

Исследование характеристик магнитных наночастиц, полученных методом лазерной абляции

© У.Е. Курилова,^{1,2,3} А.С. Черников,² Д.А. Кочуев,² Р.В. Чкалов,² М.А. Дзус,² А.В. Харьковская,² А.В. Казак,^{2,4} И.А. Сутина,⁵ Л.И. Руссу,⁵ М.В. Мезенцева,⁵ К.С. Хорьков²

¹ Научный центр мирового уровня „Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение“, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения РФ, 119991 Москва, Россия

² Институт информационных технологий и электроники, Владимирский государственный университет им. Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых, 600000 Владимир, Россия

³ Институт биомедицинских систем, Национальный исследовательский университет „МИЭТ“, 124498 Москва, Зеленоград, Россия

⁴ Технопарк, Государственный университет просвещения, 105005 Москва, Россия

⁵ Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного акад. Н.Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения РФ, 123098 Москва, Россия
e-mail: kurilova_10@mail.ru

Поступило в Редакцию 23 декабря 2024 г.

В окончательной редакции 23 декабря 2024 г.

Принято к публикации 23 декабря 2024 г.

Представлены результаты исследований магнитных наночастиц для биомедицинских применений. Наночастицы синтезированы методом лазерной абляции в деионизованной воде и в ацетоне и подвергнуты магнитной сепарации. Спектроскопия комбинационного рассеяния указывает на преобладание частиц магнетита среди полученного материала. Исследования методом сканирующей электронной микроскопии указывают на сферическую форму полученных частиц, их размер составляет 70 nm при синтезе в деионизованной воде и 64 nm при синтезе в ацетоне. Цитотоксичность наночастиц исследована на клетках соединительной ткани и опухолевых клетках с помощью колориметрического теста оценки активности клеток и флуоресцентной микроскопии. Установлено, что наночастицы безопасны для здоровых клеток, при этом снижение количества опухолевых клеток достигается при концентрации коллоидного раствора наночастиц более 1.7 $\mu\text{g/ml}$, создание наночастиц в ацетоне и перенос в нетоксичный растворитель не снижает выживаемость здоровых клеток. Результаты исследования указывают на перспективы применения синтезированных наночастиц для биомедицинских приложений, связанных с терапией социально значимых заболеваний.

Ключевые слова: лазерная абляция, наночастицы железа, магнитная сепарация, терапия, цитотоксичность.

DOI: 10.61011/JTF.2025.05.60282.440-24

Введение

В настоящее время металлические наночастицы активно используются для решения различных задач терапии. Магнитные наночастицы на основе железа вызывают высокий интерес научного сообщества, поскольку являются наиболее биосовместимыми [1]. Большинство их применений является следствием магнитных свойств, которые значительно отличаются от свойств объемного материала.

Высокая биосовместимость, низкая стоимость производства и возможность контроля положения магнитных наночастиц в объеме биоткани с использованием внешнего магнитного поля позволяет использовать их для адресной доставки терапевтических агентов в различные области организма [2], в том числе против кровотока или через труднопроходимые участки [3]. Магнитные

наночастицы в приложениях терапии могут использоваться для оценки состояния сосудов и визуализации атеросклеротических бляшек [4], для целевой доставки антибиотиков или противовирусных средств, а также для диагностики патогенов [5]. В случае такого распространенного заболевания, как остеоартрит, наночастицы могут быть функционализированы молекулами лекарственных препаратов (дексаметазона, метотрексата и др.) и точно доставлены в область повреждения, что повышает терапевтический эффект за счет местного использования, более полного высвобождения и длительного удержания лекарственных молекул в целевой области [6]. Магнитные наночастицы также имеют перспективы для терапии онкологических заболеваний, где наибольшую важность имеет ранняя диагностика и полное уничтожение опухолевых клеток с максимальным сохранением здоровой ткани [1]. Магнитные

наночастицы при облучении лазерным излучением или приложении переменного магнитного поля способны разогреваться, тем самым уничтожая опухолевые ткани, увеличить эффективность терапии возможно путем добавления к магнитным наночастицам молекул, активируемых повышением температуры [7]. Кроме того, магнитные наночастицы могут выступать в качестве контрастных агентов при проведении диагностики методом магнитно-резонансной томографии, селективно накапливаясь в опухолевых тканях благодаря различным методикам активного и пассивного нацеливания. В этом случае благодаря повышению скорости протонной релаксации увеличивается контрастность изображения и снижается необходимая доза наночастиц, что является важным преимуществом перед существующими контрастными агентами, имеющими побочные эффекты [8]. Дальнейший разогрев таких частиц позволяет эффективно совместить диагностику и удаление опухолей в рамках одной процедуры [9]. Дополнительно изменить необходимые параметры магнитных наночастиц возможно путем создания оболочки вокруг них из полимеров. Наличием оболочки возможно повлиять на процессы взаимодействия наночастиц с живыми клетками, особенности их распределения в объеме биоткани и выведения из организма [10].

Такие характеристики наночастиц, как их размер, форма, поверхностный заряд, степень агрегирования, морфология поверхности и другие оказывают определяющее влияние на их поведение в условиях живого организма. Данные параметры необходимо учитывать при оценке взаимодействия наночастиц с клетками и тканями, что может влиять на их биологическую активность и терапевтический потенциал.

Размер наночастиц является одним из основных параметров, определяющих механику прохождения наночастиц через системы организма. Наночастицы меньших размеров могут эффективно проникать через клеточные мембраны и взаимодействовать с клеточными структурами. В то же время крупные частицы могут быть задержаны в органах иммунной системы организма [11]. Форма наночастиц также имеет значение. Исследования показывают, что сферические наночастицы могут иметь иные механизмы взаимодействия с клетками по сравнению с вытянутыми или неоднородными. Это может влиять на их распределение в организме и скорость выведения из него, например, наночастицы с высоким аспектным отношением, как правило, задерживаются в тканях дольше [12].

