

М. А. Заболотний<sup>1,\*</sup>, Л. І. Асламова<sup>1</sup>, Г. І. Довбешко<sup>2</sup>, О. П. Гнатюк<sup>2</sup>, В. Б. Неймаш<sup>2</sup>,  
В. Ю. Поварчук<sup>2</sup>, В. Е. Орел<sup>3</sup>, Д. Л. Колесник<sup>4</sup>, Л. М. Кіркільєвська<sup>5</sup>, Г. І. Соляник<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

<sup>2</sup> Інститут фізики НАН України, Київ, Україна

<sup>3</sup> Національний інститут раку, Київ, Україна

<sup>4</sup> Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Р. Є. Кавецького  
НАН України, Київ, Україна

<sup>5</sup> Київський медичний університет Української Асоціації народної медицини, Київ, Україна

\*Відповідальний автор: fedcba137@ukr.net

## ВПЛИВ ОПРОМІНЕННЯ ФІЗІОЛОГІЧНОГО РОЗЧИНУ ВИСОКОЕНЕРГЕТИЧНИМИ ЕЛЕКТРОНАМИ НА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ЦИТОТОКСИЧНУ АКТИВНІСТЬ ДОКСОРУБІЦИНУ

Досліджено закономірності впливу попереднього опромінення високоенергетичними електронами водного розчину натрію хлориду (фізіологічного розчину – ФР) на оптичні та цитотоксичні/цитостатичні властивості розчиненого в ньому доксорубіцину. На культурі пухлинних клітин карциноми легені Льюїса було показано, що попереднє опромінення розчинника високоенергетичними електронами з енергією 1 МеВ перед розчиненням у ньому доксорубіцину, призводить до посилення цитотоксичної/цитостатичної дії препарату, найбільш вираженого в діапазоні низьких концентрацій доксорубіцину. Величина поглинутої фізіологічним розчином дози опромінення становила від 4 до 80 кГр. При цьому максимальні зміни в коливальних спектрах доксорубіцину спостерігаються після його розчинення в хлориді натрію, опроміненого дозою 10 кГр. Можливі причини ефектів, що спостерігаються, обговорюються.

*Ключові слова:* доксорубіцин, фізіологічний розчин, високоенергетичні електрони, поглинута доза, спектри поглинання, інфрачервоні спектри, карцинома легені Льюїса.

### 1. Вступ

Практично всі протипухлинні препарати характеризуються низькою специфічністю їхньої протипухлинної активності. Це проявляється в тому, що різниця між дозою, необхідною для пригнічення пухлинного процесу, та дозою, що обумовлює значні ураження здорових органів і тканин організму, достатньо мала. Суттєво погіршує результати лікування онкологічних хворих існуюча або набута резистентність злоякісних пухлин до дії протипухлинних препаратів [1, 2]. Усі ці факти обумовлюють низьку ефективність протипухлинної медикаментозної терапії при лікуванні місцевих поширених і дисемінованих форм злоякісних новоутворень та ставлять питання щодо розробки шляхів її підвищення [2 - 6]. Перспективним методом сенсibiliзації протипухлинних препаратів є розробка технологій модифікації існуючих протипухлинних засобів на основі використання іонізуючої радіації [7]. У даній роботі використовується запропонований [8, 9] раніше спосіб модифікації властивостей доксорубіцину за допомогою попереднього опромінення розчинника, водного розчину натрію хлориду. У цьому випадку мож-

ливим механізмом зміни фармакологічних властивостей доксорубіцину може бути дія утворених внаслідок радіолізу розчинника вільних радикалів та газових бульбашок, оточених подвійним електричним шаром [9, 10]. Механізм дії доксорубіцину полягає у його здатності інтеркалювати між парами основ у спіралі ДНК, тим самим запобігаючи реплікації ДНК та інгібуючи синтез білка в злоякісних клітинах. Зазначимо, що молекулярні механізми впливу попереднього опромінення розчинника на оптичні та фармакологічні властивості розчиненого в ньому доксорубіцину досліджено не повністю [11 - 13].

*Метою роботи* є дослідження впливу високоенергетичного електронного опромінення фізіологічного розчину на фізико-хімічні властивості доксорубіцину та його цитотоксичність щодо пухлинних клітин для оцінки можливостей базових основ технології модифікації існуючих протипухлинних засобів.

### 2. Зразки та методика експерименту

Дослідження проводили з використанням протипухлинного препарату антрациклінового анти-

біотика доксорубіцин гідрохлорид ( $C_{27}H_{29}NO_{11}$ ) виробництва Sigma, США та «Pharmacia Italia SpA», Італія. Як розчинник (ФР) використовували 0,9 % водний розчин хлориду натрію для інфузій у герметичних поліетиленових флаконах 200 мл, ТОВ «Новофарм-Біосинтез», Україна. Розчини препаратів доксорубіцину (адрибластин) виготовляли з порошку доксорубіцину та фізрозчину, доводячи концентрацію активного препарату до 5 мг/мл.

Опромінення водного розчину хлориду натрію (ФР) проводили електронами з енергією 1 МеВ на резонансному лінійному прискорювачі електронів «Аргус» (тривалість імпульсів –

3,3 мкс; частота імпульсів – 400 Гц) у лабораторії радіаційних технологій Інституту фізики НАН України. Середня густина струму пучка електронів становила  $0,1 \text{ мкА/см}^2$ , що відповідає густині потоку  $6,25 \cdot 10^{11} \text{ см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ . Значення поглинутої дози визначались з розрахунку, що 1 Гр відповідає флюенс  $4,5 \cdot 10^9 \text{ см}^{-2}$ . Величина поглинутої дози опромінення фізіологічним розчином становила від 4 до 80 кГр.

