

Федеральное государственное бюджетное научное
учреждение «Федеральный исследовательский центр
«Красноярский научный центр Сибирского отделения
Российской академии наук»
и Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Сибирский федеральный университет»

На правах рукописи



Пьянков Владимир Федорович

**РАЗРАБОТКА ТАРГЕТНОЙ КОМПОЗИЦИИ НА БАЗЕ
НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА ДЛЯ
МАГНИТОРЕЗОНАНСНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ ОПУХОЛЕВЫХ
КЛЕТОК**

2.6.5 – Порошковая металлургия и композиционные материалы

1.3.12 – Физика магнитных явлений

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата технических наук

Научный руководитель:

Доктор физико-математических наук, доцент

Столяр Сергей Викторович,

Научный консультант:

Кандидат технических наук

Ли Оксана Анатольевна

Красноярск – 2023

Содержание

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1	13
1.1 Магнитные порошки: общая характеристика и область применения..	13
1.2 Способы получения магнитных порошков	14
1.3 Применение магнитных порошков в биомедицине	15
1.4 Гипертермия: общая характеристика.....	18
1.4.1 Ультразвуковая гипертермия	20
1.4.2 Электромагнитная гипертермия.....	21
1.4.3 Лазерная гипертермия.....	22
1.4.4 Магнитная гипертермия.....	22
1.4.5 Бимодальная гипертермия	23
1.4.6 Магниторезонансная гипертермия	24
1.5 Магнитные порошки как медиаторы нагрева	28
1.6 Механизм нагрева магнитных частиц.....	34
1.7 Ограничения магнитной гипертермии	42
1.8 Аптамеры как средство доставки.....	44
1.9 Модельная опухоль для биомедицинских исследований – асцитная карцинома Эрлиха.....	46
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	49
2.1 Методики синтеза порошков	49
2.2 Методы исследования порошков.....	50
2.2.1 Просвечивающая электронная микроскопия.....	50
2.2.2 Мёссбауэровская спектроскопия	52
2.2.3 Вибрационная магнитометрия	55
2.2.4 Ферромагнитный резонанс	56
2.3 Измерение температуры порошков в режиме ФМР.....	65

2.4 Проточная цитометрия	65
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ МАГНИТНЫХ СВОЙСТВ И НАГРЕВА В РЕЖИМЕ ФМР МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ.....	67
3.1 Магнитные свойства и нагрев в режиме ФМР порошков ферригидрита, гематита и маггемита	67
3.2 Магнитные свойства и нагрев в режиме ФМР порошков феррита никеля и феррита кобальта	71
3.3 Магнитные свойства и нагрев в режиме ФМР отожженных порошков феррита никеля и феррита кобальта	76
3.4 Исследование частотно-полевых характеристик феррита никеля в исходном состоянии и после отжига.....	81
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ТАРГЕТНОЙ КОМПОЗИЦИИ В РЕЖИМЕ ФМР ГИПЕРТЕРМИИ НА КЛЕТКИ МОДЕЛЬНОЙ ОПУХОЛИ	88
4.1 Разработка таргетной композиции	88
4.2 Исследование состава и магнитных характеристик таргетной композиции	91
4.3 Исследование нагрева таргетной композиции в режиме ферромагнитного резонанса	96
4.4 Действие таргетной композиции в режиме ФМР гипертермии на клетки модельной опухоли	97
Заключение	103
Список сокращений и условных обозначений	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	106

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время активно разрабатываются новые подходы для синтеза магнитных оксидов в виде порошковых наноматериалов с целью модификации их структуры и свойств. Интерес к данному направлению исследований обусловлен уникальными магнитными характеристиками наночастиц порошков и широким спектром их применения в катализе [1], электронике [2], биомедицине.

Одним из приоритетных направлений биомедицины является лечение онкологических заболеваний, занимающих второе место (порядка 16,1%) по процентному соотношению среди ненасильственных смертей [3]. Современные методы лечения – лучевая и химиотерапия – имеют ограниченную эффективность и серьезные побочные эффекты, связанные с высоким уровнем воздействия, используемым при лечении онкозаболеваний.

Для снижения дозы воздействия и увеличения эффективности терапии ведутся исследования по применению гипертермии (повышения локальной температуры выше 41°C) в качестве вспомогательной терапии, усиливающей действие основного способа лечения [4]. Используются следующие способы гипертермии: ультразвуковая, электромагнитная (СВЧ-диапазон, УВЧ-диапазон), лазерная и магнитная.

Общий недостаток используемых подходов – это недостаточная локализация области нагрева, а также высокая мощность, необходимая для нагрева биологических тканей. Использование наноструктур в роли медиаторов нагрева частично решает эти проблемы [5, 6], позволяя снижать необходимую для нагрева мощность и локализовать область воздействия.

Тепловыделение в случае магнитной гипертермии происходит в результате процесса перемагничивания магнитных частиц, для чего на них воздействуют переменным магнитным полем с частотой порядка 100 кГц и амплитудой около 100 Э. Амплитуда и частота поля будут определять скорость нагрева частицы, которая в среднем будет составлять порядка 1 К/с [7]. При этом преимущественно

размером частицы будет определяться то, за счет какого именно механизма (гистерезисные потери, неелевское вращение, броуновское вращение) будет реализован нагрев [5, 7-9].

Еще одним вариантом нагрева частиц является использование ферромагнитного резонанса (ФМР). Явление ФМР заключается в способности ферромагнетика поглощать энергию СВЧ-поля при совпадении частоты прецессии вектора намагниченности M вокруг внешнего магнитного поля H с частотой СВЧ-поля ω [10]. Необходимо отметить крайне малое число экспериментальных работ, посвященных изучению нагрева при ФМР и поиску приложений этого эффекта.

Предлагается использовать ФМР для размагничивания магнитных фаз в минералах в результате их нагрева [7,11], использовать для термообработки металлических покрытий и прессованных магнитных порошков [12]. В работах [8, 13] высказывалась идея использовать явление ФМР в биомедицине для лечения онкологических заболеваний.

Получение порошковых систем, способных к нагреву в режиме ФМР, исследование структуры и магнитных свойств частиц в этих системах представляется новой и интересной задачей для биомедицинских исследований. Для снижения токсичности магнитных порошков и в качестве защиты от деградации наночастиц могут быть использованы такие покрытия как полиэтиленгликоль, хитозан, тетраэтилортосиликат (ТЭОС) и 3-аминопропилтриэтоксисилан (АПТЭС) и др. [9, 14-17], одним из преимуществ которых можно отметить биосовместимость.

Одним из требований к медиаторам нагрева является возможность их доставки к целевым клеткам. Решить эту задачу можно функционализацией поверхности магнитных наночастиц аптамерами – одноцепочечными последовательностями олигонуклеотидов [18, 19] Подобная функционализация позволит придать наночастицам необходимые свойства, такие как способность к высокоспецифическому взаимодействию с «мишенями», в качестве которых выступают опухолевые клетки [20].

Задача создания порошков, способных нагреваться в режиме ферромагнитного резонанса и эффективно связываться с целевыми клетками, является комплексной и состоит из получения, изучения структуры и магнитных свойств наночастиц, их поведения в условиях ферромагнитного резонанса, выбора метода модификации поверхности наночастиц, способа таргетизации, обеспечивающего высокоспецифичную связываемость с целевыми клетками.

Цель работы – разработка состава и технологии получения таргетной композиции в виде основы из наночастиц оксида железа с композиционным инертным покрытием с возможностью адресной доставки для магниторезонансной гипертермии опухолевых клеток.

Задачи диссертационного исследования:

1. Получение, изучение структуры и магнитных свойства порошковых систем на основе оксидов железа и их нагрева в режиме ферромагнитного резонанса.
2. Исследование влияния частотно-полевых характеристик порошковых систем на основе оксидов железа на механизм поглощения СВЧ-энергии в режиме ФМР.
3. Разработка таргетной композиции на базе наночастиц оксида железа и ее исследование методом ФМР.
4. Проведение биологических испытаний таргетной композиции на клетках модельной опухоли в условиях ФМР-гипертермии.

Научно-практическая значимость работы:

1. Полученные в работе результаты позволяют расширить представления о возможном использовании ферромагнитного резонанса магнитных порошковых систем. Применение они могут найти в области биомедицины, экспериментальной онкологии.

2. Создана таргетная композиция ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{NH}_2/\text{FAS9}$) для нагрева в режиме ФМР, способная эффективно связываться с опухолевыми клетками.

3. В Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» проведены биологические испытания таргетной композиции на базе оксида железа, которые продемонстрировали снижение жизнеспособности клеток модельной опухоли, что позволяет рекомендовать ее в качестве перспективного материала в области экспериментальной онкологии.

Научная новизна:

1. На примере изготовленных методом химического осаждения порошков феррита кобальта (CoFe_2O_4) показано, что, нагрев порошков может происходить за счет естественного ферромагнитного резонанса, в отсутствие постоянного магнитного поля. Данный эффект продемонстрирован на свежеприготовленных порошках с размером 4 нм, а также на порошках после термообработки с размером 20 нм.

2. Для изготовленного методом химического осаждения порошка феррита никеля (NiFe_2O_4) с размером частиц 4 нм, находящегося в суперпарамагнитном состоянии, определена релаксационная частота f_{rel} , при которой осуществляется смена режима поглощения энергии СВЧ поля. При $f > f_{\text{rel}}$ реализуется резонансный режим поглощения энергии. В случае $f < f_{\text{rel}}$ – релаксационный.

3. Изготовленная таргетная композиция $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{NH}_2/\text{FAS9}$ способна эффективно связываться с целевыми клетками. ФМР-гипертермия с использованием данной композиции снижает жизнеспособность опухолевых клеток.

Методология и методы исследований:

В работе использовались современные методы исследования и сертифицированное оборудование. Применяли аналитические и численные

методы, соответствующие требованиям, выдвигаемым современной экспериментальной физикой, порошковой металлургией, биологией.

Определение характеристик образцов проводили с помощью: просвечивающего электронного микроскопа Hitachi HT7700, мёссбауэровского спектрометра MC-1104Em, вибрационного магнитометра [21], ЭПР-спектрометров SE/X-2544 и ELEXSYS 560, жизнеспособность клеток опухоли измеряли на проточном цитометре CytoFlex. В работе использовали аптамеры FAS9, меченные флуоресцеином, комплементарные к клеткам асцитной карциномы Эрлиха, предоставленные Лабораторией цифровых управляемых лекарств и тераностики, ФИЦ КНЦ СО РАН.

Положения, выносимые на защиту:

1. В режиме ферромагнитного резонанса величина и скорость нагрева частиц на основе оксидов железа определяется величиной намагниченности насыщения (M_s). Приращение температуры линейно зависит от квадрата напряженности магнитной составляющей (h^2) СВЧ поля.

2. На примере феррита кобальта (CoFe_2O_4) экспериментально реализован нагрев магнитных нанопорошков за счет естественного ферромагнитного резонанса. Показана возможность оптимизировать генерацию тепла путем только СВЧ-накачки в поле анизотропии частиц.

3. Для феррита никеля NiFe_2O_4 с размером частиц 4 нм, находящегося в суперпарамагнитном состоянии, определена релаксационная частота f_{rel} , при которой осуществляется смена режима поглощения энергии СВЧ поля. При $f > f_{\text{rel}}$ реализуется резонансный режим поглощения энергии. В случае $f < f_{\text{rel}}$ – релаксационный. При $f = f_{\text{rel}}$ ширина линии Δf характеризуется минимальными значениями.

4. Изготовленная таргетная композиция $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{NH}_2/\text{FAS9}$ способна эффективно связываться с целевыми клетками. В сравнительных экспериментах на образцах *in vitro* доказано, что использование указанной композиции в ФМР-

гипертермии является перспективным методом снижения жизнеспособности опухолевых клеток определённых типов.

Публикации по теме работы:

Всего по теме диссертационного исследования опубликовано 14 работ, из них опубликовано в журналах из перечня ВАК, индексируются базами WoS, Scopus – 6 статей. Результаты работы опубликованы в журналах: Материаловедение, Физика металлов и металловедение, Физика твердого тела, 1 статья в зарубежном журнале (AP Advances). Опубликовано в иных журналах и сборниках – 7 работ. Получено патентов на изобретение РФ – 1 шт.

Личный вклад автора:

Автором в представленной работе проведен анализ литературных данных по тематике исследования. Получены методом химического осаждения порошки маггемита, феррита никеля и феррита кобальта. Проведен отжиг порошков феррита никеля и феррита кобальта. Была проведена модификация частиц магнетит-маггемитового ряда оболочкой из оксида кремния. Модифицированные частицы в дальнейшем были функционализированы аптамерами. Проведено исследование жизнеспособности опухолевых клеток методами цитометрического анализа с использованием флуоресцентных красителей. Научным руководителем были поставлены задачи экспериментального исследования. Коллективом соавторов, вместе с научным руководителем, проводили обсуждение и интерпретацию полученных экспериментальных данных.

Степень достоверности и апробация работы:

Степень достоверности подтверждается использованием сертифицированного и поверенного оборудования, согласованностью полученных результатов с результатами исследователей, использующих отличающиеся установки и способы измерения.

Работы представлялись на следующих конференциях:

Magnetic Resonance and its Applications. 17th International School-Conference (2020), Россия, г. Санкт-Петербург; 8 Euro-Asian Symposium “Trends in MAGnetism” (2022), Россия, Казань; International Conference APRICOT (2023), Армения, Ереван; 17 Международный симпозиум «Нанозфизика и нанозлектроника» (2023), Россия, Нижний Новгород; Междисциплинарная конференция молодых ученых ФИЦ КНЦ СО РАН (КМУ-26) (2023), Россия, Красноярск; 9-ая Байкальская международная конференция «Магнитные материалы. Новые технологии» (VICMM-2023) (2023), Россия, Байкальск.

Объем и структура диссертации:

Диссертация включает в себя введение, 4 главы, заключение, список литературы, список сокращений и условных обозначений, приложение. Работа состоит из 124 страниц текста, включая 49 рисунков и 8 таблиц.

Во **введении** кратко обоснована актуальность выбранной тематики, сформулированы цели исследования и указаны задачи, решение которых необходимо для выполнения работы, показаны научная новизна и практическая значимость проведенных исследований, а также приведены основные результаты, выносимые на защиту.

Первая глава включает в себя обзор литературы по применению порошков и композитов в области биомедицины. Кратко рассмотрены основные методики синтеза порошков. Рассматривается гипертермия и основные виды воздействия, такие как лазерное излучение, магнитные поля, ультразвук, электромагнитное (СВЧ-диапазон, УВЧ-диапазон) излучение и их сочетания. Показаны способы модификации и функционализации порошков для использования их в области биомедицины в общем и для гипертермии в частности. Рассматриваются параметры частиц, критически влияющие на нагрев. Приведен обзор модельной опухоли, используемой в области экспериментальной онкологии. Показано существование проблемы, связанной с необходимостью разработки и

конструирования композитов для гипертермии, способных к доставке к целевым органам, и минимизации уровня воздействия, необходимого для достижения терапевтической температуры.

Вторая глава посвящена описанию методик синтеза магнитных наночастиц: ферригидрита биогенного происхождения [22], гематита, порошка магнетит-маггемитового ряда, феррита никеля и феррита кобальта. Показаны методики исследования характеристик порошков. В параграфе 2.2.1 рассматриваются принципы электронной просвечивающей микроскопии для анализа формы и размера исследуемых магнитных наночастиц. В параграфе 2.2.2 описан метод мёссбауэровской спектроскопии, применяемый для анализа электронной, кристаллохимической и магнитной структуры образца. Вибрационная магнитометрия рассматривается в параграфе 2.2.3 и применяется для анализа магнитных характеристик магнитных материалов. Параграф 2.2.4 описывает получение спектров ФМР. В параграфе 2.3 рассматривается способ измерения нагрева наночастиц в режиме ФМР, для чего использовали классическую термопару Т-типа. Параграф 2.4 описывает метод проточного цитометрического анализа для изучения жизнеспособности клеток. Оценку количественного соотношения клеток на стадии апоптоза и некроза предложено проводить, используя комбинацию флуоресцентных красителей, позволяющих разделить клетки по степени повреждения.

Третья глава содержит результаты исследования магнитных свойств и способности к нагреву в режиме ферромагнитного резонанса (частота 8,9 ГГц) наночастиц биогенного ферригидрита, гематита, магнетит-маггемитового ряда, частиц феррита, легированного никелем, и феррита, легированного кобальтом, до и после отжига. Рассматриваются частотно-полевые характеристики порошка феррита никеля, меняющиеся в зависимости от размера частиц. Определена частота естественного ферромагнитного резонанса и выявлены задействованные механизмы поглощения энергии СВЧ: релаксационный или резонансный.

Четвертая глава показывает процесс разработки таргетной композиции на базе частиц маггемит-магнетитового ряда с оболочкой из оксида кремния с прикрепленными к ней аптамерами, комплементарными модельной опухоли. Проводится оценка изменения спектра ферромагнитного резонанса в результате модификации и эффективности нагрева композиции в режиме ФМР. Рассмотрено действие композиции на жизнеспособность клеток модельной опухоли в условиях ФМР-гипертермии.

ГЛАВА 1

1.1 Магнитные порошки: общая характеристика и область применения

В настоящее время активно исследуются структура и магнитные свойства наноматериалов. Подобный интерес обусловлен их уникальными физическими свойствами [23], которые они получают за счет малого размера. Среди прочего, необходимо выделить ряд морфологических особенностей, таких как небольшой размер (порядка 1-100 нм), большая площадь поверхности, что обеспечивает высокую активность, химическую стабильность, большой магнито-калорический эффект и т.д. [24].

Необходимо отметить, что определять магнитные свойства порошков будет их химический состав и тип кристаллической решетки (и ее дефектность), форма и размер частицы, морфология и взаимодействие частиц как друг с другом, так и с субстратом. И, изменяя эти факторы, можно управлять поведением частиц, из которых состоит наноматериал.

Магнитные свойства порошков существенно расширяют потенциал их применения, обеспечивая управляемость, возможность нагрева порошка в магнитном поле и экстракцию из раствора. Так, исследуется применение магнитных порошков для решения широкого спектра задач, которые включают в себя процессы катализа [25], в качестве магнитных жидкостей [26], в качестве хранителя данных [27], как контрастирующей агент для магнито-резонансной томографии [28], в экологических целях [29], а также в области биомедицины [30].

Магнитные порошки представлены широким спектром частиц, однако наиболее часто в области биомедицины используются порошки на основе оксидов железа, ферритов и легированные частицы. При этом порошки на основе оксида железа лидируют, ввиду как простоты и дешевизны их изготовления, так и низкой токсичности (и биосовместимости) и сильных магнитных свойств [31].

Необходимо отметить, что чистые порошки, не имеющие покрытия, обычно не используются. Порошки без покрытия склонны к агрегации (слипаются и

формируют крупные комплексы), окислению, и при применении в области биомедицины могут быть опасны для организма. Поэтому для решения этой проблемы частицы покрывают оболочкой. При этом используются различные типы покрытий, такие как неорганические соединения (оксид кремния, углерод, благородные металлы), синтетические соединения (полиэтиленгликоль, поливиниловый спирт и др.) и натуральные полимеры (хитозан, полисахариды, белки, пептиды) [32]. Использование покрытий существенно расширяет сферу применения порошков.

1.2 Способы получения магнитных порошков

Магнитные порошки можно получить множеством различных способов. Способ получения при этом будет влиять на их химический и фазовый состав. Как было указано ранее, распределение по размерам и форма частиц влияют на их свойства, и поэтому в настоящее время ведутся исследования по получению порошков с заданной формой, узким распределением по размерам и с высокой стабильностью [33]. Такие методики синтеза частиц как термическое разложение, гидротермальный синтез, химическое осаждение, сонохимический синтез и биогенный синтез соответствуют выдвигаемым требованиям.

Соосаждение [34] применяется для синтеза оксидов железа типа $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Fe}_2\text{O}_3$ из водных солевых растворов ионов железа путем добавления щелочи. При этом можно повлиять на размер, форму и размер частиц за счет используемых солей, соотношением двух- и трехвалентных ионов железа, температуры реакции, значений pH.

Химическое восстановление основывается на восстановлении ионов металла в растворе в результате окисления химического соединения, и относится к автокаталитическим методам [35]. Изменяя процесс синтеза, можно получать частицы с различной формой и размерами, варьировать их химический состав и атомную структуру.

Термическое разложение [36] основывается на разложении металлоорганических соединений в растворе органического растворителя со стабилизирующим поверхностно-активным веществом (ПАВ) в его составе. Таким способом можно получать частицы (Co, Mn, Ni). Меняя соотношение прекурсоров, можно влиять на размер и форму частиц.

Сонохимический синтез [37] использует ультразвуковое излучение, однако необходимо отметить, что непосредственно на химическую реакцию воздействуют не сами звуковые волны, а акустическая кавитация. Данный способ получения применим для благородных металлов (Au, Ag, Pt, Pd) и его особенностью является возможность получения очень мелких частиц [38]. Существенное ограничение метода – образование частиц преимущественно сферической формы.

Биогенный способ [22] использует для получения наночастиц микроорганизмы. Бактерии культивируются с добавками необходимых химических веществ (цитрат калия, цитрат железа). Далее бактерии перерабатывают в золь и проводят отмывку щелочью. Итоговый продукт – это устойчивый золь наночастиц. Данный способ позволяет получать порошки с частицами малого размера.

1.3 Применение магнитных порошков в биомедицине

Остановившись подробнее на применении магнитных порошков в области биомедицины [39], необходимо отметить разнообразие задач, решаемых с помощью подобных частиц, модифицируемых под конкретные цели.

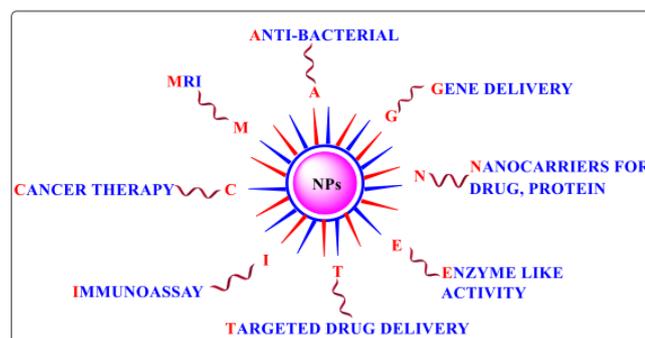


Рисунок 1. Биомедицинское применение магнитных порошков [39].

Одним из способов применения порошков является их использование для анализа объектов окружающей среды [40] в качестве сорбционного материала, способствующего более качественной пробоподготовке.

Известно об исследованиях в области офтальмологии [41], где за счет насыщения частицами рабочей области становится возможным создание трехмерной тканеинженерной конструкции пигментного слоя сетчатки без несущего материала, которая затем может быть использована для трансплантации.

Магнитные порошки также могут быть использованы для адресной доставки лекарственных веществ, например антибиотиков для лечения хронического риносинусита [42]. При этом используется внешнее магнитное поле для удержания и высвобождения лекарственного вещества.

Возможно использование порошков в качестве магнитомаркеров как меток определенных клеток [43]. Подобная модификация имеет потенциал для применения в биомедицине, биотехнологии и промышленности, и также может использоваться в трансплантологии, в том числе для удержания магнитомаркированных клеток в целевой области.

Только маркированием использование магнитных порошков не ограничивается, известно их применение для контроля процессов, происходящих непосредственно внутри самой клетки [44]. Введение частиц в клетку с последующей магнитной стимуляцией приводило к увеличению внутриклеточного уровня Ca^{2+} .

Возможно использование порошков в сочетании с плазмидной ДНК [45] как альтернативы вирусным векторам, что позволяет доставлять гены к целевым областям за счет использования магнитного поля и способствует проникновению данных комплексов внутрь клетки.

Потенциал применения магнитных порошков совместно с магнитным полем и со стволовыми клетками для регенерации травматических повреждений был продемонстрирован для мышей с поврежденным позвоночником [46]. В другом исследовании показано [47], что частицы совместно с магнитным полем способны

оказывать влияние на развитие мезенхимных стволовых клеток и на регенерацию аксонов.

Одним из перспективных направлений является использование магнитных порошков в области тераностики. Порошки способны сочетать как диагностическую, так и терапевтическую функцию, при соответствующей модификации. Наибольшее распространение получили при этом частицы на основе металлов железа [48]. Частицы магнетита за счет своих магнитных характеристик и низкой токсичности являются наиболее удобным экспериментальным объектом [16, 49].

В настоящее время ведутся разработки новых контрастных средств для МРТ на базе магнитных порошков, и уже существуют коммерческие решения [50], примером которых может служить использование магнитных частиц для диагностики заболеваний печени [51] и для выявления острого инфаркта миокарда [52].

Магнитные порошки в сочетании с магнитным полем также могут использоваться в области онкологии как вспомогательное средство терапии [53]. Исследования на эту тему показывают достаточную эффективность, чтобы перейти от экспериментальной стадии в клиническую. Используемый принцип заключается в воздействии внешнего переменного магнитного поля на магнитные частицы в теле пациента с их последующим нагревом до 43-47°C. Повышенная температура делает клетки опухоли более чувствительными к воздействию химиотерапии [54].

Остановившись подробнее на использовании гипертермии с магнитными порошками для лечения онкологических заболеваний, необходимо отметить актуальность этой тематики, обусловленную высоким уровнем смертности, как показано на рисунке 2, она находится на втором месте среди ненасильственных смертей [3]. И потому поиск эффективных, не вредящих организму методик лечения опухолей является важным направлением исследований.

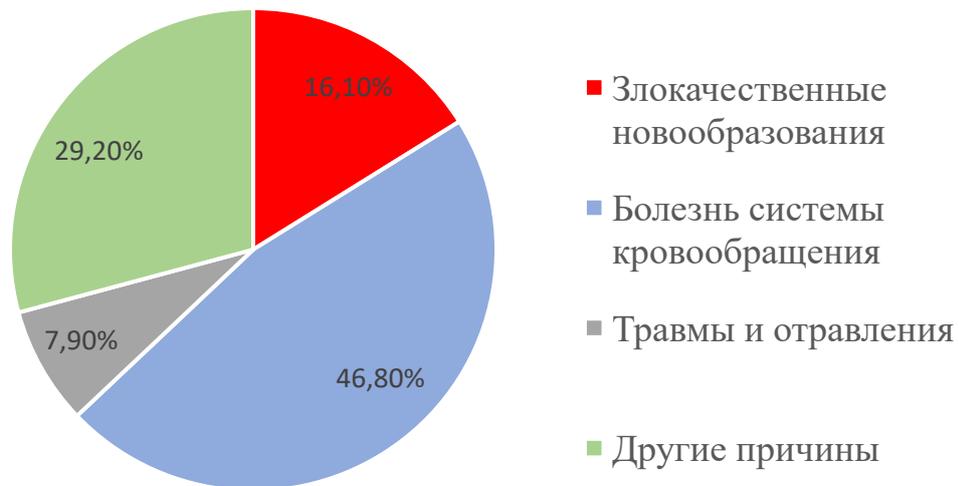


Рисунок 2. Причины смертности в России в 2018 году (ненасильственные смерти) [3].

Для задач гипертермии возникает необходимость в модификации магнитных порошков, однако при этом необходимо не только обеспечить биосовместимость частиц и отсутствие токсичности, но и реализовать возможность адресной доставки и максимизировать эффект от воздействия, приводящего к нагреву. Далее более подробно изложены способы гипертермии.

1.4 Гипертермия: общая характеристика

В настоящее время ведутся активные исследования так называемых тепловых методов лечения, таких как гипертермия и термоабляция. Подобные методы могут применяться и как основное средство терапии и как вспомогательное, усиливая эффективность лечения [4]. Первая статья о применении временного контролируемого повышения температуры тела как терапевтического средства была опубликована в 1866 году. Было показано [55], что на развитие опухолевого процесса высокая температура оказывает негативное воздействие.

Применение процедуры гипертермии в онкологии предусматривает нагрев биологических тканей до 42-43°C. Выбор этой температуры обусловлен различной температурной резистентностью здоровых и опухолевых тканей [56].

Известно, что увеличение температуры может нанести вред, или даже убить опухолевые клетки [57]. Нагрев опухоли приводит к повреждению белков, самой ее структуры и окружающих ее кровеносных сосудов. Также было показано [58], что гипертермия способна изменять факторы, важные для выживания и роста опухоли, такие как микроокружение, васкуляризация, снабжение кислородом, а также иммунные реакции.

В настоящее время ведутся исследования по синергетическому воздействию гипертермии и радиотерапии – с применением ионизирующего излучения, и гипертермии и химиотерапии – с воздействием цитостатиков на клетки опухоли, для лечения онкозаболеваний.

Анализируя механизмы, лежащие за этим явлением, исследования показали [9], что при гипертермии наблюдается увеличение кровотока и оксигенации внутри опухолей, что способствует доставке лекарственных препаратов. Также при гипертермии отмечали [59] усиление иммунного ответа за счет повышения активности и пролиферации Т-лимфоцитов и NK-клеток и их миграции в опухолевые ткани.

Гипертермия может быть классифицирована по нескольким параметрам. Так, можно условно разделить ее по масштабу воздействия. Таким образом возникает разделение на гипертермию всего тела, регионарную гипертермию и локальную гипертермию.

Гипертермия всего тела вызывается эндогенными или экзогенными источниками тепла, и нагрев при ее применении обычно остается в пределах 39-43°C [60], наиболее эффективна она для лечения карцином с метастазами. Регионарная гипертермия включает в себя отдельные органы или области тела [61], ее область применения – это ослабление опухолевых клеток с целью облегчить процесс терапии.

Локальная гипертермия ограничивается тканями, метастазами. Ее особенностью является локализация воздействия в области с мишенью, в качестве которой может выступать опухоль, с последующим ее нагревом до критических для патологической ткани температур, с минимальным повреждением окружающих тканей [62].

По температуре нагрева можно наблюдать разделение способов гипертермии по двум стратегиям. В первом варианте нагрев идет до температуры в пределах диапазона 41-45°C, что приводит к повреждению клеток и инициации процессов апоптоза. Во втором же применяют температуры выше 45°C, что в результате приводит к некрозу тканей [60].

Переходя от методик применения гипертермии к способам гипертермии, необходимо упомянуть о том, что существует множество различных способов нагрева, основанных на применении различных физических воздействий.

1.4.1 Ультразвуковая гипертермия

Ультразвуковая гипертермия основана на преобразовании акустической энергии в тепловую, данное преобразование основано на эффекте кавитации – физическом процессе образования пузырьков (пустот) из-за прохождения акустической волны с последующим их схлопыванием, и как следствие – высвобождением энергии.

Ультразвуковая гипертермия применялась для лечения злокачественных образований совместно с радиотерапией [63] еще в 1948 году. Комбинированное воздействие способствовало ускорению рассасывания кожного новообразования у человека. Ультразвуковая гипертермия может обеспечивать нагрев четко локализованной области до 42-43,5°C [64]. Для более точного и контролируемого воздействия ультразвуковую гипертермию совмещают с магниторезонансной томографией [65] с целью визуализации опухолей для более направленного воздействия.

Ультразвуковая гипертермия для большей локализации области воздействия и уменьшения необходимой для нагрева мощности может использовать медиаторы нагрева – частицы кремния [66], диоксида титана, золота [67].

Недостаток ультразвуковой гипертермии – неоднородный нагрев разных по структуре тканей, а также в случае, если необходим нагрев в области, где проходит граница между разными по структуре тканями, областью с наибольшей температурой при одном и том же уровне воздействия станет именно граница раздела разноструктурных тканей.

1.4.2 Электромагнитная гипертермия

Электромагнитная гипертермия использует частоты от 3 Гц и до 430 ТГц. При этом механизм нагрева варьирует в зависимости от частоты. При частоте порядка 30 МГц нагрев биологического объекта происходит в результате Джоулева нагрева, для частот свыше 100 МГц нагрев происходит из-за механического трения между соседними полярными молекулами воды.