Поверхностный заряд наночастиц влияет на их взаимодействие с клетками и другими молекулами в биологических системах. Заряженные поверхности могут способствовать образованию слоев из молекул растворителя, что изменяет стабильность суспензий и может влиять на адсорбцию белков и других биомолекул. Это, в свою очередь, может изменить иммунный ответ организма на введение наночастиц [11]. Стабильность частиц и склонность к агрегированию также является

важным параметром при определении поведения наночастиц в организме. Агрегация может привести к образованию более крупных структур, которые могут иметь иные физико-химические свойства и поведение по сравнению с отдельными частицами, что влияет на их распределение в организме и способность достигать целевых тканей [13]. Морфология поверхности наночастиц — это еще один важный аспект, который необходимо учитывать. Неровности и шероховатости, а также состав поверхности могут влиять на адгезию частиц к клеточным мембранам и их взаимодействие с белками плазмы [14].

Существует несколько методов синтеза магнитных наночастиц, таких как химическое осаждение из газовой фазы, термическое разложение, микроэмульсионный метод, лазерная абляция и др. [15]. Выбор метода синтеза обусловлен требуемыми характеристиками наночастиц: их размером, поверхностным зарядом, необходимым состоянием дисперсной среды, стабильностью, чистотой и др. Метод лазерной абляции является перспективным, так как позволяет гибко управлять физическими процессами при лазерном воздействии и использовать дополнительные источники внешнего воздействия для регулирования процесса синтеза. В рамках данного метода возможно синтезировать наночастицы как в жидкостях, так и в газовой среде. Его основными преимуществами являются отсутствие токсичных химических веществ, используемых в процессе синтеза, высокая эффективность, и возможность получения наночастиц с высокой намагниченностью насыщения. Полученные на выходе наночастицы имеют высокую чистоту, подходящую для применения в условиях организма. В случае изготовления магнитных наночастиц возможно осуществлять магнитную сепарацию, отбирая с использованием внешнего магнитного поля частицы, проявляющие магнитные свойства [16].

Таким образом, каждый новый тип синтезированных наночастиц необходимо тщательно охарактеризовывать с точки зрения физических характеристик и биосовместимости с живыми клетками. Тщательная характеристика поможет оценить поведение наночастиц в организме и позволит разрабатывать более эффективные и безопасные наноматериалы для медицинских и биологических применений.

В настоящей работе магнитные наночастицы были синтезированы методом лазерной абляции в жидкой среде и далее подвергнуты магнитной сепарации для сбора наночастиц. Анализ морфологических характеристик полученных наночастиц был проведен по результатам сканирующей электронной микроскопии, состав наночастиц был проанализирован с использованием спектроскопии комбинационного рассеяния. Биосовместимость наночастиц *in vitro* была исследована на двух клеточных линиях: клетках соединительной ткани (фибробластах) и опухолевых клетках (нейробластоме).

1. Материалы и методы исследований

1.1. Синтез наночастиц

Для проведения исследований использовались коллоидные растворы наночастиц, полученные методом лазерной абляции в жидкой среде.

Образец 1 — наночастицы, полученные в деионизованной воде, из которых отобраны магнитные. Суспензия наночастиц представляла собой раствор черного цвета, концентрация наночастиц составляла 0.45 mg/ml.

Образец 2 — наночастицы, полученные в ацетоне, из которых отобраны магнитные и перенесены в деионизованную воду. Суспензия наночастиц представляла собой раствор черного цвета, концентрация наночастиц составляла 1 mg/ml.

Синтез наночастиц методом лазерной абляции в жидкости проводился с использованием разработанной установки лазерной абляции и фрагментации наночастиц [17]. Обработка мишени проводилась с использованием лазерного источника, который генерировал импульсы длительностью 280 fs с максимальной энергией до 150 μ J и длиной волны 1030 nm. Мишень, представляющая собой таблетку из чистого железа, помещалась в кварцевую кювету. Процесс абляции наночастиц происходил при энергии лазерного излучения, равной 50 μ J. Лазерный луч равномерно перемещался по поверхности мишени с использованием сканирующей системы, благодаря которой лазер мог непрерывно обрабатывать различные участки мишени, создавая однородные зоны воздействия.

Лазерное излучение вводилось через специальное окно в верхней части установки для синтеза. Положение обрабатываемого образца и процесс лазерной абляции наночастиц и их перемещение в магнитном поле регистрировались с помощью CCD-камеры через смотровое окно. Продолжительность процесса абляции мишени составила 900 s в деионизованной воде и 1500 s при использовании в качестве растворителя ацетона.

В ходе проведения экспериментальных исследований магнитная сепарация наночастиц осуществлялась при помощи постоянного магнита с максимальным магнитным полем в 0.5 T, на который устанавливалась пробирка с коллоидным раствором. Полученные наночастицы в состоянии коллоидных растворов проходили магнитную сепарацию под действием магнитной индукции в течение 600–900 s, при этом происходило осаждение наночастиц с магнитным моментом из раствора на стенку кюветы, после чего жидкая среда несколько раз удалялась и заменялась на чистую. Перед проведением всех дальнейших исследований коллоидные растворы наночастиц обрабатывались ультразвуком.

1.2. Сканирующая электронная микроскопия

Морфология синтезированных наноматериалов была исследована с помощью сканирующего электронного

микроскопа (СЭМ) Quanta 200 3D (FEI). Для подготовки образцов 10 μ l коллоидного раствора осаждалось на поверхность предварительно очищенной кремниевой пластины, которая располагалась на магните, высыхание происходило при комнатной температуре. Образцы крепились к держателю углеродной лентой. Ускоряющее напряжение электронного пучка составляло 30 kV, ток электронного зонда — 91 pA. Анализ СЭМ изображений для оценки распределения частиц по размерам проводился вручную в программе ImageJ.