Тривалість процесу опромінення електронами фізіологічного розчину та значення поглинутих доз наведено в таблиці. Для опромінення зразки фізіологічного розчину об'ємом  $2 \text{ см}^3$  переливали у поліетиленові ємності розміром  $40 \times 60 \text{ мм}$  з герметичною застібкою, товщина стінки 50 мкм.

### Параметри опромінення ФР високоенергетичними електронами

Флюенс потоку електронів, $\text{см}^{-2}$	Тривалість опромінення, с	Поглинута доза опромінення, кГр
$0,45 \cdot 10^{14}$	72	10
$0,9 \cdot 10^{14}$	144	20
$1,8 \cdot 10^{14}$	288	40
$2,7 \cdot 10^{14}$	432	60
$3,6 \cdot 10^{14}$	576	80

Інфрачервоні (ІЧ) спектри поглинання реєстрували на ІЧ спектрометрі з Фур'є перетворенням IFS 66 Bruker. Спектри були зареєстровані в широкому спектральному діапазоні від  $3800$  до  $500 \text{ см}^{-1}$ , обробку проводили в програмі Opus 4.0. Спектрам було проведено корекцію базової лінії, частоти визначались методом другої похідної, результати графічно представлено за допомогою програми Origin.

Спектри поглинання у видимому та ультрафіолетовому (УФ) діапазоні було зареєстровано на спектрофотометрі Shimadzu UV-260, діапазон вимірювань 190 - 900 нм.

Для дослідження впливу опромінення високоенергетичними електронами (в дозі 40 кГр) на фармакологічну активність протипухлинних агентів використовували пухлинні клітини карциноми легені Льюїс (LLC) з Національного банку клітинних ліній та пухлинних штабів Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України (Київ). Клітини підтримували *in vitro* у поживному середовищі RPMI 1640 (Sigma, США) з додаванням 10 % ембріональної телячої сироватки (Sigma, США) та 40 мкг/мл гентаміцину за температури  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  у вологих умовах, 5 %  $\text{CO}_2$ . Як протипухлинний агент використовували протипухлинний препарат доксорубіцин (Sigma, США).

Як показник фармакологічної активності використовували цитотоксичну/цитостатичну дію доксорубіцину щодо клітин LLC. Для цього пух-

линні клітини висаджували в лунки 96-лункового планшета об'ємом 0,1 мл ( $2 \times 10^5$  клітин/мл) та інкубували упродовж 16 год, після чого до клітин додавали доксорубіцин за різних концентрацій, розчинений в опроміненому (високоенергетичними електронами 40 кГр) ФР та неопроміненому ФР (позитивний контроль). Негативними контролями були лунки, в які додавали неопромінений та опромінений ФР без доксорубіцину. Кількість живих клітин у лунках через 24 год інкубації визначали за допомогою МТТ-тесту з використанням планшетного рідера при довжині хвилі 545 нм. Усі дослідження проводили в триплетах. Статистичну обробку даних проводили з використанням описативної статистики, t-критерію Стьюдента, критерію Манн-Уїтні із застосуванням пакета Microcal Origin. На графіках та гістограмах представлено середні значення та похибка середнього.

### 3. Результати експериментів та обговорення

#### 3.1. УФ та видиме поглинання ФР після опромінення високоенергетичними електронами

Результати поглинання натрію хлориду у видимій та УФ ділянці спектра ілюструють криві, представлені на рис. 1. Вигляд спектра поглинання неопроміненого розчину натрію хлориду близький до даних, представлених у роботі [14]. Опромінення даних зразків було проведене за два дні до реєстрації спектрів. При цьому з часом

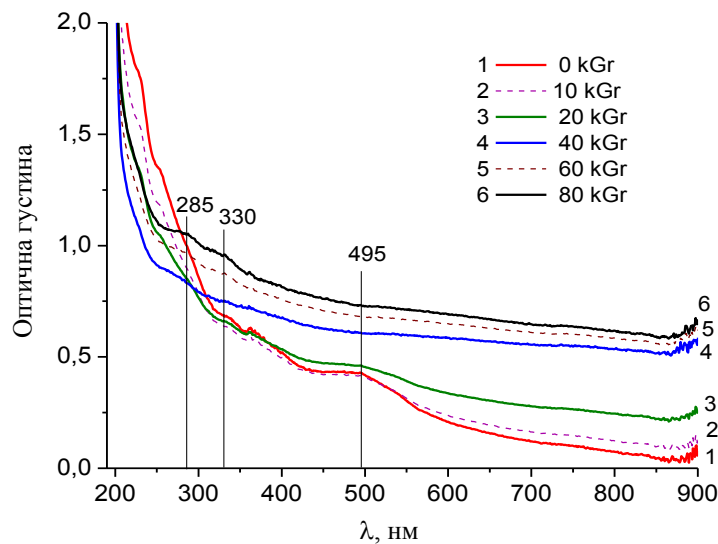


Рис. 1. УФ та видимі спектри поглинання ФР при різних значеннях поглинутої дози електронного опромінення. Крива 1 одержана без опромінення (0 кГр), для інших кривих поглинута доза становила відповідно: 2 – 10 кГр, 3 – 20 кГр, 4 – 40 кГр, 5 – 60 кГр, 6 – 80 кГр. (Див. кольоровий рисунок на сайті журналу.)

