



LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

Promocijas darbs

OKSANA PETRIČENKO

**FEROMAGNĒTISKAS NANODAĻIŅAS UN TO PIELIETOJUMS
MĪKSTU MATERIĀLU (DIHIDROPIRIDĪNA TIPA LIPĪDU ORGANISKI
SAVIENOJUMI, POLIMĒRI) FUNKCIONALIZĀCIJAI**

Zinātniskie vadītāji:
profesors *Dr. habil. fiz.* Andrejs Cēbers
Dr. ķīm. Aiva Plotniece

Rīga, 2014

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Universitātes Fizikas un matemātikas fakultātē un Latvijas Organiskās sintēzes institūtā no 2009. gada līdz 2013. gadam.

Darba zinātniskie vadītāji: profesors *Dr. habil. fiz.* **Andrejs Cēbers**
Dr. ķīm. **Aiva Plotniece**

Darba recenzenti: profesors **Andris Zicmanis**
asoc. profesors **Donāts Erts**
profesors **Paul Janmey** (Pensilvānijas Universitāte)

Promocijas darba aizstāvēšana notiks Latvijas Universitātes Ķīmijas nozares promocijas padomes atklātā sēdē 2014. gada 20. marta, pulksten 15.00, Rīga, Kr. Valdemāra ielā 48, Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultātē.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes bibliotēkā Rīgā, Kalpaka bulvārī 4.

LU Ķīmijas zinātņu nozares promocijas
padomes priekšsēdētājs

(A. Zicmanis)

promocijas padomes sekretāre

(V. Rudoviča)

Saturs

IEVADS	9
Saīsinājumi	17
1. LITERATŪRAS APSKATS	19
1.1. Dzelzs oksīda nanodaļiņas un ferošķidrumi	20
1.2. Feromagnētisko nanodaļiņu iegūšanas metodes	22
1.2.1. Fizikālās metodes	22
1.2.2. Bioloģiskās metodes	23
1.2.3. Ķīmiskās metodes	23
1.3. Feromagnētisku daļiņu funkcionalizācija	28
1.3.1. Dzelzs oksīda nanodaļiņu pārklājums ar citrātjoniem	28
1.3.2. Nanodaļiņu pārklājums ar polimēru (dekstrāns u.c.)	29
1.3.3. Fluorescējošās daļiņas	33
1.4. Mīkstie materiāli	34
1.4.1. Lipīdi un citas virsmas aktīvas vielas (lipidomimētiķi)	34
1.4.2. 1,4-Dihidropiridīna atvasinājumi kā lipidomimētiķi un to īpašības	38
1.5. Magnētisku liposomu iegūšana	41
1.5.1. Spontānās piebriešanas (hidratācijas) metode	42
1.5.2. Apgrieztās fāzes ietvaicēšanas un vairāku emulsiju metodes	43
1.5.3. Elektroformācijas metode	45
1.6. Mīkstu materiālu pētīšanas metodes	47
1.6.1. Magnetizācijas līknes metode	48
1.6.2. Dinamiskās gaismas izkliedes metode	48
1.6.3. Membrānu mehānisko īpašību noteikšanas metodes	49
1.7. Materiālu biosavietojamība	51
2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA	53
2.1. Pielietotie materiāli un aparātūra	54
2.1.1. Reāģenti	54
2.1.2. Aparātūra	54

2.2.	Magnētisko koloīdu iegūšanas un pētīšanas metodes	56
2.2.1.	Skābu magnētisko koloīdu iegūšana	56
2.2.2.	Mehemīta nanodaļiņu pārklāšana ar citrātjoniem	56
2.2.3.	Magnētisko nanodaļiņu funkcionalizēšana ar rodamīnu B	56
2.2.4.	Magnētisku nanodaļiņu pārklāšana ar dekstrāniem	57
2.2.5.	Dzelzs jonu koncentrācijas noteikšana	58
2.2.6.	Termogravimetriska un diferenciāla termāla analīze	58
2.2.7.	Mikrokonvekcijas eksperiments	58
2.2.8.	Daļiņu hidrodinamisko parametru noteikšana	59
2.3.	Liposomu iegūšana	60
2.3.1.	1,4-Dihidropiridīna atvasinājumu liposomu iegūšana	60
2.3.2.	Kritiskās micellu koncentrācijas noteikšana	60
2.3.3.	Magnētisko liposomu iegūšana, sonificējot paraugu	60
2.3.4.	Spontānās piebriešanas metode	60
2.3.5.	Apgrieztās fāzes ietvaicēšanas metode	60
2.4.	Bislāņu membrānu mehānisko īpašību pētīšana	61
2.4.1.	Magnetoforēze	61
2.4.2.	Magnētisko vezikulu elastības moduļa (K_b) noteikšana	61
3.	REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS	63
3.1.	Iegūto magnētisko šķidrumu īpašības	64
3.1.1.	Nanodaļiņu struktūra un sastāvs	65
3.1.2.	Ferošķidrumu magnētiskās īpašības	66
3.1.3.	Ferošķidrumu dzelzs oksīda nanodaļiņu koncentrācijas. Nanodaļiņu tilpuma daļa	68
3.1.4.	Ferošķidruma nanodaļiņu hidrodinamiskais diametrs	70
3.2.	Feromagnētisko nanodaļiņu funkcionalizācija	72
3.2.1.	Ar rodamīnu B funkcionalizētas dzelzs oksīda nanodaļiņas	72
3.2.2.	Ar dekstrānu pārklātu magnētisku nanodaļiņu īpašības ūdens vidē	76
3.3.	Magnētisko koloīdu hidrodinamika un siltumfizika	84
3.3.1.	Magnētiskā mikrokonvekcija	84
3.3.2.	Termoformēze	86
3.4.	Iegūto magnētisko liposomu īpašības	89
3.4.1.	Ar sonifikācijas metodi iegūtās liposomas	89
3.4.2.	Ar spontānās piebriešanas metodi iegūtās liposomas	94
3.4.3.	Ar apgrieztās fāzes ietvaicēšanas metodi iegūtās liposomas	106
3.4.4.	Iegūto magnētisko liposomu elastība	111
3.5.	Iegūto liposomu kritiskā micellu koncentrācija	115

<i>SATURS</i>	7
Secinājumi	117
Bibliogrāfija	119
Pielikums	139

IEVADS

Šobrīd pasaulē vērojama padziļināta interese par mīksto materiālu funkcionalizāciju ar magnētiskām nanodaļiņām saistībā ar to pielietojumiem biomedicīnā. Dzelzs oksīds, pateicoties labai biosaderībai attiecībā pret citiem magnētiskiem materiāliem, kas veidoti uz oksīdu vai tīru metālu bāzes, ir visvairāk pētītais magnētiskais materiāls šajos pielietojumos. Dabā pastāv vairāku veidu dzelzs oksīdi, un tos var iegūt laboratorijā, tomēr mūsdienās tikai mehemīts (γ -Fe₂O₃) un magnetīts (Fe₃O₄) var nodrošināt visas nepieciešamās prasības pielietojumam biomedicīnā un bioinženierijā. Šīs priekšrocības ir pietiekami liels magnētiskais moments, ķīmiskā stabilitāte fizioloģiskā vidē un zemā toksicitāte, nemaz nerunājot par vieglu un ekonomisku sintēzes procedūru, kas nepieciešama materiālu iegūšanai. Atomu sakārtotības pakāpe dzelzs oksīda kristālrežģī, kā arī nanodaļiņu dispersitāte pēc izmēra un formas, ir svarīgākie rādītāji, kas ietekmē tā efektivitāti terapeitiskajās un diagnostikas metodēs [1].

Literatūrā atzīmēts, ka sekmīgi realizēta magnētiskā hipertermija vēža ārstēšanai [1], ko panāk, sildot vēža šūnas ar magnētisku nanodaļiņu palīdzību mainīgā magnētiskajā laukā. Tiek uzskatīts, ka, optimālo izmēru dēļ, īpaši piemērotas ir tās magnētiskās nanodaļiņas, kuras sintezē magnetotaktiskās baktērijas [2], tomēr tiek izmantotas arī citas. Magnētiskās nanodaļiņas tiek izmantotas magnētiski vadāmu zāļu nesēju radīšanai [3, 4]. Viens no iespējamajiem šādu nesēju veidiem ir magnētiskas vezikulas [5], kuras izveido, ieslēdzot magnētisku koloīdu lipīdu apvalkā. Funkcionalizētas magnētiskas daļiņas tiek izmantotas, lai aktivizētu dažādus procesus šūnu līmenī (jonu kanāli u.c.), ko var lietot reģeneratīvā medicīnā un audu inženierijā [6, 7].

Darba mērķis – radīt un pētīt biosavietojamas magnētiskas nanodaļiņas (magnetīts un mehemīts), pielietojot tās dažādu mīkstu materiālu (tajā skaitā Latvijas Organiskās sintēzes institūtā (OSI) sintezēto lipīdu tipa amfifilu 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu) funkcionalizācijai, nākotnē to tālākai izmantošanai biomedicīnā.

Promocijas darbs atrodas dažādu zinātņu – fizikālās ķīmijas, organiskās ķīmijas, magnētisko parādību fizikas un hidrodinamikas saskarsmes punktos. Tā sekmīga realizācija, izmantojot kā sastāvdaļas nepieciešamās organiskās vielas, ļaus iegūt informāciju un jaunus materiālus ar interesantām un perspektīvām īpašībām un plašu pielietojumu.

Promocijas darba uzdevumi

1. Realizēt magnētisku nanodaļiņu sintēzi ūdens vidē ar līdzizgulsnēšanas metodi, nodrošinot kontrolētus magnētisku nanodaļiņu fizikālos parametrus.
2. Veikt sintezēto koloīdu īpašību pētījumus un dot to raksturojumu.
3. Radīt jaunus ar magnētiskām nanodaļiņām funkcionalizētus materiālus (magnētiskas liposomas, izmantojot polimērus un dihidropiridīna tipa sintētiskos lipīdu analogus, fluorescējošas magnētiskas nanodaļiņas).
4. Raksturot iegūto materiālu īpašības.
5. Izmantojot iegūtos materiālus, demonstrēt jaunas fizikālas parādības (piemēram, magnētisko mikrokonvekciju, lipīda veidoto membrānu elastību).

Promocijas darbs ir veltīts biosavietojamu magnētisku nanodaļiņu (magnetīts (Fe_3O_4) un mehemīts ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)) sintēzei, plānojot to tālāku modificēšanu ar dažādiem mīkstiem materiāliem, lai perspektīvā varētu veidot jauna tipa magnētiski vadāmus zāļu nesējus, pielietot tās šūnu terapijā, piemēram, šūnu marķēšanai, audu atjaunošanai [3, 4, 6], kā aģentus magnētiskās rezonanses attēlveidošanā (MRI) [8–10]; hipertermijā [11, 12]; magnetofekcijā, ķīmijas terapijā [4]. Kā mīkstos materiālus plānots izmantot dekstrāna atvasinājumus, lai aprobētu sintēzes metodes un modificētu magnētisko koloīdālo daļiņu virsmu, kā arī jauna tipa lipīdveida savienojumus – amfifilus 1,4-dihidropiridīna (1,4-DHP) atvasinājumus, magnētisko liposomu (vezikulu) iegūšanai, demonstrēt un pētīt to īpašības. Esošās magnētisko koloīdu iegūšanas metodes tiek raksturotas promocijas darba literatūras apskatā.

Promocijas darba novitāte

Pirmoreiz veikta sistemātiska magnētisku liposomu iegūšana, variējot un optimizējot sintēzes apstākļus, izmantojot sintētiskos lipīdveida savienojumus – amfifilus 1,4-dihidropiridīna atvasinājumus – potenciālos gēnu transfekcijas aģentus, un magnētiskās dzelzs oksīda nanodaļiņas. Dots to raksturojums, izmantojot atomspēku mikroskopijas (ASM), transmisijas elektronmikroskopijas (TEM) un dinamiskās gaismas izkliedes (DGI) metodes. Ar magnētiskās vezikulas metodi, mērot šāda veida membrānas elastību, apstiprināta lipīda polārās daļas šķērsriezuma laukuma ietekme uz bislāņa mehāniskajām īpašībām. Pētīta liposomu stabilitāte, kā arī izvērtēta magnētiskās liposomas veidojošo amfifilo savienojumu kritiskās micellu veidošanās koncentrācija.

Realizētas magnētisko nanodaļiņu iegūšana ļāva pirmo reizi pasaulē novērot un veikt kvalitatīvu analīzi virknei parādību, tajā skaitā noteikt ātrumu laukus magnētiskā mikrokonvekcijā.

Promocijas darba praktiskā nozīme

Darba rezultātā radīti jauni materiāli, kas iegūti, izmantojot mīkstu materiālu funkcionalizāciju ar magnētiskām nanodaļiņām, to eventuālai izmantošanai biomedicinā – vadāmi zāļu nesēji, gēnu transfekcijas aģenti, kontrastvielas kodolmagnētiskā tomogrāfijā, magnētiski vadāmas šūnas audu inženierijā, vai jaunu zāļu formu izstrādei farmācijā u.c. Dots iegūto jauno oriģinālo magnētisko nanosistēmu raksturojums.

Promocijas darba rezultātu aprobācija

Zinātniskās publikācijas

1. Pajuste, K., Hyvönen, Z., Petrichenko, O., Kaldre, D., Rucins, M., Cekavicus, B., Ose, V., Skrivele, B., Gosteva, M., Morin-Picardat, E., Plotniece, M., Sobolev, A., Duburs, G., Ruponen, M., Plotniece, A. Gene delivery agents possessing antiradical activity: self-assembling cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives. *New J. Chem.*, 37, 2013, 3062–3075. DOI:10.1039/C3NJ00272A (Imp. factor 2,966).
2. Ērglis, K., Tatulcenkov, A., Kitenbergs, G., Petrichenko, O., Ergin F.G., Watz B.B., Cēbers, A. Magnetic field driven micro-convection in the Hele-Shaw cell. *J. Fluid Mech.*, 714, 2013, 612–633. DOI: 10.1017/jfm.2012.512 (Imp. factor 2,186).
3. Petrichenko, O., Ērglis, K., Cēbers, A., Plotniece, A., Pajuste, K., Béalle, G., Ménager, C., Dubois, E., Perzynski, R. Bilayer properties of giant magnetic liposomes formed by cationic pyridine amphiphile and probed by active deformation under magnetic forces. *Eur Phys. J. E: Soft Matter Biol. Phys.*, 36, 2013, 9. DOI: 10.1140/epje/i2013-13009-0 (Imp. factor 1,824).
4. Mezulis, A., Maiorov, M., Petrichenko, O. Thermodiffusion motion of electrically charged nanoparticles. *Centr. Eur. J. Phys.*, 10, 2012, 989–994. DOI: 10.2478/s11534-012-0025-z (Imp. factor 0,905).
5. Smits, R., Goncharenko, Y., Vesere, I., Skrivele, B., Petrichenko, O., Vigante, B., Petrova, M., Plotniece, A., Duburs, G. Synthesis and self-assembly of novel fluoros cationic amphiphiles with a 3,4-dihydro-2(1H)-pyridone spacer. *J. Fluor. Chem.*, 132, 2011, 414–419. DOI: 10.1016/j.jfluorchem.2011.01.008 (Imp. factor 1,939).
6. Petričenko, O., Cēbers, A., Maiorov, M., Plotniece, A. Properties of dextran coated magnetic nanoparticles. *Magnetohydrodynamics*, 46, 2010, 309–316. (Imp. factor 0,55).

