25	529,81
	546.87	546.35	546.09	545.23

ТАБЛИЦЯ 1. Координати максимумів Ґауссових розподілів, лінійна комбінація яких є апроксимацією спектрів вбирання, одержаних в день радія-



Рис. 9. Спектри екстинкції розчину доксорубіцину у ФР для I = 0 (1), 10 (2), 40 (3), 80 (4) кГр.¹⁰

відповідних Ґауссових розподілів залежить від величини *I*.

Вплив радіяційного опромінення на спектри вбирання розчину доксорубіцину в ІЧ-діяпазоні ілюструє рис. 12, де наведено спектральні залежності вбирання розчину доксорубіцину в неопроміненому й опроміненому ФР за різних величин увібраних доз високоенергетичного електронного опромінення.

Графіки на рис. 12 свідчать, що ІЧ-спектри вбирання розчину істотно змінюються через опромінення ФР, що вказує на перебудову структури центрів вбирання.

Були проведені дослідження часу релаксації цитотоксичної/цитостатичної активности ФР після радіяційного опромінення електронами. Встановлено, що за 1 місяць до проведення культуральних досліджень активність понижувалася на 86%. Через 4 місяці після опромінення ФР його цитотоксичність зменшува-

$I = 0$ кҐр: λ , нм	<i>I</i> = 10 кГр: λ, нм	<i>I</i> = 40 кГр: λ, нм	<i>I</i> = 80 кҐр: λ, нм
193,29	192,82	194,82	192,43
228,79	228,90	228,31	227,64
256,01	255,46	256,00	255,36
281,94	281,19	283,41	280,83
394,25	402,57	401,36	403,83
487,20	489,82	489,59	488,46
531,06	531,67	530,75	530,81
546 87	546 88	546 92	545 79



Рис. 10. Порівняння оптичних спектрів вбирання зразка суміші доксорубіцину в ФР із I = 10 кҐр, знятих одразу (крива 1) і через 18 днів (2) після опромінення.¹²

лась, однак залишалася достатньо високою, зумовлюючи зменшення кількости живих клітин LLC на 27%. Доза, ввібрана зразком, складала 40 кҐр. Механізм дії опроміненого ФР на клітини LLC не було визначено. Звертає увагу те, що такий же результат дії доксорубіцину на клітини LLC.

Біомедична частина досліджень проводилася згідно зі стандартизованою методикою [10]. Були проведені спеціяльні дослідження щодо визначення впливу попереднього опромінення ФР на протипухлинні властивості розчиненого в ньому доксорубіцину. Експерименти проводились *in vitro* за використання лінії злоякісних клітин карциноми легені Льюїс (LLC). В якості показника фармакологічної активности використовували цитотоксичну/цитостатичну дію водних розчинів протипухлинних препаратів (з опроміненням і без нього) по відношенню до клітин LLC в

ТАБЛИЦЯ 2. Положення максимумів Ґауссових розподілів.¹¹



Рис. 11. Порівняння оптичних спектрів вбирання зразка суміші доксорубіцину в ΦP (40 кҐр), зареєстрованих одразу (крива 1) і через 18 днів (2) після опромінення.¹³



Рис. 12. Залежність вбирання розчину доксорубіцину від хвильового числа (*k*) в ІЧ-діяпазоні: крива 1 - I = 0 кҐр, крива 2 - I = 80 кҐр.¹⁴

дослідах *in vitro*. Для цього пухлинні клітини висаджували в лунки 96-лункової планшети в 0,1 мл поживного середовища ($2 \cdot 10^5$ клітин/мл) та інкубували впродовж ночі. Після того до клітин додавали препарати в 0,1 мл свіжого середовища в широкому діяпазоні концентрацій, які проґресивно зменшувалися. У контрольні лунки додавали свіже середовище у такому ж об'ємі без тест-аґента. Кількість живих клітин у лунках через добу інкубації визначали за допомогою МТТ-тесту [10]. Результати досліджень впливу опромінення ФР на цитотоксичну/цитостатичну дію доксорубіцину ілюструють залежності на рис. 14.

