

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна

Факультет радіофізики, біомедичної електроніки та комп'ютерних систем
Кафедра молекулярної та медичної біофізики

«До захисту»
Зав. кафедри молекулярної
та медичної біофізики
док. фіз.-мат. наук, доцент
_____ В.П. Берест
(підпис)
«_____» _____ 2022 р.

ДИПЛОМНА РОБОТА МАГІСТРА

ЗВ'ЯЗУВАННЯ ПРОФЛАВІНА З РІЗНИМИ МАГНІТНИМИ НАНОЧАСТИНКАМИ ПРИ ТЕМПЕРАТУРАХ 25 І 60°С

Канд. фіз.-мат. наук, с.н.с.

Інститута радіофізики та електроніки _____ Є.В. Духопельников
ім. О.Я. Усикова НАН України

Канд. біол. наук, доцент кафедри _____ Л.В. Січевська
молекулярної та медичної біофізики

Виконала студентка групи РБ-61,
спеціальність: 105 Прикладна фізика _____ В.В. Близнюк
та наноматеріали

Харків – 2022

РЕФЕРАТ

Близнюк В.В. Зв'язування профлавіна з різними магнітними наночастинками при температурах 25 і 60°C. Дипломна робота. Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, 2022. 40 с., 11 рис., 1 табл. 21 джерело.

МАГНІТНА НАНОЧАСТИНКА, ЗВ'ЯЗУВАННЯ, LSMO, ПОКРИТТЯ, ЦИТРАТ НАТРІЮ, СПЕКТР ПОГЛИНАННЯ

Об'єкт дослідження: комплекси профлавіна з магнітними наночастинками.

Предмет дослідження: особливості зв'язування профлавіна з магнітними наночастинками.

Мета роботи: визначити залежність ступеня навантаження профлавіна на поверхню магнітних наночастинок.

Методи дослідження: абсорбційна спектрофотометрія у видимій області.

Результати дослідження: за допомогою метода спектрофотометрії у видимій області показано, що більш ефективно зв'язування наночастинки LSMO з профлавіном буде відбуватися в присутності цитрата натрія. Було доведено, що ефективність взаємодії профлавіна з LSMO-наночастинками вища при більшій температурі, що було продемонстровано за допомогою кривих зв'язування.

ABSTRACT

Blyzniuk V.V. Proflavine binding to different magnetic nanoparticles at temperatures 25 i 60°C. Graduate work. V. N. Karazin Kharkiv National University, 2022. 40 p., 11 images, 1 table, 21 references.

MAGNETIC NANOPARTICLE, BINDING, LSMO, COATING, TRISODIUM CITRATE, ABSORPTION SPECTRUM

Object: complexes of proflavine with magnetic nanoparticles.

Subject: the features of proflavine binding to magnetic nanoparticles.

Aim: to determine the dependence of the loading degree of proflavine on the surface of magnetic nanoparticles.

Methods: absorption spectrophotometry in the visible region.

Results: using the VIS-spectrophotometry method it was shown that trisodium citrate leads to more effective proflavine binding to LSMO. By the binding curves, it was proved that at a higher temperature proflavine interacts more effectively with LSMO nanoparticles.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
1 ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ МАГНІТНИХ НАНОЧАСТОК ПРИ ЛІКУВАННІ ПУХЛИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ.....	7
1.1 Адресна магнітокерована доставка лікарських препаратів..	7
1.2 Гіпертермія.....	11
1.3 Використання магнітних наночастинок для гіпертермії пухлин.....	13
1.4 Комбінація гіпертермії і магнітних наночастинок для лікування пухлин.....	15
1.5 Ядро наночастинок та покриття.....	16
1.6 Манганіт лантана стронцію.....	21
1.7 Профлавін – терапевтичний та канцерогенний препарат....	24
2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.....	27
2.1 Методика експерименту.....	27
2.2 Методи розрахунку.....	29
3 РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА РОЗРАХУНКИ.....	31
ВИСНОВКИ.....	37
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	38

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

НЧ – наночастинки

МНЧ – магнітні наночастинки

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр

ЕПУ – ефект проникнення та утримання

ЕРС – електрорушійна сила

ГЛР – гіпертермічне лікування раку

LSMO – lanthanum strontium manganese oxide (манганіт лантана стронцію)

СПМНЧ – суперпарамагнітні наночастинки

ЦТАБ – цетилтриметиламонію бромід

T_c – температура Кюрі

PF – профлавін

NaCit – цитрат натрію

ВСТУП

На сьогоднішній день в світі існує багато проблем з лікуванням багатьох видів захворювань. Одна з цих проблем полягає в тому, що більшість ліків доставляється в певну ділянку організму людини некеровано і пасивно. Таким чином зменшується лікувальний ефект, а релевантність використання такого методу досить спірна.

Вчені досить давно досліджують наночастинки, які мають магнітні властивості. Використання таких особливостей має місце в методі активної доставки – магнітокерованої доставки лікарських препаратів. Це робить лікування більш ефективним, має менше негативних наслідків, є більш рентабельним і прибутковим для досліджень.

В даній роботі висвітлюється питання про те, які саме магнітні наночастинки слід використовувати для збільшення ефективності лікування, а також які покриття слід наносити на частинки, аби лікарський засіб можна було вивільнити саме там, де це потрібно.

1 ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ МАГНІТНИХ НАНОЧАСТОК ПРИ ЛІКУВАННІ ПУХЛИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

1.1 Адресна магнітокерована доставка лікарських препаратів

У сфері доставки ліків зараз велика увага приділяється наночастинкам (НЧ), які зазвичай визначаються як об'єкти розміром близько 1–100 нм з властивостями різної природи. Усі наночастинки характеризуються дуже високим відношенням площі поверхні до об'єму, що забезпечує їх специфічні властивості і є причиною великого значення поверхні наночастинки. Фактично, властивості поверхні та функціоналізація поверхні, які можуть бути реалізовані за допомогою іонів металів, малих молекул, поверхнево-активних речовин або полімерів, є ключовими елементами, які сильно впливають на кінцеві властивості системи.

Можливість доставки лікарського засобу до певного цільового місця в організмі людини має багато переваг. Перш за все, таким чином можна локалізувати препарат в ділянці тіла та продовжити період вивільнення. Крім того, взаємодія препарату з іншими тканинами та ризик побічних ефектів можуть бути обмежені: завдяки цьому забезпечується більш рівномірний розподіл препарату та потрібна менша кількість препарату через обмежені втрати фармацевтичного продукту в інших місцях. Щоб досягти цільової доставки, потрібні складніші методи синтезу, які зазвичай включають більше етапів для синтезу кінцевої наночастинки, а також значно більше часу та більші витрати [1, 2].

Магнітна система доставки ліків працює на доставці магнітних наночастинок, завантажених препаратом, до осередка пухлини під впливом зовнішнього магнітного поля. Однак розробка цієї системи доставки вимагає,

щоб наночастинки поводитися магнітно лише під впливом зовнішнього магнітного поля і ставали неактивними, коли зовнішнє магнітне поле видалено.

Суперпарамагнетизм будь-якого магнітного наноматеріалу в основному спричинений тепловими ефектами, коли теплові флуктуації є достатньо сильними, щоб спонтанно розмагнітити попередньо насичений вузол; тому ці частинки мають нульову коерцитивність і не мають гістерезису. У результаті суперпарамагнітні наночастинки стають магнітними в присутності зовнішнього магніту, але повертаються в немагнітний стан, коли зовнішній магніт видаляється. Це дозволяє уникнути «активної» поведінки частинок, коли немає прикладеного поля. Така поведінка суперпарамагнітних матеріалів створює потенційні переваги для доставки терапевтичних засобів у певні ділянки під впливом зовнішнього магнітного поля та може бути повернута до немагнітного стану шляхом усунення зовнішнього магнітного поля, щоб дозволити їм виводитися.

Магнітні наночастинки (МНЧ) можуть бути систематично введені та спрямовані на певну мішень в тілі людини, залишаючись остаточно локалізованими за допомогою прикладеного магнітного поля. Зазвичай терапевтичні агенти прикріплені до поверхні магнітних наночастинок або інкапсульовані всередині нанокомпозитної суміші полімеру та магнітних наночастинок. У цьому випадку вони можуть працювати під впливом дуже низьких значень прикладеного магнітного поля. Ідеальними властивостями для нанокомплексів, які будуть використовуватися, повинні бути властивості з високими значеннями намагніченості при робочій температурі. Магнітні частинки із заліза, кобальту та нікелю сприятливі в таких ситуаціях завдяки їхнім спеціальним магнітним властивостям, але контроль розміру та форми

частинок, а також матриці або середовища, в яке частинки вбудовані, також є критичним.

Наявність полімерів або різних металевих/неметалевих покриттів дає можливість закріпити різні терапевтичні препарати або ДНК (дезоксирибонуклеїнову кислоту) для цільової доставки. Інший підхід полягає в інкапсуляції цитотоксичного препарату разом із магнітними наносферами всередині полімерної матриці. Після націлювання на місце дії тривала доставка молекули ліків у місці дії забезпечить його терапевтичний ефект.