Starptautisku konferenču tēzes

Raksti konferenču rakstu krājumos

1. Rucins, M., Petricenko, O., Pajuste, K., Plotniece, M., Pajuste, K., Gosteva, M., Cekavicus, B., Sobolev, A., Plotniece, A. Studies of preparation and stability of liposomes formed by 1,1'-[(3,5-didodeciloxy carbonyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridine-2,6-diil)-dimethylen]bispyridinium dibromide. *Proceedings of the 2013 2nd International Symposium on Materials Science and Engineering Technology (ISMSET 2013)*, (June 27–28, 2013, Guangzhou, China). *Adv. Mat. Res.*, 787, 2013, 157–162. DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMR.787.157.
2. Petricenko, O., Bealle, G., Menager, C., Cebers, A., Perzynski, R., Plotniece, A., Ose, V. Synthesis of magnetoliposomes and studies of their properties. *Proceedings of the 8th International PAMIR Conference on Fundamental and Applied MHD* (September 5–9, 2011, Borgo, Corsica, France) 1015–1019.
3. Ērglis, K., Petricenko, O., Cēbers, A. Investigation of magnetic microconvection with PIV method. *Proceedings of the 8th International PAMIR Conference on Fundamental and Applied MHD*, (September 5–9, 2011, Borgo, Corsica, France) 1021–1025.

Tēzes

1. Petricenko, O., Pajuste, K., Rucins, M., Ose, V., Plotniece, M., Gosteva, M., Cekavicus, B., Pajuste, K., Sobolev, A., Plotniece, A. Studies of formation and characterisation of liposomes formed by cationic 1,4-dihydropyridine amphiphile in various medias. In Poster presentations, *27th Conference of the European Colloid and Interface Society (ECIS 2013)*, (September 1–6, 2013, Sofia, Bulgaria), C1.P1.
2. Rucins, M., Petricenko, O., Pajuste, K., Plotniece, M., Pajuste, K., Gosteva, M., Cekavicus, B., Sobolev, A., Plotniece, A. Studies of preparation and stability of liposomes formed by 1,1'-[(3,5-didodeciloxy carbonyl-4-phenyl-1,4-dihydropyridine-2,6-diil)-dimethylen]bispyridinium dibromide. In Poster presentations, *2013 2nd International Symposium on Materials Science and Engineering Technology (ISMSET 2013)*, (June 27–28, 2013, Guangzhou, China), Abstr. 7.
3. Petricenko, O., Erglis, K., Cebers, A., Plotniece, A., Pajuste, K., Béalle, G., Ménager, Ch., Dubois, E., Perzynski, R. Properties of magnetoliposomes formed by cationic amphiphile. *13th International Conference on Magnetic Fluids (ICMF-13)* (7th - 11th January, 2013, CSIR-NPL, New Delhi, India) 161–162.
4. Erglis, K., Tatulcenkov, A., Kitenbergs, G., Petricenko, O., Cebers, A. Normal field instability of miscible fluids. *13th International Conference on Magnetic Fluids (ICMF-13)* (7th - 11th January, 2013, CSIR-NPL, New Delhi, India) 379–381.

5. Petricenko, O., Skrivele, B., Pajuste, K., Kaldre, D., Cekavicus, B., Plotniece, M., Ose, V., Rucins, M., Gosteva, M., Sobolev, A., Plotniece, A. Studies of nanoaggregates formed by 1,4-dihydropyridine amphiphiles possessing antiradical activity. In Poster presentations, *26th Conference of the European Colloid and Interface Society (ECIS 2012)*, (September 2–7, 2012, Malmo & Lund, Sweden), P2, 119.
6. Ruciņš, M., Pajuste, K., Cekavicus, B., Birkmane, K., Petrichenko, O., Ose, V., Skrivele, B., Kaldre, D., Gosteva, M., Kazuss, E., Pajuste, K., Plotniece, M., Duburs, G., Sobolev, A., Plotniece, A. Synthesis and studies of properties 1,4-dihydropyridine amphiphiles. *International Conference on Organic Synthesis, Balticum Organicum Syntheticum (BOS 2012)* (July 1–4, 2012, Tallina, Igaunija) PO 113, 160.
7. Pajuste, K., Petrichenko, O., Skrivele, B., Cekavicus, B., Ose, V., Hyvonen, Z., Ruponen, M., Plotniece, M., Ruciņš, M., Kaldre, D., Gosteva, M., Kore, K., Sobolev, A., Duburs, G., Plotniece, A. Gene delivery agents possessing antiradical activity: self-assembling cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives. *International Conference in Pharmacology. Targeting cellular regulatory systems* (20–21 April, 2012, Riga, Latvia) P 22. Abstr. 53.
8. Gosteva, M., Petrichenko, O., Pajuste, K., Skrivele, B., Plotniece, M., Cekavicus, B., Sobolev, A., Duburs, G., Plotniece, A. Self-assembling compounds on base of amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives: studies of biological properties and characterization of their formed nanoparticles. *25th Conference of the European Colloid and Interface Society (ECIS 2011)* (September 4–9, 2011, Berlin, Germany) Abstr. T-145.
9. Mezulis, A., Petrichenko, O. Termodiffusion motion of electrically charged nanoparticles. *International Conference Functional materials and nanotechnologies* (2011, April 5–8, Riga) Abstr. 201.
10. Petrichenko, O., Maiorov, M., Plotniece, A., Cebers, A. Production and characterization of magnetic nanoparticles coated with dextran. *International Conference on Organic Synthesis, Balticum Organicum Syntheticum (BOS 2010)* (June 27–30, 2010, Riga, Latvia) Abstr. 164.
11. Skrivele, B., Petrichenko, O., Birjukovs, P., Kaldre, D., Ose-Klinklava, V., Pajuste, K., Sobolev, A., Cebers, A., Duburs, G., Plotniece, A. Novel magnetic nanoparticles formed by cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives and ferrite. *International Conference on Organic Synthesis, Balticum Organicum Syntheticum (BOS 2010)* (June 27–30, 2010, Riga, Latvia) Abstr. 184.

Uzstāšanās vietējās konferencēs

1. Petričenko, O., Cēbers, A., Plotniece, A. Magnetoliposomu sintēze ar spontānās piebriešanas metodi: *LU 70. konferencē, sekcija "Nanotehnoloģijas un mīkstie materiāli"* (2012.g. 2. februāris, Rīga).
2. Petričenko, O. Magnētisku vezikulu sintēze un to īpašības: *LU 69. konferencē, sekcija "Nanotehnoloģijas un mīkstie materiāli"* (2011.g. 3. februāris, Rīga).
3. Petričenko, O., Maiorov, M. Magnētiskās nanodaļiņas pārklātas ar dekstrānu ūdens vidē un to īpašības: *LU 68. konferencē, sekcija "Nanotehnoloģijas un mīkstie materiāli"* (2010.g. 4. februāris, Rīga).
4. Petričenko, O. Ferodaļiņu pagatavošana ūdens vidē: *LU 67. konferencē, sekcija "Nanotehnoloģijas un mīkstie materiāli"* (2009.g. 27. februāris, Rīga).
5. Petričenko, O., Blūms, E., Maiorov, M., Cēbers, A. Synthesis of magnetic nanoparticles and their properties. *International Baltic Sea Region conference "Functional materials and nanotechnologies"* (April 2–4, 2007, Riga).

Pateicības

Izsaku īpašu pateicību darba vadītājiem profesoram, Dr. habil. fiz. **A.Cēberam** (Latvijas Universitātes Fizikas un matemātikas fakultāte, LU FMF), un Dr. ķīm., vad. pētn. **A.Plotnieci** (Organiskās sintēzes institūts, OSI) par teorētiskajām diskusijām un doto iespēju strādāt pie promocijas darba tēmas.

Izsaku lielu pateicību

- Prof., Dr. phys. R.Perzynski un Dr. chem. Ch.Ménager (Parīzes Universitāte) par sadarbību, iespēju stažēties un metodisko palīdzību.
- M. Majorovam (LU Fizikas institūts) par palīdzību daļiņu magnētisko īpašību noteikšanā.
- Dr. fiz. A. Mežulim (LU Fizikas institūts) par lādētās nanodaļiņas termodifūziju efektu izvērtējuma salīdzinājumu ar teorētisko modeli.
- Kolēģiem Dr. fiz. K.Ērglim un G.Kitenbergam (LU, FMF) par palīdzību magnētoforēzes un elastības eksperimentu īstenošanā. Par mikrokonvekcijas eksperimentu īstenošanu un analīzi.
- Dr. habil. biol. V.Osei (LU Biomedicīnas studiju un pētījumu centrs, BMC) par transmisijas elektronmikroskopijas attēlu registrēšanu un B.Skrīvelei (Membrānaktīvo savienojumu un β -diketonu laboratorija, OSI) par atomspēku mikroskopijas attēlu reģistrēšanu. LU Ķīmiskās fizikas institūtam par iespēju izmantot atomspēku mikroskopu.
- Dr. fiz. A.Mišņovam (OSI) par nanodaļiņu rentgenstrukturālo analīzi un Dr. fiz. J. Kleperim (LU Cietvielu fizikas institūts, CFI) par vielas termogravimetrisko un diferenciālo termālo analīzi (TGA/TG).

Sirsnīgs paldies kolēģiem no Membrānaktīvo savienojumu un β -diketonu laboratorijas (OSI) un LU FMF Teoretiskās fizikas katedras par zinātniskajām diskusijām un morālo atbalstu.

Izsaku pateicību un milestību savai ģimenei, mammai un manai miļai meitai Annai, par atbalstu, pacietību un sapratni.

Atzīstot darba nozīmību un veicot doktorantūras studijas Latvijas Universitātē, finansiālu atbalstu sniedzis Eiropas sociālais fonds ar projektiem: Nr. 2009/0197/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/014 "Jaunu farmakomodulatoru dizains un to nanoasociātu kā transporta formu pētījumi", 2009/0223/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/008 "Atomāro un nepārtrauktās vides tehnoloģisko fizikālo procesu modelēšana, matemātisko metožu pilnveide un kvalitatīvā izpēte" un OS MOZES programma Nr. 22497YE.



Saīsinājumi

AFI	apgrieztās fāzes ietvaicēšana
ASM	atomspēku mikroskopija
dekstrāns 40	dekstrāns ar molmasu 40 kDa
dekstrāns 100	dekstrāns ar molmasu 100 kDa
1,4-DHP	1,4-dihidropiridīns
DLVs	daudzlamelāras vezikulas
DDAB	didodecildimetilamonija bromīds
DODAH	dioktadecildimetilamonija hlorīds
DOTAS	N-(1-(2,3-dioleoiloksi)propil)-N,N,N-trimetilamonija metilsulfāts
DOFH	1,2-dioleil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfatidilholīns
DPFH	dipalmitoilfosfatidilholīns
DMDS	dimerkaptodzintarskābe
DSTAP	1,2-distearoil-3-trimetilamonijpropāns
DONDs	dzelzs oksīda nanodaļiņas
DONDs/citr.	ar citrātu pārklātas dzelzs oksīda nanodaļiņas
DAAM iekārta	daļiņu attēlu ātrumu mērīšanas iekārta (Particle image velocimetry, PIV)
DGI	dinamiskā gaismas izkliede
EDK · HCl	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimīda sālskābā sāls
FF	ferošķidrums
FF _{sk}	ferošķidrums ar γ -Fe ₂ O ₃ nanodaļiņām
FF _{citr}	ferošķidrums ar γ -Fe ₂ O ₃ nanodaļiņām, kas pārklātas ar citrātjoniem
FF _{Rh}	ferošķidrums ar γ -Fe ₂ O ₃ nanodaļiņām, kas funkcionalizētas ar rodamīnu B
FF _{deks}	ferošķidrums ar dzelzs oksīda nanodaļiņām (magnetīts, mehēmīts), kas funkcionalizētas ar dekstrāniem
GVV _s	gigantiskas vienlamelāras (bislāņa) vezikulas ($D > 20 \mu\text{m}$)
GEH	gel-ekstrūzijas hromatogrāfija
HVs	hibrīdvezikulas

IAO	indija-alvas oksīds (ITO)
KP	CdS/ZnS kvantu punkti (quantum dots, QDs)
KM-dekstrāns	karboksimetildekstrāna nātrijs sāls
KMK	kritiskā micellu koncentrācija
LVVs	lielas vienlamelāras vezikulas ($D = 100 \text{ nm} - 20 \text{ }\mu\text{m}$)
MES	2- <i>N</i> -morfolīnetānsulfonskābe
MLs	magnetoliposomas
ML	magnetizācijas līkne
MNDs	magnētiskas nanodaļiņas
MVVs	mazas vienlamelāras vezikulas ($D = 4-50 \text{ nm}$)
NDs	nanodaļiņas
NDs/citr	mehemīta nanodaļiņas, kas pārklātas ar citrātjoniem
OG	oktil- β -D-glikopiranozīds
OM	optiskā mikroskopija
POFH	1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoholīns
PMMA	poli(metilmetakrilāts)
PEVA	poli(etilēn- <i>ko</i> -vinilacetāts)
PLGS	poli(D,L-lakto- <i>ko</i> -glikolskābe)
PAM	poliakrilamīds
PEG	polietilēnglikols
PEI	polietilēnimīns
PVP	polivinilpirolidons
PVS	poli(vinilspirti)
PolyNIPAAm	poli(N-isopropilamīds)
RhB	rodamīns B
SRVs	sausas rehidratētas vezikulas
SpPi	spontāna piebriešana
TOFO	tri- <i>n</i> -oktilfosfīna oksīds
TMAH	tetrametilamonija hidroksīds
TEM	transmisijas (caurstarojoša) elektronmikroskopija
VLVs	vienlamelāras vezikulas
VE	vairāku emulsiju

1. nodaļa

LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Dzelzs oksīda nanodaļiņas un ferošķidrums

Magnētiskām nanodaļiņām piemīt unikālas magnētiskās īpašības un spēja funkcionēt šūnu molekulāri bioloģisko mijiedarbību līmenī, ļaujot tām būt pievilcīgām dažādiem biomedicīnas pielietojumiem, piemēram, kā kontrastvielām magnētiskās rezonanses pētījumos, kā nesējiem zāļu mērķtiecīgai piegādei [13]. NDs magnētiskās īpašības ietekmē dažādi faktori, starp kuriem jāizdala ķīmiskais sastāvs, kristālisko režģu tips un to defektivitātes pakāpe, nanodaļiņu forma un izmērs [14]. Dzelzs oksīda nanodaļiņas ir ferimagnētiskie materiāli¹, kam ir inversa spineļa struktūra.² Mehemīta (γ -Fe₂O₃) bāzes struktūra ir ļoti tuva spineļa magnetīta režģa kubiskai struktūrai, kurai ir tetragonāla virsstruktūra, kas nosacīta ar katjonu vakancēm [16].