1.3. Спектроскопия комбинационного рассеяния

Измерение спектров комбинационного рассеяния образцов проводилось с помощью зондовой нанолаборатории NTEGRA Spectra (NT-MDT). Источником возбуждения при измерениях выступал лазер с длиной волны 473 nm, измерения производились с использованием дифракционной решетки 1800 lines/mm. Подготовка образцов к исследованию осуществлялась аналогично подготовке к сканирующей электронной микроскопии.

1.4. Культивирование клеток для испытаний *in vitro*

Исследование проводилось на двух типах клеток: ФЭЧ (фибробласты эмбриона человека) — клеточная линия соединительной ткани человека, Neuro 2A — клеточная линия глиобластомы мыши. Клетки были получены из коллекции клеточных культур в Национальном исследовательском центре эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи. Для предварительного выращивания клеток использовалась модифицированная по методу Дульбекко среда — 90% культурального раствора, с 10% телячьей сыворотки. При достижении необходимого количества клетки снимались со дна культурального флакона, полученная клеточная суспензия переливалась в стерильные пробирки и далее использовалась для экспериментов. Для определения посадочной дозы использовался автоматический счетчик клеток Scepter Millipore, подсчет производился непосредственно перед проведением экспериментов.

1.5. Исследование цитотоксичности наночастиц методом МТТ-теста

Посадочная доза клеток ФЭЧ составила $3.8 \cdot 10^5$ cells/ml, клеток Neuro 2A — $2.5 \cdot 10^5$ cells/ml. Для проведения исследования клетки в количестве 200 μ l помещались в лунки 96-луночного планшета культивировались в CO₂ термостате в течение 24 h. Далее 200 μ l раствора наночастиц помещались в первый столбик планшета и перемешивались с клетками с помощью дозатора, далее 200 μ l раствора наночастиц с клетками помещались во второй столбик планшета и

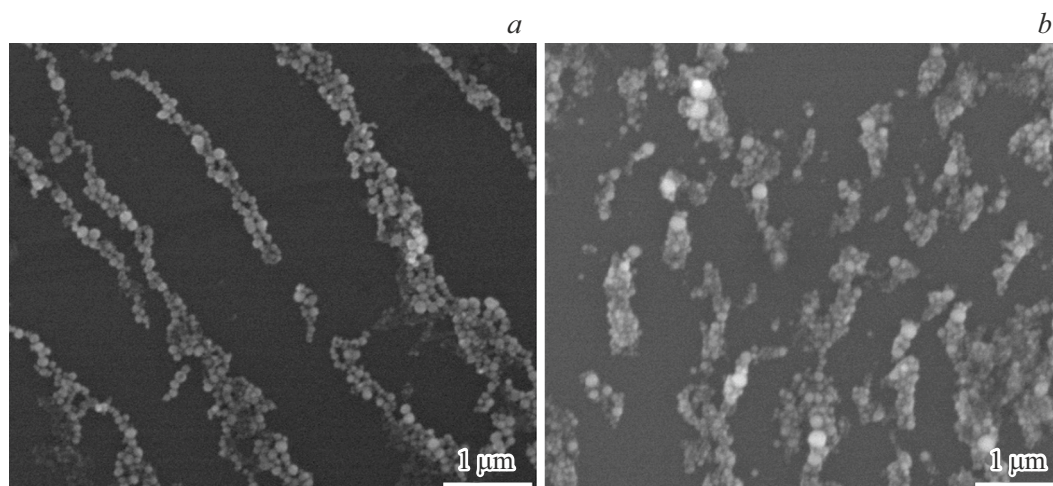


Рис. 1. СЭМ изображения наночастиц, полученных в результате фемтосекундной лазерной абляции железа в деионизованной воде (а) и в ацетоне (b), отобранных путем магнитной сепарации.

перемешивались дозатором, и т. д. Таким образом, в каждом столбике планшета концентрация наночастиц уменьшалась в 2 раза. По истечении 48 h культивирования клеток с растворами наночастиц проводился МТТ-тест по стандартной процедуре, описанной Т. Мосманном [18]. В каждую лунку добавлялся МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид), который находился в лунках в течение 2 h, далее добавлялся диметилсульфоксид и производилось считывание численного значения оптической плотности на длине волны 545 nm с использованием планшетного фотокolorиметра Immunochem-2100. Сравнение производилось относительно контрольного значения, полученного для лунок планшета с клеточной суспензией без добавления каких-либо образцов, раститорованной аналогичным образом.

1.6. Флуоресцентная микроскопия клеток

Помимо МТТ-теста, с помощью микроскопии были исследованы клетки ФЭЧ в присутствии нескольких концентраций наночастиц: для образца магнитных наночастиц, полученных в воде, исследовались разведения 1 к 100 (итоговая концентрация — $4.5 \mu\text{g/ml}$) и 1 к 500 (итоговая концентрация — $0.9 \mu\text{g/ml}$), для образца магнитных наночастиц, полученных в ацетоне — разведение 1 к 500 (итоговая концентрация — $10 \mu\text{g/ml}$). Эксперимент проводился следующим образом: на дно лунок культурального планшета помещались стерильные покровные стекла. Далее в лунки со стеклами добавлялось по 2 ml клеток, планшет помещался в термостат. По истечении 24 h в раствор добавлялись наночастицы для достижения необходимого разведения: $20 \mu\text{l}$ для разведения 1 к 100 и $4 \mu\text{l}$ для разведения 1 к 500. Образцы с наночастицами далее содержались в термостате в течение 48 h, после чего окрашивались красителем Hoeschst 33342 и наблюдались в флуоресцентный микроскоп Olympus BX43.

