

А. М. Дорошенко

## Дослідження гострої токсичності наночастинок заліза при внутрішньошлунковому та внутрішньовенному шляхах введення

*Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ*

*Ключові слова: нанофармакологія, біобезпечність, наночастинок заліза, гостра токсичність*

Протягом останніх десятиліть наноматеріали привертають значну увагу в науковій, технологічній, комерційній сферах, що пов'язано з їхніми унікальними властивостями та потенціалом для розробки специфічних і селективних процесів [1]. Незважаючи на те, що все більше продуктів, які містять нанорозмірні компоненти, пропонуються споживачам, існує необхідність зосередження фінансових та інтелектуальних ресурсів на вирішення ключових питань безпечності наноматеріалів для уникнення можливих несприятливих наслідків як для здоров'я населення, так і для навколишнього середовища [2]. Потенційні шкідливі ефекти наноматеріалів покликана вивчати **нанотоксикологія** – галузь науки, що спрямована на отримання інформації щодо взаємозв'язку між токсичністю наночастинок та їхньою кількістю (дозою, концентрацією) і фізико-хімічними властивостями, такими як розмір, форма, склад, реакційна здатність тощо [3].

Для вирішення завдань, що поставлені перед галуззю охорони здоров'я на сучасному етапі, неминучим стає застосування наноматеріалів, нанокомпозитів, нанопрепаратів, отриманих за допомогою нанотехнологій. Одним з таких завдань є підвищення ефективності лікування найрозповсюдженіших захворювань, зокрема, анемії, на яку за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я страждає близько чверті населення Землі. У світі найвища захворюваність на анемію в дітей дошкільного віку, яка складає 47,4 %, найнижча – серед чоловіків і становить

12,7 %. Основними причинами анемії є дефіцит заліза, а також полідефіцитні стани [4, 5]. Недостатня ефективність і безпечність препаратів для лікування залізодефіцитної анемії, що пов'язана з зниженою біодоступністю елементарного заліза та, як наслідок, необхідністю призначення препаратів заліза у порівняно високих дозах, обумовлює пошук потенційних субстанцій для створення лікарських засобів із застосуванням нанотехнологій. Ключовою властивістю речовини в нанорозмірному діапазоні є підвищена біологічна і фармакологічна активність, що служить важливим обґрунтуванням розробки протианемічних препаратів на основі наночастинок [6].

Наночастинок заліза (НЧЗ) є потенційною фармацевтичною субстанцією для розробки новітнього ефективного протианемічного лікарського засобу. За даними літератури [7, 8] наночастинок оксидів заліза, зокрема, магнетиту ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), стимулюють обмін заліза в організмі та посилюють еритропоєз. Це є підґрунтям вивчення та клінічного застосування ферумокситулу – першого ін'єкційного лікарського засобу, який містить наночастинок оксиду заліза та призначається для лікування залізодефіцитної анемії в дорослих пацієнтів із хронічною хворобою нирок [9, 10]. Але не дивлячись на ефективність ферумокситулу, продемонстровану в клінічних випробуваннях, питання безпечності цього нанопрепарату остаточно не вирішене [11].

Проблеми безпечності стосуються й інших препаратів, що містять нанозалізо. Деякі діагностичні засоби на основі наночастинок оксидів заліза, подібні до ферумокситулу, сьогодні затверджені Food and Drug Administration (FDA), мають унікальні суперпарамагнітні

властивості та застосовуються як засоби для посилення контрастності зображень при проведенні магнітно-резонансної томографії. Однак у зв'язку з тим, що досвід клінічного застосування таких нанопрепаратів є незначним, питання безпечності, особливо у віддалені терміни після їхнього введення в організм, ще передчасно вважати вирішеним [12, 13].

Наночастинки нуль-валентного заліза ( $\text{Fe}^0$ ) мають високу активність у окисно-відновних процесах і все більше застосовуються для очищення навколишнього середовища від забруднювачів органічного та неорганічного походження [14]. Однак токсикологічні наслідки, які при цьому можуть виникати в екосистемах, залишаються маловідомими. Так, нещодавно показано, що наночастинки  $\text{Fe}^0$  через здатність знижувати вміст кисню та стимулювати утворення вільних радикалів шляхом окиснення металічного заліза ( $\text{Fe}^0$ ) до  $\text{Fe}^{2+}$  та  $\text{Fe}^{3+}$  можуть викликати порушення життєдіяльності фауни ґрунтів і водойм та потенційно загрожувати екологічному стану місцевостей, де вони застосовуються [15, 16]. У дослідженні ефекту часткового окиснення («старіння») та модифікації поверхні наночастинок  $\text{Fe}^0$  на потенційну нейротоксичність за умов *in vitro* на культурах клітин мікроглії (BV2) і нейронів (N27) гризунів було встановлено, що наночастинки  $\text{Fe}^0$  спричиняють найвищу активність оксидативного стресу в клітинах мікроглії та понижують вміст АТФ у нейронах порівняно із наночастинами магнетиту ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), наночастинами  $\text{Fe}^0$  з модифікованою поверхнею за допомогою полімерного покриття, а також «старими», частково окисненими наночастинами  $\text{Fe}^0$ , синтезованими більш ніж 11 місяців тому. При цьому в клітинах мікроглії спостерігали набухання мітохондрій, прояви апоптозу, а в нейронах – перинуклеарні включення та гранульованість цитоплазми. Тобто, часткове або повне окиснення наночастинок  $\text{Fe}^0$  призводить до пониження їхньої окисно-відновної активності, що ймовірно знижує токсичність відносно клітинних культур ссавців [17]. Але в зв'язку з