Koloidālas dzelzs oksīda NDs – magnetīts (Fe₃O₄) un mehemīts ir intensīvi pētītas biomedicīnā, pateicoties lieliskai biosaderībai [1, 4, 10, 12, 17]. Metabolisma laikā dzelzs joni pievienojas organismā jau esošajiem, piem., hemoglobīnā, tāpēc γ -Fe₂O₃ nanodaļiņas ar virsmu, kas funkcionalizēta ar biosavietojumu materiālu, var droši izmantot eksperimentos *in vivo* [17].

Lielu uzmanību dzelzs oksīda nanodaļiņu pētījumiem sekmēja arī salīdzinoši vieglā nanodaļiņu iegūšana. Līdztekus magnētisko šķidrumu pielietojumiem dažādās sfērās (magnētiskās blīves, dempferi), šobrīd vērojama arvien pieaugoša interese magnētisku nanodaļiņu izmantošanai biomedicīnā [6, 8]. Tās tiek plaši izmantotas kā kontrastvielas kodolmagnētiskā tomogrāfijā [8, 9]. Dažādiem pielietojumiem nepieciešama specifiska koloidālu daļiņu virsmas funkcionalizācija [4, 12, 18]. Magnētiskie šķidrums ir ultradispersu fero vai ferimagnētisku materiālu koloidāli šķidrums dažādās nesējvidēs (piem., ūdens, šķidrie ogļūdeņraži, silicij- un fluororganiskie šķidrums).

Magnētiskos šķidrumus raksturo to plūstamība (viskozitāte) un spēja mijiedarboties ar magnētisko lauku [19, 20]. Magnētisko šķidrums īpašības lielā mērā nosaka suspendēto daļiņu Brauna kustība un tas, ka katrai viendomeņu daļiņai³ piemīt konstanta magnetizācija. Brauna kustība notur daļiņas suspendētā stāvoklī, bet molekulārais pārklājums aizsargā tās no salipšanas [19]. Magnētiskais šķidrums ir unikāls ar to, ka tam piemīt liela plūstamība, kas apvienojas ar magnetizāciju. Tas saistīts ar to, ka šķidrums ir milzīgs daudzums nanodaļiņu, kas darbojas kā ļoti mazi pastāvīgi magnēti. Ārējais magnētiskais lauks orientē katras daļiņas magnētisko momentu. Tas noved pie šķidruma magnētisko un reoloģisko īpašību izmaiņām. Magnētiskais šķidrums var mainīt savu viskozitāti, atkarībā no ārējā magnētiskā lauka [20].

Magnētisma funkcionālo iespēju izmantošanai biomedicīnā un biotehnoloģijās vitāli svarīga ir stabila magnētisku koloīdu sintēze ūdens šķīdumos ar dažādu jonu spēku un pH

¹Ferimagnētiķi – materiāli, kam atomu magnētiskie momenti dažādos apakšrežģos ir orientēti anti-paralēli kā antiferomagnētiķiem, tomēr dažādu apakšrežģu momenti nav vienādi pēc vērtības, līdz ar to rezultējošais moments nav vienāds ar nulli. Ferimagnētiķi raksturojas ar spontāno magnetizāciju.

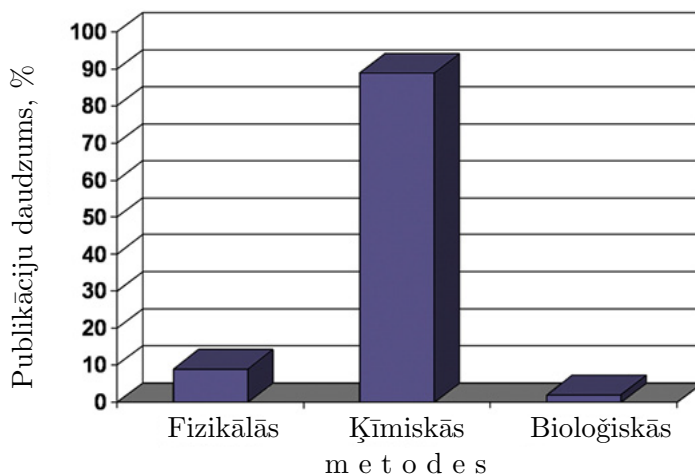
²Spinelis ir minerāla nosaukums. Tas ir struktūra ar kopējo formulu MeOFe₂O₃, kur Me – Ni²⁺; Co²⁺; Fe²⁺; Mn²⁺; Mg²⁺; Li¹⁺; Cu²⁺ [15].

³Viendomeņu daļiņai raksturīgais izmērs ir 1–30 nm [14].

vērtībām. Šim nolūkam magnētisko koloīdu iegūšanā lielu uzmanību jāpievērš sekojošām īpašībām: • magnētisku daļiņu stabilitātei; • augstām magnētiskā momenta vērtībām; • noteiktam izmēram; • virsmas struktūrai; • adsorbcijas īpašībām; • zēmam toksiskumam.

1.2. Feromagnētisko nanodaļiņu iegūšanas metodes

Magnētisko šķidrumu iegūšanas metodes var sadalīt trīs pamatgrupās (fizikālās, ķīmiskās un bioloģiskās). Mahmoudi un līdz. apkopoja un prezentēja publikācijā [4] magnētisko šķidrumu (nanodaļiņu) iegūšanas metožu pielietojumu statistiskos datus, parādot, ka 90% gadījumu izmanto ķīmisko metodi (skat. 1.1. att.). No magnētisku nanodaļiņu iegūšanas metodēm sīkāk tiks aplūkots tikai plašāk lietotās.



1.1. att.: Zinātnisku publikāciju par magnētisku nanodaļiņu sintēzi procentuālais sadalījums līdz 2010.g. [4].

1.2.1. Fizikālās metodes

Mehāniska samalšana bumbu dzirnavās. Magnētiskas daļiņas ferošķidruma formā ir zināmas jau no 1960. gada, kad *Papell* ieguva magnētisko šķidrumu, samaļot bumbu dzirnavās magnetīta daļiņas līdz mikrometra **simtdaļu** izmēriem (apmēram 10 nm). Šis process ir ļoti laikietilpīgs (aptuveni 1000 stundas), un maļšanas laikā iegūtās nanodaļiņas nepārtraukti tiek apstrādātas ar virsmas aktīvu vielu [19].

Ar lāzera starojumu inducēta pirolīze. Izmantojot pirolīzes metodi, var iegūt magnētiskās NDs sfēriskā formā ar daļiņu izmēru 5–60 nm diapazonā ar vēlamām magnētiskām īpašībām (piesātinājuma magnetizācija 10–60 emu/g) un ar labu produktivitāti. Diemžēl, procesā veidojas lieli agregāti [6].

Kondensācija no gāzes fāzes. Klasiskā variantā metāla paraugu vai sakausējumu karsē volframa laiviņā argona vai hēlija plūsmā. Iztvaicētā metāla atomi sadursmēs ar inertās gāzes atomu zaudē savu kinētisko enerģiju, savienojas klasteros un kondensējas uz atdzesētas pamatnes kā nanodisperss pulveris. Izmantojot šo metodi, var iegūt magnētiskās nanodaļiņas sfēriskā formā ar izmēru 5–50 nm diapazonā un šauru izmēru sadalījumu [14]. Piesātinājuma magnetizācijas vērtība ir vairāk nekā 20 emu/g. Metode ir piemērota, lai iegūtu plānas magnētiskas plēves vai aizsargpārklājumus. Šī metode prasa ļoti lielu enerģijas patēriņu, jo notiek pie ļoti augstas temperatūras [6].

1.2.2. Bioloģiskās metodes

Bioloģiskās dzelzs oksīda iegūšanas metodes balstās uz biomineralizācijas procesiem "šūnās" [21]. Tā, piemēram, baktērijā *Magnetospirillum gryphiswaldense* ir magnetosomas, kas ir membrānā iekļautas nanometru garas magnetīta ķēdes. Parasti "šūna" satur no 15 līdz 20 magnetīta kristālus [22]. Šādas baktērijas ir iespējams kultivēt laboratorijās un pēc tam izdalīt magnētiskās daļiņas [4, 23]. Tā piemēram, baktēriju olbaltumviela *Listeria innocua*, kam ir iekšējais dobums ar diametru 5 nm, tika izmantota, lai sintezētu γ -Fe₂O₃ daļiņas ar šauru izmēru sadalījumu ($9,3 \pm 0,2$ nm), kas tika noteiktas ar DGI metodi [24]. Ar bioloģisko metodi iegūtām nanodaļiņām vidējais izmērs ir 42 nm [25], bet metodes trūkums ir maza produktivitāte [4, 23]. Savā apskatā *Schüler* un *Franke* [26] raksta, ka parasti no 1000 ml baktēriju celma *Magnetospirillum AMB-1* var iegūt 2,6 mg magnetīta nanodaļiņu. Attiecīgi, augstākie magnetīta iznākumi iegūti no *M.gryphiswaldense MSR-1* baktēriju celma – 7,9 mg/l dienā [27].

1.2.3. Ķīmiskās metodes

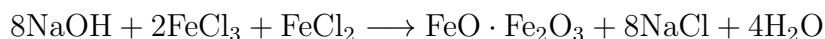
Kā redzam no pētījuma datiem [4] (1.1. att.), visplašāk magnētisko nanodaļiņu iegūšanai tiek izmantotas ķīmiskās metodes (ap 90%). Tas saistīts ar ķīmisko metožu priekšrocībām:

- tās ir ievērojami ātrākas (sintēze notiek laikā no minūtēm līdz pāris stundām) nekā mehāniskās (nedēļas un mēneši) [19];
- ķīmiskās metodes ir ērtākas, jo var viegli mainīt reakcijas apstākļus atkarībā no sintēzes mērķiem;
- ķīmiskām metodēm ir augsta produktivitāte.

Visbiežāk no ķīmiskām metodēm izmanto līdzizgulsnēšanas (27%), mikroemulsijas (20%) un hidrotermālās (24%) metodes [4].

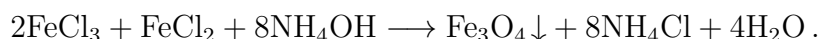
Līdzizgulsnēšanas metodes. Magnētiskās nanodaļiņas biomedicīnas vajadzībām galvenokārt iegūst, izmantojot dzelzs oksīda nanodaļiņu ķīmiskās sintēzes metodes [4]. Lielākā daļa no tām ir līdzizgulsnēšanas metodes, kas tiek realizētas pārklājošas vielas (virsmas aktīvas vielas) klātbūtnē [6] (pamatmetode dzelzs oksīda nanodaļiņu iegūšanai), turklāt, tā ir vienkāršākā, lētākā un videi draudzīgākā procedūra [1]. Ķīmiskās reakcijas šķīdumos ir viens no ērtākajiem veidiem, kā iegūt magnētiskās nanodaļiņas: dzelzs oksīda nanodaļiņu veidošanos panāk, variējot noteiktus reakcijas apstākļus (reakcijas tips, šķīdinātājs, temperatūra) un izmantojot ligandus un virsmas aktīvās vielas, kas pilnībā vai daļēji ierobežo lielāku kristālu augšanu. Tā, piemēram, *Bacri* un līdz. [28] parādīja, ka viens no svarīgākajiem faktoriem, kas ietekmē dzelzs oksīda nanodaļiņu izmēru un formu, ir Fe³⁺/Fe²⁺ attiecība. *Khalafalla* un *Reimars* 1974.g. [29] piedāvāja iegūt magnētisko

šķīdrumu ar ķīmisko metodi: Fe^{2+} un Fe^{3+} sāļu līdzizgulsnēšanu sārmainā vidē, izmantojot nātrija hidroksīdu (NaOH) [19]:



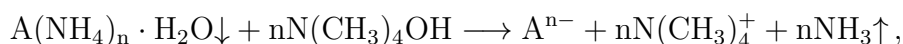
un iegūto koloīdu stērisko stabilizēšanu, piemēram, ar oleīnskābi (*cis*-9-oktadecēnskābe) [19, 29]. Pēc peptizācijas stadijas, kurā daļiņas tika pārnestas no ūdens fāzes uz organisko fāzi, daļiņu dispersija tiek magnētiski atdalīta no ūdens-sāļu atlikuma, tiek filtrēta un atšķaidīta ar šķīdinātāju līdz nepieciešamajai koncentrācijai. Abos gadījumos (mehāniskā un ķīmiskā iegūšana) kā stabilizējošais aģents tika izmantota oleīnskābe [19]. Virsmas aktīvās vielas aizsargslānis palielina minimālo daļiņu savstarpējo attālumu tā, ka siltumkustības enerģija dominē pār agregāciju veicinošo parādību enerģijām, galvenokārt, pār magnētisko dipolu pievilkšanos un Van der Vālsa spēkiem [28].