На рисунку 14 продемонстровано, що інкубація клітин LLC

протягом 24 годин за присутности доксорубіцину, розчиненого у неопроміненому фізіологічному розчині, приводить до концентраційнозалежного зменшення кількости живих клітин (крива 1). Це зумовлено або інгібуванням проліферації пухлинних клітин (цитостатична дія) та/або загибеллю їх (цитотоксична дія), індукованою протипухлинним препаратом. Водночас, доксорубіцин, розчинений у опроміненому фізіологічному розчині, приводить до посилення цитотоксичної/цитостатичної дії, яка найбільше проявляється за низьких концентрацій (крива 2). Кількість живих клітин LLC за концентрацій, менших за 3 мкм, зменшується в середньому на 20% (p < 0.05) порівняно з дією доксорубіцину, розчиненого в неопроміненому фізіологічному розчині.



Рис. 13. Вплив опромінення ΦP на виживаність клітин карциноми легені Льюїс (LLC).¹⁵



Рис. 14. Кількість (частка N) живих клітин LLC (у відсотках від відповідного показника в контрольних лунках) після 24-годинної інкубації з доксорубіцином (за різних концентрацій X), розчиненим у неопроміненому (1) та опроміненому (2) ФР.¹⁶

Слід зазначити низьку варіябельність показників виживаности клітин після інкубації з доксорубіцином у опроміненому фізіологічному розчині в порівнянні з відповідними показниками з використанням неопроміненого розчинника.

Таким чином, одержані результати підтверджують здатність високоенергетичного електронного опромінення розчинника підвищувати фармакологічну активність протипухлинних препаратів у діяпазоні низьких концентрацій.

Додаткову інформацію було одержано в результаті проведеного ТОВ «ЮРіЯ-ФАРМ» дослідження «Порівняльне дослідження гострої токсичності препаратів хлориду натрію при одноразовому парентеральному введені мишам» (рік виконання — 2023, номер дослідження — №01082023). В результаті проведених досліджень було зроблено 8 висновків. Останній з них стверджує, що «Результати проведеного дослідження не надають переконливих даних, які б свідчили про відмінності профілів токсичності досліджуваних препаратів. Зважаючи на високий рівень структурної подібності досліджуваних речовин з метою виявлення відмінностей їх впливу рекомендовано застосування більш чутливих методів дослідження. Зокрема, дослідження цитотоксичности на культурах клітин різного органного походження.».

Теоретичний модель опроміненого ФР і дипольний характер взасмодії бабстонів. Як відомо [11, 12], опромінення ФР високоенергетичними електронами стимулює утворення бабстонів — довготривалих повітряних пухирців, оточених подвійним електричним шаром, який виникає завдяки адгезії аніонів (Cl⁻) на межі поділу вода-повітря. Утворення надлишкових бабстонів у ФР зумовлює утворення кластерів бабстонів, ініційоване силовими полями, утвореними подвійними електричними шарами бабстонів. Такі процеси й зумовлені ними зміни у ФР і можуть бути причиною модифікування оптичних спектрів фізіологічного розчину. Динаміка бабстонів, їх коаґуляція й утворення кластерів в істотній мірі визначається структурою їхніх локальних подвійних електричних полів, які, в свою чергу, залежать від радіолізи в ФР і концентрації та рухливости зарядів, що входять до складу електричного оточення бабстонів. Таким чином, такі утворення скупчень досліджено не в достатній мірі. Це зумовлено обмеженою інформацією про поляризаційні та деформаційно-силові характеристики окремих бабстонів та їхніх кластерів.

Звичайно, розподіл електричного потенціялу $\varphi(r)$ в околі окремого сферично-симетричного бабстона визначається за допомогою використання рівняння Пуассона–Больцманна [13, 14] та інформації про розподіл протийонів із густиною $\rho(r)$ навколо внутрішньої позитивно зарядженої поверхні межі повітря-рідина; тут r — віддаль від центру бабстона.