2. Результаты и обсуждение

2.1. Особенности морфологии, размеров и состава наночастиц

На рис. 1 представлены СЭМ изображения наночастиц, полученных в результате фемтосекундной лазерной абляции железа в деионизованной воде (рис. 1, а) и ацетоне (рис. 1, b), отобранных путем магнитной сепарации. На рис. 2 также представлены гистограммы распределения частиц по размерам для наночастиц, полученных в результате фемтосекундной лазерной абляции в деионизованной воде (рис. 2, а) и в ацетоне (рис. 2, b). Размер отдельных наночастиц составляет 20–100 nm, форма наночастиц сферическая. Наночастицы собираются в параллельные линии вдоль направления магнитного поля. Данный эффект наблюдается более явно для наночастиц, полученных путем лазерной абляции в водной среде, что вполне объяснимо, так как ацетон испаряется гораздо быстрее и время для упорядочения наночастиц под действием магнитного поля сильно ограничено.

Средний размер наночастиц, полученных в результате лазерной абляции в деионизованной воде, отобранных путем магнитной сепарации, составляет 70 nm, а в случае магнитных наночастиц, синтезированных в ацетоне, 64 nm. При синтезе в воде наблюдается меньший разброс наночастиц по размерам, большая их часть находится в диапазоне 50–90 nm.

Согласно литературным данным, оптимальный размер магнитных наночастиц для биологических применений лежит в диапазоне 10–200 nm, в этом случае наночастицы находятся в организме достаточное количество времени для осуществления терапевтического эффекта. При этом крупные магнитные наночастицы оказывают более выраженное цитотоксическое действие в переменных низкочастотных магнитных полях по сравнению с более мелкими [19].

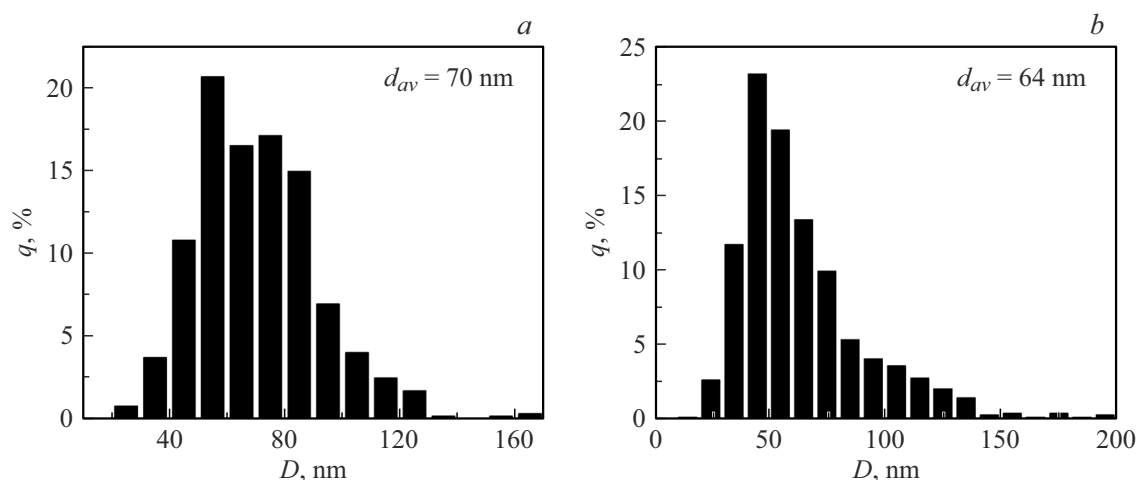


Рис. 2. Гистограммы распределения частиц по размерам для магнитных наночастиц, полученных в результате фемтосекундной лазерной абляции в деионизованной воде (а) и в ацетоне (b).

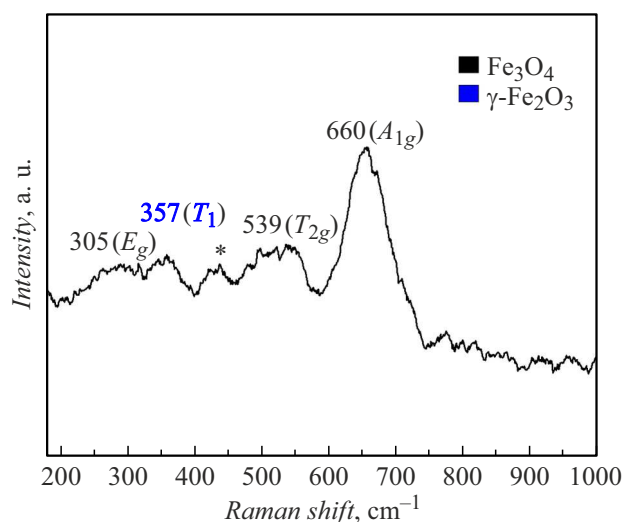


Рис. 3. Спектр комбинационного рассеяния наночастиц, синтезированных методом лазерной абляции железа в деионизованной воде, отобранных путем магнитной сепарации.

На рис. 3 представлен спектр комбинационного рассеяния наночастиц, синтезированных методом лазерной абляции железа в деионизованной воде, отобранных путем магнитной сепарации.

Наличие пиков на 305, 539 и 560 cm^{-1} , соответствующим модам E_g , T_{2g} и A_{2g} магнетита, подтверждает преимущественно присутствие Fe_3O_4 , присутствует пик на 357 cm^{-1} , который можно отнести к моде T_1 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (маггемит).

Для измерения спектров комбинационного рассеяния наноматериалов, полученных в результате лазерной абляции в ацетоне (рис. 4), был осуществлен перенос частиц из исходной среды (ацетон) в деионизованную воду. Измерения проводились в двух различных точках нанесенного на поверхность кремния образца.