Після того, як терапевтичну частину було завантажено на наночастинки та розміщено *in vivo*, ці магнітні наноконплекси часто спрямовуються на цільове місце за допомогою рідкоземельних магнітів із високим полем. Наявність поля високого градієнта, яке сфокусовано на певній ділянці, впливає на тіло та захоплює частинки на цільовій тканині. Хоча це може бути ефективною стратегією для цілей, розташованих поблизу поверхні тіла, ефект слабшає для застосувань глибоко всередині тіла, оскільки напруженість магнітного поля швидко падає з відстанню, тому на внутрішні місця стає важче націлюватися. Приклад використання магнітних наночастинок для керованої доставки наведено на рис. 1.1.

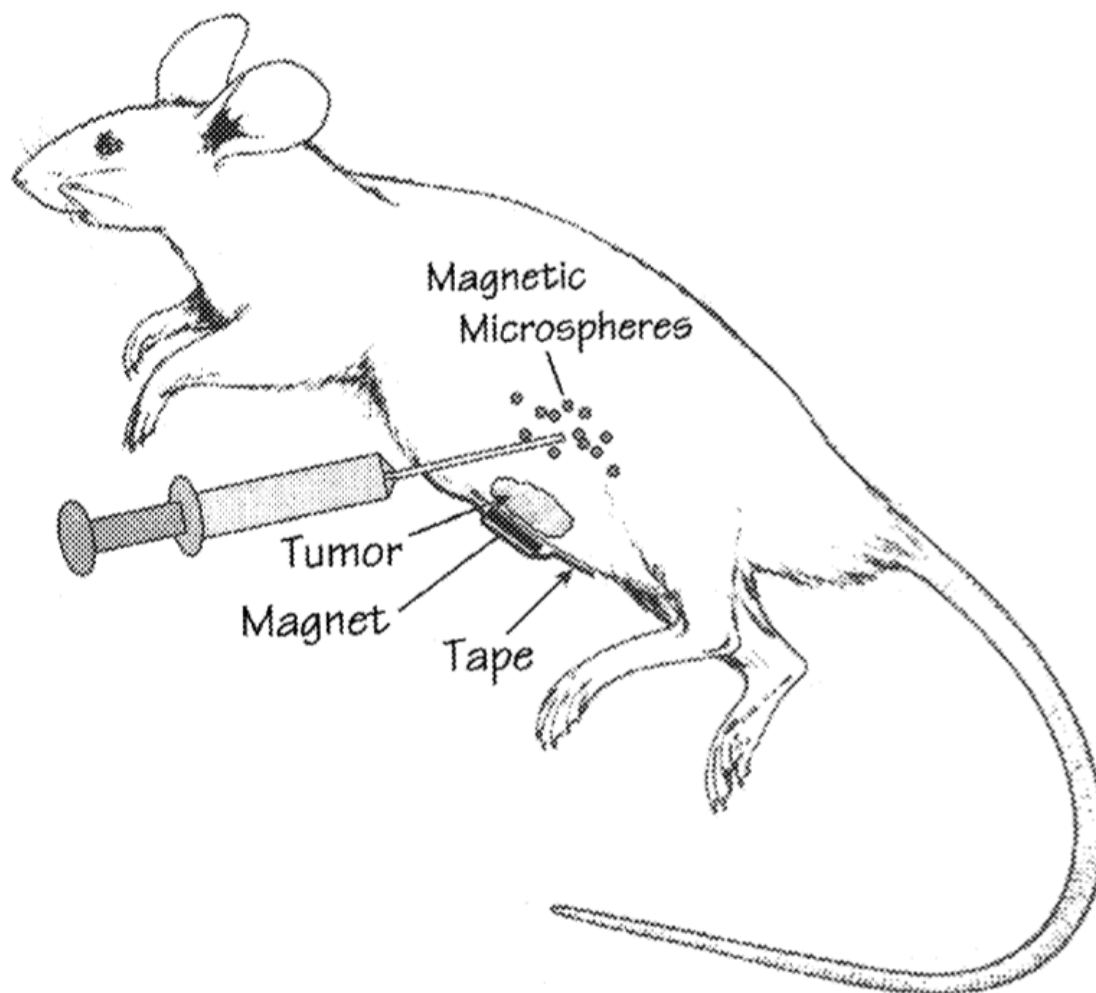


Рисунок 1.1 – Приклад використання магнітних наночастинок для адресної доставки лікарських препаратів у пухлину миші

Магнітні наночастинки також можуть мати величезний потенціал для діагностики та терапії пухлин головного мозку. Одним із найпоширеніших способів проникнення наночастинок через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) є посилений ефект проникнення та утримання (ЕПУ). Однак ЕПУ може бути обмежений оточенням пухлини, таким як гіповаскулярність, фіброз або некроз, навіть якщо патологічні процеси порушують цілісність або функцію ГЕБ.

Приклад використання магнітних наночасток для лікування пухлин наведено у роботі [3]. Протираковий агент епірубіцин був іммобілізований на поверхні МНЧ. Ця нова магнітна система доставки ліків була націлена на мозок за допомогою сфокусованого ультразвуку та магнітного націлювання як синергічної системи доставки. Як ультразвук, так і зовнішнє магнітне поле активно збільшували локальну концентрацію МНЧ. Результати показали, що контрольні тварини не показали накопичення МНЧ в області пухлини навіть через 6 годин після введення МНЧ. Однак після застосування зовнішнього магніту клітини пухлини поглинали епірубіцин приблизно в 15 разів вище, ніж терапевтичний діапазон на грам тканини. Конфокальна та флуоресцентна мікроскопія та фарбування берлінською синьою додатково підтвердили наявність більшої кількості епірубіцину-МНЧ у місці пухлини, ніж на контралатеральній стороні.

Таким чином використання магнітних наночасток як носія для цільової доставки протипухлинного препарату має багато переваг, але потребує додаткових досліджень виду наночатинки та функціоналізації її поверхні для створення ефективної лікарської форми.

1.2 Гіпертермія

Гіпертермія, процедура підвищення температури пухлинної тканини до 40–43°C, застосовується як допоміжна терапія з різними визнаними методами лікування раку, такими як радіотерапія та хіміотерапія.

Саме при високих температурах відбувається значне пошкодження або ж повне знищення клітин пухлин без пошкодження нормальних частин тіла. Пошкоджуючи структури білків, гіпертермія знищує пухлинні клітини, а таким чином і об'єм самої пухлин.

Ефективність лікування з використанням гіпертермії залежить від величини температури, досягнутої під час лікування, а також від тривалості впливу, особливостей пухлинних клітин та тканин. Щоб гарантувати, що необхідна температура досягнута, але не перевищена, проводиться постійний температурний контроль у пухлинах та навколишніх тканинах протягом усього сеансу лікування. Для контролю температури в областях, що цікавлять, використовуються інвазивні мікротермометри, які встановлюються під місцевою анестезією [4].

Більшість нормальних тканин не ушкоджуються під час гіпертермії, якщо температура досягає відмітки $43,5^{\circ}\text{C}$. Однак, через відмінності в біологічних характеристиках тканин, може відбуватися локальний перегрів у вигляді локальних плям. Це може закінчитися опіками, індуратами, дискомфортом чи болісністю. При перфузії можуть відбуватися набряк тканин, тромбоз, кровотеча або інші види пошкоджень нормальних тканин у перфузованій ділянці; однак, більшість цих побічних ефектів мають тимчасовий характер. Загальна гіпертермія може спричинити серйозніші побічні ефекти, включаючи порушення серцевого ритму та кровообігу, але це відбувається дуже нечасто.

Ранній клінічний досвід було отримано з поверхневими ураженнями, що легко нагріваються, які порівнювали в одного пацієнта (пара ураження або порівняння у одного пацієнта); одне з уражень лікували за стандартною схемою, а друге подібне ураження лікували за стандартною схемою плюс гіпертермія. Ці ранні клінічні результати були дуже переконливими, але існували труднощі з ефективністю нагрівання будь-якої невибраної групи пухлинних захворювань. Деяке некритичне перенесення перших доклінічних даних у клінічні умови призвело до догми 43°C – ідеї, що у цільовому об'ємі повинна бути досягнута мінімальна температура 43°C . Зараз це переконання

спростовано, оскільки кілька клінічних досліджень чітко показали більшу ефективність гіпертермії при більш низьких температурах у клінічній ситуації.

Останні клінічні результати дають змогу по-новому зрозуміти механізми гіпертермії при мультимодальному лікуванні онкології. Вважається, що гіпертермія впливає на чутливість пухлини до інших методів лікування головним чином через фактори мікросередовища, такі як рН. Одна з гіпотез полягає в тому, що гіпоксичні та, отже, резистентні ділянки пухлини переважно елімінуються в умовах гіпертермії, оскільки пов'язана гіповаскуляризація призводить до вищих температур і вищої чутливості через гіпоксію. Це припущення було поставлено під сумнів, оскільки хронічна гіпоксія також призводить до адаптації (розвитку толерантності), а реальний розподіл температури на рівні клітинної тканини (гіпоксичні та добре васкуляризовані ділянки) є невизначеним.

