

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
“МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА”

ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ ФИЗИКИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭЛЕКТРОНИКИ

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

ВОЗДЕЙСТВИЕ НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА
ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОКАПСУЛЫ С МАГНИТНЫМИ
НАНОЧАСТИЦАМИ В ОБОЛОЧКЕ.

Выполнил студент

206м группы:

Бурмистров Иван Андреевич

Научный руководитель:

к.ф.-м.н., доцент, Зайцев В.Б.

Научный консультант:

к.ф.-м.н., Трушина Д.Б.

Допущена к защите

Заведующий кафедрой

Москва, 2019

Оглавление	
ВВЕДЕНИЕ	3
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	4
1.1 Полиэлектролитные микрокапсулы	4
1.2 Функционализация полиэлектролитных микрокапсул	7
1.3 Включение веществ в микрокапсулы.....	9
1.4 Воздействие низкочастотного магнитного поля на магнитные наночастицы	10
2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	14
2.1 Используемые материалы и оборудование	14
2.2 Эксперименты по облучению магнитным полем полиэлектролитных микрокапсул с наночастицами магнетита в оболочке	16
2.3 Метод динамического светорассеяния.....	17
2.4 Электрофоретическое рассеяние света	18
2.5 Измерение кривой размагничивания наночастиц магнетита	19
2.6 Просвечивающая электронная микроскопия	20
2.7 Сканирующая электронная микроскопия	21
2.8 Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия	22
3. РЕЗУЛЬТАТЫ	23
ВЫВОДЫ.....	34
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	35

ВВЕДЕНИЕ

Развитие медицины, направленное на повышение эффективности диагностики и лечения заболеваний, связано с разработкой микро- и наноструктур [1]. Такие структуры могут быть использованы для адресной доставки биологически активных веществ и их контролируемого высвобождения, а также в задачах тераностики.

Использование микрокапсул для адресной доставки и контролируемого высвобождения биологически активных веществ является перспективным направлением. Для адресной доставки могут использоваться микрокапсулы с магнитными наночастицами в оболочке. С помощью этих же наночастиц можно управлять высвобождением биологически активных веществ. На данный момент, использование магнитных наночастиц для высвобождения биологически активных веществ слабо освещено в статьях.

В обзоре литературы по теме исследования были рассмотрены следующие вопросы:

1. Полиэлектролитные микрокапсулы.
2. Функционализация полиэлектролитных микрокапсул.
3. Инкапсулирование веществ.
4. Воздействие низкочастотного магнитного поля на магнитные наночастицы.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Полиэлектrolитные микрокапсулы

Микрокапсулы представляют собой полые объекты, состоящие из тонкой оболочки полимерной природы размером от 1 до 2000 мкм, имеющие в основном сферическую форму [2]. Инкапсулированный компонент может быть представлен твердым или жидким содержимым.

В конце прошлого столетия широкое распространение получили полиэлектролитные микрокапсулы, оболочка которых сформирована путем чередования противоположно заряженных макромолекул (полиэлектролитов). Основным методом получения полиэлектролитных микрокапсул является метод последовательной адсорбции (Layer-by-Layer (LbL) метод).

Для синтеза микрокапсул методом последовательной адсорбции сначала синтезируются «ядра» – частицы, на которых будет происходить формирование оболочки. Размер и форма таких частиц определяют размер и форму будущих микрокапсул. Биологически активные вещества могут быть включены в формируемые «ядра» капсул при их синтезе с помощью технологии соосаждения или путем физической сорбции в поры на заранее сформированные частицы [3,4].

Следующим этапом является последовательное осаждение на ядра поликатионов и полианионов (рис. 1). Полиэлектролитный комплекс может образовываться за счет различных взаимодействий: образования водородной связи [5], ковалентной связи [6] или за счёт электростатического взаимодействия [7].

После нанесения необходимого количества слоев полиэлектролитов, для получения полый капсулы необходимо растворить «ядро». Выбор растворителя определяется материалом самого ядра, а также природой биоактивных соединений, иммобилизованных на «ядре». Особое применение для получения полиэлектролитных микрокапсул получили неорганические пористые частицы CaCO_3 . Частицы CaCO_3 , имеющие сферическую форму (такая модификация карбоната кальция называется ватеритом), являются неустойчивыми и через некоторое время перекристаллизуются в ромбоэдрические кристаллы кальцита [8,9], что может сопровождаться повреждением оболочки и нарушением целостности капсулы. В связи с этим необходимо проводить растворение ядер непосредственно после формирования полиэлектролитной оболочки, избегая перекристаллизации.

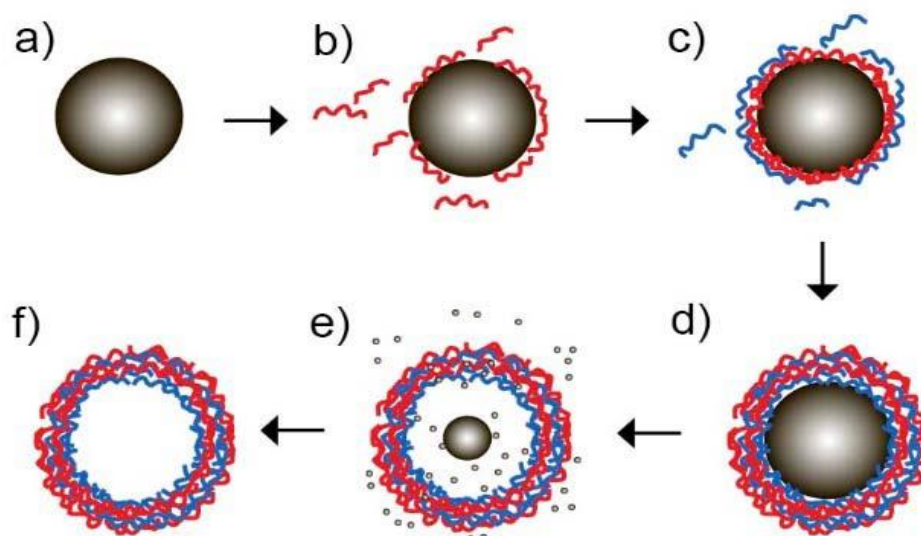


Рисунок 1. Схема синтеза полиэлектролитных микрокапсул. а – формирование ядра; b-d – последовательная адсорбция противоположно заряженных полиэлектролитов; e-f – растворение ядра.

Высвобождение биологически активных веществ из микрокапсул происходит в том числе за счёт диффузии. Скорость диффузии зависит как от характеристик инкапсулированных молекул (размер молекулы, гидрофильность/гидрофобность), свойств полиэлектролитного комплекса, из которого сформирована микрокапсула (толщина оболочки микрокапсул), так и от состава окружающей среды (температура, уровень pH, осмотическое давление и др.).

Один из вариантов контроля скорости высвобождения вещества из микрокапсулы может заключаться в изменении проницаемости оболочки микрокапсулы, которую можно варьировать за счет различных воздействий. Одними из вариантов внешнего воздействия на капсулы являются:

1. Лазерное воздействие.
2. Акустическое воздействие.
3. Воздействие магнитным полем.

Эти воздействия успешно применяются для вскрытия капсул *in vitro* [10, 11,12], в то время как применение этих методов *in vivo* существенно ограничено.

Применение лазерного излучения в медицинских целях ограничено из-за малой глубины проникновения внутрь биологических тканей. Более того, при

лазерном нагреве необходим контроль температуры, так как при температуре более 45°C может начаться некроз тканей.

Акустическое воздействие применяют в медицине. Ультразвук используется в диагностических методах, физиотерапии, стоматологии. При этом применяется маломощное излучение с частотой около 1 МГц и выше [13]. Недостатками данного метода является то, что при прохождении через ткани организма различной плотности, на границе раздела создается достаточно большое давление, которое может привести к деформации и повреждению внутренних тканей.

Наиболее распространенное применение высокочастотного магнитного излучения (42,58 МГц) - это МРТ (магнитно-резонансная томография). Существуют также другие возможности применения высокочастотного магнитного поля, например, для магнитной гипертермии. Для этого, в качестве преобразователей магнитной энергии в тепловую, используются магнитные наночастицы [14].

Функционализация микрокапсул магнитными наночастицами может способствовать изменению проницаемости полимерной оболочки за счет нагрева магнитных наночастиц. К недостаткам магнитного нагрева можно отнести отсутствие быстрых и простых методов определения температуры разогрева наночастиц, что может привести к неконтролируемому нагреву.

При взаимодействии с низкочастотным магнитным полем магнитные наночастицы практически не нагреваются. Под действием магнитного поля магнитный момент наночастиц начинает вращаться, ориентируясь вдоль вектора магнитной индукции. Вращение может осуществляться как за счет вращения самого магнитного момента, так и за счет вращения магнитной наночастицы. При вращении всей наночастицы, в оболочке капсулы возникают различные деформации типа сжатия-растяжения, которые приводят к изменению проницаемости. Основную роль при этом играет магнитомеханическое воздействие на микрокапсулы

1.2 Функционализация полиэлектролитных микрокапсул

Функционализация поверхности позволяет придать новые свойства и функции микрокапсулам за счёт изменения состава их оболочки.

Модификация оболочки может быть осуществлена путем включения следующих компонентов:

1. Красители.

Органические красители широко применяют для терапии онкологических заболеваний. Введение порфирина, мезо-тетра(4-сульфонатофенил) порфина, в оболочку микрокапсулы позволяет осуществить разрушение микрокапсул под воздействием лазерного излучения [15]. Красители выступают в роли локальных центров нагрева, однако их эффективность меньше чем у плазмонных наночастиц.

2. Плазмонные наночастицы.

При облучении некоторых наночастиц лазерным излучением возможно возбуждение коллективного колебания электронов, которые локализованы вблизи поверхности наночастиц. Данный вид колебаний называется плазмонным резонансом. При этом энергия электронов достаточно быстро переходит в колебательную энергию решетки наночастиц, то есть происходит переход энергии от плазмонов к фононам. Это обеспечивает повышение температуры наночастиц. Такое преобразование лазерного излучения в тепло может использоваться для локального нагрева и последующего разрушения оболочки микрокапсулы. Это может быть использовано для высвобождения инкапсулированных компонентов [16].

Широко распространенными плазмонными наночастицами являются наночастицы золота и серебра. Для данных частиц были проведены эксперименты с разрушением оболочки микрокапсулы, под действием лазерного излучения [17,18].

3. Магнитные наночастицы.

Внедрение магнитных наночастиц в оболочку микрокапсулы приводит к возможности управления их положением в пространстве (локализацией). Это может быть использовано для адресной доставки инкапсулированных веществ [19].

В некоторых случаях воздействие магнитного поля на полиэлектролитные микрокапсулы может привести к изменению проницаемости их оболочки, что является перспективным направлением для управления проницаемостью

микрокапсул [20].

4. Углеродные нанотрубки.

Углеродные нанотрубки могут быть встроены в оболочки микрокапсул с целью увеличения их механической прочности и для вскрытия микрокапсул лазерным излучением [21].

В дополнении следует отметить, что поверхность микрокапсул также может быть модифицирована другими объектами, такими как липосомы, ДНК и др. [22,23].