Более высокие частоты греют преимущественно кожу и поверхностные ткани, в то время как более низкие частоты могут проникать в тело и греть более глубокие области. При 10 МГц глубина проникновения составляет порядка 10 см, в то время как для частот порядка 400-1000 МГц можно получить нагрев тканей всего в 2-4 см от поверхности кожи [68].

В качестве медиаторов нагрева, усиливающих тепловой эффект от электромагнитного излучения, используются порошки на основе железа и золота, показывающие наибольший нагрев [69].

Известны различные варианты методик электромагнитной гипертермии для применения в терапии онкозаболеваний, уже имеющиеся в продаже и используемые в клинических испытаниях как вспомогательное средство при химиотерапии. В основном они представлены методиками для воздействия на поверхностные новообразования, на глубокие ткани, и внутриполостные.

1.4.3 Лазерная гипертермия

Лазерная гипертермия подразумевает собой перенос энергии от лазера к объекту посредством фотонов. При этом поглощение энергии начинается с поверхности кожи. Таким образом, максимум тепла, образующегося при контакте лазерного луча и биологических тканей образуется непосредственно в коже и тканях, расположенных под ее поверхностью – эпидермисом, дермой, сосудистой тканью [70]. При этом, если речь идет о воздействии на цель, расположенную глубже кожи, возникает необходимость в охлаждении кожи, для чего существуют соответствующие методики [71].

Недостаток ее – это перегрев близлежащих тканей возле объекта, на который оказывается воздействие, что приводит к их перегреву. Также, если нужно воздействовать на достаточно большую область, возникает потребность в целом каскаде лазеров [72].

В случае лазерной гипертермии используются наночастицы золота, меди, серебра и некоторых других металлов, выделяющие тепло под действием излучения ИК-спектра. Этот метод подходит для небольших, до 3 см в диаметре, новообразований, расположенных на коже или около поверхности тела [73].

Хорошо показано влияние золотых наночастиц на гипертермию в работе [74]. Наблюдали действие лазерной гипертермии при $10\ 000\ \text{Вт/м}^2$ на ткани молочной железы для группы контроля, и для ткани с введенным в нее наночастицами с содержанием $7 \cdot 10^{16}$ наночастиц/м³. Была показана значительная разница в эффективности нагрева как по времени, так и по температуре.

1.4.4 Магнитная гипертермия

Магнитная гипертермия известна уже более 75 лет. Температура нагрева в данном способе может варьировать от 3-40 и до 80-90°C. Магнитная гипертермия использует в настоящее время магнитные порошки в качестве теплового медиатора, на который проводится воздействие магнитным полем, и который и нагревается в

результате воздействия. Применяемые магнитные порошки можно разделить на две группы – наночастицы из магнитных сплавов, и наночастицы из оксидов магнитных металлов.

Магнитные наночастицы могут быть многодоменными (размер более 40 нм) и однодоменными (размер менее 40 нм), и от этого зависит то, какой именно механизм нагрева действует: гистерезисных потерь или Неелевская либо Броуновская релаксация [60].

Недостаток магнитной гипертермии – разрушительные побочные эффекты, которые оказывает данный способ на окружающие ткани, ввиду того что наночастицы неизбежно задерживаются не только в области с опухолью, но и в близлежащих здоровых тканях [9].

В работе [75] проводили воздействие на мышей с привитыми им опухолевыми клетками. Опухоли были расположены с каждой стороны тела. Воздействие проводили переменным магнитным полем на частоте 118 кГц. В случае опухоли без наночастиц наблюдали незначительное повышение температуры до 37°C. В то время как опухоль с введенными внутрь нее наночастицами показывала устойчивый нагрев вплоть до 45°C.

Основной целью классической магнитной гипертермии на данный момент является решение трилеммы, заключающейся в нахождении оптимального сочетания между частотой и амплитудой магнитного поля и размером наночастиц, трудность состоит в невозможности бесконтрольного увеличения как частоты, так и амплитуды используемого в ней магнитного поля, так как это приведет к неблагоприятному воздействию на здоровые клетки [76].

1.4.5 Бимодальная гипертермия

Помимо традиционных методов гипертермии, основанных на взаимодействии какого-либо одного типа физического воздействия с медиаторами нагрева (наночастицами) или напрямую с организмом, в настоящее время также

активно исследуются смешанные, так называемые мультимодальные способы гипертермии.

Так, известна ультразвуковая магнитная гипертермия [77]. В этом исследовании изучали влияние совместного действия магнитного поля и ультразвука на повышение температуры в гелевом фантоме, легированном суперпарамагнитными наночастицами оксида железа. При этом мощность ультразвука составляла 1 Вт, а напряженность магнитного поля 10,7 кА/м. Эксперимент по нагреву фантома, вызванный совместной гипертермией (3,34 °С), существенно превосходил воздействие на наночастицы по отдельности ультразвуком (2,7°С) и магнитным полем (0,33°С). Бимодальная гипертермия в данном случае обеспечивала более эффективный нагрев наночастиц при сопоставимом уровне мощности.

Другим примером может служить магнитно-лазерная гипертермия. В работе [78] показано, что применение композитных наночастиц серебра, покрытых магнетитом, восприимчивых как к магнитному, так и к лазерному излучению, позволяет эффективно их нагревать. Изучение эффективности нагрева композитных наночастиц при различных уровнях мощности лазерного излучения и напряженности магнитного поля показало, что наивысший результат был достигнут при уровне мощности лазера в 0,93 Вт/см² и напряженности магнитного поля в 800 Э, при этом показатель SAR достигал порядка 290 Вт/г.

Бимодальная гипертермия показывает более эффективный нагрев, нежели классическая гипертермия, при более низком уровне воздействия, что является ее несомненным преимуществом, ввиду восприимчивости организма ко всем видам воздействия, используемым для нагрева наночастиц.

1.4.6 Магниторезонансная гипертермия

Относительно новым направлением в гипертермии является использование магнитного резонанса для нагрева магнитных материалов. Так, известно

исследование [79], в котором было предложено использовать ферромагнитный резонанс (ФМР) для нагрева коллоидного раствора магнетита, и продемонстрирован тепловой эффект на фантоме, размещенном внутри волновода.

В сравнении нагрева с помощью магнитного резонанса с нагревом за счет исключительно СВЧ, как показано на рисунке 3, фиксировали рост эффективности нагрева на 40%, что свидетельствует о высоком потенциале применения ФМР, позволяющего добиться существенно большей эффективности при той же интенсивности воздействия.

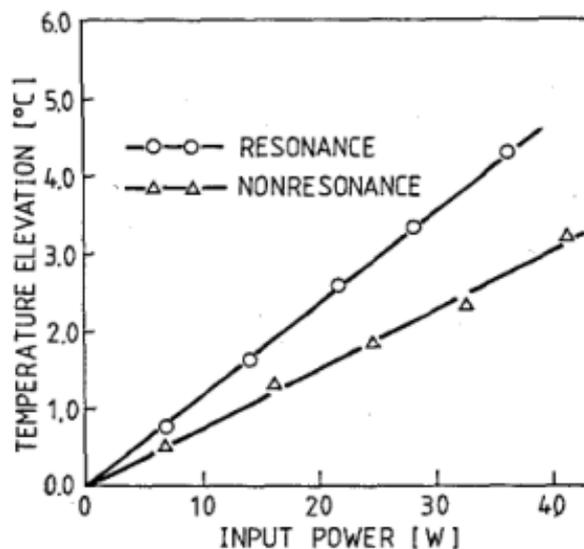


Рисунок 3. Нагрев коллоидного раствора феррита в режиме ФМР и СВЧ.

Известно исследование с нагревом порошков, в котором использовался эффект, по мнению авторов цитируемой работы, электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) [13]. Ниже, на рисунке 4, показана динамика нагрева образца.

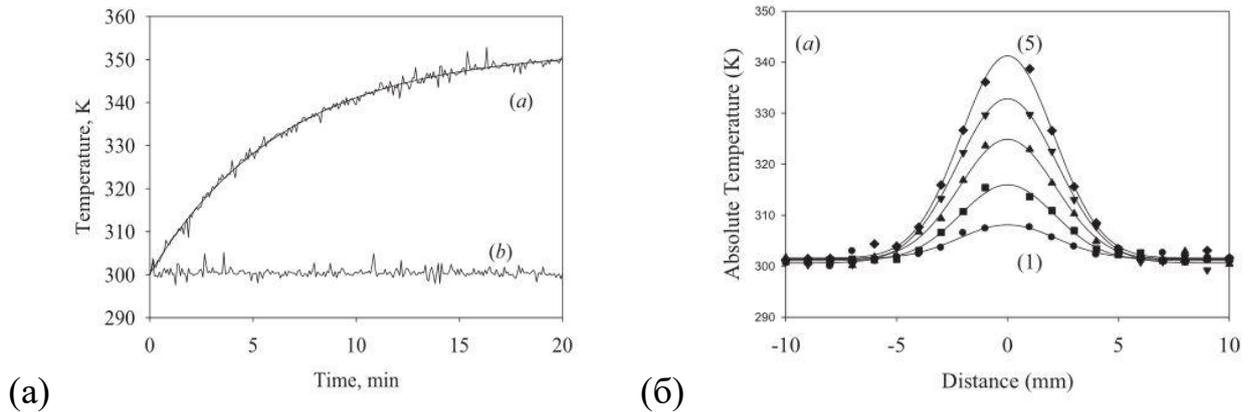


Рисунок 4. Динамика нагрева образцов дрожжей, подвергнутых нагреву с помощью эффекта электронного парамагнитного резонанса (а), и температурное распределение по диаметру пробирки при различных уровнях мощности источника электромагнитной энергии (б)

Как показано на рисунке 4 (а), хорошо заметна разница между нагревом суспензии дрожжей в присутствии наночастиц Fe_3O_4 (группа а), и образца, в котором наночастиц не было (группа б). Мощность при этом составляла 1 Вт при частоте 300 МГц и напряженности магнитного поля 100 Гс. При нагреве в течение 20 минут разница составляла порядка 50 К. На рисунке 4 (б) показана разница температур в центре пробирки, в фокусе антенны, и при удалении от центра при различных мощностях, где 1 – 0,2 Вт, 2 – 0,4 Вт, 3 – 0,6 Вт, 4 – 0,8 Вт, и 5 – 1 Вт.

В работе [80] показан еще один вариант магнито-резонансной гипертермии, основанный на эффекте ферромагнитного резонанса, где реализован нагрев частиц на счет накачки СВЧ в постоянном магнитном поле. Ниже, на рисунке 5, показан процесс подбора частоты и напряженности поля для нагрева частиц магнетита Fe_3O_4 .

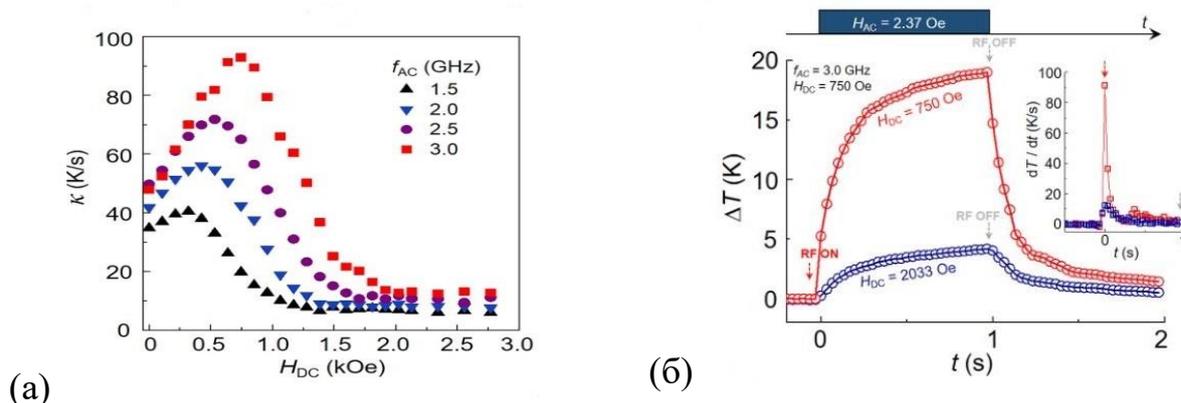


Рисунок 5. Скорость нагрева частиц Fe_3O_4 при частоте СВЧ 1,5; 2; 2,5; 3 ГГц при развертке поля (а) и увеличение температуры частиц Fe_3O_4 в случае попадания в резонанс и выходе за его пределы (б).

Показано, рисунок 5 (б), что для частиц Fe_3O_4 максимальный нагрев фиксировали на частоте 3 ГГц в резонансном магнитном поле (750 Э), величина нагрева при этом достигала 20 К, со скоростью нагрева равной 90 К/с (рисунок 5 (а)). На наличие ферромагнитного резонанса указывает падение величины нагрева при увеличении напряженности постоянного магнитного поля [80].

В следующем исследовании [8], проведенном теми же авторами, были показаны кинетические кривые нагрева ряда порошков, представленные на рисунке 6.

Как показано на рисунке 6, нагреву в режиме ФМР подвергали порошки магнетита, феррита марганца и феррита никеля при разной частоте и напряженности магнитного поля. Пиковые значения температуры достигали порядка 8-12 К

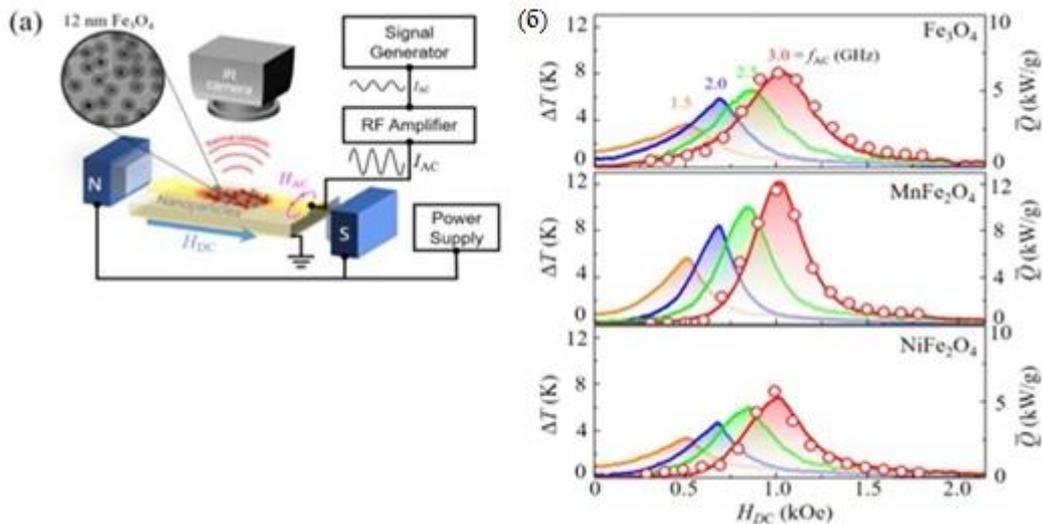


Рисунок 6. Схема установки (а) и спектры роста температуры (б) для наночастиц Fe_3O_4 , MnFe_2O_4 , NiFe_2O_4 при различных значениях частоты СВЧ $f=1,5; 2; 2,5$ и 3 ГГц (при амплитуде магнитной составляющей $h=3$ Э). Не закрашенные кружки – расчетный спектр роста температуры (моделирование).

С учетом того, что для достижения результата, показанного для магниторезонансной гипертермии, в случае классической или мультимодальной гипертермии понадобилось бы повысить уровень мощности, концентрацию наночастиц или экспозицию, что сказалось бы отрицательно на биологическом объекте, выводя его из состояния гомеостаза в результате внешнего воздействия, и подвергая его адаптационно-компенсаторную систему излишнему стрессу, можно заключить, что использование магнитного резонанса является многообещающей перспективой для применения во многих областях, включая биомедицину в общем и экспериментальную онкологию в частности.

1.5 Магнитные порошки как медиаторы нагрева

Идея применения наноматериалов с их уникальными свойствами в качестве тепловых медиаторов прошла долгий путь: от аппликаторов, имплантируемых в область расположения опухолевой ткани [81], до наночастиц, вводимых с помощью простой инъекции [82].

Для повышения эффективности гипертермии в настоящее время ведутся исследования по увеличению эффективности используемых для этих целей наночастиц, выступающих в роли тепловых медиаторов. Это направление, основанное на применении наночастиц в медицине, получило название наномедицины.

Только этим применение наноматериалов не ограничивается, так, их используют для визуализации области с опухолью, метастазами, с целью фокусировки области воздействия [84]. Также наночастицы могут использовать в качестве средства доставки лекарственных средств непосредственно к опухолевым клеткам, при этом гипертермия служит способом высвобождения этих лекарственных веществ из оболочки [85].

Наибольший интерес, однако, представляет собой подход, в котором наноматериалы выступают в качестве медиатора нагрева. Говоря о свойствах наночастиц как медиаторов нагрева, необходимо учитывать ряд параметров при выборе определенных наночастиц для определенной задачи [86]. Среди наиболее важных параметров можно выделить:

1. Размер
2. Форма
3. Поверхность и возможность ее модификации
4. Уровень воздействия, необходимый для гипертермии
5. Теплоотдача
6. Состав наночастиц

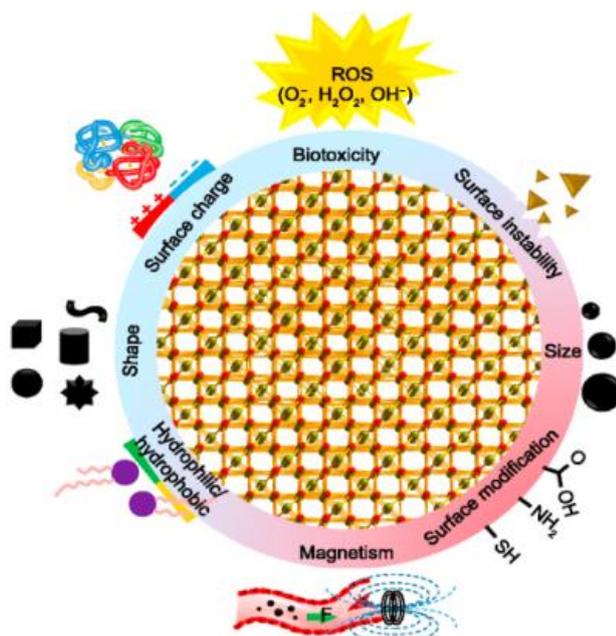


Рисунок 7. Наночастицы для систем доставки лекарств, и их физико-химические ограничения [86].

Размер является крайне важным параметром для магнитных порошков, особенно при использовании их в биологии, медицине. Важным фактором тут является сама специфика биологических объектов. В качестве примера можно упомянуть, что наночастицы, имеющие размер свыше 200 нм, активно утилизируются макрофагами, и как следствие накапливаются в печени. Согласно исследованиям [87] оптимальный размер наночастиц для применения их на биологических объектах не должен превышать 50 нм.

Так, в работе [88] было показано, что размер наночастиц феррита, легированного цинком и магнием, при нагреве их магнитным полем существенно влиял на их способность поглощения энергии, и как следствие, на нагрев, как можно видеть из рисунка 8. Так что для нагрева при определенных условиях воздействия необходимо помимо всего прочего, правильно подбирать размер наночастиц, поскольку в зависимости от размера наночастиц эффективность поглощения энергии может меняться практически двукратно.

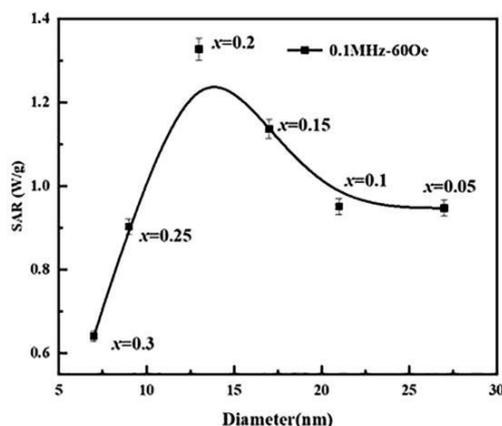


Рисунок 8. Эффективность нагрева наночастиц в зависимости от их размера.

Не менее важным параметром является и форма наночастиц, поскольку она также оказывает влияние на эффективность их нагрева. Так, например, согласно работе [89] наночастицы в форме деформированного куба имели преимущество перед наночастицами в форме сферы по эффективности нагрева. В случае более глубокой модификации формы, наночастицы в форме колец с внешним диаметром 70 нм и внутренним 50 нм, имели существенно большую площадь петли гистерезиса, а также намагниченность насыщения в сравнении с сферами аналогичного размера [90].

Модификация оболочки наночастиц с целью увеличения биосовместимости, а также предотвращения слипания отдельных наночастиц в конгломераты в свою очередь может повлиять на эффективность нагрева. В этом случае основное влияние оказывают теплопроводность материала, а также толщина непосредственно самой оболочки. Модификация поверхности наночастиц может быть весьма различной (рисунок 9) [91].

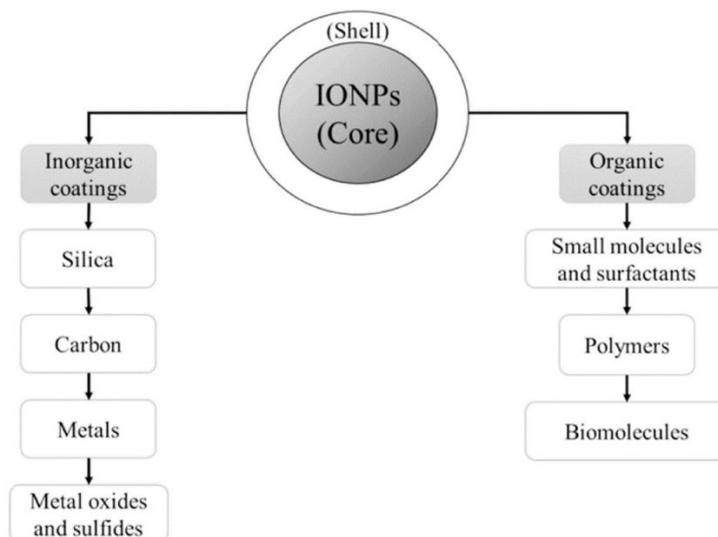


Рисунок 9. Органические и неорганические виды оболочек наночастиц [91].

Как показано на рисунке 9, модификация поверхности наночастиц путем создания оболочки, может идти двумя путями, первый – это создание органической оболочки с использованием биомолекул, биополимеров. Второй же вариант связан с созданием оболочек из неорганических веществ, включающих в себя кремний, углерод, металлы и их оксиды.

Органические оболочки из полисахаридов часто используются и обладают высоким химическим и структурным разнообразием. Обычно используют целлюлозу, хитозан, арабиногалактан, декстран, амилозу. Данные оболочки не только защищают частицу, но и имеют потенциал к функционализации различными биомолекулами [92]. На рисунке 10 можно видеть схематическое изображение различных покрытий для ядра из оксида железа.

Среди неорганических оболочек необходимо особо отметить покрытие частиц оксидом кремния. Это плотное эффективное покрытие, являющееся высокостабильным, инертным и имеющим высокий потенциал функционализации [94]. Также необходимо отметить резистентность к высокой температуре, что особо важно для порошков, применяемых в гипертермии. При этом возможно покрытие оболочкой как отдельных частиц, так и групп [95], как показано на рисунке 11.

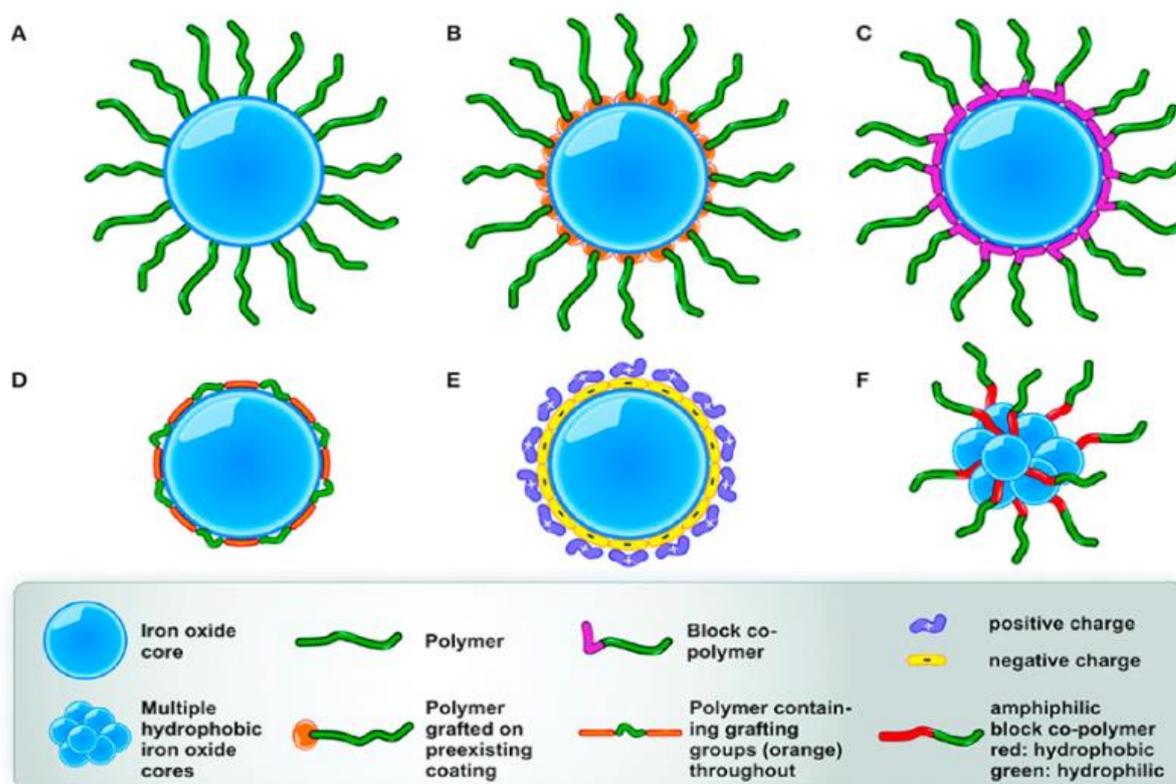


Рисунок 10. Иллюстрация различных полимерных покрытий для ядра из оксида железа [93].

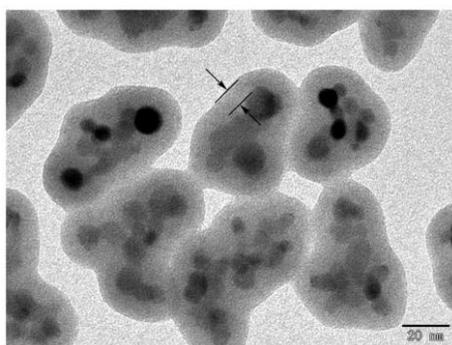


Рисунок 11. ПЭМ-изображение синтезированных частиц $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ с толщиной оболочки 10 нм [95].

В работе [96] проводили сравнение трех вариантов покрытия наночастиц, а также наночастиц без модификации. Использовали покрытие олеиновой кислотой, полиакриловой кислотой, а также оксидом кремния. Согласно полученным результатам, наиболее эффективно грелись наночастиц без покрытия, вплоть до $\Delta T = 9^\circ\text{C}$. Модификация поверхности приводила к снижению эффективности

нагрева до $\Delta T = 6^\circ\text{C}$ в случае с олеиновой кислотой, $\Delta T = 2^\circ\text{C}$ с полиакриловой кислотой, а при модификации поверхности оксидом кремния нагрев и вовсе составлял $\Delta T < 1^\circ\text{C}$.

Толщина оболочки частиц также оказывает существенное влияние на нагрев, как показано в работе [97], где сравнивали покрытие наночастиц полиэтиленгликолем (ПЭГ) с различной молекулярной массой, составляющей 500, 1500, 8000 Да, и соответственно толщиной 0,47, 0,83, 1,9 нм. Зафиксированное увеличение температуры составило 42°C для 500 Да, 26°C для 1500 Да, и 11°C для 8000 Да.

1.6 Механизм нагрева магнитных частиц

Состав наночастиц напрямую влияет на их свойства, в том числе на их поведение в условиях физического воздействия, примером которого могут служить магнитное поле или электромагнитное излучение. Рассматривая магнитные наночастицы и их структуру, можно разделить МНЧ на несколько категорий [98] в зависимости от их магнитной восприимчивости.

Остановившись подробнее на магнитных свойствах различных материалов, их можно изобразить, как на рисунке 12, в виде кривых зависимости намагниченности от приложенного внешнего магнитного поля [99].

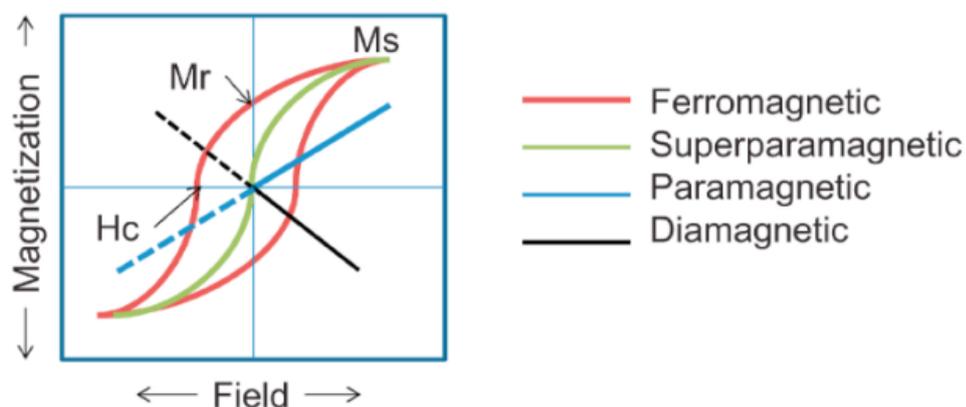


Рисунок 12. Намагниченность насыщения диа-, ферро-, пара- и суперпарамагнетиков [99].

И согласно категории наночастиц, они будут вести себя по-разному. Так, ферромагнетики будут иметь своего рода инерцию и остаточную намагниченность, суперпарамагнитные наночастицы будут терять свою намагниченность сразу после отключения внешнего магнитного поля [100], в случае диамагнетика внешнее магнитное поле и внутренние магнитные поля атомов будут ослаблять друг друга ($\mu < 1$), в случае же парамагнетиков внешнее магнитное поле будет складываться с магнитными полями электронных оболочек атомов вещества из-за ориентации атомных магнитных полей в направлении внешнего магнитного поля ($\mu > 1$).

Рассматривая механизмы нагрева магнитных наночастиц, есть два варианта механизма: для многодоменных наночастиц и для однодоменных [101]. В случае многодоменной наночастицы приходим к механизму гистерезисных потерь. Схематически это можно видеть на рисунке 13.

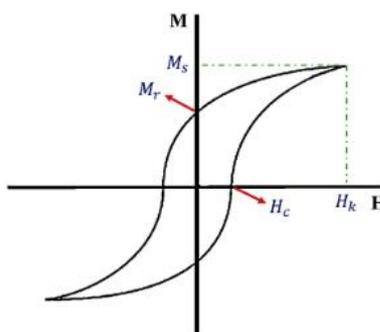


Рисунок 13. Типичная петля гистерезиса [101].

Механизм гистерезисных потерь свойственен для крупных ферро- и ферримагнитных наночастиц. Когда на такие наночастицы воздействует внешнее магнитное поле, некоторые магнитные домены с магнитным моментом параллельным магнитному полю будут расти, в то время как другие будут сжиматься. Все магнитные моменты постепенно выстраиваются в том же направлении, что и приложенное магнитное поле, вплоть до достижения намагниченности насыщения (M_s). Требуемое магнитное поле, приложенное для достижения намагниченности насыщения, называется полем насыщения (H_k).

Ввиду того что намагничивание сопровождается необратимым смещением доменных стенок, кривая намагничивания при увеличении амплитуды поля отличается от случая, когда поле уменьшается. Фактически, даже при удалении поля намагниченность не исчезает полностью, остается так называемая остаточная намагниченность (M_r). Именно остаточная намагниченность является причиной появления гистерезиса в магнитных материалах.

