

ОЦЕНКА СВОЙСТВ НАНОКОМПОЗИТА ФУКОИДАН/ Fe_3O_4 КАК ТРАНСПОРТНОГО АГЕНТА КОВАЛЕНТНО СВЯЗАННОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО ГРУЗА

В.Е. Супрунчук

ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

355000, Россия, Ставрополь, ул. Пушкина, 1а

vsuprunchuk@ncfu.ru

DOI: 10.26456/pcascnn/2023.15.1039

Аннотация: Магнитоуправляемый транспорт лекарственных веществ с целенаправленным высвобождением молекулярного груза способствует расширению возможностей клинической терапии. В работе исследуется возможность создания наночастиц, на основе фукоидана модифицированного магнетитом, для биомедицинских целей. Изучена возможность иммобилизации модельного фибринолитического фермента с помощью сшивающего агента. Максимальная загрузка фермента составляет $2,06 \pm 0,09\%$ масс. Размер частиц с иммобилизованной альтеплазой по данным сканирующей электронной микроскопии составил $94,4 \pm 24,3$ нм, гидродинамический диаметр – 370 нм, дзета-потенциал – $-1,66 \pm 0,06$ мВ. Намагниченность насыщения образца составляет $6 \text{ Гс} \cdot \text{см}^3/\text{г}$. Для понимания механизмов высвобождения молекулярного груза проведены исследования с использованием различных моделей: нулевой порядок, модель Вейбулла, уравнение Хилла, модель Хигучи, модель Корсмейер-Пеппаса. Использование математического моделирования показало, что наилучшей моделью для описания этого процесса является кинетическое уравнение Корсмейер-Пеппаса ($r^2 = 0,97$), а процесс высвобождения контролируется диффузией Фика. Полученный биокомпозитный материал является перспективным кандидатом в качестве наноносителя для ферментативного агента.

Ключевые слова: фукоидан, магнетит, магнитные наночастицы, таргетинг, адресная доставка, альтеплаза, кинетика выпуска, переменное магнитное поле.

1. Введение

Биоразлагаемые композиты с магнитным управлением представляют собой новый класс функциональных материалов, расширяющих возможности клинической терапии. Такие материалы предполагают наличие в своём составе магнитных наночастиц, в качестве которых чаще всего исследуют наночастицы оксидов железа (магнетит Fe_3O_4 или его окисленная и более стабильная форма маггемит $\gamma-Fe_2O_3$ [1]). Терапевтический эффект при их применении может быть достигнут несколькими путями: за счет эффекта гипертермии тканей [2], повышением скорости высвобождения лекарственных веществ за счет локального нагрева магнитных наночастиц при применении внешнего магнитного поля [3], а также магнитоуправлением материала для локализации в заданном месте. При рассмотрении возможности использования магнитных частиц для доставки лекарств необходимо, чтобы их поверхность была гидрофильна, размер частиц не превышал

100 нм [4], с низкой или отсутствующей токсичностью, так как в «чистом» виде магнитные наночастицы обладают цитотоксичностью [5]. Поэтому для использования их в биомедицине поверхность магнитных частиц покрывают полимерами или сами частицы включают в состав композитного материала. Важным направлением является подбор матрицы для такого композитного материала. Для снижения токсичности магнитных частиц и повышения их биосовместимости возможно использование в качестве матрицы природные полимеры, в частности полисахариды. Полисахариды имеют реакционноспособные группы, которые позволяют формировать устойчивые системы со многими соединениями, в том числе оксидами металлов. В качестве полисахаридной матрицы в данной работе был использован фукоидан. Фукоидан представляет собой разветвленный сульфатированный гетерополисахарид, имеющий фармакологически важные свойства (противоопухолевые [6], антикоагулянтные [7], противовирусные [8] и т.д.). При формировании композитного материала на основе фукоидана допированного магнетитом вероятно взаимодействие компонентов посредством лигандного обмена, водородной связи и электростатического взаимодействия за счет наличия гидроксильных и ионогенных группы кислотного характера в полисахариде [9]. Кроме того, фукоидан обладает способностью селективно связываться с Р-селектином, белком адгезии, находящегося в большом количестве в тромбе [9]. Такая способность позволяет ему выступать как тромб-направленный вектор при простой ассоциации с фибринолитическим ферментом [10]. Целью работы является создание наносистем тромболитической терапии с таргетным высвобождением ферментного молекулярного груза на основе природного полимера и магнитных частиц.