1.3 Включение веществ в микрокапсулы

Существует несколько способов инкапсулирования веществ в капсулы: 1) формирование оболочки капсулы на «ядре» с иммобилизованным биоактивным компонентом, 2) загрузка веществом полых предварительно сформированной капсулы.

К основным методам первой группы относятся:

1. Соосаждение – метод, основанный на добавлении активного компонента в процессе синтеза частиц CaCO_3 . Далее на ядро CaCO_3 , содержащее целевое вещество, наносят полиэлектролитные слои, после чего ядро растворяют для получения полых микрокапсул с инкапсулированным веществом [24,25].

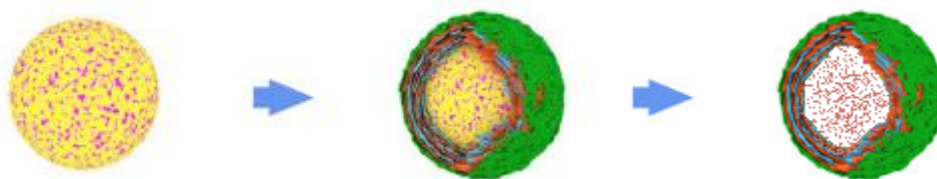


Рисунок 2. Схематичное изображение метода соосаждения.

2. Адсорбция – метод инкапсулирования, в котором молекулы вещества адсорбируются на заранее сформированные частицы ядра. При этом, используемые в качестве матрицы, частицы должны обладать большой удельной поверхностью [26].

Существуют и другие методы инкапсулирования, такие как кристаллизация инкапсулируемого вещества и последующее нанесение полиэлектролитных слоёв на полученные кристаллы [27].

В основе методов инкапсулирования второй группы лежит включение вещества внутрь уже сформированных микрокапсул за счет изменения проницаемости их оболочки. Такое включение возможно при изменении уровня pH среды [28], световом воздействии [29] и др.

1.4 Воздействие низкочастотного магнитного поля на магнитные наночастицы

Поведение магнитных наночастиц в магнитном поле может иметь различный характер в зависимости от параметров самой наночастицы и от параметров магнитного поля.

При взаимодействии с переменным магнитным полем магнитных наночастиц возможны различные типы релаксации магнитных наночастиц.

При Неелевской релаксации происходит перемагничивание наночастицы, и изменяется ориентация магнитного момента относительно наночастицы.

Время такого перемагничивания описывается формулой:

$$\tau_N = \tau_0 e^{\frac{\Delta E}{kT}} \quad (1)$$

τ_N – время Неелевской релаксации, τ_0 – время перемагничивания (зависит от материала), ΔE – энергетический барьер. [30]

При Неелевской релаксации, магнитный момент ориентируется не строго по полю. [31] Небольшой угол появляется из условия минимизации магнитной энергии:

$$E = -K_u \cos^2(\theta_0 - \theta) - I_s H \cos\theta \quad (2)$$

K_u – константа одноосной анизотропии.

При Броуновской релаксации происходит вращение наночастицы в магнитном поле для ориентации магнитного момента вдоль поля. При этом ориентация магнитного момента относительно самой частицы не меняется. Время такой релаксации описывается формулой:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{kT} \quad (3)$$

V_H – гидродинамический объем частицы, η – вязкость среды. [32]

В обоих случаях присутствует зависимость от размера магнитной наночастицы. При значениях $R_m \approx 6.5$ нм для наночастиц магнетита происходит переход от Неелевской релаксации к Броуновской релаксации (рис.3). [33]

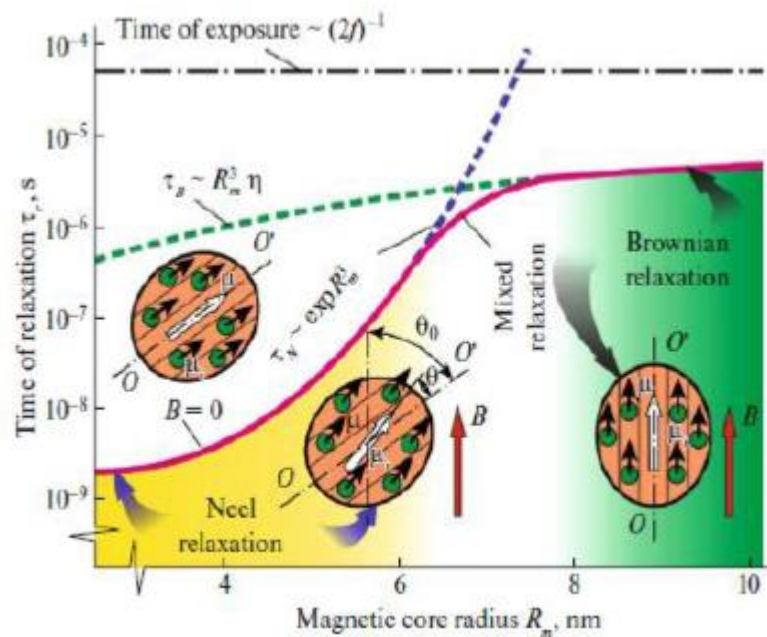


Рисунок 3. Типы релаксации магнитных наночастиц в магнитном поле.

Следует так же разделить эффекты воздействия магнитным полем на тепловые и магнитомеханические (рис.4). Одним из определяющих факторов является значение SAR – Specific Absorption Rate – интенсивность тепловыделения магнитной наночастицы. Данная величина зависит от формы, размера, состава наночастицы, частоты магнитного поля и его амплитуды. При индукции магнитного поля до 1 Тл и частот ниже 1 МГц значение SAR практически линейно зависит от fB^2 . [34]

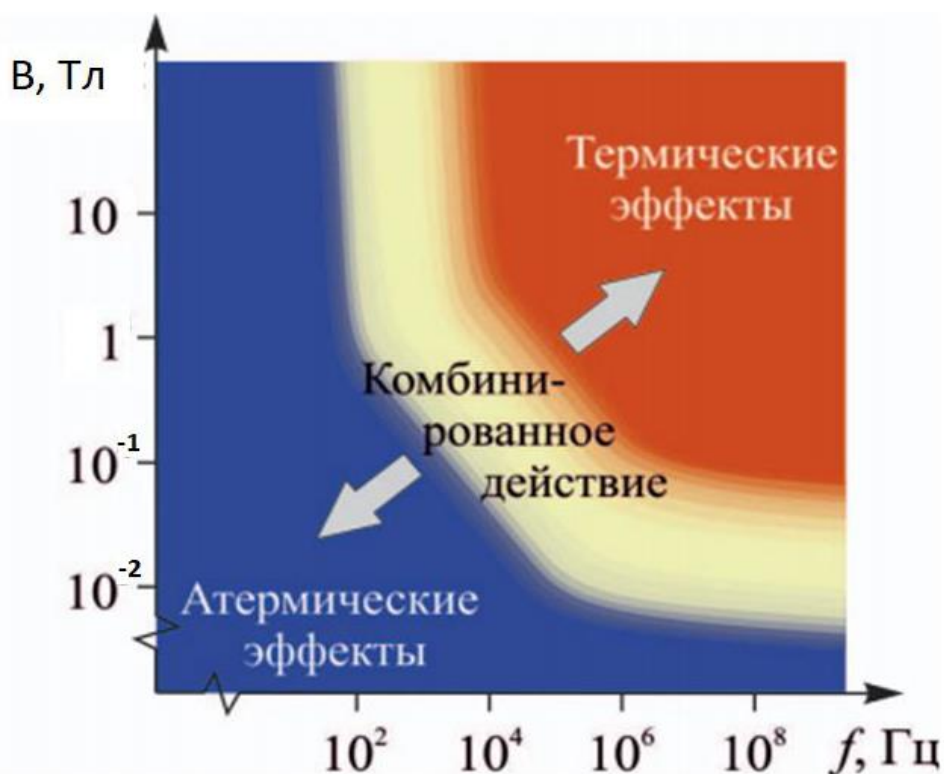


Рисунок 4. Типы эффектов после воздействия на магнитные наночастицы.

При нахождении в магнитном поле, динамика магнитных наночастиц может иметь различный характер. В случае наличия градиента магнитного поля происходит движение наночастицы вдоль градиента магнитного поля. В полях, где градиента нет или им можно пренебречь, магнитные наночастицы должны испытывать вращательное движение. Будем рассматривать случай Броуновской релаксации, так как именно при ней происходит деформация оболочки полиэлектролитных микрокапсул, что должно приводить к изменению их проницаемости. Таким образом, исходя из вышеизложенного, перспективным является использование полей до 100 Гц, индукцией магнитного поля до 1 Тл и магнитных наночастиц с радиусом магнитного ядра от 7 нм.

Опишем динамику движения магнитной наночастицы, находящейся в оболочке микрокапсулы, в магнитном поле.

$$M\dot{\mathbf{r}} = \mathbf{F}^d - 6\pi\eta R_{HD}\dot{\mathbf{r}} \quad (4)$$

$$I\dot{\boldsymbol{\varphi}} = [\boldsymbol{\mu}\mathbf{B}] - [\mathbf{F}_i^d \mathbf{R}_i] - [\mathbf{F}_j^d \mathbf{R}_j] - 8\pi\eta V_{HD}\dot{\boldsymbol{\varphi}} \quad (5)$$

M – масса наночастицы, $\mathbf{F}_{i,j}^d$ – силы реакции связи, \mathbf{F}^d – суммарная сила реакции связей, R_{HD} – гидродинамический радиус наночастицы, $\boldsymbol{\mu}$ – магнитный момент наночастицы, \mathbf{B} – вектор индукции магнитного поля, $\mathbf{R}_{i,j}$ – радиус-вектор из центра наночастицы, до точек приложения сил реакции связей.

Оценим влияние вязкого трения на вращательное движение магнитной наночастицы. Для этого необходимо сравнить значения первого и четвертого членов в уравнении (5). Для наночастиц магнетита с $R \approx 6-10$ нм находящихся в жидкости с вязкостью близкой к вязкости воды, а также переменного магнитного поля с $B = 0.1-1$ Тл получается частота $\nu \approx 10^5 - 10^6$ Гц [35]. Таким образом, в предполагаемой к использованию области частот, можно пренебречь инерционными свойствами наночастиц.

Применение магнитных наночастиц для нагрева является достаточно перспективным направлением. В работе [36] была показана возможность быстрого нагрева наночастиц магнетита при помощи магнитного поля с частотой 373 кГц. Для наночастиц разного размера были получены кривые динамики нагрева. В течении 5 минут, образцы в среднем нагревались на 4 градуса.

С помощью нагрева можно обеспечивать не только гипертермию, но и вскрытие полиэлектролитных микрокапсул. Именно это и было продемонстрировано в работе [20]. Использовалось магнитное поле с

частотами от 100 до 300 Гц. В работе использовались наночастицы кобальта, покрытые золотой оболочкой. Было показано изменение проницаемости микрокапсулы, за счет нагрева наночастиц в оболочке. Однако, в данных работах не рассмотрен вопрос контроля температуры нагрева магнитных наночастиц. Действительно, вопрос контроля температуры наночастицы в режиме реального времени пока что остается не решенным.

Одним из преимуществ применения низкочастотного магнитного поля является его негреющее воздействие на магнитные наночастицы. Таким образом удастся избежать возможности появления некроза.