Рівняння для $\varphi(r)$ в околі бабстона й умови рівности нулю її заряду разом з прилеглим до нього шаром однозарядних протийонів з концентрацією n_0 має вигляд

$$Q_0 + 4\pi \int_{R_0}^{\infty} \rho(r) r^2 dr = 0, \qquad (1)$$

$$\frac{1}{r^2}\frac{\partial}{\partial r}\left(r^2\frac{\partial\phi(r)}{\partial r}\right) = -\frac{\rho(r)}{\varepsilon\varepsilon_0} = \frac{2en_0}{\varepsilon\varepsilon_0}\sinh\left(\gamma\phi(r)\right).$$
(2)

Тут R_0 — радіюс повітряного пухирця бабстона,; ε_0 — електрична стала, ε — діелектрична проникність середовища, T — температура середовища, k_B — Больцманнова стала, $\gamma = e/(k_B T)$. За ма-

лих значень електричної енергії $\left(rac{e \phi(r)}{k_{_B}T} \ll 1
ight)$ з (2) випливає:

$$\varphi(r) = \frac{Q_0}{4\pi\varepsilon\varepsilon_0 \left(1 + \frac{R_0}{R_D}\right)} \frac{1}{r} \exp\left(-\frac{r - R_0}{R_D}\right),\tag{3}$$

де $R_D = \sqrt{\frac{\varepsilon \varepsilon_0 k_B T}{2e^2 n_0}}$ — Дебаїв радіюс екранувального шару бабстона.

З виразу (3) видно, що напруженість електричного поля для $r >> R_D$ спадає за експоненційним законом. Таким чином, пондеромоторна сила між бабстонами є швидкоспадною, і тому її внесок є істотним лише на віддалях порядку R_D . Пондеромоторна сила між однойменно зарядженими бабстонами за реалізації поляризаційних процесів може зумовлювати взаємне притягання бабстонів [15]. Зближенню бабстонів на малих віддалях (r) заважає розклинювальна взаємодія, що виникає зі зближенням бабстонів на віддаль, коли починається перекривання дифузійних шарів протийонів або приповерхневих шарів розчинника, що забезпечує стійку стабілізацію бабстонових систем. На віддалях $r = L < R_D$ між центрами взаємодійних бабстонів енергія розклинювальної взаємодії визначається співвідношенням:

$$E_{R} = \frac{2\varepsilon\varepsilon_{0}}{R_{D}} \varphi_{D}^{2} \exp\left(-\frac{L}{R_{D}}\right) - \frac{A_{r}}{12L}, \qquad (4)$$

де ϕ_D — потенціял дифузійного шару, A_r — Гамакерова константа.

Із зближенням взаємодійних бабстонів за рахунок поляризаційних ефектів і деформаційних процесів відбувається поява у бабстонів дипольних моментів, параметри яких зумовлюють коаґуляційні процеси.

Енергія взаємодії двох частинок W з дипольними моментами \mathbf{P}_1 і \mathbf{P}_2 , взаємне розташування яких задається вектором $\mathbf{l} = \mathbf{r}_2 - \mathbf{r}_1$ із довжиною l, визначається співвідношенням

$$W(\theta_1, \theta_2, l) = -\frac{1}{4\pi\varepsilon_0} \frac{P_1 P_2}{l^3} \left[3\cos(\theta_1)\cos(\theta_2) - \cos(\theta_1 - \theta_2) \right].$$
(5)

Тут θ_i — кут між векторами \mathbf{P}_i і **l**.

Використовуючи співвідношення (5) знаходимо силу притягання між диполями. Ця сила має два максимуми: $F_1 = \frac{3P_1P_2}{2\pi\epsilon\epsilon_0}$ для

$$heta_1= heta_2=0\ {
m i}\ F_2=F_1/2$$
 для $heta_1=rac{\pi}{2},\ heta_2=-rac{\pi}{2}$.