2. Экспериментальная часть

В работе был использован фукоидан полученный по методике [11]. Гидрозолю наночастиц магнетита получали осаждением водного раствора смеси солей железа (II) и (III) [12]. Биокompозитные частицы готовили смешением раствора полисахарида и гидрозоля магнетита на магнитной мешалке в течении 2-х часов [13]. Методом фотонной корреляционной спектроскопии определяли гидродинамический размер и дзета-потенциал частиц (Photocor Compact Z, Россия). Диаметры частиц, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), получали путем случайного измерения около 100 частиц биокompозита. Загрузка модельного фермента (Actilyse, Германия) осуществлялась с помощью глутарового альдегида. Для этого к частицам фукоидан/магнетит вносили 0,5 % раствор сшивающего агента и выдерживали 30 мин при

перемешивании, промывали и затем вносили фермент. Перемешивание продолжали на ледяной бане в течение 12 ч и трижды промывали 0,1 М фосфатно-солевым буфером (ФСБ) pH 7,4. Скорость высвобождения определяли при 37°C в 0,1 М ФСБ pH 7,4. Отбор проб осуществляли через заданный интервал в течении 320 мин. Количество загруженного и выпущенного фермента определяли в супернатанте методом Бредфорда при 595 нм [14]. Амидолитическую активность определяли с использованием хромогенного субстрата в стандартизированной плазме человека [15]. Для этого 0,5 мл золя биокompозита добавляли в 0,5 мл плазмы крови человека и инкубировали в течение 10 мин при 37°C на водяной бане. Затем добавляли 0,5 мл хромогенного субстрата и выдерживали 120 с. После этого образцы помещали в спектрофотометр и проводили измерение при 405 нм в течение 1 ч. Для понимания механизма релиза ферментного препарата, к полученным результатам выпуска было применено 5 кинетических моделей: уравнение нулевого порядка, модель Вейбулла, уравнение Хилла, модель Хигучи, уравнение Корсмейер-Пеппаса [16]. Подбор кинетической модели высвобождения был осуществлен с помощью программного обеспечения KinetDS3.0 [17]. Изучение ферментативной активности *in vitro* осуществлялось на модели фибриновых сгустков как описано в работе [18]. Для приготовления модельных фибриновых сгустков на предметном стекле смешивали 0,5 мл стандартной плазмы и 0,5 мл раствора тромбина (50 ед/мл в 0,9 % растворе *NaCl*) при 37°C, оставляли на 5 мин для формирования сгустка. После этого плазменный сгусток промывали 0,1 М ФСБ (pH 7,4), помещали на чистое предметное стекло и вносили 100 мкл золя полученных нанокомпозитов, содержащих фермент. Морфологические изменения сгустка наблюдали с помощью оптической микроскопии с отслеживанием и фотофиксированием состояния через каждые 10 мин. Намагниченность образцов измеряли с использованием вибрационного магнитометра Lake Shore Cryotronics VSM 7410-S (LakeShore Cryotronic, США).

3. Результаты и их обсуждение

Формирование биокompозитного материала осуществлялось за счет функционализации фукоидана магнетитом посредством лигандного обмена, электростатического взаимодействия с последующей иммобилизацией модельного фермента с помощью глутарового альдегида. Модельным фибринолитическим ферментом для включения в биокompозитный носитель была выбрана альтеплаза – тромболитическое средство, применяемое при острых состояниях (инфаркте миокарда, ишемическом инсульте и т.д.). СЭМ-изображение сформированного композита представлено на рис. 1. По данным СЭМ средний диаметр

частиц с иммобилизированной альтеплазой составил $94,4 \pm 24,3$ нм. Гидродинамический диаметр таких композитов составил 370 нм с электрохимическим потенциалом частиц $-1,66 \pm 0,06$ мВ.

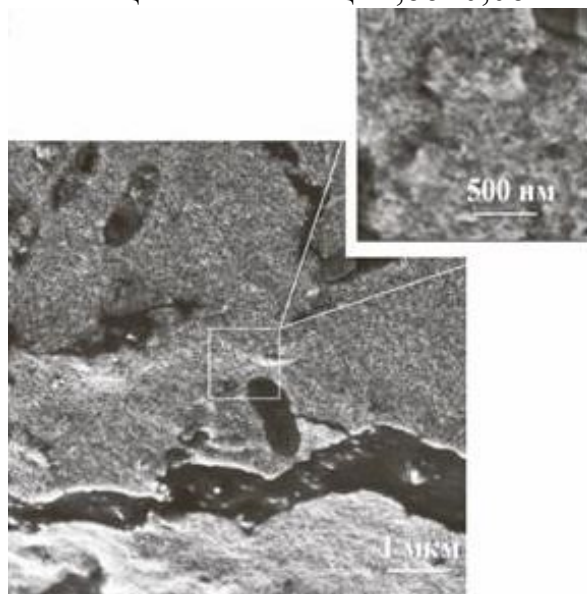


Рис. 1. Биокompозит фукоидан/магнетит с загруженным ферментом.