тим, що вивчення біобезпечності наноматеріалів є відносно новим науковим напрямом, відомості стосовно біологічної активності та токсичності наночастинок  $\text{Fe}^0$  за умов *in vitro*, *in vivo* є сьогодні неповними та недостатньо систематизованими.

Отже, не дивлячись на те, що засоби на основі нанозаліза затверджені до медичного застосування в багатьох розвинутих країнах і використовуються як лікарські та діагностичні нанопрепарати, а також в екологічній сфері в рамках новітніх проектів, спрямованих на знешкодження забруднювачів навколишнього середовища, у цілому ще недостатньо даних стосовно їхньої біобезпечності, а також тонких механізмів взаємодії з біологічними об'єктами. Результатом плідної роботи та міждисциплінарної співпраці в галузі вирішення даної проблеми в Україні стала розробка методичних рекомендацій для вивчення безпечності лікарських нанопрепаратів, у тому числі таких, що містять наночастинки металів [18]. Це є важливим кроком у напрямі створення вітчизняних лікарських засобів, отриманих із застосуванням нанотехнологій.

У рамках дослідження фармакологічних властивостей НЧЗ як перспективної протианемічної субстанції встановлення гострої токсичності при тих шляхах введення, що пропонуються для потенційного клінічного застосування, а саме пероральному і внутрішньовенному, є одним із найважливіших етапів доклінічного дослідження [19].

*Мета дослідження* – визначення параметрів гострої токсичності НЧЗ на лабораторних тваринах (мишах) за внутрішньоплункового та внутрішньовенного шляхів уведення.

*Матеріали та методи.* Сферичні наночастинки нуль-валентного заліза розміром 40 нм синтезовані в Інституті біологічної хімії імені Ф. Д. Овчаренка НАН України за оригінальним методом хімічної конденсації. Дослідження проведено на 74 самках і 56 самцях білих мишей лінії BALB/c масою 18–22 г, віком 2–2,5 міс із дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи

про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄС від 24.11.1986 р. № 609, наказу МОЗ України від 13.02.2006 р. № 66, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» 2006 р. Тварин, яких використовували в експериментах, утримували в стандартних умовах віварію Національного медичного університету імені О. О. Богомольця за температури 22–24 °С та відносної вологості 50–70 % з вільним доступом до корму та води. Групи тварин формували за методом рандомізації. Період карантину та акліматизації тривав протягом 7 діб. План експерименту схвалений Комітетом з біоетики НМУ імені О. О. Богомольця, усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням із тваринами, були дотримані.

Дослідження гострої токсичності при внутрішньошлунковому введенні НЧЗ проведено згідно з методичними рекомендаціями [20, 21] на 10 самках мишей, з яких сформовано дослідну та контрольну групи по 5 тварин у кожній. Протягом 3–4 год перед введенням НЧЗ тварин утримували без корму з вільним доступом до води. Одноразове внутрішньошлункове введення НЧЗ дослідним мишам у дозі 5000 мг/кг за субстанцією здійснювали за допомогою спеціального металевго зонда. Мишам контрольної групи вводили в такий самий спосіб розчинник – воду для ін'єкцій.

Дослідження гострої токсичності при внутрішньовенному шляху введення НЧЗ проведено за 7 рівнів доз по 8 тварин на кожний для самок (130, 155, 180, 205, 230, 255 і 280 мг/кг за субстанцією НЧЗ) та 6 рівнів доз по 8 тварин на кожний для самців (180, 205, 230, 255, 280, 305 мг/кг за субстанцією

НЧЗ). НЧЗ вводили одноразово в латеральну хвостову вену. Тваринам з контрольних груп (8 самців і 8 самок) вводили в такий самий спосіб розчинник – воду для ін'єкцій. Протягом 14 діб здійснювали реєстрацію і підрахунок загиблих тварин за кожного з рівнів доз. На основі отриманих даних проводили пробіт-аналіз за D. J. Finney [22] із застосуванням комп'ютерної програми BioStat 2009 for Windows (v5.8.4). У результаті було отримано значення середньосмертельної дози ( $LD_{50}$ ) та її стандартної помилки. При розрахунку показників гострої токсичності для обох статей враховувалися лише ті рівні доз, які вводили як самкам, так і самцям, а саме: 180, 205, 230, 255 та 280 мг/кг.

Після внутрішньошлункового або внутрішньовенного введення НЧЗ протягом 14 діб проводили щоденне спостереження за станом тварин, особливостями поведінки, положенням тіла і руховою активністю, споживанням корму та води. Реєстрували терміни розвитку симптомів інтоксикації та загибелі. Маса тварин визначали перед введенням НЧЗ та на 3, 7 і 14 (перед евтаназією) добу спостереження.