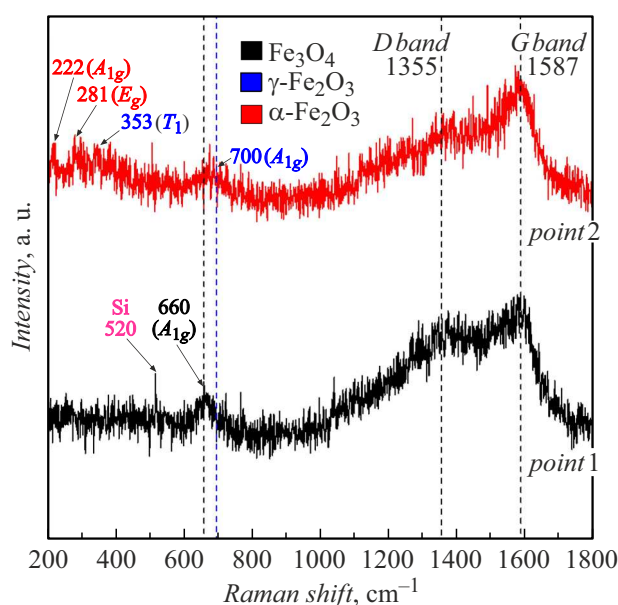


Рис. 4. Спектры комбинационного рассеяния наночастиц, синтезированных методом лазерной абляции железа в ацетоне, отобранных путем магнитной сепарации, снятые в двух точках образца (обозначения point 1, point 2).

В спектрах комбинационного рассеяния присутствуют соответствующие углероду пики при 1355 cm^{-1} (D -полоса, связанная с разупорядоченностью кристаллической структуры) и 1587 cm^{-1} (G -полоса, относящаяся к колебаниям в плоскости связи $\text{C}-\text{C}$) [20,21]. Присутствие углеродной фазы можно объяснить за счет разложения молекул растворителя в процессе лазерной абляции, можно предположить формирование частиц, капсулированных в углеродную оболочку [22]. При измерении в различных точках наблюдается пик при 660 cm^{-1} , соответствующий моде A_{1g} магнетита, кроме того, можно наблюдать уширение пика в данной области

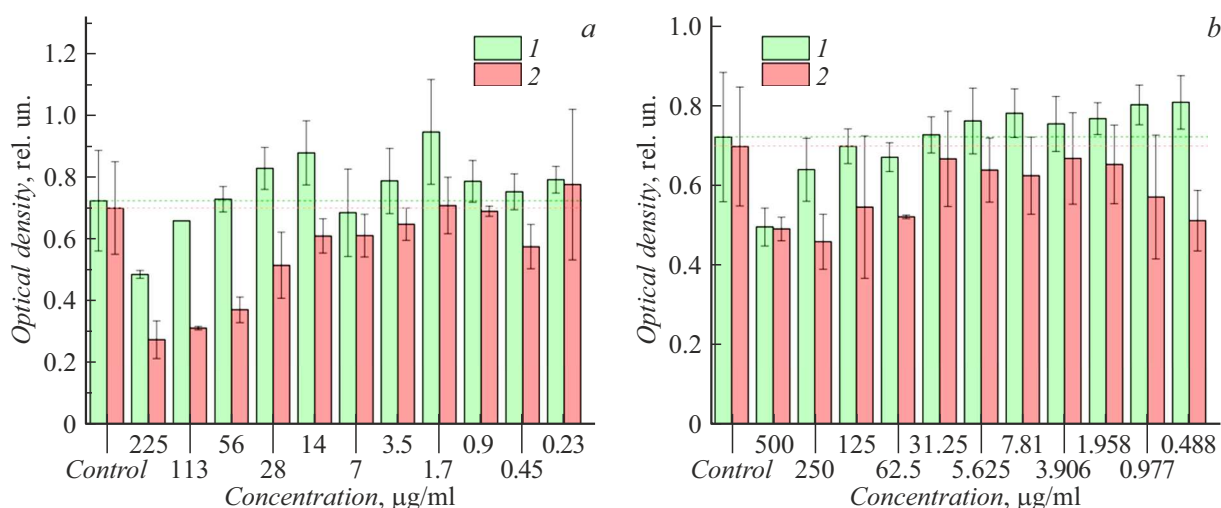


Рис. 5. Сравнительные графики зависимости цитотоксичности коллоидных растворов наночастиц, полученных путем лазерной абляции в воде (а) и в ацетоне (б) для разных типов клеток: ФЭЧ (1) и Neuro 2A (2). Пунктирными линиями указаны уровни контроля.

с появлением дополнительного пика при 700 см^{-1} и пика при 353 см^{-1} , которые можно отнести к моде A_{1g} и T_1 маггемита, также присутствуют пики при 222 и 281 см^{-1} (моды A_{1g} и E_g $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (гематит)). Согласно литературным данным, пики маггемита обнаруживаются в области около 350 , 500 и 700 см^{-1} , а также пик в высокочастотной области около 1400 см^{-1} [23,24], снятый диапазон полностью включает ожидаемые пики от магнитных наночастиц. В отличие от гематита и магнетита полосы комбинационного рассеяния маггемита определены нечетко, их положение зависит от метода изготовления образца, влияющего на степень кристалличности. При уменьшении размера наночастиц рассеяние снижается и некоторые из пиков могут пропадать [25]. Таким образом, отсутствие других пиков маггемита на спектре, кроме пика 357 см^{-1} и широкого пика в области $660\text{--}700\text{ см}^{-1}$, объясняется комбинацией особенностей метода получения наночастиц и их сравнительно небольших размеров. Также нельзя исключать возможность наложения пиков в области $1350\text{--}1400\text{ см}^{-1}$, в данном случае речь о D -полосе и пике около 1400 см^{-1} , характерном для маггемита. Однако интенсивность данного пика значительно ниже интенсивности пика, соответствующего D -полосе. Кроме того, при повышении энергии возбуждающего лазера происходит окисление до гематита, пиков, характерных для магнетита и маггемита, не наблюдается, при этом пики при 1355 и 1387 см^{-1} сохраняются, что может служить косвенным подтверждением присутствия углеродной оболочки. При использовании максимальной энергии в спектрах комбинационного рассеяния D - и G -полосы отсутствуют, наблюдаются только пики, характерные для гематита. Наблюдаемые изменения в спектрах комбинационного рассеяния при увеличении энергии возбуждающего лазера указывают на разруше-

ние углеродной оболочки и доминирование сигналов от окисленной поверхности наночастиц.