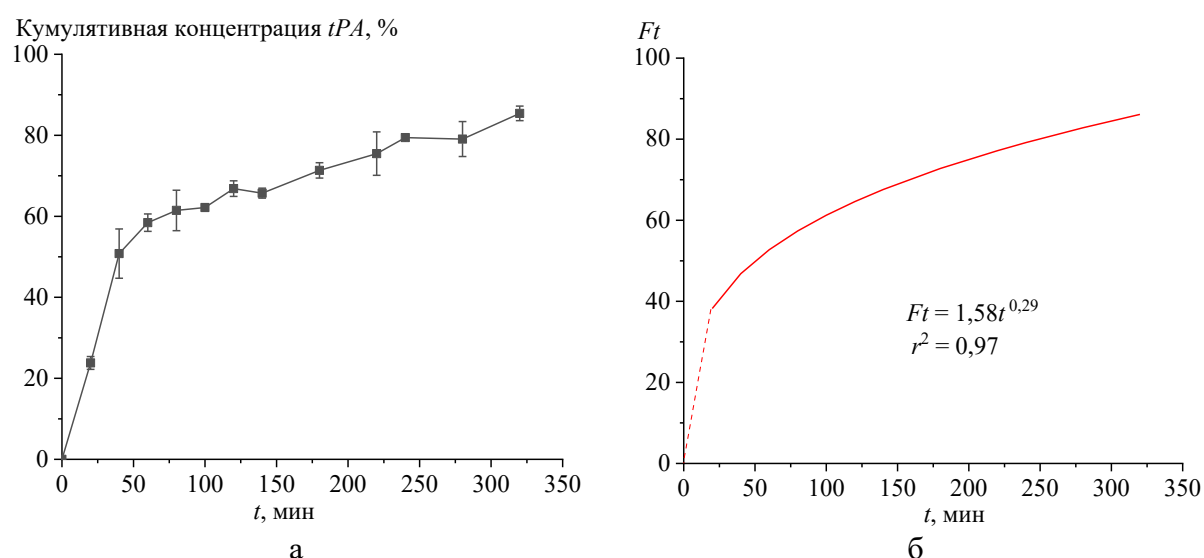


Рис. 2. а – релиз модельного фермента из биокompозита фукоидан/магнетит, б – применение модели Корсмейер-Пеппаса к релизу фибринолитического фермента.

Количество загруженного фермента определяли методом Бредфорда [14]. Включение фермента составило $2,06 \pm 0,09$ масс.%. При рассмотрении профиля релиза альтеплазы из биокompозита выявлен берст-эффект в течении первых 40 мин. Профиль высвобождения фермента показан на рис. 2 а. Эти результаты показывают, что биокompозит фукоидан/магнетит может обеспечить быстрый лизис сформированных тромбов. Для определения механизмов высвобождения альтеплазы было определено значение коэффициента корреляции с использованием 5 кинетических

моделей (уравнение нулевого порядка, уравнение Хилла, модель Вейбулла, модель Хигучи, модель Корсмейер-Пеппаса) (см. Таблицу 1).

Таблица 1 Значение коэффициента корреляции для кинетических моделей высвобождения альтеплазы.

Модель	Значение коэффициента корреляции (r^2)
Уравнение нулевого порядка	0,75
Вейбулла	0,88
Уравнение Хилла	0,91
Хигучи	0,48
Корсмейер-Пеппаса	0,97

В соответствии с полученными значениями коэффициентов корреляции наиболее применимой моделью аппроксимации является модель Корсмейер-Пеппаса ($r^2 = 0,97$). Модель Корсмейер-Пеппаса была рассчитана по формуле (1) [16]:

$$Ft = k_m t^n \quad (1)$$

где k_m – постоянная скорости, n – показатель степени высвобождения, Ft – количество фермента, выпущенное к моменту времени t . Показатель степени высвобождения (n) составил 0,29, что указывает на диффузионный механизм выпуска ферментного препарата в соответствии с законом диффузии Фика (см. рис 2 б). Значение k_m указывает на скорость транспортировки иммобилизованного вещества, где не высокое значение указывает на низкую транспортную кинетику и плохое высвобождение [19]. Высокое значение, как рассчитанное в ходе работы ($k_m = 1,58 \text{ мин}^{-1}$), наоборот, указывает на более быстрое высвобождение [19].