Massart [30, 31] aprakstīja magnētisko NDs iegūšanas metodi, neizmantojot stabilizējošo aģentu. Eksistē plašs publikāciju skaits par magnētisku NDs iegūšanas metodēm ūdens vidē [4, 33–37]. Tomēr, galvenokārt, magnētisko daļiņu iegūšanas paņēmieni balstās uz *Massart* un līdz. [30–32] izstrādāto metodi nanodaļiņu iegūšanai, neizmantojot organisko vielu kā stabilizējošo aģentu. Metodes pamatā ir Fe^{2+} un Fe^{3+} sāļu līdzizgulsnēšana sārmainā vidē. Nātrija hidroksīda aizstāšana ar amonija hidroksīda šķīdumu (NH_4OH , 25%) ļāva izveidot maigākus apstākļus sāļu līdzizgulsnēšanai un sintēzi veikt istabas temperatūrā. Trīsvērtīgā dzelzs daudzuma attiecība pret divvērtīgā dzelzs daudzumu reakcijā ir 2:1. Sintēze notiek pēc summārās reakcijas [21, 38]:



Sārma klātbūtne Fe^{3+} un Fe^{2+} jonu maisījumā izraisa kondensācijas reakciju, kuras rezultātā veidojas magnetīts (Fe_3O_4). Tādējādi uz izveidoto nanodaļiņu virsmas ir virsmas elektriskais lādiņš, kurš kompensējas ar bāzes katjonu (visbiežāk Na^+ vai NH_4^+) [28]. Šie joni samazina nogulšņu mijiedarbību ar ūdeni. Rezultātā tiek iegūtas želejveida Fe_3O_4 nogulsnes, kuras tiek magnētiski atdalītas. Tālāk nogulsnes izmanto divējādi:

- nogulšņu peptizācija ar tetrametilamonija hidroksīda ($\text{N}(\text{CH}_3)_4\text{OH}$) ūdens šķīdumu (iegūstot bāzisku magnētisko šķīdumu). Iegūtās koloidālās daļiņas ir spēcīgi elektrolīti. Tad iegūtās daļiņas šķīdina ūdenī. Tās disociē jonus, un magnētiskie šķidrums ir stabili (koloīdālās daļiņas – anjonais Fe_3O_4). Sārmainās vidēs tādi vāji polarizējoši joni kā $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ neizsauc flokulāciju, tajā laikā, kad tā notiek stiprāk polarizējošu jonu (sārnu metālu joni, NH_4^+) klātbūtnē [28, 30]:



kur A ir Fe_3O_4 daļiņas;

- nogulšņu apstrādāšana ar stipru skābju: HClO_4 [31], vai HNO_3 un HCl [28, 32] ūdens

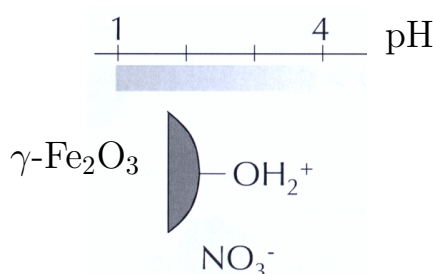
šķīdumiem. Tādējādi veidojas skābs sOLS, kurš pēc centrifugēšanas, tam pievienojot ūdeni, peptizējas.

Procesa raksturīga iezīme: bāzes šķīdumam (NH_4OH) jābūt pārākumā. Tikai šajā gadījumā notiek pilnīga anjonā magnetīta daļiņu izgulsnēšana. Tātad smalkdispersā magnetīta ķīmiskās nogulsnēšanas metodes būtība ir ātra divvērtīgo un trīsvērtīgo sāļu neutralizācija ar amonjaka ūdens šķīdumu.

Bee un līdz. [32] aprakstīja, kā no Fe_3O_4 nogulsnēm iegūst megemīta NDs ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Anjonais Fe_3O_4 tiek oksidēts ar $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ šķīdumu 95–100°C temperatūrā, lai iegūtu pozitīvi lādētās $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ daļiņas (sk. 1.2. att.). Pēc oksidēšanās nav novērotas manāmas NDs izmēru izmaiņas [39]. Skābs koloīds tiek iegūts, nogulsnes peptizējot ar ūdeni. Magnētiskā šķīduma pH vērtība ir aptuveni 2. Kā stabilizators šajā gadījumā strādā slāpekļskābe [30, 32]. Šādi magnētiskie šķidrums ir stabili pH vērtību diapazonā no 1 līdz 3.

Autori savā darbā [39] atzīmēja, ka sintezētām nanodaļiņām, kas tika pētītas ar transmisijas elektronmikroskopiju (TEM), piemīt sfēriska forma un ka daļiņu izmēru ietekmē tādi mainīgie parametri, kā:

- kopējā katjonu koncentrācija ($\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$);
- vides pH;
- temperatūra.



1.2. att.: Skābā ferošķidrums (FF_{sk}) nanodaļiņas shematisks attēls – pozitīvi lādētās $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (megemīts) nanodaļiņas [40].

Parasti pēc šīs procedūras iegūtajām daļiņām diametrs ir diapazonā no 2 līdz 20 nm. Daļiņu virsmas lādiņa veidošanās un pretjoni parādīti 1.2. attēlā.

Negatīvais koloīdu lādiņš sārmainā vidē un pozitīvais – skābā vidē rodas attiecīgo OH^- vai H_3O^+ jonu adsorbcijas uz koloīdalu daļiņu virsmas rezultātā [19]. Koloīda stabilitāti nodrošina elektrostātiskās atgrūšanās spēki. Koloīdi ar pH no 5 līdz 9 koagulē virsmas lādiņa trūkuma dēļ. Tāpēc ir nepieciešams meklēt citas iespējas apstrādāt nanodaļiņu virsmu, lai iegūtu stabilu šķīdumu pie šīm fizioloģiskajām pH vērtībām.

Diemžēl, iegūto daļiņu magnetizācija pat starp daļiņām ar vienādiem izmēriem var ievērojami mainīties atkarībā no iegūšanas metodes. Šo faktu var skaidrot, piemēram, ar piemaisījumu, kas var sagraut kristālisko struktūru, iekļaušanu, kā arī virsmas ietekmi.

Parasti piesātinājuma magnetizācijas (M_s) vērtība ar ķīmisko metodi iegūtam magnetīta nanodaļiņu koloīdam ir robežās no 30–50 emu/g, kas ir zemāka nekā cietam magnetītam 90 emu/g [6].

Mikroemulsijas metode. Vēl viena populāra ķīmiska metode [4] – mikroemulsijas metode. Līdzīgulsnēšanās metodi limitē ūdens viršanas temperatūra, un dzelzs oksīda nanodaļiņām, kas sintezētas šādos apstākļos, parasti piemīt zema kristalizācijas pakāpe un liela polidispersitāte. No šī viedokļa labs sintēzes veids ir ūdens-eļļa mikroemulsijas metode [41]. Šajā paņēmienā noteikts ūdens daudzums tiek pievienots pie liela daudzuma nepolāra šķīdinātāja (eļļa), nepieciešamās attiecīgās virsmas aktīvās vielas klātbūtnē. Ūdens pilieni, kas stabilizēti ar virsmas aktīvu vielu, vienmērīgi sadalās eļļas fāzē un darbojas kā mikro- vai nanoreaktori nukleācijai⁴ un kontrolētai dzelzs oksīda nanodaļiņu veidošanai. Ar šo metodi var iegūt dzelzs oksīda nanodaļiņas ar ļoti šauru izmēru sadalījumu. Daļiņu forma ir kubiska vai sfēriska, daļiņu izmērs – apmēram 4–15 nm. Daļiņu piesātinājuma magnetizācija ir > 30 emu/g. Metodes trūkumi: ļoti grūti atdalīt virsmas aktīvo vielu un ļoti maza produktivitāte [6].

Termiskā sadalīšanās metode. Monodispersus magnētiskus nanokristālus ar mazāku izmēru var sintezēt termiski sadalot metālorganisku savienojumu organiskā šķīdinātājā ar augstu viršanas temperatūru virsmas aktīvas vielas klātbūtnē. Piemēram, *Grzeta* un līdz. [42] izmanto magnetīta sintēzei dzelzs holīna citrātu ($C_{33}H_{57}Fe_2N_3O_{24}$). Viela sākotnēji ir granulū veidā. Granulas silda cauruļveida krāsnī temperatūras diapazonā 270–460°C un atdzesē ar ūdeni vai gaisu [4]. Izmantojot termiskās sadalīšanas metodi iegūst magnētisko nanodaļiņu šauru izmēru sadalījumu, bet process ir diezgan sarežģīts, realizējas inertā atmosfērā.

Hidrotermālā metode. Hidrotermālā sintēzes metode tiek izmantota, lai iegūtu kristālas dzelzs oksīda nanodaļiņas [43]. Šajā gadījumā dzelzs sāļu maisījums ūdens vidē tiek ievietots slēgtā teflona reaktorā un sildīts virs ūdens viršanas temperatūras, un tādējādi reakcija notiek pie spiediena, kurš ievērojami pārsniedz atmosfēras spiedienu. Ar šo metodi var iegūt vienmērīga izmēra dzelzs oksīda nanodaļiņas. Šī metode ir labi realizējama dažādu izmēru reaktoros un atļauj variēt iegūto daļiņu daudzumu.

Ir zināms, kā nanodaļiņu fizikālās īpašības lielā mērā atkarīgas no to izmēra. Liela daļa no esošajām sintēzes metodēm ļauj iegūt nanodaļiņas ar diezgan plašu izmēru sadalījumu [14]. Ļoti rūpīgi kontrolējot tādus reakciju parametrus kā procesa laiks, temperatūra, maisīšanas ātrums, reaģentu un stabilizatoru koncentrācija, ne vienmēr var sašaurināt izmēru sadalījumu. Tāpēc kopā ar sintēzes metožu par šauru daļiņu izmēru iegūšanu attīstību, tiek veikts darbs pie paņēmieni uzlabošanas, lai sadalītu iegūtās nanodaļiņas pietiekoši monodispersās frakcijās. Tā, piemēram, izmantojot centrifugēšanu, var atdalīt

⁴Nukleācija – ir lokalizēta kādas termodinamiskas fāzes izveidošana.

lielās daļiņas. Pēc dekantēšanas nogulsnes atkal redisperģē šķīdumā. Šo procesu var atkārtot, kamēr netiek iegūts ferošķidrums ar vajadzīgo nanodaļiņu izmēru.

Lu un līdz. [37] apkopotie dati, kas attiecas uz nanodaļiņu iegūšanas metodēm, parādīti 1.1. tabulā, kur īsumā izvērtētas priekšrocības un trūkumi iepriekšminētajām ķīmiskajām metodēm.

1.1. tabula: Magnētisko daļiņu ķīmisko sintēzes metožu salīdzinājums, izmantojot literatūras datus [37].

Iegūšanas metode	Līdzizgulsnēšana	Termiska sadalīšana	Mikroemulsijas	Hidrotermāla sintēze
Sintēzes īpatnību novērtējums	ļoti vienkāršs	sarežģīts, inertā atmosfērā	sarežģīts	vienkāršs, augsts spiediens
Procesa temperatūra	20–90°C	līdz 460°C	20–50°C	220°C
Procesa laiks	minūtes	stundas, dienas	stundas	stundas, dienas
Šķīdinātājs	ūdens	organiskais savienojums	organiskais savienojums	ūdens-etanols
Virsmas aktīvais aģents	obligāts reakcijas laikā vai pēc tās	obligāts reakcijas laikā	obligāts reakcijas laikā	obligāts reakcijas laikā
Izmēru sadalījums	salīdzinoši šaurs	ļoti šaurs	salīdzinoši šaurs	ļoti šaurs
Daļiņu formas kontrole	vidēji laba	ļoti laba	laba	ļoti laba
Mērogošana	augsta	augsta	zema	vidēja

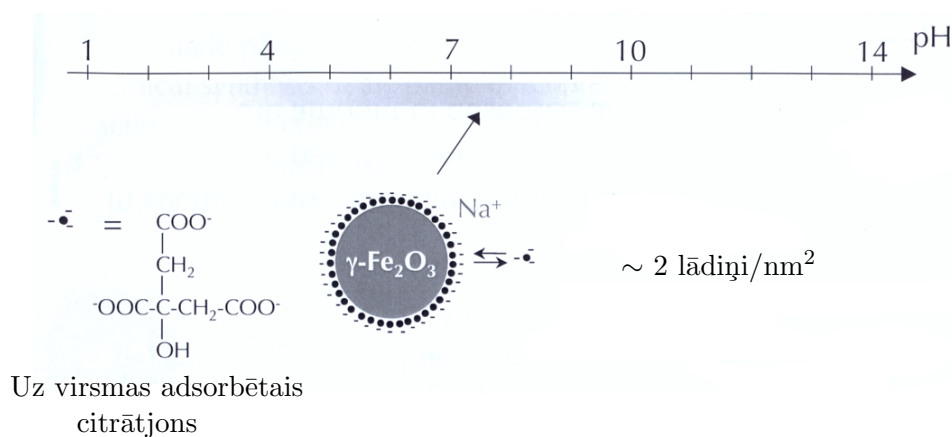
Salīdzinot tabulas datus, redzams, ka katrai metodei ir savi trūkumi vai priekšrocības, kas būtu jāņem vērā pie to izmantošanas.

1.3. Feromagnētisku daļiņu funkcionalizācija

Nanodaļiņu (NDs) funkcionalizācija ir nepieciešama ne tikai, lai stabilizētu ferošķidrumu, bet arī, lai paplašinātu NDs pielietojuma lauku. *Massart* un līdz. [44] izstrādātais homogēnu γ -Fe₂O₃ daļiņu ātrais iegūšanas process ļauj izmantot pārklāšanai ļoti plašu virsmas aktīvo vielu loku, piemēram, aminoskābes, α -hidroksiskābes (citronskābe [38, 45], vīnskābe un glikonskābe (C₆H₁₂O₇) [35, 46], L-arginīna N-hidroksiamīda sāļsskābā sāls [47], dimerkaptodzintarskābe (DMDS) [48, 49] vai fosfatidilholīns [50]). Ļoti bieži dzelzs oksīda nanodaļiņu pārklāšanai izmanto tieši nātrija citrātu [32]. Tādā veidā palielinās koloīda stabilitāte un ir maināma un regulējama tā pH vērtība.

1.3.1. Dzelzs oksīda nanodaļiņu pārklājums ar citrātjoniem

Lai iegūtu magnētiskas γ -Fe₂O₃ daļiņas, kas veido stabilus koloīdu šķīdumus pie fizioloģiskām pH vērtībām, bieži mehemīta daļiņas tiek stabilizētas ar citrātjoniem. Daļiņu, kas pārklātas ar citrātjoniem, virsmas lādiņa veidošanās parādīta 1.3. attēlā. Literatūrā ir norādes, ka citrātjonu koncentrācija ietekmē nukleācijas procesā iegūto magnētisko daļiņu (mehemīts) īpašības. Pievienojot arvien vairāk citrātjonu dzelzs oksīda nanodaļiņu iegūšanas procesā, var samazināt iegūto pārklāto daļiņu diametru no 8 līdz 3 nm [32]. Šo citrātjonu iedarbības efektu var skaidrot, ņemot vērā divus procesus: citrāta helātu saikni ar dzelzs joniem, kas novērš nukleāciju, kā arī citrātjonu adsorbciju uz izveidotā dzelzs oksīda kristāla kodola [32].



1.3. att.: Ar citrātjoniem pārklātu mehemīta nanodaļiņu (γ -Fe₂O₃/citr.) shematisks attēlojums [40].