В статье [37] использовалось низкочастотное магнитное поле для высвобождения красителя из микрокапсул. Использовалось синусоидальное непрерывное магнитное поле с частотой 50 Гц и индукцией магнитного поля порядка 20 мТл. В данной работе показана возможность изменения проницаемости полиэлектролитных микрокапсул именно за счет магнитомеханического воздействия. Однако, значительное изменение проницаемости в экспериментах, описанных в этой статье, достигнуто за времена порядка нескольких часов.

В ряде работ рассматривается возможность использования магнитных наночастиц для управления активностью ферментами за счет магнитомеханических эффектов [38].

Таким образом, использование магнитных наночастиц в качестве локальных медиаторов деформации является достаточно новым и перспективным направлением.

Целью данной работы является исследование влияния низкочастотного магнитного поля с различными параметрами на полиэлектролитные микрокапсулы, содержащие наночастицы магнетита в оболочке.

В соответствии с поставленной целью были сформулированы следующие задачи:

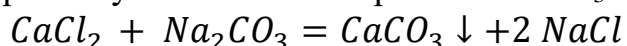
1. Исследовать свойства наночастиц магнетита.
2. Получить полиэлектролитные микрокапсулы, функционализированные наночастицами магнетита.
3. Определить параметры магнитного поля (длительность импульса, длительность паузы между импульсами), оказывающие максимальное влияние на проницаемость оболочки полиэлектролитной микрокапсулы.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Используемые материалы и оборудование

В данной работе, объектом исследования были полиэлектролитные микрокапсулы с наночастицами магнетита в оболочке. Микрокапсулы были синтезированы методом последовательной адсорбции.

В качестве полианионов и поликатионов использовались полимеры Poly(allylamine hydrochloride) (ПАН) и Poly-styrenesulfonic acid (PSS). Данные полимеры по отдельности являются биосовместимыми полимерами [49, 40]. Для получения микрокапсул были синтезированы CaCO_3 ядра:



Для синтеза ядра использовалось по 615 мкл одномолярного (1М) раствора каждого из веществ, синтез проводился в 2.5 мл воды. Для смешивания веществ использовалась магнитная мешалка. Скорость вращения составляла 400 об/мин, время вращения составляло 1 минуту.

Нанесение полиэлектролитных слоев производилось за счёт адсорбции. Для нанесения первого слоя частицы CaCO_3 помещались в раствор полиэлектролита и отправлялись на шейкер. На шейкере частицы и полиэлектролит смешивались в течении 15 минут при скорости вращения 1000 об/мин. После каждого нанесенного полиэлектролитного слоя производилась “отмывка” микрокапсул. “Отмывка” микрокапсул заключалась в удалении из объема пробирки, в которой происходил процесс адсорбции, непрореагировавших веществ. Для этого пробирки центрифугировались на скорости 4000 об/мин в течение 2 минут. После этого из пробирок удалялся супернатант, а вместо него добавлялась вода.

При нанесении каждого нового слоя, процесс отмывки повторялся несколько раз. Использовались растворы полиэлектролитов с концентрацией 2 мг/мл в 0.5М NaCl. Нанесение последующих слоёв производилось аналогично.

Для растворения CaCO_3 ядра использовался 0.2М раствор EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid).

Для загрузки красителя внутрь микрокапсул использовался метод соосаждения. На этапе синтеза ядра, вместо воды использовался водный раствор ФИТЦ-декстрана (70 и 3-5кДа) концентрацией 4 мг/мл. Остальные этапы синтеза проводились без изменений.

Для решения поставленных экспериментальных задач было использовано следующее оборудование:

Анализатор Zetasizer Nano ZS Malvern	Определение гидродинамического радиуса наночастиц магнетита
Анализатор Zetasizer Nano ZS	Определение ζ -потенциала наночастиц магнетита

Malvern	
Вибромагнитометр EG&G PARC модель 155.	Измерение кривой размагничивания наночастиц магнетита.
Генератор магнитного поля TOR MFG 01/12 (Наноматериалы, Россия)	Облучение магнитным полем микрокапсул.
Конфокальный микроскоп Leica TCS SPE (Leica Camera AG, Германия)	Получение снимков конфокальной микроскопии микрокапсул
Сканирующий электронный микроскоп Jeol JSM-7401F(JEOL, Япония)	Получение снимков сканирующей электронной микроскопии для определения размеров микрокапсул
Просвечивающий электронный микроскоп Tecnai Osiris	Получение снимков просвечивающей электронной микроскопии для визуализации наночастиц

Таблица 1. Используемое оборудование.

2.2 Эксперименты по облучению магнитным полем полиэлектролитных микрокапсул с наночастицами магнетита в оболочке

Для облучения магнитным полем использовался генератор магнитного поля TOR MFG 01/12. Пробирки типа эппендорф с микрокапсулами помещались в рабочую область генератора магнитного поля с помощью специального держателя. Микрокапсулы облучались импульсным магнитным полем с параметрами, представленными в таблице 2.

ν , Гц	B , мТл	T_{imp} , мкс	T_{raise} , мкс	$T_{облучения}$, мин
50	100	100	3	25
			10	
			30	
		300	3	
			10	
			30	
			100	

Таблица 2. Используемые параметры магнитного поля.

Значения частоты и величины индукции магнитного поля выбраны для обеспечения негреющего воздействия магнитного поля на наночастицы магнетита (малого значения SAR). Значения T_{imp} и T_{raise} выбирались из возможностей генератора магнитного поля. Полное время облучения было выбрано как среднее время, на котором проявляются эффекты, обусловленные локальными деформациями.

2.3 Метод динамического светорассеяния

Для определения размеров наночастиц использовался метод динамического рассеяния света. По результатам измерения интенсивности рассеяния составлялась автокорреляционная функция $G(\tau)$.

$$G(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T I(t)I(t - \tau)dt \quad (6)$$

В соответствии с гипотезой Онзагера, для описания релаксации микроскопических флуктуаций может быть использован первый закон Фика.

$$\frac{\partial c(\vec{r}, t)}{\partial t} = -D * \nabla c(\vec{r}, t) \quad (7)$$

$c(\vec{r}, t)$ – концентрация и D – коэффициент диффузии частиц.

Корреляционная функция при этом имеет вид

$$G(\tau) = a \exp\left\{-\frac{2\tau}{t_c}\right\} + b. \quad (8)$$

Здесь a и b – коэффициенты, а $\frac{1}{t_c} = D * q^2$, где q^2 – волновой вектор флуктуации концентрации.

При аппроксимации корреляционной функции можно получить значение коэффициента взаимной трансляционной диффузии D . Гидродинамический радиус частиц R вычисляется по формуле Стокса-Эйнштейна.

$$R = \frac{k_b T}{6\pi\eta D} \quad (9)$$

k_b – константа Больцмана, T – абсолютная температура, η – сдвиговая вязкость среды, в которой взвешены наночастицы.

Для измерения гидродинамического размера наночастиц магнетита была приготовлена их водная суспензия. Для работы использовали автоматический анализатор Zetasizer Nano ZS Malvern.

2.4 Электрофоретическое рассеяние света

В основе метода электрофоретического рассеяния света лежит метод динамического рассеяния света и использование лазерного доплеровского анемометра.

Для измерения электрофоретической скорости частиц в исследуемый образец помещается пара электродов, на которые подается постоянное напряжение. Частицы в образце будут двигаться к электроду противоположного заряда с определенной скоростью. Скорость движения частиц измеряется с помощью лазерного доплеровского анемометра. При измерении скорости, в спектре рассеянного света появляется компонента, смещенная относительно несущей частоты на величину доплеровской частоты, которая пропорциональна скорости движущихся частиц.

В анализаторах электрофоретической подвижности для увеличения точности измерений используется специальный метод анализа доплеровского сигнала - PALS (Phase analysis light scattering). PALS процессор измеряет сдвиг фазы падающего лазерного луча при рассеянии света, вызванный движением частиц. Скорость движения частиц в поле, рассчитанная из фазовой функции, позволяет определить электрофоретическую подвижность частиц:

$$\mu_E = \frac{v}{E} \quad (10)$$

v – скорость движения заряженных частиц в электрическом поле с напряженностью E .

Связь величины дзета-потенциала и величины электрофоретической подвижности можно получить из теории Смолуховского.

$$\mu_E = \frac{2\varepsilon\zeta}{3\eta} \quad (11)$$

ζ – значение дзета-потенциала, μ_E – электрофоретическая подвижность, ε – диэлектрическая проницаемость, η – вязкость.

В работе использовали автоматический анализатор Zetasizer Nano ZS Malvern.

2.5 Измерение кривой размагничивания наночастиц магнетита

Для измерения кривой размагничивания наночастиц использовался вибромагнитометр. Вибромагнитометры относятся к группе индукционных магнитометров, в которых измеряется напряжение, индуцированное вибрирующим намагниченным телом в регистрирующей катушке.

Принцип работы вибромагнитометров основан на законе Фарадея: при изменении магнитного потока через катушку, происходит изменение напряжения на катушке. Для катушки из n витков с сечением s имеем

$$V = -n \frac{\partial \Phi}{\partial t} = -ns \frac{\partial B}{\partial t} \quad (12)$$

V – напряжение на катушке, Φ – магнитным поток через катушку, B – индукция магнитного поля.

После помещения в катушку образца, обладающего намагниченностью M , суммарная индукция становится равной

$$B = H + 4\pi M \quad (13)$$

B – индукция магнитного поля, H – напряженность магнитного поля, M – намагниченность образца.

Тогда, изменение индукции магнитного поля зависит только от намагниченности образца, а значит и напряжение на катушке зависит только от намагниченности образца и не зависит от величины поля. Измерения проводили на вибромагнитометре EG&G PARC (модель 155).

2.6 Просвечивающая электронная микроскопия

Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) предполагает изучение тонких образцов с помощью пучка электронов, проходящих сквозь них и взаимодействующих с ними. Электроны, прошедшие сквозь образец, фокусируются на устройстве формирования изображения - сенсоре ПЗС(прибор с зарядовой связью)-камеры.

Благодаря меньшей чем у света длине волны электронов ПЭМ позволяет изучать образцы с разрешением в десятки тысяч раз превосходящим разрешение самого совершенного светооптического микроскопа. ПЭМ является одним из основных методов исследования в целом ряде прикладных областей: физике, биологии, материаловедении и т.д.

Электронный пучок, расходящийся от источника, преобразуется электромагнитными линзами, и затем попадает на исследуемый образец, который помещается вблизи полюсного наконечника объективной линзы. Изменяя ток в катушке промежуточной линзы, можно менять ее фокусное расстояние, так что на флуоресцентном экране микроскопа будет фокусироваться либо плоскость самого изучаемого объекта, либо задняя фокальная плоскость объективной линзы. В первом случае мы будем наблюдать увеличенное изображение структуры образца. Во втором на экране микроскопа будет видна дифракционная картина (дифрактограмма, электронограмма), соответствующая освещаемому электронами участку образца. Из числа электронных пучков, исходящих от образца – прошедшего и нескольких дифрагированных – не все достигают экрана и участвуют в формировании изображения. Выбор пучка, создающего изображение, осуществляется при помощи апертурной диафрагмы, расположенной в задней фокальной плоскости объективной линзы. Если изображение формируется только прямым (т.е. прошедшим) пучком, такое изображение называется светлопольным. В случае, когда апертурная диафрагма пропускает один из дифрагированных пучков, изображение называется темнопольным. Интенсивности пучков, выходящих из образца, определяются процессами рассеяния и поглощения, и зависят от структуры и состава образца, его толщины, ориентации, длины волны излучения.