Одержані вирази характеризують особливості взаємодії диполів і зумовлюють властивості процесів формування бабстонових кластерів, що впливає на значення їхньої фрактальної розмірности [16].

4. ВИСНОВКИ

1. Досліджено вплив опромінення електронами з енергією у 1 МеВ на спектри екстинкції ФР в УФ- і видимому діяпазонах; визначено залежність коефіцієнта кореляції від увібраної дози I. Встановлено, що для I < 40 кҐр величина коефіцієнта кореляції істотно залежить від увібраної дози I, а для I > 40 кҐр величина коефіцієнта кореляції спектрів екстинкції майже не змінюється.

2. Встановлено, що радіяційно-зумовлені зміни властивостей екстинкції та цитостатичної активности опроміненого ΦP за величини ввібраної дози у 4–80 кҐр тривають 2–4 місяці в залежності від величини *I*. Доведено, що природа переходів під час вбирання силовими центрами ΦP в діяпазоні 210–365 нм відмінна від природи переходів під час вбирання в діяпазоні 430–850 нм.

3. Доведено, що екстремуми спектру поглинання ФР у видимій і ближній УФ-ділянках спектрів не змінюють свого положення за опромінення високоенергетичними (1 МеВ) електронами за ввібраної дози з інтервалу 4 кҐр $\leq I \leq 80$ кҐр. Досліджено залежність флюоресценції опроміненого ФР для 4 кҐр $\leq I \leq 80$ кҐр. Визначення природи центрів вбирання світла та флюоресценції ФР, які утворюються під дією високоенергетичного електронного опромінення, потребує додаткових досліджень.

4. Досліджено ефект модифікування фармакологічної активности доксорубіцину з використанням попереднього опромінення ФР електронами з енергією у 1 МеВ і дозою ввібраного опромінення

в межах 10-80 кҐр; запропоновано пояснення ефекту в рамках моделю бабстонів.

5. На замовлення ТОВ «ЮРіЯ-ФАРМ» було проведено наукову роботу «Порівняльне дослідження гострої токсичності препаратів хлориду натрію при одноразовому парентеральному введені мишам» (рік виконання — 2023, номер дослідження — №01082023). В результаті проведених досліджень було зроблено 8 висновків. Останній з них стверджує, що «Результати проведеного дослідження не надають переконливих даних, які б свідчили про відмінності профілів токсичності досліджуваних препаратів. Зважаючи на високий рівень структурної подібності досліджуваних речовин з метою виявлення відмінностей їх впливу рекомендовано застосування більш чутливих методів дослідження. Зокрема, це стосується дослідження цитотоксичности на культурах клітин різного органного походження.».

подяка

Автори статті висловлюють свою щиру подяку співробітникам ТОВ «ЮРіЯ-ФАРМ» та особливо доктору медичних наук, професору президенту ТОВ «ЮРіЯ-ФАРМ» пану Миколі Гуменюку за підтримку та надання можливости проведення наукових досліджень нових методів збільшення цитостатичних активностей протипухлинних препаратів без використання нанодомішок.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА–REFERENCES

- Mateusz Kciuk, Adrianna Gielecińska, Somdutt Mujwar, Damian Kołat, Żaneta Kałuzińska-Kołat, Ismail Celik, and Renata Kontek, *Cells*, 12, No. 4: 659 (2023); doi:10.3390/cells12040659PMCID:PMC9954613PMID:36831326
- Saad N. Mohammad, Yeon Su Choi, Jee Young Chung, Edward Cedrone, Barry W. Neun, Marina A. Dobrovolskaia, Xiaojing Yang, Wei Guo, Yap Ching Chew, Juwan Kim, Seunggul Baek, Ik Soo Kim, David A. Fruman, and Young Jik Kwon, Journal of Controlled Release, 354: 91 (2022); https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.12.048
- Da-Yong Lu, Ting-Ren Lu, Bin Xu, Jin-Yu Che, Ying Shen, Nagendra Sastry Yarla, Current Pharmacogenomics and Personalized Medicine, 16, No. 2: 156; DOI: 10.2174/1875692116666180821095434
- 4. Peter Keating, Alberto Cambrosio, Nicole C. Nelson, Andrei Mogoutov, and Jean-Philippe Cointet, *Front. Pharmacol.*, **4**: 58 (2013); https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00058
- M. A. Zabolotnyy, M. P. Kulish, O. P. Dmytrenko, G. I. Solyanyk, Yu. I. Prylutskyi, M. A. Drapikovskyi, M. O. Kuzmenko, N. A. Poluyan, and V. A. Kiyashko, *Method of Modification of Water-Soluble Antitumor Drugs by Means of Radiation Irradiation* (Patent for invention (UA) No. 116 227; Registered on February 26, 2018).