Навпаки, функціональні рентгенологічні дослідження показали, що деякі пухлини зазнають тривалого підвищення середньої перфузії, викликаючи не тільки збільшення надходження цитостатичних препаратів, але й, можливо, покращення гострої оксигенації та тривалої реоксигенації. Цей процес, як постулюють доклінічні дослідження, відбувається навіть при температурах 40–41°C [5].

1.3 Використання магнітних наночастинок для гіпертермії пухлин

Важливою властивістю магнітних частинок є їх здатність виділяти тепло. Після намагнічування НЧ оксиду заліза у відповідному змінному магнітному полі їх магнітний момент постійно змінюється, що призводить до генерації теплової енергії. Для феромагнітних частинок теплоутворення

відбувається через механізм втрат на гістерезис, за якого рівень виробленого тепла пропорційний площі петлі гістерезису.

Магнітна гіпертермія дозволяє дистанційно індукувати локальне тепло за рахунок втрат магнітної енергії магнітних наночастинок під осцилюючим магнітним полем. Іншими словами, здатність деяких магнітних наночастинок перетворювати електромагнітну енергію на тепло дозволяє підвищувати температуру в чітко визначених областях людського тіла, де розташовані пухлинні клітини та наночастинок. Таким чином, активацією цих наночастинок як наноагрівачів можна керувати ззовні шляхом застосування або видалення коливального магнітного поля. Електромагнітне випромінювання, яке використовується при магнітній гіпертермії, знаходиться в діапазоні радіочастот (від кількох кГц до 1 МГц). Це випромінювання є абсолютно здоровим і має достатню глибину проникнення для доступу до внутрішніх органів або тканин тіла. Специфіка цієї методики досягається вищою чутливістю пухлинних клітин до підвищення температури вище 42°C, температури, при якій руйнуються природні ферментативні процеси, які підтримують клітини живими, що дозволяє їх вибіркове знищення.

В роботі Khandhar та ін. продемонстрували ефективність гіпертермії кількох МНЧ, покритих полімером, у клітинах Jurkat [6]. Як і очікувалося, було показано, що швидкість нагрівання залежить від розміру частинок. На сьогоднішній день головною проблемою залишається досягнення відповідної концентрації МНЧ в ділянці пухлини, здатної нагріватися на терапевтичних рівнях. Johannsen та ін. оцінили ефективність МНЧ для лікування раку простати у мишей [7]. Використовувалось високе магнітне поле (12,6 кА*м⁻¹), яке створювало температуру 55°C в центральній області пухлини, що призвело до інгібування росту пухлини. Подальший аналіз на людях показав, що рівень електрорушійної сили (ЕРС) до 5 кА*м⁻¹ добре переносився протягом 1 години

пацієнтами, які отримували гіпертермічну терапію [8]. Цей рівень напруженості поля дозволив успішно досягти 55°C в передміхуровій залозі, достатньої для терапевтичного гіпертермічного лікування раку (ГЛР). Група Джордана провела кілька клінічних досліджень ГЛР, використовуючи пряму ін'єкцію МНЧ в область пухлини або доставку артеріальною системою [9].

Необхідно знайти відповідний баланс між розподілом розмірів наночастинок та їх магнітними властивостями, тому що занадто малі наночастинки не можуть проявляти ефект гіпертермії, тоді як занадто великі наночастинки не зможуть перетнути ендотеліальний бар'єр через суцільні капіляри. Таким чином, місцеве нагрівання впливало б лише на зовнішні пухлинні клітини, тоді як внутрішні відчували б лише м'який тепловий ефект, недостатній для того, щоб викликати загибель клітин [10, 11].

1.4 Комбінація гіпертермії і магнітних наночастинок для лікування пухлин

Оптимальна терапія гіпертермією з точки зору температури та часу потенційно може підвищити ефективність як маломолекулярної, так і наномедичної хіміотерапії. Seynhaeve et al. розглядали вивільнення ліків, викликаного гіпертермією [12]. У цьому огляді вони ретельно обговорюють системи доставки ліків, які забезпечують вивільнення, викликане теплом. Вони також підкреслюють потенційне використання обчислювального моделювання як засобу адаптації графіків лікування гіпертермії з метою оптимізації ефективності систем доставки ліків із ініційованим вивільненням. Ця стратегія вимагає фізико-хімічної характеристики препарату, носія та залежного від температури вивільнення препарату, і може бути потужним інструментом у розробці показників для оптимізації клінічного застосування.

Перспективи впровадження гіпертермії та доставки ліків у клініку розглядалися в багатьох роботах. Так в роботі [13] розглянуто доклінічні та клінічні дані досліджень із поєднанням хіміотерапії та гіпертермії. Було визначено, що температурний діапазон 40–42°C, який підтримується протягом 30–60 хв, забезпечує найбільше підвищення ефективності стандартної хіміотерапії. Однак відзначається, що системи доставки ліків із контрольованим вивільненням зазвичай потребують меншого часу нагрівання, але терапію слід проводити одночасно з нагріванням. Використання гіпертермії може дозволити зменшення дози препарату при лікуванні онкологічних захворювань серед дітей. Такий підхід може обмежити цільову токсичність через багато років у майбутньому, що призведе до значного збільшення років життя пацієнта [14].

1.5 Ядро наночастинок та покриття

Для підвищення коллоїдної стабільності, біосумісності, збільшення площі поверхні а також енергії зв'язування з протипухлинним препаратом на магнітну наночастинку можна нанести органічне або неорганічне покриття. В цьому випадку говорять про створення core-shell нанокompозиту (рис. 1.2).

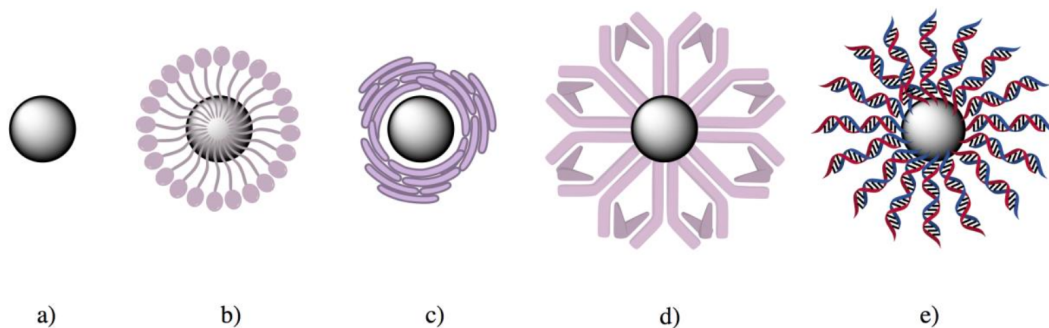


Рисунок 1.2 – Приклад модифікації поверхні існуючої наночастинки (a). Схематизація на малюнку представляє функціоналізацію з використанням (b) дрібних молекул, (c) полімерів, (d) клітинних мембран, або (e) гібридизована структура ДНК

Розмір і форма частинок впливають на токсичність частинок і їх інтерналізацію всередині клітин. На останній процес також впливає покриття поверхні частинок. У фізіологічних умовах будь-який тип НЧ, ймовірно, зазнає процесу покриття біомолекулами (переважно білками), присутніми в сироватці. Оскільки така білкова корона є крайнім шаром, вона може впливати на взаємодію частинок з клітинами. Було доведено, що цей факт не залежить від ядра частинки, враховуючи, що як органічні (полістирол), так і неорганічні (КТ і НЧ золота) наносистеми демонстрували такий коронний ефект. Наявність полімерного шару, що оточує ядро частинки, може зменшити такий білковий коронний ефект.

Багато типів наночастинок можна класифікувати як різні типи матеріалів ядро-оболонка, наприклад: один або кілька матеріалів у площині, ядро-оболонка або композитні наночастинки. Ядро-оболонка та композитні частинки складаються з двох або більше речовин, тоді як прості наночастинки складаються з одного матеріалу. Загалом, визначення наночастинок ядро-оболонка базується на наявності внутрішньої матерії та матеріалу зовнішнього

шару. Різні типи матеріалів ядро-оболонка можуть поєднуватися в діапазоні різних композицій. Вибір матеріалу ядро-оболонка в першу чергу залежить від мети.

Магнітні наночастинки в основному використовуються як ядро, оскільки на їхні властивості не впливають шари оболонки; однак рідко використовується як оболонка, як Au через його ефективну робочу поверхню. Різні неорганічні наноматеріали непридатні та токсичні для організму людини. Магнітні наночастинки, такі як Fe, захоплюють для цілей контрольованого лікування ліками завдяки своїй біосумісності та парамагнітній поведінці, які допомагають лікам надходити до цільових клітин, використовуючи магнітне поле для контролю шляху. Проте НЧ заліза є токсичними через їх здатність до окислення та вивільнення вільних радикалів у кровотік. З іншого боку, стабілізація наночастинок Fe може бути досягнута шляхом покриття їх металевою оболонкою та модифікації хімічного складу поверхні всередині носія та препарату. Наприклад, золоте покриття демонструє чудову адсорбцію амінів у протипухлинних препаратах і зменшує агрегацію частинок за допомогою стеричних перешкод [15].