**Результати та їх обговорення.** Після одноразового внутрішньошлункового введення НЧЗ протягом 14 діб спостереження в контрольній та дослідній групах не загинула жодна тварина (табл. 1). Отже,  $LD_{50}$  при даному шляху введення перевищує 5000 мг/кг, що дозволяє віднести НЧЗ до практично нетоксичних речовин, тобто до V класу токсичності за Hodge H. C. і Sterner L. H. [23]. Протягом першої години після введення НЧЗ тварини дослідної групи споживали більше води. Крім того, протягом перших 3 год у мишей дослідної групи спостерігалось транзиторне прискорення моторно-евакуаторної

Таблиця 1

*Летальність самок мишей після одноразового внутрішньошлункового введення наночастинок заліза протягом 14 діб спостереження*

Група	Рівень дози, мг/кг	Загальна кількість тварин у групі	Кількість тварин, що загинула	
			абс.	%
Контрольна	0	n = 5	0	0
Дослідна	5000	n = 5	0	0

функції кишечника, а також чорне забарвлення фекалій. У подальшому відмінностей загального стану, рухової активності, харчової поведінки та набору маси тіла в тварин дослідної та контрольної групи протягом 14 діб спостереження не було. При розтині на 14 добу після введення НЧЗ візуально макроскопічних відмінностей будови органів у контрольній та дослідній групах не виявлено.

Летальність мишей після одноразового внутрішньовенного введення НЧЗ мала дозозалежний характер (табл. 2, 3).

Одразу після введення токсичних доз НЧЗ і протягом часу від 30 хв до 1 доби, який прямо залежав від рівня дози, у всіх тварин дослідних груп порівняно із контрольною спостерігалося пригнічення рухової активності та харчової поведінки, зниження м'язового тону, збільшення глибини дихальних рухів, рожеве забарвлення видимих ділянок шкірного покриву, розширення поверхнево розташованих судин вушних раковин. При найменших рівнях дози (130 мг/кг для самок і 180 мг/г для самців) вищевказані прояви були виражені слабо. Тварини, яким вводили максимальні дози НЧЗ (305 і 280 мг/кг), гинули протягом 1–60 хв. При цьому спостерігали явища гострої судинної недостатності

(колапсу) та судоми. У тварин, яким були введені найвищі дози НЧЗ, протягом першої доби спостерігали ознаки набряку легень, а саме: вимушене вертикальне положення тіла з опущеним каудальним і піднятим краніальним кінцем; значне посилення дихальних рухів; ознаки ціанозу, про що свідчило темне забарвлення кон'юнктиви; судоми. На піку вказаних проявів інтоксикації деякі тварини гинули. При цьому з дихальних шляхів загиблих мишей виділявся піноподібний уміст. Вищевказані симптоми вказують на переважне ураження серцево-судинної та дихальної систем та, як наслідок, нервової системи. Під час розтину тварин, які загинули протягом перших 8 год після введення НЧЗ, макроскопічно виявлено гіперемію очеревини та легень. У подальшому загибель тварин також спостерігали до 4 доби після введення НЧЗ включно на фоні значного зменшення маси тіла порівняно із контролем.

Після введення НЧЗ як серед самців, так і серед самок, окрім найнижчого рівня дози (130 мг/кг), спостерігали дозозалежне зменшення маси тіла на 3 добу приблизно на 2,8–10,3 % порівняно з показником перед введенням. У контрольних групах на 3 добу навпаки маса тіла самців і самок

Таблиця 2

*Летальність мишей після одноразового внутрішньовенного введення наночастинок заліза залежно від рівня дози та статі протягом 14 діб спостереження*

Рівень дози, мг/кг	Самки, n = 64			Самці, n = 56		
	Кількість тварин, що загинули		Загальна кількість тварин	Кількість тварин, що загинули		Загальна кількість тварин
	абс.	%		абс.	%	
0	0	0	n = 8	0	0	n = 8
130	0	0	n = 8	–	–	–
155	1	12,5	n = 8	–	–	–
180	3	37,5	n = 8	0	0	n = 8
205	3	37,5	n = 8	2	25	n = 8
230	5	62,5	n = 8	3	37,5	n = 8
255	6	75	n = 8	7	87,5	n = 8
280	8	100	n = 8	7	87,5	n = 8
305	–	–	–	8	100	n = 8

Примітка. «–» Означає, що гостру токсичність при даному рівні дози не встановлювали.