(від 2 до 4,5 міс) спектри поглинання опроміненних зразків релаксують до спектрів неопроміненних зразків.

У наведених на рис. 1 даних зареєстровано відмінності, що проявляють чітку кореляцію з величиною поглинутої дози. Загальна тенденція має такий характер – у короткохвильовій ділянці спектра величина поглинання зменшується, а у довгохвильовій – зростає. Однією з причин такої поведінки може бути зміна складу водного розчину хлориду натрію при опроміненні, а також поява різного типу радикалів та кластерів різного розміру, що призводить до збільшення розсіяння. Унаслідок цього поглинання розчину у довгохвильовій ділянці спектра (більше 300 нм) зростає. Натомість в області менше 300 нм зі зростанням поглинутої дози опромінення поглинання зменшується, причиною чого може бути розклад (руйнування).

Крім того, спостерігається ще одна тенденція. Неопромінений ФР має максимум поглинання в області 495 нм (див. рис. 1, крива 1), інтенсивність якого зменшується у зразках після опромінення (див. рис. 1, криві 2 і 3). Причому зі зростанням дози цей максимум повністю зникає, а в зразку з максимальною дозою опромінення з'являються два максимуми в області 285 та 330 нм (див. рис. 1, крива 6). Така поведінка також може бути пояснена в рамках моделі бабстонів (бульбашок, стабілізованих іонами) та їхніх кластерів, виходячи з припущення про те, що максимум функції розподілу бабстонів та кластерів з них за розміра-

ми під дією опромінення зміщується в довгохвильову область. Наведене припущення корелює з фактом збільшення просторових розмірів бабстонів при зростанні концентрації іонів у ФР [15].

### 3.2. УФ та видиме поглинання доксорубіцину, розчиненого в попередньо опроміненому високоенергетичними електронами ФР

Після вивчення впливу опромінення високоенергетичними електронами на спектри поглинання ФР, були проведені дослідження спектрів поглинання протипухлинного препарату доксорубіцину, розчиненого в опроміненому ФР.

На рис. 2 і 3 представлено спектри поглинання доксорубіцину, розчиненого у ФР, попередньо опроміненому трьома різними дозами – 10, 40 та 80 кГр. На рис. 2 представлено спектри поглинання, зареєстровані безпосередньо в день опромінення, а на рис. 3 – спектри, зняті через два тижні після опромінення розчинника.

Після аналізу спектрів можна стверджувати, що найбільше зростання поглинання спостерігаємо в спектрі, записаному в перший день у зразку з максимальною дозою опромінення (див. рис. 2, крива 5). Причому зростає саме інтенсивність смуги, частотних зсувів не спостерігаємо. Через два тижні ця тенденція зникає (див. рис. 3, крива 5). Інші дози опромінення ФР не призводять до суттєвих змін у поглинанні розчиненого в ньому доксорубіцину.

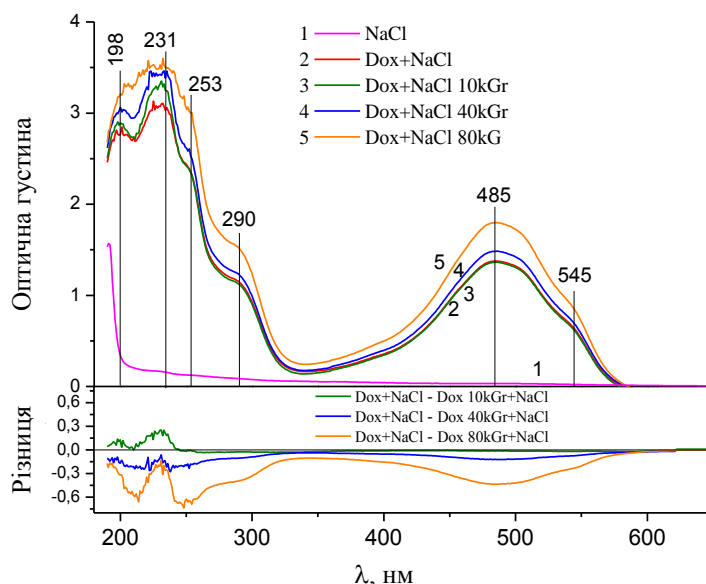


Рис. 2. Спектри поглинання в УФ та видимій області зразків доксорубіцину, розчиненого в ФР NaCl, попередньо опроміненого високоенергетичними електронами. Спектри зареєстровано в день опромінення зразків. 1 – розчин NaCl не опромінений; 2 – доксорубіцин, розчинений в неопроміненому NaCl (контроль); 3 – доксорубіцин, розчинений у NaCl, попередньо опроміненому дозою 10 кГр; 4 – доксорубіцин, розчинений у NaCl, попередньо опроміненому дозою 40 кГр; 5 – доксорубіцин, розчинений у NaCl, попередньо опроміненому дозою 80 кГр. (Див. кольоровий рисунок на сайті журналу.)

