

ВЫСОКОЕМКИЕ ЧАСТИЦЫ КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ КАК ОСНОВА рН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ КОНТЕЙНЕРОВ ДЛЯ ДОКСОРУБИЦИНА

© 2023 г. Т. Н. Паллаева¹, А. В. Михеев¹, Д. Н. Хмеленин¹, Д. А. Еуров², Д. А. Курдюков²,
В. К. Попова³, Е. В. Дмитриенко³, Д. Б. Трушина^{1,4,*}

¹Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, Россия

²Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе, Санкт-Петербург, Россия

³Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

⁴Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

*E-mail: trushina.d@mail.ru

Поступила в редакцию 23.09.2022 г.

После доработки 03.10.2022 г.

Принята к публикации 03.10.2022 г.

Наноструктурированные субмикронные частицы карбоната кальция размерами 500 ± 90 и 172 ± 75 нм синтезированы в ходе массовой кристаллизации в водных растворах с добавлением глицерина, а также смеси полиэтиленгликоля, полисорбата и клеточной среды. Наночастицы $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ размером 65 ± 15 нм получены методом темплатного синтеза в порах частиц кремнезема. Изучены кристаллическая структура и полиморфизм полученных частиц, определено влияние размера и структуры частиц на эффективность их загрузки противораковым соединением, а также его высвобождение в модельных условиях при разных рН.

DOI: 10.31857/S0023476123020121, EDN: BSBССТ

ВВЕДЕНИЕ

Положительные результаты терапии широкого спектра заболеваний в значительной степени зависят от возможности осуществлять доставку препаратов в целевой орган, ткань или клетку. Несмотря на длительные исследования в области адресной доставки лекарств, в настоящее время большая часть лекарственных препаратов не обладает адресностью и распределяется по всему организму, попадая преимущественно в клетки макрофагов печени и селезенки. Развитие побочных эффектов и снижение эффективности удельной дозы препарата особенно критичны при доставке химиотерапевтических препаратов с выраженными токсическими свойствами. Для устранения недостатков традиционной терапии и уменьшения побочных эффектов особую привлекательность приобрела идея, основанная на использовании сосудистых аномалий опухолей для обеспечения доступа к ним лекарственных препаратов с избеганием проникновения в нормальные ткани [1]. Особенности сосудов опухоли, в частности повышенная проницаемость и возможность удерживать введенные препараты и частицы, получили название EPR-эффекта [2]. С момента открытия и до сих пор EPR-эффект считается наиболее важной концепцией при разработке систем доставки противоопухолевых

препаратов [1, 3–5]. Однако медленная диффузия лекарственных препаратов в опухолевую ткань в настоящее время признана ограничивающим фактором, серьезно снижающим лекарственную эффективность в клетках-мишенях. Помимо этого, особенностью пор в кровеносных капиллярах опухоли могут сильно варьироваться в зависимости от природы опухолей, стадии развития, места положения и других факторов, а последние исследования в этой области показывают, что EPR-эффект гораздо сильнее выражен у грызунов, чем у людей [6–9]. Для более существенного увеличения эффективности терапии перспективной стратегией представляется использование особенностей микроокружения опухоли в дополнение к EPR-эффекту, в частности слабокислого рН [1, 4, 10]. Это делает перспективным разработку рН-чувствительных систем доставки, которые высвобождают инкапсулированное содержимое при понижении рН среды. Среди чувствительных к рН высокопористых частиц благодаря хорошей биосовместимости и низкой токсичности выделяются частицы CaCO_3 [11–15]. Одна из полиморфных модификаций CaCO_3 , ватерит, характеризуется значительной сорбционной емкостью, что позволяет сорбировать различные вещества с эффективностью до 10–15% от массы самих частиц [16]. В настоящее время для доставки *in vitro*

в основном используют частицы ватерита среднего диаметра 2–5 мкм [17, 18]. Частицы CaCO_3 диаметром менее 1 мкм не так распространены из-за сложности их синтеза [19]. Известно, что частицы ватерита быстро высвобождают загруженные в них противораковые вещества (камптотецин, доксорубин и доксициклин) при pH от 4 до 6 (до 90%), в то время как при pH = 7.4 высвобождение ничтожно мало [12, 13, 17, 20, 21].

В одной из первых работ по изучению влияния незагруженных частиц CaCO_3 размером 30–200 нм на рост опухоли у грызунов было показано, что частицы CaCO_3 избирательно накапливаются во внеклеточной области опухолей, повышая и поддерживая pH опухоли на уровне ~7.4 благодаря высокой буферной способности [22]. В [23] продемонстрировано, что непрерывная инфузия 100 ± 9 нм частиц CaCO_3 способна ингибировать метастазирование опухоли в модели агрессивного метастазирующего ортотопического рака молочной железы. В [24] выявлено, что при совместном культивировании клеток рака молочной железы и фибробластов добавление наночастиц CaCO_3 (120 ± 30 нм) привело к избирательному ингибированию роста и замедлению миграции раковых клеток без влияния на фибробласты. Этот эффект связывают с тем, что растворение частиц CaCO_3 в слабокислой среде, характерной для окружения раковых клеток, обеспечивает хорошую буферизацию pH в пределах нормального физиологического диапазона, что приводит к метаболическому перепрограммированию раковых клеток и может уменьшить их агрессивность, не влияя на рост и поведение окружающих нормальных клеток.