Для того чтобы снова уменьшить намагниченность до нуля, требуется приложить магнитное поле с обратным знаком, называемое коэрцитивным полем (H_c) или коэрцитивной силой. Выделение тепла реализуется за счет гистерезисных потерь [102]. Объемная рассеиваемая мощность при этом пропорциональна частоте поля и площади контура, согласно выражению:

$$P = \mu_0 f \int H dM \quad (1)$$

где μ_0 – магнитная проницаемость,

f – частота магнитного поля,

H – напряженность магнитного поля,

M – намагниченность образца.

Переходя к однодоменным наночастицам, при уменьшении размера наночастиц необходимая энергия для образования доменной стенки становится больше, чем потери магнитостатической энергии на образование нескольких доменов. Следовательно, для минимизации общей энергии, частица становится однодоменной. Петля гистерезиса свойственна и для однодоменных частиц, как показано на рисунке 14 (а), но нужно учитывать, что коэрцитивность, один из основных параметров, влияющих на площадь петли, сильно зависит от размера частиц, и достигает максимального значения в пределе размера одного домена, как это показано на рисунке 14 (б) [103].

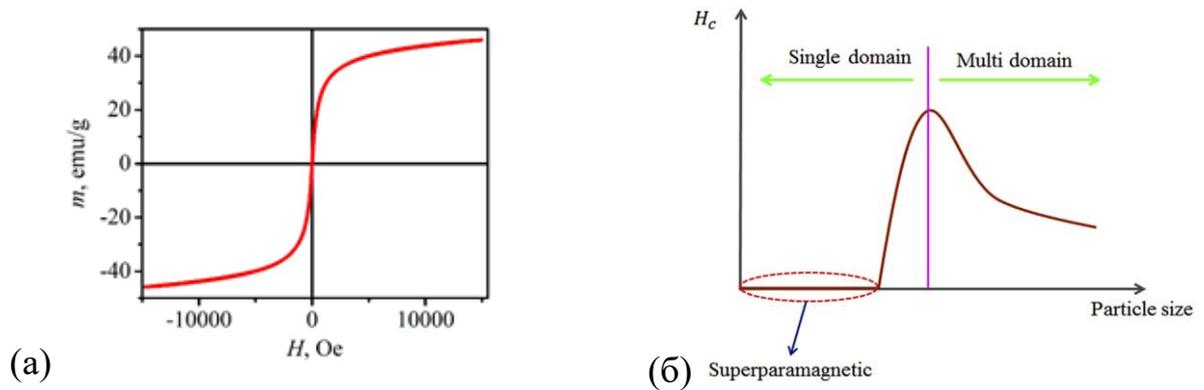


Рисунок 14. Пример петли гистерезиса для однодоменной частицы [103].

Падение коэрцитивной силы, как изображено на рисунке 14 (б), возникает из-за изменения механизма перемагничивания со смещения доменных границ в многодоменных частицах на когерентное вращение магнитных моментов в однодоменных наночастицах. И с уменьшением размера в однодоменных частицах петля гистерезиса сужается до тех пор, пока коэрцитивное поле не станет равным нулю в области суперпарамагнетиков. В суперпарамагнетике связь магнитных моментов (за счет обменного взаимодействия) приводит к тому, что все моменты ведут себя коллективно и образуют гигантский магнитный момент, названный суперспином [104].

Когда размер частицы падает ниже суперпарамагнитного предела, тепловая энергия будет достаточно высокой, чтобы преодолеть энергию магнитной анизотропии. В такой ситуации суперспин способен перемещаться между двумя осями легкого намагничивания при выключенном магнитном поле [105]. В таком случае ситуация может быть описана выражением:

$$E = KV \sin^2 \theta \quad (2)$$

где K – константа магнитной анизотропии,

V – объем частицы,

θ – угол между осью легкого намагничивания и суперспином.

В случае когда внешнее магнитное поле будет приложено к оси легкого намагничивания, можно определить угловую зависимость энергии, воспользовавшись выражением:

$$E = KV \sin^2 \theta - M_s V H \cos(\alpha - \theta) \quad (3)$$

Говоря об изменении положения спина, необходимо отдельно выделить время, требуемое для возврата спина обратно, в состояние равновесия, после испытанного возмущения. Это время известно как время релаксации.

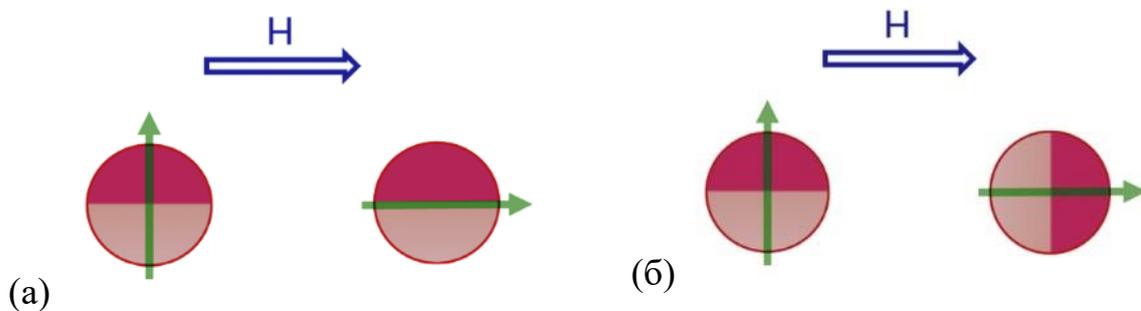


Рисунок 15. Схематическое изображение положения частицы и направления ее магнитного момента для релаксации Нееля (а) и релаксации Броуна (б)

Рассматривая механизм релаксации Нееля, при фиксированном положении частицы, спин внутри нее вращается и ориентируется в направлении, параллельном приложенному полю, как это схематически показано на рисунке 15 (а). В этом случае магнитная энергия рассеивается за счет энергии магнитной анизотропии, препятствующей переориентации суперспина [106]. Время релаксации Нееля может быть описано [107] следующим выражением:

$$\tau_N = \frac{\tau_0}{2} \sqrt{\pi \frac{K_B T}{KV}} e^{\frac{KV}{K_B T}} \quad (4)$$

где τ_0 – частота измерения, равная 10^{-9} секунд,

$K_B T$ – энергия Больцмана.

В случае, когда сама частица вращается, чтобы выровнять свой спин в направлении магнитного поля, схематически это представлено на рисунке 15 (б). В этом случае речь идет о релаксации Броуна. Спин остается фиксированным относительно ориентации кристалла. Энергия вырабатывается за счет трения, возникающего из-за движения в жидкости [106]. Сам процесс релаксации Броуна может быть описан [108] следующим выражением:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{K_B T} \quad (5)$$

где η – вязкость окружающей среды,

V_H – гидродинамический объем частицы (включая магнитное ядро, покрытие, слои гидратации).

На практике оба механизма действуют в одно время, так что эффективное время релаксации может быть описано как:

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_N} + \frac{1}{\tau_B} \quad (6)$$

Преобладание одного из механизмов над другим будет зависеть от размера частицы и вязкости жидкости. Так, для более крупных частиц и менее вязких жидкостей механизм Броуна будет в приоритете, в то время как для более мелких частиц и более вязких жидкостей механизм Нееля будет отвечать за нагрев:

$$\tau_N = \tau_0 e^{\frac{KV}{K_B T}} \quad (7)$$

В случае низкого энергетического барьера ($\Delta E/K_B T \ll 1$), время релаксации достаточно мало, так что кроме магнитной релаксации будут наблюдаться и тепловые флуктуации суперспина. При высоком энергетическом барьере ($\Delta E/K_B T \gg 1$), до тех пор, пока соблюдается условие $\tau_N \leq \tau_M$ частицы будут оставаться в суперпарамагнитном состоянии [109]. При времени релаксации, превышающем время измерения, релаксация Нееля суперспина имеет задержку по отношению к колебаниям магнитного поля, потому суперспин может оставаться неподвижным в направлении, индуцированным магнитным полем [110]. Эта задержка в релаксации является причиной гистерезисного поведения однодоменных наночастиц с размерами, превышающими суперпарамагнитный предел. В этих условиях релаксация Нееля относится только к суперспиновым тепловым флуктуациям [106].

Существенным преимуществом магнитных наночастиц для биомедицины является возможность модификации поверхности, при определенных условиях обретающая способность избирательно прикрепляться к клеткам-мишеням, для чего используют антитела, ДНК-зонды и другие химические соединения. Применение именно ферромагнитных наночастиц на базе оксида железа демонстрирует широчайший потенциал [111]. Тем более важно, что количество ферромагнитных наночастиц, необходимое для повреждения опухоли, мало и не приводит к токсическому эффекту, и выводится организмом в течение нескольких недель [112].

В таблице 1 показано сравнение нагрева частиц в зависимости от частоты и напряженности магнитного поля для традиционных методов нагрева. Изменения различных параметров как воздействия, так и самих частиц может менять скорость нагрева практически на порядок. При этом картина радикально меняется при использовании эффекта ферромагнитного резонанса, как это видно на примере наночастиц Fe_3O_4 [80], где нагрев достигал 150 К/с, что практически на два порядка превышает результат, показанный в других работах, при гораздо более низких значениях воздействия.

Таблица 1. Сравнение магнитных наночастиц по мощности нагрева (Удельная мощность потерь (УМП)) и скорости нагрева

Тип НЧ	Размер, нм	Частота, кГц	Поле, Э	УМП, Вт/г	Фаза	Скорость нагрева, К/с	Ссылка
Fe_3O_4	24	260	160	137	Жидкость	0,16	114
$\text{MnFe}_2\text{O}_4/\text{CoFe}_2\text{O}_4$	15	500	469	3034	Жидкость	1,5	115
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (нанокольца)	70	400	440	2213	Жидкость	0,17	90
Граненный феррит	19	250	251	582	Жидкость	0,28	116
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ допированный Mg	7	110	140	-	Сухая	3	117
NiFe_2O_4	54	10	500	-	Сухая	2,5	118
MgFe_2O_4	101	110	140	-	Сухая	2,2	119
Fe_3O_4 (коммерческий)	50	313	340	-	Сухая	2,3	120
Fe_3O_4	15	3 ГГц	3	-	Сухая	150	80

Продемонстрированные ранее результаты для магнитно-резонансной гипертермии подтверждают свое превосходство над классической гипертермией, несмотря на наличие оригинальных решений, вроде использования двух магнитных полей, постоянного и переменного, с целью локализации и большей эффективности нагрева [113].

1.7 Ограничения магнитной гипертермии

Существенный недостаток магнитной гипертермии — это то что она основана на тепловыделении при перемагничивании наночастиц переменным магнитным полем. Однако именно переменное магнитное поле порождает переменное электрическое поле, согласно уравнениям Максвелла. И именно оно же является наиболее неблагоприятным для организма. Дело в том, что электрическое поле индуцирует появление электрических зарядов на коже. Электрические заряды же в свою очередь генерируют искровые электрические заряды, обладающие высокой токсичностью, и способные приводить даже к ожогам [121].

Из-за этого возникает необходимость в ограничениях, способствующих защите биологических объектов от высоких уровней физических воздействий. Так, в случае магнитной гипертермии, используется предложенное Аткинсоном-Брезовичем произведение частоты магнитного поля ($H \cdot f = 4,85 \cdot 10^8 \text{ Ам}^{-1}\text{с}^{-1}$), которое по данным некоторых исследований [122] может быть повышено до $H \cdot f = 9,59 \cdot 10^9 \text{ Ам}^{-1}\text{с}^{-1}$. Используемые частоты для магнитной гипертермии при этом обычно не превышают 100-400 кГц.

Таким образом, возникает нужда в том, чтобы максимально нагреть наночастицы при минимальном уровне воздействия. Данная задача может решаться различными способами: от модификации способа гипертермии до создания особо восприимчивых наночастиц, с высокой эффективностью нагрева.

Поэтому основными определяющими свойствами для гипертермии являются теплоотдача и уровень воздействия, необходимый для достижения эффекта. Теплоотдачу за рубежом принято определять как SAR (Specific Absorbtion Radiation). В России его называют удельным коэффициентом поглощения (УКП), что, правда, не совсем корректно отображает смысл термина. Наиболее корректно было бы перевести этот термин как мощность поглощенной дозы (МПД), имея в виду под «поглощенной дозой» удельную поглощенную энергию [123]. Рассчитать

МПД можно измерив напряженность электрического поля в тканях, согласно выражению:

$$\text{МПД} = (\sigma * E^2) / \rho \quad (8)$$

где E – значение напряженности электрического поля (В/м),

σ – удельная электрическая проводимость ткани (См/м),

ρ – плотность ткани (кг/м³).

Измерив прирост температуры dT в ткани, получаем выражение:

$$\text{МПД} = c * (dT/dt) \quad (9)$$

где c – удельная теплоемкость ткани (Дж/кг*К),

dT – прирост температуры ткани (К),

dt – интервал времени (с).

МПД применим и для частиц. Приведенные выражения позволяют оценить эффективность превращения магнитной энергии в тепловую [124] благодаря использованию простого выражения:

$$\text{МПД} = \text{Поглощенная энергия} / \text{Масса наночастиц} \quad (10)$$

При этом существует модификация формулы для наночастиц, растворенных в жидкости. И само выражение также [125] претерпевает изменения:

$$\text{МПД} = (dT/dt) * C * (m_w / m_p) \quad (11)$$

где C — удельная теплоемкость воды,

m_p – масса наночастиц, m_w – масса воды,

dT/dt — производная температуры по времени на начальной, линейной стадии нагрева.

При этом выражение для нахождения МПД может быть легко модифицировано и для суспензий:

$$\text{МПД} = C * (dT/dt) * (m_{\text{tot}}/m_{\text{part}}) \quad (12)$$

где C — удельная теплоемкость суспензии,

dT/dt — коэффициент наклона линейного участка,

$m_{\text{tot}}/m_{\text{part}}$ — отношение масс суспензии и наночастиц.

МПД частиц зависит от частоты и амплитуды магнитного поля, а также от химических, физических и магнитных свойств материала. При низком МПД возникает необходимость в более высоком уровне воздействия, что в свою очередь может приводить к появлению побочных эффектов от непосредственно самого физического воздействия [126].

1.8 Аптамеры как средство доставки

В последнее время активно развивается тема целевой доставки наночастиц к органу-мишени или группе клеток, так называемой таргетной терапии. Для этого в настоящее время активно исследуются различные подходы, такие как использование антител (белки), аптамеров (нуклеотид). Аптамер — последовательность нуклеотидов, способная в определенной конформации к связыванию с мишенью, в качестве которой выступает определенный белок. Преимуществом аптамеров является упрощенный в сравнении с антителами процесс их получения [127], а также такие их свойства как иммуногенность и нетоксичность [128]. Отдельно нужно отметить возможность создания аптамеров способных влиять на внутриклеточные процессы, и даже подавлять процесс

деления [129]. Аптамеры в последнее время активно применяются в различных областях биомедицины, например, для диагностики, создания биосенсоров, и др. [130]. Переводя аптамер из одной конформации в другую с помощью триггера, появляется возможность регулировать работу аптамера, включая и выключая его [131].



Рисунок 16. Варианты функционализации магнитных порошков [98].

Аптамеры преимущественно нацелены на белковые мишени, находящиеся на мембране клеток. Тем не менее ведутся исследования по созданию аптамеров, пригодных для проникновения внутрь клеток, что позволит влиять напрямую на протекающие внутри нее процессы [132].

Аптамеры могут применяться для контрастирования, для чего, выбрав аптамеры, нацеленные на конкретные белковые маркеры опухолевых клеток, и связав их с частицами золота, достаточно просто ввести их в организм [133].

Также аптамеры могут применяться в качестве терапевтического агента – доставки агента к определенному типу клеток. При этом область используемых веществ достаточно широка, это могут быть радиоактивные и высокотоксичные

вещества [134], быстро деградирующие и быстро высвобождающиеся вещества [135] и эндогенные ферменты [136].

Использование аптамеров для таргетированной доставки лекарственных веществ представляет особый интерес за счет высокой проникающей способности этих нуклеотидных цепочек, обусловленной их малыми размерами [137]. Такие исследования ведутся в том числе и в области экспериментальной онкологии [138].

Помимо доставки лекарственных средств к опухолевым клеткам, существуют исследования, направленные на доставку наночастиц, представляющих собой магнитные нанодиски [139]. Такой подход использует Au/пермаллой нанодиски не для нагрева при воздействии магнитного поля, а для локального механического воздействия на мембрану клетки, что должно приводить к разрушению клеток.

Аптамеры применяются для различных задач, одной из которых является доставка наночастиц к целевым клеткам, что может быть применено в области гипертермии и позволит существенно уменьшить необходимую терапевтическую дозу частиц.

1.9 Модельная опухоль для биомедицинских исследований – асцитная карцинома Эрлиха

Исследование в области гипертермии можно грубо разделить на ряд этапов. На первом этапе на первый план выходит подбор наночастиц и режима теплового воздействия. На втором этапе же возникает необходимость тестирования на объектах *in vitro*.

Распространенным объектом в области экспериментальной онкологии является карцинома Эрлиха. Она ценится за счет возможности наблюдать процесс развития опухоли на различных этапах, благодаря быстрому росту и выделению фаз развития. Карцинома Эрлиха существует в двух вариантах, солидном – твердом образовании, и асцитном – представляющем собой суспензию опухолевых клеток [140].

Первоначально карцинома Эрлиха представляла собой перевиваемую аденокарциному, полученную в 1905 году при перевивке спонтанной карциномы молочной железы [141]. Карцинома состоит из недифференцированных клеток. Прирост опухолевых клеток происходит неравномерно, и отражает фазы развития опухоли внутри организма [142]. Обычно выделяют три участка роста опухоли. На рисунке 17 приведено изменение численности опухолевых клеток в зависимости от продолжительности культивирования. Первый этап – лаг-фаза (1-5 дни), затем лог-фаза (7-12) – период, характеризующийся экспоненциальным ростом числа клеток, далее следует этап плато (11-15 сутки), в это время прирост клеток существенно падает, но все еще наблюдается [142]. Последний этап – это терминальный период (13-16) сутки, когда организм умирает [141, 143].

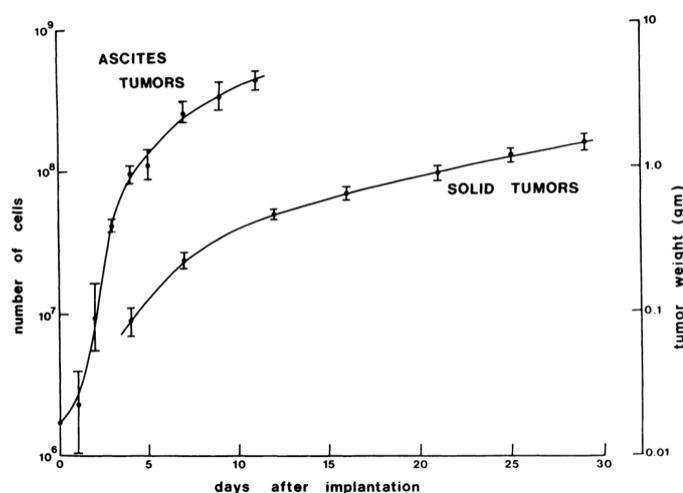


Рисунок 17. Кинетика роста асцитной карциномы Эрлиха [144].

При перевивке опухоли мышам, живут они 14-18 дней после перевивки. Отбор проб обычно проводят на 7, 9, 13 сутки после перевивки, что позволяет оценить рост опухоли на различных стадиях развития [145].

Морфологически клетки карциномы Эрлиха схожи с мембранами клеток животного происхождения, размер их равен примерно 30-40 мкм [143]. В клетках работает цикл Кребса, присутствуют все цитохромы. Необходимо отметить, что,

как и все раковые клетки, карцинома Эрлиха показывает высокую гликолитическую активность и умеренно нуждается в кислороде для дыхания [146].

В настоящее время АКЭ используется в экспериментальной онкологии для проведения различных исследований. С помощью АКЭ проверяют воздействия комбинированного слабого постоянного и слабого низкочастотного переменного магнитного поля на поведение супероксиддисмутазы (СОД) в клетках АКЭ [147].

В одной из работ микроволновое облучение АКЭ клетки привело к увеличению длины и поверхности микроворсинок. Опухолевые клетки имеют тенденцию к образованию больших агрегатов посредством переплетения микроворсинок. С другой стороны, гипертермия вызывала уменьшение поверхности микроворсинок, но увеличение поверхности пузырьков. Таким образом, морфология поверхности клетки АКЭ после экстракорпорального воздействия микроволнового облучения заметно отличается от гипертермии [148].

Как можно видеть, задачи, изучаемые при помощи АКЭ, весьма различны, и это говорит об универсальности данного вида опухоли. С учетом ее достоинств, упомянутых выше, таких, как относительно быстрый рост, четко разграниченные стадии развития, ее использование в качестве экспериментальной модели полностью оправдано.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Методики синтеза порошков

В данной работе использовали порошки биогенного ферригидрита, гематита, маггемита, феррита никеля и феррита кобальта. Феррит никеля и феррит кобальта были в двух модификациях: в исходном состоянии и в состоянии после отжига.

Ферригидрит получали, культивируя бактерии *Klebsiella oxytoca* на минерально-солевой среде, без перемешивания и аэрации. В питательной среде присутствовали: глюкоза, бензойная кислота, цитрат калия и цитрат железа

Синтез наночастиц происходил в стационарной фазе роста культуры бактерий, на 7–30 сутки, и проходил в два этапа. На первом этапе бактерии выращивали на минеральной среде с цитратом калия, на втором – в среду добавляли ионы железа. Магнитные наночастицы получали при переработке бактерий в золь, для этого осадки бактериальной культуры разрушали ультразвуком и проводили отмывку водой, затем ацетоном, и после обрабатывали NaOH 20%. Итоговый продукт после отмывки представлял собой устойчивый золь наночастиц ферригидрита в полисахаридной матрице [22].

Наночастицы гематита использовались коммерческие промышленного производства. Получение наночастиц маггемита подробно описано в главе 4.

Наночастицы маггемита, как и феррита никеля и феррита кобальта, получали методом химического соосаждения. Суть метода состоит в осаждении двух- и трехвалентного железа в пропорции 2 к 1 при добавлении щелочи. Для получения ферритов никеля и кобальта 0,2 моль $\text{NiSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ или $\text{CoSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ соответственно и 0,4 моль $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ растворяли в 100 мл dH_2O , затем добавляли по каплям NH_4OH до $\text{pH}=11$ и нагревали при постоянном перемешивании до 80°C в течение 30 минут. Затем полученный осадок промывали. Для формирования структуры феррита оксиды железа, допированные никелем и кобальтом, отжигали при 700°C в течение 5 часов. Полученный материал растирали в ступке. С целью уменьшения процесса агломерации наночастиц использовали модификацию поверхности

наночастиц биосовместимыми покрытиями типа арабиногалактана или декстрана (0,1% в дистиллированной H_2O).

В результате получили наночастицы пяти типов:

1. Ферригдрит, с размером порядка 3 нм
2. Гематит, с размером порядка 40 нм
3. Маггемит, с размером порядка 16 нм
4. Наночастицы исходные $NiFe_2O_4$, с размером порядка 4 нм
5. Наночастицы отожженные $NiFe_2O_4$, с размером порядка 60 нм
6. Наночастицы исходные $CoFe_2O_4$, с размером порядка 4 нм
7. Наночастицы отожженные $CoFe_2O_4$, с размером порядка 23 нм

Процесс функционализации поверхности наночастиц маггемита подробно описан в главе 4.

2.2 Методы исследования порошков

2.2.1 Просвечивающая электронная микроскопия

В качестве одного из методов анализа химико-физических свойств наночастиц использовали просвечивающую электронную микроскопию (ПЭМ). Метод состоит в пропускании через образец пучка электронов, что позволяет сформировать изображение.

Образец обычно представляет собой сверхтонкий срез или суспензию. Через образец проходит пучок электронов, и при взаимодействии электронов с атомной структурой образца формируется изображение, которое затем увеличивают и фокусируют на флуоресцентном детекторе.

ПЭМ является эффективным методом визуализации и анализа, используемым в различных областях науки, таких как физика, химия, биология, а также является незаменимым инструментом для работы в такой области как нанотехнологии,

благодаря высокой разрешающей способности, позволяющей визуально наблюдать наноразмерный объекты.

Схематично можно представить ПЭМ как источник электронов, набор электромагнитных линз и флуоресцентный детектор. ПЭМ может подключаться к персональному компьютеру, для визуализации и обработки получаемых данных.

Электромагнитные линзы оказывают влияние на формирование пучка электронов, и тем самым могут задавать определенный режим работы, с целью формирования изображения под нужды оператора. На рисунке 18 можно видеть пример схемы одного такого микроскопа.

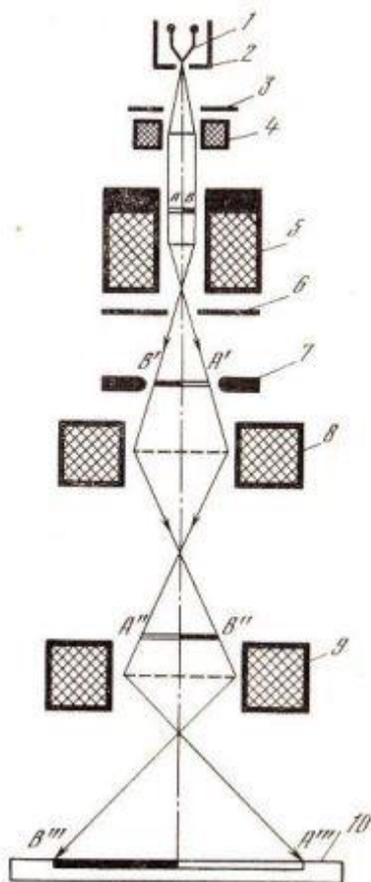


Рисунок 18. Схема просвечивающего электронного микроскопа. 1 – катод, 2 – управляющий электрод, 3 – анод, 4 – конденсорная линза, 5 – объективная линза, 6 – апертурная диафрагма, 7 – селекторная диафрагма, 8 – промежуточная линза, 9 – проекционная линза, 10 – экран (фотопластинка).

В данной работе использовали просвечивающий электронный микроскоп Hitachi HT7700 (ускоряющее напряжение 100 кВ) Центра коллективного пользования Красноярского научного центра СО РАН.

2.2.2 Мёссбауэровская спектроскопия

Мёссбауэровская спектроскопия названа в честь Рудольфа Мёссбауэра, который изучая изотопы различных элементов, обнаружил явление резонансного поглощения γ -квантов испускаемых ядрами изотопов (при их возбуждении) аналогичными ядрами исследуемого образца. При этом ядра исследуемого образца сами возбуждаются. Рассматривая случай, где в роли исследуемого образца выступает твердое тело, он обнаружил что в процессе энергия практически не теряется, что связано с тем, что энергия от ядра передается всей кристаллической решетке, а не отдельному атому.

В этом случае, если рассматривать спектры как излучения так и поглощения, их ширина будет одинакова, что может быть выражено квантовомеханическим соотношением неопределенностей Гейзенберга:

$$\Gamma = \hbar / \tau \quad (13)$$

где τ – время жизни возбужденного состояния ядра, а \hbar вычисляется по формуле:

$$\hbar = h / 2\pi \quad (14)$$

где h – постоянная Планка

Конечно же необходимо учитывать тепловое движение атомов в решетке, которое будет влиять на энергию γ -кванта. А для этого нужно дозировать поступающую энергию γ -кванта от источника к образцу. На практике для этого используется доплеровской модулятор. Суть работы такой схемы относительно

проста – образец является неподвижным, в то время как источник излучения перемещается с заданной скоростью по определенной траектории. Изменение энергии $\Delta E_{\text{д}}$ при этом соответствует выражению:

$$\Delta E_{\text{д}} = (E_0 * v) / c \quad (15)$$

где c – скорость света,

v – скорость перемещения образца,

E_0 – энергия γ -кванта, идущего от неподвижного источника.

И в этом случае можно подсчитать сколько энергии в виде γ -кванта будет получать образец, соответственно выражению

$$E(v) = E_0 * (1 + v/c) = E_0 + \Delta E_{\text{д}} \quad (16)$$

где $E(v)$ – энергия γ -кванта, идущего от источника, движущегося со скоростью v .

Мёссбауэровская спектроскопия пригодна ограничено, ввиду того что может работать только с образцами, в составе которых есть необходимые изотопы. Наиболее часто используют всего 7 изотопов (хотя известно около 40 потенциально применимых), среди которых можно выделить изотоп ^{57}Fe . Анализ спектров позволяет изучать взаимодействие атомов с их окружением. Сам спектр показывает зависимость изменения интенсивности излучения прошедшего через исследуемый образец, с учетом скорости перемещения источника излучения.

На практике мёссбауэровский спектр представляет собой линии, на ширину которых оказывают влияние дефекты кристаллической решетки, ввиду того что эти дефекты влияют на резонансные атомы. Свойственна им так называемая лоренцева форма профиля спектральной линии.

Мёссбауэровская спектроскопия позволяет определить ряд параметров, характеризующих исследуемый образец, таких как изомерный (химический) сдвиг, квадрупольное расщепление, магнитное (зеemanовское) расщепление. Набор этих

параметров позволяет определить структуру и электронные свойства исследуемого образца.

Изомерный сдвиг можно наблюдать в том случае, когда линия резонансного поглощения смещается относительно линии поглощения. Происходит это тогда, когда ядра в источнике излучения и в исследуемом образце имеют различное химическое окружение. По величине изомерного сдвига судят о электронной плотности ядра, при увеличении изомерного сдвига можно говорить об уменьшении электронной плотности ядра, и наоборот.

Квадрупольное расщепление показывает процесс взаимодействия ядер нерадиально-симметричной формы с градиентом электрического поля окружения. Оно позволяет получать информацию о знаке и силе градиента поля, которые будут зависеть от окружения, и тем самым, интерпретируя эти данные, можно говорить как об окружении ядра, так и о его валентности.

Магнитное расщепление показывает процесс взаимодействия ядер и магнитного поля, и основывается на эффекте Зеемана. Величина его может быть описана выражением:

$$E_m = -g_I \cdot \mu_N \cdot B \cdot \Delta m_I \quad (17)$$

где g_I – ядерное магнитное отношение для данного уровня ядра (I – спин ядра),

μ_N – ядерный магнетон,

B – напряженность магнитного поля

Δm_I – изменение магнитного квантового числа при переходе из возбужденного состояния в основное.

При этом величина магнитного поля будет зависеть от числа неспаренных электронов, типа химической связи, геометрии окружения и др. параметров образца, что позволяет судить об особенностях магнитной, электронной и кристаллохимической структуры исследуемого образца.

В данной работе мёссбауэровские спектры были получены на спектрометре MS-1104Em с источником $^{57}\text{Co}(\text{Cr})$, имеющем ширину линии на полувысоте 0,24 мм/с, на поглотителе из порошка нитропрусида никеля, на порошковых образцах толщиной 5-10 мг/см² по естественному содержанию железа, при которой интенсивность линий спектра линейно связана с содержанием железа в фазе. Низкотемпературные измерения проведены с использованием криостата фирмы ООО «КРИОТРЕЙД». Изомерные химические сдвиги указаны относительно $\alpha\text{-Fe}$. Мёссбауэровские спектры измеряли при 300 К и 4,2 К.

Расшифровка полученных спектров проводилась в три этапа. Первый этап – определяли распределение сверхтонких полей. Второй этап – по положению максимумов оценивали число и параметры неэквивалентных позиций ионов железа и на основе полученных данных строили модельный спектр. На третьем этапе модельный спектр подгоняли к экспериментальному, варьируя набор сверхтонких параметров. Результатом этой подгонки являлось зануление ложных составляющих спектра, и таким образом получали параметры реальных мёссбауэровских подспектров.

2.2.3 Вибрационная магнитометрия

Для проведения магнитных измерений исследуемых порошков использовался вибрационный магнитометр. К достоинствам вибрационного магнитометра можно отнести простоту механической конструкции, высокую точность измерений, высокую чувствительность и возможность проводить измерения на образцах малого размера.