При проведении экспериментов использовался просвечивающий электронный микроскоп Tescan Osiris, оснащенный энергодисперсионным спектрометром.

2.7 Сканирующая электронная микроскопия

Сканирующий электронный микроскоп — это прибор, предназначенный для получения увеличенного изображения объекта путем сканирования по объекту сфокусированным пучком электронов и регистрации детектором сигнала, возникающего в результате взаимодействия электронов с веществом. Принципиальная схема сканирующего электронного микроскопа включает в себя источник электронов, оптическую систему для фокусировки электронов и сканирования (электронную колонну), камеру с образцом и детекторы для регистрации сигнала, а также систему откачки, необходимую для создания вакуума в микроскопе.

Испускаемые катодом электроны, проходя через систему электронной оптики, фокусируются и ускоряются в направлении образца. В процессе сканирования сфокусированным пучком по поверхности образца происходит эмиссия вторичных электронов, которые регистрируются детектором. Таким образом, на систему сбора данных поступает информация о координатах пучка на образце и величине сигнала с детектора.

Вторичные электроны выходят с небольшой глубины (~1-10 нм), на которой рассеяние пучка в плоскости изображения не столь значительно, поэтому позволяют получить изображение с максимальным разрешением.

Количество вторичных электронов определяется углом падения пучка на поверхность, т.е. морфологией поверхности. Наклонные участки поверхности на изображении во вторичных электронах выглядят более светлыми, по сравнению с поверхностью перпендикулярной первичному пучку. Вблизи острых краев или углов образца наблюдается увеличение выхода вторичных электронов, связанное с возможностью выхода через несколько поверхностей (краевой эффект).

При построении изображения каждой точке образца приписывается яркость пропорциональная величине сигнала, измеренного в момент, когда пучок находился в этой точке.

В экспериментах использовался сканирующий электронный микроскоп Jeol JSM-7401F.

2.8 Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (CLSM – confocal laser scanning microscopy) является методом оптического трехмерного поверхностного профилирования с высокой разрешающей способностью. Высокая числовая апертура линзовых объективов и короткая длина волны лазерного излучения обеспечивают получение изображений с высоким разрешением вдоль оптического и поперечного направлений.

Также конфокальные микроскопы обладают значительным контрастом по сравнению с классическими оптическими микроскопами за счет использования специальной диафрагмы (пинхол), отсекающей поток фонового рассеянного света – это помогает улучшить качество изображения. В конфокальном микроскопе в каждый момент времени регистрируется изображение одной точки объекта, а полноценное изображение строится путем сканирования (движение образца или перестройка оптической системы). Для того чтобы регистрировать свет только от одной точки после объектива располагается пинхол таким образом, что свет, испускаемый анализируемой точкой, проходит через него и будет зарегистрирован, а свет от остальных точек отрезается данным пинхолом.

Повышение контраста изображения также достигается за счет того, что осветитель создает не равномерную освещенность поля зрения, а фокусирует свет в анализируемую точку. Это может достигаться за счет использования светоделительной пластинки, так чтобы и падающий и отраженный свет фокусировались одним объективом. Такая схема к тому же облегчает юстировку.

Получение изображения в режиме реального времени достигается за счет модуля быстрого сканирования и алгоритма обработки сигналов. Для получения 3D профиля поверхности образца требуется менее 1 секунды.

Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия является техникой оптического неразрушающего контроля для профилирования поверхностей микроструктур с высоким разрешением.

Способность измерения высоты достигается благодаря конфокальному расположению источника, образца и детектора. Когда образец находится в фокальной плоскости объектива, свет, отраженный на поверхности образца, фокусируется на конфокальное отверстие, а фотодетектор собирает сигнал от образца. Однако образец помещают в положение не в фокусе, и световой сигнал отклоняется конфокальной диафрагмой. Таким образом, только сигнал в фокусе попадает на фотодетектор. Этим объясняется оптическая селективная способность CSLM технологии.

Максимальная интенсивность излучения регистрируется в фокальной плоскости. Интенсивность уменьшается, когда образец отводится от фокальной плоскости.

В экспериментах использовался конфокальный микроскоп Leica TCS SPE.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение по размерам наночастиц магнетита (рис. 5) было получено методом динамического светорассеяния. Средний гидродинамический диаметр наночастиц магнетита составил 100 ± 40 нм.

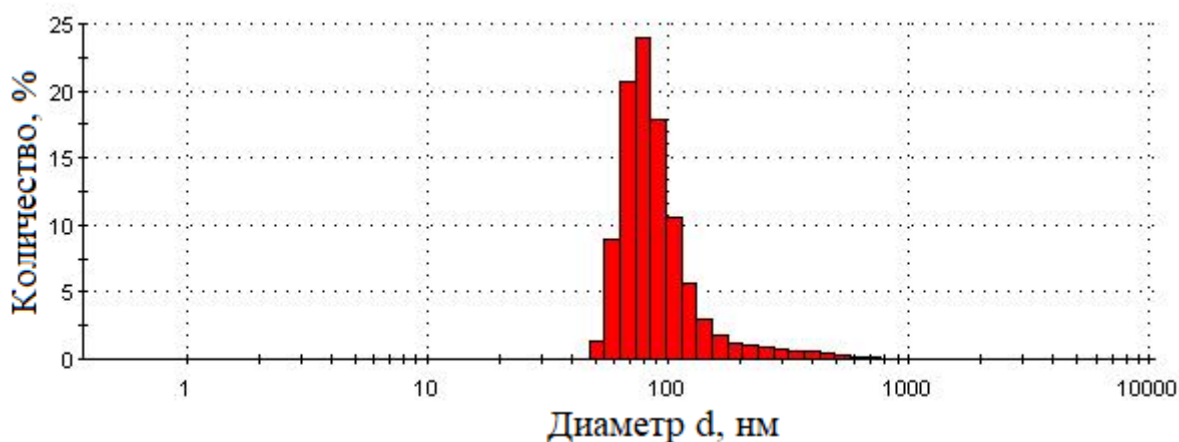


Рисунок 5. Распределение наночастиц магнетита по размерам.

Методом электрофоретического рассеяния света было получено значение дзета-потенциала для используемых наночастиц магнетита, которое составило -18 ± 4 мВ (рис. 6).

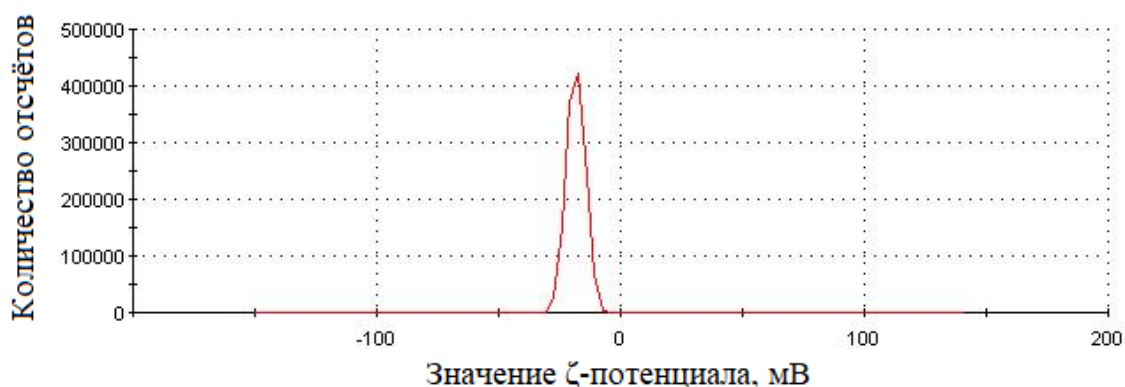


Рисунок 6. Распределение величины ζ-потенциала для наночастиц магнетита.

Значение дзета-потенциала позволило выбрать противоположно заряженный полиэлектролит - полиаллиламин гидрохлорид, на который производилась адсорбция наночастиц магнетита в процессе синтеза капсул.

Были синтезированы микрокапсулы, функционализированные магнитными наночастицами, следующей структуры: ПАН/PSS/ПАН/MNP/PSS/ПАН/PSS.

На рис.7 представлено ПЭМ изображение оболочки микрокапсулы содержащей наночастицы магнетита. Средний диаметр наночастиц определяли с помощью анализа ПЭМ-изображения в программе ImageJ, для этого проводили не менее 50 измерений, затем результаты измерений

усредняли. Среднее значение диаметра магнитного ядра наночастиц магнетита составило 12 ± 1 нм.

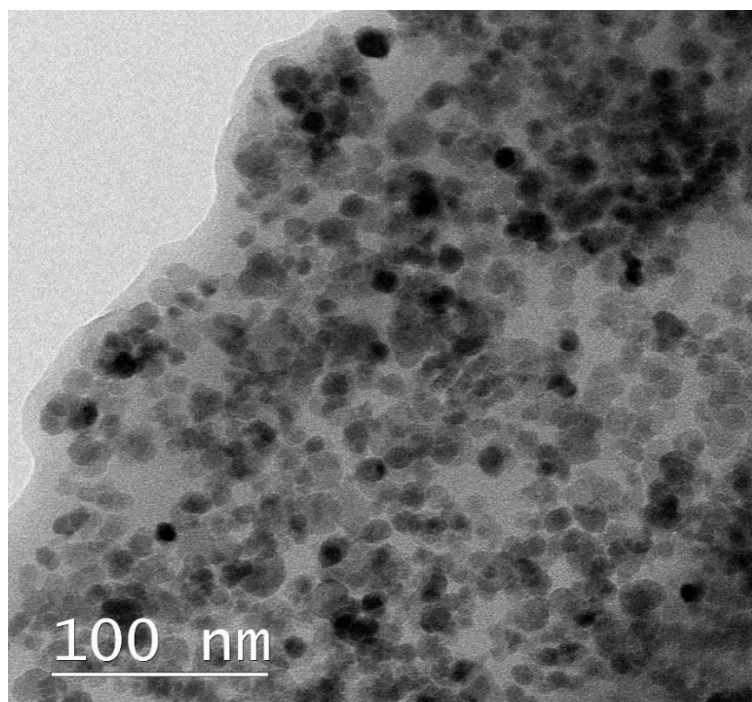


Рисунок 7. Изображение наночастиц магнетита в оболочке полиэлектролитной микрокапсулы (ПЭМ).

Магнитные свойства наночастиц магнетита были определены из кривой размагничивания (рис. 8). Измерения проводились при комнатной температуре в полях до 5 кЭ.