В узагальненому випадку оболонка являє собою шар матеріалу, який хімічно відрізняється від серцевини, яка натомість є внутрішньою частиною. Приклад структури оболонки можна знайти, розглянувши випадок наночастинок заліза, які після приготування швидко утворюють шари оксиду заліза на своїй поверхні: у багатьох випадках оксид заліза робить не проникною всю частинку, і тому кінцева система представляє зовнішній шар (оксид заліза), який чітко відрізняється від внутрішнього ядра (чисте залізо). Зазвичай, незважаючи на те, що поверхня та шар можуть мати сильний вплив на кінцеві характеристики системи, властивості, що цікавлять наукове співтовариство, переважають специфічні властивості ядра та його складу.

Велике значення наночастинок пояснюється їхніми характеристиками, такими як біосумісність, біорозкладність та нетоксичність.

У літературі описано різні методи, які здатні підвищити селективність доставки ліків: ліпосоми є найбільш поширеною стратегією, що використовується для цілеспрямованої доставки. Ліпосоми мають високу біосумісність і біологічно розкладаються, а також нетоксичні, негемолітичні та неімуногенні. Їх часто ПЕГільують (приєднують інертну макромолекулу поліетиленгліколю), щоб подовжити період напіврозпаду структури, зберігаючи при цьому ефект націлювання [16].

Інші часто використовувані системи представлені міцелами та дендримерами: вони мають структуру на основі полімерів і демонструють велику здатність націлюватися на певні сайти. Ідея полягає в тому, щоб функціоналізувати поверхню (покриття наночастинок) іншими молекулами або речовинами, які здатні впливати на поведінку носія лікарського засобу після того, як покрита наночастинка знаходиться всередині людського тіла, забезпечуючи певну селективність щодо конкретної мішені. Вибір молекули або системи, які будуть використані як покриття, не є тривіальним: необхідно враховувати багато елементів. Перш за все, тканина-мішень: важливо визначити, які класи сполук можуть бути корисними для націлювання на конкретну область. Для цього необхідні знання в біологічній галузі, оскільки необхідно розуміти біологічні механізми, які діють в цій конкретній області людського тіла. Наприклад, є тканини, до яких неможливо легко дістатися через наявність біологічних бар'єрів всередині людського тіла (наприклад, центральна нервова система): усвідомлюючи хімічні характеристики сполук людського організму, в яких є здатність подолати такі бар'єри, це може стати ключем до пошуку покриття, здатного гарантувати належну селективність процесу доставки ліків.

Є й інші важливі аспекти, які слід враховувати: використовуване покриття має бути біосумісним, і має бути доступний метод для його розміщення на наночастинці. Крім того, кількість використовуваного покриття не є випадковим: фактично присутність цих молекул на поверхні впливає на розміри системи, а більша кількість покриття може призвести до зниження інтерналізації всередині клітин через надмірні стеричні перешкоди. Крім того, кінцевий продукт повинен бути стабільним і не руйнуватися під час доставки. Ці системи цільової доставки ліків можуть мати різне застосування. Функціоналізація поверхні МНЧ загалом доцільна для покращення їх біосумісності, запобігання агрегації та захисту магнітного сердечника від окислення. В ідеалі, МНЧ повинні мати активні можливості націлювання, щоб дозволити їх накопичення в бажаній тканині/клітинах для лікування або зображення.

Яскравим прикладом є дистанційно контрольоване вивільнення препарату за допомогою МНЧ, покритих кремнеземом. НЧ оксиду заліза, легованого цинком, були включені в матрицю мезопористого кремнезему разом з молекулою лікарського засобу (доксорубіцин) і барвником (родамін В). Препарат містився всередині наносистеми шляхом додавання кукурбітурилу, який електростатично зв'язується з молекулярною ниткою, наявною на поверхні кремнезему, таким чином «закриваючи» пори. Такі наноклапани залишаються закритими при кімнатній температурі, але відкриваються після нагрівання. Отже, ЕРС генерує тепло, що ініціює виділення ліків, і відкриття клапана контролюється оптично. Подальші приклади магнітних частинок, що реагують на стимули, можна знайти в інших оглядових роботах, присвячених наносистемам, що реагують на стимули [15].

1.6 Манганіт лантана стронцію

Новий клас магнітних наносистем, таких як суперпарамагнітні наночастинки $\text{La}_{0.7}\text{Sr}_{0.3}\text{MnO}_3$ (LSMO, манганіт лантана стронцію) та інші суперпарамагнітні наночастинки на основі фериту, розглядаються як потенційний посередник у новій терапії раку, яка синергетично поєднує хіміотерапію терапію гіпертермією. Це пов'язано з тим, що LSMO можуть діяти як носій для цільових фармакологічних препаратів та як контрольоване джерело тепла за допомогою магнітного гістерезису та суперпарамагнітної поведінки. Успішне терапевтичне впровадження суперпарамагнітних наночастинок (СПМНЧ) залежить від внутрішньої намагніченості та їх біофізичних властивостей, таких як біосумісність, поверхнева функціональність, стабільність дисперсії та специфічна швидкість поглинання як у фізіологічних, так і в пухлинних умовах. Ці атрибути можна отримати завдяки функціоналізації зовнішньої поверхні СПМНЧ з використанням біомолекул і хімічних сполук.

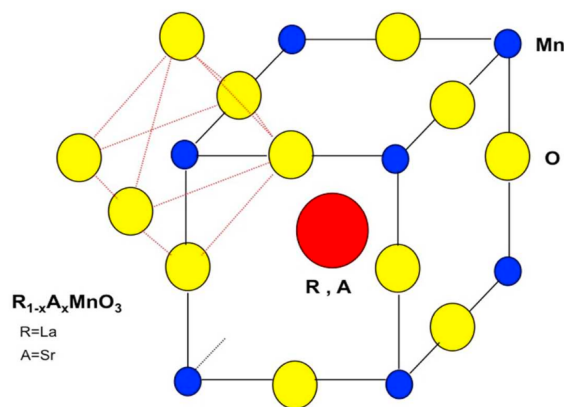


Рисунок 1.3 – Схематична структура магнітної наночастинки LSMO

Температура Кюрі (T_c) є ще одним важливим параметром у виборі магнітного матеріалу для застосування *in vivo*, наприклад гіпертермії. Поки частинки нижче температури Кюрі, вони нагріваються під час дії поля змінного струму. Як тільки вони досягають температури Кюрі, намагніченість насичення частинок падає до нуля, і нагрівання припиняється, оскільки матеріал стає чисто парамагнітним. Таким чином, якщо температуру Кюрі можна фіксувати шляхом розумного підбору складу та розміру частинок, можна застосовувати гіпертермію та ретельно контролювати її.

Температура Кюрі LSMO, синтезованого різними способами та покритого різними матеріалами покриття, потрапляє в прийнятний діапазон і LSMO може безпечно використовуватися як агенти гіпертермії. Наночастинки оксиду заліз зазвичай демонструють високу температуру Кюрі, тому при їх використанні необхідні додаткові системи контролю температури для того щоб уникнути глобального перегріву здорових тканин. Таким чином, перевага «самокерованого» нагрівання в бажаному діапазоні може зробити наночастинки LSMO кращим медіатором гіпертермії в порівнянні з його аналогами.

З використанням наночастинок LSMO можна застосувати кілька підходів до завантаження ліків; або препарат може бути представлений ковалентно або електростатично на поверхні, або наночастинки та ліки можуть бути інкапсуловані разом. Застосоване зовнішнє магнітне поле може гарантувати, що максимальна кількість наночастинок утримується на місці пухлини, а нагрівання наночастинок може викликати вивільнення препарату [17].

Поверхневі покриття також можуть впливати на фізико-хімічні (наприклад, форму) та магнітні властивості синтезованих наночастинок LSMO. Наприклад, Sin et al. підготували однорідні паличкоподібні LSMO

шляхом оптимізації кількості катіонної поверхнево-активної речовини, цетилтриметиламонію бромід (ЦТАБ), що було використано під час синтезу. Тут покриття ЦТАБ допомогло знизити температуру реакції, прискорити утворення/кристалізацію та їх регулювання та контролювати розмір при збереженні стехіометрії синтезованих нанокристалів LSMO.

Модифікація поверхні наночастинок LSMO поліпіролом товщиною близько 2,0–3,5 нм призводить до збільшення значення M_s , пов'язаного з процесом передачі заряду (тобто тунелюванням π -електронів від приєднаного поліпролу) між провідним полімером і поверхневими шарами магнітних сердечників. Внаслідок цього створюється значне збільшення поверхневого внеску в загальний магнітний момент наночастинок. В іншому дослідженні використовували золото як покриття поверхні для наночастинок LSMO для виробництва зразків ядро-оболонка. Було показано, що товщина покриття оболонка/Au суттєво вплинула на розмір/середній діаметр і магнітні властивості наночастинок LSMO [18].