Сущность метода заключается в следующем. Образец с помощью электродинамической системы приводится в гармоническое колебательное движение относительно силовых линий однородного магнитного поля, в результате чего в приемных катушках образуется электродвижущая сила (ЭДС), величина

которой измеряется регистрационной системой. ЭДС пропорциональна намагниченности образца, частоте колебаний и амплитуде колебаний.

Полученные результаты позволяют сделать выводы о таких характеристиках образца как кривая намагничивания, намагниченность насыщения, остаточная намагниченность. Учитывая возможность изменения температуры образца, также можно получить данные о температуре Кюри и температурной зависимости измеренных магнитных характеристик образца.

Метод не только позволяет работать с широчайшим набором материалов, и измерять температурные зависимости магнитных свойств, но и обладает высокой чувствительностью, допуская работу с образцами массой порядка 0,01 мг.

В данной работе измерения проводили на вибрационном магнитометре [21]. Исследуемые порошки фиксировали в измерительной капсуле в парафине.

2.2.4 Ферромагнитный резонанс

Ферромагнитный резонанс, или другими словами – резонансное поглощение электромагнитного излучения ферромагнетиками в диапазоне сверхвысоких частот, во многом сходен с электронным парамагнитными или ядерным магнитным резонансом. Само явление ферромагнитного резонанса было предсказано еще в 1911 году В.К. Аркадьевым [149]. Объяснение данного явления было дано в 1923 году Я.Г. Дорфманом [150]. Лифшиц и Ландау [151] в 1935 году предложили теоретическую модель о поведении ферромагнетиков в области сверхвысокочастотного поля. Экспериментально резонансное поглощение энергии электромагнитного поля в никеле и железо-кремниевом сплаве зафиксировано в начале сороковых, независимо и отдельно друг от друга Е.К. Завойским [152] и Гриффитсом [153].

Изучая ферромагнетик, находящийся под одновременным воздействием постоянного магнитного поля H_0 и переменного магнитного поля $h(t)$ с частотой ω ,

предположим при этом что ферромагнетик достиг состояния насыщения. В таком случае действие суммарного поля можно записать как:

$$H(t)=H_0+h(t) \quad (18)$$

В таком случае намагниченность можно записать как функцию времени:

$$M(t)=M_0+m(t) \quad (19)$$

Если переменное поле h и переменная намагниченность m достаточно малы, то между амплитудами их составляющих будет существовать линейная зависимость, принимающая вид:

$$\begin{aligned} m_x &= \chi_{11}h_x \quad \chi_{12}h_y \quad \chi_{13}h_z \\ m_y &= \chi_{21}h_x \quad \chi_{22}h_y \quad \chi_{23}h_z \\ m_z &= \chi_{31}h_x \quad \chi_{32}h_y \quad \chi_{33}h_z \end{aligned} \quad (20)$$

или

$$m_i = \chi_{ik}h_k \quad (21)$$

В общем случае компоненты тензора высокочастотной восприимчивости χ_{ik} будут функциями величины постоянного и высокочастотного переменного полей, и в свою очередь будут зависеть от свойств ферромагнетика (его физических и геометрических характеристик), что может быть записано как:

$$\chi_{ik} = \chi_{ik}(H_0\omega) \quad (22)$$

Именно знание явного вида этих функций помогает определить особенности поведения ферромагнетика при его нахождении в переменном магнитном поле. Для того, чтобы найти решение этого выражения, необходимо решить совместно уравнение Ландау и Лифшица [151] и систему уравнений Максвелла, задав для них соответствующие краевые условия. В общем случае эта задача является нерешаемой, поэтому для решения необходимо ввести некоторые ограничения, и тогда вычисление становится возможным для частных случаев.

Если представить уравнение Ландау и Лифшица в виде:

$$dM/dt = -\gamma[M, H^e] - \alpha(\gamma/M)[M[M, H^e]] \quad (23)$$

где H^e – эффективное магнитное поле, в котором движется вектор M ,

α – безразмерный параметр затухания,

γ – гиромагнитное отношение, вычисляемое выражением:

$$\gamma = \frac{q}{mc} \quad (24)$$

где q – заряд частицы,

m – масса частицы,

c – скорость света.

Для этого выражения (выражение 23) предполагается, что модуль M неизменен при его движении в магнитном поле, то есть $M^2 = const$.

Эффективное магнитное поле H^e определяется выражением:

$$H^e = -(\delta E / \delta M)_V \quad (25)$$

где E – суммарная энергия ферромагнитного кристалла, включающая в себя энергию обменного взаимодействия, анизотропию, энергию ферромагнетика во внутреннем поле и т. д.

Если упростить выражение, исключив из него все магнитные взаимодействия в кристалле, учитывая только взаимодействие магнитного момента с внутренним полем H_i , тогда его можно записать в виде:

$$E = -M \cdot H_i \quad (26)$$

С учетом предыдущих выражений следует что:

$$H^e = H_i \quad (27)$$

И таким образом можно сказать, что в этом упрощенном выражении эффективное поле H^e равно внутреннему магнитному полю H_i , при этом величина последнего будет зависеть от внешнего поля и эффекта размагничивания. Само поле H_i можно найти, решив магнитостатическую краевую задачу. Так, в случае эллипсоидного ферромагнетика, решение может быть записано как:

$$\begin{aligned} H_{ix} &= H_x - N_x M_x \\ H_{iy} &= H_y - N_y M_y \\ H_{iz} &= H_z - N_z M_z \end{aligned} \quad (28)$$

где N_x, N_y, N_z – размагничивающие факторы эллипсоида, вдоль осей x, y, z .

В таблице 2 представлена часть размагничивающих факторов и резонансных частот для некоторых геометрических форм.

Если внешнее поле H_0 и намагниченность M_0 направлены вдоль оси z , тогда:

$$M = M_0 + m = M_0 z_0 + m \quad (29)$$

$$H^e = H_{0i} + h_i = H_{0i} z_0 + h_i$$

где $H_{0i} = H_0 - N_z M_0$,

z_0 – единичный вектор в направлении оси z .

Таблица 2. Размагничивающие факторы и резонансные частоты для некоторых образцов различной геометрической формы

Форма образца	$N_x N_y N_z$	$\gamma H_{рез}$	γH_0^i
Сфера	$N_x =$ $N_y = N_z = 4/3\pi$	ω	$\omega - \omega_M/3$
Тонкая пластинка, намагниченная параллельно	$N_y = N_z = 0$ $N_x = 4\pi$	$(\omega^2 + (\omega_M/2)^2)^{1/2} -$ $\omega_M/2$	$(\omega^2 + (\omega_M/2)^2)^{1/2} -$ $\omega_M/2$
Тонкая пластинка, намагниченная перпендикулярно	$N_x = N_y = 0$ $N_z = 4\pi$	$\omega + \omega_M$	ω
Длинный тонкий цилиндр, намагниченный параллельно	$N_x = N_y = 2\pi$ $N_z = 0$	$\omega - \omega_M/2$	$\omega - \omega_M/2$
Длинный тонкий цилиндр, намагниченный перпендикулярно	$N_x = 0$ $N_y = N_z = 2\pi$	$(\omega^2 + (\omega_M/4)^2)^{1/2} -$ $\omega_M/4$	$(\omega^2 + (\omega_M/4)^2)^{1/2} -$ $\omega_M/4$

Подставив данное выражение в выражение (23), получим:

$$dm/dt = -\gamma M_0 [z_0 h_i - (H_{0i}/M_0)m] - \alpha \gamma M_0 (h_i z_0 + (H_{0i}/M_0)m - h_i) \quad (30)$$

Решив это выражение в виде однородных колебаний, с вводом произвольного периодического поля с зависимостью от времени вида $e^{i\omega t}$:

$$\begin{aligned} h_i &= h_{0i} e^{i\omega t} \\ m_i &= m_{0i} e^{i\omega t} \end{aligned} \quad (31)$$

Совмещаем два предыдущих выражения, и получаем два (ввиду того что $m_z=0$) скалярных уравнения вида:

$$i\omega m_x = \gamma M_0 (h_{iy} - (H_{0i}/M_0)m_y) - \alpha \gamma M_0 ((H_{0i}/M_0)m_x - h_{ix}) \quad (32)$$

$$i\omega m_y = \gamma M_0 (h_{ix} - (H_{0i}/M_0)m_x) - \alpha \gamma M_0 ((H_{0i}/M_0)m_y - h_{iy})$$

Решая эти уравнения относительно m_x и m_y получаем:

$$m_x = \gamma M_0 / \Delta \{ [\gamma H_2 (1 + \alpha^2) + i\alpha\omega] h_x + i\omega h_y \} \quad (33)$$

$$m_y = \gamma M_0 / \Delta \{ -i\omega h_x + [\gamma H_1 (1 + \alpha^2) + i\alpha\omega] h_y \}$$

где $\Delta = \omega^2_0 (1 + \alpha^2) - \omega^2 + i\alpha\omega\gamma(H_1 + H_2)$; $H_1 = H_0 + (N_x - N_z)M_0$; $H_2 = H_0 + (N_y - N_z)M_0$; $\omega^2_0 = \gamma^2 H_1 H_2$.

Из этого уравнения следует, что матрица компонент тензора высокочастотной восприимчивости в данном случае будет иметь следующий вид:

$$\chi_{ik} = \gamma M_0 / \Delta \begin{pmatrix} \gamma H_2 (1 + \alpha^2) + i\alpha\omega & i\omega & 0 \\ -i\omega & \gamma H_2 (1 + \alpha^2) + i\alpha\omega & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (34)$$

Если направление поляризации высокочастотного поля h будет совпадать с осью x , тогда изменение намагниченности вдоль этой оси будет определяться компонентой χ_{11} которую можно обозначить через χ , через выражение:

$$\chi = \gamma M_0 / \Delta [\gamma H_2 (1 + \alpha^2) + i \alpha \omega] \quad (35)$$

В таком случае представляем комплексную величину χ в виде:

$$\chi = \chi' - i \chi'' \quad (36)$$

и тогда получаем:

$$\begin{aligned} \chi' &= \gamma^2 M_0 ((1 + \alpha^2) H_2 [\omega^2_0 (1 + \alpha^2) - \omega^2] + \alpha^2 \omega^2 (H_1 + H_2) / [\omega^2_0 (1 + \alpha^2) - \omega^2]^2 + \alpha^2 \gamma^2 \omega^2 (H_1 + H_2)^2) \\ \chi'' &= \alpha \gamma \omega M_0 (\omega^2 + \gamma^2 H_2^2 (1 + \alpha^2) / [\omega^2_0 (1 + \alpha^2) - \omega^2]^2 + \alpha^2 \gamma^2 \omega^2 (H_1 + H_2)^2) \end{aligned} \quad (37)$$

При $\omega = const$, мнимая часть высокочастотной восприимчивости χ'' , отвечающая за потери энергии СВЧ в ферромагнетике, будет зависеть от магнитного поля резонансным образом. При этом максимуму поглощения СВЧ-энергии будет соответствовать значения H_0 , связанной с частотой ω соотношением вида:

$$\omega^2 = \omega^2_0 (1 + \alpha^2) = \gamma^2 [H_0 + (N_x - N_z) M_0] [H_0 + (N_y - N_z) M_0] (1 + \alpha^2) \quad (38)$$

Это соотношение впервые было получено Киттелем [154], и оно устанавливает связь частоты однородного ферромагнитного резонанса с магнитным полем в случае изотропного непроводящего ферромагнетика, имеющего форму эллипсоида.

Вещественная часть магнитной восприимчивости χ' отвечает за дисперсию, и будет обращаться в ноль в точке, вычисляемой выражением:

$$\omega^2 = \omega_0^2 (1 + \alpha^2) \quad (39)$$

Из предыдущих выражений следует, что при малом затухании $\alpha \ll 1$ значения ω , при которых χ'' будет максимальным, а $\chi' = 0$, совпадают между собой.

Часто исследователей интересует лишь мнимая часть χ'' , характеризующая поглощение энергии в образце. Тогда мощность, поглощенная в единицу объема, т. е. энергия, выделившаяся в 1 см^3 за 1 с, пропорциональна χ'' и может быть записана как:

$$dW/dt = \frac{1}{2} (\omega \chi'' h^2_x) \quad (40)$$

Исходя из полученного выражения (40), можно говорить о том, что зависимость χ'' от ω описывает процесс поглощения СВЧ-энергии в ферромагнитном резонансе. Сложность применения всего вышеизложенного на практике заключается в том, что частота ФМР зависит не только от напряженности постоянного магнитного поля, но еще и от внутреннего магнитного поля самой частицы. А оно, в свою очередь, определяется структурой образца, его составом, дефектностью решетки и др.

Ферромагнитный резонанс является хорошо изученным методом исследования магнитных свойств порошков и используется для их аттестации. Новым применением этого явления служит возможность нагрева различных материалов.

Эффективность нагрева в режиме ФМР можно оценить через расчет скорости изменения температуры частицы. Так, если поглощение энергии ферромагнетика объемом V в единицу времени [10] определяется как:

$$Q = \omega \frac{V}{2} \chi h^2 \quad (41)$$

Тогда для случая сферического ферромагнетика ($N_x = N_y = N_z = 4\pi/3$) получаем что $\omega_M = \gamma 4\pi M_s$, $\omega_y = \gamma H$, $\omega_z = \gamma H$, и в резонансе:

$$\chi_{\text{res}} = \frac{1}{2} \frac{\gamma' M_s}{\alpha f} \quad (42)$$

где $\gamma' = \gamma/2\pi \approx 2,8$ МГц/Э.

Тогда, предположив, что вся поглощаемая системой СВЧ-энергия будет идти на нагрев, можно записать уравнение теплового баланса ($Cm\Delta T = Q\Delta t$), которое с учетом предыдущих выражений позволит оценить скорость изменения температуры системы при поглощении энергии в режиме ферромагнитного резонанса, и имеет вид:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{h^2 \gamma M_s}{4C\rho\alpha} \quad (43)$$

где h – амплитуда магнитной составляющей СВЧ-поля,

C – удельная теплоемкость,

ρ – плотность образца,

α – параметр затухания,

M_s – намагниченность насыщения,

γ – гиромагнитное отношение.

В данной работе спектры магнитного резонанса получали на спектрометре Bruker ELEXSYS 560, работающем в X-диапазоне (характерная частота СВЧ излучения ~ 9 ГГц) в области температур 5-300 К, а также на спектрометре SE/X 2544 (Radiopan), работающем на частоте 8,9 ГГц.

2.3 Измерение температуры порошков в режиме ФМР

Одним из важнейших параметров наночастиц для гипертермии является их способность нагреваться, зависящая от множества других факторов. В данной работе измерение температуры наночастиц проводили с помощью термопары Т-типа: материал положительного электрода – медь (Cu), отрицательного электрода – сплав константан (55% Cu + 45% Ni, Mn, Fe).

Для снижения влияния термопары на результат измерения температуры использовали термопарные проводники малого диаметра 60...70 мкм. Их преимуществом является, во-первых, минимизация массы и теплоёмкости области спая и отрезка термопары, контактирующего с образцом, и, во-вторых, снижение теплопередачи по проводникам между образцом и окружающей средой.

С целью усиления электродвижущей силы для термопары (Т-тип), чувствительность которой при комнатной температуре составляла порядка 40 мкВ/°С, был изготовлен электрический модуль на базе монолитного усилителя сигнала типа AD595CQ с компенсацией температурного дрейфа ЭДС холодного спая термопары. Уровень выходного сигнала составлял порядка 10 мВ/°С. Полезный сигнал регистрировали двухкоординатным графопостроителем типа Н307/1. Далее проводили измерения при различных значениях напряженности постоянного магнитного и высокочастотного электромагнитного поля для определения оптимальных параметров для нагрева наночастиц.

2.4 Проточная цитометрия

Для исследования эффективности ФМР-гипертермии в данной работе использовали в качестве модельной опухоли – асцитную карциному Эрлиха. Для культивирования асцитной карциномы Эрлиха использовали белых беспородных лабораторных мышей, ввиду того что кинетика опухолевого роста может различаться у лабораторных мышей различных линий. Клетки АКЭ отбирали у мышей на 10 сутки роста опухоли, из брюшной полости.

Оценку последствий воздействия гипертермии на клетки проводили путем исследования жизнеспособности клеток опухоли методом проточной цитометрии, для чего оценивали число жизнеспособных клеток, число клеток на стадии апоптоза и некроза. Для оценки жизнеспособности клетки опухоли окрашивали, используя флуоресцентные красители: YO-PRO-1 и пропидия йодид.

Зеленый флуоресцентный краситель YO-PRO-1 обладает пиком поглощения 491 нм и максимумом излучения 509 нм и способен проникать в клетки через ионные каналы, активирующиеся при запуске апоптоза, и при этом не переносится через мембрану в значительных количествах в живых клетках.

Йодид пропидия (PI) представляет собой флуоресцентный интеркалирующий агент, относится к ДНК-связывающим красителям, и является эталонным показателем разрушения мембраны и её проницаемости при образовании апоптотических телец и некрозе, что делает его полезным инструментом для дифференцировки некротических, апоптотических и здоровых клеток. В связанном виде йодид пропидия имеет максимум возбуждения флуоресценции на длине волны около 536 нм и максимум излучения флуоресценции на длине волны около 615 нм.

Окрашивание проводили так: к 100 мкл клеточной суспензии (10^6 клеток/мл) добавляли 5 мкл красителя YO-PRO-1, далее добавляли 5 мкл раствора PI. Далее выдерживали при комнатной температуре в течение 15 минут в защищенном от света месте, и после с помощью проточного цитометра регистрировали наличие свечения на определенных длинах волн.

Анализ окрашенных образцов был выполнен на проточном цитофлуориметре CytoFlex («Beckman Coulter», США), для извлечения и обработки данных прибора было использовано программное обеспечение CytExpert.

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ МАГНИТНЫХ СВОЙСТВ И НАГРЕВА В РЕЖИМЕ ФМР МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ

3.1 Магнитные свойства и нагрев в режиме ФМР порошков ферригидрита, гематита и маггемита

Для подбора наиболее подходящих медиаторов нагрева для ферромагнитной гипертермии были выбраны антиферромагнитные порошки окисленного железа – гематит $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, ферригидрит $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. Эти порошки доступны и хорошо изучены [155, 156]. В качестве их антипода были выбраны частицы магнетит-маггемитового ряда (маггемит) $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Этот порошок характеризуется высокими значениями намагниченности и также часто используется в исследованиях.

Исследование по нагреву этих порошков в режиме ФМР начали с изучения их магнитных свойств с последующей оценкой эффективности нагрева, что показано в работах [157-159]. Для оценки величины нагрева использовали термопару Т-типа, подробно описанную в предыдущей главе.

Определение магнитных свойств порошков проводили, используя методы вибрационной магнитометрии и ферромагнитного резонанса. Петли гистерезиса порошков представлены на рисунке 19, они были записаны при комнатной температуре.

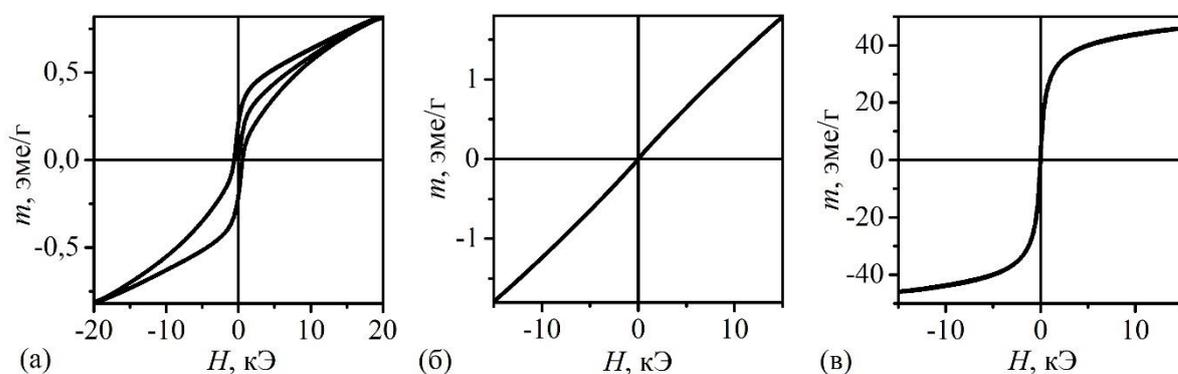


Рисунок 19. Петли гистерезиса порошков гематита (а), ферригидрита (б) и маггемита (в), записанные при комнатной температуре.

На рисунке 20 представлены кривые ферромагнитного резонанса порошков, записанные при комнатной температуре при частоте источника СВЧ 8,9 ГГц.

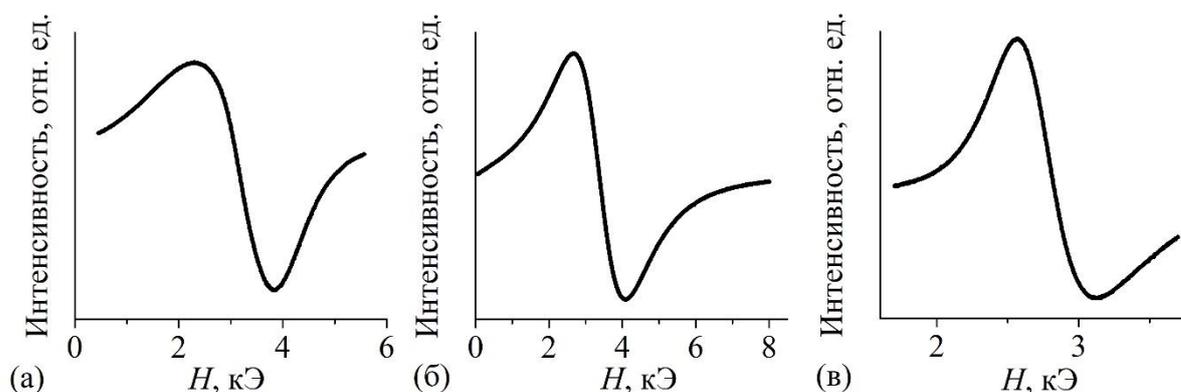


Рисунок 20. Спектры ферромагнитного резонанса гематита (а), ферригидрита (б) и маггемита (в), записанные при комнатной температуре.

Результаты исследования магнитных свойств порошков и спектров ферромагнитного резонанса приведены в таблице 3.

Таблица 3. Свойства порошков гематита, ферригидрита и маггемита.

Образец	ρ , г/см ³	d , нм	H_c , Э	M_r , эме/г	M_s , Гс	H_R , кЭ	ΔH , кЭ	ΔT_{\max} , К	$(dT/dt)_{\max}$, К/с
α -Fe ₂ O ₃	5,3	40	575	0,21	4,3	3,1	1,5	0,8	0,016
5Fe ₂ O ₃ ·9H ₂ O	3,8	3	0	0	6,7	3,3	1,4	4,5	0,19
γ -Fe ₂ O ₃	4,9	16	14	1,3	225	2,8	0,56	10	1,07

Нагрев порошков в режиме ФМР проводили с помощью ЭПР-спектрометра при различных значениях напряженности постоянного магнитного поля в СВЧ-поле ($f=8,9$ ГГц). Для измерения температуры использовали термопару. Кинетические кривые нагрева представлены на рисунке 21.

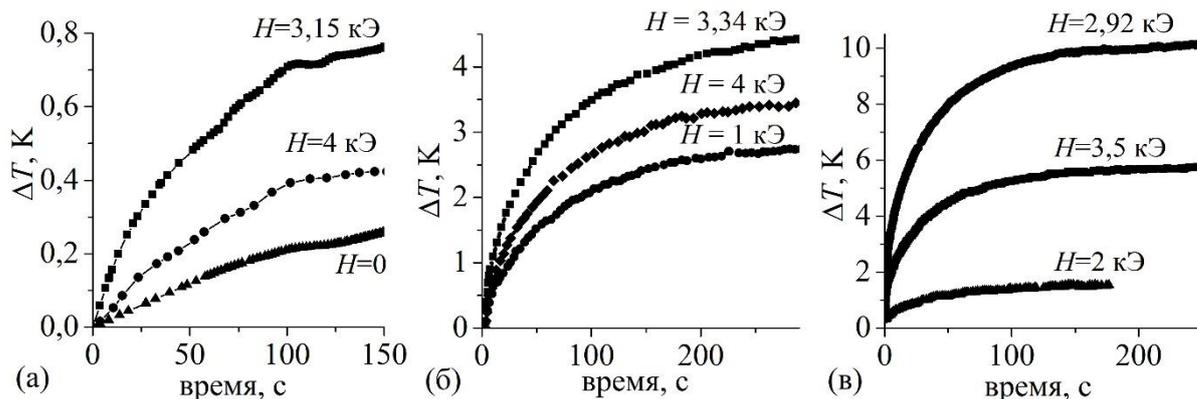


Рисунок 21. Изменение температуры порошков гематита (а), ферригидрита (б) и маггемита (в) в различных магнитных полях при СВЧ накачке.

Исследование кинетических кривых нагрева порошков показало, что прирост температуры зависел от величины магнитного поля. Наиболее высокий уровень прироста температуры фиксировали в области резонанса, при выходе за его пределы наблюдали падение эффективности нагрева порошка. Кинетика температурных кривых показывает прирост температуры с резким всплеском и последующей стабилизацией по мере выхода на насыщение.

Оценка скорости роста температуры порошков в режиме ферромагнитного резонанса и вне его представлена на рисунке 22.

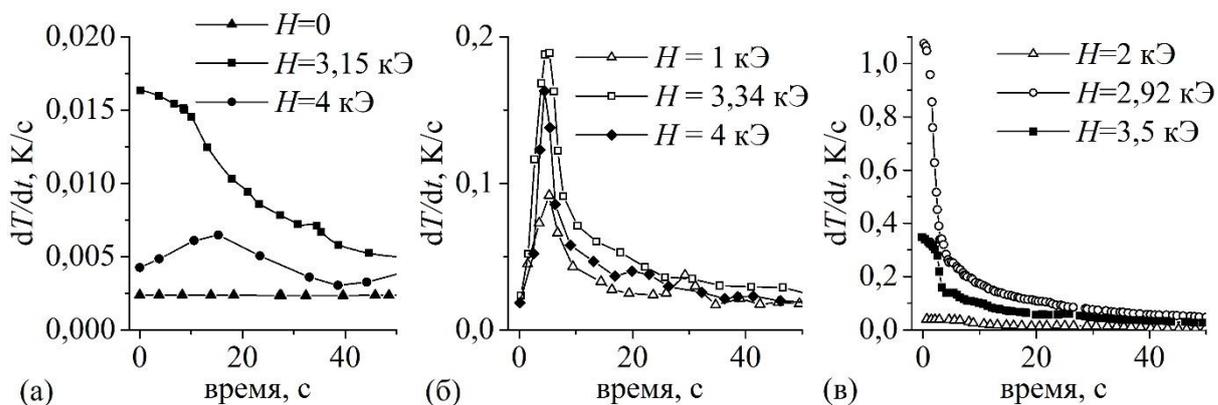


Рисунок 22. Скорость нагрева порошков гематита (а), ферригидрита (б) и маггемита (в) в различных магнитных полях при СВЧ накачке.

Как показано на рисунке 22, чем больше была температура ΔT_{max} , тем выше была и скорость нагрева. При этом нужно отметить, что именно в резонансном поле наблюдали как наибольшее увеличение температуры, так и наибольшую скорость роста температуры порошков. Наиболее эффективный нагрев в режиме ферромагнитного резонанса ~ 10 К при скорости нагрева 1 К/с показал маггемит γ - Fe_2O_3 . Результаты по нагреву для всех порошков приведены в таблице 3.

На рисунке 23 показан нагрев в зависимости от относительной мощности источника СВЧ для порошков ферригидрита и маггемита, характеризующихся достаточно высоким уровнем повышения температуры $\Delta T_{max} > 4$ К. Под достаточно высоким уровнем следует понимать повышение температуры от $37^\circ C$, то есть температуры тела, до как минимум $41^\circ C$, то есть температуры, при которой начинается гипертермия [56].

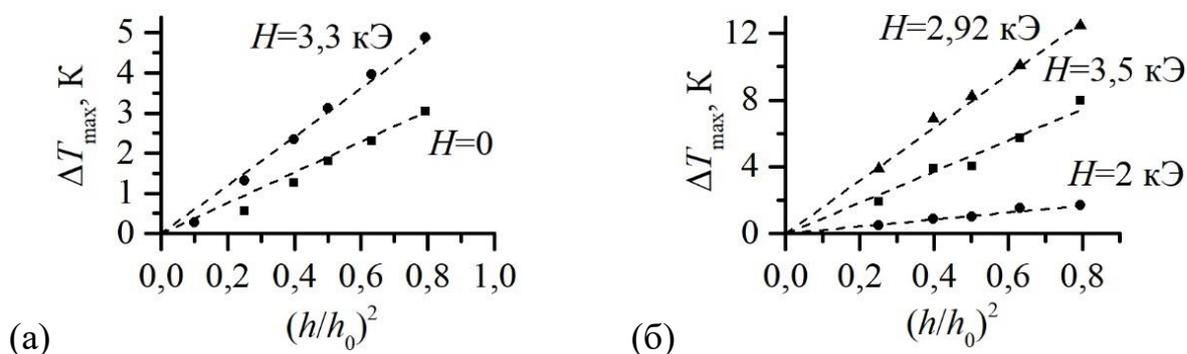


Рисунок 23. Нагрев в режиме ФМР, частота 8,9 ГГц, в зависимости от относительной мощности источника СВЧ, при различных магнитных полях для ферригидрита (а) и маггемита (б)

Рисунок 23 демонстрирует квадратичную зависимость величины нагрева в режиме ФМР порошков ферригидрита и маггемита от амплитуды поля, что согласуется с выражением (43).

Среди выбранных порошков – потенциальных медиаторов нагрева, маггемит показал наиболее значимый результат $\Delta T_{max} = 10$ К. Сравнивая магнитные свойства исследуемых порошков между собой, нужно отметить зависимость величины

нагрева порошков от такого параметра как намагниченность насыщения M_S . Чем выше был данный параметр, тем больший нагрев показывал порошок в режиме ФМР. Рассматривая другие характеристики порошков, нельзя не отметить вклад в нагрев в режиме ФМР таких параметров как размер частиц d и величина коэрцитивного поля H_c , и хотя определить как влияют эти параметры на нагрев порошка в режиме ФМР пока не удалось, можно сказать что выведен ряд зависимостей вида: $\Delta T_{max} \sim (M_S)$; $dT/dt \sim 1/H_c$ [157-159].

3.2 Магнитные свойства и нагрев в режиме ФМР порошков феррита никеля и феррита кобальта

Как было показано ранее, наиболее подходящим медиатором нагрева для ФМР-гипертермии являются порошки с сильными магнитными свойствами. Известно, что легирование способно изменять магнитные свойства частиц. Для выявления магнитных свойств, влияющих на нагрев в режиме ФМР, использовали магнитомягкий и магнитожесткий материалы – феррит кобальта и феррит никеля соответственно.

Для определения температуры порошков использовали термопару Т-типа. Определение структуры и состава порошков проводили, используя методы электронной микроскопии, мёссбауэровской спектроскопии. Поведение порошков в режиме ФМР изучали, оценивая спектры поглощения и нагрев. Ниже, на рисунке 24, представлены микрофотографии, дифракция и распределение по размерам.

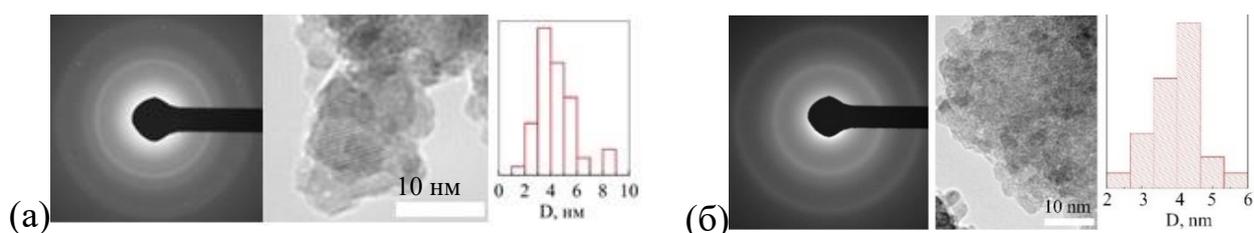


Рисунок 24. Микрофотография, дифракция, распределение по размерам частиц феррита кобальта (а) и феррита никеля (б).