Таким образом, такое поведение может свидетельствовать о возможном включении отдельных молекул фермента или олигомеров фермента, сформированных в результате межмолекулярной сшивки белковых молекул в присутствии глутарового альдегида, в структуру носителя за счет электростатического взаимодействия с выпуском в результате диффузионных процессов. Модель Корсмейер-Пеппаса подтверждает диффузионный механизм выпуска. Последующий же выпуск фермента затруднен из-за высокой стабильности формируемых ковалентных связей фермент-носитель за счет глутарового альдегида [20].

Фермент-загруженные биокompозитные частицы проявляют суперпарамагнитное поведение с отсутствием гистерезиса и остаточной намагниченности (см. рис. 3 а). Намагниченность насыщения чистого золя магнетита составила $80,25 \text{ Гс} \cdot \text{см}^3/\text{г}$, в то время как биокompозитного материала всего $6 \text{ Гс} \cdot \text{см}^3/\text{г}$. Такое поведение позволит исключить тромбоз от магнитно-агрегированных частиц с сохранением возможности их манипулирования [21]. Намагниченность зависит от количества доступного оксида железа и поскольку функционализация, фукоидана

происходит только на поверхности полимера, результирующая величина намагниченности сравнительно невелика [22].

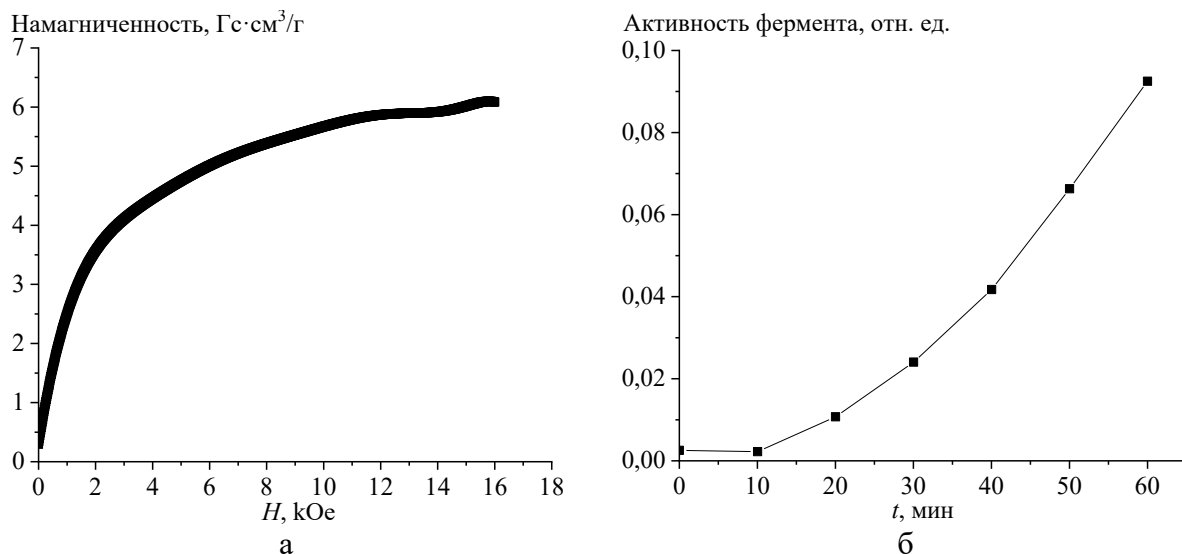


Рис. 3. Намагничивание бионанокomпозитных частиц, содержащих молекулярный груз $t = 25^{\circ}\text{C}$ (а); амидолитическая активность фермента (б).

Следующий этап работы был направлен на исследование сохранения активности фермента в результате иммобилизации. Определение амидолитической активности альтеплазы основано на способности фермента взаимодействовать с плазминогеном с последующим гидролизом амидной связи в хромогенном субстрате с высвобождением *p*-нитроанилина (*pNa*). Амидолитическая активность иммобилизованного фермента была ниже, чем у свободного. Снижение ферментативной активности альтеплазы при образовании ковалентных связей с помощью глутарового альдегида может быть связано с образованием стерических затруднений для активного центра фермента в результате неправильного сворачивания белка под действием образующихся связей. Среди факторов этого явления доминирующей может быть скорость высвобождения фермента из матрикса. Определения ферментативной кинетики иммобилизованного и свободного фибринолитика определяли в течение 1 ч (см. рис. 3 б).