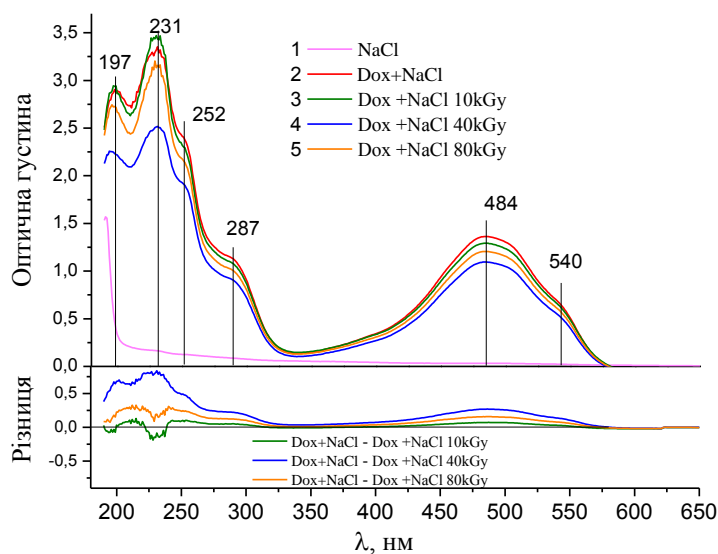


Рис. 3. Спектри поглинання в УФ та видимій області зразків доксорубіцину, розчиненого в ФР NaCl, попередньо опроміненого високоенергетичними електронами. Спектри знято через два тижні після опромінення зразків. 1 – розчин NaCl не опромінений; 2 – доксорубіцин, розчинений у неопроміненому NaCl (контроль); 3 – доксорубіцин, розчинений у NaCl, попередньо опроміненому дозою 10 кГр; 4 – доксорубіцин, розчинений у NaCl, попередньо опроміненому дозою 40 кГр; 5 – доксорубіцин, розчинений у NaCl, попередньо опроміненому дозою 80 кГр. (Див. кольоровий рисунок на сайті журналу.)

### 3.3. ІЧ поглинання доксорубіцину, розчиненого в попередньо опроміненому високоенергетичними електронами ФР

Дослідження поглинання доксорубіцину, розчиненого в попередньо опроміненому ФР, показали суттєві зміни в ІЧ спектрах (рис. 4). В області валентних коливань молекулярних груп ОН-НН-СН на 3800 - 2400  $\text{cm}^{-1}$  бачимо суттєве зростання інтенсивності цієї смуги в усіх без

винятку зразках з опроміненим розчинником (криві 2 - 4). Крім того спостерігається високо-частотний зсув максимуму цієї смуги, порівняно з контрольним зразком (доксорубіцин у неопроміненому ФР, крива 1).

З цими даними корелює область 1000 - 500  $\text{cm}^{-1}$ , де дають вклад деформаційні коливання водневих зв'язків. Тут також спостерігається значне зростання інтенсивності поглинання, особливо у

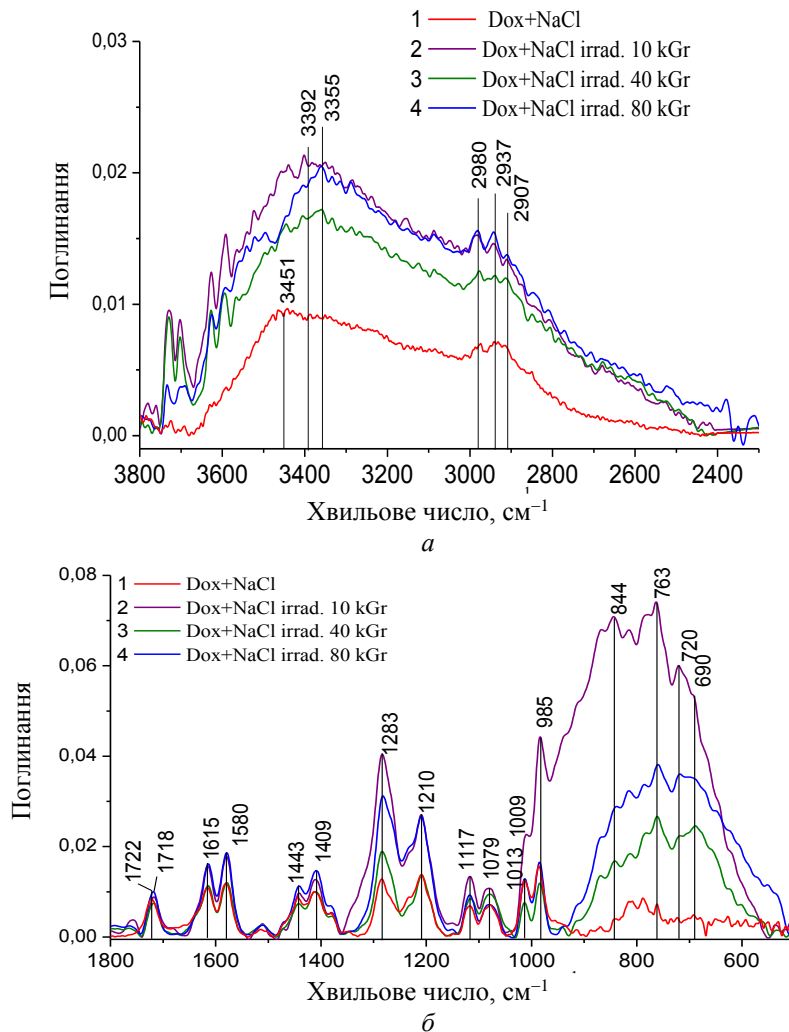


Рис. 4. FTIR-спектри поглинання (інфрачервона спектроскопія перетворення Фур'є) доксорубіцину після його розчинення у ФР NaCl, попередньо опромінену з різними дозами. 1 – доксорубіцин, розчинений в неопромінену NaCl (контроль); 2 – доксорубіцин, розчинений у NaCl, попередньо опромінену дозою 10 кГр; 3 – доксорубіцин, розчинений у NaCl, попередньо опромінену дозою 40 кГр; 4 – доксорубіцин, розчинений у NaCl, попередньо опромінену дозою 80 кГр, (Див. кольоровий рисунок на сайті журналу.)