Степень накопления частиц в опухолевой ткани определяется диаметром частиц, их формой, зарядом и природой поверхности [4, 9]. Благодаря возможности получать частицы CaCO_3 с требуемыми характеристиками с помощью варьирования условий их синтеза, которая была изучена ранее [19, 25, 26], в настоящей работе синтезирована серия частиц CaCO_3 в диапазоне размеров от 50 до 500 нм. Изучено влияние размера и структуры частиц CaCO_3 на эффективность их загрузки доксорубином, а также его высвобождение в модельных условиях при нейтральном и кислом pH.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и реактивы. В ходе работы использовали хлорид кальция ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), карбонат натрия (Na_2CO_3), гидрокарбонат натрия (NaHCO_3), карбонат аммония ($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$), гидроксид калия (KOH), хлорид железа (III) (FeCl_3), фосфатно-солевой буфер (PBS), хлорид магния (MgCl_2), глицерин, Твин 20 и гидрохлорид доксо-

рубицина производства Sigma-Aldrich (Германия), полиэтиленгликоль (ПЭГ 2000 Да) производства Carl Roth (Германия), DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium) производства GIBCO Life Technologies (США). Для проведения экспериментов воду очищали с помощью системы Milli-Q Plus.

Получение частиц CaCO_3 . Сферические субмикронные частицы CaCO_3 были получены по методике, описанной в [19]. Для этого к перемешиваемой на магнитной мешалке смеси глицерина с 0.33 М водного раствора CaCl_2 быстро добавляли равный объем смеси глицерина с эквивалентным водным раствором Na_2CO_3 . Реакцию проводили в смеси глицерин : вода при соотношении глицерина 80%. Реакционную смесь перемешивали со скоростью 500 об./мин в течение трех часов, затем суспензию полученных частиц CaCO_3 трижды промывали от ионов Na^+ и Cl^- дистиллированной водой. Для предотвращения агрегации частиц суспензию периодически подвергали ультразвуковому воздействию. Все образцы высушивали, частицы карбоната кальция хранили в виде порошка.

Частицы CaCO_3 получали также методом осаждения [25]. Для этого под действием ультразвука к 1 мл водного раствора, содержащего 0.10 М NaHCO_3 , 0.1 мг/мл ПЭГ, 0.1% об. Твин 20 и DMEM, добавляли 100 мкл водного раствора, содержащего 0.1 М CaCl_2 и MgCl_2 , 0.1% об. DMEM. Частицы отделяли центрифугированием (10 мин, 13.400 об./мин) и хранили в дистиллированной воде.

Синтез наночастиц состава $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ проводили с помощью темплатного метода, описанного в [26]. Для этого использовали монодисперсные сферические частицы кремнезема ($m\text{SiO}_2$) с внешним диаметром 200 нм, содержащие цилиндрические наноканалы диаметром 3 нм [27]. Для подготовки мезопористых частиц $m\text{SiO}_2$ к синтезу осуществляли их капиллярную пропитку 1 М водным раствором CaCl_2 в течение 24 ч. Затем частицы высушивали при 60°C, полученный порошок выдерживали в 2 М водном растворе $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$. После этого частицы редуцировали в деионизованной воде, центрифугировали и высушивали на воздухе. Описанную процедуру синтеза CaCO_3 повторяли 6 раз. Далее проводили травление материала темплат (аморфного SiO_2) с использованием 3 М водного раствора KOH в течение 5 ч при температуре 70°C. Затем частицы центрифугировали и редуцировали в деионизованной воде. Для получения агрегативно устойчивого гидрозоля к водной суспензии наночастиц добавляли 0.1 М раствор FeCl_3 . Полученную суспензию выдерживали в течение суток, после чего частицы $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$

многokrратно центрифугировали и промывали деионизованной водой.

Загрузка частиц CaCO_3 доксорубицином. Для загрузки частиц CaCO_3 и $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ доксорубицином проводили адсорбцию из раствора доксорубицина на предварительно сформированные нано- и субмикрочастицы. Для этого навески частиц определенной массы помещали в раствор доксорубицина (0.15 мг/мл) и инкубировали на шейкере в течение двух часов, затем центрифугировали и промывали 1 раз деионизованной водой. Для определения концентрации доксорубицина супернатанты исследовали спектрофотометрически на длине волны поглощения доксорубицина (480 нм).