Таблиця 3

*Загальна летальність самців і самок мишей (комбінований розрахунок) після одноразового внутрішньовенного введення наночастинок заліза залежно від рівня дози протягом 14 діб спостереження*

Рівень дози, мг/кг	Самки та самці мишей, n = 96		
	Кількість тварин, що загинули		Загальна кількість тварин
	абс.	%	
0	0	0	n = 16
180	3	18,75	n = 16
205	5	31,25	n = 16
230	8	50,00	n = 16
255	13	81,25	n = 16
280	15	93,75	n = 16

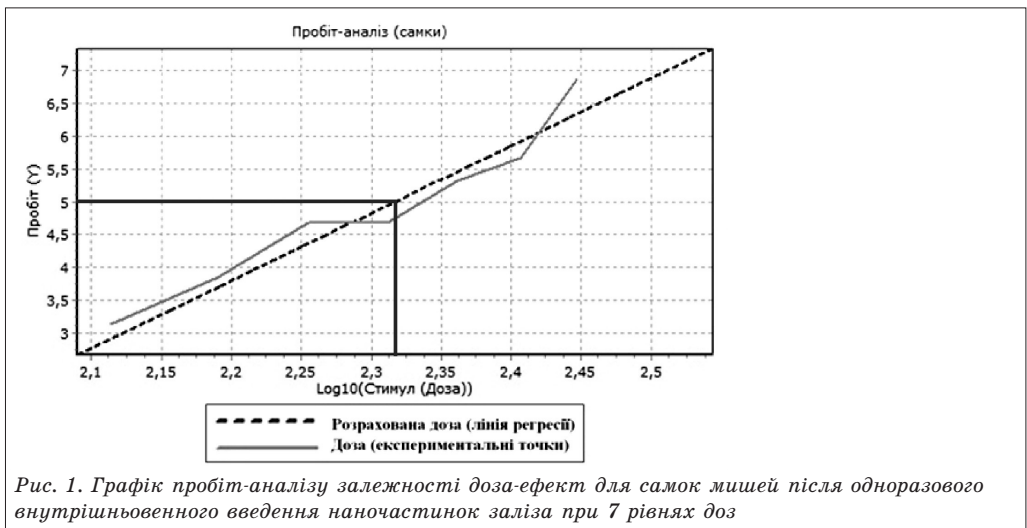
збільшувалася на 6,5 % та 9,1 % відповідно. При зважуванні мишей дослідних груп на 7 добу маса тіла наближалася до вихідних значень, а на 14 добу спостерігали подальше зростання даного показника в усіх групах, але з відставанням тварин дослідних груп порівняно з контролем.

Рухова та харчова поведінка мишей, яким вводили найнижчий рівень дози (130 мг/кг), практично не відрізнялася від контрольної групи, починаючи з 2 доби, а решти дослідних тварин, окрім рівня дози 280 мг/кг, – починаючи приблизно з 4–6 доби. При розтині тварин після евтаназії на 14 добу після введення НЧЗ візуально значних

макроскопічних відмінностей будови органів тварин контрольної та дослідних груп не виявлено.

На основі даних, представлених у таблицях 2 і 3, за допомогою комп'ютерної програми було побудовано графіки пробіт-аналізу гострої токсичності НЧЗ для самок, самців, а також для обох статей (комбінований розрахунок) (рис. 1–3). При цьому доза НЧЗ представлена в логарифмічній шкалі, а ефект (летальність) – у вигляді пробітів (так званих «probability units»). Розраховані значення  $LD_{50}$  та її стандартної помилки (табл. 4) свідчать, що до токсичного пливу НЧЗ більш чутливими виявилися самки, так як  $LD_{50}$  для самців приблизно на 11,5 % перевищує даний показник для самок. Дані значення  $LD_{50}$  дозволяють віднести субстанцію НЧЗ до рівня малотоксичних речовин, тобто IV класу токсичності за Н. С. Hodge і Л. Н. Sterner (якщо брати до уваги, що резорбтивні ефекти після внутрішньоочеревинного введення тотожні таким після внутрішньовенного введення) [23].

Представлені результати в цілому співпадають з даними інших авторів стосовно токсичності нанозаліза. Нещодавно S. P. Singh та співавторами встановлено, що магнітні наночастинок  $Fe_2O_3$  розміром 30 нм після одноразового перорального введення щурам у дозах 500–2000 мг/кг не викликають порушень росту та харчової поведінки тварин [24, 25]. В іншому дослідженні



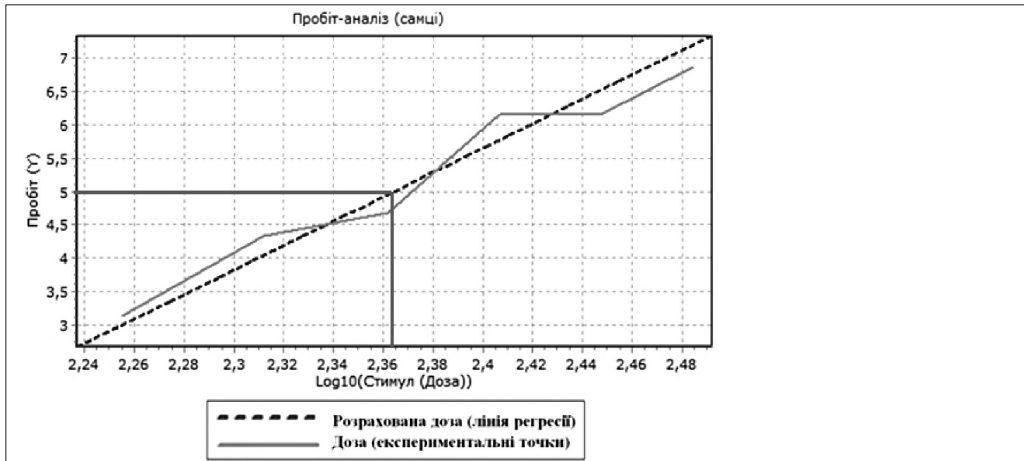


Рис. 2. Графік пробіт-аналізу залежності доза-ефект для самців мишей після одноразового внутрішньовенного введення наночастинок заліза при 6 рівнях доз