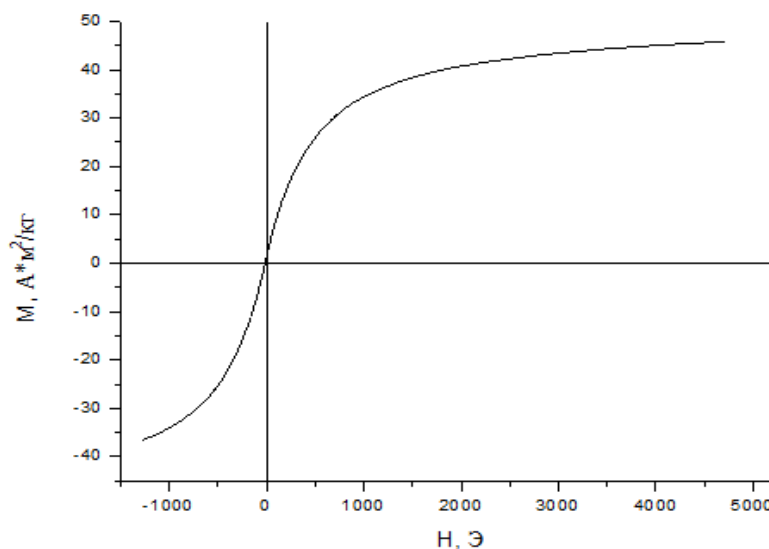


Рисунок 8. Кривая размагничивания наночастиц магнетита.

Коэрцитивная сила – значение напряженности магнитного поля, необходимое для полного размагничивания вещества (пересечение кривой

размагничивания с осью x). Остаточная намагниченность – значение намагниченности вещества при отсутствии внешнего магнитного поля.

Магнитный момент наночастиц определяли по формуле:

$$\mu = J_s * V * \rho, \quad (14)$$

где μ – магнитный момент, J_s – намагниченность насыщения, V – объем наночастицы, ρ – плотность магнитного вещества ($\rho_{\text{магнетита}} = 5400 \text{ кг/м}^3$).

Магнитные характеристики наночастиц, определенные из кривой размагничивания, представлены в таблице 3.

Коэрцитивная сила, Э	Намагниченность насыщения, $A * M^2 / KГ$	Остаточная намагниченность, $A * M^2 / KГ$	Магнитный момент, $* 10^{-19}, A * M^2$
$-13,3 \pm 0,1$	$45,7 \pm 0,0$	$1,2 \pm 0,0$	$2,4 \pm 0,3$

Таблица 3. Магнитные характеристики наночастиц магнетита.

Из-за наличия остаточной намагниченности (при отсутствии магнитного поля, магнитный момент не равен нулю), используемые наночастицы магнетита можно отнести к ферромагнитным наночастицам.

В соответствии с теоретическими представлениями, описанными в пункте 2.4, тип релаксации магнитного момента наночастиц магнетита с такими параметрами после облучения магнитным полем может быть Броуновским. Т.е. тепловые флуктуации могут приводить к случайному перевороту частиц вместе с магнитными моментами. Такие наночастицы пригодны для использования в качестве локальных медиаторов деформации за счет магнитомеханического эффекта.

С помощью СЭМ были получены изображения микрокапсул PAH/PSS/PAH/MNP/PSS/PAH/PSS до и после облучения магнитным полем. Из сравнения капсул на рисунке 9 нельзя сделать однозначный вывод об изменении морфологии поверхности капсул и их целостности.

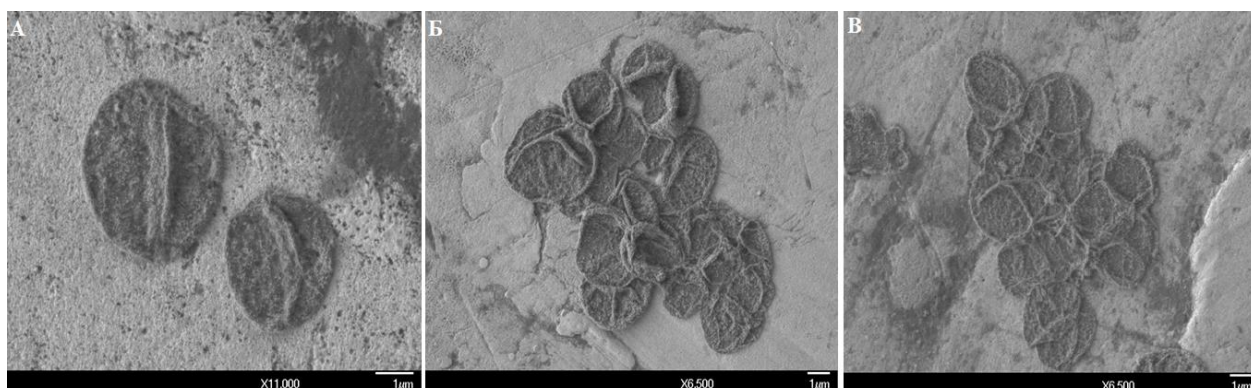


Рисунок 9. СЭМ-изображения микрокапсул до (А) и после облучения

магнитным полем с параметрами $T_{imp}=100$ мс, $T_{pause}=10$ мс (Б); $T_{imp}=300$ мс, $T_{pause}=100$ мс (В).

Элементный анализ капсул с наночастицами осуществлялся при помощи энергодисперсионного рентгеновского детектора, которым оснащен просвечивающий электронный микроскоп. Основные пики, отмеченные на энергодисперсионном рентгеновском спектре (рис.10), соответствуют следующим элементам: сера, кислород, углерод (входят в состав используемых полиэлектролитов), железо (входит в состав наночастиц), медь (входит в состав сеточки-держателя для ПЭМ).

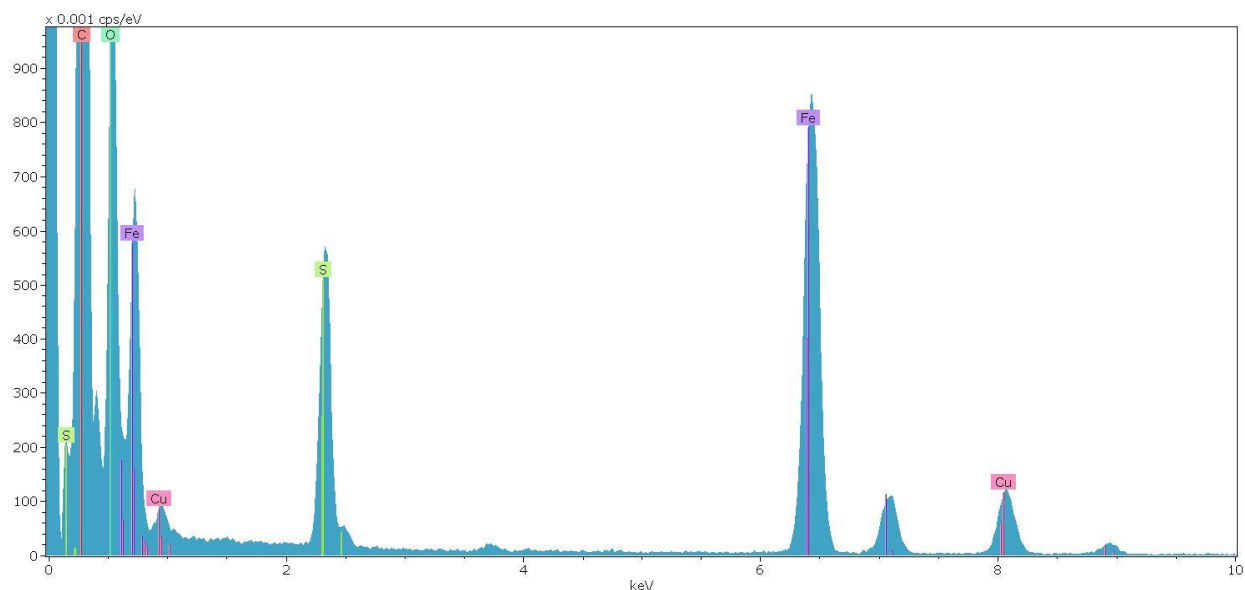


Рисунок 10. Энергодисперсионный спектр микрокапсул с наночастицами.

На рисунке 11 представлено ПЭМ-изображение микрокапсулы PAN/PSS/PAN/MNP/PSS/PAN/PSS с картированием по элементам. Наличие углерода, кислорода, серы и натрия по всей площади капсулы говорит о равномерном распределении полиэлектролитов при формировании оболочки. Учитывая состав используемых материалов, распределение железа можно однозначно ассоциировать с распределением наночастиц магнетита. Таким образом, из картирования видно, что наночастицы магнетита распределены по микрокапсуле практически равномерно и не образуют агрегатов.

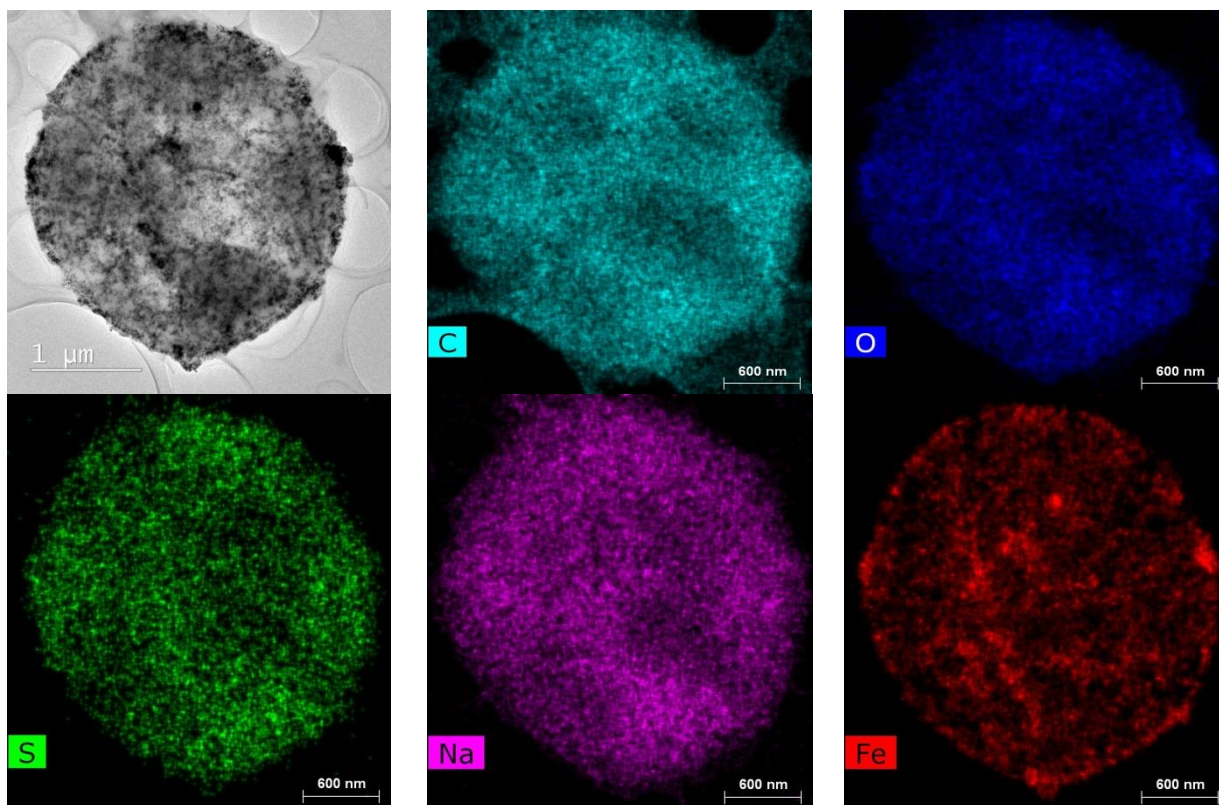


Рисунок 11. ПЭМ-изображение микрокапсулы с наночастицами и карты распределения элементов по капсуле.