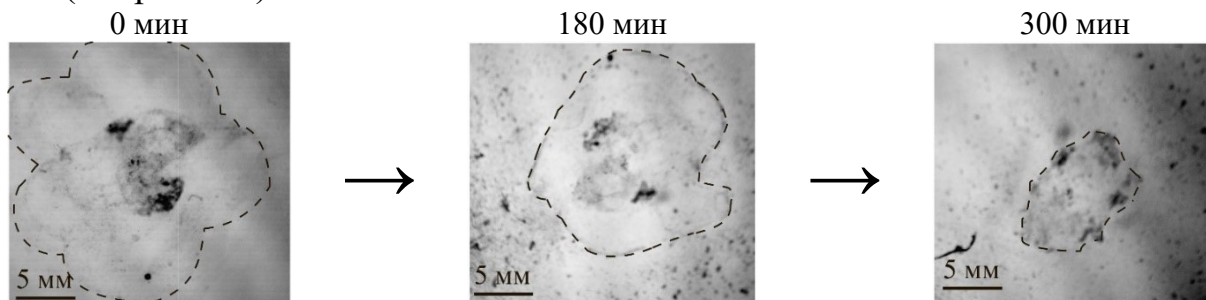


Рис. 4 Лизис модельного фибринового сгустка в присутствии биокомпозита фукоидан/магнетит с иммобилизированной альтеплазой.

Для определения активности фермента также был использован метод лизиса фибринового сгустка, фиксированного на предметном стекле (см. рис. 4). После воздействия биокомпозитного материала в течении 300 мин наблюдается сокращение фибринового сгустка более чем на 70%, что свидетельствует о сохранении активности фермента.

4. Заключение

Таким образом, в работе показана возможность создания наночастиц фукоидан/магнетит потенциально применимых в качестве носителя ферментных препаратов для их адресной доставки. По данным СЭМ средний диаметр биокомпозитных частиц с иммобилизированной альтеплазой составил $94,4 \pm 24,3$ нм. Гидродинамический диаметр загруженных частиц составил 370 нм с дзета-потенциалом $-1,66 \pm 0,06$ мВ. Намагниченность насыщения образца имела значение $6 \text{ Гс} \cdot \text{см}^3/\text{г}$. Предполагается, что механизм выпуска фермента является диффузионно-контролируемым, который лучшим образом описывается уравнением Корсмейер-Пеппаса. Выявлено сохранение активности фермента при действии на модель тромба. Полученный материал является многообещающим кандидатом в качестве наноносителя ферментного агента и может быть использован для таргетной терапии тромбов.

Автор выражает благодарность директору химико-биологического кластера ИТМО, д.х.н. В.В. Виноградову за предоставленную возможность проведения экспериментальной работы. Работа выполнена в рамках Стипендии Президента РФ для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики № СП-1758.2021.4.

Библиографический список:

1. **Shubayev, V.I.** Magnetic nanoparticles for theragnostics / V. I. Shubayev, T. R. Pisanic, S. Jin // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2009. – V. 61. – I. 6. – P. 467-477. DOI: 10.1016/j.addr.2009.03.007.
2. **Demin, A.M.** Magnetic-responsive doxorubicin-containing materials based on Fe_3O_4 nanoparticles with a SiO_2/PEG shell and study of their effects on cancer cell lines / A.M. Demin, A.V. Vakhrushev, A.G. Pershina et al. // *International journal of molecular sciences*. – 2022. – V. 23. – I. 16. – Art. № 9093. – 14 p. DOI: 10.3390/ijms23169093.
3. **Li, M.** Enhanced synergism of thermo-chemotherapy for liver cancer with magnetothermally responsive nanocarriers / M. Li, W. Bu, J. Ren et al. // *Theranostics*. – 2018. – V. 8. – I. 3. – P. 693-709. DOI: 10.7150/thno.21297.
4. **Kumar, A.** Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles / A. Kumar, M. Gupta // *Biomaterials*. – 2005. – V. 26. – I. 13. – P. 1565-1573. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.05.022.
5. **Gupta, A.K.** Surface modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery : Interaction studies with human fibroblasts in culture / A. K. Gupta, A. S. G. Curtis // *Journal of Materials Science: Materials In Medicine*. – 2004. – V. 4. – I. 15. – P. 493-496. DOI: 10.1023/b:jmsm.0000021126.32934.20.
6. **Jin, J.O.** The therapeutic potential of the anticancer activity of fucoidan: Current advances and hurdles / J.O. Jin, P.S. Chauhan, A.P. Arukha et al. // *Marine Drugs*. – 2021. – V. 19. – I. 5. – Art. № 265. – 17 p. DOI: 10.3390/md19050265.
7. **Ushakova, N.A.** Anticoagulant activity of fucoidans from brown algae / N. A. Ushakova, G. E. Morozevich,