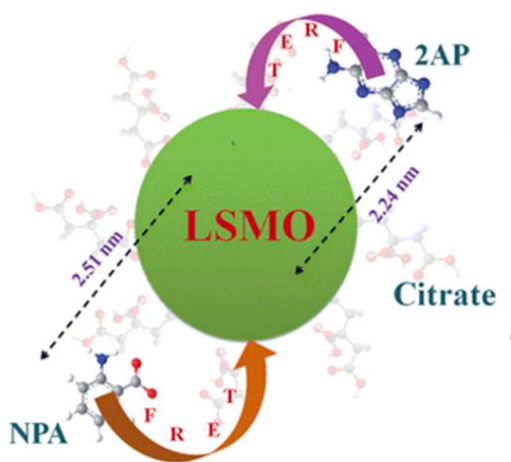


Рис.1.4 – Схема, що показує ковалентне приєднання цитрату натрія до наночастинок

Таким чином, поверхневі покриття відіграють важливу роль у зміні внутрішніх фізико-хімічних або магнітних властивостей таких наночастинок, як LSMO [19].

1.7 Профлавін – терапевтичний та канцерогенний препарат

Профлавін знаходить широкий спектр застосувань у клінічних, терапевтичних, промислових та передових дослідженнях. Профлавін знаходить багато застосувань, у тому числі як антимікробний засіб і часто використовується як місцевий засіб. Ця сполука денатурує бактеріальну ДНК, що призводить до лізису бактерій. Завдяки своїй властивості інтеркаляції він впливає на ДНК господаря, що потенційно може викликати рак шкіри та інші злоякісні новоутворення. Профлавін може проникати за межі епідермальних і дермальних структур і накопичуватися в ядрах клітин. У культурі клітин людини профлавін, як відомо, поглинається багатьма типами клітин і концентрується в ядрах. Незважаючи на його онкогенний потенціал, профлавін в даний час знаходить своє застосування в терапії, діагностиці та дослідженнях. Після впливу на шкіру людини профлавін змінює структуру епідермальних ланцюгів ДНК, що призводить до мутації.

Природа взаємодії похідних акридину, особливо аміноакридинів, з нуклеїновими кислотами привертає все більшу увагу з моменту їх самого раннього використання в якості клітинних барвників. Широко розповсюджені біологічні ефекти похідних акридину поступово почали пов'язувати головним чином з їхньою здатністю взаємодіяти з нуклеїновими кислотами, але інтерес до цієї взаємодії підвищився, коли було зрозуміло механізм задіяних процесів зв'язування. Здатність зв'язуватися з нуклеїновою кислотою залежить від основності акридину, що спричинить помітне збільшення характеристичної

в'язкості та зниження швидкості осідання ДНК, і це вказує на збільшення довжини протидії подвійної спіралі ДНК. Дослідження переконливо показує, що профлавін взаємодіє з ДНК, що призводить до пошкодження нуклеотидів.

Інтерес до ефекту акридинів як засобів для дезінфекції ран виник, оскільки його антибактеріальний ефект був сильнішим, на відміну від багатьох інших речовин, і було показано, що він зберігається в присутності рідин організму та гною. З цією метою набули широкого застосування як профлавін, так і 3,6-діаміно-10-метилакридиній хлорид. Деякі патогени виявились стійкими до акридинів. Це дослідження показало, що профлавін має потенційні широкі антимікробні властивості [20].

Акридинові барвники профлавін і акріфлавін застосовувалися як флуорохроми кількома дослідниками в минулому через їх високу квантову ефективність, що зробило їх особливо корисними для автоматизованого аналізу клітин. Його можна регулярно використовувати в клінічних лабораторіях, оскільки це єдине фарбування може допомогти в диференціації лейкоцитів, а також підрахунку ретикулоцитів без зміни морфології клітин.

Узагальюючи проведений аналіз літературних джерел можна зробити висновки, що використання магнітних наночастинок як системи доставки ліків визначається їх біосумісністю та вибіркоким націлюванням на бажану клітину або тканину під керуванням зовнішнього магнітного поля. Тому дослідження магнітної доставки ліків продовжують бути актуальними.

Щоб досягти цільової доставки, потрібні складніші методи синтезу, які зазвичай включають більше етапів для синтезу кінцевої наночастинки, а також значно більше часу та більші витрати.

Для того, щоб здійснювати цільову доставку лікарських препаратів за допомогою наночастинок, треба функціоналізувати їх поверхню (покриття наночастинки) іншими молекулами або речовинами, які здатні впливати на

поведінку носія лікарського засобу після того, як покрита наночастинка знаходиться всередині людського тіла, забезпечуючи певну селективність щодо конкретної мішені. При цьому використовуване покриття має бути біосумісним, і має бути доступний метод для його розміщення на наночастинці. Крім того, кількість використовуваного покриття не є випадковим: фактично присутність цих молекул на поверхні впливає на розміри системи, а більша кількість покриття може призвести до зниження інтерналізації всередині клітин через надмірні стеричні перешкоди. Також варто пам'ятати, що кінцевий продукт повинен бути стабільним і не руйнуватися під час доставки.

Манганіт лантану стронцію є перспективним магнітним ядром для створення протипухлинного комплексу, яке крім ефективної магнітокерованої доставки лікарського препарату також забезпечує контрольований нагрів при магнітній гіпертермії.

Профлавін широко використовується в різних обставинах, включаючи біомедичні застосування. З однієї сторони профлавін має потенційні антимікробні властивості, з іншого боку він виявляє токсичну дію на білок, ДНК і багато ферментів.

2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

2.1 Методика експерименту

В роботі використовувались: наночастинки манганіту лантану стронцію (LSMO), з діаметром 10 нм, точка Кюрі для яких складає 40°C (рис. 1.3); барвник профлавін (3,6-діаміноакридин, PF) фірми “Sigma-Aldrich” (рис. 2.1, а); оболонка з цитрату натрію (trisodium citrate, NaCit) (рис. 2.1, б).

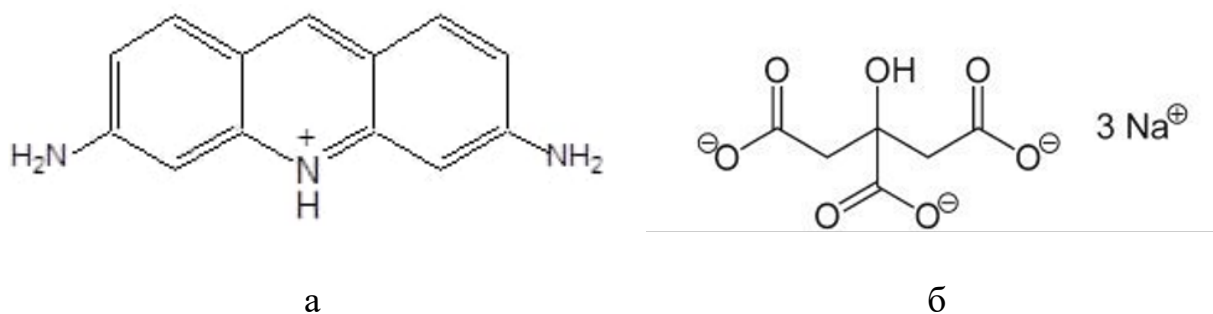


Рисунок 2.1 – Структурні формули молекул профлавіну (а) та цитрату натрія (б)

На рис. 2.2 приведено схематичну методику проведення експеримента. Розчини профлавіну додавали до суспензій МНЧ у розчині NaCit і дистильованій воді відповідно, щоб отримати різні співвідношення концентрації лікарської речовини/наночастинок. Для отримання молярної концентрації суспензії МНЧ розглядали наночастинку сферичної форми з діаметром 10 нм. та об’ємною густиною для LSMO 6,5 та для магнетиту 5,18 г/см³. Розрахована молярна маса наночастинки становить 2,64 та 2,1 МДа.

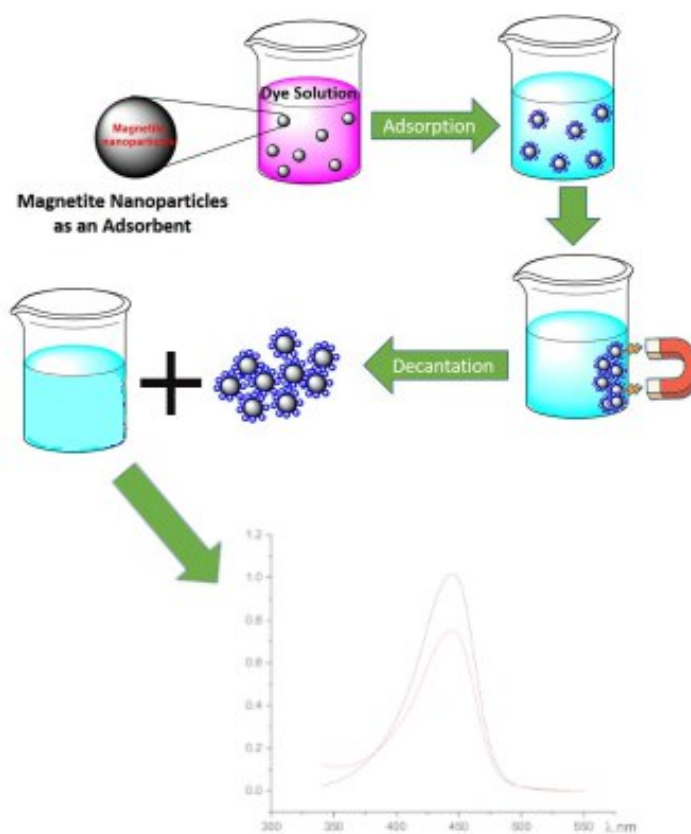


Рисунок 2.2 – Схематична методика проведення експерименту

Вихідну суспензію готували диспергуванням сухих МНЧ у розчині барвника. Під час титрування до системи МНЧ-барвник додавали розчин барвника такої ж концентрації. Таким чином, концентрація МНЧ змінювалася, тоді як концентрація барвника в суспензіях залишалася постійною. Агрегати МНЧ руйнували обробкою кожної суспензії ультразвуком протягом 10 хв в диспергаторі УЗДН-2Т (потужність 1 кВт) на частоті 22 кГц. Потім суспензію витримували протягом 20 хв на магніті Sm–Co з напруженістю магнітного поля 0,42 Тл. Ступінь преципітації НЧ контролювали за його максимумом

поглинання при 340 нм. НЧ та їх комплекси з барвниками вважалися відсутніми в надосадовій рідині та повністю осадженими магнітом, коли поглинання на цій довжині хвилі досягало нуля.