Высвобождение доксорубицина при различных рН. Высвобождение доксорубицина из частиц изучали в буферных растворах с различным рН. Для этого 6 мг частиц ресуспендировали в 1.5 мл фосфатного буфера с рН = 4 или 7 и непрерывно перемешивали на шейкере. Через определенные промежутки времени (15, 30 мин, 1, 2, 6, 24 ч) образцы центрифугировали, и супернатант добавляли к 1.5 мл свежего буферного раствора с соответствующим рН. Супернатант анализировали спектрофотометрически при длине волны 480 нм для определения концентрации доксорубицина.

Физико-химические методы исследования. Анализ размера, формы, морфологии поверхности и структуры частиц проводили на сканирующем электронном микроскопе Jeol 7401F при напряжении 5 кВ.

Исследования частиц методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) выполняли на микроскопе Tecnai Osiris (FEI, США) с ускоряющим напряжением 200 кВ, широкоугловым детектором темного поля и EDX-спектрометром Bruker SuperX, а также на микроскопе Jeol JEM-2100F (JEOL, США), оборудованном EDX-спектрометром INCA (Oxford Instruments, Великобритания).

Гидродинамический размер частиц и ζ -потенциал их поверхности в водной суспензии определяли с помощью автоматического анализатора Zetasizer Nano-ZS (Malvern, Великобритания).

Порошковые рентгеновские дифрактограммы субмикронных частиц снимали на лабораторных дифрактометрах Rigaku Miniflex 600 и D2 Phaser (Bruker, Германия) с использованием источника CuK_α ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$, 40 кВ, 15 мА) в режиме съемки с шагом 0.02° и со скоростью 1 шаг/с в интервале углов 2θ 18° – 75° . Определение фазового состава и расчет среднего размера области когерентного рассеяния (ОКР) проводили методом Ритвельда при помощи программы FullProf.

Эффективность загрузки частиц CaCO_3 и $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ доксорубицином оценивали спек-

трофотометрически с помощью двухлучевого сканирующего спектрофотометра Lambda-C650 (Perkin Elmer, США) с диапазоном длин волн 190–900 нм. Оптическую плотность раствора регистрировали на длине волны 480 нм, соответствующей максимуму поглощения доксорубицина. Количество вещества, инкорпорированного в частицы CaCO_3 и $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$, определяли с помощью предварительно построенных калибровочных прямых по разнице концентрации раствора вещества после адсорбции по отношению к исходному раствору. Эффективность капсулирования (ЭК) определяли по формуле

$$\text{ЭК} = \frac{K_d - K_{\text{суп}}}{K_d} \times 100\%,$$

где K_d – количество вещества (концентрация), добавленного к частицам, $K_{\text{суп}}$ – количество вещества в супернатанте после адсорбции. Загрузку частиц доксорубицином в массовых процентах (мас. %) рассчитывали как отношение массы включенного вещества к массе частиц. Для изучения высвобождения доксорубицина из частиц определяли содержание вещества в супернатантах. Данные, представленные на графиках, являются усредненными значениями серии экспериментов (3–5), проведенных в одинаковых условиях, и среднеквадратичными отклонениями серии измерений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Частицы карбоната кальция, полученные в результате смешивания водных растворов солей, представляют собой не агрегированные сферические частицы с развитой поверхностью (рис. 1). При выбранном составе кристаллизационной смеси получены субмикрочастицы карбоната кальция, средний гидродинамический размер которых составляет 500 ± 90 нм (CaCO_3 –500) и 172 ± 75 нм (CaCO_3 –200) (рис. 1а, 1б). Гидродинамический диаметр наночастиц $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$, синтезированных в порах частиц кремнезема, составляет 65 ± 15 нм ($\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ –50). Распределения по размерам частиц CaCO_3 и $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ в водной суспензии приведены на вставках рис. 1.

На рис. 2 представлены энергодисперсионные рентгеновские спектры для трех образцов частиц и распределения химических элементов для отдельных частиц в этих образцах. Энергодисперсионный анализ частиц CaCO_3 –500 показывает значительное преобладание кальция, углерода и кислорода, которые распределены равномерно. Для частиц CaCO_3 –200 идентифицируются магний и фосфор, локализованные с кальцием, поскольку частицы синтезировали в питательной клеточной среде, богатой этими элементами. В образце наночастиц $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ –50 опреде-