Как показано на рисунке 24, для феррита кобальта средний размер частиц составлял порядка 4-6 нм, для феррита никеля около 4-5 нм.

Ниже, на рисунке 25, показаны мёссбауэровские спектры феррита никеля и феррита кобальта на шкале больших скоростей при комнатной температуре. Феррит никеля показывает квадрупольный дублет (парамагнитное состояние) без видимой примеси секстета (магнито-упорядоченной фазы). Мёссбауэровский спектр порошка феррита кобальта при комнатной температуре характеризовался дополнительным очень широким секстетом. Температура блокировки данного состояния близка к 300К.

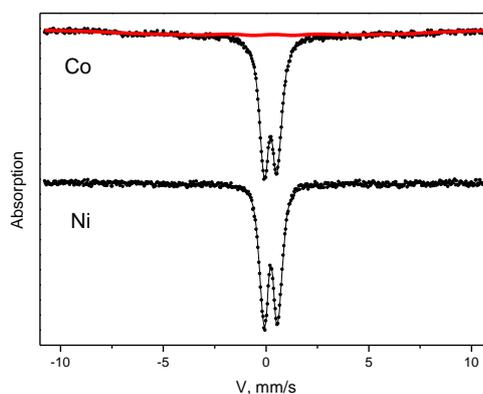


Рисунок 25 Мёссбауэровские спектры $(\text{Ni,Fe})_3\text{O}_4$ и $(\text{Co,Fe})_3\text{O}_4$ на шкале больших скоростей при комнатной температуре. Красной линией показано присутствие секстета в спектре феррита кобальта.

Этот секстет свидетельствует о том, что в образце присутствует почти непрерывный набор позиций железа с величинами сверхтонких полей от 340 до 430 кЭ, что можно оценить из ширины внешних линий секстета.

Ниже, на рисунке 26 приведены спектры, измеренные на шкале малых скоростей. На рисунке 27 приведены спектры измеренные при 4К. Спектр феррита никеля имеет относительно узкое распределение $P(QS)$ по сравнению с образцом феррита кобальта. Это не удивительно, так как при формировании феррита-шпинели Ni стремится занять только октаэдрические позиции. В случае феррита

кобальта Co может занимать тетраэдрические и октаэдрические позиции, тем самым обеспечивая большое число неэквивалентных по своему ближайшему окружению позиций железа.

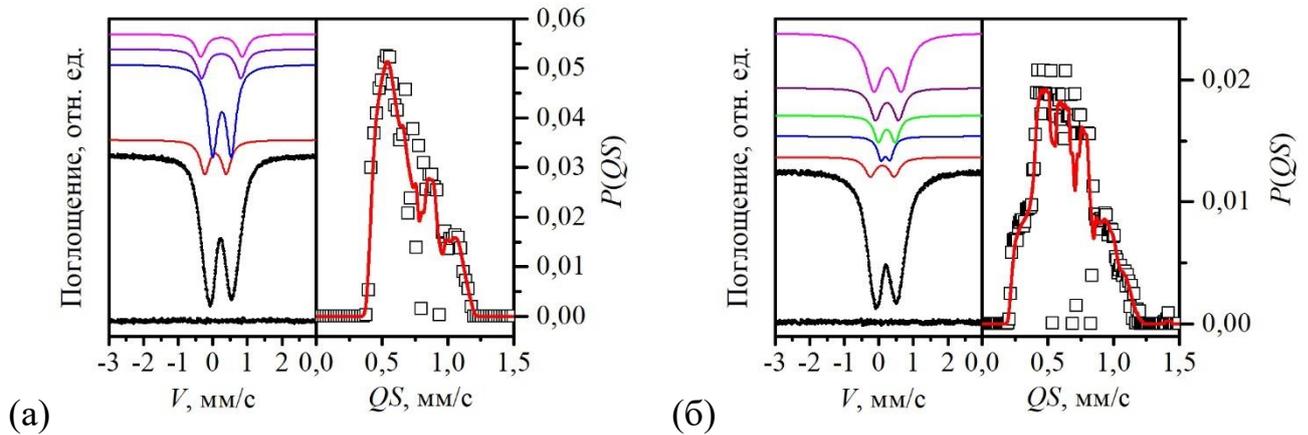


Рисунок 26. Мёссбауэровский спектр $(\text{Ni,Fe})_3\text{O}_4$ (а) и $(\text{Co,Fe})_3\text{O}_4$ (б) при комнатной температуре на шкале малых скоростей и распределение вероятности квадрупольных расщеплений.

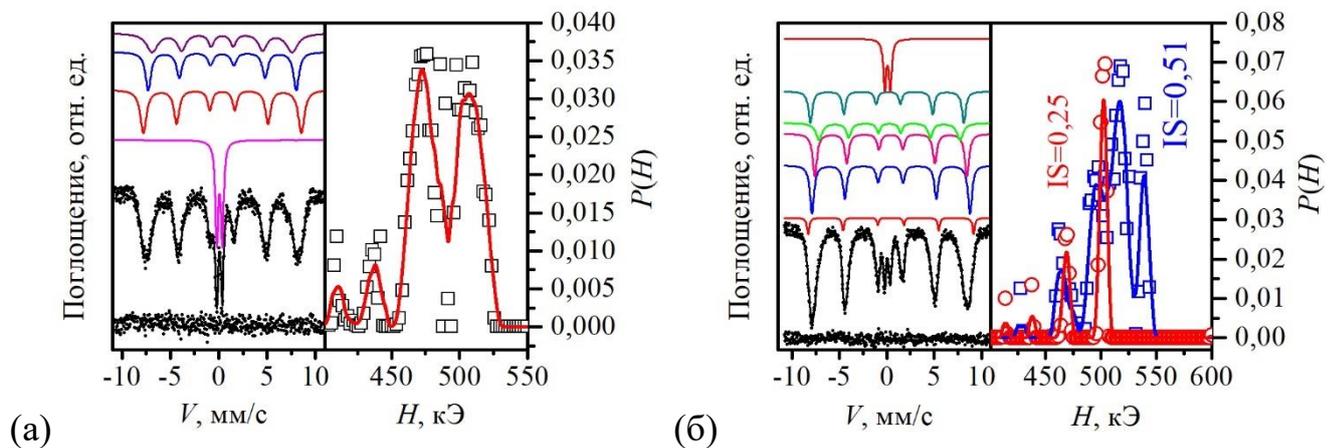


Рисунок 27. Мёссбауэровский спектр $(\text{Ni,Fe})_3\text{O}_4$ (а) и $(\text{Co,Fe})_3\text{O}_4$ (б) при 4К.

Мёссбауэровские параметры неэквивалентных позиций железа, обнаруженных в этих образцах, сведены в таблице 4. Если эти результаты рассматривать с точки зрения структуры шпинели, то позиции, имеющие химический сдвиг меньше 0,3 мм/с, мы должны отнести к тетраэдрическим

позициям, а более 0,3 мм/с – к октаэдрическим. Вероятно, мы имеем набор nano образований с нарушенной смешанной координацией по кислороду. Величины химических сдвигов свидетельствуют о том, что железо находится в состоянии Fe^{3+} .

Таблица 4. Мёссбауэровские параметры $(Ni,Fe)_3O_4$ и $(Co,Fe)_3O_4$ при 300К и 4К.

T, K		IS, мм/с	H, кЭ	QS, мм/с	W, мм/с	A, отн. ед.
300	$(Ni,Fe)_3O_4$	0,19	-	0,62	0,32	0,17
		0,37	-	0,54	0,33	0,47
		0,38	-	0,82	0,30	0,24
		0,36	-	1,20	0,35	0,13
	$(Co,Fe)_3O_4$	0,21	-	0,69	0,38	0,08
		0,30	-	0,26	0,26	0,06
		0,34	-	0,49	0,31	0,08
		0,35	-	0,67	0,38	0,12
		0,36	-	0,80	0,56	0,32
		0,46	385	0	1,87-5,22	0,34
4	$(Ni,Fe)_3O_4$	0,48	509	0,02	0,54-0,77	0,32
		0,47	477	0	0,68	0,26
		0,47	451	0	0,69-1,41	0,25
		0,19	-	0,56	0,34	0,17
	$(Co,Fe)_3O_4$	0,55	544	0	0,21-0,29	0,05
		0,54	520	0,08	0,47-0,51	0,28
		0,54	500	0	0,50-0,54	0,26
		0,41	464	0	0,44-0,79	0,15
		0,21	505	-0,24	0,41-0,49	0,17
		0,20	-	0,58	0,46	0,10

Как показано на рисунке 27 (б) в образце феррита кобальта обнаруживается меньшее число неэквивалентных позиций железа по сравнению с ферритом никеля. При этом по величинам химических сдвигов невозможно разделить тетраэдрические и октаэдрические позиции. Результаты расшифровки спектров приведены в таблице 4.

На рисунке 28 показаны кривые ферромагнитного резонанса, снятые при комнатной температуре при частоте источника 8,9 ГГц.

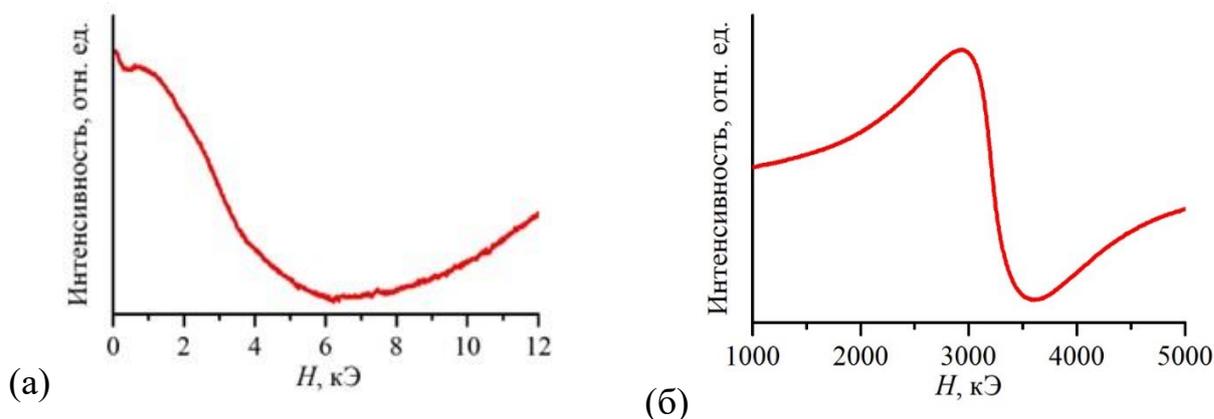


Рисунок 28. Спектр ФМР при частоте источника 8,9 ГГц, феррита кобальта (а) и феррита никеля (б) при комнатной температуре.

Для феррита кобальта при температурах ниже комнатной ФМР не наблюдали. Для свежеприготовленного порошка CoFe_2O_4 оформление половины кривой ФМР с резонансным полем $H_p=0\text{Э}$ происходит при комнатной температуре. Половина ширины линии резонансного поглощения при $T=300\text{К}$ составляет $\Delta H/2 \approx 6\text{кЭ}$, как это видно на рисунка 28 (а).

Ниже, на рисунке 29, показаны кинетические кривые нагрева порошков в режиме ФМР при частоте источника 8,9 ГГц, в различных магнитных полях. Для феррита никеля, как показано на рисунке 29 (б), в резонансном постоянном магнитном поле нагрев частиц составлял $\Delta T_{max} = 14\text{ К}$ при напряженности поля $H = 3,1\text{ кЭ}$. В нулевом поле, только при воздействии СВЧ-поля, нагрев $\Delta T = 5\text{ К}$, что говорит о резонансном характере нагрева.

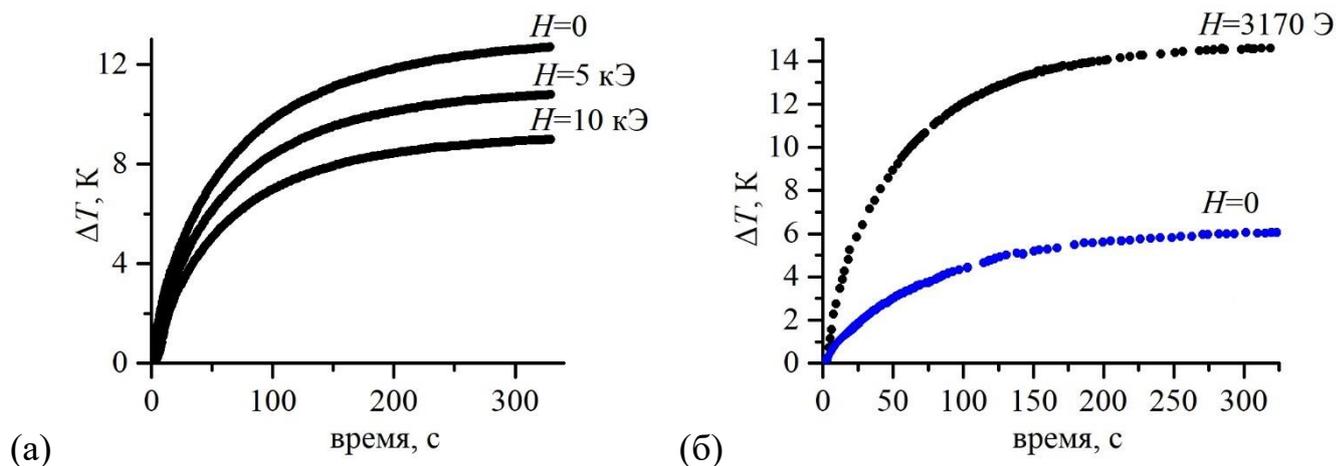


Рисунок 29. Нагрев в режиме ФМР порошков ферритов кобальта (а) и никеля (б)

В случае феррита кобальта, как это показано на рисунке 29 (а), наблюдали значительный нагрев $\Delta T_{max} = 13 \text{ К}$ в нулевом магнитном поле, а при его включении и повышении уровня напряженности поля наблюдали снижение величины нагрева. Объяснить это явление можно наличием собственного поля анизотропии [10] в частицах, которого при накачке СВЧ на частоте $f = 8,9 \text{ ГГц}$ оказывается достаточно для наблюдения ферромагнитного резонанса. Внутреннее поле частиц при этом можно представить как $\Delta = f/\gamma \approx 3 \text{ кЭ}$ (гиромагнитное отношение $\gamma = 2,9 \text{ ГГц/кЭ}$). Это явление известно, как естественный ферромагнитный резонанс [10].

3.3 Магнитные свойства и нагрев в режиме ФМР отожженных порошков феррита никеля и феррита кобальта

Термообработка исследуемых ферритов осуществлялась при температуре 700°C в течение 5 часов. Термообработка привела к увеличению размера частиц.

Определение структуры и состава порошков проводили, используя методы электронной микроскопии, мёссбауэровской спектроскопии. Магнитные свойства порошков определяли с помощью вибрационной магнитометрии. Поведение порошков в режиме ФМР изучали, оценивая спектры ФМР и нагрев, что показано в работе [160]. Для измерения температуры использовали термопару Т-типа. Ниже,

на рисунке 30, представлены микрофотографии, дифракция и распределение по размерам.

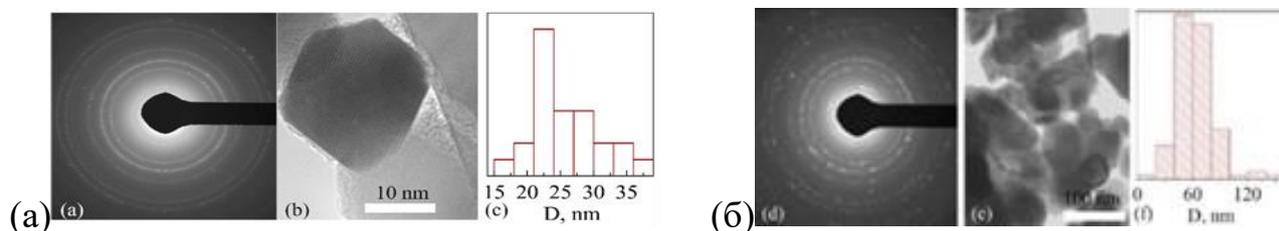


Рисунок 30. Микрофотография, дифракция, распределение по размерам частиц феррита кобальта (а) и феррита никеля (б) после отжига.

Средний размер порошков после отжига составлял для феррита кобальта 20-25 нм, для феррита никеля 60 нм. На рисунке 31 приведены спектры ЯГР изучаемых порошков при комнатной температуре. В таблице 5 приведены результаты расшифровки спектров.

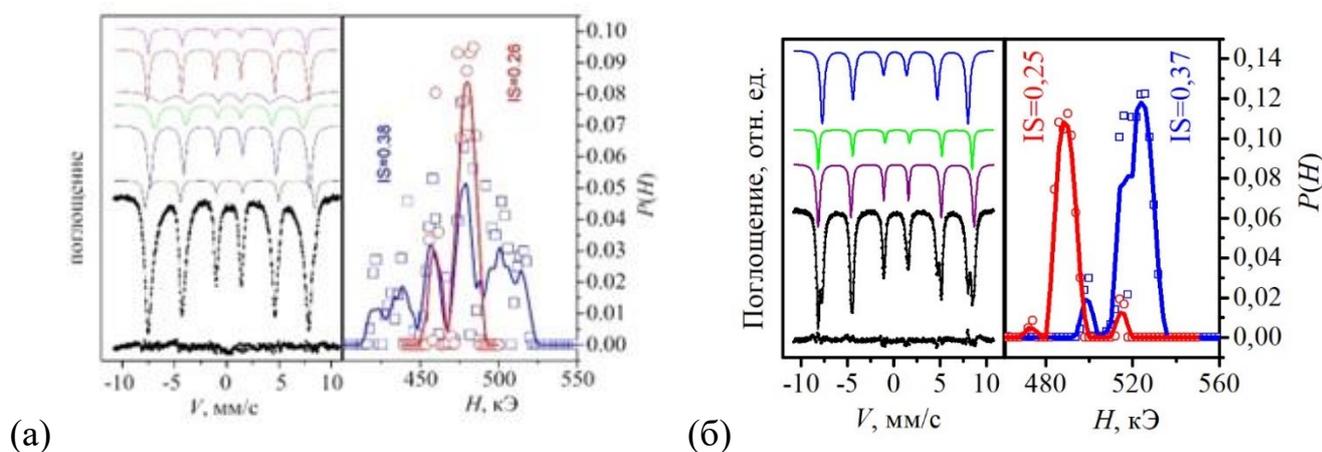


Рисунок 31. Мёссбауэровский спектр отожженных феррита кобальта (а) и феррита никеля (б) при комнатной температуре, распределение вероятности сверхтонких полей на ядрах железа в тетраэдрических (красная линия) и в октаэдрических позициях (синяя линия).

Спектры феррита никеля и феррита кобальта представляют собой секстеты, соответствующие структуре обращенной шпинели, как показано на рисунке 31.

Выполненный расчет распределения вероятности квадрупольных расщеплений и сверхтонких полей позволил определить, как были распределены позиции железа в образцах, после чего для каждого порошка был сформирован модельный спектр. Подгонку модели проводили, варьируя набор сверхтонких параметров (методом наименьших квадратов (МНК) с линейным приближением).

Согласно полученным результатам, было определено, что и в феррите никеля, и в феррите кобальта заряд железа равен $3+$. Распределение железа по тетраэдрическим и октаэдрическим позициям показано на рисунке 31, и также отображено в таблице 5. Согласно полученным результатам, можно представить формулу отожженного феррита кобальта как: $(\text{Co}_{0,36}\text{Fe}_{0,64})[\text{Co}_{0,64}\text{Fe}_{1,36}]\text{O}_4$. Кобальт и железо по кристаллической решетке распределены хаотически, о чем свидетельствует множественность секстетов.

Таблица 5. Мёссбауэровские параметры отожженного феррита кобальта и феррита никеля при 300 К.

IS, мм/с $\pm 0,005$	H_{hf} , кЭ ± 2	QS, мм/с $\pm 0,02$	W, мм/с $\pm 0,02$	A, отн. ед. $\pm 0,03$	Позиция
Феррит кобальта отожженный					
0,40	505	0,12	0,29-0,50	0,12	$\text{Fe}^{3+}(\text{B})$
0,37	474	0,02	0,52	0,20	$\text{Fe}^{3+}(\text{B})$
0,36	450	0	0,44-0,79	0,16	$\text{Fe}^{3+}(\text{B})$
0,35	420	-0,12	0,62-1,63	0,20	$\text{Fe}^{3+}(\text{B})$
0,28	485	0	0,43	0,18	$\text{Fe}^{3+}(\text{A})$
0,22	472	-0,10	0,27-0,52	0,14	$\text{Fe}^{3+}(\text{A})$
Феррит никеля отожженный					
0,37	524	-0,01	0,26-0,46	0,39	$\text{Fe}^{3+}(\text{B})$
0,38	518	-0,46	0,27	0,14	$\text{Fe}^{3+}(\text{B})$
0,26	490	0	0,48	0,47	$\text{Fe}^{3+}(\text{A})$

Отожженный феррит никеля соответствует формуле $(\text{Fe})[\text{Ni}_{0,94}\text{Fe}_{1,06}]\text{O}_4$ никель и железо распределены неупорядоченно, о чем свидетельствуют дополнительные позиции в В-подрешетке. При этом необходимо отметить наличие фазы гематита (16%) в образце, в октаэдрических позициях.

На рисунке 32 приведены температурные петли гистерезиса для порошков феррита никеля и феррита кобальта, снятые при различных температурах. Петли гистерезиса являются типичными для магнитомягкого феррита никеля и магнито жесткого феррита кобальта. В случае феррита кобальта только при температурах $T=297$ К была получена общая петля и определена коэрцитивная сила. При температурах ниже 297 К петли были частными. Результаты измерения представлены в таблице 6.

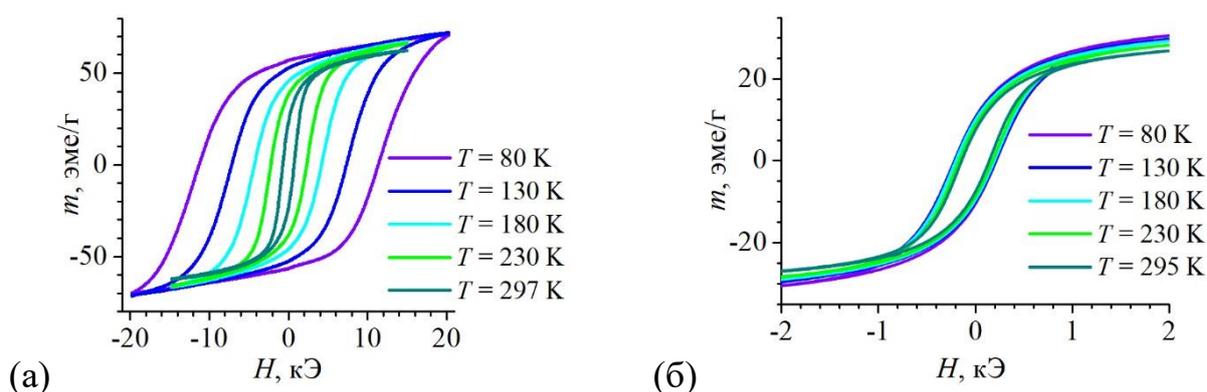


Рисунок 32. Петли гистерезиса при различной температуре отожженного порошка феррита кобальта (а) и феррита никеля (б).

На рисунке 33 приведены кривые ферромагнитного резонанса для отожженных порошков феррита никеля и феррита кобальта, записанные при разных температурах.

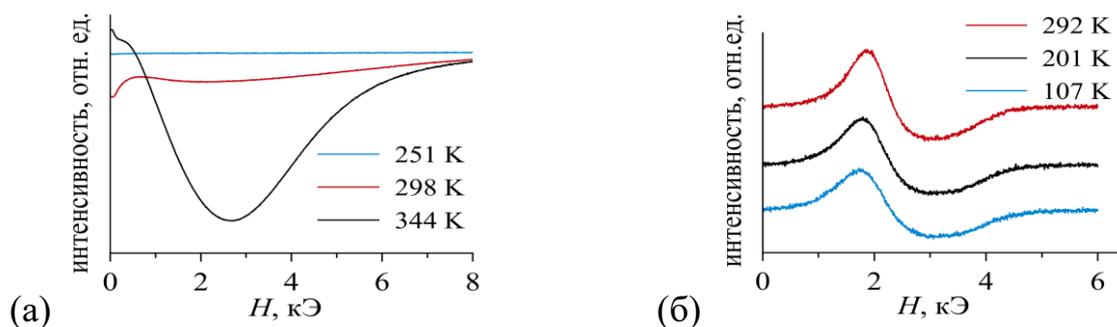


Рисунок 33. Спектры ФМР, снятые при различной температуре, при частоте источника СВЧ 8,9 ГГц для отожженного порошка феррита кобальта (а) и феррита никеля (б).

Резонансное магнитное поле для феррита никеля незначительно увеличивается с ростом температуры, как показано на рисунке 33 (б). Измерения для феррита кобальта (рис. 33а) свидетельствуют о том, что поглощение СВЧ энергии порошков в режиме ФМР отсутствует практически до комнатных температур, что связано с магнитожесткостью данного феррита и коррелирует с петлями гистерезиса. Половина ширины линии резонансного поглощения при $T=344\text{K}$ (при данной температуре произошло оформление половины кривой ФМР) составляет $\Delta H/2 \approx 3\text{кЭ}$. Высокие значения ширины линии ФМР для кобальтового феррита определяются концентрационной неоднородностью распределения катионов кобальта и железа, о чем свидетельствуют мессбауэровские исследования. Оформление кривой ФМР при комнатной температуре с резонансным полем $H_p=0\text{Э}$ обусловлено естественным ферромагнитным резонансом в поле анизотропии частиц. Внутреннее поле можно оценить по формуле $\Delta = f/\gamma \approx 3\text{кЭ}$. Ниже, в таблице 6, приведены магнитные свойства феррита никеля и феррита кобальта.

Таблица 6. Магнитные свойства порошков отожженных порошков феррита никеля и феррита кобальта.

Образец	D , нм	ρ , г/см ³	H_C , Э	M_S , эме/г	H_R , кЭ	ΔT_{\max} , К
Феррит никеля	60	5,3	141	34	2,29	8,2

Феррит кобальта	23	5,2	720	64	0	10
--------------------	----	-----	-----	----	---	----

Ниже, на рисунке 34, показаны кинетические кривые нагрева порошков в режиме ФМР при частоте источника 8,9 ГГц в различных магнитных полях.

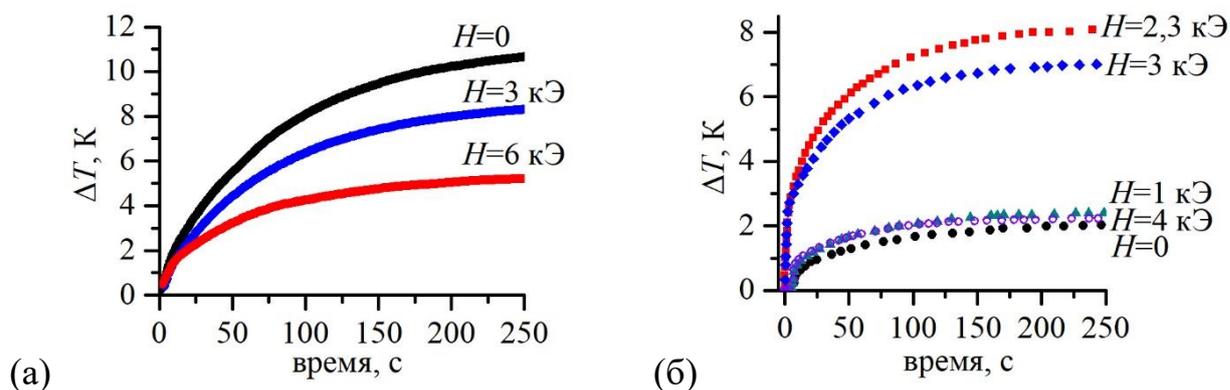


Рисунок 34. Нагрев в режиме ФМР отожженных порошков феррита кобальта (а) и феррита никеля (б) в различных магнитных полях, частота источника СВЧ 8,9 ГГц.

Для феррита кобальта, как видно из рисунка 34 (а), в нулевом магнитном поле нагрев был максимален $\Delta T_{max} = 11$ К, при включении магнитного поля, по мере его увеличения, температура нагрева частиц уменьшалась, что согласуется с ранее полученными результатами для исходного порошка феррита кобальта.

Для феррита никеля, рисунок 34 (б), в резонансном постоянном магнитном поле $H = 2,29$ кЭ нагрев частиц составлял $\Delta T_{max} = 8$ К, в нулевом поле, только при воздействии СВЧ-поля, нагрев $\Delta T = 2$ К, что говорит о резонансном характере нагрева.

3.4 Исследование частотно-полевых характеристик феррита никеля в исходном состоянии и после отжига

Ранее было показано, на примере феррита кобальта, такое явление как естественный ферромагнитный резонанс. Нужно отметить, что использование

этого явления позволит в будущем как упростить условия для реализации режима ФМР за счет отсутствия необходимости в создании постоянного магнитного поля, так и масштабировать методику для более крупных объектов. Для применения естественного ферромагнитного резонанса, однако, необходимо проводить исследование частотно-полевых характеристик порошков и поиск закономерностей и параметров, влияющих на частоту естественного ФМР.

В данном параграфе проводится сравнение частотно-полевых характеристик феррита никеля в исходном и отожженном виде. Было измерено, как меняется магнитная проницаемость μ' феррита никеля при изменении частоты. Подобраны частоты и значения напряженности постоянного магнитного поля для выявления условий для реализации ферромагнитного резонанса, а также был проведен поиск для каждого из образцов резонансной частоты для нулевого магнитного поля, для выявления естественного ферромагнитного резонанса. Результаты представлены в работах [161, 162].

На рисунке 35 приведены рентгенограммы образцов. Обработку результатов проводили с помощью программного комплекса TOPAS 6, оценивая размер частиц посредством полнопрофильного уточнения Ритвельда, с эталоном – Si.

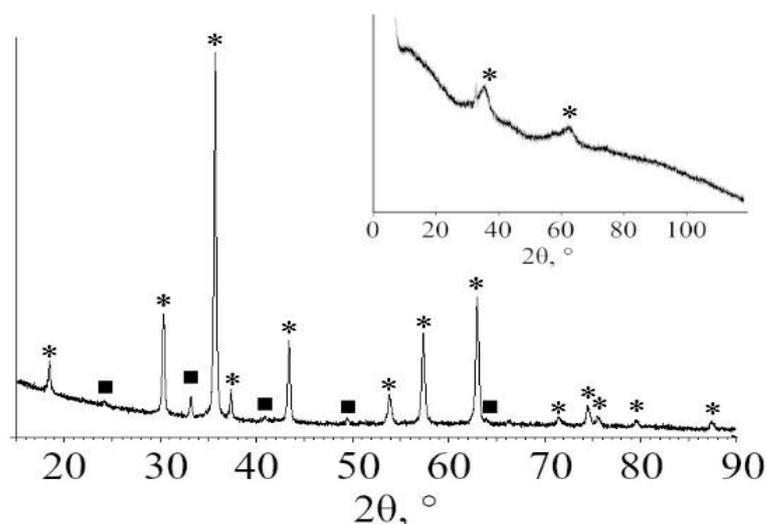


Рисунок 35. Дифрактограмма отожженного феррита никеля и исходного феррита никеля (на вставке). * – феррит никеля, ■ – гематит.

Данные рентгенограммы (рисунок 35) подтверждают ранее полученные результаты мёссбаэровской спектроскопии (рисунки 26-27) о наличии в отожженном феррите никеля фазы гематита. По данным рентгенограммы включение фазы гематита достигало 5%.

На рисунке 36 представлено распределение спектров поглощения СВЧ-энергии порошков феррита никеля в исходном и отожженном состоянии.