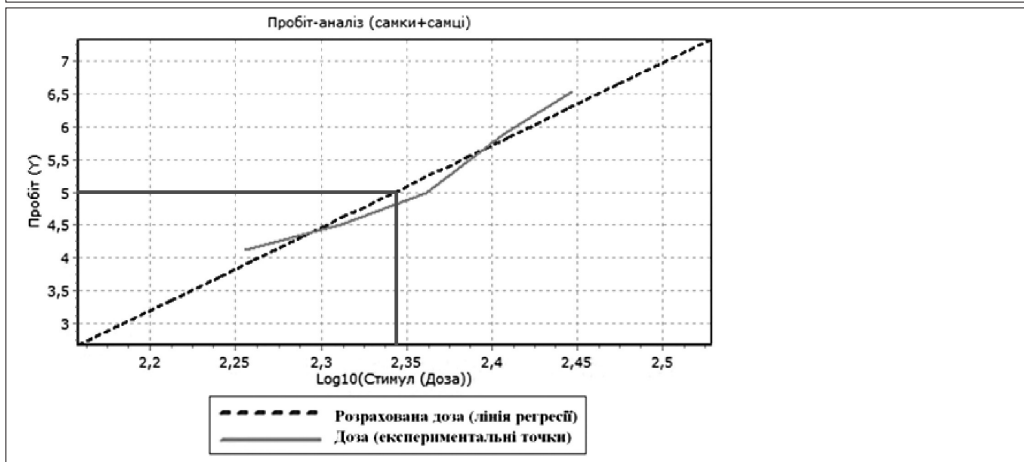


Рис. 3. Графік пробіт-аналізу залежності доза-ефект для самок і самців мишей (комбінований розрахунок) після одноразового внутрішньовенного введення наночастинок заліза при 5 рівнях доз

показано, що при пероральному введенні мишам наночастинок заліза  $LD_{50}$  становить 8,41 г/кг [26]. А. Gajdosiková та співавторами встановлено, що  $LD_{50}$  при пероральному введенні мишам наночастинок  $Fe_3O_4$  перевищує 2000 мг/кг, а при внутрішньовенному введенні  $LD_{50}$  залежно від різновиду

поверхневого покриття наночастинок  $Fe_3O_4$  становить 231,7–558,9 мг/кг [27]. Близькі значення  $LD_{50}$ , а саме 163,6 мг/кг, визначені іншим авторським колективом при внутрішньовенному введенні мишам непокритих наночастинок оксиду заліза ( $Fe_3O_4$ ) розміром 9 нм [28]. За даними R.

Таблиця 4

Значення середньосмертельної дози наночастинок заліза після одноразового внутрішньовенного та внутрішньошлункового введення мишам, мг/кг,  $M \pm m$

Шлях введення	Внутрішньовенний			Внутрішньошлунковий
	Самки, n = 64	Самці, n = 56	Обидві статі, n = 96	
Стать				Самки, n = 10
$LD_{50}$	207,5 ± 10,6	231,4 ± 8,1	220,3 ± 7,1	> 5000
Клас токсичності	IV	IV	IV	V

Weissleder та співавторів одноразове внутрішньовенне введення щурам наночастинок оксиду заліза з модифікацією поверхні за допомогою декстрану в максимальній дозі 168 мг/кг не призводило до загибелі тварин, а також не порушувало споживання корму та динаміку маси тіла [7]. У дослідженні на щурах О. В. Мінаєвою та співавторами показано, що LD<sub>50</sub> магнітної рідини на основі стабілізованих олеїною кислотою наночастинок магнетиту (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) розміром 5–15 нм при внутрішньовенному введенні становить 378 мг/кг [29]. Вищевказані значення LD<sub>50</sub> у цілому не протирічать представленим у даній статті фактичним результатам і розрахункам. Крім того, слід брати до уваги, що біологічна активність і токсичність наночастинок залежить від їхнього хімічного складу, форми, розмірів, функціоналізації поверхні та методу синтезу [1, 6].

Стосовно встановлення механізму токсичної дії нанозаліза, а також безпосередньої причини загибелі дослідних тварин за даними світової літератури беруться до уваги декілька аспектів. Як НЧЗ, так і наночастинок оксидів заліза можуть призводити до розвитку оксидативного стресу. Зокрема, у дослідженні на мишах Р. Ма та співавторами встановлено, що наночастинок Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> розміром близько 35 нм при щоденному внутрішньоочеревинному введенні протягом тижня в дозі до 40 мг/кг викликають порушення антиоксидантно-прооксидантної рівноваги в тканинах печінки й нирок, на користь чого свідчить зростання рівня маркерів оксидативного стресу [30]. У роботі С. Р. Кеєпан та співавторів за умов *in vitro* показано утворення реактивних сполук кисню й окисне пошкодження епітеліальних клітин бронхів людини під впливом наночастинок Fe<sup>0</sup> (НЧЗ) та продуктів їхнього окиснення (Fe<sup>2+</sup> та Fe<sup>3+</sup>) [31].