- N. E. Ustyuzhanina et al. // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. – 2009. – V. 3. – I. 1. – P. 77-83. DOI: 10.1134/S1990750809010119.
8. **Thuy, T.T.T.** Anti-HIV activity of fucoidans from three brown seaweed species / T.T.T. Thuy, B.M. Ly, T.T.T. Van et al. // *Carbohydrate Polymers*. – 2015. – V. 115. – P. 122-128. DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2014.08.068.
9. **Lu, S.** Binding mechanisms of polysaccharides adsorbing onto magnetite concentrate surface / S. Lu, Z. Yuan, C. Zhang // *Powder Technology*. – 2018. – V. 340. – P. 17-25. DOI: 10.1016/j.powtec.2018.09.021.
10. **Ghebouli, R.** Amino-fucoidan as a vector for r tPA-induced fibrinolysis in experimental thrombotic events / R. Ghebouli, S. Loyau, M. Maire et al. // *Thrombosis and haemostasis*. – 2018. – V. 118. – I. 1. – P. 42-53. DOI: 10.1160/TH17-02-0132.
11. **Супрунчук, В.Е.** Высокоинтенсивная низкочастотная ультразвуковая обработка сульфатированного полисахарида бурых водорослей / В. Е. Супрунчук // *Журнал Сибирского федерального университета: Химия*. – 2021. – Т. 14. – №. 4. – С. 582-592. DOI: 10.17516/1998-2836-0265.
12. **Drozdov, A.S.** A universal magnetic ferrofluid: Nanomagnetite stable hydrosol with no added dispersants and at neutral pH / A. S. Drozdov, V. Ivanovski, D. Avnir, V.V. Vinogradov // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2016. – V. 468. – P. 307-312. DOI: 10.1016/j.jcis.2016.01.061.
13. **Супрунчук, В.Е.** Создание и свойства биокомпозитных наночастиц на основе фукоидана как носителя фибринолитического фермента / В. Е. Супрунчук // *Известия вузов. Серия «Химия и химическая технология»*. – 2023. – Т. 66. – № 5. – С. 87-95. DOI: 10.6060/ivkkt.20236605.6680.
14. **Kruger, N.J.** The Bradford method for protein quantitation / N.J. Kruger // In book: *The Protein Protocols Handbook*. Springer Protocols Handbooks; ed. by J.M. Walker. – Totowa, New Jersey: Humana Press, 2009. – P. 17-24. DOI: 10.1007/978-1-59745-198-7_4.
15. **Friedrich, R.P.** Tissue plasminogen activator binding to superparamagnetic iron oxide nanoparticle-covalent versus adsorptive approach / R. P. Friedrich, J. Zaloga, E. Schreiber et al. // *Nanoscale Research Letters*. – 2016. – V. 11. – I. 1. – Art. № 297. – 11 p. DOI: 10.1186/s11671-016-1521-7.
16. **Mendyk, A.** KinetDS: An open source software for dissolution test data analysis, dissolution technol / A. Mendyk, R. Jachowicz, K. Fijorek et al. // *Dissolution Technologies*. – 2012. – V. 19. – I. 1. – P. 6-11. DOI:10.14227/DT190112P6.
17. KinetDS3.0. data analysis software. – Режим доступа: https://sourceforge.net/projects/kinetds/files/v3.0/KinetDS3.0_Windows_32.zip/download. – 15.12.2022.
18. **Anastasova, E.I.** Magnetite nanocontainers: Toward injectable highly magnetic materials for targeted drug delivery / E.I. Anastasova, A.Y. Prilepskii, A.F. Fakhardo et al. // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2018. – V. 10. – I. 36. – P. 30040-30044. DOI: 10.1021/acsami.8b10129.
19. **Wu, I.Y.** Interpreting non-linear drug diffusion data: Utilizing Korsmeyer-Peppas model to study drug release from liposomes / I.Y. Wu, S. Bala, N. Škalko-Basnet, M.P. di Cagno // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2019. – V. 138. – I. 6. – Art. № 105026. – 43 p. DOI: 10.1016/j.ejps.2019.105026.
20. **Vajhadin, F.** Glutaraldehyde crosslinked doxorubicin promotes drug delivery efficiency using cobalt ferrite nanoparticles / F. Vajhadin, M. Mazloum-Ardakani, S. Raeisi et al. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2022. – Art. № 112870. – 25 p. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.112870.
21. **Shagholani, H.** Improvement of interaction between PVA and chitosan via magnetite nanoparticles for drug delivery application / H. Shagholani, S. M. Ghoreishi, M. Mousazadeh // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2015. – V. 78. – P. 130-136. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.02.042.
22. **Düsenberg, B.** Magnetizing polymer particles with a solvent-free single stage process using superparamagnetic iron oxide / B. Düsenberg, P. Groppe, S. Müssig et al. // *Polymers*. – 2022. – V. 14. – I. 19. – Art. № 4178. – 13 p. DOI: 10.3390/polym14194178.