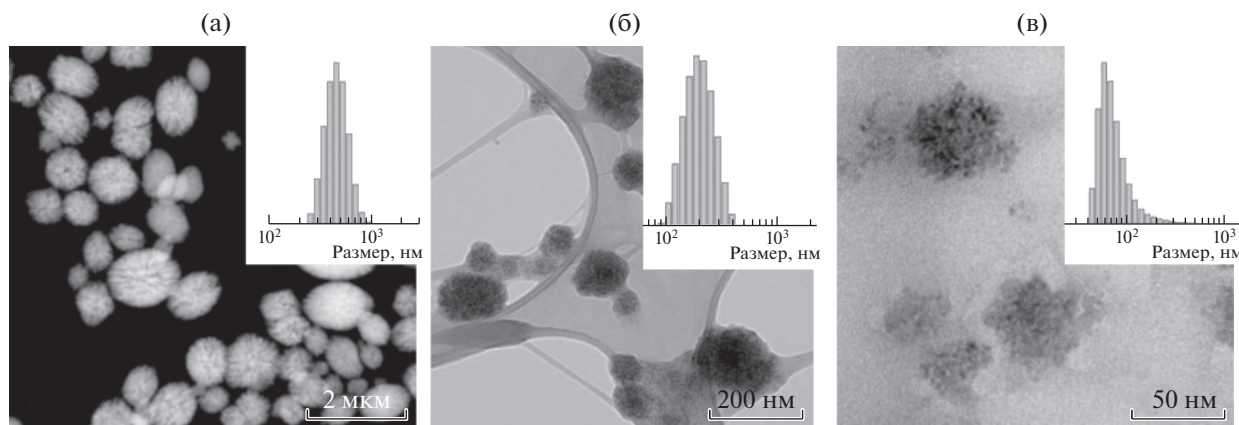


Рис. 1. ПЭМ-изображения частиц CaCO_3 -500 (а), CaCO_3 -200 (б) и CaCO_3 : Si : Fe-50 (в). На вставках – результаты динамического светорассеяния суспензий частиц в воде.

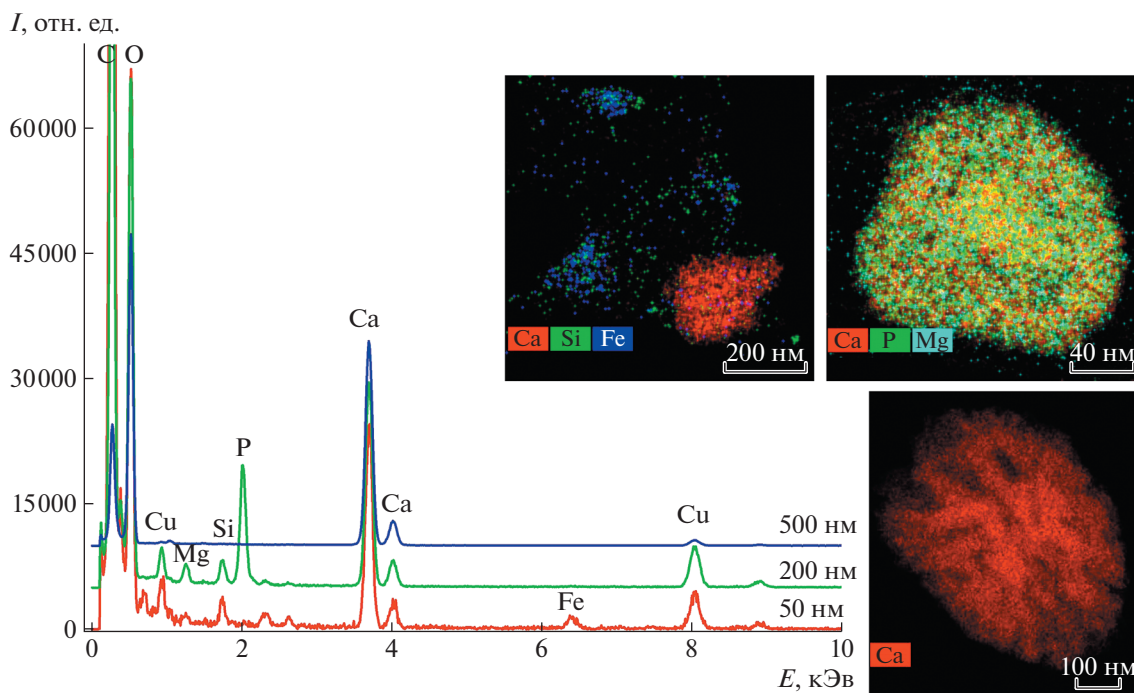


Рис. 2. Энергодисперсионные рентгеновские спектры и карты распределения химических элементов для частиц CaCO_3 -500 (синяя линия), CaCO_3 -200 (зеленая линия) и CaCO_3 : Si : Fe-50 (красная линия).

ляются остаточный кремний (после растворения частиц кремнезема) и железо, которые применяли для стабилизации наночастиц. На карте распределения элементов видно, что железо колокализуется не только одновременно с кальцием, но и в свободном виде, что говорит о его избыточном содержании для улучшения стабильности наночастиц.