- L. Aslamova, M. Zabolotnyy, G. Dovbeshko, G. Solyanik, O. Gnatyuk, and M. Tsapko, Proceedings of International Conference 'Medical Physics 2023' (9– 11 November, 2023, Kaunas, Lithuania).
- M. A. Zabolotnyy, L. I. Aslamova, G. I. Dovbeshko, O. P. Gnatyuk,
 V. B. Neimash, V. Yu. Povarchuk, V. E. Orel, D. L. Kolesnyk,
 L. M. Kirkilevska, and G. I. Solyanyk, *Nuclear Physics and Atomic Energy*, 23,
 No. 2: 131 (2022).
- Joseph M. Grogan, Nicholas M. Schneider, Frances M. Ross, and Haim H. Bau, Nano Lett., 14, No. 1: 359 (2014); https://doi.org/10.1021/nl404169a
- 9. W. Hergert and T. Wriedt, *The Mie Theory* (Berlin: Springer-Verlag: 2012); doi:10.1007/978-3-642-28738-1
- О. М. Караман, Н. І. Федосова, І. М. Воєйкова, Г. В. Діденко,
 В. Сарнацька, Л. О. Юшко, О. М. Пясковська, Г. П. Потебня,
 В. Г. Ніколаєв, Г. І. Соляник, Онкологія, 18, №4: 262 (2016);
 О. М. Karaman, N. І. Fedosova, І. М. Voieikova, Н. V. Didenko,
 V. V. Sarnatska, L. O. Yushko, O. M. Piaskovska, H. P. Potebnia,
 V. H. Nikolaiev, and H. I. Solianyk, Onkolohiia [Oncology], 18, No. 4: 262 (2016) (in Ukranian).
- Joseph M. Grogan, Nicholas M. Schneider, Frances M. Ross, and Haim H. Bau, Nano Lett., 14, No. 1: 359 (2014); https://doi.org/10.1021/nl404169a
- Anastasios W. Foudas, Ramonna I. Kosheleva, Evangelos P. Favvas, Margaritis Kostoglou, Athanasios C. Mitropoulos, and George Z. Kyzas, *Chemical Engineering Research and Design*, 189: 64 (2023); https://doi.org/10.1016/j.cherd.2022.11.013
- F. Fogalari, A. Brigo, and H. Molinari, J. Mol. Recognit, 15: 377 (2002); https://doi.org/10.1002/jmr.577
- 14. Minmin Zhang, R. James, and T. Seddon, *Langmuir*, **32**, No. 43: 11280 (2016); https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b02419
- 15. Ya. Goroshchenko, A. V. Nesterov, and V. A. Nesterov, *Nuclear Physics and Atomic Energy*, **21**: 013 (2020); https://doi.org/10.15407/jnpae2020.01.013
- J. M. Tenti, S. N. Hernández Guiance, and I. M. Irurzun, *Physical Review E*, 103: 012138 (2021); https://doi.org/10.1103/PhysRevE.103.012138