На рисунке 37 можно наблюдать изменение магнитной проницаемости в различных магнитных полях при изменении частоты для образцов в исходном и отожженном состоянии. Также были определены частота и напряженность магнитного поля для реализации ферромагнитного резонанса для обоих порошков. Как показано на рисунке 37 (г), частота естественного ферромагнитного резонанса для отожженного феррита никеля составляла $f_0 \approx 4$ ГГц. Величина гиромагнитного соотношения составляла $\gamma = 1,6 \cdot 10^7$ Гц/Э. Расчет был произведен с использованием выражения: $f(H) = f_0 + (\gamma H)/2\pi$. На вставке рисунка 37 (б) приведена зависимость ширины кривой поглощения Δf от резонансной частоты. На кривой наблюдается минимум при частоте 1,3 ГГц. Для исходного феррита никеля $f_0 = 0$, что указывает на суперпарамагнитное состояние порошка, $\gamma = 1,8 \cdot 10^7$ Гц/Э, как это показано на рисунке 37 (б). Аппроксимация прямой была выполнена с учетом выражения: $\omega_0 = \gamma H_{eff} = \gamma H$. Наблюдали отклонение от прямой при малой напряженности поля и частоте, что может быть связано с ростом параметра затухания α . Используя выражение (39), можно определить параметр затухания [10]. На рисунке 38 приведена полученная зависимость параметра α от величины напряженности магнитного поля для исходного феррита никеля.

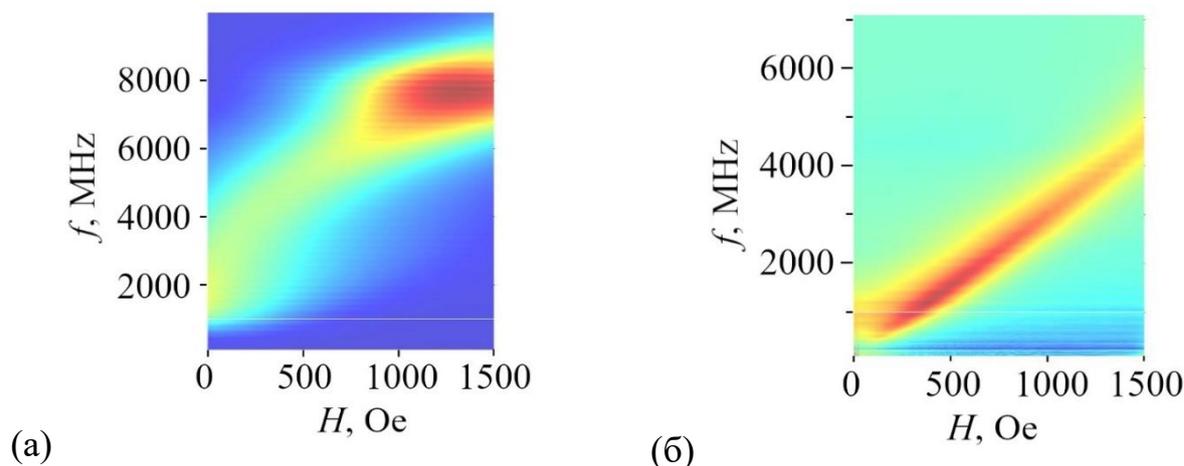


Рисунок 36. Распределение спектров поглощения СВЧ-энергии порошков феррита никеля в исходном (а) и отожженном (б) состоянии при развертке постоянного магнитного поля.

Частота релаксации ω_{rel} определяется с помощью выражения $\omega_{rel} = 2\pi f_{rel} = \alpha\gamma H_{eff}$. Используя данную формулу, можно определить релаксационную частоту f_{rel} , построив зависимость $\alpha(1/\gamma H)$, как это показано на рисунке 38 (вставка). Для образца феррита никеля в его исходном состоянии, релаксационная частота оказалась равна $f_{rel} = 1,3$ ГГц. Релаксационная частота в ферромагнитном резонансе подразумевает собой смену механизма поглощения энергии с резонансного на релаксационный, при изменении условия с $\alpha \sim 0,1 \ll 1$ на $\alpha > 1$. Таким образом, смена режима поглощения СВЧ энергии при $f_{rel} = 1,3$ ГГц проявилась как на частотно-полевой зависимости $f(H)$, так и на релаксационной зависимости $\Delta f(f)$.

Феррит никеля в отожженном состоянии (рисунок 37 (г)) соответствует условию $\alpha \sim 0,1 \ll 1$, и мы наблюдаем резонансный механизм поглощения энергии $\omega > \omega_{rel}$, в исходном же состоянии (рисунок 37 (б)) выполняется условие $\alpha > 1$, и тогда начинает работать релаксационный механизм поглощения энергии $\omega < \omega_{rel}$.

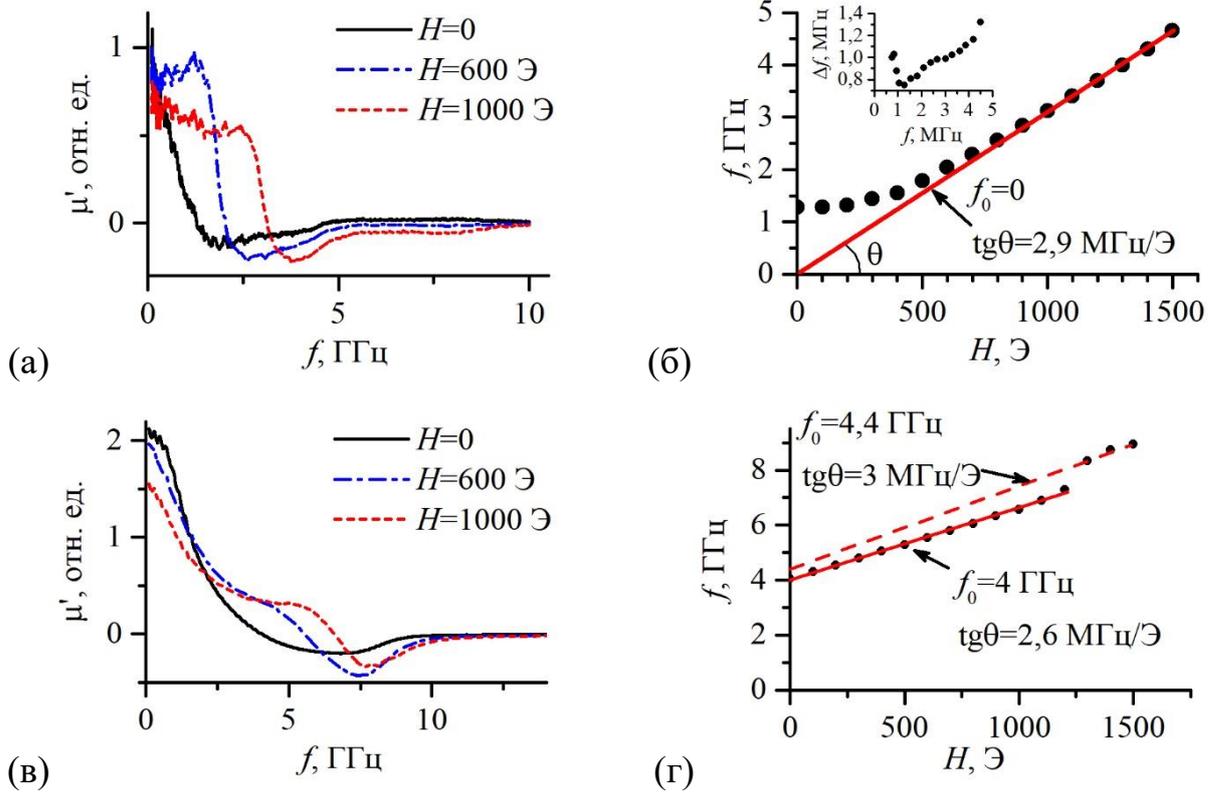


Рисунок 37. Изменение магнитной проницаемости в различных магнитных полях, при изменении частоты, для феррита никеля и феррита кобальта в исходном (а) и отожженном (в) состоянии и реализация условий для ферромагнитного резонанса для феррита никеля и феррита кобальта в исходном (б) и отожженном (г) состоянии

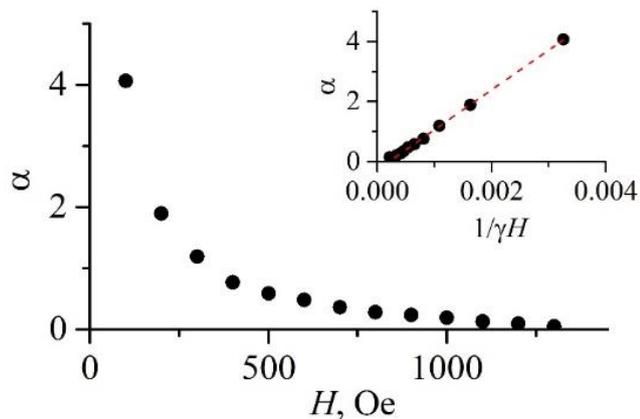


Рисунок 38. Исходный феррит никеля, изменение параметра затухания при увеличении напряженности постоянного магнитного поля. На вставке показана зависимость вида: $\alpha(1/\gamma H)$.

Наблюдаемая на рисунке 37 (г) особенности в высокочастотной области ($f > 8$ ГГц) частотно-полевой зависимости возможно обусловлено наличием в составе отожженного порошка феррита никеля примесной фазы гематита, что обсуждалось в работах [161, 162].

На рисунке 39 показано изменение температуры феррита никеля в исходном состоянии и после отжига при СВЧ накачке, при различном уровне напряженности магнитного поля. Нагрев в резонансном магнитном поле при СВЧ-накачке достигал для исходного феррита никеля $\Delta T_{max} = 5$ К, для отожженного феррита никеля нагрев был равен $\Delta T_{max} = 8$ К. Вне поля исходный образец грелся до $\Delta T_{max} = 1$ К, отожженный – до $\Delta T_{max} = 2$ К.

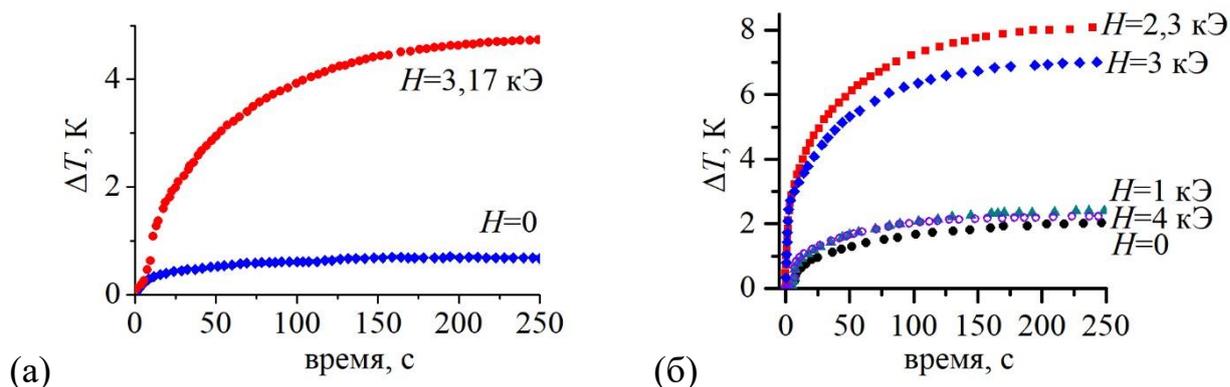


Рисунок 39. Нагрев в режиме ФМР порошка феррита никеля исходного (а) и после отжига (б), частота источника СВЧ 8,9 ГГц, в различных магнитных полях.

На рисунке 40 приведены скорости возрастания температуры образцов в резонансном поле и при его отсутствии.

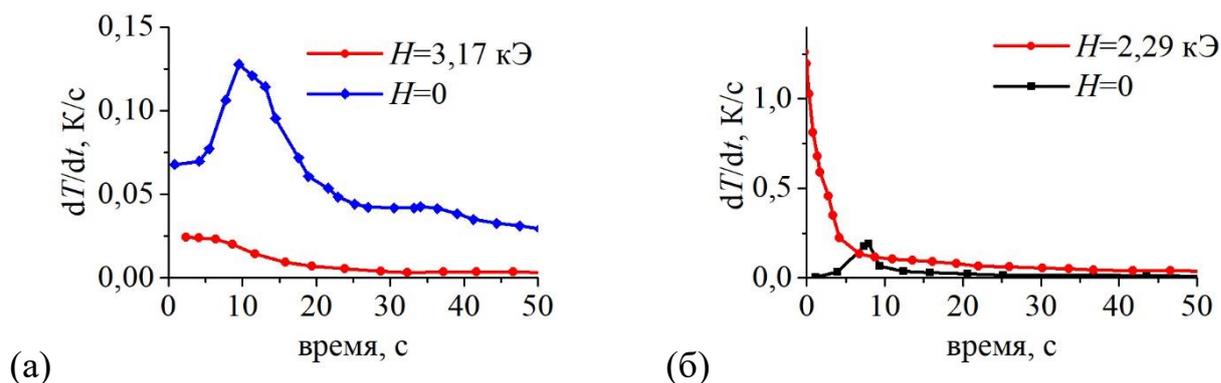


Рисунок 40. Скорость роста температуры в режиме ФМР порошка феррита никеля исходного (а) и после отжига (б) в различных магнитных полях при СВЧ накачке.

Чем выше был эффект нагрева, тем выше была и скорость нагрева. Так, для исходного феррита никеля скорость роста температуры составляла 0,13 К/с, в то время как отожженный феррит никеля демонстрировал скорость роста температуры порядка 1,2 К/с. Намагниченность насыщения M_S при комнатной температуре свежеприготовленных порошков составляла 5 эме/г. После отжига произошло увеличение намагниченности до 34 эме/г [160].

Таким образом, была не только найдена частота естественного ферромагнитного резонанса для феррита никеля, но также анализ частотно-полевых характеристик порошка показал, что естественный ферромагнитный резонанс может характеризоваться как резонансным, так и релаксационным механизмом поглощения энергии СВЧ-поля, зависящим от параметра затухания (α), что согласуется с выражением (39). Величина нагрева и скорость при этом определяется намагниченностью.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ТАРГЕТНОЙ КОМПОЗИЦИИ В РЕЖИМЕ ФМР ГИПЕРТЕРМИИ НА КЛЕТКИ МОДЕЛЬНОЙ ОПУХОЛИ

4.1 Разработка таргетной композиции

Ранее был продемонстрирован широкий спектр порошков, пригодных для использования в ФМР гипертермии в качестве медиаторов нагрева. Следующим этапом работы является создание таргетной композиции (ТК), пригодной для использования в биомедицине. ТК должна отвечать ряду требований, таким как низкая токсичность, малые размеры и возможность связывания с целевыми клетками [87, 137].

Структуру ТК можно представить себе как ядро, представляющее собой магнитную наночастицу, покрытое инертным материалом. Подобная структура позволяет существенно снизить токсичность. В свою очередь к оболочке этого ядра можно прикрепить средство доставки, представляющее собой антитело или аптамер, комплементарный целевой клетке, что и сделает подобную композицию таргетной. Таким образом, на оболочке должны быть функциональные группы, к которым можно присоединить антитело/аптамер, нацеленный на определенный тип клеток [127].

Как можно видеть, сама по себе задача создания таргетной композиции является комплексной и весьма вариативной. При этом также необходимо учесть влияние покрытия на свойства частицы, в том числе и магнитные.

В качестве ядра ТК были выбраны частицы магнетит-маггемитового ряда γ - Fe_2O_3 . При этом в режиме ФМР демонстрирует высокий уровень нагрева, около $\Delta T = 10$ К, достаточный для гипертермии.

Необходимо отметить, что отличить порошок маггемита γ - Fe_2O_3 от магнетита Fe_3O_4 достаточно сложно в силу близости параметров их кристаллических решеток. Так, в работе [163] показано, что частицы оксида железа размером более 60 нм имеют кристаллическую структуру и проявляют физические свойства объемного

магнетита. Наночастицы оксида железа меньшего диаметра представляют собой нестехиометрическое соединение смеси магнетит-маггемит с кристаллохимической формулой $\text{Fe}^{3+}[\text{Fe}^{2+}_{1-3n}\text{Fe}^{3+}_{1+2n}\phi_n]\text{O}_4$, где ϕ — обозначение вакансий, n — формульный коэффициент. При размере частиц менее 10 нм преобладает фаза маггемита (доля вакансий 10,7%). В нашем случае средний размер частиц не превышал 10 нм, следовательно, преобладала фаза $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$. В силу этих особенностей, корректней считать эти частицы частицами магнетит-маггемитового ряда.

Для получения порошка использовали соли железа FeCl_3 и FeCl_2 в молярном соотношении 2:1 в водном растворе. Для этого 500 мг смеси солей растворяли в 92 мл дистиллированной воды и перемешивали на механической мешалке в течение 10 минут. Затем в раствор вводили 8 мл 25% раствора водного аммиака и инкубировали при постоянном перемешивании еще 30 минут. Конечное значение рН после внесения водного аммиака составляло 10-11. Полученный магнитный осадок собирали при помощи неодимового магнита и отмывали дистиллированной водой до нейтрального рН (4 раза по 100 мл) [164].

Для покрытия частиц оксидом кремния ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$), что необходимо для обеспечения инертности, биосовместимости и предотвращения окисления порошка [95], брали 20 мг наночастиц и приводили во взвешенное состояние (суспендировали) в смеси этанол : вода (9:1) и подвергали ультразвуковой дезагрегации в течение 3 минут на ультразвукователе УЗТА-0,4/22-ОМ «Волна» (Центра ультразвуковых технологий, Россия). Затем при непрерывном механическом перемешивании в суспензию по каплям вносили 500 мкл ТЭОС. Инкубировали при комнатной температуре, не прекращая перемешивание, 3 часа. Полученные частицы трижды отмывали дистиллированной водой. Осадок наночастиц $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ собирали с применением магнита, супернатант удаляли [164].

Функционализацию поверхности наночастиц $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ проводили в два этапа. На первом этапе частицы покрывались ТЭОС по протоколу, описанному выше, но

с использованием 350 мкл материала покрытия вместо 500 мкл. На втором этапе после отмывки полученных частиц их повторно ресуспендировали в смеси этанол : вода (соотношение 19 : 1) и при постоянном перемешивании при комнатной температуре по каплям вводили в смесь 80 мкл 3-аминопропилтриэтоксисилана (АПТЭС). Через несколько минут, когда смесь охлаждалась, ее помещали на водяную баню, и нагревали до 70°C в течение 30 минут при постоянном перемешивании и продолжали инкубировать еще 20 часов при перемешивании для завершения протекания реакции. Дополнительное использование АПТЭС необходимо для формирования силикатной оболочки, содержащей на поверхности свободные аминогруппы NH₂ [164]. Поверхность модифицированного покрытием ТЭОС+АПТЭС магнетита за счет функциональных NH₂-групп приобретает способность к связыванию с различными агентами, включая, но не ограничиваясь, агентами доставки [165]. Однако подобная модификация способна изменить свойства частиц.

Средний размер частиц оксида железа представлен в работе [166]. Размер частиц исходного порошка показан на рисунке 41 (а), оцененный из микрофотографий, составлял 8 нм. После обработки наночастиц ТЭОС, что показано на рисунке 41 (б), формировался композит γ -Fe₂O₃/SiO₂ типа “булка с изюмом”. Диаметр образующегося агломерата (“булка”) составлял около 50 нм. Размеры вкрапленных частиц γ -Fe₂O₃ (“изюм”) в композите γ -Fe₂O₃/SiO₂ составил 6 нм.

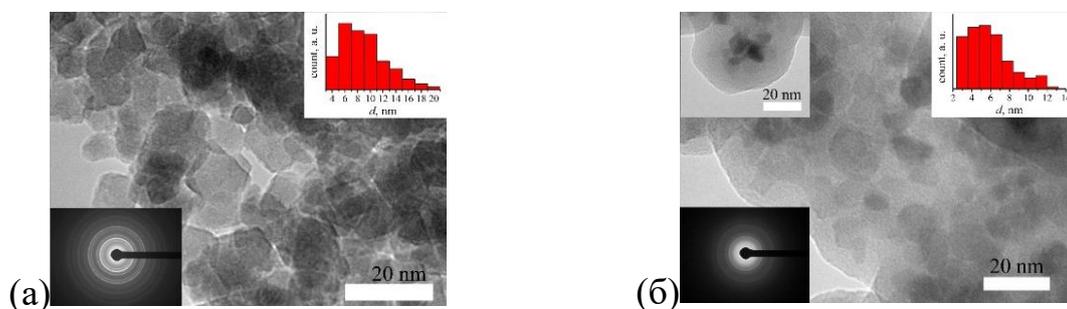


Рисунок 41. ПЭМ изображение порошков маггемита без покрытия (а) и покрытых ТЭОС (б) и их распределение по размеру, на вставке в левом верхнем углу показаны частицы после обработки ТЭОС и АПТЭС.

4.2 Исследование состава и магнитных характеристик таргетной композиции

С целью установления возможных изменений частиц $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ после модификации, были проведены исследования мёссбауэровских спектров частиц с покрытием из оксида кремния и без него, измерены петли гистерезиса и изучены спектры ферромагнитного резонанса, что показано в работе [165].

На рисунке 42 представлены мёссбауэровские спектры исследуемых образцов при 300 К. Результаты обработки спектров приведены в таблице 7. Здесь S1 и S2 – обнаруженные секстеты, D – квадрупольный дублет, R – релаксационная часть спектра. Согласно полученным результатам, можно сказать, что заряд железа составлял 3+. Данный результат говорит о наличии в образце фазы маггемита. Спектры имеют ярко выраженный релаксационный вид, что вероятнее всего связано с близостью температуры блокировки к комнатной температуре. Также стоит иметь в виду и межчастичные взаимодействия, которые могут присутствовать в образцах. Покрытие наночастиц в образцах оксидом кремния приводит к изменению доли суперпарамагнитного дублета. Изменение спектра частиц после покрытия обусловлено как уменьшением размера магнитных наночастиц, так и ослаблением межчастичного взаимодействия.

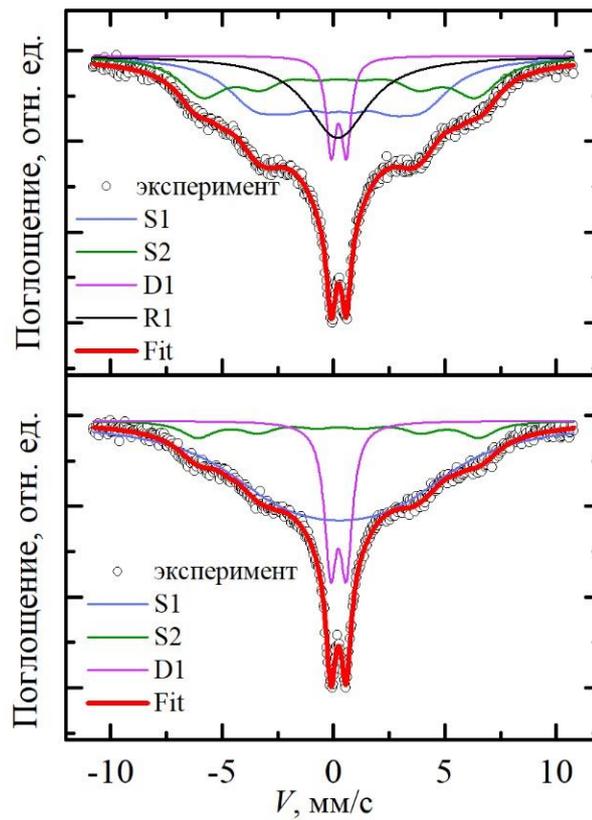


Рисунок 42. Мёссбауэровские спектры образцов при комнатной температуре: а – $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, б – $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$.

Таблица 7. Мёссбауэровские спектры порошков.

Порошок	Линия	IS, мм/с	H_{hf} ,	QS, мм/с	W, мм/с	dH, мм/с	A, $\pm 0,03$
		$\pm 0,005$	кЭ	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	отн. ед.
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	S1	0,380	234	-0,11	1,92	1,47	0,39
	S2	0,373	380	-0,01	2,51	1,94	0,230
	D	0,344	--	0,68	0,52		0,08
	R	0,309		0	3,39		0,23
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$	S1	0,376	200	-0,01	4,43	1,89	0,75
	S2	0,362	392	-0,10	1,78	0	0,10
	D	0,337	--	0,71	0,66		0,15

На рисунке 43 приведены петли гистерезиса изучаемых порошков $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ и $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$. В таблице 8 приведены магнитные характеристики порошков.

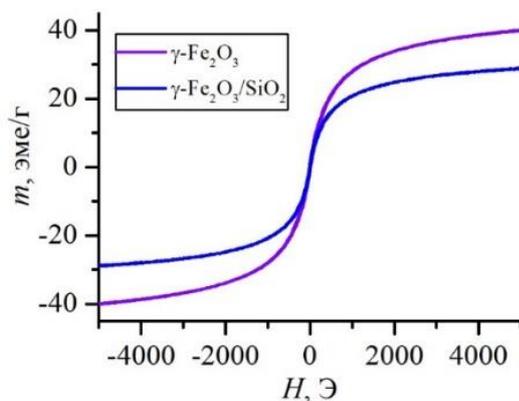


Рисунок 43. Петли гистерезиса порошков, записанные при комнатной температуре.

Величина коэрцитивного поля порошков с покрытием $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ уменьшилась в четыре раза и оказалась равна 3 Э. Уменьшение H_C обусловлено как уменьшением размера магнитных наночастиц, так и ослаблением межчастичного взаимодействия, что коррелирует с измерениями мёссбауэровской спектроскопии.

Таблица 8. Магнитные свойства порошков.

Порошок	H_C , Э	M_r , эмс/Г	M_S , эмс/Г	H_R , кЭ	ΔH , кЭ	ΔT_{\max} , К
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	14	1,3	47	2,8	0,56	10
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$	3	0,6	34	3,15	1,1	16

Измерения спектров ферромагнитного резонанса для порошков проводили в температурном диапазоне от 4 до 300 К, при частоте источника СВЧ 8,9 ГГц. Результаты приведены в работе [164]. Типичные кривые ФМР представлены на рисунке 44. На рисунке 45 приведены результаты обработки кривых ФМР.

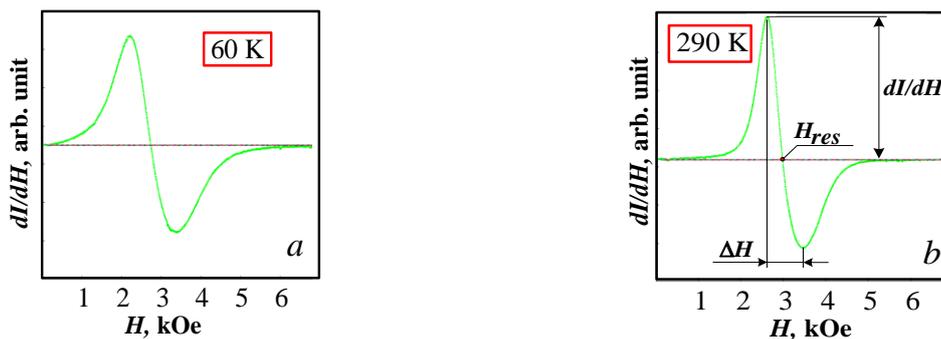


Рисунок 44. Экспериментальные ФМР спектры, измеренные для порошка $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ при 60 и 300 К.

Для порошка $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ на экспериментальных зависимостях $H_A(T)$ ($H_A = \omega/\gamma - H_T$), $\Delta H(T)$, а также на зависимости интенсивности $I(T)$ вблизи температуры $T=125$ К убедительно регистрируются особенности. Данная температура близка к температуре Вервея, характерной для фазы магнетита Fe_3O_4 . Экспериментальное наблюдение особенностей при $T=125$ К доказывает наше предположение о том, что изучаемые порошки представляют собой нестехиометрическое соединение смеси магнетит-маггемитового ряда. Также для этого порошка были определены характерные температуры блокировки низкотемпературной и высокотемпературной фазы магнетита, составившие 180 К и 240 К соответственно [156]. Для порошка $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ на температурной зависимости интенсивности $I(T)$ сигнала ФМР особенности при температуре Вервея также наблюдаются (рисунок 45 (з)).

Температура блокировки, при которой частицы становятся суперпарамагнитными, определялась нами по максимуму на зависимости $I(T)$. Для изучаемых порошков температура блокировки находится в диапазоне 215-220 К (рисунок 45 (ж, з, и)).

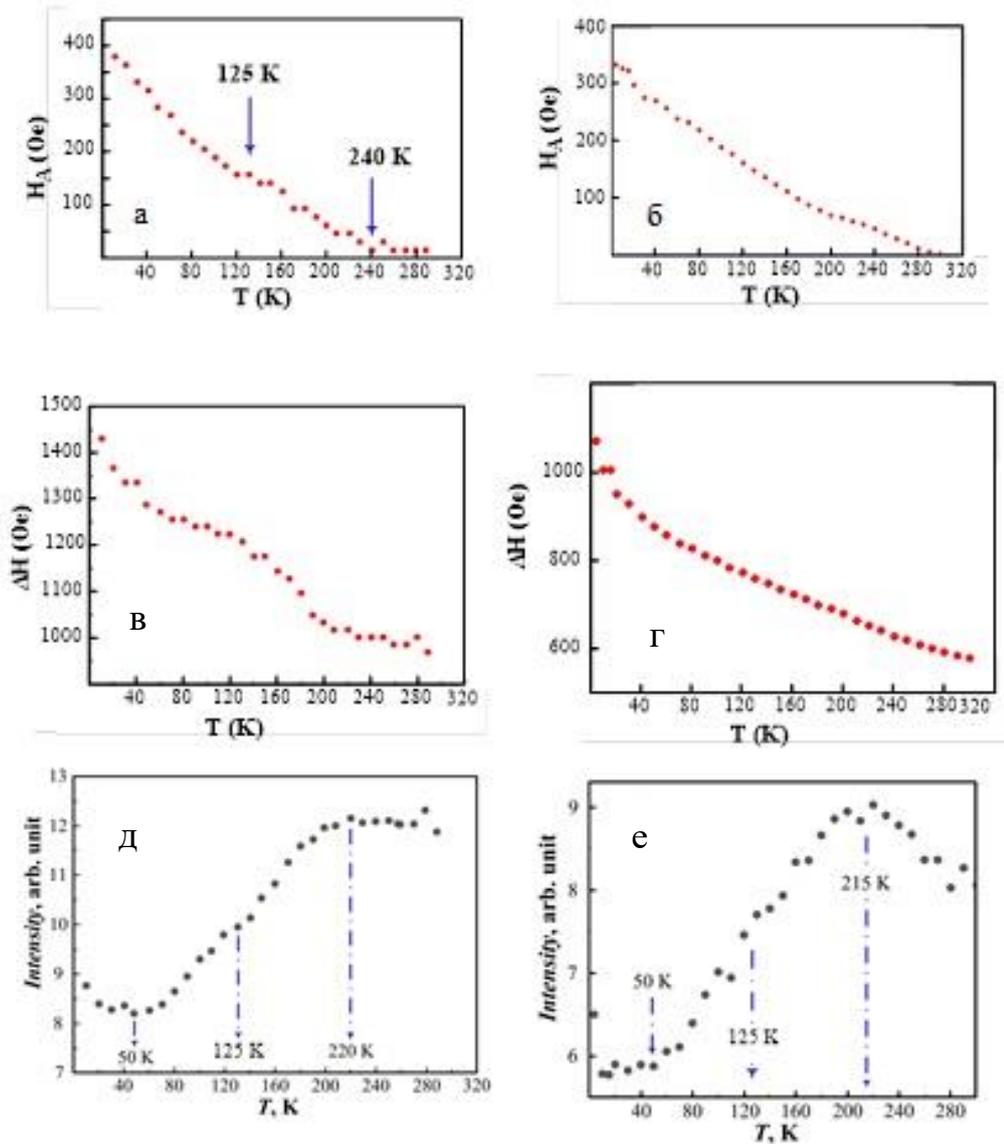


Рисунок 45. Экспериментальные значения $H_A(T)$ (а, б) и $\Delta H(T)$ (в, г) для порошка $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (а, в, д), с покрытием $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ (б, г, е). Также представлены температурные зависимости интенсивности $I(T)$ (д, е).