У механізмі токсичної дії нанозаліза можуть бути залучені й інші механізми, зокрема, порушення з боку серцево-судинної системи. Нещодавно N. K. Iversen та співавторами було встановлено, що після внутрішньовенної ін'єкції мишам наночастинок

γ-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> у дозі 10 мг/кг знижується середній артеріальний тиск, а також пригнічується скоротливість мезентеріальних артерій [32]. Не виключено, що описані зміни можуть пояснювати явища колапсу одразу після внутрішньовенного введення нанозаліза. Крім того, до розвитку гострих порушень кардіогемодинаміки можуть бути залучені й інші процеси. Так, експериментально було показано, що внутрішньовенне введення наночастинок оксиду заліза щурам в абсолютно смертельній дозі (450 мг/кг) призводило до загибелі тварини протягом 1–30 хв [29]. Причину такого швидкого ефекту автори вбачають у мікроеMBOLІ легеневого судинного русла, що під час розтину підтверджувалося повнокров'ям венозних судин, збільшенням правих відділів серця, а також даними, отриманими світловою мікроскопією.

У представленому в цій статті дослідженні після внутрішньовенного введення летальних доз НЧЗ спостерігали три періоди смертності піддослідних мишей: перший (найгостріший) – протягом перших 1–60 хв після введення, другий (гострий) – протягом 1 доби, третій (підгострий) – протягом 2–4 доби на фоні значного зменшення маси тіла. З огляду на представлені дані літератури стосовно механізму токсичної дії можна зробити припущення про переважне ураження серцево-судинної та дихальної систем, що проявлялося у вигляді симптомів вазодилатації, колапсу, а також набряку легень у перші два періоди інтоксикації, та провідне значення оксидативного пошкодження та загальнотоксичного впливу на органи й системи в підгострому періоді інтоксикації, що призводило до значного зменшення маси тіла або навіть загибелі піддослідних тварин.

## Висновки

1. Сферичні наночастинок нульвалентного заліза (НЧЗ) розміром 40 нм, отримані за допомогою методу хімічної конденсації, належать до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) за внутрішньовенного та до

V класу токсичності (практично нетоксичні речовини) за внутрішньошлункового введення мишам лінії BALB/c за класифікацією Н. С. Hodge і L. H. Sterner.

2. Встановлено статурну залежність гострої токсичності НЧЗ при внутрішньовенному введенні мишам: LD<sub>50</sub> для самок, самців і обох статей становить 207,5 ± 10,6 мг/кг, 231,4 ± 8,1 мг/кг і 220,3 ± 7,1 мг/кг відповідно.

3. Після внутрішньовенного введення НЧЗ у токсичних дозах мишам протягом першої доби спостерігали дозозалежні порушення з боку серцево-судинної, дихальної і нервової систем. Однак введення найменших рівнів доз (130 мг/кг для самок і 180 мг/кг для самців), що застосовані в даному дослідженні, призводило до незначного й короткотривалого порушення загального стану тварин.