Для получения флуоресцентных изображений капсул использовался флуоресцентно-меченный полимер ФИТЦ-декстран с молекулярной массой 70 и 3-5 кДа. ФИТЦ-декстран имеет пик поглощения на длине волны 490 нм. Часть экспериментов проводилась при инкапсуляции ФИТЦ-декстрана внутрь микрокапсул, в других экспериментах микрокапсулы инкубировались в его растворе.

Первую серию экспериментов проводили при инкубировании капсул в растворе ФИТЦ-декстрана с молекулярным весом 70 кДа при облучении магнитным полем. На рисунке 12 представлены конфокальные изображения микрокапсул PAN/PSS/PAN/MNP/PSS/PAN/PSS до и после воздействия магнитным полем с различными параметрами.

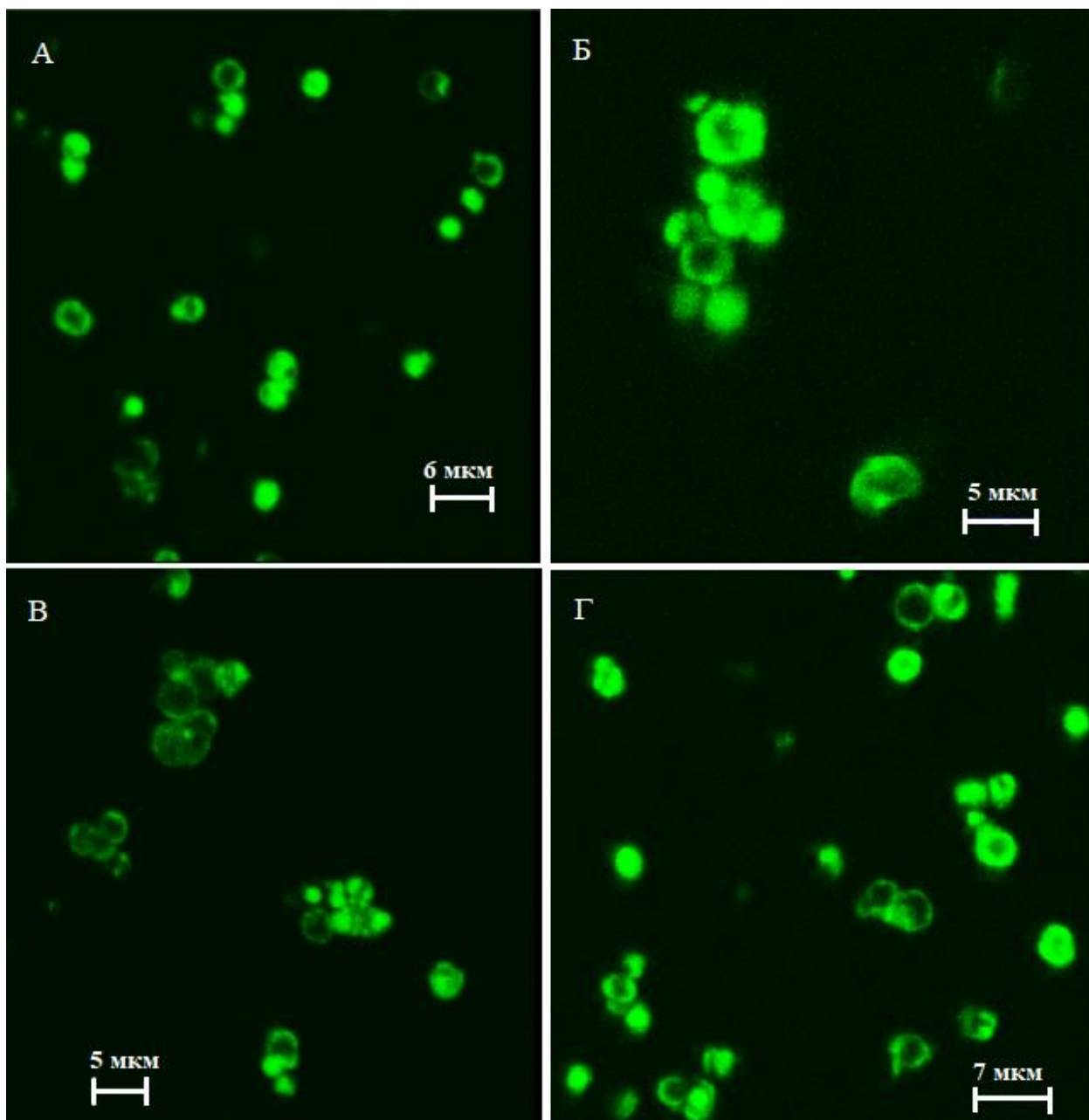


Рисунок 12. Конфокальные изображения микрокапсул РАН/PSS/РАН/MNP/PSS/РАН/PSS в растворе ФИТЦ-декстрана: контрольный образец не облучался магнитным полем (А); образец после воздействия - магнитным полем с параметрами $T_{imp}=100$ мс, $T_{pause}=10$ мс (Б); $T_{imp}=300$ мс, $T_{pause}=100$ мс (В); Г - $T_{imp}=100$ мс, $T_{pause}=30$ мс (Г).

Из представленных выше изображений нельзя сделать достоверный вывод об изменении интенсивности флуоресценции ФИТЦ-декстрана в оболочке. Это не позволяет оценить влияние магнитного поля на изменение проницаемости оболочки. Для численной характеристики изменения концентрации ФИТЦ-декстрана в оболочке микрокапсул использовалась следующая методика (рис. 13):

1. На снимках, полученных на конфокальном микроскопе, вдоль диаметра микрокапсул проводили прямые линии.
2. В программе ImageJ строили профили интенсивности флуоресценции красителя ФИТЦ, соответствующие яркости точек на снимках, вдоль проведенных прямых.
3. Полученные профили усредняли в программе Origin.

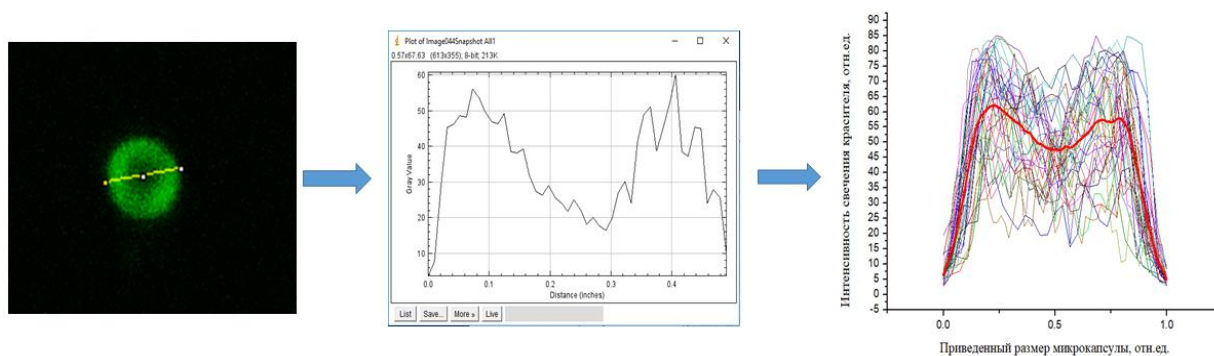


Рисунок 13. Схема обработки изображений, полученных при помощи конфокального микроскопа.

С помощью описанной методики обработки снимков конфокальной микроскопии были построены профили интенсивности флуоресценции красителя в оболочке полиэлектролитных микрокапсул до и после облучения магнитным полем. Для каждого из режимов профиль усреднялся по 50 профилям отдельных микрокапсул, что обеспечивает статистическую достоверность результатов.

На рисунке 14 представлены профили интенсивности флуоресценции красителя в оболочке полиэлектролитных микрокапсул. Перед облучением магнитным полем микрокапсулы были инкубированы в растворе ФИТЦ-декстрана с молекулярным весом 70 кДа.

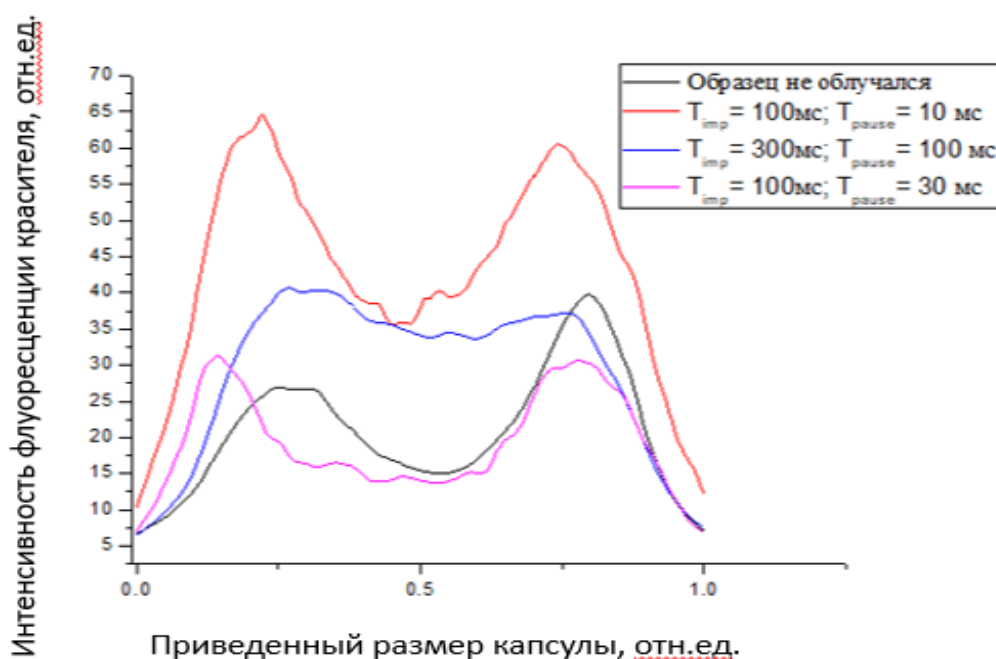


Рисунок 14. Профили интенсивности флуоресценции ФИТЦ в капсулах после инкубации в ФИТЦ-декстрани (70 кДа).

Из приведенных на рисунке 14 профилей видно существенное изменение интенсивности флуоресценции при облучении магнитным полем с параметрами $T_{imp}=100$ мс, $T_{pause}=10$ мс по сравнению с необлученным (контрольным) образцом. Изменение формы профиля и отличие от контрольного образца наблюдается для режима с параметрами $T_{imp}=300$ мс, $T_{pause}=100$ мс. Данное изменение формы профиля можно объяснить тем, что при получении снимков на конфокальном микроскопе, фокусировка была быть произведена не ровно по центру микрокапсулы. Это так же подтверждается тем, что максимумы на профиле (режим $T_{imp}=300$ мс, $T_{pause}=100$ мс) сильно смещены к центру.