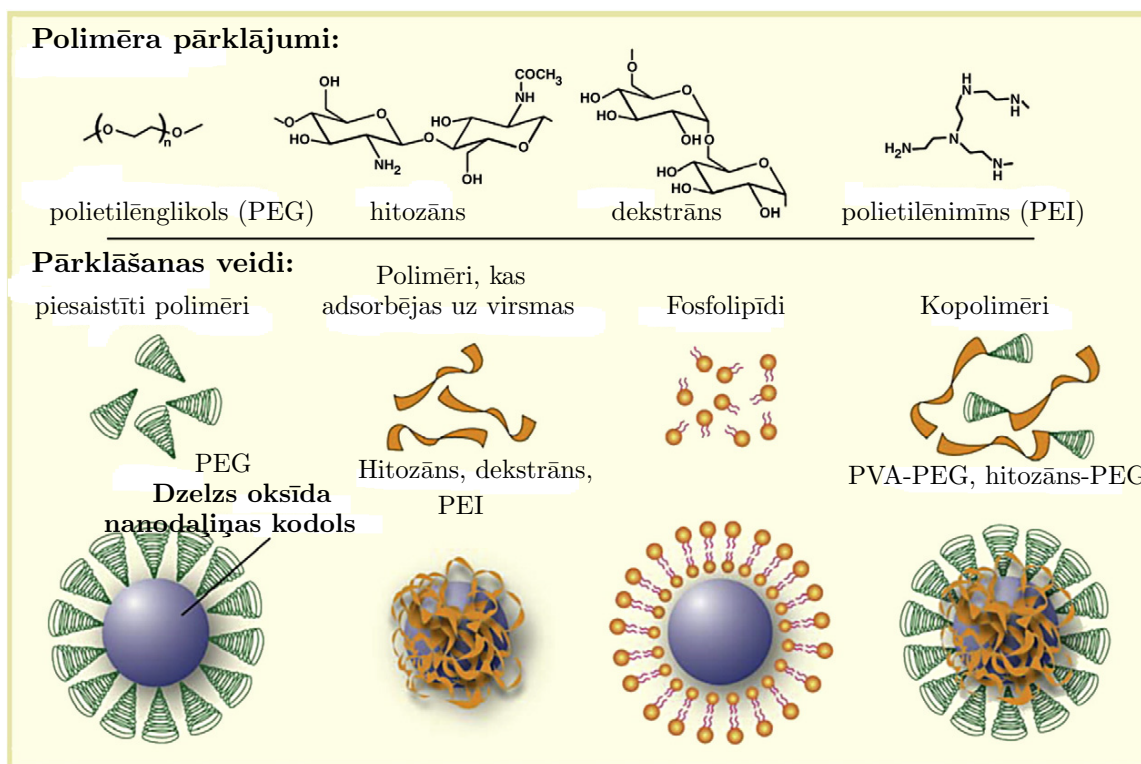
NDs pārklāšana (funkcionalizēšana) ir nepieciešama ne tikai, lai stabilizētu koloīdu, bet arī, kā jau agrāk tika minēts, magnētisko daļiņu izmantošanai biomedicīnā, piemēram, *in vivo* pētījumi, prasa, lai magnētiskās nanodaļiņas būtu pārklātas. Šādi virsmas pārklājumi parasti sastāv no nelielas organiskas molekulas vai polimēra, kura funkcijas ir [51]:

- aizsargāt dzelzs oksīda daļiņu no aglomerācijas;

- nodrošināt ķīmiskas iespējas zāļu molekulu konjugācijai, izveidojot mērķa ligandus un adreses grupas;
- ierobežot nespecifisku iedarbību uz šūnu.

1.3.2. Nanodaļiņu pārklājums ar polimēru (dekstrāns u.c.)

Otrais no veidiem, kā stabilizēt un funkcionalizēt magnētiskās koloīdās daļiņas, veidojot magnētiskās nanosistēmas, ir polimēru pārklājums. Tā, piemēram, ar polimēru pārklātas feromagnētiskās nanosistēmas ir iegūtas, izmantojot kontrolētu radikāļu polimerizāciju [52]. Lai iegūtu orientētas un ķīmiskas funkcionālas grupas saturošas magnētiskās nanosistēmas, Barber un līdz. [53] veikuši dažādus polimēru savienotājposmus saturošu magnetoliposomu sintēzi, izmantojot polietilēnglikolu saturošus siloksiētera atvasinājumus. Tāpat aprakstīta arī hidrofilu polimēru nanoķēdes⁵ saturošu magnētisko liposomu iegūšana [54]. Magnētisko nanodaļiņu pārklājumu var iegūt, izmantojot vairākas pieejas (sk. 1.4. att.), tostarp *in situ* pārklājumu (magnētisku nanodaļiņu iegūšanas laikā), vai pēc magnētisku daļiņu iegūšanas, adsorbējot polimēru uz virsmas u.c. [21].



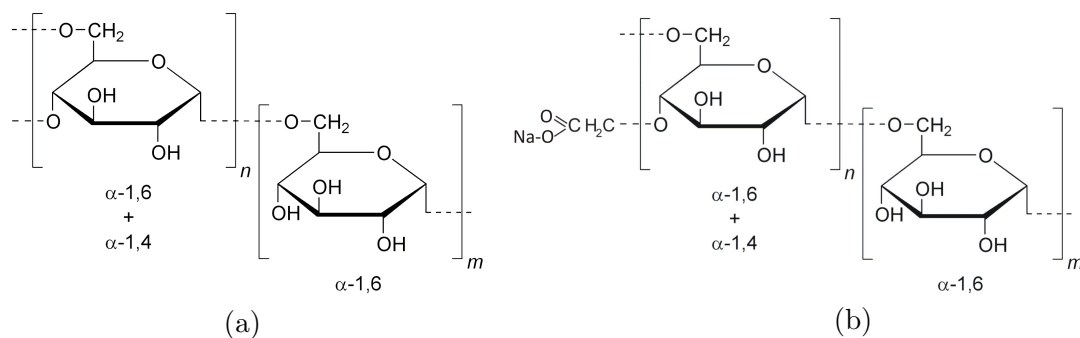
1.4. att.: Dažādu pārklāšanas materiālu piesaistīšana pie magnētiskās nanodaļiņas kodola virsmas [51].

Veiseh un līdz. [51] parādītajā 1.4. attēlā, kas ilustrē dažādu veidu polimēru saistīšanu ar NDs kodolu, tāpat ir arī iekļauta daļiņu funkcionalizācija ar fosfolipīdiem. Tomēr fosfolipīda apvienošana ar magnētiskām daļiņām nav parasta daļiņu funkcionalizēšana, jo fosfolipīdu īpašību dēļ notiek mīkstu materiālu magnētisko nanosistēmu veidošanās. *In*

⁵nanoķēdes – nanoizmēru polimērķēdes

situ un *pēc sintēzes* NDs funkcionalizācijā ar polisaharīdiem un kopolimēriem veidojas pārklājumi, kas vienmērīgi iekapsulē nanodaļiņu. Alternatīvi, polimēri ar piesaistīto galu (piemēram, PEG) ir piestiprināti pie NDs virsmas ar polimēru gala grupām, kas veido otas-veida paplašinājumu (sk. 1.4. att.). Savukārt, liposomas un micellas veidojošās molekulas (virsmas aktīvās vielas, lipīdi) rada apvalku apkārt dzelzs oksīda nanodaļiņām. Šīs struktūras saglabā hidrofobo daļu, kas var tikt izmantota zāļu iekapsulēšanai. Katram paņēmienam ir savas priekšrocības un trūkumi, atkarībā no izmantotā pārklājuma materiāla un pārklāšanas veida un no tā, kādam mērķim šī pārklāšana izmantota.

Vairākās publikācijās [6, 21, 55–63] aprakstītas dažādas ferošķidrumu NDs funkcionalizācijas iespējas: ar dekstrāna atvasinājumiem un to īpašību pētīšana, kā arī vezikulu iegūšana zāļu transportēšanai [55, 56]. Magnētisku NDs funkcionalizācija ar hidrofilu polimēru ķēdēm tiek veikta, lai pasargātu retikuloendoteliālo sistēmu⁶. Piemēram, ir pētījumi, kuri demonstrē, ka ar dekstrānu pārklātas nanodaļiņas var izmantot, lai noteiktu vēža šūnas piena dziedzerī [64].



1.5. att.: **Strukturālās formulas: dekstrāns (a) un karboksimetildekstrāna nātrija sāls (KM-dekstrāns) (b).**

Dekstrāns ir viens no visbiežāk izmantotajiem NDs pārklājumiem, lai iegūtu magnētiskās rezonanses attēlus [21, 65, 66] (sk. 1.5. (a) att.). Ir zināms, ka dekstrānam, pateicoties helatācijai un ūdeņraža saitēm, piemīt augsta tieksme saistīties ar dzelzs oksīda virsmu [51, 67, 68]. Interesanti atzīmēt, ka mehēmīta NDs, kas iegūtas pēc magnetīta (Fe_3O_4) nanodaļiņu oksidēšanas [68] un pārklātas ar dekstrānu, labi inkorporējas šūnās, un pēc šīs īpašības ir salīdzināmas ar magnētisko koloīdu, funkcionalizētu ar peptīdiem [67].

Vēl viens svarīgs faktors dekstrāna kā pārklājošā aģenta izvēlē ir tas, ka piemērots dekstrāna ķēdes garums nodrošina optimālu polāru mijiedarbību (galvenokārt helatāciju un ūdeņraža saistīšanu) ar dzelzs oksīda virsmu. Vienas ūdeņraža saites enerģija ir salīdzinoši vāja, bet kopējā ūdeņraža saišu enerģija visā polisaharīda molekulas garumā var būt ļoti liela, jo molekulā ir liels hidroksilgrupu skaits [21, 69].

Laurent un līdz. [21] atzīmēja, ka supermagnētiska dzelzs oksīda NDs pārklājuma veidošanu, stabilitāti un magnētiskās īpašības ietekmē samazināts dekstrāna kā polimēra glikozes molekulu skaits. Ir zināmi dekstrāni ar molmasu no 3 līdz pat 2000 kDa. *Hong*

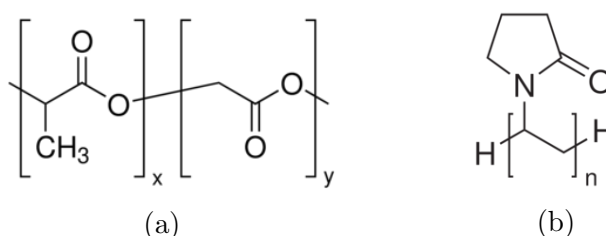
⁶Imūnās sistēmas daļa: retikuloendoteliālā sistēma – sistēma mezenhimālo šūnu (saistaudu) izcelsmei, kas var pārvērsties makrofāgos.

un līdz [70] pētīja, kā dekstrānu molmasa ietekmē pārklāto daļiņu stabilitāti, daļiņu izmēru un pārklāšanas efektivitāti. Noskaidrots, ka ar dekstrāna molmasas palielinājumu stabilitāte, daļiņu diametrs un pārklāšanas efektivitāte palielinās, bet piesātinājuma magnetizācija samazinās pārklājošā materiāla nemagnētiskās dabas dēļ [67]. Tādējādi, jāmeklē kompromiss starp daļiņu stabilitāti un magnētiskām īpašībām, izvēloties dekstrānu ar atbilstošu molekulsvaru. Dzelzs oksīda NDs funkcionalizēšanai visbiežāk izmanto dekstrānu ar molekulsvaru 10–100 kDa diapazonā.

Pardoe un līdz. [58] detalizēti aprakstīja magnētiskās un strukturālās īpašības dzelzs oksīda NDs, kas iegūtas dekstrāna ar 40 000 Da (dekstrāns 40) molmasu klātbūtnē. Analīzes rezultāti liecina, ka polimēra klātbūtne ierobežo daļiņu izmēru, salīdzinot ar daļiņām, kas veidojas bez polimēra [21]. *Dutz* un līdz. [59] rekomendē pārklāt daļiņas ar karboksimetildekstrāna nātrija sāli (KM-dekstrāns) (sk. 1.5. (b) att.), lai iegūtu stabilāku saiti starp polisaharīdu un magnētisko NDs. *Pollert* un līdz. [60] atzīmē, ka KM-dekstrāns nodrošina magnētisko nanodaļiņu stērisku stabilizāciju, jo karboksilgrupai (-COOH) ir tieksme pēc Fe^{3+} joniem un dekstrāna daļa nodrošina dispersiju ūdenī un novērš NDs agregāciju (nanodaļiņu pārklājuma ar dekstrāniem shematisks attēls parādīts 1.4. attēlā).

Publikācijās tiek aprakstītas divas pamatpārklāšanas metodes. Pārklāšana ar dekstrāna atvasinājumiem notiek vienlaicīgi ar dzelzs sāļu līdzizgulsnēšanu sārmainā vidē un magnētisko koloīdu izveidošanos. Iegūtajam magnetīta koloīdam pH vērtība ir 11, un tālāk, lai iegūtu fizioloģiskās pH vērtības, tiek izmantota dialīze [58, 63, 70, 71]. Pēc dialīzes koloīdu centrifugē, lai atdalītu cieto materiālu. Ar šo metodi tiek pārklātas Fe_3O_4 nanodaļiņas.

Otra metode – jau iegūtu magnētisku NDs apstrāde ar dekstrāna šķīdumiem pie noteiktas temperatūras [58, 72]. Šīs metodes trūkums ir tas, ka pēc $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanodaļiņu pārklāšanas ar dekstrānu magnētiskais šķidrums tiek atšķaidīts, kā rezultātā samazinās tā magnētiskās īpašības. Kā priekšrocība tiek atzīmēts, ka mehēmīta nanodaļiņas ir ķīmiski stabilas un nemaina savas īpašības, pretēji magnetītam, kas var nekontrolēti oksidēties skābekļa klātbūtnē [72].



1.6. att.: Dažu sintētisko polimēru strukturālās formulas: (a) poli(lakto-ko-glikolskābe) (PLGS). x – pienskābes vienības daudzums; y – glikolskābes vienības daudzums. (b) polivinilpirolidons (PVP).

Gupta [6] piedāvāja polimēru pārklājuma materiālus klasificēt sintētiskajos un dabiskajos. Polimēri, kuru pamatā ir poli(etilēn-ko-vinilacetāts) (PEVA), poli(lakto-ko-glikolskābe) (PLGS) (sk. 1.6. att. (a)), polivinilpirolidons (PVP) (sk. 1.6. att. (b)) polie-

tilēnglikols (PEG), polivinilspirti (PVS), utt. ir tipiski piemēri sintētisko polimēru grupām [73–75]. Pie dabas polimēriem pieder želatīns, dekstrāns, hitozāns, pullulāns⁷ utt. [76, 77]. Tāpat tiek apskatītas arī dažādas virsmas aktīvās vielas, piemēram, nātrija oleāts, dodecīlamīns, nātrija karboksimetilcelulozes, kas tiek izmantotas, lai uzlabotu nanodaļiņu disperģējamību ūdens vidē [50]. 1.2. tabulā piedāvāts materiālu saraksts, ko varētu izmantot nanodaļiņu funkcionalizēšanai ar tālāku pielietojumu biomedicīnā [78, 79].

1.2. tabula: Nanodaļiņu virsmas pārklāšanas un kompleksveidošanas aģentu saraksts [6, 78].