1. Нанонаука, нанобіологія, нанофармація: Монографія / [І. С. Чекман, З. Р. Ульберг, В. О. Маланчук та ін.]. – К. : Поліграф плюс, 2012. – 328 с.
2. Pumera M. Nanotoxicology: the molecular science point of view / M. Pumera // Chem. Asian. J. – 2011. – V. 6, № 2. – P. 340–348.
3. Santamaria A. Historical overview of nanotechnology and nanotoxicology / A. Santamaria // Methods Mol. Biol. – 2012. – V. 926. – P. 1–12.
4. Anaemia in low-income and middle-income countries / Y. Balarajan, U. Ramakrishnan, E. Ozaltin [et al.] // Lancet. – 2011. – V. 378, № 9809. – P. 2123–2135.
5. Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005: WHO global database on anaemia / Ed. by B. de Benoist, E. McLean, I. Egli and M. Cogswell. – 2008. – 48 p.
6. Чекман І. С. Нанофармакологія: Монографія / І. С. Чекман. – К. : Задруга, 2011. – 424 с.
7. Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity / R. Weissleder, D. D. Stark, B. L. Engelstad [et al.] // AJR. – 1989. – V. 152, № 1. – P. 167–173.
8. Patent Salah application WO/2010/034319, International classes A61K9/51; A61K38/26; A61P7/06; A61K9/51; A61K38/26; A61P7/00. Magnetite nanoparticles as a single dose treatment for iron deficiency anemia / El-Din T. A., Bakr Mohamed M., Kamel H. M., Abdel Kader M.; assignee Innovative Research and Development Co. (Inrad) (14 El Saudia Building, Gulf Area Heliopolis, Cairo, EG). – № EG2008/000036; filing date 29.09.2008, published 01.04.2010.
9. McCormack P. L. Ferumoxytol: in iron deficiency anaemia in adults with chronic kidney disease / P. L. McCormack // Drugs. – 2012. – V. 72, № 15. – P. 2013–2022.
10. Efficacy and safety of IV ferumoxytol for adults with iron deficiency anemia previously unresponsive to or unable to tolerate oral iron / S. Vadhan-Raj, W. Strauss, D. Ford [et al.] // Am. J. Hematol. – 2013. – Epub ahead of print.
11. Pai A. B. Ferumoxytol: a silver lining in the treatment of anemia of chronic kidney disease or another dark cloud? / A. B. Pai, A. O. Garba // J. Blood Med. – 2012. – V. 3. – P. 77–85.
12. Winer J. L. The use of nanoparticles as contrast media in neuroimaging: a statement on toxicity / J. L. Winer, C. Y. Liu, M. L. Apuzzo // World Neurosurg. – 2012. – V. 78, № 6. – P. 709–711.
13. Investigating the toxic effects of iron oxide nanoparticles / S. J. Soenen, M. De Cuyper, S. C. De Smedt [et al.] // Methods Enzymol. – 2012. – V. 509. – P. 195–224.
14. Crane R. A. Nanoscale zero-valent iron: future prospects for an emerging water treatment technology / R. A. Crane, T. B. Scott // J. Hazard. Mater. – 2012. – V. 211–212. – P. 112–125.
15. El-Temsah Y. S. Ecotoxicological effects on earthworms of fresh and aged nano-sized zero-valent iron (nZVI) in soil / Y. S. El-Temsah, E. J. Joner // Chemosphere. – 2012. – V. 89, № 1. – P. 76–82.
16. Toxicity assessments of nanoscale zerovalent iron and its oxidation products in medaka (*Oryzias latipes*) fish / P. J. Chen, C. H. Su, C. Y. Tseng [et al.] // Pollut. Bull. – 2011. – V. 63, № 5–12. – P. 339–346.
17. Partial oxidation ("aging") and surface modification decrease the toxicity of nanosized zerovalent iron / T. Phenrat, T. C. Long, G. V. Lowry [et al.] // Environ. Sci. Technol. – 2009. – V. 43, № 1. – P. 195–200.
18. Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів / І. М. Трахтенберг, З. Р. Ульберг, І. С. Чекман [та ін.] // Методичні рекомендації. – К. : 2013. – 108 с.
19. Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів: наказ МОЗ України від 14.12.2009 № 944 – Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=z0053-10/>
20. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2002. – 527 с.
21. OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 4: Health Effects Test No. 425: Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP). Organization for Economic Cooperation and Development. – Paris, France: 2008. – 27 p.
22. Finney D. J. Probit Analysis. – 3rd edition, chapt. 3 and 4. / D. J. Finney. – Cambridge: Cambridge University Press, 1971. – 333 p.
23. Hodge H. C. Tabulation of toxicity classes / H. C. Hodge, L. H. Sterner // Am. industr. Hyg. Ass. Quart. – 1943. – V. 10, № 4. – P. 93.



24. Biochemical alterations induced by acute oral doses of iron oxide nanoparticles in Wistar rats / M. Kumari, S. Rajak, S. P. Singh [et al.] // Drug. Chem. Toxicol. – 2013. – V. 36, № 3. – P. 296–305.
25. Comparative study of genotoxicity and tissue distribution of nano and micron sized iron oxide in rats after acute oral treatment / S. P. Singh, M. F. Rahman, U. S. Murty [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2013. – V. 266, № 1. – P. 56–66.
26. Фармакологічні та протипухлинні властивості ферромагнітних наночастиць заліза / В. С. Мосиенко, А. П. Бурлака, Н. Ф. [и др.] // Нанорозмірні системи: строєння, властивості, технології (НАНСИС–2013): Тезиси IV Міжнарод. науч. конф. (Київ, 19–22 нояб. 2013 г.) / редкол. : А. Г. Наумоєв [и др.]. – Київ, 2013. – VIII с. + 578 с.
27. Acute toxicity of magnetic nanoparticles in mice / A. Gajdosíková, A. Gajdosík, M. Koneřacká [et al.] // Neuro Endocrinol. Lett. – 2006. – V. 27, № 2. – P. 96–99.
28. The in vivo investigation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-nanoparticles acute toxicity in mice / S. Zhao, X. Lin, L. Zhang [et al.] // Biomed. Eng. Appl. Basis Commun. – 2012. – V. 24, № 3. – P. 229–236.
29. Исследование острой токсичности магнитной жидкости на основе магнетита Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, стабилизированного олеиновой кислотой / О. В. Минаева, Н. Н. Зырняева, Г. С. Столяров [и др.] // Наноэкология: материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием 6–7 сентября 2011 года, г. Саратов (<http://www.ntsr.info/nor/structure/sections/medical-biologic/6706.htm>).
30. Intraperitoneal injection of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-nanoparticle induces hepatic and renal tissue injury via oxidative stress in mice / P. Ma, Q. Luo, J. Chen [et al.] // Int. J. Nanomedicine. – 2012. – V. 7. – P. 4809–4818.
31. Oxidative stress induced by zero-valent iron nanoparticles and Fe(II) in human bronchial epithelial cells / C. R. Keenan, Goth- R. Goldstein, D. Lucas [et al.] // Environ. Sci. Technol. – 2009. – V. 43, № 12. – P. 4555–4560.
32. Superparamagnetic iron oxide polyacrylic acid coated γ-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles do not affect kidney function but cause acute effect on the cardiovascular function in healthy mice / N. K. Iversen, S. Frische, K. Thomsen [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2013. – V. 266, № 2. – P. 276–288.