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, 64, Volodymyrs'ka Str., UA-01033 Kyiv, Ukraine ²Institute of Physics, N.A.S. of Ukraine, 46, Nauka Ave., UA-03028 Kyiv, Ukraine $^3R.\, E.\, Kavetsky$ Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, N.A.S. of Ukraine, 45, Vasyl'kivs'ka, 45, UA-03022, Kyiv, Ukraine ⁴Clinic 'Oberig', 3, Zoologichna Str., UA-03057, Kyiv, Ukraine ⁵Technical Centre, N.A.S. of Ukraine, 13, Pokrovska Str., UA-04070 Kyiv, Ukraine ⁶National Technical University of Ukraine 'Ihor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute', 37. Beresteus'kui Ave.. UA-03056 Kyiv, Ukraine

¹ Fig. 1. Dependence of extinction spectra $E(I, \lambda)$ on the amount of absorbed dose I. Curves

obtained: 1—without irradiation; 2—with irradiation at I = 10 kGy, 3—at 20 kGy, 4—at 40 kGy, 5-at 80 kGy.

² Fig. 2. Dependence of correlation coefficients (CC) for extinction spectra on the amount of absorbed doses I by samples of the physiological salt solution: 1 illustrates the function of CC(0 kGy, I), 2-CC(10 kGy, I), 3-CC(20 kGy, I), 4-CC(40 kGy, I), 5-CC(80 kGy, I).

³ Fig. 3. Dependences of the difference of the spectra of the extinction curve: $1-\Delta(10, \lambda)$; 2— $\Delta(20, \lambda)$; 3— $\Delta(40, \lambda)$; 4— $\Delta(60, \lambda)$; 5— $\Delta(80, \lambda)$.

⁴ Fig. 4. Graph of the dependence of the baseline $\Delta(10 \text{ kGy}, \lambda)$ (curve 1) and its monotone approximation curve $\Psi(I_0 \text{ [kGy]}, \lambda)$ (curve 2).

Fig. 5. Difference of spectra $A(I, \lambda)$ for the physiological salt solution at I = 0 kGy and 10 kGy after taking into account the new baseline.

⁶ Fig. 6. Change in the difference of the absorption spectra for the physiological salt solution; curves at I [kGy]: 1-10, 2-20, 3-40, 4-60, 5-80 relative to the spectrum of the unirradiated sample.

⁷ Fig. 7. UV absorption spectra of doxorubicin solutions within the physiological salt solution, the absorbed dose of which was equal to I [kGy] = 0 (curve 1), 10 (2), 40 (3), 80 (4), measured on the day of irradiation. ⁸ Fig. 8. Approximation of the absorption spectrum of doxorubicin solution within the irradi-

ated physiological salt solution (I = 40 kGy) using a linear combination of Gaussian distributions. ⁹ TABLE 1. Co-ordinates of the maxima of the Gaussian distributions, the linear combination

of which approximates the absorption spectra obtained on the day of radiation exposure of the solvent in the UV and visible range.

¹⁰ Fig. 9. Extinction spectra of doxorubicin solution within the physiological salt solution at *I* [kGy] = 0 (1), 10 (2), 40 (3), 80 (4). ¹¹ **TABLE 2**. Positions of maxima of Gaussian distributions.

¹² Fig. 10. Comparison of the optical absorption spectra of a sample of the doxorubicin mixture within the physiological salt solution with I = 10 kGy taken immediately (curve 1) and after 18 days (2) after irradiation. ¹³ Fig. 11. Comparison of the optical absorption spectra of a sample of the doxorubicin mix-

ture within the physiological salt solution (40 kGy) recorded immediately (curve 1) and after 18 days (2) after irradiation.

¹⁴ Fig. 12. Dependence of the absorption of doxorubicin solution on the wave number (k) in the IR range: curve 1 (I = 0 kGy), curve 2 (I = 80 kGy).

¹⁵ Fig. 13. Effect of irradiation of the physiological salt solution on the survival of Lewis lung carcinoma (LLC) cells.

¹⁶ Fig. 14. Number (fraction N) of live LLC cells (as a percentage of the corresponding indicator in control wells) after 24-hour incubation with doxorubicin (at various concentrations of X) dissolved in the unirradiated (1) and irradiated (2) physiological salt solution.