випадку опромінення розчинника дозою 10 кГр. При цьому в області подвійних зв'язків C = O та деформаційних одинарних зв'язків CH суттєвих зсувів не спостерігається. Зростання інтенсивності смуг разом з високочастотним зсувом може свідчити про зростання кількості водневопов'язаних груп у випадку валентних коливань, але енергія цих зразків стає меншою [16].

Однак порушення площинної будови молекули в результаті вільного обертання її частин навколо одинарних зв'язків може призводити до перерозподілу положення максимумів смуг поглинання з можливим частотним зміщенням в низькочастотну область спектра. Такі ефекти можуть бути обумовлені неспецифічними взаємодіями між молекулярними групами препарату з продуктами радіолізу води (ФР), а також з утворенням сітки водневих зв'язків з іншими енергетичними характеристиками.

Залежність інтенсивностей смуг від дози опромінення розчинника очевидно не є прямопропорційною до дози. Найбільш сильний ефект підсилення поглинання в області водневих зв'язків спостерігається для дози 10 кГр, що була мінімальною в даному експерименті. Такий ефект дає змогу припустити, що саме малі дози є більш ефективними в цьому випадку. Однак при подальшому зростанні дози опромінення можуть мати місце процеси утворення вільних радикалів унаслідок радіолізу води, які в свою чергу можуть вступати в окисно-відновні реакції з доксорубіцином. З іншого боку, наявність у розчині іонів Na та Cl можуть бути протектором таких реакцій.

При радіолізі молекула води іонізується зарядженою частинкою, втрачаючи при цьому електрон. Вирваний електрон дуже швидко взаємодіє з оточуючими молекулами води. У результаті виникає сильно збуджена молекула  $\text{H}_2\text{O}^*$ , яка

дисоціює з утворенням двох радикалів  $H^* + OH^*$ . Вільні радикали містять неспарені електрони і тому відрізняються надзвичайно високою реакційною здатністю. Час їхнього життя у воді не більше  $10^{-5}$  с. За цей період вони або рекомбінують один з одним, або реагують з розчиненим субстратом. У присутності кисню утворюються й інші продукти радіолізу, що мають окисно-відновні властивості – пероксидний радикал  $HO_2^*$ , пероксид водню  $H_2O_2$  і атомарний кисень  $O^*$ , дія яких на структурні компоненти клітини при їхній присутності може призвести до значних конформаційних перебудов у біомолекулах [17]. Саме наявність останніх і обумовлює властивості опроміненої високоенергетичними електронами води.

Міграція іонів і радикалів може викликати пошкодження ДНК у клітині [18], що в свою чергу зумовлює цитотоксичний вплив опроміненого розчинника на культури клітин. Радіаційне опромінення розчину хлориду натрію перед його використанням для розчинення протипухлинного препарату доксорубіцину призводить до таких структурних змін, які за даними експериментів зберігаються протягом місяця і більше.

Специфічний характер спряжених ароматичних кілець, як замкнених систем, створює можливість для здійснення додаткових електронних переходів. Зокрема, при збільшенні числа замкнених систем енергія збудження молекул зменшується, і смуги поглинання зміщуються в довгохвильову область спектра.

### 3.4. Вплив опромінення ФР на цитотоксичну/цитостатичну активність доксорубіцину

Дослідження показали, що опромінення високоенергетичними електронами ФР без додавання доксорубіцину обумовлює виражену цитотоксичну/цитостатичну його дію, ефективність якої залежить від терміну після опромінення. Як видно на рис. 5, виживаність пухлинних клітин LLC у середовищі з додаванням ФР, опромінення якого

проводилось за 1 міс до проведення культуральних досліджень, знижувалась більше, ніж на 80 % ( $p < 0,001$ ).

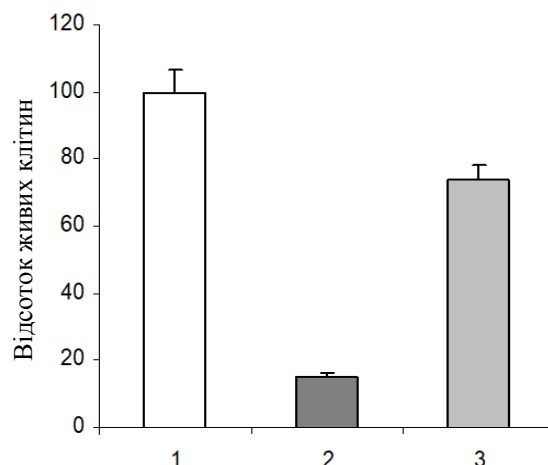


Рис. 5. Вплив опромінення натрію хлориду (в дозі 40 кГр) на виживаність клітин карциноми легені Льюїс. 1 – ФР без опромінення; 2 - через 1 міс після опромінення; 3 – через 4 міс після опромінення.

Через 4 міс після опромінення ФР його цитотоксичність зменшувалась, однак залишалася достатньо високою, обумовлюючи зменшення кількості живих клітин LLC на 26 % ( $p < 0,01$ ).