Также была определена температура, предположительно отображающая переход частиц в состояние спинового стекла [156], и она составляла для синтезированных порошков $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ $T=50$ К.

4.3 Исследование нагрева таргетной композиции в режиме ферромагнитного резонанса

Исследования эффективности нагрева порошков $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ и $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ в режиме ферромагнитного резонанса, при частоте источника СВЧ 8,9 ГГц в различных магнитных полях проводили с использованием термопары Т-типа, что показано в работе [166].

На рисунке 46, представленном ниже, показано влияние напряженности магнитного поля на нагрев порошков.

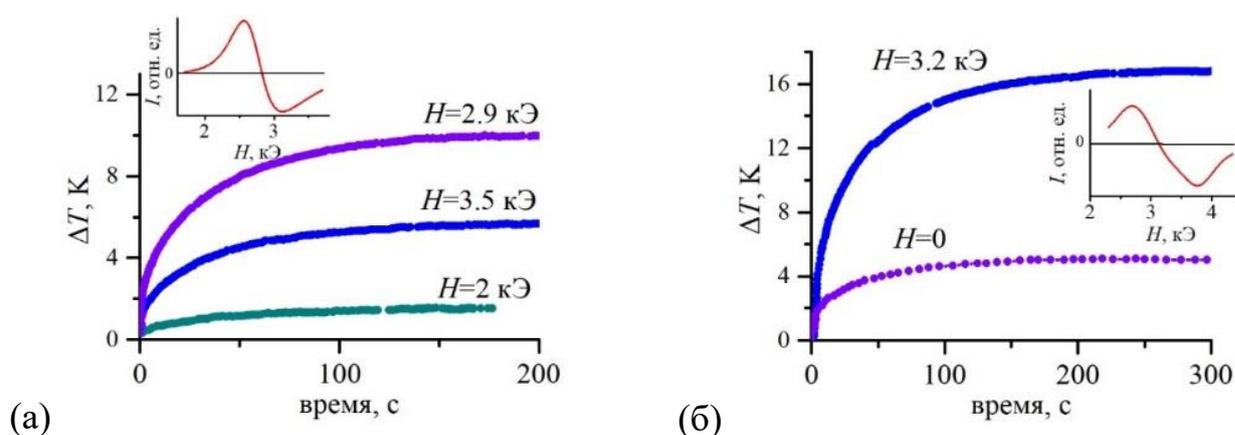


Рисунок 46. Изменение температуры порошков $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (а) и $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ (б) в различных магнитных полях при СВЧ накачке, на вставке – линия ФМР при комнатной температуре.

Исследование температуры нагрева порошков $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ и $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ в резонансном поле показало, что температура нагрева порошков с покрытием оказывается выше, чем порошков без покрытия. Величина нагрева ΔT пропорциональна намагниченности M (и квадрату амплитуды СВЧ поля h , $\Delta T \sim M \cdot h^2$). Однако существенных изменений намагниченности при нанесении покрытия SiO_2 на частицы не происходит. Возможно, что увеличение температуры нагрева модифицированных частиц связано со взаимодействием электрической составляющей СВЧ излучения с покрытием SiO_2 .

На рисунке 47 представлен величина нагрева порошков маггемита $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ и композита $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ в зависимости от квадрата амплитуды СВЧ поля в различных магнитных полях. Полученная экспериментальная зависимость хорошо аппроксимируется прямой, что согласуется с соотношением $\Delta T \sim h^2$.

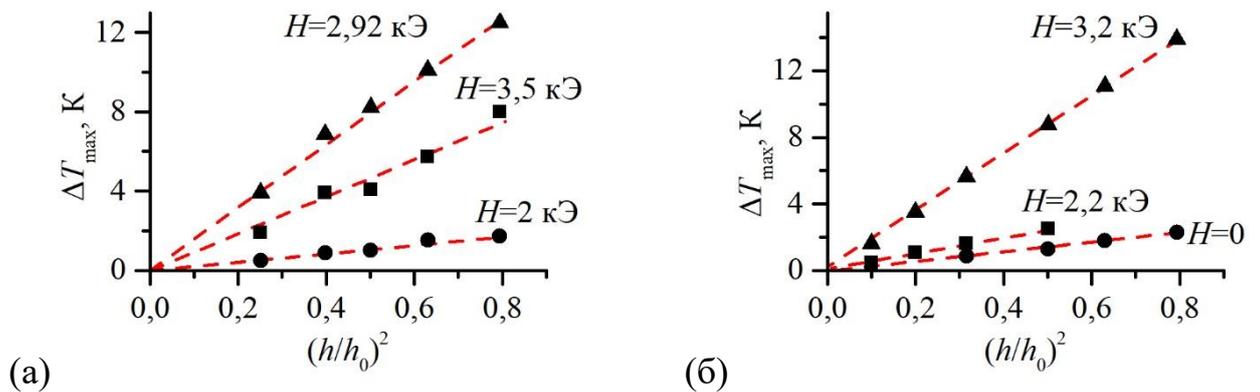


Рисунок 47. Нагрев частиц порошка $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (а) и $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ (б) в режиме ФМР на частоте 8,9 ГГц в зависимости от относительной мощности источника СВЧ при различных магнитных полях

Как в резонансном поле, так и в более слабом и сильном, и исходный порошок $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ и модифицированный $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ демонстрируют линейный характер нагрева в режиме ФМР, что согласуется с выражением (43) и ранее полученными результатами для ферригидрита и маггемита (рисунок 23). Нужно отметить, что модифицированный $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ демонстрирует как достаточно высокую эффективность нагрева, так и высокую управляемость уровнем нагрева, что показывает его пригодность для применения в области гипертермии.

4.4 Действие таргетной композиции в режиме ФМР гипертермии на клетки модельной опухоли

Ранее были показаны этапы создания таргетной композиции. На первом этапе был показан отбора ядра ТК, обеспечивающего нагрев в режиме ФМР. На втором

этапе продемонстрировано создание оболочки из оксида кремния с функциональными NH_2 -группами на ее поверхности.

Третий этап подразумевает собой реализацию концепции целевой доставки клеток. Для этого, как показано исследователями, можно использовать два пути – это использование антител либо аптамеров. Аптамеры при этом являются более выгодным средством доставки. Их процесс получения проще и дешевле, они не обладают иммуногенностью, низкотоксичны и за счет малых размеров – отличаются высокой проникающей способностью [127, 128, 137].

В данной работе были использованы аптамеры FAS9, комплементарные асцитной карциноме Эрлиха. Эти аптамеры представляют собой последовательность из 80 олигонуклеотидов массой 250 нмоль с пришитым к ним флуоресцентным белком. Они разработаны на основе аптамера AS9, взаимодействующего с α -субъединицей митохондриальной АТФ-синтазы, ключевого компонента системы окислительного фосфорилирования митохондрий. На апоптоз при этом данный аптамер не оказывает никакого влияния [152].

Аптамеры были предоставлены ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН», лабораторией цифровых управляемых лекарств тераностики. Аптамеры хранились при температуре -20°C и для разморозки подвергались быстрому оттаиванию (95°C , 20 мин), после чего постепенно остывали до комнатной температуры. После стабилизации температуры аптамеры добавляли в суспензию наночастиц.

Мишенью для аптамера служат структурные компоненты цитоскелета филамин-А и миозин-9, играющие важную роль в клеточной сигнализации. При концентрации в 25 нмоль связывание этого аптамера с целевыми клетками, при концентрации последних порядка 10^5 демонстрирует связываемость порядка 31% [129].

Важнейшим параметром для таргетной терапии является связываемость: связываемость агента доставки – аптамера – с частицей, и связываемость ТК с целевыми клетками. Для оценки эффективности связываемости использовали

метод проточной цитометрии, позволяющий за счет наличия у аптамера FAS9 флуоресцентного белка точно его детектировать. На рисунке 48 (а) показаны данные по связываемости модифицированного магнетита с аптамерами FAS9, комплементарными асцитной карциноме Эрлиха, полученные с применением метода проточной цитометрии.

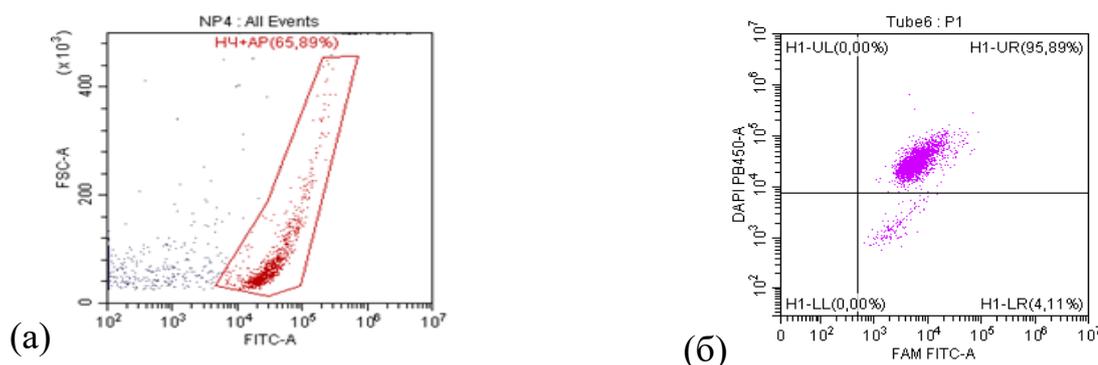


Рисунок 48. Связываемость порошка $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{NH}_2$ с флуоресцентными аптамерами FAS9 (а) и связываемости целевой композиции с клетками асцитной карциномы Эрлиха (б).

Согласно полученным результатам около 66% частиц порошка $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{NH}_2$ оказалось связано с флуоресцентными аптамерами FAS9, комплементарными асцитной карциноме Эрлиха, что демонстрирует успешность метода связывания аптамеров и модифицированных наночастиц.

Оценка связываемости полученной целевой композиции с целевыми клетками асцитной карциномы Эрлиха, которая использовалась в качестве модельной, показана на рисунке 48 (б). Согласно данным, полученным с помощью проточной цитометрии, около 95 % клеток АКЭ оказалось связано с ТК.

Завершая процесс создания ТК, способной к нагреву в режиме ФМР, обладающей малыми размерами и инертной оболочкой, нужно переходить к ее проверке на тестовом биологическом объекте.

В данном исследовании в качестве тестового биологического объекта выступала модельная опухоль – асцитная карцинома Эрлиха. Эта опухоль является

стандартным тест-объектом для биомедицинских и онкологических исследований, в том числе связанных с гипертермией, что подтверждается множеством работ [147, 148, 168, 169].

Оценку эффективности действия ФМР-гипертермии с ТК на клетки модельной опухоли проводили в условиях *in vitro*, с помощью метода проточной цитометрии, описанного в главе 2. В качестве оценочного параметра использовали жизнеспособность клеток опухоли, определяемую по процентному содержанию в суспензии клеток АКЭ в состоянии апоптоза и некроза. Для определения состояния клеток использовали флуоресцентные красители, для выявления клеток в состоянии апоптоза – YO-PRO-1, а для клеток в состоянии некроза – Propidium Iodide.

Всего в исследовании было 4 группы. Группа контроля – в которой были клетки АКЭ. Группа АКЭ+ТК – в которой оценивали влияние ТК на клетки опухоли. Группа АКЭ+ФМР – в которой оценивали влияние магнитного поля и СВЧ-поля на клетки опухоли. И группа ФМР-гипертермии – в которой оценивали влияние эффективность действия ФМР-гипертермии с ТК на жизнеспособность клеток АКЭ.

Режим ФМР реализовали следующим образом: использовали частоту $f = 8,9$ ГГц, значение напряженности магнитного поля $H_{res} = 2,9$ кЭ, и время экспозиции 10 минут. Жизнеспособность клеток опухоли оценивали методом проточной цитометрии с применением флуоресцентных красителей, и ее результаты представлены на рисунке 49.

На рисунке 49 (а) показан состав суспензии для группы контроля. Преобладают живые клетки (свыше 90%), также присутствуют клетки в состоянии апоптоза и некроза (менее 10%). Подобное распределение свидетельствует о нормальном состоянии опухоли и о ее высокой жизнеспособности.

Рисунок 49 (б) демонстрирует состав суспензии опухолевых клеток после инкубации с ТК. Наблюдается незначительное, в пределах погрешности, снижение процента живых клеток и рост числа клеток в состоянии апоптоза.

На рисунке 49 (в) показан состав суспензии после ее инкубации, при действии на нее в течение 10 минут постоянным магнитным полем $H = 2,9$ кЭ поля и СВЧ. Говоря о жизнеспособности опухолевых клеток, относительно группы контроля наблюдается падение процента живых клеток и рост числа клеток в состоянии апоптоза и некроза, но в пределах погрешности, на 2-3%.

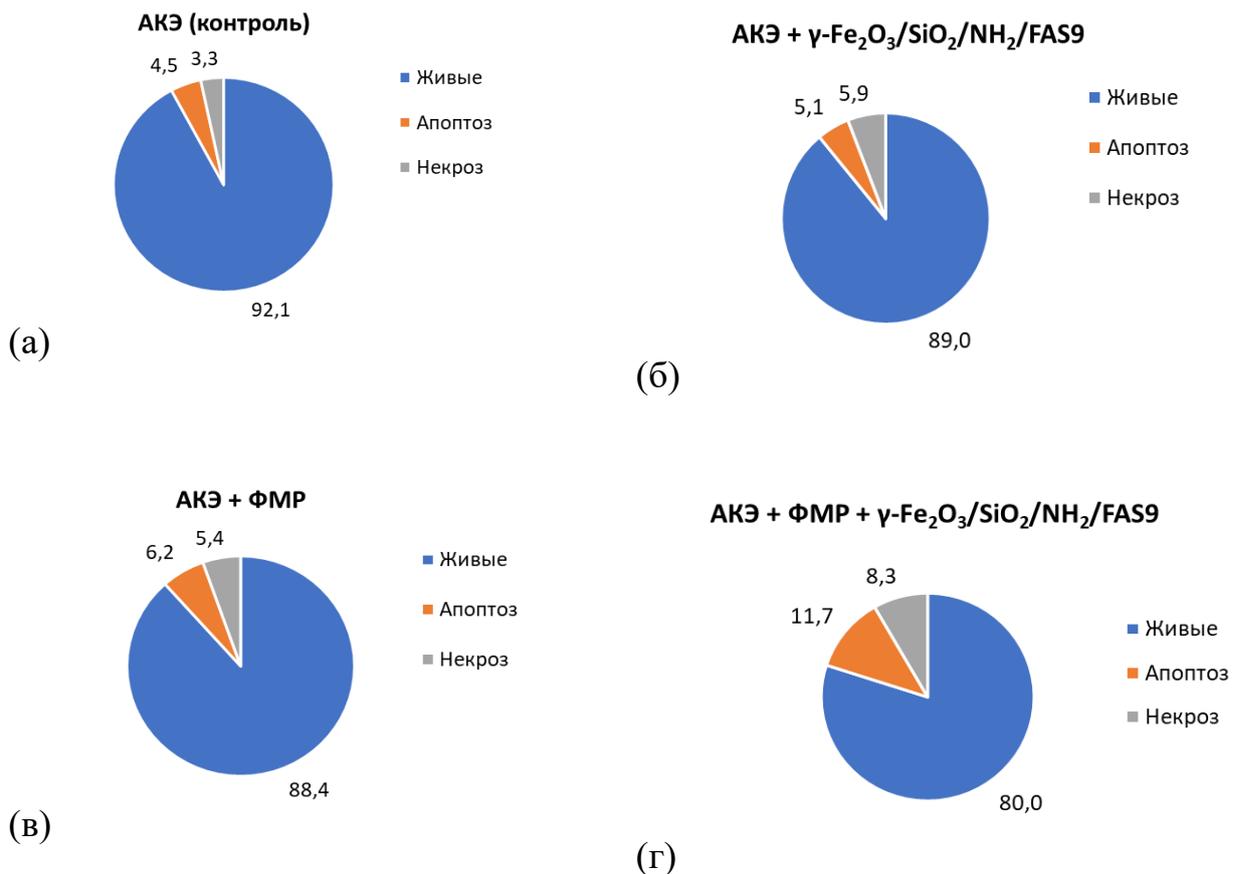


Рисунок 49. Оценка жизнеспособности клеток асцитной карциномы Эрлиха в контроле (а), при инкубировании с таргетной композицией (б), при пребывании в условиях ФМР (в), при ФМР-гипертермии с таргетной композицией (г).

Переходя к ФМР-гипертермии с ТК, результаты представлены на рисунке 49 (г). Анализ состава суспензии клеток АКЭ показывает уменьшение процента живых клеток с 92% в контроле до 80% в опытной группе. Также наблюдали рост количества клеток в состоянии апоптоза с 4,5% в контроле до 11,7%, и увеличение числа клеток опухоли в состоянии некроза с 3,3% до 8,3%.

Таким образом можно сказать, что ни условия для реализации ФМР, ни сама таргетная композиция, не оказывает существенного негативного влияния на клетки асцитной карциномы Эрлиха.

Более чем двухкратное увеличение числа клеток в состоянии апоптоза и числа клеток в состоянии некроза в группе ФМР-гипертермии, относительно других контрольных групп, наглядно демонстрирует эффективность метода ФМР-гипертермии с ТК для биомедицинских исследований. Данный результат подробно изложен в работах [166, 170-173].

Процесс создания таргетной композиции и ее применения подробно описан в заявке на патенте [174]. Преимущество разработанного метода заключается в возможности использовать различные аптамеры, комплементарные к различным видам опухоли, а также в использовании щадящего режима воздействия за счет более низкого уровня воздействия постоянным магнитным полем и СВЧ-полем, необходимым для проявления эффекта гипертермии.

Заключение

В настоящем диссертационном исследовании изложены выявленные закономерности и технологические решения, способствующие получению целевой композиции ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{NH}_2/\text{FAS9}$) на основе наночастиц оксида железа с инертной оболочкой из оксида кремния (SiO_2) с функциональными группами (NH_2) на ее поверхности, к которым прикреплены аптамеры, комплементарные модельной опухоли, пригодной для использования в качестве медиатора нагрева для магниторезонансной гипертермии. Выполненные теоретические и практические исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Впервые исследован нагрев в режиме ФМР порошков ферригидрита, гематита, феррита кобальта. Показано, что приращение температуры определяется намагниченностью насыщения (M_s). Экспериментально показано на примере ферригидрита и гематита, что приращение температуры линейно зависит от квадрата напряженности магнитной составляющей (h^2) СВЧ поля.

2. На примере феррита кобальта CoFe_2O_4 показано, что нагрев магнитных порошков в режиме ФМР может происходить за счет естественного ферромагнитного резонанса. Продемонстрирована возможность оптимизировать генерацию тепла путем только СВЧ-накачки в поле анизотропии частиц.

3. Для суперпарамагнитного феррита никеля NiFe_2O_4 с размером частиц 4 нм определена релаксационная частота f_{rel} , при которой осуществляется смена механизма поглощения энергии СВЧ поля. При $f > f_{\text{rel}}$ реализуется резонансный механизм поглощения энергии. В случае $f < f_{\text{rel}}$ – релаксационный. Релаксационная частота проявилась на зависимости $\Delta f(f)$: при f_{rel} ширина линии Δf имеет наименьшее значение.

4. Биологические испытания, проведенные в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»,

показали, что таргетная композиция на базе наночастиц оксида железа способна эффективно связываться с целевыми клетками. Реализация способа ФМР-гипертермии приводит к снижению жизнеспособности опухолевых клеток, при этом отмечен двухкратный рост числа клеток в состоянии апоптоза и некроза после 10 минут экспозиции.

Список сокращений и условных обозначений

- СВЧ – сверхвысокие частоты
- УВЧ – ультравысокие частоты
- МНЧ – магнитные наночастицы
- ФМР – ферромагнитный резонанс
- ЭПР – электронный парамагнитный резонанс
- АКЭ – асцитная карцинома Эрлиха
- ТЭОС – тетраэтилортосиликат
- АПТЭС – 3-аминопропилтриэтоксисилан
- ТК – таргетная композиция
- ИК – инфракрасный
- SAR – Specific Absorbtion Radiation
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- УМП – удельная мощность потерь
- УКП – удельный коэффициент поглощения
- МПД – мощность поглощенной дозы
- НАД – никотинамидадениндинуклеотид
- НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат
- СОД – супероксиддисмутаза
- АМФК – 5'АМФ-активируемая протеинкиназа
- АФК – активные формы кислорода
- SDS - Sodium dodecyl sulfate
- PVA – Polyvinyl alcohol
- ПЭМ – просвечивающий электронный микроскоп
- YO-PRO-1 – YO-PRO-1 Iodide
- PI – Propidium Iodide

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rossi L. M. Costa N. J.S., Silva F. P., Gonçalves R. V. Magnetic nanocatalysts: supported metal nanoparticles for catalytic applications // *Nanotechnology Reviews*. 2013. Vol. 2, № 5. P. 597-614.
2. Dongale T.D., Khot S.S., Patil A.A., Wagh S.V. Bifunctional nanoparticulated nickel ferrite thin films: Resistive memory and aqueous battery applications // *Mater Des*. 2021. Vol. 201. P. 109493.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). Москва : МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 250 p.
4. Дрокина Т.В. Методы физики в медицине. Красноярск: Издательский центр Красноярского госуниверситета, 2005. 262 p.
5. Bass H., Moore J.L., Coakley W.T. Lethality in Mammalian Cells Due to Hyperthermia under Oxic and Hypoxic Conditions // *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*. 1978. Vol. 33, № 1. P. 57–67.
6. Rotundo S., Brizi D., Flori A., Giovannetti G., Menichetti L. Shaping and Focusing Magnetic Field in the Human Body: State-of-the Art and Promising Technologies // *Sensors*. 2022. Vol. 22, № 14. P. 5132.
7. Walton D., Snape S., Rolph T.C., Shaw J., Share J. Application of ferrimagnetic resonance heating to palaeointensity determinations // *Physics of the Earth and Planetary Interiors*. 1996. Vol. 94, № 3–4. P. 183–186.
8. Lee J.H., Kim Y., Kim SK. Highly efficient heat-dissipation power driven by ferromagnetic resonance in MFe_2O_4 ($M = Fe, Mn, Ni$) ferrite nanoparticles // *Scientific Reports*. 2022. Vol 12. P. 5232.
9. Peiravi M., Eslami H., Ansari M., Zare-Zardini H. Magnetic hyperthermia: Potentials and limitations // *Journal of the Indian Chemical Society*. 2022. Vol. 99, № 1. P. 100269.

10. Крупичка Сватоплук. Физика ферритов и родственных им магнитных окислов. Москва: Мир, 1976. Т. 2. 504 p.
11. Suttie N., Shaw J., Hill M.J. Direct demonstration of microwave demagnetization of a whole rock sample with minimal heating // *Earth Planet Sci Lett.* 2010. Vol. 292, № 3–4. P. 357–362.
12. Yoshikawa N., Kato T. Ferromagnetic resonance heating of Fe and Fe₃O₄ by 5.8 GHz microwave irradiation // *J Phys D Appl Phys.* 2010. Vol. 43, № 42. P. 425403.
13. Khmelinskii I., Makarov V.I. EPR hyperthermia of *S. cerevisiae* using superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles // *J Therm Biol.* 2018. Vol. 77. P. 55–61.
14. Bae S., Lee S.W., Takemura Y. Applications of NiFe₂O₄ nanoparticles for a hyperthermia agent in biomedicine // *Appl Phys Lett.* 2006. Vol. 89, № 25. P. 252503.
15. Ohara K., Moriwaki T., Nakazawa K., Sakamoto T., Nii K., Abe M., Ichianagi Y. Development of biocompatible Ni-ferrite nanoparticles with PEG-coated for magnetic hyperthermia // *AIP Adv.* 2023. Vol. 13, № 2. P. 025238.
16. Wu W., Wu Z., Yu T., Jiang C., Kim W.S. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications // *Sci Technol Adv Mater.* 2015. Vol. 16, № 2. P. 023501.
17. Shen M, Cai H, Wang X, Cao X, Li K, Wang SH, Guo R, Zheng L, Zhang G, Shi X. Facile one-pot preparation, surface functionalization, and toxicity assay of APTS-coated iron oxide nanoparticles // *Nanotechnology.* 2012. Vol. 23, № 10. P. 105601.
18. Ellington A.D., Szostak J.W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands // *Nature.* 1990. Vol. 346, № 6287. P. 818–822.
19. Tuerk C., Gold L. Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment: RNA Ligands to Bacteriophage T4 DNA Polymerase // *Science (1979).* 1990. Vol. 249, № 4968. P. 505–510.
20. Ким П.Д. Замай С.С., Замай Т.Н., Прокопенко В.С., Коловская О.С., Замай Г.С., Принц В.Я., Селезнев В.А., Комонов А.И., Спивак Е.А., Руденко Р.Ю., Дубынина А.В., Комаров А.В., Денисенко В.В., Комарова М.А., Соколов А.Э.,

Народов А.А., Живаев В.П., Замай А.С. Противоопухолевый эффект конъюгатов магнитных нанодисков с ДНК-аптамерами // Доклады Академии наук. 2016. Vol. 466, № 5. P. 616–619.

21. Балаев А.Д., Бояршинов Ю.В., Карпенко М.М., Хрусталева Б.П. Автоматизированный магнетометр со сверхпроводящим соленоидом // Приборы и Техника Эксперимента. 1985. - Т. 3. С. 167-168.

22. Патент № 2457074 С1 Российская Федерация, МПК В22F 9/24, В82В 3/00, А61Р 43/00. Способ получения наночастиц ферригидрита : № 2011111266/02 : заявл. 24.03.2011 : опубл. 27.07.2012 / В. П. Ладыгина, К. В. Пуртов, С. В. Столяр, Р.С. Исхаков, О.А. Баюков, Ю.Л. Гуревич, К.Г. Добрецов, Л.А. Ищенко; заявитель ФГАОУ ВО «СФУ».

23. Tang Z., Sheng P. Nano Science and Technology: Novel Structures and Phenomena. New York: Taylor and Francis. 2003. 272 p.

24. Srajer G., Lewis L.H., Bader S.P., Epstein A.J., Fadley C.S. Advances in nanomagnetism via X-ray techniques // JMMM. 2006. Vol. 307, №1. P. 1–31.

25. Lu A.-H., Schmidt W., Matoussevitch N., Bönnemann H., Spliethoff B., Tesche B., Bill E., Kiefer W., Schüth F. Nanoengineering of a Magnetically Separable Hydrogenation Catalyst // Angew. Chemie Int. Ed. 2004. Vol. 43, № 33. P. 4303–4306.

26. Chikazumi S., Taketomi S., Ukita M., Mizukami M., Miyajima H., Setogawa M., Kurihara Y. Physics of magnetic fluids // J. Magn. Magn. Mater. 1987. Vol. 65, №2-3. P. 245–251.

27. Hyeon T. Chemical synthesis of magnetic nanoparticles // Chem. Commun. 2003. № 8. P. 927–934.

28. Mornet S., Vasseur S., Grasset F., Veverka P., Goglio G., Demourgues A., Portier J., Pollert E., Duguet E. Magnetic nanoparticle design for medical applications // Prog. Solid State Chem. 2006. Vol. 34, № 2-4. P. 237–247.

29. Takafuji M., Ide S., Ihara H., Xu Z. Preparation of Poly(1-vinylimidazole)-Grafted Magnetic Nanoparticles and Their Application for Removal of Metal Ions // Chem. Mater. 2004. Vol. 16, № 10. P. 1977–1983.

30. Gupta A.K., Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications // *Biomaterials*. 2005. Vol. 26, № 18. P. 3995–4021.
31. Elahi N., Rizwan M. Progress and prospects of magnetic iron oxide nanoparticles in biomedical applications: A review // *Artif Organs*. 2021. Vol. 45, №11. P. 1272-1299.
32. Егунова О. Р., Константинова Т. А., Штыков С. Н. Магнитные наночастицы магнетита в разделении и концентрировании // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2014. Т.14. № 4. С. 27-35.
33. Ярославцев Р. Н. Получение, структура, статические и динамические магнитные свойства наночастиц ферригидрита и их модификация термоотжигом, легированием и ультразвуковой обработкой // *диссертация ... канд. тех. наук*. 2017. P. 104.
34. Каргин Д. Б., Мухамбетов Д. Г., Маусымбаев С. С. Получение ультрадисперсных порошков на основе железа химическим методом // *Проблемы современной науки и образования*. 2016. № 11(53). С. 26-29.
35. Brenner A., Riddell G.E. Nickel plating on steel by chemical reduction // *J. Res. Natl. Bur. Stand.* (1934). 1946. Vol. 37, № 1. P. 31.
36. Park J., An K., Hwang Y., Park J.-G., Noh H.-J., Kim J.-Y., Park J.-H., Hwang N.M., Hyeon T. Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals // *Nat. Mater.* 2004. Vol. 3, № 12. P. 891–895.
37. Bang J.H., Suslick K.S. Applications of Ultrasound to the Synthesis of Nanostructured Materials // *Adv. Mater.* 2010. Vol. 22, № 10. P. 1039–1059.
38. Zhang J., Du J., Han B., Liu Z., Jiang T., Zhang Z. Sonochemical Formation of Single-Crystalline Gold Nanobelts // *Angew. Chemie Int. Ed.* 2006. Vol. 45, № 7. P. 1116–1119.
39. Parveen K., Vijesh T., Dinesh K., Raj Kumar J., Meena N. Magnetically active iron oxide nanoparticles for catalysis of organic transformations: A review // *Tetrahedron*. 2022. Vol.106-107. P. 1-29.

40. Моходоева О. Б., Максимова В. В., Дженлода Р. Х., Шкинев В. М. Модифицированные ионными жидкостями магнитные наночастицы в анализе объектов окружающей среды // ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ. 2021. Т. 76, № 6. С. 483–495.

41. Волков А.В. Новый метод - насыщение магнитными наночастицами для создания трехмерной тканеинженерной конструкции пигментного слоя сетчатки без несущего материала // Клеточная трансплантология и инженерия. 2005. №2. С.23.

42. Новый способ лечения хронического риносинусита / К. Г. Добрецов, А. С. Лопатин, С. В. Столяр, А.В. Сипкин, В.П. Ладыгина, Ю.В. Пронина // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. 2010. Т. 5, № 4. С. 84-88.

43. Солопов М. В., Беспалова С. В. Влияние маркировки магнитными наночастицами на бродильную активность дрожжевых клеток // Донецкие чтения 2018: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности: Материалы III Международной научной конференции. Донецк. 2018. С. 163-165.

44. Д. В. Самигуллин, Г. В. Сибгатуллина, С. А. Блохин Применение магнитных наночастиц для изменения пресинаптического уровня кальция в мотонейронах // Оптогенетика+ 2020 : вторая Всероссийская научная конференция с международным участием и Школа по современным методам неинвазивного контроля нейрональной активности. Санкт-Петербург. 2020. С. 94-95.

45. Mykhaylyk O., Sanchez Antequera Y., Vlaskou D., Plank C. Generation of magnetic nonviral gene transfer agents and magnetofection in vitro // Nat. Protoc. 2007. Vol. 2, № 10. P. 2391–2411.

46. Tukmachev D. Lunov O., Zablotskii V., Dejneka A., Babic M., Syková E., Kubinová S. An effective strategy of magnetic stem cell delivery for spinal cord injury therapy // Nanoscale. Royal Society of Chemistry, 2015. Vol. 7, № 9. P. 3954-3958.

47. Bai W.F., Xu W.C., Feng Y., Huang H., Li X.P., Deng C.Y., Zhang M.S. Fifty-Hertz electromagnetic fields facilitate the induction of rat bone mesenchymal stromal

cells to differentiate into functional neurons // *Cytotherapy*. 2013. Vol. 15, № 8. P. 961-970.