Вторую серию экспериментов проводили с капсулами, внутрь которых был инкапсулирован ФИТЦ-декстран (70 кДа) (рис. 15). Инкапсулирование ФИТЦ-декстрана проводили методом соосаждения с частицами карбоната кальция.

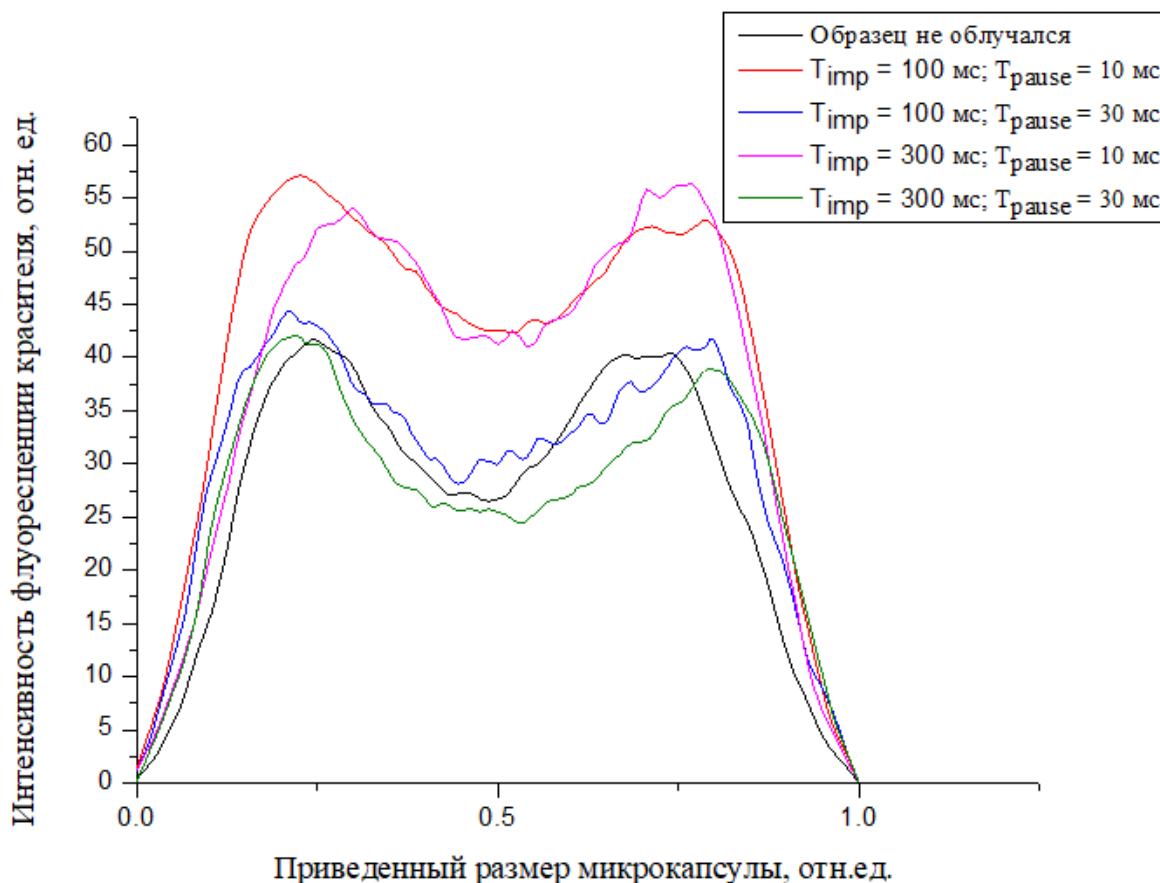


Рисунок 15. Профили интенсивности флуоресценции ФИТЦ в капсулах с инкапсулированным ФИТЦ-декстраном (70 кДа).

Из профилей интенсивности на рис.15 видно, что они разделились на две группы, и режимы с паузой между импульсами $T_{pause}=10$ мс существенно отличаются от остальных. Остальные режимы совпадают между собой. В данной серии экспериментов проверяли зависимость изменения интенсивности флуоресценции красителя от T_{imp} , T_{pause} и скважности импульсов (отношение периода следования импульсов к длительности импульса). Из полученных результатов можно сделать вывод о том, что в большей степени влияет длительность паузы между импульсами T_{pause} .

Следующую серию экспериментов проводили с микрокапсулами, внутрь которых был инкапсулирован ФИТЦ-декстран с молекулярной массой 3-5 кДа (рис. 16).

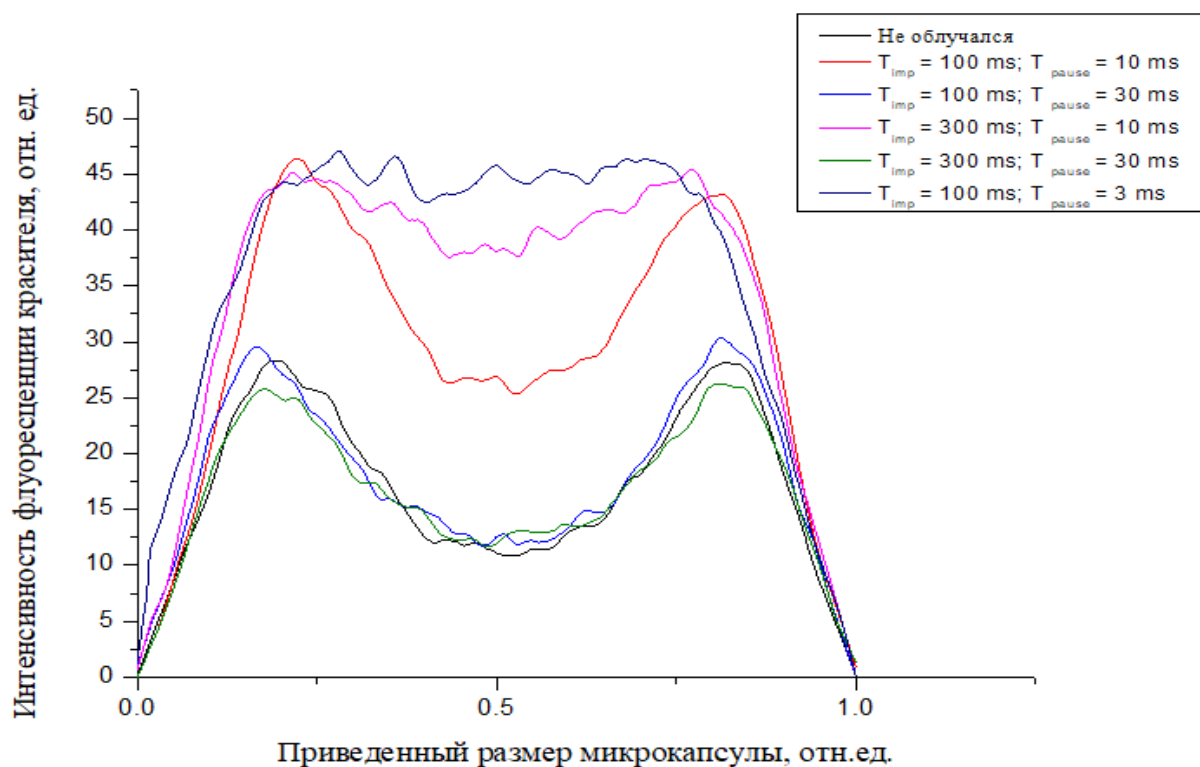


Рисунок 16. Профили интенсивности флуоресценции ФИТЦ в капсулах с инкапсулированным ФИТЦ-декстраном (3-5 кДа).

Из профилей интенсивности видно, что профили для режимов с длительностью паузы $T_{pause}=10 \text{ мс}$ и $T_{pause}=3 \text{ мс}$ отличаются от контрольного. Профили для остальных режимов, для которых пауза между импульсами составляет 30 мс, совпадают с контрольным профилем. Кроме того, можно отметить, что при использовании более полимера с молекулярной массой 3-5 кДа появляется разница между профилями для режимов $T_{imp}=100 \text{ мс}$, $T_{pause}=10 \text{ мс}$ и $T_{imp}=300 \text{ мс}$, $T_{pause}=10 \text{ мс}$, чего не было при использовании ФИТЦ-декстрана 70 кДа.

При вращении магнитной наночастицы в импульсном магнитном поле происходит периодическое натяжение и сжатие полиэлектролитных слоев микрокапсулы. Такого рода деформации влияют на проницаемость полиэлектролитных слоев и могут приводить к частичному разрыву связей в полимерах (рис. 17).

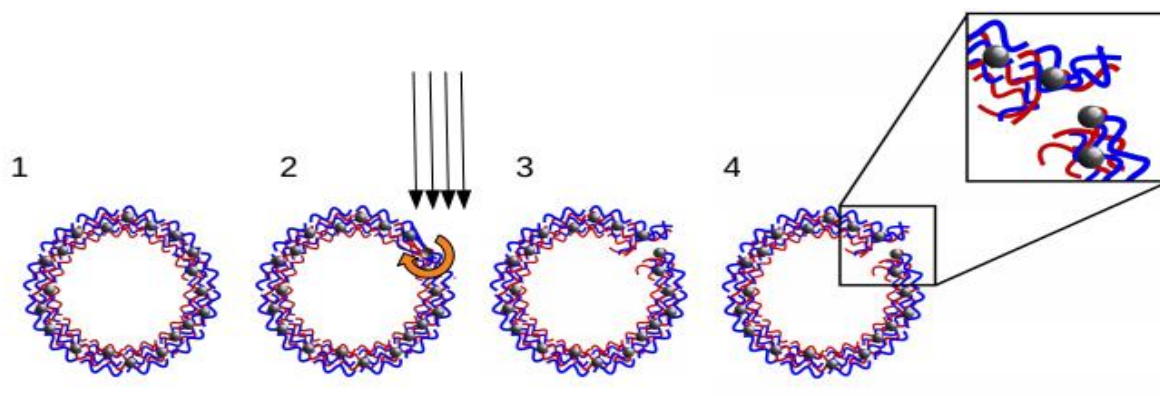


Рисунок 17. Схематичное изображение деформации оболочки полиэлектролитной микрокапсулы магнитными наночастицами под действием магнитного поля.

Из приведенных выше результатов следует, что определяющим фактором, способствующим деформации оболочки микрокапсулы, является длительность паузы между импульсами. При больших значениях паузы между импульсами, деформированная оболочка успевает вернуться в своё первоначальное состояние за время меньшее, чем пауза между импульсами. Соответственно количество красителя, успевающего диффундировать через оболочку, достаточно небольшое. При малых значениях длительности паузы между импульсами, оболочка микрокапсулы не успевают полностью вернуться в недеформированное состояние. Таким образом, увеличивается промежуток времени, в течение которого краситель может диффундировать через оболочку.