Структуру и фазовый состав субмикро- и наночастиц CaCO_3 изучали методом порошковой рентгеновской дифракции. Для анализа фазового состава частиц использовали модель структуры

ватерита из [28, 29] (пр. гр. $P6_3/mmc$, параметры гексагональной ячейки $a = b = 4.131$, $c = 8.492$ Å). Отметим, что структура поликристаллического ватерита до сих пор обсуждается и нет единой модели, которая описывала бы все рефлексы на дифрактограммах независимо от способа получения частиц. Структура кальцита, определенная в 1914 г. [30], была одной из первых структур, изученных с помощью рентгеновских лучей. Характеристические пики на полученных дифрактограммах (рис. 3а) при углах 2θ , равных 20.77° , 24.70° , 26.90° , 32.60° , 38.65° , 43.65° , 48.75° , 49.70° , 55.50° ,

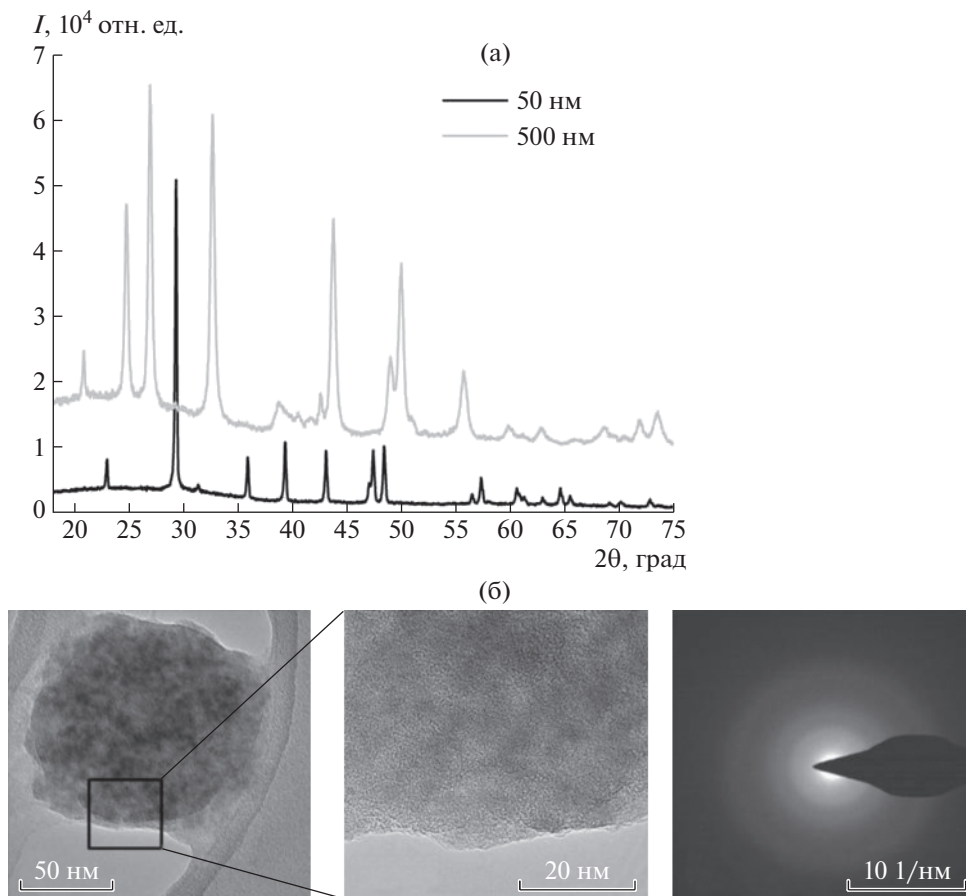


Рис. 3. Порошковые рентгеновские дифрактограммы для частиц $\text{CaCO}_3\text{--}500$ и $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}\text{--}50$ (а), ПЭМ-изображение отдельной частицы $\text{CaCO}_3\text{--}200$, ее увеличенное изображение и соответствующая картина электронной дифракции (б).

соответствуют кристаллографическим плоскостям ватерита (004), (110), (112), (114), (211), (300), (304), (118) и (224). Пики при углах 2θ , равных 23.03° , 29.34° , 32.16° , 35.98° , 39.38° , 43.11° , 47.51° , 48.52° и 57.30° , соответствуют кристаллографическим плоскостям кальцита (012), (104), (006), (110), (113), (103), (202), (016), (018) и (122).