Pārklāšanas materiāli	Materiāla priekšrocības
Polietilēnglikols (PEG)	Nekovalenta PEG piesaistīšana pie virsmas, palielina cirkulācijas laiku asinssistēmā, uzlabo biosavietojamību un nanodaļiņu inkorporācijas efektivitāti [79–81]
Dekstrāns	Palielina cirkulācijas laiku asinssistēmā un stabilizē koloidālu šķīdumu [65, 82]
Polikarboksimetildekstrāns	Ilgs dzīves laiks asinis plazmā, samazina daļiņu diametru [83]
Polivinilpirolidons (PVP)	Palielina cirkulācijas laiku asinssistēmā un stabilizē koloidālu šķīdumu [84]
Taukskābes	Ietekmē koloīda stabilitāti [85]
Polivinilspirti (PVS)	Novērš daļiņu koagulāciju, nodrošina daļiņu monodispersitāti [86]
Poliakrīlskābe	Palielina nanodaļiņu stabilitāti un biosaderību [87]
Polipeptīdi	Labs pielietojumam šūnu bioloģijā, piemēram, šūnu adresei [88, 89]
Fosfatidilholīns	Koloīdu stabilizators [50]
Poli(D,L-lakto-ko-glikolskābe) (PLGS)	Biosaderīgs, zema citotoksicitāte [73]
Poli(N-izopropilamīds) (PolyNIPAAm)	Termojūtīgo zāļu transports un šūnu atdalīšana [90]
Hitozāns	Dabīgs lineārais katjonais polimērs, kas plaši izmantots kā nevirāla gēnu transfekcijas sistēma, biosaderīgs, izmantots lauksaimniecībā, pārtikā, medicīnā, biotehnoloģijā, tekstilprecēs, polimēros un ūdens attīrīšanā [91]
Želatīns	Hidrofilais emulgators, biosaderīgs, dabīgs polimērs [92]
Ciete	Plaša pH stabilitāte, biosaderība, modifikācijas iespējas [93]
Organiskās skābes (citronskābe, glikonskābe, oleīnskābe un utt.)	Lielāks nanodaļiņu kodols ar plānu lipofilu apvalku [47, 94, 95]

⁷Polisaharīdu polimērs, kas sastāv no maltotriozes vienībām.

1.3.3. Fluorescējošās daļiņas

Viena no nanodaļiņu funkcionalizēšanas iespējām ir iegūt fluorescējošās daļiņas. Fluorescējošo īpašību apvienošana ar magnētiskajām paplašina magnētisko nanodaļiņu izmantošanas iespējas. Publikācijās bieži aprakstīta arī dzelzs oksīda nanodaļiņu marķēšana ar fluorescējošām vielām (rodamīnu B, fluoresceīnu, Kongo sarkano u.c.) [96, 97].

Skaat un līdz. darbā [98] aprakstīti biomarķieri, piemēram, fluorescentā magnētiskā γ -Fe₂O₃-rodamīna vai γ -Fe₂O₃-Kongo sarkanā veidotās nanodaļiņas, kuras varētu tikt izmantotas Alcheimera sindroma agrīnai diagnosticēšanai, kamēr vēl nav novēroti slimības klīniskie simptomi. Turklāt, magnetizētas nervu šūnas tiek izdalītas pilnībā nepārtraukta magnētiskā lauka darbības rezultātā. *Bertorelle* un līdz. [97] aprakstīja magnētisko fluorescējošo nanodaļiņu iegūšanu un to sekmīgu izmantošanu dzīvu šūnu marķēšanai. Fluorescējošās nanodaļiņas uzrādīja labu tieksmi pret šūnām, kas tika konstatēts fluorescējošā mikroskopā un pierādīts ar magnētoforēzi.

Fluorescējošo daļiņu sintēzē, ko aprakstīja *Bertorelle* un līdz. [97], tika izmantoti: iegūtais magnētiskais koloīds ar γ -Fe₂O₃ nanodaļiņām; 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimīda sālskābā sāls (EDK · HCl); cistamīns; dimerkaptodzintarskābe (DMDS) un fluorofori. Kā zināms [35], DMDS ir bieži izmantojams pārklājuma aģents, lai novērstu koloīda koagulāciju. Rezultātā tika iegūtas fluorescējošās nanodaļiņas. Ķīmiskā sintēze balstās uz kovalentās saites veidošanos starp modificēto organisko fluoroforu un DMDS, kas stipri mijiedarbojas ar dzelzs oksīda nanodaļiņu virsmām. Negatīvi virsmas lādiņi, kas veidojas, pateicoties piesaistītās DMDS skābes-bāzes īpašībām, izraisa daļiņu atgrūšanos un pasargā tās no agregācijas. Tādā veidā var iegūt stabilu magnētisko fluorescējošo nanodaļiņu koloidālu dispersiju [97]. Aprakstīto sintēzes gaitu var izmantot, lai piesaistītu kā rodamīnu, tā arī fluoresceīnu, bet *Bertorelle* un līdz. [97] raksta, ka, izmantojot šo metodi, var piesaistīt arī citus fluoroforus.

Piedāvātajā [97] metodē izmanto mehēmīta NDs ar pozitīvi lādētu virsmu. *Sahoo* un līdz. [96] raksta par fluorescējošām magnētiskām nanodaļiņām, kuru sintēzē izmanto mehēmīta NDs, kas pārklātas ar citrātjoniem. γ -Fe₂O₃ nanodaļiņas, kas pārklātas ar citrātjoniem, apstrādā ar EDK · HCl 25 mM 2-*N*-morfolīnetānsulfonskābes bufera šķīdumā (MES), vēlāk pievienojot rodamīnu B un kratot 4 stundas. Šī procesa rezultātā iegūtas fluorescējošās nanodaļiņas tika vairākas reizes mazgātas ar sonifikāciju un centrifugētas, lai atdalītu nepiesaistīto rodamīnu.

1.4. Mīkstie materiāli

Dažādu veidu nanosistēmu pielietojums mērķtiecīgam vielu transportam [99] un citiem biomedicīniskiem mērķiem tiek pētīts jau vairākas desmitgades [100]. Liposomas veido lielu daļu no materiāliem, kas tiek pielietoti magnētisko nanosistēmu veidošanai. Liposomu membrānu sastāvs ir līdzīgs šūnu membrānām, un tās var ķīmiski modificēt specifiskiem mērķiem [99, 101]. Dažas virsmas aktīvās vielas var imitēt bioloģiskas membrānas. Tāpēc virsmas aktīvās vielas ūdens vidē ir svarīgs modelis biomembrānu pētīšanai. Ķīmijā attīstās jauns virziens – tā saucamā mimētiskā ķīmija, kas veido biomembrānu modeļus, pēta to struktūru un darbības mehānismus *in vivo* un *in vitro* [102].

1.4.1. Lipīdi un citas virsmas aktīvas vielas (lipidomimētiķi)

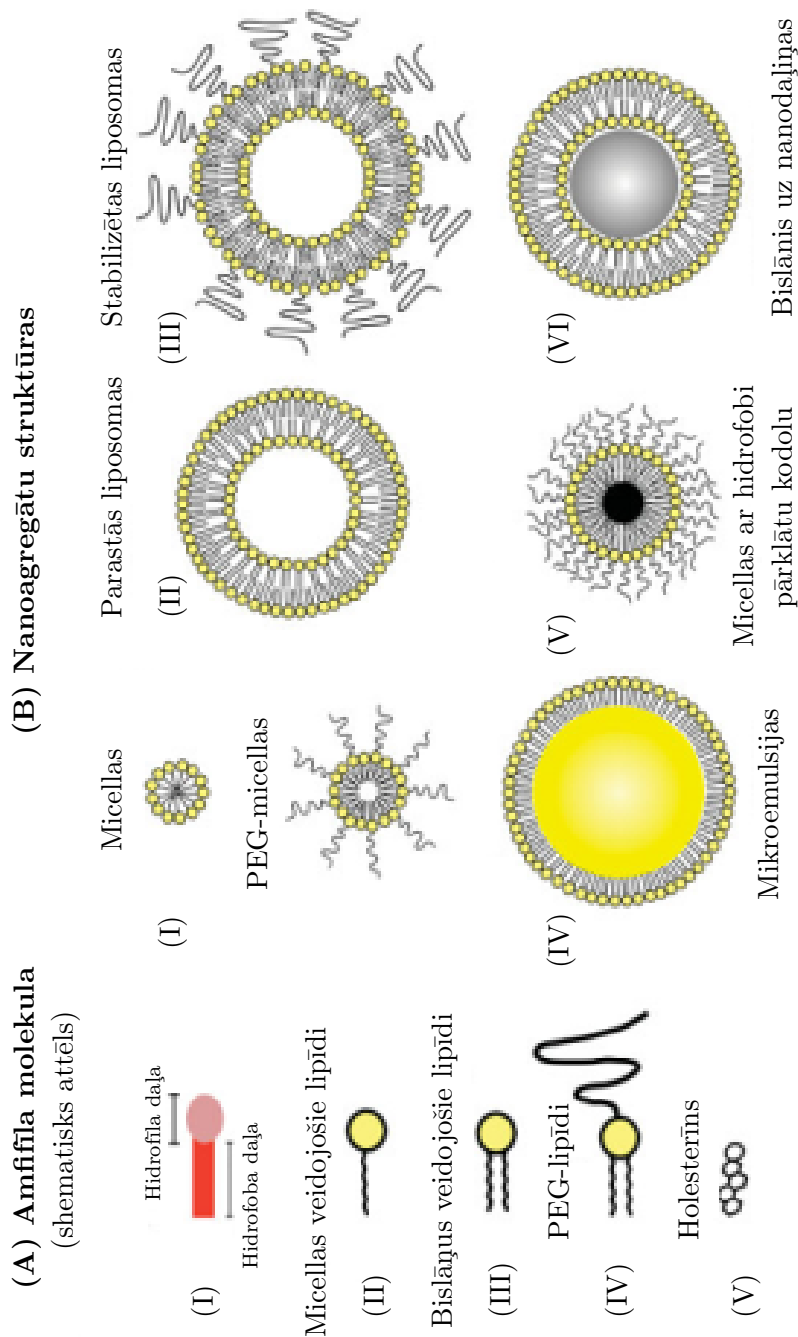
Lipīdi ir viena no savienojumu pamatklasēm, kura visbiežāk sastopama dzīvības procesos. **Fosfolipīdi** ir bioloģiskās membrānas galvenās sastāvdaļas, veidojot bislāņu membrānas. Pie lipīdiem, kam ir īpaša nozīme cilvēka organismā, pieder sterīni, piemērām, holesterīns, fosfolipīdi u.c. [103].

Amfifilas molekulas struktūra tiek veidota no hidrofobas un hidrofilas ("polārā galva") daļas. Pateicoties šīm duālajām īpašībām, amfifili savienojumi darbojas kā virsmas aktīvas vielas, samazinot šķīdinātāja virsmas spraigumu, bet, sasniedzot noteiktu koncentrāciju, kuru dēvē par kritisko micellu koncentrāciju un kas ir atkarīga no **savienojumu struktūras**, tie sāk pašasociēties, veidojot dažādus nanoagregātus:

- micellas (sfēriski un pavedienuveida veidojumi, kurās monomēra polārā daļa veido micellas ārējo virsmu, bet lipofilā daļa aizpilda tās centru),
- liposomas (sfēriski veidojumi ar ieslēgumu tās centrā, kuru no apkārtējās vides norobežo membrāna, kas ir analoga šūnas membrānai. Membrānu veido lipīdu bislānis, kurā lipofilās daļas atrodas viena pret otru, bet polārā daļa veido liposomas ārējo un iekšējo virsmu),
- lipīdu bislāņi (lamelas). Vidējais lamelas biezums (viens bislānis) ūdens fāzē ir 4 nm [104] un organiskajā fāzē 10–40 nm diapazonā [39],
- daudzlamelāras (daudzslāņainas) liposomas (bislāņu daudzums katrā vezikulā var būt mainīgs),
- oligovezikulāras liposomas (vienā lielākā vezikulā iekļautas nelielas vezikulas).

Šo nanoagregātu dažādība un amfifila struktūras ietekme uz izveidoto lipīdu agregātu veidu ir parādīta 1.7. attēlā [100].

Liposomas var raksturot ar to izmēru, ar bislāņu daudzumu un to virsmas lādiņu. Atkarībā no virsmas lādiņa zīmes, liposomas var klasificēt – anjonās, katjonās un neitrālās [102]. Liposomas virsmas lādiņu veido amfifils polārās daļas lādiņš, bet hidrofobo daļu parasti veido garas alkilķēdes. Hidrofilajā daļā ietilpst viena no šādām kategorijām:



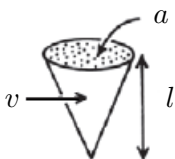

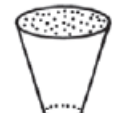
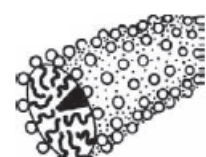

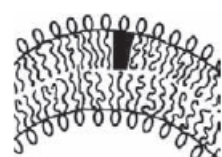
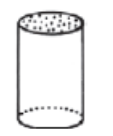
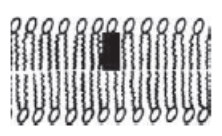
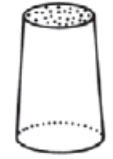
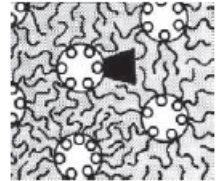
1.7. att.: (A) Amfifilu lipīdu veidoto nanoagregātu shematiskais attēlojums. (I) amfifili sastāv no hidrofilas daļas un hidrofobas daļas; (II) micellas veidojošie lipīdi, kam ir samērā liela hidrofilā daļa, salīdzinot ar hidrofobo daļu; (III) bislāņus veidojošie lipīdi, kuriem parasti ir divas hidrofobās vienības; (IV) PEG-lipīdi, ko izmanto, ja vajag uzlabot farmakokinētiskās īpašības; (V) holesterīns, kas tiek izmantots liposomu stabilizācijai. (B) Iespējamie lipīdu agregāti *in vivo* izmantošanai. (I) micellas var izveidot no micellas veidojošiem lipīdiem un no PEG-lipīdiem; (II) parastās liposomas, kuras veido fosfolipīdu bislāņi; (III) stabilizētās liposomas, kuras var iegūt, iekļaujot PEG-lipīdu un holesterīnu; (IV) mikroemulsiju veido eļļas pilieni, kas stabilizēti ar amfifila veidotu monoslāni; (V) micellas var saturēt hidrofobu nanodaļiņu; (VI) bislānis uz nanodaļiņas (silīcijs, vizla, stikls vai dzelzs oksīds) [100].

- lādētas grupas: **anjoni** – karboksilāti; sulfāti; sulfonāti; fosfāti un **katjoni** – piemēram, amonija joni;
- polāras, lādiņu nesaturošas grupas, piemēram, spirti, amīni un oligoetilēnglikols u.c.