48. Mehta RV. Synthesis of magnetic nanoparticles and their dispersions with special reference to applications in biomedicine and biotechnology // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017. Vol. 79. P. 901–16.

49. Zhu L, Zhou Z, Mao H. Magnetic nanoparticles for precision oncology: theranostic magnetic iron oxide nanoparticles for image-guided and targeted cancer therapy // *Nanomedicine*. 2017. Vol. 12, № 1. P. 73–87.

50. German S.V., Bratashov D.N., Navolokin N.A. In vitro and in vivo MRI visualization of nanocomposite biodegradable microcapsules with tunable contrast // *Phys Chem Chem Phys*. 2016. Vol. 18. P. 32238–46.

51. Na H.B., Song I.C., Hyeon T. Inorganic nanoparticles for MRI contrast agents // *Adv Mater*. 2009. Vol. 21. P. 2133–48.

52. Alam S.R., Shah A.S., Richards J. Ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide in patients with acute myocardial infarction: early clinical experience // *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012. Vol. 5, № 5. P. 559–65.

53. Кумассадуно Р. С., Коржук Н. Л. Анализ наночастиц, применяемых в магнитной жидкостной гипертермии // *Техника XXI века глазами молодых ученых и специалистов*. 2022. № 20. С. 212-216.

54. Никифоров В.Н., Брусенцов В.А. Магнитная гипертермия в онкологии // *Медицинская физика*. – 2007. - № 2. – С. 51-59.

55. Bush W., 1886.

56. Использование локального индукционного нагрева в биотехнологиях и медицине / А.М. Осинцев, И.Л. Васильченко, А.Л. Майтаков и др. // *Техника и технология пищевых производств (Кемерово)*. 2012. №2. С. 159–164.

57. Zhu, L., Altman, M.B., Laszlo, A., Straube, W., Zoberi, I., Hallahan, D.E., Chen, H. Ultrasound hyperthermia technology for radiosensitization // *Ultrasound. Med. Biol*. 2019. Vol. 45. P. 1025–1043.

58. Crezee, J., Franken, N.A.P., Oei, A.L. Hyperthermia-based anti-cancer treatments // *Cancers*. 2021. Vol. 13. P. 1240.
59. Peer AJ, Grimm MJ, Zynda ER, Repasky EA. Diverse immune mechanisms may contribute to the survival benefit seen in cancer patients receiving hyperthermia // *ImmunolRes*. 2010. Vol. 46, № 1-3. P. 137-54.
60. Hilger I. In vivo applications of magnetic nanoparticle hyperthermia // *Int J Hyperthermia*. 2013. Vol. 29, № 8. P. 828-834.
61. Mallory M, Gogineni E, Jones GC, Greer L, Simone CB. Therapeutic hyperthermia: the old, the new, and the upcoming // *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016. Vol. 97. P. 56-64.
62. Gray BN, Jones SK. Targeted hysteresis hyperthermia as a method for treating diseased tissue. US6565887 (2003).
63. Theismann H. // *Strahlentherapie*. – 1948. – Bd80. – S. 599.
64. Гаврилов Л.Р., Цирульников Е.М. Фокусированный ультразвук в физиологии и медицине. – Л., 1980.
65. МаксUTOва Д.Ж. Применение фокусированного ультразвука под контролем магнитно-резонансной томографии (обзор литературы) // *Проблемы репродукции*. 2009. №2. С.30-36.
66. Bielas R., Bochin'ska A., Józefczak A. The influence of initial temperature on ultrasonic hyperthermia measurements // *Applied Acoustics*. 2020. Vol. 164. P. 107259.
67. Патент № 2447915 С1 Российская Федерация, МПК А61N 7/00, А61В 18/04, А61N 7/02. Способ усиления действия ультразвука при лечении гипертермией опухолевых тканей путем использования нанокластеров кремния : № 2010136626/14 : заявл. 02.09.2010 : опубл. 20.04.2012 / Л. А. Осминкина, А. А. Кудрявцев, Т. Ю. Базыленко [и др.].
68. Paulides M.M., Dobsicek T. H., Curto S., Rodrigues D.B. Recent technological advancements in radiofrequency- and microwave-mediated hyperthermia for enhancing drug delivery // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2020. Vol. 163–164. P. 3–18.

69. Mortezaee K, Narmani A, Salehi M, Bagheri H, Farhood B, Haghi-Aminjan H, Najafi M. Synergic effects of nanoparticles-mediated hyperthermia in radiotherapy/chemotherapy of cancer // *Life Sciences*. 2021. Vol. 269. P. 119020.

70. Lister T., Wright P.A., Chappell P.H. Optical properties of human skin // *J. Biomed. Opt.* 2012. Vol. 17. P. 90901-90915.

71. Cheng T.Y., Herman C. Analysis of skin cooling for quantitative dynamic infrared imaging of near-surface lesions // *Int. J. Therm. Sci.* 2014. Vol. 86. P.175-188.

72. Singh R, Das K, Mishra SC. Laser-induced hyperthermia of nanoshell mediated vascularized tissue – A numerical study // *Journal of Thermal Biology*. 2014. Vol. 44. P. 55–62.

73. Улащик В. С. Локальная гипертермия в онкологии: использование магнитного поля, лазерного излучения, ультразвука. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2014. Т. 91. № 2. С. 48-57.

74. Vera J., Bayazitoglu Y. Gold nanoshell density variation with laser power for induced hyperthermia // *International Journal of Heat and Mass Transfer*. 2009. Vol. 52. P. 564–573.

75. Kobayashi T. Cancer hyperthermia using magnetic nanoparticles // *Biotechnol. J.* 2011. Vol. 6. P. 1342–1347

76. Лю Н.Н., Пятаков А.П., Пятаев Н.А., Сухоруков Г.Б., Тишин А.М. Трилемма магнитной гипертермии «поле – частота – размер» на примере наночастиц ZnMn феррита // *Журнал: Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Физико-математические науки*. 2022. Т.2 №2. С. 54-80.

77. Kaczmarek K., Hornowski T., Antal I., Timko M., Józefczak A. Magneto-ultrasonic heating with nanoparticles // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2019. Vol. 474. P. 400–405.

78. Das R, Rinaldi-Montes N, Alonso J, Amghouz Z, Garaio E, García JA, Gorria P, Blanco JA, Phan MH, Srikanth H. Boosted Hyperthermia Therapy by Combined AC Magnetic and Photothermal Exposures in Ag/Fe₃O₄ Nanoflowers // *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016. Vol. 8, № 38. P. 25162-9.

79. Nikawa Y., Okada F., Selective heating for microwave hyperthermia using ferrimagnetic resonance // IEEE Transactions on Magnetism. 1987. Vol. 23, № 5. P. 2431-2433.

80. Lee J.H., Kim B., Kim Y., Kim S.K. Ultra-high rate of temperature increment from superparamagnetic nanoparticles for highly efficient hyperthermia // Scientific Reports. 2021. Vol. 11, № 1. P. 4969.

81. Патент № 2497489 С1 Российская Федерация, МПК А61F 7/12, А61N 2/10. Способ локального индукционного нагрева биологических тканей : № 2012122956/14 : заявл. 04.06.2012 : опубл. 10.11.2013 / А. М. Осинцев, А. Л. Майтаков, И. Л. Васильченко [и др.] ; заявитель ФГБОУ ВО «КемТИПП».

82. Патент № 2481125 С2 Российская Федерация, МПК А61К 47/48, А61К 49/00, А61К 51/06. Магнитные наночастицы для применения при гипертермии, их Приготовление и применение в магнитных системах для фармакологического использования : № 2009127835/15 : заявл. 18.12.2007 : опубл. 10.05.2013 / Д. Балди, Д. Бонакки, Ф. Инноченти [и др.] ; заявитель КОЛОРОББИЯ ИТАЛИЯ С.П.А.

83. Маков Ю.Н. Физическая акустика. Оптоакустика. Нелинейная акустика. Геоакустика: Сб. тр. 19 сессии Рос. Акустического сообщества. – Т.3. – М., 2007. – С.97-100.

84. Inzhevatkin E. V., Morozov E. V., Khilazheva E.D., Ladygina V.P., Stolyar S. V., Falaleev O. V. Elimination of Iron-Containing Magnetic Nanoparticles from the Site of Injection in Mice: a Magnetic-Resonance Imaging Study // Bull. Exp. Biol. Med. 2015. Vol. 158, № 6. P. 807–811.

85. Dobretsov K., Stolyar S., Lopatin A. Magnetic nanoparticles: a new tool for antibiotic delivery to sinonasal tissues. Results of preliminary studies. // Acta Otorhinolaryngol. Ital. organo Uff. della Soc. Ital. di Otorinolaringol. e Chir. Cerv.-facc. 2015. Vol. 35, № 2. P. 97–102.

86. Liu Y., Li M., Yang F., Gu N. Magnetic drug delivery systems // Sci. China Mater. 2017. Vol. 60. P. 471–486.

87. Ho D., Sun X., Sun S. Monodisperse magnetic nanoparticles for theranostic applications // *Acc Chem Res.* 2011. Vol. 44, №10. P. 875-82.

88. Nan N. Liu, A. P. Pyatakov, M. N. Zharkov, N. A. Pyataev, G. B. Sukhorukov, Y. A. Alekhina, N. S. Perov, Y. K. Gun'ko, A. M. Tishin Optimization of Zn–Mn ferrite nanoparticles for low frequency hyperthermia: Exploiting the potential of superquadratic field dependence of magnetothermal response // *Appl. Phys. Lett.* 2022. Vol. 120. P. 102403.

89. Nemati Z., Alonso J., Martinez L. M., Khurshid H., Garaio E., Garcia J. A., Phan M. H., Srikanth H. Enhanced Magnetic Hyperthermia in Iron Oxide Nano-Octopods: Size and Anisotropy Effects // *Phys. Chem. C.* 2016. Vol. 120, №15. P. 8370-8379.

90. Liu X.L., Yang Y., Ng C.T., Zhao L.Y., Zhang Y., Bay B.H., Fan H.M., Ding J. Magnetic Vortex Nanorings: A New Class of Hyperthermia Agent for Highly Efficient In Vivo Regression of Tumors // *Adv Mater.* 2015. Vol. 27, №11. P. 1939-1944.

91. Hernández-Hernández A.A., Aguirre-Alvarez G., Carriño-Cortés R., Mendoza-Huizar L.H., Jiménez-Alvarado R. Iron oxide nanoparticles: synthesis, functionalization, and applications in diagnosis and treatment of cancer // *Chem. Pap.* 2020. Vol. 74. P. 3809–3824.

92. Kheilkordi Z., Moham-madiZiarani G., Mohajer F., Badiei A., Sillanpää M. Recent advances in the application of magnetic bio-polymers as catalysts in multicomponent reactions // *RSC Adv.* 2022. Vol. 12. P. 12672–12701.

93. Barrow M., Taylor A., Murray P., Rosseinsky M.J., Adams D.J., Design considerations for the synthesis of polymer coated iron oxide nanoparticles for stem cell labelling and tracking using MRI // *Chem. Soc. Rev.* 2015. Vol. P. 6733–6748.

94. Behrens S. Preparation of functional magnetic nanocomposites and hybrid materials: recent progress and future directions // *Nanoscale.* 2011. Vol. 3. P. 877–892.

95. Slowing I.I., Vivero-Escoto J.L., Wu C.W., Lin V.S.Y. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers // *Adv. Drug Delivery Rev.* 2008. Vol. 60, № 11. P. 1278–1288.

96. Rivas J., Bañobre-López M., Piñeiro-Redondo Y., Rivas B., López-Quintela M.A. Magnetic nanoparticles for application in cancer therapy // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2012. Vol. 324, № 21. P. 3499-3502.

97. Riedinger A., Guardia P., Curcio A., Garcia M.A., Cingolani R., Manna L., Pellegrino T. Subnanometer local temperature probing and remotely controlled drug release based on azo-functionalized iron oxide nanoparticles // *Nano Lett.* 2013. Vol. 13, № 6. P. 2399-406

98. Aslam H., Shukrullah S., Naz M.Y., Fatima H., Hussain H, Ullah S., Assir M.A. Current and future perspectives of multifunctional magnetic nanoparticles based controlled drug delivery systems // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2022. Vol. 67. P. 102946.

99. Kolhatkar A.G., Jamison A.C., Litvinov D., Willson R.C., Lee T.R. Tuning the magnetic properties of nanoparticles // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. P. 15977–16009.

100. Neuberger T., Schöpf B., Hofmann H., Hofmann M., Von Rechenberg B., Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: possibilities and limitations of a new drug delivery system // *J. Magn. Magn Mater.* 2005. Vol. 293. P. 483–496.

101. Shaterabadi Z., Nabiyouni G., Soleymani M. Physics responsible for heating efficiency and self-controlled temperature rise of magnetic nanoparticles in magnetic hyperthermia therapy // *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2018. Vol. 133. P. 9-19.

102. Hervault, A., Thanh, N.T. Magnetic nanoparticle-based therapeutic agents for thermo-chemotherapy treatment of cancer // *Nanoscale*. 2014. Vol 6, № 20. P. 11553-11573

103. Cullity B.D., Graham C.D. *Introduction to Magnetic Materials* // John Wiley & Sons. 2011. 568 p.

104. Khot V.M., Salunkhe A.B., Ruso J.M., Pawar S.H. Improved magnetic induction heating of nanoferrites for hyperthermia applications: correlation with colloidal

stability and magneto-structural properties // *Magnetism Magnetic Mater.* 2015. Vol. 384. P. 335-343.

105. Ramimoghadam D., Bagheri S., Hamid S.B.A. Progress in electrochemical synthesis of magnetic iron oxide nanoparticles // *Magnetism Magnetic Mater.* 2014. Vol. 368. P. 207-229.

106. Deatsch A.E., Evans B.A. Heating efficiency in magnetic nanoparticle hyperthermia // *Magnetism Magnetic Mater.* 2014. Vol. 354. P. 163-172.

107. Maenosono S., Saita S. Theoretical assessment of FePt nanoparticles as heating elements for magnetic hyperthermia // *IEEE Trans. Magnetics.* 2006. Vol. 42. P. 1638-1642.

108. Liangruksa M., Ganguly R., Puri I.K. Parametric investigation of heating due to magnetic fluid hyperthermia in a tumor with blood perfusion // *Magnetism Magnetic Mater.* 2011. Vol. 323. P. 708-716.

109. Laurent S., Dutz S., Heafeli U.O., Mahmoudi M. Magnetic fluid hyperthermia: focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2011. Vol. 166. P. 8-23.

110. Dennis C.L., Ivkov R. Physics of heat generation using magnetic nanoparticles for hyperthermia // *Int. J. Hyperth.* 2013. Vol. 29. P. 715-729.

111. Yadollahpour A, Hosseini S.A., Yadollahpour A. Magnetic nanoparticle based hyperthermia: a review of the physiochemical properties and synthesis methods // *Int. J. Pharmaceut. Res. Allied Sci.* 2016. Vol. 5, № 2. P. 242–6.

112. LeBrun A, Zhu L. Magnetic nanoparticle hyperthermia in cancer treatment: history, mechanism, imaging-assisted protocol design, and challenges // *Theory and Applications of Heat Transfer in Humans.* 2018. Vol.2. P. 631–67.

113. Патент № 2713375 С2 Российская Федерация, МПК А61N 2/00, В82В 1/00, В82У 5/00. Способ и устройство для локального механического воздействия на биохимические системы, содержащие магнитные наночастицы : № 2018112753 : заявл. 09.04.2018 : опубл. 04.02.2020 / Ю. И. Головин, Н. Л. Клячко, А. О. Жигачев

[и др.] ; заявитель ФГБОУ ВО «ТГУ им. Г.Р. Державина», ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова».

114. Gonzalez-Fernandez M. A., Torres T., Andres-Verges M., Costo R., de la Presa P., Serna C.J., Morales M.P., Marquina C., Ibarra M.R., Goya G.F. Magnetic nanoparticles for power absorption: optimizing size, shape and magnetic properties // *Solid State Chem.* 2009. Vol. 182. P. 2779–2784.

115. Lee J.H., Jang J.T., Choi J.S., Moon S.H., Noh S.H., Kim J.W., Kim J.G., Kim I.S., Park K.I., Cheon J. Exchange-coupled magnetic nanoparticles for efficient heat induction // *Nat. Nanotechnol.* 2011. Vol. 6. P. 418–422.

116. Chen, R. et al. High-performance ferrite nanoparticles through nonaqueous redox phase tuning. *Nano Lett.* 16, 1345–1351 (2016)

117. Jang J.T., Lee J., Seon J., Ju E., Kim M., Kim Y.I., Kim M.G., Takemura Y., Arbab A.S., Kang K.W., Park K.H., Paek S.H., Bae S. Giant magnetic heat induction of magnesium-doped γ -Fe₂O₃ superparamagnetic nanoparticles for completely killing tumors // *Adv. Mater.* 2018. Vol. 30, № 6. P. 1806347

118. Tomitaka, Kobayashi A. H., Yamada T., Jeun M., Bae S., Takemura Y. Magnetization and self-heating temperature of NiFe₂O₄ nanoparticles measured by applying ac magnetic field // *Phys. Conf. Ser* 200. 2010. Vol. 200. P. 122010.

119. Lee S., Jeun, M. Size dependence of alternating current magnetically-induced heating characteristics of ferrimagnetic MgFe₂O₄ nanoparticles in powder and fluidic states // *Sci. Adv. Mater.* 2017. Vol. 9, №5. P. 804–809.

120. Gomez-Polo C., Larumbe S., Barquin L. F., Fernandez, L. R. Magnetic induction heating as a new tool for the synthesis of Fe₃O₄-TiO₂ nanoparticle systems // *Nanopart. Res.* 2016. Vol. 18. P. 1-9.

121. Kossatz S, Grandke J, Couleaud P, Latorre A, Aires A, Crosbie-Staunton K, Ludwig R, Dähring H, Ettelt V, Lazaro-Carrillo A, Calero M, Sader M, Courty J, Volkov Y, Prina-Mello A, Villanueva A, Somoza Á, Cortajarena AL, Miranda R, Hilger I. Efficient treatment of breast cancer xenografts with multifunctionalized iron oxide

nanoparticles combining magnetic hyperthermia and anti-cancer drug delivery // *Breast Cancer Res.* 2015. Vol. 17, №1. P. 66.

122. Herrero de la Parte B. Proposal of New Safety Limits for In Vivo Experiments of Magnetic Hyperthermia Antitumor Therapy. / Herrero de la Parte B., Rodrigo I., Gutiérrez-Basoa J., Iturrizaga Correcher S., Mar Medina C., Echevarría-Uraga J.J., Garcia J.A., Plazaola F., García-Alonso I. // *Cancers (Basel)*. 2022. Vol. 14, №13. P.3084.

123. Петин В. Г., Григорьев О. А., Меркулов А. В., Григорьев Ю. Г., Труханов К. А. Об одном российском термине (переводе SAR) в дозиметрии электромагнитного поля радиочастотного диапазона 2012 г. // *Радиационная Биология. Радиоэкология*. 2012. Т. 52, № 5. С. 542–545.

124. Périgo E.A., Hemery G., Sandre O., Ortega D., Garaio E., Plazaola F., Teran F.J. Fundamentals and advances in magnetic hyperthermia // *Applied Physics Reviews*. 2015. Vol. 2, № 4. P. 1-35.

125. Elkhova T.M., Yakushechkina A.K., Semisalova A.S., Gun'ko Y.K., Spichkin Y.I., Pyatakov A.P., Kamilov K.I., Perov N.S., Tishin A.M. Heating of Zn-substituted manganese ferrite magnetic nanoparticles in alternating magnetic field // *Solid State Phenomena*. 2015. Vol. 233-234. P. 761-765.

126. Патент № 2742196 С1 Российская Федерация, МПК В82В 1/00, А61К 9/19. Фармацевтическая композиция для приготовления инъекционного раствора при использовании в лечении магнитной гипертермии и способ ее получения : № 2019128554 : заявл. 11.09.2019 : опубл. 03.02.2021 / П. В. Горелкин, А. С. Ерофеев, А. О. Преловская [и др.] ; заявитель Общество с ограниченной ответственностью "Медицинские нанотехнологии", (ООО "МНТ", ООО "МедНаноТех").

127. Kulbachinskiy A.V. Methods for selection of aptamers to protein targets // *Biochemistry (Moscow)*. 2007. Vol. 72. P. 1505–1518.

128. Bouchard P.R., Hutabarat R.M., Thompson K.M. Discovery and development of therapeutic aptamers // *Annu. rev. Pharmacol. toxicol.* 2010. Vol. 50. P. 237–257.

129. Коловская О. С., Замай Т. Н., Замай А. С., Глазырин Ю. Е., Спивак Е. А., Зубкова О. А., Кадкина А. В., Еркаев Е. Н., Замай Г. С., Савицкая А. Г., Труфанова

Л. В., Петрова Л. Л., Березовский М. В. Взаимодействие ДНК-аптамер/белок как причина апоптоза и остановки пролиферации в клетках асцитной карциномы Эрлиха // Биологические Мембраны. 2013. Т. 30, № 5–6. С. 398–411.

130. Cibiel A., Pestourie C., Ducongé F. In vivo uses of aptamers selected against cell surface biomarkers for therapy and molecular imaging // Biochimie. 2012. Vol. 94, № 7. P. 1595–1606.

131. Brieke C., Rohrbach F., Gottschalk A., Mayer G., Heckel A. Light-controlled tools // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2012. Vol. 51, №34. P. 8446–8476.

132. Ausländer D., Wieland M., Ausländer S., Tigges M., Fussenegger M. Rational design of a small molecule-responsive intramer controlling transgene expression in mammalian cells // Nucl. Acids Res. 2011. Vol, №22. 39. P. 155.

133. Khan S.A., Kanchanapally R., Fan Z., Beqa L., Singh A.K., Senapati D., Ray P.C. A gold nanocage-CNT hybrid for targeted imaging and photothermal destruction of cancer cells // Chem. Commun. (Camb.) 2012. Vol. 48, №53. P. 6711–6713.

134. Zhang Y., Hong H., Cai W. Tumor-targeted drug delivery with aptamers // Curr. Med. Chem. 2011. Vol. 18, № 27. P. 4185–4194.

135. Zhu Q., Shibata t., Kabashima t., Kai M. Inhibition of HIV-1 protease expression in T cells owing to DNA aptamer-mediated specific delivery of siRNA // Eur. J. Med. Chem. 2012. Vol. 56. P. 396–399.

136. Chen C.H., Dellamaggiore K.R., Ouellette C.P., Sedano C.D., Lizadjohry M., Chernis G.A., Gonzales M., Baltasar F.E., Fan A.L., Myerowitz R., Neufeld E.F. Aptamer-based endocytosis of a lysosomal enzyme // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. Vol. 105, № 41. P. 15908–15913

137. Talekar M., Kendall J., Denny W., Garg S. Targeting of nanoparticles in cancer: drug delivery and diagnostics// Anticancer Drugs. 2011. Vol. 22, №10. P. 949–962.

138. Aravind A., Jeyamohan P., Nair R., Veeranarayanan S., Nagaoka Y., Yoshida Y., Maekawa T., Kumar D.S. AS1411 aptamer tagged PLGA-lecithin-PEG nanoparticles

for tumor cell targeting and drug delivery. // *Biotechnol. Bioeng.* 2012. Vol. 109, № 11. P. 2920–2931.

139. Замай С. С., Прокопенко В. С., Замай А. С., Денисенко В. В., Ким П. Д., Орлов В. А., Замай Г. С., Иванченко Т. И., Замай Т. Н. Функционализированные аптамерами магнитные нанодиски для нанохирургии опухолей // *Сибирское медицинское обозрение.* №6. 2015. С.48-54

140. Инжеваткин Е.В. Практикум по экспериментальной онкологии на примере асцитной карциномы Эрлиха: Методическая разработка. - Красноярск: КрасГУ, 2004. - 10 с.

141. Эммануэль Н.М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. 1977

142. Ozaslan M., Karagoz I.D., Kilic I.H., Guldur M.E. Ehrlich ascites carcinoma // *African Journal of Biotechnology.* 2013. Vol. 10, № 13. – P. 2375–2378.

143. Гвичия А.Ш. Морфология поверхности асцитных опухолевых клеток. 1983.

144. Tannock I. F. A Comparison of Cell Proliferation in Solid and Ascites Ehrlich Tumors // *Cancer Research.* №29. 1527-1534. 1969.

145. Стуков А.Н., Пожариский К.М., Моисеенко В.М. и др. Кинетические особенности асцитной и солидной опухоли Эрлиха // *Вопросы онкологии.* 2009. Т. 55, №5. С. 598–602.

146. Шапот В.С. Биохимические аспекты опухолевого роста. 1975

147. Сергеева Е.Ю., Титова Н.М., Щербинина А.С., Сергеев Н.В., Широкова А.В. Влияние магнитных полей на ферменты антиоксидантной системы мышечной с асцитной карциномой Эрлиха. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2009. Т. 147. № 6. С 650-654.

148. Chew E.C., Riches D.J., Lam T.K., Hou-Chan H.L. Surface morphological study of Ehrlich ascites tumor cells exposed to microwave irradiation and heat // *Experientia.* 1984. Vol 40. №8. P 881-884

149. Аркадьев В.К., ЖРФХО 45 (1913) 103 (Журнал Русского физико-химического общества).
150. Дорфман Я.Г., Zs. f. Phys. 17 98 (1923) (Zeitschrift für Physik).
151. Ландау Л., Лифшиц Е. Phys. Zs. Sowjetunion, 8,153 (1935), Собрание трудов, т.1, «Наука», М., 1965
152. Zavoisky E., Journ. Phys. USSR 10 (1946) 197; Завойский Е.К., ЖЭТФ 17 (1946) 883.
153. Griffiths J., Nature 158 (1946) 670.
154. Kittel C. Phys. Rev.. 71, 270. (1947)
155. Столяр С.В., Баюков О.А., Исхаков Р.С., Ярославцев Р.Н., Ладыгина В.П. Модификация магнитных свойств порошков α -Fe₂O₃ в результате ультразвуковой обработки // Письма в журнал технической физики. 2017. Т. 43, № 24. С. 3.
156. Столяр С.В., Балаев Д.А., Ладыгина В.П., Панкрац А.И., Ярославцев Р.Н., Великанов Д.А., Исхаков Р.С. Исследование наночастиц биогенного ферригидрита методом ферромагнитного резонанса: спин-стекольное состояние поверхностных спинов // Письма в ЖЭТФ. 2020. Т. 111, № 3–4. С. 197–202.
157. Микроволновый нагрев порошков окисленного железа в режиме ферромагнитного резонанса // С. В. Столяр, Е.Д. Николаева, О.А. Ли, Д.А. Великанов, А.М. Воротынов, В.Ф. Пьянков, В.П. Ладыгина, А.Л. Сухачев, Д.А. Балаев, Р.С. Исхаков // Материаловедение. 2023. № 9. С. 10-14.
158. Heat release by ferrihydrite nanoparticles at ferromagnetic resonance // S.V. Stolyar, O.A. Li, V.P. Ladygina, E.D. Nikolaeva, A.M. Vorotynov, V.F. Pyankov, R.S. Iskhakov // 8 Euro-Asian Symposium “Trends in MAGnetism”. 2022.
159. Investigation of magnetite nanoparticles for magnetic hyperthermia // S.V. Stolyar, O.A. Li, D.A. Velikanov, E.D. Nikolaeva, A.M. Vorotynov, V.F. Pyankov, R.S. Iskhakov // 8 Euro-Asian Symposium “Trends in MAGnetism”. 2022.
160. Эффективный способ магнитной гипертермии, основанный на явлении ферромагнитного резонанса // С. В. Столяр, О. А. Ли, Е. Д. Николаева, Пьянков

В.Ф., А. М. Воротынов, Д. А. Великанов, Ю. В. Князев, О. А. Баюков, Р. С. Исхаков, М. Н. Волочаев // Физика металлов и металловедение. 2023. Том 124, №2. С 1-8.

161. Нагрев магнитных порошков в режиме ферромагнитного резонанса на частоте 8.9 ГГц // С.В. Столяр, О.А. Ли, Е.Д. Николаева, Н.М. Боев, А.М. Воротынов, Д.А. Великанов, Р.С. Исхаков, В.Ф. Пьянков, Ю.В. Князев, О.А. Баюков, А.О. Шохрина, М.С. Молокеев, А.Д. Васильев // Физика твердого тела. 2023. Том 65, №6. С. 1006-1013.

162. Нагрев магнитных порошков в режиме ферромагнитного резонанса на частоте 8,9 ГГц // Столяр С.В., О.А. Ли, Е.Д. Николаева, Н.М. Боев, А.М. Воротынов, Д.А. Великанов, Р.С. Исхаков, В.Ф. Пьянков, Ю.В. Князев, О.А. Баюков // Труды 17 Международного симпозиума Нанозифика и наноэлектроника. 2023.

163. Салихов С.В., Савченко А.Г., Гребенников И.С., Юртов Е.В. Фазовый состав и структура нанопорошков оксидов железа, полученных химическими методами // Известия Российской академии наук. Серия физическая. 2015. Vol. 79, № 9. Р. 1251–1258.

164. Исследование магнитных наночастиц оксида железа, покрытых оксидом кремния, методом ферромагнитного резонанса // И.Г. Важенина, С.В. Столяр, А.В. Тюменцева, М.Н. Волочаев, Р.С. Исхаков, С.В. Комогорцев, В.Ф. Пьянков, Е.Д. Николаева // Физика твердого тела. 2023. Т. 65. № 6. С. 923-927.

165. Першина А. Г., Сазонов А.Э., Филимонов В.Д. Взаимодействие магнитных наночастиц и молекул ДНК: создание наногибридных структур и их использование // Успехи химии. 2014. Т. 83. №4. С. 299-322.

166. Получение и свойства магнитных композитов γ -Fe₂O₃/SiO₂/аптамер(FAS9) для магниторезонансной гипертермии // С. В. Столяр, О. А. Ли, Е. Д. Николаева, А. М. Воротынов, Д. А. Великанов, Ю. В. Князев, О. А. Баюков, Р. С. Исхаков, О.В. Крюкова, В. Ф. Пьянков, М. Н. Волочаев, А. А. Мохов // Физика металлов и металловедение (2023), принята в печать.

167. Райхер Ю. Л., Степанов В. И. Влияние тепловых флуктуаций на форму линии ФМР в дисперсных ферромагнетиках // ЖЭТФ. 1992. Т. 101. N 4. С. 1409-1423.

168. Influence of magnetic nanoparticles on cells of Ehrlich ascites carcinoma // Stolyar S.V., Kryukova O.V., Yaroslavtsev R.N., Pyankov V.F., Latyshev N.V., Bayukov O.A., Knyazev Yu.V., Gerasimova Yu.V., Shestakov N.P. // AIP Advances. 2021. Т. 11. № 1. С. 015019.

169. Electronic paramagnetic resonance of Ehrlich ascites carcinoma cells cultured with magnetic nanoparticles // Latvshev N.V., Kryukova O.V., Pyankov V.F., Yaroslavtsev R.N., Pyankov V.F., Stolyar S.V // Magnetic Resonance and its Applications. Proceedings 17th International School-Conference. 2020.

170. Разработка таргетной фармацевтической композиции для магниторезонансной гипертермии опухолевых клеток // Пьянков В.Ф., Столяр С.В., Крюкова О.В., Ли. О.А., Николаева Е.Д. // 9-ая Байкальская международная конференция «Магнитные материалы. Новые технологии» (BICMM-2023).

171. Магниторезонансная гипертермия // Пьянков В.Ф. // Междисциплинарная конференция молодых ученых ФИЦ КНЦ СО РАН (КМУ-26). 2023.

173. Ehrlich Ascitic Carcinoma cells Viability under Influence of FMR Hyperthermia // V.F. Pyankov, S.V. Stolyar, E.D. Nikolaeva, O.V. Kryukova // International Conference APRICOT. 2023

174. Способ угнетения роста опухолевых клеток с помощью ферромагниторезонансной гипертермии и таргетированных аптамерами магнитных наночастиц (дата регистрации заявки на патент 11.07. 2023, регистрационный номер: 2023118240)