Все обнаруженные пики для образца $\text{CaCO}_3\text{--}500$ относятся к двум фазам ватерита и кальцита, полнопрофильный анализ методом Ритвельда подтвердил, что кристаллы $\text{CaCO}_3\text{--}500$ состоят на 99.4% из фазы ватерита с 0.6% включением кальцита. На дифракционной кривой образца наночастиц $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}\text{--}50$ (рис. 2а) наблюдается набор рефлексов, соответствующих кальциту, примесных кристаллических фаз не обнаружено. Рассчитанный методом Ритвельда средний размер ОКР для наночастиц $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}\text{--}50$ составил ~ 45 нм. Достаточно большое значение ОКР может быть связано с тем, что образец предварительно сушили при температуре 60°C , что способствует перекристаллизации наночастиц карбоната кальция в субмикронные частицы [26].

Как было определено ранее, для субмикронных поликристаллов $\text{CaCO}_3\text{--}500$ ОКР может принимать форму эллипсоида с длиной главных осей ~ 120 и 50 нм [31].

На рис. 3б представлены ПЭМ-изображение отдельной частицы $\text{CaCO}_3\text{--}200$ и картина электронной дифракции, полученная с этой частицы. Отсутствие четких пиков интенсивности свидетельствует о том, что частицы $\text{CaCO}_3\text{--}200$ имеют аморфную структуру. Для сравнения загрузочных емкостей полученных частиц, имеющих разные средние размеры и кристаллическую структуру, одинаковые навески частиц инкубировали в растворе доксорубина при одинаковых условиях.

Для расчета концентрации доксорубина в растворах была построена калибровочная прямая (рис. 4а), с использованием которой рассчитана загрузка частиц CaCO_3 препаратом. Показано, что загрузка составила 4 мас. % для частиц $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}\text{--}50$, 4.8 мас. % для частиц $\text{CaCO}_3\text{--}200$ и 6.5 мас. % для частиц $\text{CaCO}_3\text{--}500$, что соответствует 27, 32 и 44% эффективности инкапсу-

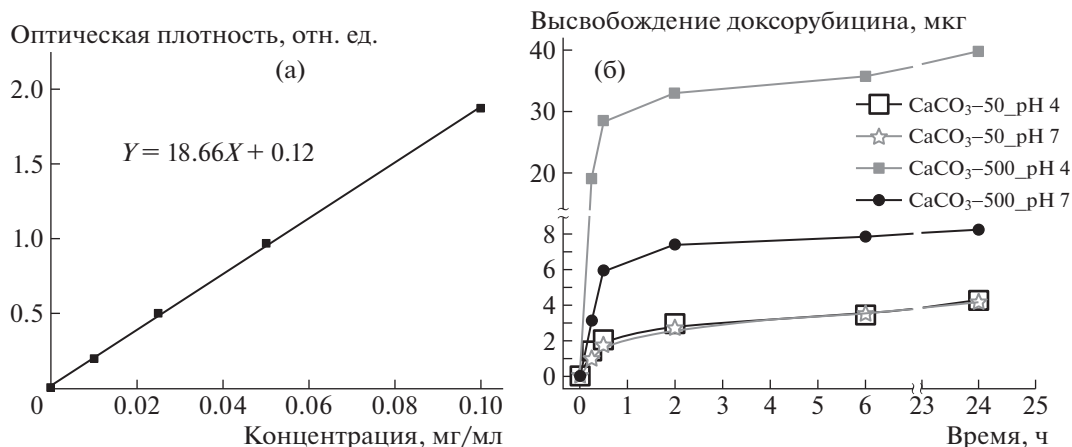


Рис. 4. Калибровочная прямая для доксорубина (а), высвобождение доксорубина из частиц CaCO_3-500 и $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}-50$ в фосфатный буфер при различных рН (б).

лирования от исходного раствора доксорубина. Синтезированные двумя методами частицы CaCO_3 имеют различный размер, кристаллическую структуру и загрузочную емкость для противоракового препарата, которые приведены в табл. 1. С учетом того, что погрешности для определения загрузочной емкости частиц составляют ~1 мас. %, можно считать, что три полученных образца CaCO_3 имеют сравнимые загрузочные емкости для доксорубина.

В качестве модельной среды для изучения высвобождения доксорубина был выбран натрий-фосфатный буфер, поскольку осмолярность и концентрации ионов в нем соответствуют значениям в крови, тканевых жидкостях и тканях организма человека. На рис. 4б представлены результаты высвобождения доксорубина из кристаллических частиц CaCO_3 двух размеров при их инкубации в фосфатном буфере с рН 4 и 7. Из кривых на рис. 4б видно, что для всех образцов высвобождение доксорубина осуществляется в два этапа. Начальный этап характеризуется резким увеличением концентрации препарата в растворе, затем происходит постепенный выход оставшегося в частицах доксорубина. Данное обстоятельство указывает на то, что на начальном этапе наблюдали выход соединения с поверхности и из пор частиц за счет процесса десорбции, а