Усі вимірювання проводили при кімнатній температурі (293 K).

Видимі спектри профлавіну на спектрофотометрі Specord M40. Похибка вимірювання оптичної густини становила 0,005 одиниць. Концентрації барвника у воді визначали з використанням коефіцієнта молярної екстинкції профлавіну $\epsilon_{445} = 4,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$.

2.2 Методи розрахунку

Критеріями ефективності використання МНЧ як сорбентів для барвників є міцність утворених комплексів (постійна або вільна енергія зв'язку) та їх стехіометрія (кількість молекул барвника, які можуть бути адсорбовані одним МНЧ). Видима та УФ-спектроскопія є широко використовуваними експериментальними методами для визначення цих параметрів зв'язування. Однак застосування цих методів обмежене невеликими зрушеннями в спектрах отриманих комплексів відносно смуг поглинання вільних компонентів після адсорбції, оскільки спектри перекриваються і ускладнюють аналіз даних і обчислення константи зв'язування та місця зв'язування.

Досліджено зв'язування МНЧ з ароматичним барвником профлавіну. Отримані експериментальні ізотерми адсорбції були найбільш адекватно проаналізовані модифікованою моделлю зв'язування Ленгмюра. Ефективність використання суперпарамагнітних НЧ LSMO оцінювали за розрахованими параметрами зв'язування для адсорбції досліджуваних барвників.

Інтенсивності спектрів поглинання барвників суттєво падали зі збільшенням відносної концентрації LSMO. Концентрації вільних барвників у розчині зменшилися через утворення комплексів із LSMO.

Розрахункова крива відхилялася від експериментальної функції, коли кількість сайтів зв'язування на НЧ ставала надмірною. Цей факт і нелінійність ізотерм зв'язування в координатах Скетчарда могли виникнути тому, що модель взаємодії ліганду з незалежними та ідентичними центрами зв'язування не враховувала можливість існування НЧ з різним ступенем заповнення їх поверхні молекулами барвника. Тому для опису процесів, що відбуваються в досліджуваних системах, запропоновано рівняння Ленгмюра для зв'язування НЧ з різною кількістю молекул барвника від 1 до n (максимальна кількість молекул барвника, які можуть зв'язатися з однією НЧ):

$$\frac{C_f}{C_0} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n i k^i C_f^i}{1 + \sum_{i=1}^n k^i C_f^i} \frac{C_{LSMO}}{C_0} \quad (2.1)$$

де C_f – рівноважна концентрація вільного барвника; C_0 – загальна концентрація барвника; k – мікроскопічна константа зв'язування; C_{LSMO} – іднсна концентрація LSMO [21].

3 РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА РОЗРАХУНКИ

Першим завданням роботи було визначити концентрацію покриття, цитрату натрію, при якій зв'язування профлавіну з наночастками відбувається найбільш ефективно. В цьому експерименті концентрація наночастинок і барвника підтримувались постійними, а змінювалась лише концентрація цитрату натрію.

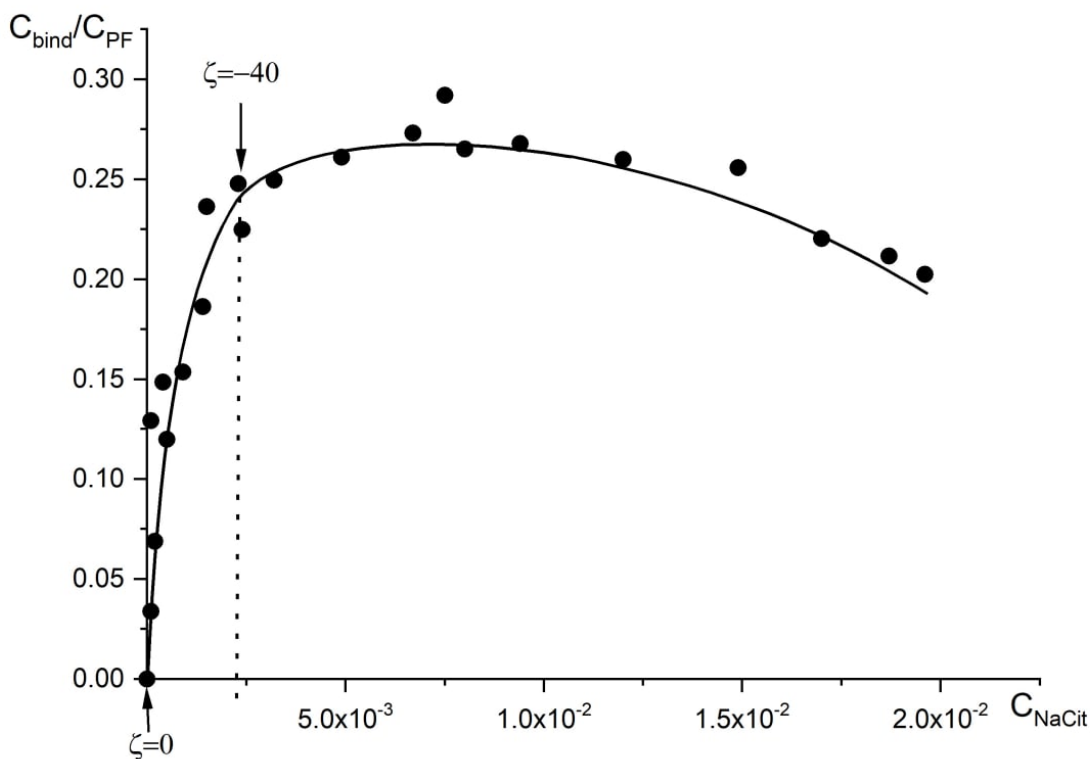


Рисунок 3.1 – Залежність частки зв'язаного профлавіну від концентрації цитрату натрію

На рис. 3.1 наведена залежність частки профлавіну, зв'язаного з наночастинками від концентрації доданого цитрату натрію.

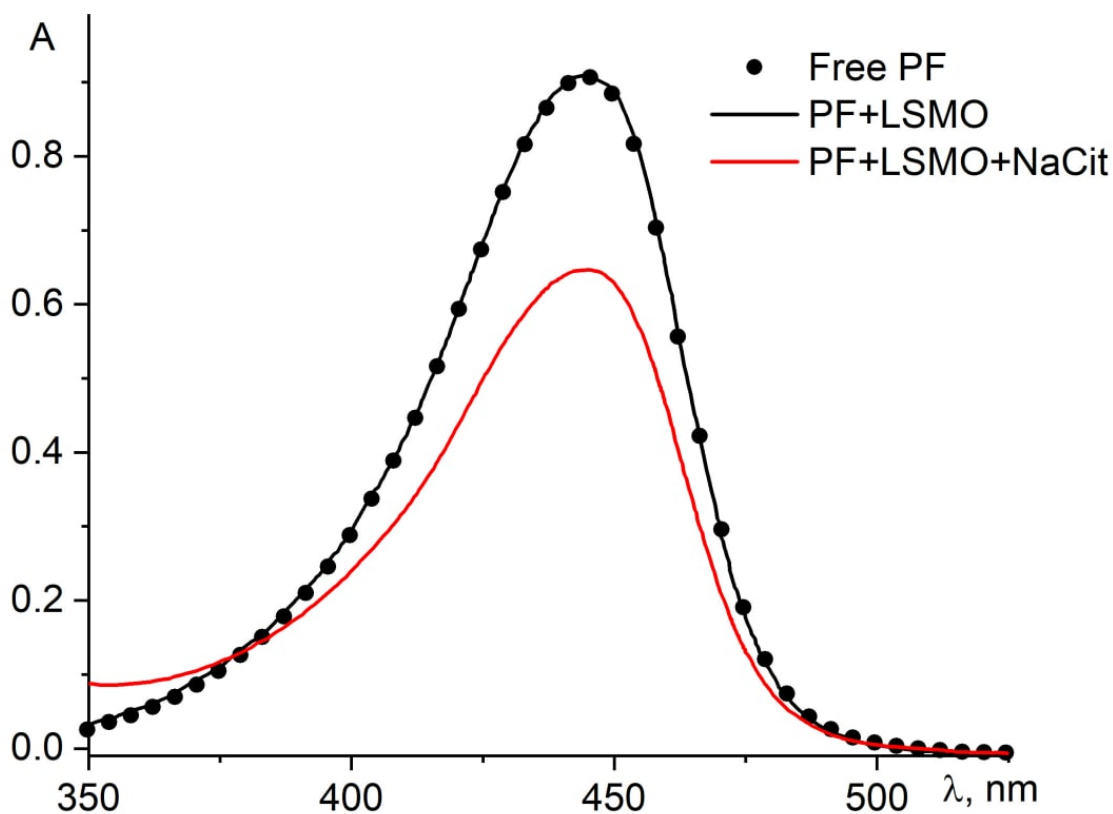


Рисунок 3.2 – Вплив NaCit на зв'язування профлавіну з наночастинками LSMO

На рис. 3.2 показано вплив цитрату натрія на зв'язування профлавіну з МНЧ LSMO. Як можна побачити, чорна крива показує, що у спектрі профлавіну при додаванні наночастинок LSMO змін немає. Це відбувається