**А. М. Дорошенко**

### **Дослідження гострої токсичності наночастинок заліза при внутрішньошлунковому та внутрішньовенному шляхах введення**

Унікальні фізичні та хімічні властивості, а також підвищена біологічна та фармакологічна активність нанорозмірних і наноструктурних матеріалів робить їх перспективними засобами для застосування в медицині та фармації. Пошук і розробка нового класу фармацевтичних субстанцій з протианемічними властивостями для ефективного лікування пацієнтів із залізодефіцитною анемією є актуальною задачею, тому що існуючі протианемічні препарати мають недостатню ефективність та побічні ефекти. Наночастинки нуль-валентного заліза (НЧЗ) характеризуються підвищеною біологічною активністю на молекулярному рівні. Як один з етапів вивчення біобезпеки НЧЗ у даній роботі досліджена їхня гостра токсичність за одноразового внутрішньошлункового та внутрішньовенного введення мишам, тому що саме ці шляхи введення передбачаються за клінічного застосування. Встановлено, що згідно з токсикологічною класифікацією речовин НЧЗ належать до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) за внутрішньовенного та до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини) за внутрішньошлункового введення. У дослідженні обговорюються прояви та можливі механізми токсичної дії НЧЗ.

*Ключові слова:* нанофармакологія, біобезпечність, наночастинки заліза, гостра токсичність

**А. М. Дорошенко**

### **Исследование острой токсичности наночастиц железа при внутрижелудочном и внутривенном путях введения**

Уникальные физические и химические свойства, а также повышенная биологическая и фармакологическая активность наноразмерных и наноструктурных материалов делает их перспективными для применения в медицине и фармации. Поиск и разработка нового класса фармацевтических субстанций с противоанемическими свойствами для эффективного лечения пациентов с железодефицитной анемией является актуальной задачей, так как существующие противоанемические препараты имеют недостаточную эффективность и вызывают побочные эффекты. Наночастицы нуль-валентного железа (НЧЖ) характеризуются повышенной биологической активностью на молекулярном уровне. В качестве одного из этапов изучения биобезопасности НЧЖ в данной работе была исследована их острая токсичность при однократном внутрижелудочном и внутривенном введении мышам, так как именно эти пути введения предполагаются при клиническом применении. Установлено, что по токсикологической классификации веществ НЧЖ относятся к IV классу токсичности (малотоксичные вещества) при внутривенном и к V классу токсичности (практически нетоксичные вещества) при внутрижелудочном пути введения. В исследовании обсуждаются проявления и возможные механизмы токсического действия НЧЖ.

*Ключевые слова:* нанофармакология, биобезопасность, наночастицы железа, острая токсичность

---

---

**A. M. Doroshenko**

**Study of iron nanoparticles acute oral and intravenous toxicity**

Unique physical and chemical properties, as well as enhanced biological and pharmacological activity of nanoscale and nanostructured materials make them a promising tool to address contemporary challenges in the field of medicine and pharmacy. Iron deficiency anemia is one of the most wide-spread pathological states in the world according to the World Health Organization data. Searching and development of new pharmacological substances with antianemic properties for effective treatment of patients with iron deficiency anemia are very urgent, because available commercial antianemic preparations demonstrate some disadvantages and side effects according to their low bioavailability, and, as a result, the need to use at comparatively high doses. Zero-valent iron nanoparticles (FeNPs) are possessed by high potential in this area due to the enhanced biological activity of metal nanoparticles on the molecular level. On the other hand, the problem of nanomaterials toxicity is a key parameter in order to assess "risk-benefit" ratio. As a step of biosafety evaluation acute toxicity of single intragastric and intravenous introduction of FeNPs to mice has been studied, because these routes of potential clinical administration are considered. Limit-test procedure and probit analysis were used for LD<sub>50</sub> estimation. It was found that according to the toxicological classification of substances FeNPs belong to IV toxicity class (low toxic substances) for intravenous and V toxicity class (practically non-toxic substances) for intragastric route of administration according to Hodge H. C. and Sterner L. H. classification. Symptoms of intoxication and possible mechanisms involved are also discussed in the study.

*Key words: nanopharmacology, biosafety, iron nanoparticles, acute toxicity*

---

*Надійшла: 23.12.2013 р.*

**Контактна особа:** Дорошенко Андрій Михайлович, аспірант, кафедра фармакології та клінічної фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 34, просп. Перемоги, м. Київ, 03057. Тел.: +38 096 933 13 55. Електронна пошта: amdor@mail.ru