также вследствие первичного растворения карбонатной матрицы в поверхностных слоях по сравнению с объемом частицы. Последующее замедление данного процесса может быть связано с постепенным растворением карбонатной матрицы при кислотных значениях рН. Обычно интенсивный выход характеризует высвобождение иммобилизованных веществ из высокопористых частиц, которое можно замедлить с помощью покрытия частиц полимерными оболочками [32, 33]. При сравнении высвобождения доксорубина при нейтральных (рН = 7) и более кислотных условиях (рН = 4) наиболее интенсивное высвобождение препарата наблюдается из частиц CaCO_3-500 при рН = 4, что однозначно связано с растворением карбонатной матрицы при кислотных значениях рН. При увеличении рН наблюдается замедление высвобождения препарата, что объясняется большей стабильностью карбоната кальция при нейтральном значении рН. Доксорубин из частиц $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}-50$ высвобождается практически одинаково при разных рН, что связано со стабильной кристаллической структурой наночастиц, которые представляют собой кальцит, а также с присутствием в их составе Si и Fe, которые могут влиять на скорость растворения.

Таблица 1. Характеристики синтезированных частиц CaCO_3

Образец	Гидродинамический диаметр, нм	Полиморфный состав	Загрузка доксорубином, мас. %
CaCO_3-500	500 ± 90	99.4% ватерита	6.5
CaCO_3-200	172 ± 75	аморфная структура	4.8
$\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}-50$	65 ± 15	100% кальцита	4

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе массовой кристаллизации при соосаждении с добавлением в реакционный объем глицерина или смеси ПЭГ, Твин 20 и ДМЕМ синтезированы субмикронные частицы CaCO_3 , имеющие средние гидродинамические диаметры 500 ± 90 и 172 ± 75 нм соответственно. С помощью темплатного синтеза в мезопористых частицах кремнезема получены наночастицы $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ диаметром 65 ± 15 нм. Исследование образцов методами порошковой рентгеновской дифракции и электронной дифракции показало, что структура частиц различна, и наночастицы, стабилизированные ионами железа, представляют собой стабильную модификацию кальцита. Субмикронные частицы CaCO_3 , полученные соосаждением, имеют структуру ватерита или аморфны. Несмотря на различие структур синтезированных частиц эффективности их загрузки противораковым соединением сопоставимы и составляют 4–6,5 мас. %. При инкубации наночастиц кальцита при pH = 4 и 7 высвобождение иммобилизованного доксорубина происходит одинаково. Стабильность наночастиц кальцита в кислом pH обусловлена не только наиболее термодинамически стабильной полиморфной модификацией, но и наличием в их составе кремния и железа. Наиболее интенсивное высвобождение доксорубина происходит из субмикронных метастабильных частиц ватерита при pH = 4, что объясняется растворением частиц при кислотных значениях pH. Замедление высвобождения инкапсулированного вещества со временем связано с постепенным ростом pH в результате растворения частиц. Таким образом, частицы CaCO_3 и $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ могут служить контейнерами для доксорубина с возможностью выбрать такие параметры частиц, чтобы вещество либо длительное время не высвобождалось, либо высвобождалось в кислой среде.

Д.А. Еуров и Д.А. Курдюков выражают благодарность М.А. Яговкиной и Д.А. Кириленко за исследование частиц $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ методами рентгеновской дифракции и ПЭМ.