References:

1. Shubayev V.I., Pisanic T.R., Jin S. Magnetic nanoparticles for theragnostics, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2009, vol. 61, issue 6, pp. 467-477. DOI: 10.1016/j.addr.2009.03.007.
2. Demin A.M., Vakhrushev A. V., Pershina A.G. et al. Magnetic-responsive doxorubicin-containing materials based on Fe₃O₄ nanoparticles with a SiO₂/PEG shell and study of their effects on cancer cell lines, *International journal of molecular sciences*, 2022, vol. 23, issue 16, art. no. 9093, 14 p. DOI: 10.3390/ijms23169093.
3. Li M., Bu W., Ren J. et al. Enhanced synergism of thermo-chemotherapy for liver cancer with magnetothermally responsive nanocarriers, *Theranostics*, 2018, vol. 8, issue 3, pp. 693-709. DOI: 10.7150/thno.21297.
4. Kumar A., Gupta M. Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles, *Biomaterials*, 2005, vol. 26, issue 13, pp. 1565-1573. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.05.022.

5. Gupta A.K., Curtis A.S.G.. Surface modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery : Interaction studies with human fibroblasts in culture, *Journal Of Materials Science: Materials In Medicine*, 2004, vol. 4, issue 15, pp. 493-496. DOI: 10.1023/b:jmsm.0000021126.32934.20.
6. Jin J.O., Chauhan P.S., Arukha A.P. et al. The therapeutic potential of the anticancer activity of fucoidan: Current advances and hurdles, *Marine Drugs*, 2021, vol. 19, issue 5, art. no. 265, 17 p. DOI: 10.3390/md19050265.
7. Ushakova N.A., Morozevich G.E., Ustyuzhanina N.E. et al. Anticoagulant activity of fucoidans from brown algae, *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2009, vol. 3, issue 1, pp. 77-83. DOI: 10.1134/S1990750809010119.
8. Thuy T.T.T., Ly B.M., Van T.T.T. et al. Anti-HIV activity of fucoidans from three brown seaweed species, *Carbohydrate Polymers*, 2015, vol. 115, pp. 122-128. DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2014.08.068.
9. Lu S., Yuan Z., Zhang, C.. Binding mechanisms of polysaccharides adsorbing onto magnetite concentrate surface, *Powder Technology*. 2018. vol. 340, pp. 17-25. DOI: 10.1016/j.powtec.2018.09.021.
10. Ghebouli R., Loyau S., Maire M. et al. Amino-fucoidan as a vector for rtPA-induced fibrinolysis in experimental thrombotic events, *Thrombosis and haemostasis*, 2018, vol. 118, issue 1, pp. 42-53. DOI: 10.1160/TH17-02-0132.
11. Suprunchuk V.E. Vysokointensivnaya nizkochastotnaya ul'trazvukovaya obrabotka sulfatirovannogo polisakharida burykh vodoroslej [High-intensity low-frequency ultrasonic treatment of sulfated polysaccharide from brown algae]. *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta: Khimiya [Journal of Siberian Federal University: Chemistry]*, 2021, vol. 14, issue 4, pp. 582-592. DOI: 10.17516/1998-2836-0265. (In Russian).
12. Drozdov A.S., Ivanovski V., Avnir D., Vinogradov V.V. A universal magnetic ferrofluid: Nanomagnetite stable hydrosol with no added dispersants and at neutral pH, *Journal of Colloid and Interface Science*, 2016, vol. 468, pp. 307-312. DOI: 10.1016/j.jcis.2016.01.061.
13. Suprunchuk V.E.. Sozдание i svoystva biokompozitnykh nanochastits na osnove fukoidana kak nositelya fibrinoliticheskogo fermenta [Creation and properties of biocomposite nanoparticles based on fucoidan as carriers of fibrinolytic enzyme], *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii Khimiya i Khimicheskaya Tekhnologiya [ChemChemTech]*, 2023, vol. 66, no. 5, pp. 87-95. DOI:10.6060/ivkkt.20236605.6680. (In Russian).
14. Kruger N.J. *The Bradford method for protein quantitation*, *The Protein Protocols Handbook. Springer Protocols Handbooks*, ed. by J.M. Walker. Totowa, New Jersey, Humana Press, 2009, pp. 17-24. DOI: 10.1007/978-1-59745-198-7_4.
15. Friedrich R.P., Zaloga J., Schreiber E. et al. Tissue plasminogen activator binding to superparamagnetic iron oxide nanoparticle-covalent versus adsorptive approach, *Nanoscale Research Letters*. 2016. vol. 11, issue 1, art. no. 297, 11 p. DOI: 10.1186/s11671-016-1521-7.
16. Mendyk A., Jachowicz R., Fijorek K. et al. KinetDS: An open source software for dissolution test data analysis, *Dissolution Technologies*, 2012, vol. 19, issue 1, pp. 6-11. DOI:10.14227/DT190112P6.
17. KinetDS3.0. data analysis software. Available at: https://sourceforge.net/projects/kinetds/files/v3.0/KinetDS3.0_Windows_32.zip/download (accessed 15.12.2022).
18. Anastasova E.I., Prilepskii A.Y., Fakhardo A.F. et al. Magnetite nanocontainers: toward injectable highly magnetic materials for targeted drug delivery, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, vol. 10, issue 36, pp. 30040-30044. DOI: 10.1021/acsami.8b10129.
19. Wu I.Y., Bala S., Škalko-Basnet N., di Cagno M.P. Interpreting non-linear drug diffusion data: Utilizing Korsmeyer-Peppas model to study drug release from liposomes, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2019, vol. 138, art. no. 105026, 43 p. DOI: 10.1016/j.ejps.2019.105026.
20. Vajhadin F., Mazloum-Ardakani M., Raeisi S. et al. Glutaraldehyde crosslinked doxorubicin promotes drug delivery efficiency using cobalt ferrite nanoparticles, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2022, art. no. 112870, 25 p. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.112870.
21. Shagholani H., Ghoreishi S.M., Mousazadeh M. Improvement of interaction between PVA and chitosan via magnetite nanoparticles for drug delivery application, *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015. vol. 78, pp. 130-136. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.02.042.
22. Düsenberg B., Groppe P., Müssig S. et al. Magnetizing polymer particles with a solvent-free single stage process using superparamagnetic iron oxide, *Polymers*, 2022, vol. 14, issue 19, art. no. 4178, 13 p. DOI: 10.3390/polym14194178.