Дослідження впливу опромінення високоенергетичними електронами ФР на цитотоксичну/цитостатичну активність розчиненого в ньому доксорубіцину показали посилення фармакологічної активності протипухлинного препарату (рис. 6). Найбільш виражена модифікація цитотоксичної дії доксорубіцину фіксується в діапазоні низьких концентрацій препарату ( $< 2,5$  мкМ), зниження відсотка живих клітин в якому практично повністю збігається з цитотоксичністю опроміненого ФР без доксорубіцину. При більш високих концентраціях доксорубіцину ( $> 2,5$  мкМ) динаміка зміни кількості живих клітин з опроміненням та без опромінення ФР практично не відрізняється.

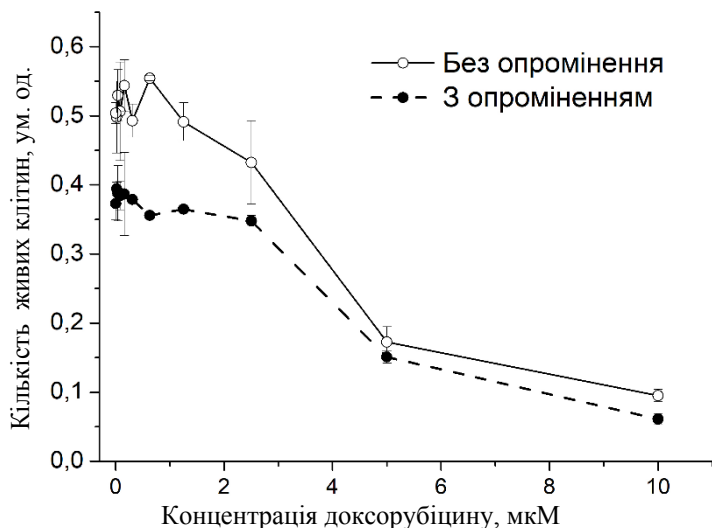


Рис. 6. Цитотоксичність доксорубіцину через 4 міс після опромінення ФР NaCl високоенергетичними електронами в дозі 40 кГр.

Таким чином, отримані результати підтверджують можливість посилення цитотоксичної дії протипухлинних препаратів, що зазвичай корелює з посиленням протипухлинної їхньої активності шляхом опромінення розчинника (класичним з яких є саме ФР) високоенергетичними електронами [12].

### 3.5. Модель бабстонних кластерів

Можливою причиною зміни спектрів розчину доксорубіцину при використанні попередньо опроміненого розчинника є перебудови в молекулах розчинника та препарату, що викликані взаємодією з кластерами та бабстонами, виникаючими під впливом радіаційного опромінення. Коагуляція бабстонів та утворення кластерів ініціюється силовими полями, утвореними подвійними електричними шарами бабстонів. Хоча просторовий розподіл електричного поля поодиноких бабстонів досліджувався в літературі [19, 20], утворення кластерів за їхньої участю досліджено не достатньою мірою. Складнощі цієї проблеми з одного боку обумовлюються нелінійним характером рівнянь, що описують електричне поле подвійного електричного шару бабстону, а з іншого недостатністю інформації про поляризаційні та інші характеристики окремих бабстонів та їхніх кластерів – при коагуляції бабстонів порушується їхня сферична симетрія, фрактальна розмірність коагулянтів залежить від механізмів зростання кластерів [21].

Звичайно розподіл електричного потенціалу  $\varphi(r)$  (розмірність  $\varphi$  – В) в околі окремого сферично симетричного бабстону визначається за допомогою рівняння Пуассона - Больцмана [22, 23] та з даних про розподіл просторової густини заряду іонів  $\rho(r)$  (Кл/м<sup>3</sup>) навколо внутрішньої позитивно зарядженої поверхні границі повітря – рідина [21], заряд якої  $Q_0$  (Кл).

Відповідне рівняння у випадку сферичної симетрії наночастинки та умові рівності нулю її заряду разом з прилеглим до нього шаром однозарядних протиіонів з концентрацією  $n_0$  (м<sup>-3</sup>) має вигляд [21]

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

$$\frac{1}{r^2} \cdot \frac{\partial}{\partial r} (r^2 \cdot \frac{\partial \varphi(r)}{\partial r}) = - \frac{\rho(r)}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0} = \frac{2en_0}{\varepsilon \varepsilon_0} \sinh(\gamma \cdot \varphi(r)). \quad (2)$$

Тут  $R_0$  – радіус повітряної бульбашки бабстону;  $\varepsilon_0$  – електрична стала, Ф/м;  $\varepsilon$  – діелектрична проникність середовища;  $T$  – температура середовища, К;  $k_B$  – стала Больцмана, Дж/К;  $e$  – елементарний заряд, Кл.

$$\gamma = \frac{e}{k_B \cdot T}.$$

При малих значеннях електричної енергії  $\left( \frac{e \cdot \varphi(r)}{k_B T} \ll 1 \right)$  з (2) випливає

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

де  $R_D = \sqrt{\frac{\varepsilon \cdot \varepsilon_0 \cdot k_B \cdot T}{2 \cdot e^2 \cdot n_0}}$  – радіус Дебая екрануючого шару бабстону.

З виразу (3) видно, що напруженість електричного поля при  $r \gg R_D$  спадає за експоненціальним законом, що корелює з результатами [21]. Таким чином, пондеромоторна сила між бабстонами є швидко спадною і тому її внесок суттєвий лише на відстанях порядку  $R_D$ .