Наиболее подходящими наночастицами оксидов металлов для биомедицинских применений являются Fe_3O_4 , $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ и ферриты-шпинели из-за их биосовместимости, высокой окислительной стабильности, высоких магнитных моментов, низкой токсичности и высокой химической стабильности в физиологических условиях [11].

2.2. МТТ-тест

По данным эксперимента были получены графики зависимостей цитотоксичности растворов наночастиц от их концентрации (рис. 5). На данных графиках видно снижение цитотоксических свойств синтезированных наночастиц по мере снижения их концентрации. Для разведений 1 к 2 , 1 к 4 и 1 к 8 наблюдались некоторые искажения результатов в одном или нескольких повторных экспериментах. Это связано с тем, что при высоких концентрациях наночастиц происходила их агрегация и оседание на дно лунки, вследствие чего они не могли быть удалены со дна лунки и внесли погрешность в итоговый результат.

По данным графиков можно сделать вывод, что наночастицы не оказывают токсического воздействия на здоровые клетки в концентрации ниже $56\text{ }\mu\text{g/ml}$ в случае образца магнитных наночастиц, синтезированных в деионизованной воде, и ниже $125\text{ }\mu\text{g/ml}$ в случае образца наночастиц, синтезированных в ацетоне и перенесенных далее в деионизованную воду. При этом указанные концентрации ингибируют рост опухолевых клеток. В образце частиц, синтезированных в ацетоне, выживаемость опухолевых клеток ни при одном разведении наночастиц не превышает контрольный уровень, что указывает на

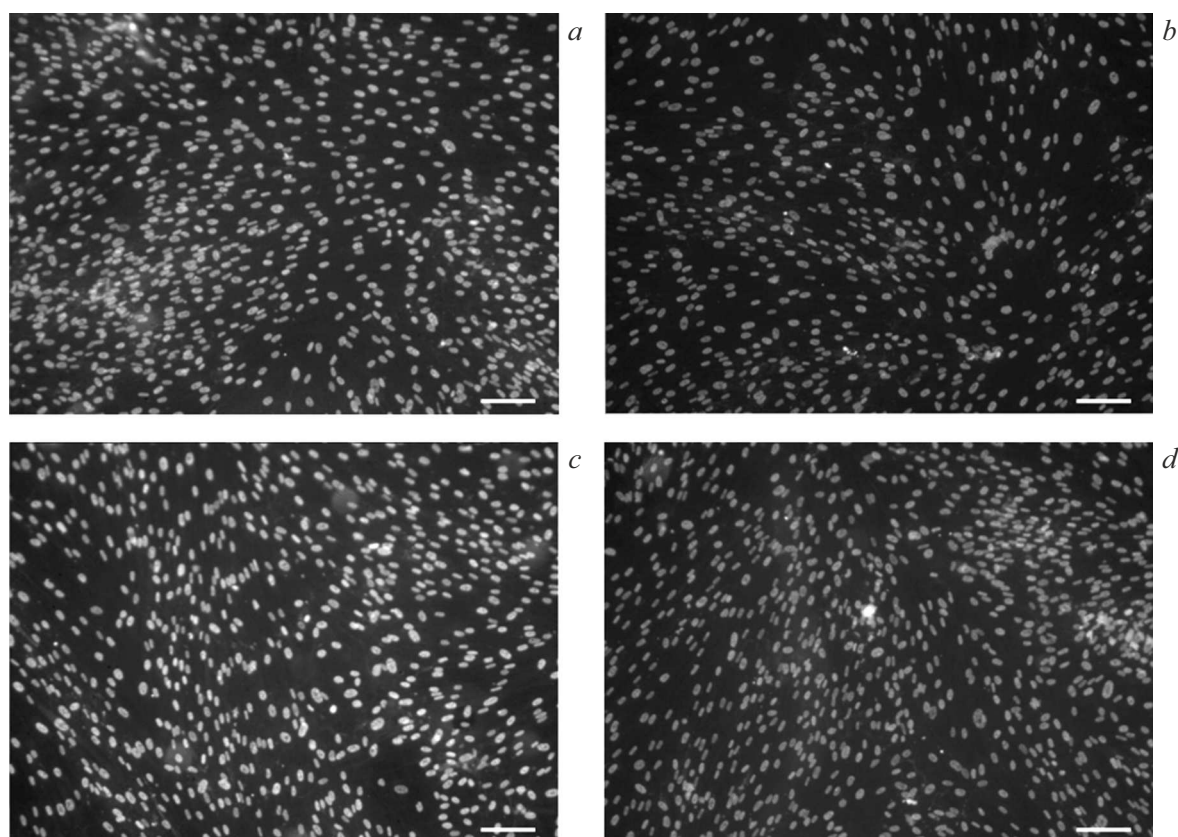


Рис. 6. Микрофотографии клеток в присутствии коллоидных растворов наночастиц: *a* — образец 1, разведение 1 к 100; *b* — образец 1, разведение 1 к 500; *c* — образец 2, разведение 1 к 500; *d* — контроль. Масштабная линейка — 100 μm .

возможность применения синтезированных наночастиц для ингибирования опухолей. Для образца наночастиц, полученных в воде, подобный эффект наблюдается для концентраций наночастиц выше 1.7 $\mu\text{g/ml}$.

В различных работах, посвященных синтезу магнитных наночастиц, указывается их низкая токсичность для организма человека наряду с сохранением магнитных свойств. Исследования, сравнивающие токсичность наночастиц оксидов различных металлов (CuO , TiO_2 , ZnO , $\text{CuZnFe}_2\text{O}_4$, Fe_3O_4 и Fe_2O_3) *in vitro*, выявили, что оксиды железа были нетоксичны либо имели очень низкую токсичность в концентрациях 20–100 $\mu\text{g/ml}$. Другие исследования *in vitro* в зависимости от типа исследованных клеток и наличия оболочки у наночастиц оксида железа (поверхностно-активного вещества или полимера) показывают, что предел токсичности наночастиц железа лежит в диапазоне концентраций от 10 до 1000 $\mu\text{g/ml}$ [26]. Полученная в настоящей работе концентрация также находится в этих диапазонах, дополнительно токсичность может быть снижена путем формирования оболочки на поверхности частиц.