**EVALUATION OF THE PROPERTIES OF THE FUCOIDAN/Fe₃O₄ NANOCOMPOSITE AS
A TRANSPORT AGENT OF COVALENTLY BOUND MOLECULAR CARGO**

V.E. Suprunchuk

North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

DOI: 10.26456/pcascnn/2023.15.1039

Abstract: Magnetically controlled transport of drugs with targeted release of molecular cargo expands the possibilities of clinical therapy. This article explores the possibility of creating nanoparticles based on fucoidan modified with magnetite for biomedical purposes. The possibility of immobilizing a modelling fibrinolytic enzyme with a cross-linking agent was studied. The maximum loading of the enzyme is $2.06 \pm 0.09\%$ of the mass. The particle size with immobilized alteplase according to scanning electron microscopy was 94.4 ± 24.3 nm, hydrodynamic diameter - 370 nm, zeta potential – -1.66 ± 0.06 mV. The saturation magnetization of the sample is 6 emu/g. To understand the mechanisms of molecular load release, five kinetic models were applied to the results obtained: zero order, Weibull, Hill equation, Higuchi, Korsmeyer-Peppas. The use of mathematical modeling showed that the best model for describing this process is the Korsmeyer-Peppas kinetic equation ($r^2 = 0.97$), and the release process is controlled by the Fick diffusion. The resulting biocomposite material is a promising candidate as a nanocarrier for an enzymatic agent.

Keywords: fucoidan, magnetite, magnetic nanoparticles, targeting, targeted delivery, alteplase, release kinetics, variable magnetic field.

Супрунчук Виктория Евгеньевна – к.х.н., старший научный сотрудник, доцент кафедры физики и технологии наноструктур и материалов, физико-технический факультет, ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

Victoria E. Suprunchuk – Ph. D., Senior Researcher, Docent, Department of Physics and Technology of Nanostructures and Materials Faculty of Physics and Technology, North-Caucasus Federal University

Поступила в редакцию/received: 21.06.2023; после рецензирования/revise: 11.07.2023; принята/accepted: 15.07.2023.