При зближенні взаємодіючих бабстонів за рахунок поляризаційних ефектів і деформаційних процесів відбувається поява у бабстонів дипольних моментів, параметри яких обумовлюють процеси утворення кластерів.

Енергія взаємодії двох частинок ( $W$ , Дж) з дипольними моментами  $\mathbf{P}_1$  та  $\mathbf{P}_2$ , (Кл·м), взаємне розташування яких задається вектором  $\mathbf{l} = \mathbf{r}_2 - \mathbf{r}_1$ , визначається співвідношенням (модуль  $l$  вимірюється в м)

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

Тут  $\theta_i$  – кут між векторами  $\mathbf{P}_i$  і  $\mathbf{l}$ .

Умовою об'єднання є мінімізація їхньої спільної енергії при врахуванні величин, що максимальна ( $W_{Max}$ ) і мінімальна ( $W_{Min}$ ) енергія взаємодії диполів визначається формулами

$$W_{Max} = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0} \cdot \frac{P_1 \cdot P_2}{l^3}, \quad W_{Min} = -W_{Max}. \quad (5)$$

Представлення (4) та (5) характеризують особливості взаємодії диполів і обумовлюють властивості процесів формування бабстонних кластерів та впливають на значення їхньої фрактальної структури [21, 22].

#### 4. Висновки

1. Величина поглинутої розчинником дози впливає на оптичні характеристики розчину і розчиненого в ньому доксорубіцину як у видимій так і в ІЧ області. У діапазоні 190 - 300 нм поглинання розчину натрію хлориду спадає, в діапазоні 300 – 600 нм зростає по відношенню до поглинання в неопромінену розчині. Причиною цих процесів може бути розклад розчинника при опроміненні (190 - 300 нм) і поява радикалів та кластерів різного типу та розмірів, що призводить до збільшення розсіяння в довгохвильовій області спектра. Поведінка спектрів доксорубіцину, розчиненого в опроміненні розчинах, має інші складні особливості, які теж залежать від поглинутої дози. ІЧ спектри доповнюють цю інформацію, вказуючи на утворення численних нових водневих зв'язків у розчині доксорубіцину, приготовленому в опромінену розчині натрію хлориду при дії іонізуючого випромінювання, причому зміни в спектрах виявились найбільшими при опроміненні дозою 10 кГр.

2. Дослідження фармакологічної активності доксорубіцину, проведене з використанням лінії клітин карциноми легені Льюїса показало, що попереднє опромінення високоенергетичними електронами в дозі 40 кГр розчину натрію хлориду перед розчиненням у ньому доксорубіцину, призводить до посилення цитотоксичної/цитостатичної дії препарату, найбільш вираженого при відносно низьких концентраціях. Кількість живих

клітин LLC під впливом доксорубіцину в опромінену розчиннику при концентраціях, менших за 2,5 мкМ зменшилась на  $15 \pm 1,5\%$  ( $p < 0,01$ ) порівняно з відповідним показником при дії доксорубіцину без опромінення розчинника.

3. Через кілька тижнів після опромінення розчинника, ефекти суттєво зменшуються. Причому, чим більшою є доза опромінення, тим повільніше це відбувається.

4. Можливою причиною зміни спектрів розчину доксорубіцину та його фармакологічної активності при використанні попередньо опроміненого ФР можуть бути перебудови в молекулах як розчинника, так і розчиненого протипухлинного препарату, обумовлені взаємодією цих молекул з кластерами та бабстонами, виникаючими під впливом радіаційного опромінення. Теоретичне представлення описаних ефектів пропонується на основі кулонівської (дипольної) взаємодії структурних компонент середовища, що утворюють кластери та бабстони.

Г. І. Довбешко, О. П. Гнатюк, Г. І. Соляник та Д. Л. Колесник дякують проекту Національного фонду досліджень України 2021.01/0229 «Біофізичні характеристики циркулюючих метастатичних клітин як потенційні мішені антиметастатичної терапії», а також проекту «Розробка 2D-матеріалів та «розумних» сенсорів медико-біологічного призначення на їх основі» 11/1-2022 за фінансову підтримку досліджень.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ / REFERENCES

1. K. Nurgali, R. Thomas Jagoe, R. Abalo. Editorial: Adverse Effects of Cancer Chemotherapy: Anything New to Improve Tolerance and Reduce Sequelae? *Front. Pharmacol.* 9 (2018) 245.
2. N. Vasani, J. Baselga, D.M. Hyman. A view on drug resistance in cancer. *Nature* 575 (2019) 299.
3. G. Mitola, P. Falvo, F. Bertolini. New Insight to Overcome Tumor Resistance: An Overview from Cellular to Clinical Therapies. *Life* 11(11) (2021) 1131.
4. G. Housman et al. Drug Resistance in Cancer: An Overview. *Cancers* 6(3) (2014) 1769.
5. K. Bukowski, M. Kciuk, R. Kontek, Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy. *Int. J. Mol. Sci.* 21(9) (2020) 3233.
6. D. Kumar. Nanoparticulate system for cancer therapy: An updated review. *Journal of Nanomedicine Research* 7(4) (2018) 262.
7. D.G. Kirsch et al. The Future of Radiobiology. *Journal of the National Cancer Institute* 110(4) (2018) 329.
8. М.А. Заболотний та ін. Модифікація протипухлинних препаратів наноструктурами. *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології* 13(1) (2015) 1. / М.А. Zabolotnyy et al. Modification of anticancer drugs with nanostructures. *Nanosystemy, Nanomaterialy, Nanotekhnolohiyi* 13(1) (2015) 1. (Ukr)
9. М.А. Заболотний та ін. Спосіб модифікації водорозчинних протипухлинних препаратів за допомогою радіаційного опромінення. Патент UA № 116227. Опубліковано 26.02.2018, бюл. № 4. / М.А. Zabolotnyy et al. The method of modification of water-soluble anticancer drugs using radiation exposure. Patent UA No. 116227. Published on February 26, 2018, Bull. No. 4.
10. J.M. Grogan et al. Bubble and Pattern Formation in Liquid Induced by an Electron Beam. *Nano Lett.* 14(1) (2014) 359.
11. S. Rivankar. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *J. Cancer Res. Ther.* 10(4) (2014) 853.
12. L.I. Aslamova et al. Electron irradiation as a method of increasing efficacy of some water soluble drugs in oncology. In: Proc. of the 14-th Int. Conf. "Medical Physics in the Baltic States", Kaunas, Lithuania, November 7 - 9, 2019 (Kaunas, University of Technology, 2019) p. 151.