Asociātu struktūras ir atkarīgas no savienojumu uzbūves, polārās un lipofīlās molekulas daļas attiecības, ko raksturo ar pakošanās parametru p un apraksta vispārīgā veidā Izraelašvili vienādojums [105]:

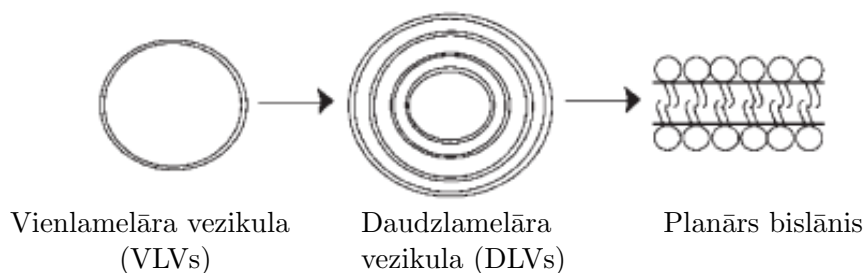
$$p = \frac{v}{al},$$

kur l – hidroforās alkilķēdes garums; v – tilpums, ko aizņem molekulas hidroforā daļa; a – molekulas polārās daļas šķērsriezuma laukums. Virsmās aktīvās vielas ģeometrisko parametru ietekme uz veidoto asociātu formu parādīta 1.8. attēlā.

Lipīds	Pakošanās parametrs (p)	Pakošanas forma	Gaidāmā asociātu struktūra
Lipīds ar vienu alkilķēdi un lielu polārās daļas šķērsriezuma laukumu	$< 1/3$	 konuss	 sfēriska micella
Lipīds ar vienu alkilķēdi un mazu polārās daļas šķērsriezuma laukumu	$1/3 - 1/2$	 nošķelts konuss	 pavediņveida micella
Lipīds ar divām lokanām alkilķēdēm un lielu polārās daļas šķērsriezuma laukumu	$1/2 - 1$	 nošķelts konuss	 lokans bislānis, vezikula
Lipīds ar divām alkilķēdēm un mazu polārās daļas šķērsriezuma laukumu	≈ 1	 cilindrs	 plakans bislānis
Lipīds ar divām alkilķēdēm un mazu polārās daļas šķērsriezuma laukumu	> 1	 apgriezts nošķelts konuss vai ķīlis	 apgrieztas micellas

1.8. att.: Pakošanās parametru (p) lielumi, pakošanās formas shematisks attēlojums. Lipīda uzbūves un pakošanās parametra ietekme uz gaidāmā asociāta formu [106].

Zināms, ka virsmas aktīvās vielas koncentrācijas palielinājums stimulē daudzlamelāru vezikulu veidošanos [102, 107]. Bislāņus veidojošām amfifilu sistēmām ir raksturīgi, ka ar koncentrācijas palielinājumu ir iespējamās strukturālas izmaiņas, kā parādīts 1.9. attēlā.



1.9. att.: **Vezikulu struktūras atkarība no lipīda (virsmas aktīvās vielas) koncentrācijas, pārejas shēma [102, 108].**

Vezikulu izmērs un tā sadalījums ir atkarīgs ne tikai no virsmas aktīvās vielas koncentrācijas un struktūras, bet arī no disperģējošās fāzes, piemēram, sāļu koncentrācijas, temperatūras, kā arī no iegūšanas veida. Membrānas biezums vairāk vai mazāk ir konstants, bet bislāņu daudzums katras vezikulas sastāvā var būt mainīgs: no viena līdz pat simtiem [107]. Lipīdi, nonākot ūdens vidē, agregējas, veidojot dažāda veida struktūras, pārsvarā daudzlamelāras [102]. Vienlamelāru vezikulu (VLVs) iegūšanai pielieto dažādas metodes:

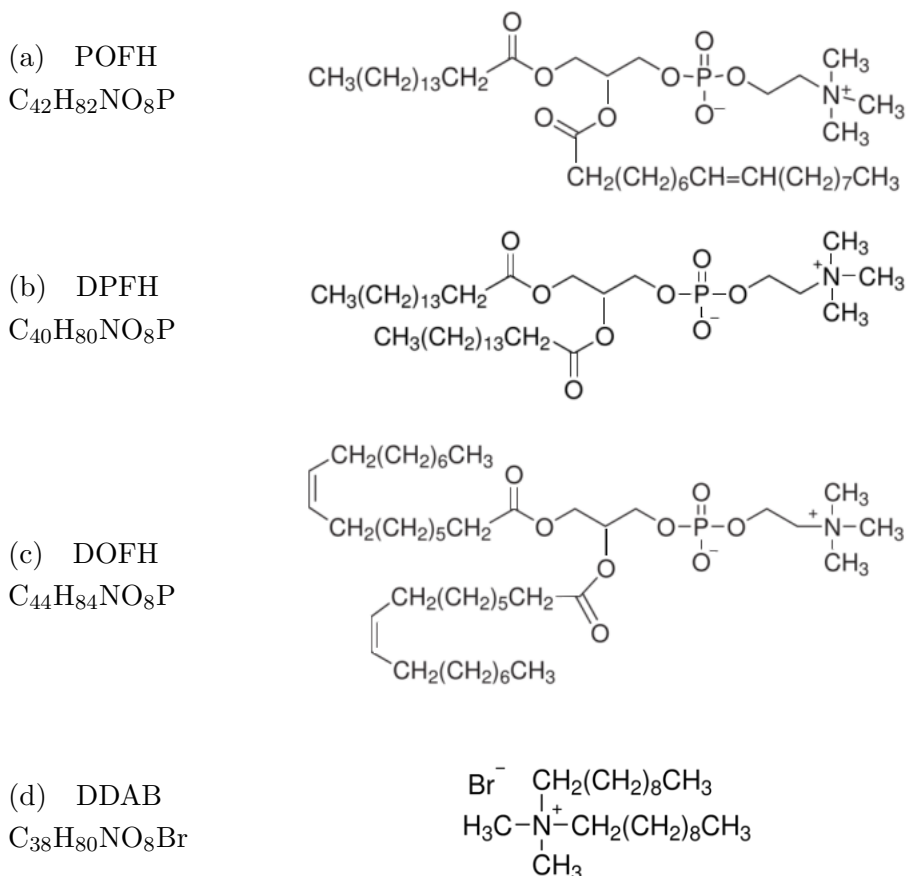
- sonifikācija (apstrāde ar ultraskaņu);
- apgrieztās fāzes iztvaicēšana no organiskā šķīdinātāja;
- dialīze vai atšķaidīšana;
- spiediena/mehāniska filtrācija (vai ekstrūzija).

Svarīgi atzīmēt, ka, pieliekot sistēmai ārējo enerģiju, daudzlamelāras vezikulas (DLVs) tiek "izjauktas" par vezikulām ar mazāku izmēru, parasti ar diametru (D), mazāku par $0,5 \mu\text{m}$. Tā, piemēram, sonificējot DLVs dispersijas, var iegūt mazas vienlamelāras vezikulas (MVs) ar $D = 50 \text{ nm}$, tāpat kā ekstrūzijas procesā [104].

Vienlamelāras vezikulas var būt dažādu izmēru: mazas vienlamelāras vezikulas (MVs) $D = 4\text{--}50 \text{ nm}$; lielas vienlamelāras vezikulas (LVVs) $D = 100 \text{ nm}\text{--}20 \mu\text{m}$; un gigantiskas vienlamelāras vezikulas (GVVs) $D > 20 \mu\text{m}$ [102]. Gigantiskās vienlamelāras vezikulas izmanto kā pētīšanas modeļus, pateicoties to milzīgajiem, izmēriem, kurus var novērot optiskajā mikroskopā.

Magnetoliposomu izmantošana mērķtiecīgam zāļu transportam un magnētiskā lauka hipertermijai [3] ir daudzsolis pielietojums vēža ārstēšanai [109]. *Shinkai* [3] norāda, ka starp magnētiskiem oksīdiem, Fe_3O_4 un $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ir vispiemērotākie sava salīdzinoši zemā toksiskuma un tiem piemītošo magnētisko īpašību dēļ. Lipīdu pašorganizējošās īpašības tiek izmantotas [100, 110–112], lai iegūtu magnētiskās nanosistēmas – **magnetoliposomas** – lipīdu vezikulas, kas satur magnētiskas daļiņas (sk. 1.7. att. bislāņus veidojošos lipīdus B(VI) – lipīdus ar iekļautām NDs).

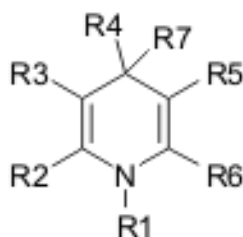
Sintezējot magnētiskas nanosistēmas, parasti kā amfifili savienojumi tiek izmantoti fosfolipīdi, piemēram, 1-palmitoil-2-oleoil-*sn*-glicero-3-fosfatidilholīns (POFH), dipalmitoilfosfatidilholīns (DPFH), 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-fosfatidilholīns (DOFH) utt., citi dabas lipīdi, vai to sintētiskie analogi [99, 104, 113, 114]. Biežāk izmantoto lipīdu formulas ir parādītas 1.10. attēlā. *De Cuiper* [115] pierādīja, ka fosfolipīdi spontāni sakārtojas apkārt magnētiskajam koloīdam, organizējot bislāņu konfigurāciju.



1.10. att.: Liposomas veidojošo vielu struktūrformulas: fosfolipīdi: (a) 1-palmitoil-2-oleoil-*sn*-glicero-3-fosfatidilholīns; (b) dipalmitoilfosfatidilholīns; (c) 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-fosfatidilholīns; citas virsmas aktīvas vielas: (d) didodecildimetilamonija bromīds.

1.4.2. 1,4-Dihidropiridīna atvasinājumi kā lipidomimētiķi un to īpašības

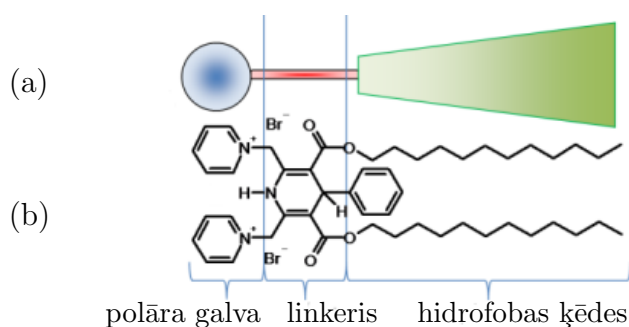
Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo savienojumu un β -diketonu laboratorijā (MAS) nukleotīdu transportam [116] ir sintezēti gēnu transfekcijas aģenti, kuriem par savienotājposmu starp polāro un lipofilo daļām ir izmantots 1,4-dihidropiridīna (1,4-DHP) gredzens. 1,4-DHP atvasinājumiem piemīt farmakoloģisko aktivitāšu daudzveidība, kā atzīmējis *Triggle* [117]. Variējot aizvietotājus 1,4-DHP ciklā (sk. 1.11. att.), pastāv plašas iespējas iegūt dažādus atvasinājumus ar plašu bioloģisko aktivitāšu spektru.



1.11. att.: 1,4-Dihidropiridīna struktūra, parādot iespējamās aizvietotāju variāciju vietas.

Bioloģisko īpašību raksturojums. Īsumā apskatīsim 1,4-DHP atvasinājumu farmakoloģiskās īpašības. Līdz šim detalizētāk ir izpētīta 1,4-DHP darbība uz sirds-asinsvadu sistēmu, piemēram, 1,4-DHP atvasinājumi ir zināmi kā kalcija kanālu blokatori kardiovaskulāro slimību terapijai [118, 119]. 1,4-DHP atvasinājumu vidū ir arī vielas ar neiprotektorām [120], pretvēža [116, 121], antioksidantu [122, 123], antibakteriālām un radioprotektīvām [124], antidiabēta [125, 126] vai multirezistenci noņemošām [127, 128] īpašībām, tādēļ šādi savienojumi ir interesanti kā potenciāli transportmolekulu struktūrelementi, jo tie ar savām īpašībām var pildīt ne tikai transportfunkciju, bet arī kalpot organisma aizsardzībai. Atkarībā no ķīmiskās struktūras, 1,4-dihidropiridīni var būt vai elektronu, vai protonu donori; tiem ir peptīdiem vai lipīdiem līdzīgi struktūras elementi [123].

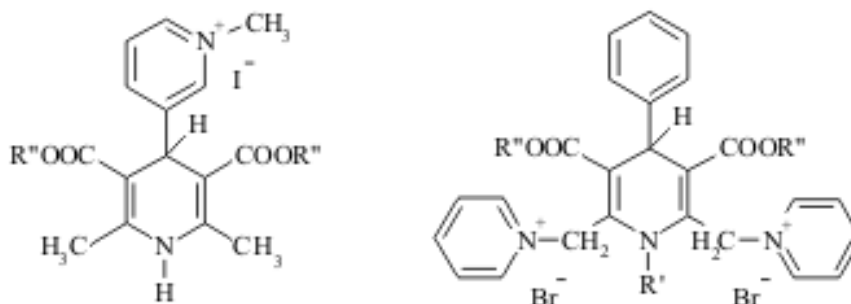
Amfifila 1,4-DHP atvasinājuma (KP-11) raksturojums. Veicot pētījumus par gēnu transfekcijas aģentu struktūras-aktivitātes sakarībām, tika noskaidrots, ka 1,1'-[3,5-di(dodeciloksikarbonil)-4-fenil-1,4-dihidropiridīn-2,6-diil]dimetilēn-bispiridīnija dibromīds (KP-11) (sk. 1.12. att.) ir aktīvāks par komerciāli pieejamajiem gēnu transfekcijas aģentiem, piemēram, katjono lipīdu N-(1-(2,3-dioleoiloksi)propil)-N,N,N-trimetilamonija metilsulfātu (DOTAS) un katjono polimēru polietilēnimīnu (PEI 25) (25 kDa).



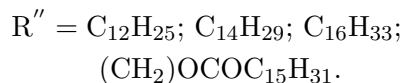
1.12. att.: (a) Katjona lipīda vispārējā struktūra [129]; (b) Katjonais amfifilais 1,4-dihidropiridīna atvasinājums – 1,1'-3,5-di(dodeciloksikarbonil)-4-fenil-1,4-dihidropiridīn-2,6-diil]dimetilēn-bispiridīnija dibromīds (KP-11) [130].