2.3. Микроскопия клеток на образцах магнитных наночастиц

Полученные микроскопические изображения представлены на рис. 6. Размеры и морфология клеток на

экспериментальных образцах не отличаются от контрольных. Клетки имеют вытянутую веретенообразную форму, которая присуща нормально функционирующим клеткам спустя более чем 3 h культивирования на поверхности, ядра окрашены значительно интенсивнее цитоплазмы ввиду особенностей накопления красителя. Размеры клеток достигают 100–150 μm , размер клеточных ядер составляет около 20 μm . По истечении 48 h культивирования клеток с образцами магнитных наночастиц выявляется образование монослоя и практически полное покрытие клетками поверхности покровного стекла. Количество клеток на экспериментальных образцах не снижено по сравнению с контролем, наблюдается их равномерное распределение по поверхности.

Таким образом, проведенные *in vitro* исследования показали, что рассмотренные растворы магнитных наночастиц безопасны для здоровых клеток. При этом имеется ряд концентраций, обладающий угнетающим действием на опухолевые клетки, что является перспективным для применения синтезированных магнитных наночастиц в терапии онкологических заболеваний. Безопасность концентраций наночастиц в диапазоне от 1.7 до 56 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ для образца магнитных наночастиц, полученных в водной среде и концентраций от 31.25 до 56 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ для образца магнитных наночастиц, полученных в ацетоне, является ключевым аспектом, который может значительно по-

высить эффективность лечения, минимизируя при этом возможные побочные эффекты.

Использование наночастиц в концентрациях в указанных диапазонах возможно в качестве направленного транспорта терапевтических молекул. Использование этого метода позволяет снизить системные побочные эффекты, связанные с традиционными методами химиотерапии, поскольку активные вещества будут высвобождаться именно в тех участках, где это наиболее необходимо. Это достигается путем перемещения наночастиц магнитным полем в требуемую область, где наночастицы способны накапливаться, создавая высокую концентрацию активного вещества. Также внешнее магнитное поле может использоваться для удержания наночастиц в пределах заданного участка, что крайне важно, например, для терапии остеоартрита, либо же для полного уничтожения опухолевых клеток [27] с помощью гипертермии, что представляет собой еще один перспективный метод лечения. Наночастицы в данном методе служат нагревателями, которые преобразуют приложенное переменное магнитное поле в тепловую энергию (диапазон 41–47 °C). Такое повышение температуры может вызвать термическое разрушение опухолевых клеток или сделать их более восприимчивыми к воздействию других терапевтических агентов. Наночастицы вводятся в виде коллоидной суспензии и селективно накапливаются в области опухоли. Накопление может происходить либо пассивно благодаря измененной структуре сосудов, питающих опухоль, либо активно путем использования специфичных поверхностных лигандов. Действие магнитных наночастиц на опухолевые клетки можно контролировать извне, регулируя приложенное магнитное поле. Используемое электромагнитное излучение находится в безопасном радиочастотном диапазоне (от нескольких kHz до 1 MHz), при этом глубоко проникая во внутренние органы и ткани. Было обнаружено, что опухолевые клетки обладают более высокой чувствительностью при температурах выше 42 °C; при этой температуре ферментативная активность клеток отсутствует [28].

Таким образом, рассмотренные разведения безопасны для здоровых клеток, что наряду с угнетающим действием на опухолевые клетки указывает на возможность применения синтезированных магнитных наночастиц для терапии онкологических заболеваний с минимизацией побочных эффектов. Также можно сделать вывод, что полученные наночастицы магнетита безопасны как при непосредственном синтезе в деионизованной воде, так и при синтезе в ацетоне и последующем переносе в нетоксичный растворитель.

Заключение

В работе рассмотрены аспекты синтеза наночастиц, обладающих магнитными свойствами, в двух растворителях: в дистиллированной воде и в ацетоне (с по-

следующим переносом в дистиллированную воду). Наночастицы синтезированы методом лазерной абляции в жидкости и подвергнуты сепарации для отбора магнитных частиц. Проведена характеристика полученных наночастиц, в обоих вариантах синтеза большинство наночастиц имеет сферическую форму и размеры до 100 nm, средние размеры составляют 70 nm при синтезе в деионизованной воде и 64 nm при синтезе в ацетоне. Исследования цитотоксичности указывают на низкий уровень токсического действия частиц на живые клетки при концентрациях ниже 56 µg/µl для образца наночастиц, полученных в водной среде, и ниже 125 µg/ml для наночастиц, полученных в ацетоне и перенесенных в воду. При этом для гибели опухолевых клеток необходимы более низкие концентрации наночастиц, что указывает на возможность подбора безопасной и эффективной концентрации наночастиц при тераностике онкологических заболеваний. Таким образом, синтезированные магнитные наночастицы обладают высоким потенциалом для клинического применения и могут стать основой для создания новых терапевтических подходов в рамках инновационных методов лечения социально значимых заболеваний, способствуя более эффективному лечению с минимальными рисками для пациентов.

Финансирование работы

Исследование процессов формирования и характеристики наночастиц выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-79-10348. Разработка методов исследования биосовместимости наноматериалов выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (проект FSMR-2024-0003).