13. V.B. Orel, M.A. Zabolotny, V.E. Orel. Heterogeneity of hypoxia in solid tumours and mechanochemical reactions with oxygen nanobubbles. *Medical Hypotheses* 102 (2017) 82.
14. S. Sanyal et al. Designing Injection Water for Enhancing Oil Recovery from Kaolinite Laden Hydrocarbon Reservoirs: A Spectroscopic Approach for Understanding Molecular Level Interaction during Saline Water Flooding. *Energy Fuels* 31(11) (2017) 11627.
15. Н.Ф. Бункин и др. Исследование нанопузырьковой фазы водных растворов NaCl методом динамического рассеяния света. *Квантовая электроника* 44(11) (2014) 1022. / N.F. Bunkin et al. Investigation of the nanobubble phase of NaCl aqueous solutions by dynamic light scattering. *Kvantovaya Elektronika* 44(11) (2014) 1022. (Rus)
16. Л.М. Бабков и др. *ИК спектроскопия молекулярных кристаллов с водородными связями* (К.: Наук. думка, 1989) 160 с. / L.M. Babkov et al. *IR Spectroscopy of Molecular Crystals with Hydrogen Bonds* (Kyiv: Naukova dumka, 1989) 160 p. (Rus)
17. O. Gnatyuk et al. Comparison of the Effect of High-Energy Ionizing Radiation and Hydrogen Peroxide on the Conformational Dynamics of DNA. *Thai Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 2(2) (2017) 7.
18. Д.М. Гродзинський. *Радіобіологія* (К.: Либідь, 2000) 447 с. / D.M. Hrodzynskyy. *Radiobiology* (Kyiv: Lybid, 2000) 447 p. (Ukr)
19. N.F. Bunkin, A.V. Lobejev. Fractal structure of bubble clusters in water and aqueous electrolytic solutions. *JETP Letters* 58(2) (1993) 91.
20. Y. Mao, Y. Zhang. Nonequilibrium Molecular Dynamics Simulation of Nanobubble Growth and Annihilation in Liquid Water. *Nanoscale and Microscale Thermophysical Engineering* 17(2) (2013) 79.
21. N.F. Bunkin, F.V. Bunkin. Bubble structure of water and electrolyte water solutions. *Uspekhi Fizicheskikh Nauk* 186(9) (2016) 933.
22. A.I. Momot, A.G. Zagorodny, I.S. Orel. Interaction force between two finite-size charged particles in weakly ionized plasma. *Phys. Rev. E* 95(1) (2017) 013212.
23. C.G. Gray, P.J. Stiles. Nonlinear electrostatics: the Poisson-Boltzmann equation. *European Journal of Physics* 39(5) (2018) 053002.

**M. A. Zabolotnyy<sup>1,\*</sup>, L. I. Aslamova<sup>1</sup>, G. I. Dovbeshko<sup>2</sup>, O. P. Gnatyuk<sup>2</sup>, V. B. Neimash<sup>2</sup>, V. Yu. Povarchuk<sup>2</sup>, V. E. Orel<sup>3</sup>, D. L. Kolesnyk<sup>4</sup>, L. M. Kirkilevska<sup>5</sup>, G. I. Solyanyk<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup> Institute of Physics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<sup>3</sup> National Cancer Institute, Kyiv, Ukraine

<sup>4</sup> R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<sup>5</sup> Kyiv Medical University, Ukrainian Association of Folk Medicine, Kyiv, Ukraine

\*Corresponding author: fedcba137@ukr.net

#### **EFFECT OF HIGH ENERGY ELECTRON EXPOSURE OF THE SALINE SOLUTION ON PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF DOXORUBICIN**

The effect of preliminary irradiation of an aqueous solution of sodium chloride (saline) with 1 MeV high-energy electron beams on optical and cytotoxic/cytostatic properties of the dissolved Doxorubicin cancer drug is studied. With the use of Lewis lung carcinoma cell culture, it has been shown that the said treatment results in an increased cytotoxic/cytostatic action of the Doxorubicin, being the most pronounced in the range of low concentrations of the drug. The delivered dose of ionizing radiation on the saline ranged from 4 to 80 kGy. The maximum changes in the IR absorption spectra of Doxorubicin have been observed for the solutions irradiated with 10 kGy. The possible causes of the observed effects are discussed.

**Keywords:** Doxorubicin, saline, high-energy electrons, delivered dose, IR absorption spectra, Lewis lung carcinoma.

Надійшла/Received 11.06.2021