Работа в части получения и характеристики частиц CaCO_3 –500 выполнена в рамках государственного задания ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН с использованием оборудования ЦКП ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН. Синтез наночастиц $\text{CaCO}_3 : \text{Si} : \text{Fe}$ выполнен в рамках государственного задания 0040-2019-0012. Синтез частиц CaCO_3 –200 выполнен в рамках государственного задания ИХБФМ СО РАН 121031300042-1. Работы по загрузке и высвобождению доксорубина выполнены при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-74-10058).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Danhier F., Feron O., Préat V.* // J. Control. Release. 2010. V. 148. № 2. P. 135. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.08.027>
2. *Matsumura Y., Maeda H.* // Cancer Res. 1986. V. 46. P. 6387.
3. *Pérez-Herrero E., Fernández-Medarde A.* // Eur. J. Pharm. Biopharm. 2015. V. 93. P. 52. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.03.018>
4. *Rodrigues C.F., Alves C.G., Lima-Sousa R. et al.* // Advances and Avenues in the Development of Novel Carriers for Bioactives and Biological Agents. Elsevier. 2020. P. 283. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819666-3.00010-9>
5. *Parra Nieto J., Del Cid M.A.G., de Cárcer I.A. et al.* // Biotechnol. J. 2021. V. 16. № 2. P. 2000150. <https://doi.org/10.1002/biot.202000150>
6. *Danhier F.* // J. Control. Release. 2016. V. 244. P. 108. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.11.015>
7. *Rosenblum D., Joshi N., Tao W. et al.* // Nat. Commun. 2018. V. 9. № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03705-y>
8. *Nichols J.W., Bae Y.H.* // J. Control. Release. 2014. V. 190. P. 451. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.03.057>
9. *Wilhelm S., Tavares A.J., Dai Q. et al.* // Nat. Rev. Mater. 2016. V. 1. P. 1. <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.14>
10. *Reshetnyak Y.K.* // Clin. Cancer Res. 2015. V. 21. № 20. P. 4502. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-1502>
11. *Nakamura J., Poologasundarampillai G., Jones J.R. et al.* // J. Mater. Chem. B. 2013. V. 1. № 35. P. 4446. <https://doi.org/10.1039/C3TB20589D>
12. *Maleki Dizaj S., Sharifi S., Ahmadian E. et al.* // Expert Opin. Drug Deliv. 2019. V. 16. № 4. P. 331. <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1587408>
13. *Zhang Y., Cai L., Li D. et al.* // Nano Res. 2018. V. 11. № 9. P. 4806. <https://doi.org/10.1007/s12274-018-2066-0>
14. *Sudareva N.N., Popryadukhin P.V., Saprykina N.N. et al.* // Cell. Ther. Transplant. 2020. V. 9. № 2. P. 13. <https://doi.org/10.18620/ctt-1866-8836-2020-9-2-13-19>
15. *Fu J., Leo C.P., Show P.L.* // Biochem. Eng. J. 2022. P. 108446. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108446>
16. *Trushina D.B., Borodina T.N., Belyakov S. et al.* // Mater. Today Adv. 2022. V. 14. № 2022. P. 100214. <https://doi.org/10.1016/j.mtadv.2022.100214>
17. *Qiu N., Yin H., Ji B. et al.* // Mater. Sci. Eng. C. 2012. V. 32. № 8. P. 2634. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.08.026>
18. *Liu S.S., Liu L.J., Xiao L.Y. et al.* // J. Mater. Chem. B. 2015. V. 3. № 42. P. 8314. <https://doi.org/10.1039/C5TB01692D>
19. *Trushina D.B., Bukreeva T.V., Antipina M.N.* // Cryst. Growth Des. 2016. V. 16. № 3. P. 1311. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.5b01422>
20. *Wang A., Yang Y., Zhang X. et al.* // Chempluschem. 2016. V. 81. № 2. P. 194. <https://doi.org/10.1002/cplu.201500515>

21. *Choukrani G., Maharjan B., Park C.H. et al.* // Mater. Sci. Eng. C. 2020. V. 106. P. 110226.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110226>
22. *Som A., Raliya R., Tian L. et al.* // Nanoscale. Royal Soc. Chem. 2016. V. 8. № 25. P. 12639.
<https://doi.org/10.1039/C5NR06162H>
23. *Som A., Raliya R., Paranandi K. et al.* // Nanomedicine. 2019. V. 14. № 2. P. 169.
<https://doi.org/10.2217/nnm-2018-0302>
24. *Lam S.F., Bishop K.W., Mintz R. et al.* // Sci. Rep. 2021. V. 11. № 1. P. 9246.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-88687-6>
25. *Popova V., Poletaeva Y., Pyshnaya I. et al.* // Nanomaterials. 2021. V. 11. № 11. P. 2794.
<https://doi.org/10.3390/nano11112794>
26. *Eurov D.A., Kurdyukov D.A., Boitsov V.M. et al.* // Microporous Mesoporous Mater. 2022. V. 333. P. 111762.
<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2022.111762>
27. *Trofimova E.Y., Kurdyukov D.A., Yakovlev S.A. et al.* // Nanotechnology. 2013. V. 24. № 15. P. 155601.
<https://doi.org/10.1088/0957-4484/24/15/155601>
28. *Kamhi S.R.* // Acta Cryst. 1963. V. 16. № 8. P. 770.
<https://doi.org/10.1107/S0365110X63002000>
29. *Pokroy B., Kabalah-Amitai L., Polishchuk I. et al.* // Chem. Mater. 2015. V. 27. № 19. P. 6516.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.5b01542>
30. *Bragg W.L.* // Proc. R. Soc. London. A. 1914. V. 89. № 613. P. 468.
<https://doi.org/10.1098/rspa.1914.0015>
31. *Трушина Д.Б., Бородина Т.Н., Сульянов С.Н. и др.* // Кристаллография. 2018. Т. 63. № 6. С. 956.
<https://doi.org/10.1134/S0023476118060309>
32. *Borodina T., Marchenko I., Trushina D. et al.* // J. Pharm. Pharmacol. 2018. V. 70. P. 1164.
<https://doi.org/10.1111/jphp.12958>
33. *Borodina T.N., Trushina D.B., Marchenko I.V. et al.* // BioNanoSci. 2016. V. 6. № 3. P. 261.
<https://doi.org/10.1007/s12668-016-0212-2>