через те, що позитивно заряджений препарат профлавін не взаємодіє з поверхнею наночастинок.

Червона крива показує, що у присутності NaCit інтенсивність спектра профлавіну зменшується при додаванні НЧ LSMO. До таких результатів призводить те, що покриття наночастинок LSMO NaCit сприяє зв'язуванню профлавіна з поверхнею наночастинок.

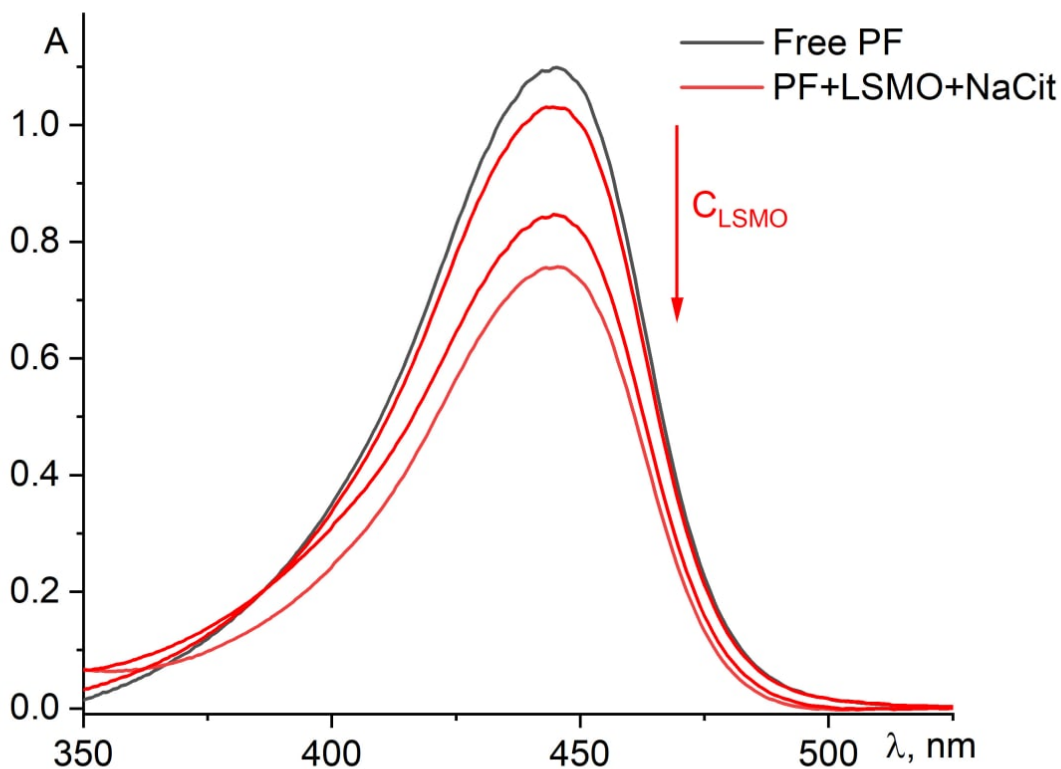


Рисунок 3.3 – Титрування профлавіну модифікованими наночастинками LSMO

Експерименти з титрування проводили при фіксованій концентрації Pf і NaCit і змінній концентрації НЧ LSMO. Додавання модифікованих НЧ LSMO викликає зменшення інтенсивності спектра поглинання профлавіну, як це можна помітити на рисунку 3.3.

Другим завданням було визначити вплив нагрівання до температури вищої за точку кюрі (60°C) на зв'язування профлавіну. На рис. 3.4 наведено залежності частки профлавіну, зв'язаного з наночастинками при постійній концентрації профлавіну і цитрат натрію, змінювалася лише концентрація НЧ.

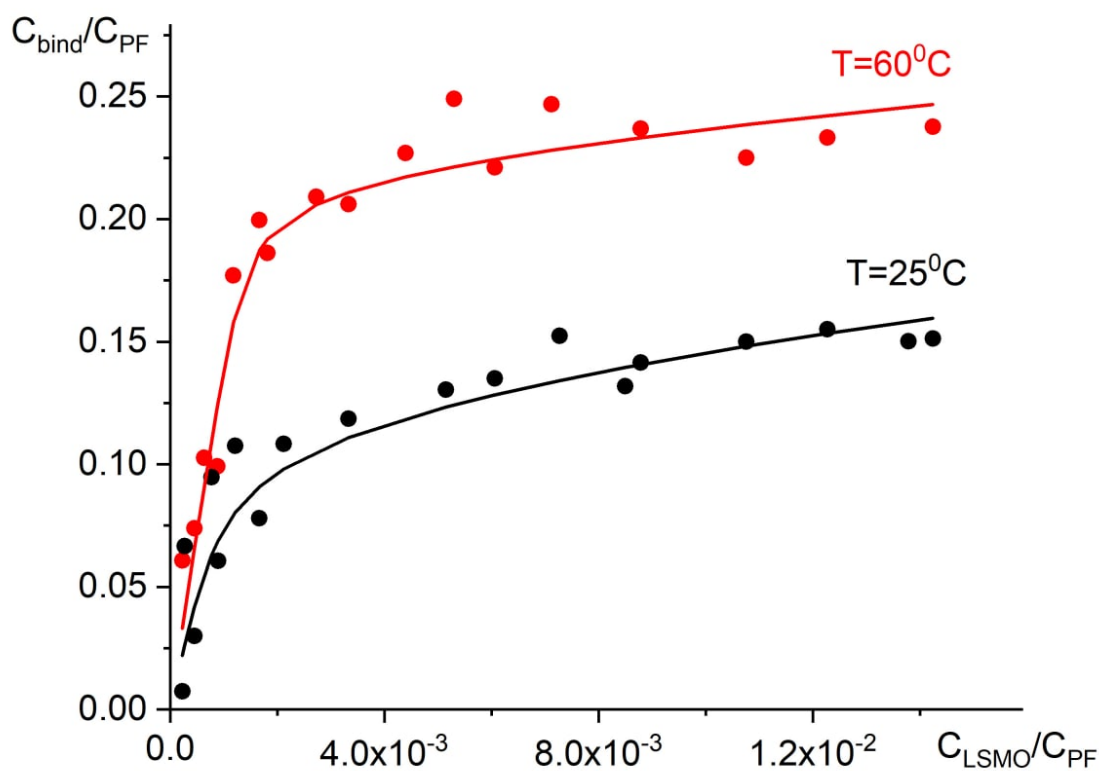


Рисунок 3.4 – Залежність частки зв'язаного профлавіну від концентрації наночастинок при різних температурах

Збільшення концентрації НЧ на початковій ділянці ізотерми призвело до зменшення концентрації вільного барвника внаслідок комплексоутворення. Цей етап зв'язування добре описується класичним рівнянням Ленгмюра (розділ 2.2).

Крива чорного кольору на рис.3.4 відповідає експерименту, який проводився при 25°C, кривай червоного кольору – це експериментальні дані, отримані при 60°C.

Можна побачити, що при більшій температурі зв'язування відбувається більш ефективно. Це відбувається через те, що при нагріванні вище точки Кюрі руйнуються агрегати НЧ, що призводить до підвищення ефективної поверхні НЧ.

Оптимальні значення профлавіну до константи зв'язування модифікованих НЧ LSMO (k) і кількості молекул профлавіну, що навантажуються на наночастинку LSMO (n) наведені в таблиці 3.1 нижче:

Таблиця 3.1 – Константи зв'язування МНЧ LSMO в залежності від температури

T, °C	k , M ⁻¹	n
25	$2 \cdot 10^4$	110
60	$2 \cdot 10^4$	150

Як можна побачити з таблиці 3.1, нагрівання вище точки Кюрі не змінює константу зв'язування профлавіну з наночастинками LSMO, але збільшує ступінь навантаження профлавіну.