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] O.L. Gobbo, K. Sjaastad, M.W. Radomski, Y. Volkov, A. Prina-Mello. *Theranostics*, **5** (11), 1249 (2015). DOI: 10.7150/thno.11544
- [2] X. Li, W. Li, M. Wang, Z. Liao. *J. Controlled Release*, **335**, 437 (2021). DOI: 10.1016/j.jconrel.2021.05.042
- [3] A. Coene, J. Leliaert. *J. Appl. Phys.*, **131**, 16 (2022). DOI: 10.1063/5.0085202
- [4] K.X. Vazquez-Prada, J. Lam, D. Kamato, Z.P. Xu, P.J. Little, H.T. Ta. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **41** (2), 601 (2021). DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.315404
- [5] S.K. Jat, H.A. Gandhi, J. Bhattacharya, M.K. Sharma. *Mater. Adv.*, **2** (14), 4479 (2021). DOI: 10.1039/D1MA00240F
- [6] J. Li, H. Zhang, Y. Han, Y. Hu, Z. Geng, J. Su. *Theranostics*, **13** (3), 931 (2023). DOI: 10.7150/thno.78639
- [7] R. Afzalipour, S. Khoei, S. Khoei, S. Shirvalilou, N.J. Raoufi, M. Motevalian, M.Y. Karimi. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, **31**, 102319 (2021). DOI: 10.1016/j.nano.2020.102319

- [8] L. Zhu, Z. Zhou, H. Mao, L. Yang. *Nanomedicine*, **12** (1), 73 (2017). DOI: 10.2217/nnm-2016-0316
- [9] K. Hayashi, M. Nakamura, W. Sakamoto, T. Yogo, H. Miki, S. Ozaki, K. Ishimura. *Theranostics*, **3** (6), 366 (2013). DOI: 10.7150/thno.5860
- [10] Z. Hedayatnasab, A. Dabbagh, F. Abnisa, W.M.A.W. Daud. *Europ. Polymer J.*, **133**, 109789 (2020). DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109789
- [11] N. Senthilkumar, P.K. Sharma, N. Sood, N. Bhalla. *Coordination Chem. Rev.*, **445**, 214082 (2021). DOI: 10.1016/j.ccr.2021.214082
- [12] A. Zhang, K. Meng, Y. Liu, Y. Pan, W. Qu, D. Chen, S. Xie. *Adv. Colloid Interface Sci.*, **284**, 10226 (2020). DOI: 10.1016/j.cis.2020.102261
- [13] J. Nowak-Jary, B. Machnicka. *Intern. J. Nanomedicine*, 4067 (2023). DOI: 10.2147/IJN.S415063
- [14] G. Stepien, M. Moros, M. Pérez-Hernández, M. Monge, L. Gutiérrez, R.M. Fratila, J.M. de la Fuente. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **10** (5), 4548 (2018). DOI: 10.1021/acsami.7b18648
- [15] S. Majidi, F. Zeinali Schrig, S.M. Farkhani, M. Soleymani Goloujeh, A. Akbarzadeh. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, **44** (2), 722 (2016). DOI: 10.3109/21691401.2014.982802
- [16] Д.А. Кочуев, А.С. Черников, У.Е. Курилова, А.А. Вознесенская, А.Ф. Галкин, Д.В. Абрамов, А.В. Казак, А.Ю. Герасименко, К.С. Хорьков. *Письма в ЖТФ*, **50** (12), 28 (2024). DOI: 10.61011/PJTF.2024.12.58061.19858
- [17] U.E. Kurilova, A.S. Chernikov, D.A. Kochuev, L.S. Volkova, A.A. Voznesenskaya, R.V. Chkalov, K.S. Khorkov. *J. Biomed. Photon. Eng.*, **9** (2), 020301 (2023). DOI: 10.18287/JBPE23.09.020301
- [18] T. Mosmann. *J. Immunolog. Methods*, **65** (1–2), 55 (1983). DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4
- [19] E.M. Materón, C.M. Miyazaki, O. Carr, N. Joshi, P.H. Picciani, C.J. Dalmaschio, F.M. Shimizu. *Appl. Surf. Sci. Adv.*, **6**, 100163 (2021). DOI: 10.1016/j.apsadv.2021.100163
- [20] L. Bokobza, J.L. Bruneel, M. Couzi. *Chem. Phys. Lett.*, **590**, 153 (2013). DOI: 10.1016/j.cplett.2013.10.071
- [21] A.C. Ferrari, J. Robertson. *Phys. Rev. B*, **61** (20), 14095 (2000). DOI: 10.1103/PhysRevB.61.14095
- [22] V. Amendola, P. Riello, M. Meneghetti. *J. Phys. Chem. C*, **115** (12), 5140 (2011). DOI: 10.1021/jp109371m
- [23] M.A.G. Soler, G.B. Alcantara, F.Q. Soares, W.R. Viali, P.P.C. Sartoratto, J.R.L. Fernandez, P.C. Morais. *Surf. Sci.*, **601** (18), 3921 (2007). DOI: 10.1016/j.susc.2007.04.029
- [24] I. Chourpa, L. Douziech-Eyrolles, L. Ngaboni-Okassa, J.F. Fouquenot, S. Cohen-Jonathan, M. Soucé, P. Dubois. *Analyst*, **130** (10), 1395 (2005). DOI: 10.1039/B419004A
- [25] A.M. Jubb, H.C. Allen. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2** (10), 2804 (2010). DOI: 10.1021/am1004943
- [26] T.I. Shabatina, O.I. Vernaya, V.P. Shabatin, M.Y. Melnikov. *Magnetochemistry*, **6** (3), 30 (2020). DOI: 10.3390/magnetochemistry6030030
- [27] H. Aslam, S. Shukrullah, M.Y. Naz, H. Fatima, H. Hussain, S. Ullah, M.A. Assiri. *J. Drug Delivery Sci. Technol.*, **67**, 102946 (2022). DOI: 10.1016/j.jddst.2021.102946
- [28] O.A. Aladesuyi, O.S. Oluwafemi. *Nano-Structures & Nano-Objects*, **36**, 101053 (2023). DOI: 10.1016/j.nanoso.2023.101053