ВЫВОДЫ

В соответствии с поставленными задачами:

1. Исследованы свойства магнитных наночастиц. Методом динамического светорассеяния и с помощью сканирующей электронной микроскопии определен средний размер частиц, который составил 12 ± 1 нм. Из анализа кривой размагничивания определен магнитный момент – $(2.4 \pm 0.3) \cdot 10^{-19}$ А*м². Дзета потенциал частиц составил -18 ± 4 мВ.
2. Получены микрокапсулы, поверхность которых модифицирована наночастицами магнетита. Размер полученных микрокапсул составил 2.5-5 мкм. Методом просвечивающей электронной микроскопии установлено равномерное распределение наночастиц магнетита в оболочке микрокапсулы.
3. Определены параметры магнитного поля, оказывающие максимальное влияние на проницаемость оболочки полиэлектролитной микрокапсулы. Для достижения наибольшего эффекта деформации полиэлектролитной оболочки необходимо, чтобы пауза между импульсами была меньше времени поверхностной релаксации оболочки микрокапсулы

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- [1] P. S. Weiss, “What can nano do?” ACS Nano, vol. 7, no. 11, pp. 9507–8, Nov.2013.
- [2] Степанова Э.Ф., Ким М.Е., Мурзагулова К.Б., Евсеева С.Б. – “Микрокапсулы: перспективы использования в современной фармацевтической практике.” Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5
- [3] Shang-Hsiu Hu, Chia-Hui Tsai, Chen-Fu Liao, Dean-Mo Liu, San-Yuan Chen – “Controlled Rupture of Magnetic Polyelectrolyte Microcapsules for drug delivery” Langmuir, 2008, 24.
- [4] Francesca Cavalieri, Almar Postma, Lillian Lee, Frank Caruso - “Assembly and functionalization of DNA-polymer microcapsules”. ACS Nano. 2009 Jan 27
- [5] Daeyeon Lee, Michael F. Rubner, Robert E. Cohen – “Formation of Nanoparticle-Loaded Microcapsules Based on Hydrogen-Bonded Multilayers”. Chem. Mater. 2005, 17.
- [6] Chunhong Ye, Irina Drachuk, Rossella Calabrese, Hongqi Dai, David L. Kaplan, Vladimir V Tsukruk – “Permeability and Micromechanical Properties of Silk Ionomer Microcapsules.” Langmuir, 2012, 28.
- [7] Frank Caruso, Heinz Lichtenfeld, Edwin Donath, and Helmuth Mohwald - “Investigation of Electrostatic Interactions in Polyelectrolyte Multilayer Films: Binding of Anionic Fluorescent Probes to Layers Assembled onto Colloids”. Macromolecules, 1999, 32.
- [8] Daria Trushina, Sergei Sulyanov, Tatiana V. Bukreeva, M.V. Kovalchuk – “Size control and structure features of spherical calcium carbonate particles.” CRYSTALLOGRAPHY REPORTS, Vol. 60, 2015
- [9] Pieter Bots, Liane G. Benning, Juan-Diego Rodriguez-Blanco, Teresa Roncal - Herrero, and Samuel Shaw - “Mechanistic insights into the crystallization of amorphous calcium carbonate (ACC)”. American Chemical Society, 2012.
- [10] D. A. Gorin, S. A. Portnov, O. A. Inozemtseva, Z.B. Luklinska - “Magnetic/gold nanoparticle functionalized biocompatible microcapsules with sensitivity to laser irradiation”. Physical Chemistry Chemical Physics · January 2009
- [11] S.Carregal-Romero, Wolfgang J. Parak, Pablo Guardia, Xiang Yu, Raimo Hartmann, Teresa Pellegrino – “Magnetically triggered release of molecular cargo from iron oxide nanoparticle loaded microcapsules”. Nanoscale, November 2014.
- [12] Thirumalai S, Mobed-Miremadi M, Sridhar-Keralapura M. - “Effect of therapeutic ultrasound on acoustically sensitive microcapsule”. 33rd Annual International Conference of the IEEE EMBS.
- [13] Pavlov A.M., Saez V., Cobley A., Graves J., Sukhorukov G.B., & Mason T. J. – “Controlled protein release from microcapsules with composite shells using high frequency ultrasound - potential for in vivo medical use”. Soft Matter, vol 7, 2011.

- [14] David Chang, May Lim, Jeroen A. Goos, Ruirui Qiao, Yun Yee Ying, Friederike M. Mansfeld, Michael Jackson, Tom Davis, Maria Kavallaris – “Biologically Targeted Magnetic Hyperthermia: Potential and Limitations”. *Frontiers in Pharmacology*, vol. 9, 2018.
- [15] M. F. Bédard, S. Sadasivan, G. B. Sukhorukov, and A. Skirtach - “Assembling polyelectrolytes and porphyrins into hollow capsules with laser-responsive oxidative properties”. *Mater. Chem.*, vol. 19, no. 15, 2009.
- [16] S. Carregal-Romero, Wolfgang J. Parak, Markus Ochs – “Nanoparticle-functionalized microcapsules for in vitro delivery and sensing”. *Nanophotonics*, 2012.
- [17] D. A. Gorin, S. A. Portnov, O. A. Inozemtseva, Z. Luklinska, A. M. Yashchenok, A. M. Pavlov, A. G. Skirtach, H. Möhwald, and G. B. Sukhorukov – “Magnetic/gold nanoparticle functionalized biocompatible microcapsules with sensitivity to laser irradiation.” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 10, 2008.
- [18] A. G. Skirtach, A. A. Antipov, D. G. Shchukin, and G. B. Sukhorukov - “Remote activation of Capsules Containing Ag Nanoparticles and IR Dye by Laser Light.” *Langmuir*, vol. 20, no. 17, Aug. 2004.
- [19] М. А. Долгополов, И. В. Копытин – “ Моделирование магнитной доставки микрочастиц в биосреду методом имплантации источников магнитного поля.” *Вестник ВГУ. Серия: ФИЗИКА. МАТЕМАТИКА.* 2013. № 2.
- [20] Zonghuan Lu, Malcolm D. Prouty, Zhanhu Guo, Vladimir O. Golub, Challa S. S. R. Kumar, and Yuri M. Lvov – “Magnetic Switch of Permeability for Polyelectrolyte Microcapsules Embedded with Co@Au Nanoparticles”. *Langmuir*, 2005.
- [21] M. A. Correa-Duarte, A. Kosiorek, W. Kandulski, M. Giersig, and L. M. Liz-Marzán, “Layer-by-layer assembly of multiwall carbon nanotubes on spherical colloids,” *Chem. Mater.*, 2005.
- [22] C. Schüler, F. Caruso - “Decomposable hollow biopolymer-based capsules.” *Biomacromolecules*, vol. 2, no. 3, 2001.
- [23] B. Städler, R. Chandrawati, K. Goldie, F. Caruso - “Capsosomes: Subcompartmentalizing polyelectrolyte capsules using liposomes,” *Langmuir*, vol. 25, no. 12, 2009.
- [24] Petrov A. I., Volodkin D. V., Sukhorukov G. B. – “Protein-Calcium Carbonate Coprecipitation: A Tool for Protein Encapsulation. *Biotechnology Progress*”, 21(3), 2008.
- [25] Karamitros, C. S., Yashchenok, A. M., Möhwald, H., Skirtach, A. G., Konrad, M. – “Preserving Catalytic Activity and Enhancing Biochemical Stability of the Therapeutic Enzyme Asparaginase by Biocompatible Multilayered Polyelectrolyte Microcapsules.” *Biomacromolecules*, 14(12), 2013.
- [26] Welzel T., Radtke I., Meyer-Zaika W., Heumann R., Epple, M. – “Transfection of cells with custom-made calcium phosphate nanoparticles coated with DNA.” *Journal of Materials Chemistry*, 14(14), 2004.

- [27] Balabushevitch N. G., Sukhorukov G. B., Moroz N. A., Volodkin D. V., Larionova N. I., Donath E., & Mohwald H. – “Encapsulation of proteins by layer-by-layer adsorption of polyelectrolytes onto protein aggregates: Factors regulating the protein release.” *Biotechnology and Bioengineering*, 76, 2001.
- [28] Q. Zhao, B. Li - “pH-controlled drug loading and release from biodegradable microcapsules,” *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 4, no. 4, 2008.
- [29] H. Y. Koo, H. J. Lee, J. K. Kim, and W. S. Choi - “UV-triggered encapsulation and release from polyelectrolyte microcapsules decorated with photo acid generators.” *J. Mater. Chem.*, vol. 20, no. 19, 2010.
- [30] Deissler, R. J., Martens, M. A., Wu, Y., & Brown, R. – „Brownian and Néel relaxation times in magnetic particle dynamics.” 2013 International Workshop on Magnetic Particle Imaging (IWMPi).
- [31] Н. Г. Чеченин – “Магнитные наноструктуры и их применение.” Грант Виктория ТК, 2006.
- [32] Rosensweig R. E. – “Heating magnetic fluid with alternating magnetic field.” *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 252, p 370–374. 2002.
- [33] Yu. I. Golovina, N. L. Klyachko, A. G. Majouga, S. L. Gribanovskii, D. Yu. Golovin, A. O. Zhigachev, A. V. Shuklinov, M. V. Efremova, M. M. Veselov, K. Yu. Vlasova, A. D. Usvaliev, I. M. Le-Deygen, and A. V. Kabanov – “New approaches to nanotheranostics: polyfunctional magnetic nanoparticles activated by non-heating low-frequency magnetic field control biochemical system with molecular locality and selectivity.” *Nanotechnologies in Russia*, 2018, Vol. 13, pp. 215–239.
- [34] Ю.И. Головин, А.О. Жигачев, М.В. Ефремова, А.Г. Мажуга, А.В. Кабанов, Н.Л. Клячко – “Пути и методы управления биомолекулярными структурами с помощью магнитных наночастиц, активируемых переменным магнитным полем.” *Российские нанотехнологии*. 2018. Том 13. № 5–6.
- [35] Ю.И. Головин, С.Л. Грибановский, Д.Ю. Головин, Н.Л. Клячко, А.В. Кабанов – “Однодоменные магнитные наночастицы в переменном магнитном поле как медиаторы локальной деформации окружающих макромолекул”. *Физика твердого тела*, 2014, том 56, вып. 7.
- [36] Khandhar, A. P., Ferguson, R. M., Simon, J. A., & Krishnan, K. M. – “Tailored magnetic nanoparticles for optimizing magnetic fluid hyperthermia”. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2011, 100A (3), 728–737.
- [37] Dong Luoa, Robin N. Postonc, David J. Gould, Gleb B. Sukhorukov - “Magnetically targetable microcapsules display subtle changes in permeability and drug release in response to a biologically compatible low frequency alternating magnetic field.” *Materials Science & Engineering*, 2019, vol. 94, pp. 647–655.
- [38] Ю.И. Головин, С.Л. Грибановский, Н.Л. Клячко, А.В. Кабанов – “Наномеханическое управление активностью ферментов,

- иммобилизованных на однодоменных магнитных наночастицах”.
Журнал технической физики, 2014, том 84, вып. 6.
- [39] Todorka Gancheva Vladkova – “Surface Engineering of Polymeric Biomaterials.” page 318. Smithers Rapra Technology Ltd. January 2013.
- [40] Janeesh P.A, Haider Sami, Dhanya C.R, Sri Sivakumar and Annie Abraham – “Biocompatibility and Genotoxicity Studies of Polyallylamine Hydrochloride Nanocapsules in Rats.” The Royal Society of Chemistry, 2014, vol 4.