Було також проведено експериментальне дослідження зв'язування профлавіна з магнетитом (Fe₃O₄), у якого точка Кюрі значно вища. Як видно з рис. 3.5, нагрівання не призводить до суттєвих змін у зв'язуванні профлавіна з

МНЧ Fe_3O_4 . Цей факт підтверджує наше припущення, що головним чинником, який викликає ефекти в LSMO, є перехід через точку Кюрі.

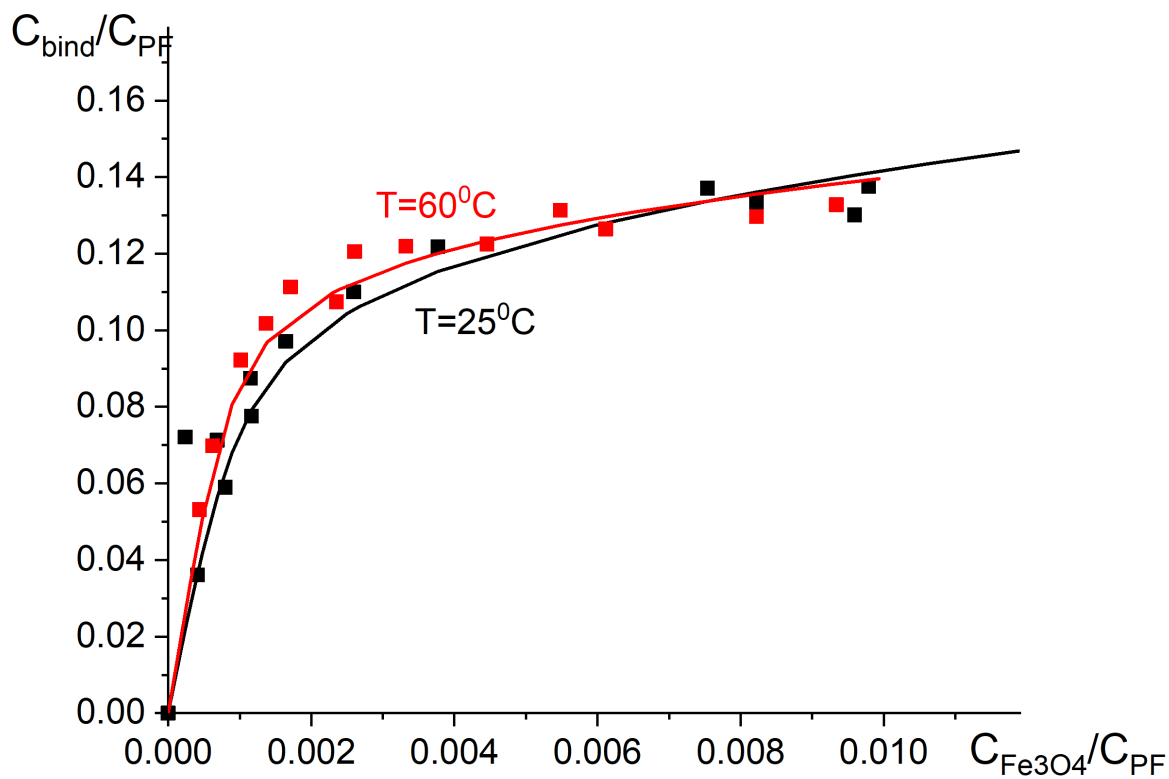


Рисунок 3.5 – Зв'язування МНЧ Fe_3O_4 з профлавіном при різних температурах (25 і 60°C)

ВИСНОВКИ

В дипломній роботі було проведено спектрофотометричне дослідження зв'язування профлавіна з магнітними наночастинками LSMO та Fe_3O_4 . З аналізу ізотерм адсорбції та за допомогою розрахунків було зроблено кілька висновків:

1. Зі збільшенням концентрації цитрату натрія збільшується доля зв'язаного з магнітними наночастинками профлавіну.
2. Максимальна кількість пов'язаного з наночастинками профлавіна досягається при концентрації $3 \cdot 10^{-3}$ М.
3. При нагріванні вище точки Кюрі руйнуються агрегати наночастинок, що призводить до збільшення ефективної поверхні наночастинок та підвищення кількості зв'язаного профлавіну.
4. Перехід через точку Кюрі є важливим для ступеня завантаження барвника на магнітну наночастинку.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Magnetic nanoparticle drug delivery systems for targeting tumor / Mody V. V., et al. // *Applied Nanoscience*. 2014. 4 (4). P. 385–392. <https://doi.org/10.1007/s13204-013-0216-y>
2. Pinelli F., Perale G., Rossi F. Coating and Functionalization Strategies for Nanogels and Nanoparticles for Selective Drug Delivery // *Gels*. 2020. 6 (1). doi: 10.3390/gels6010006
3. Magnetic resonance monitoring of focused ultrasound/magnetic nanoparticle targeting delivery of therapeutic agents to the brain / Liu H.-L., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. 107 (34). P. 15205–15210. doi: 10.1073/pnas.1003388107
4. Crezee J., Franken N. A. P., Oei A. L. Hyperthermia-Based Anti-Cancer Treatments // *Cancers (Basel)*. 2021. 13 (6). 1240. doi: 10.3390/cancers13061240
5. Hyperthermia in combined treatment of cancer / Wust P., et al. // *The Lancet Oncology*. 2002. 3 (8). P. 487–497. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(02\)00818-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(02)00818-5)
6. Tailored magnetic nanoparticles for optimizing magnetic fluid hyperthermia / Khandhar A. P. et al. // *J. Biomed. Mater. Res. Part A*. 2012. 100A. P. 728–737. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34011>
7. Magnetic fluid hyperthermia (MFH) reduces prostate cancer growth in the orthotopic Dunning R3327 rat model / Johannsen M., et al. // *Prostate*. 2005. 64 (3). P. 283–292. doi: 10.1002/pros.20213.
8. Thermotherapy of prostate cancer using magnetic nanoparticles: feasibility, imaging, and three-dimensional temperature distribution / Johannsen M., et

- al. // Eur Urol. 2007. 52(6). P. 1653–1661. doi: 10.1016/j.eururo.2006.11.023.
9. Thiesen B., Jordan A. Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia // Int. J. Hyperthermia. 2008. 24 (6). P. 467–474. doi: 10.1080/02656730802104757
 10. Canfarotta F., Piletsky S. A. Engineered magnetic nanoparticles for biomedical applications // Adv. Healthc. Mater. 2014. 3 (2). P. 160–175. DOI: 10.1002/adhm.201300141
 11. Bañobre-López M., Teijeiro A., Rivas J. Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment // Rep. Pract. Oncol. Radiother. 2013. 18 (6). P. 397–400. doi: 10.1016/j.rpor.2013.09.011
 12. Hyperthermia and smart drug delivery systems for solid tumor therapy / Seynhaeve L. B., et al. // Advanced Drug Delivery Reviews. 2020. 163–164. P. 125–144. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.02.004>
 13. The effect of thermal dose on hyperthermia-mediated inhibition of DNA repair through homologous recombination / van den Tempel N., et al. // Oncotarget. 2017. 8. P. 44593–44604. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17861>
 14. A Review on Drug Delivery System for Tumor Therapy. / Liu G., et al. // Front Pharmacol. 2021. 12. P. 735446. doi: 10.3389/fphar.2021.735446
 15. Mahdavi Z., Rezvani H., Keshavarz Moraveji M. Core-shell nanoparticles used in drug delivery-microfluidics: a review // RSC Adv. 2020. 10 (31). P. 18280–18295. <https://doi.org/10.1039/D0RA01032D>
 16. Lee H. Molecular Simulations of PEGylated Biomolecules, Liposomes, and Nanoparticles for Drug Delivery Applications // Pharmaceutics. 2020. 12 (6). 533. doi:10.3390/pharmaceutics12060533

- 17.Kulkarni V. M., Bodas D., Paknikar K. M. Lanthanum strontium manganese oxide (LSMO) nanoparticles: a versatile platform for anticancer therapy // RSC Adv. 2015. 5 (74). P. 60254–60263. <https://doi.org/10.1039/C5RA02731D>
- 18.Synthesis and characterization of the core–shell Au covered LSMO manganite magnetic nanoparticles / Pana O., et al. // Synthetic Metals. 2010. 160 (15-16). P. 1692–1698. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2010.06.002>
- 19.Kandasamy G. Recent advancements in manganite perovskites and spinel ferrite-based magnetic nanoparticles for biomedical theranostic applications // Nanotechnology. 2019. 30 (50). P. 502001. DOI: 10.1088/1361-6528/ab3f17
- 20.Proflavine an acridine DNA intercalating agent and strong antimicrobial possessing potential properties of carcinogen / Gatasheh M. K., et al. // Karbala International Journal of Modern Science. 2017. 3 (4). P. 272–278. <https://doi.org/10.1016/j.kijoms.2017.07.003>
- 21.Calculation from Spectrophotometric Data of Binding Parameters of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles with Dyes / Dukhopelnikov E. V., et al. // Journal of Applied Spectroscopy. 2020. 87 (2). P. 303–308. DOI: 10.1007/s10812-020-01000-7