Transfekcijas aktivitāte tika noteikta kā savienojumu spēja pārnest β -galaktozidāzes plazmīdu pērtiķa fibroblastu šūnu līnijā (CV1-P) [116, 131]. Pētītā amfifilā 1,4-DHP atvasinājuma molekulā ir variēts katjono fragmentu skaits un alkilaizvietotāju skaits un garums molekulā [131]. Starp pētīto savienojumu struktūras variācijām tika atrasts, ka vi-

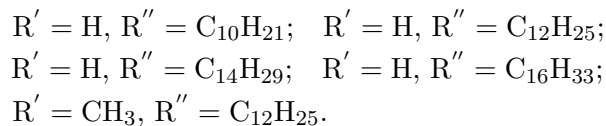
saugstākā gēnu transfekcijas aktivitāte ir 1,4-DHP 3,5-karbonskābes bisdodecildiesterim. Tāpat molekulā ir nepieciešami divi katjonie centri, tādiem 1,4-DHP atvasinājumiem ir augstāka transfekcijas aktivitāte nekā monokatjonus aizvietotājus saturošām molekulām (sk. 1.13. att.). Parādīts, ka šādi savienojumi veido nanodaļiņas, tiem piemīt buferkapacitāte fizioloģiskajā pH 6–8 apgabalā, kā arī noteikti lipopleksu⁸ izmēri, parādot, ka tie ir 50–120 nm [131].



Sav. grupa ar vienu katjono centru



Sav. grupa ar diviem katjonajiem centriem



1.13. att.: Gēnu transfekcijas eksperimentos (β -galaktozidāzes plazmīdu pārnese pērtiķa fibroblastu šūnu līnijā (CV1-P)) pētīto savienojumu struktūras [131].

Veicot turpmākos pētījumus par struktūras-aktivitātes sakarībām, variējot molekulas katjono daļu, tika parādīts, ka neaizvietota piridīnija gadījumā saglabājas visaugstākā gēnu transfekcijas aktivitāte [130, 132].

Lai savienojums varētu tikt izmantots biomedicīniskajos pētījumos, svarīgi noskaidrot savienojumu kompleksu citotoksicitāti. Savā darbā Pajuste un līdz. [130] pierādīja, ka savienojumu lipopleksi, tai skaitā arī KP-11/DNS komplekss, aktīvajās koncentrācijās nav citotoksiski. Tādējādi šādi katjonie amfifili 1,4-dihidriopiridīna atvasinājumi varētu tikt intensīvi pētīti arī magnētisko nanosistēmu veidošanā, tāpēc magnetoliposomu pētījumiem tika izvēlēts aktīvākais no visiem literatūrā aprakstītajiem gēnu transfekcijas aģentiem 1,4-DHP amfifilu rindā – savienojums KP-11.

⁸Kompleksi no katjonā lipīda un DNS

1.5. Magnētisku liposomu iegūšana

Eksistē dažādi liposomālu magnētisko sistēmu veidi, kuras satur magnētiskās daļiņas. *Laurent* un līdz. [21] savā apskatā atzīmē, ka literatūrā ir aprakstīti divi magnetoliposomu (MLs) veidi:

- mazas liposomas, kas sastāv no nanodaļiņām, kas stabilizētas ar fosfolipīda bislāni bez iekšējā ūdens komponenta (lipodaļiņas) ar diametru apmēram 30 nm,
- fosfolipīda vezikulas ar iekapsulētu magnētisku šķidrumu (magnetoliposomas).

Tām piemīt īpašības, kas balstās uz amfifilas molekulas raksturojošām īpašībām – spontāna liposomu veidošanās ūdens vidē. Magnetoliposomu veidošanai ļoti svarīga ir temperatūra, komponentu koncentrācija un to savstarpējās attiecības šķīdumā [99]. *De Cuyper* un līdz. izstrādājuši sintēzes procesu, lai iegūtu pirmā veida magnetoliposomas (MLs) – lipodaļiņas, kas satur vezikulā 1–6 dzelzs oksīda kristālus [115, 133]. Zinātnieku grupa *De Cuyper* vadībā novēroja, ka dažāda veida fosfolipīdi (dipentadekanoil-, dipalmitoil-, distearoilfosfatidilglicerīni u.c.) adsorbējas uz magnētiskām cietām daļiņām (piemēram, Fe_3O_4), veidojot magnetoliposomas [134]. MLs tika pagatavotas, dializējot maisījumu, kura sastāvā bija mazas vienlamelāras vezikulas ar diametru 30 nm (MVs), iepriekš pagatavotas ar sonifikācijas metodi, un dzelzs oksīda daļiņas, kas ir pārklātas ar laurīnskābi ($\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$) 37°C temperatūrā. Šajā procesā uz NDs virsmas adsorbētās laurīnskābes molekulas apmainās ar fosfolipīdu molekulām. Līdz ar to svarīgs šajā procesā ir dialīzes ātrums. Šādi iegūtas magnētiskās liposomas tika PEG-ilētas, lai pagarinātu to dzīves laiku organismā (asins sistēmā). Neadsorbētie fosfolipīdi tika atdalīti no liposomām ar magnetoforēzi augsta gradienta magnētiskajā laukā [115].

Mūs vairāk interesē otrā tipa magnetoliposomu (ar iekļautu ferošķidrumu) iegūšana. Kā savā darbā ir atzīmējis *Giri* [109], pirmoreiz magnetoliposomas ieguva *Kiwada* 1986. gadā, ieslēdzot magnetītu liposomās ar diametru 1,54 μm . Šim nolūkam tika izmantotas magnetīta nanodaļiņas, kas stabilizētas ar fosfatidilholīnu. Magnētiskās vezikulas (magnetoliposomas) var tikt iegūtas arī, izmantojot citas metodes: ar lipīdu plēves hidratāciju [135], pēc kuras seko ekstrūzija caur dažāda diametra polikarbonāta membrānām [136], ar sonifikāciju [104, 109], apgrieztas fāzes ietvaicēšanu [99, 111, 113, 137].

Magnētiskās liposomas tiek atdalītas no tukšajām liposomām, izmantojot augstgradienta magnētisko lauku. *De Cuyper* un līdz. [114] apraksta MLs iegūšanu (magnetoliposomas veidojas, maisot magnētisko šķidrumu ar sonificētām aktīvām vielām) un frakcionēšanu ar magnetoforēzi.

Lai attīrītu liposomu dispersiju no neiekļautām NDs, var tikt izmantotas sekojošas metodes [21]: centrifugēšana, magnētiskā separācija vai ekstrūzija. *Lesieur* un līdz. [136] piedāvāja GEH kā efektīvu metodi monodispersu magnētisku vezikulu ($D = 195$ nm) attīrīšanai, kas novērš dispersijas atšķaidīšanu un nodrošina magnetoliposomu tīrību [138].

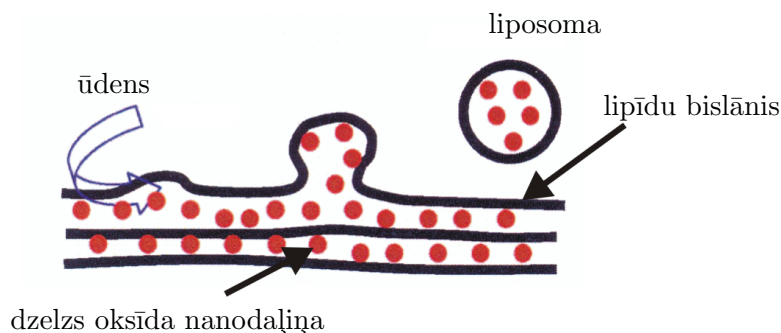
Apkopojot literatūras datus par liposomu iegūšanas metodēm, varam tās sadalīt divās daļās:

- sonifikācija vai magnētiskā šķidrums iemaisīšana kādā organiskajā materiālā (lipīdi), līdz plēvītes iegūšanai un tālākai apstrādei, lai atdalītu magnetoliposomas no tukšā materiāla;
- dubultslāņa metodes.

1.5.1. Spontānās piebriešanas (hidratācijas) metode

Walde un līdz. [104] atzīmēja, ka vēsturiski vienu no pirmajām GVV's iegūšanas metodēm aprakstīja *Reeves* un *Dowbek* 1969. gadā. Tā bija olu dzeltenuma fosfatidilholīna plānas plēvītes hidratācija. Lipīda plēvīte 2 vai ilgāk stundas piebrieda, kā rezultātā veidojas gigantiskas vezikulas. Ja GVV's veidošana sākas no amfifila plēvītes veidošanās uz cietas virsmas, iegūstot plēvīti, lipīdi tiek sakārtoti (organizēti) bislāņos [139]. Pievienojot ūdeni, pirmkārt, notiek hidrofilās daļas hidratācija ar sekojošu bislāņu piebriešanu, jo vairāk un vairāk H₂O molekulu iekļūst starp bislāņiem. Process jāveic ļoti piesardzīgi, jo maisījumu mehāniski kratot piebriešanas procesā, veidojas vairāk daudzslāņveidīgas vezikulas [104]. Tas ir viens no šī procesa trūkumiem, ja ir vajadzīgs iegūt vienzlāņveidīgas vezikulas. Priekšrocība ir tāda, ka process neprasa speciālu aprīkojumu un ir vienkāršs.

Spontānās piebriešanas (SpPi) metode ir veiksmīgi izmantojama, lai iegūtu GVV's no paraugiem, kas satur lipīdus. Turklāt, ir svarīgi atzīmēt, ka hidratācijas process jāveic pie lipīda gels/šķidrums pārejas temperatūras (T_m) [104].

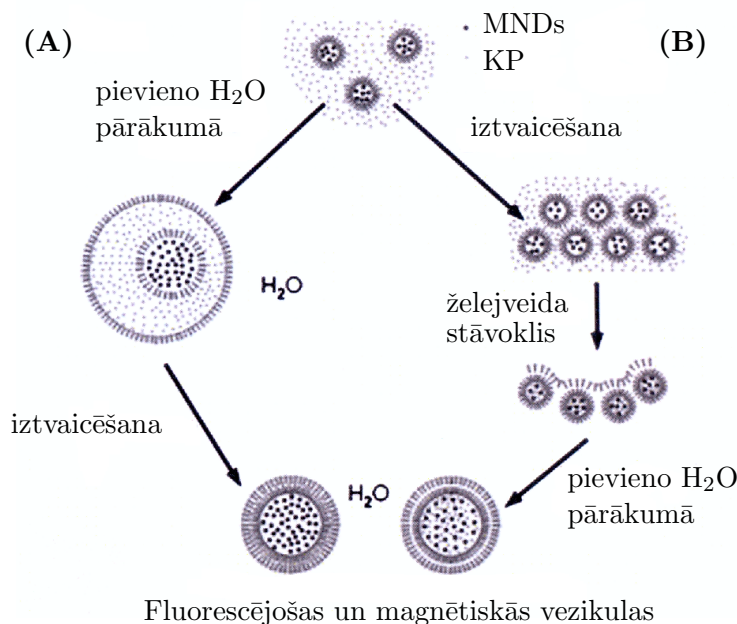


1.14. att.: Magnētisku liposomu iegūšana, izmantojot spontānas piebriešanas (SpPi) metodi [135, 140].

Sandre un līdz. [141] piedāvāja magnētisku liposomu iegūšanu, izmantojot SpPi metodi. Petri trauciņā ievieto sausu 1,2-dioleil-*sn*-glicero-3-fosfolīnu (DOFH) un nelielu hloroforma daudzumu. Pēc hloroforma iztvaikošanas veidojas plāna lipīdu plēvīte, kurā iemaisa ferošķidrumu (FF_{citr}) (γ -Fe₂O₃ NDs pārklātas ar citrātjoniem, pH = 7), līdz oranžas taukainas plēvītes iegūšanai. Plēvītei pievieno H₂O un silda 45°C temperatūrā, līdz plēvīte piebriest un sāk veidoties GVV's, kuras pāriet ūdenī (sk. 1.14. att.). Iegūtās magnētiskās liposomas pēta optiskajā mikroskopā (*Leica* 40x, NA 0,65) pēc 1,5 stundām. Liela daļa no liposomām, kas iegūtas ar šo metodi, ir kvazisfēriskas ar diametru diapazonā no 10 līdz 100 μ m. Liposomu iekšējā daļa ir oranžā krāsā un to membrānas uzrāda termiskas fluktuācijas.

1.5.2. Apgrieztās fāzes ietvaicēšanas un vairāku emulsiju metodes

Literatūrā [99, 111, 115, 137, 138, 142–145] ir aprakstītas tā dēvētās apgrieztās fāzes ietvaicēšanas (AFI) un vairāku emulsiju (VE) metodes. Metodes pēc īstenošanas ir ļoti līdzīgas, atšķiras tikai ūdens pievienošanas kārtība. Šajās metodēs izmanto organiskos šķīdinātājus, kurus vēlāk ietvaicē. Abu metožu shēmas ir parādītas 1.15. attēlā [137].



1.15. att.: Fluorescējošu un magnētisku vezikulu iegūšana, izmantojot: (A) vairāku emulsiju (VE) un, (B) apgrieztās fāzes iztvaicēšanas (AFI) metodes [137]. KP – kvantu punkti, fluorescējošais materiāls; MNDs – magnētiskās nanodaļiņas.

Ménager un līdz. [144] piedāvāja metodes, ar kuru palīdzību var iegūt vidēja izmēra ($0,1\text{--}1\ \mu\text{m}$) magnētiskas vezikulas, kas satur magnētisku šķidrumu ar ievērojamu magnētisko nanodaļiņu (MNDs) daudzumu tilpumā. Membrānu bislāni veidoja didodecildimetilamonija bromīds (DDAB) – katjontipa sintētiska virsmas aktīva viela. Izmantojot DDAB, iegūto vezikulu membrāna slikti padodas deformācijai, un liela daļa no tām ir daudzslāņainas [144]. Izmantojot vairāku emulsiju metodi un DOFH kā membrānveidojošo vielu, var iegūt gigantiskas magnētiskas vezikulas (ar diametru no 10 līdz $40\ \mu\text{m}$) [145]. Dažas no tām parādīja membrānu termiskās fluktuācijas un deformāciju magnētiskā laukā. Abos gadījumos, kā ar DOFH, tā arī ar DDAB tika izmantots magnētiskais šķidrums, kas saturēja anjonas nanodaļiņas ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, pārklātas ar citrātjoniem).

Vairāku emulsiju metodes shēma (sk. 1.15. (A) att.): Lipīdu šķīdina organiskajā šķīdinātājā (hloroforms), pie tā piejauc dietilēteri. Šajā maisījumā ievada magnētisko šķidrumu ūdens vidē. Maisījums tiek sonificēts, kamēr veidojas emulsija. Emulsiju (apjoms apm. $1\ \text{ml}$) ļoti lēni ievada ūdenī (apm. $15\ \text{ml}$). Maisījumu ievieto kolbā. Kolbu ievieto ūdens vannā, kur $45\text{--}50^\circ\text{C}$ temperatūrā notiek organiskā šķīdinātāja iztvaicēšana N_2 atmosfērā, nepārtraukti maisot. Organisko šķīdinātāju ietvaicē, līdz šķīdums kļūst dzidrs (aptuveni 30 minūšu laikā) [144].

Apgrieztās fāzes ietvaicēšanas shēma (sk. 1.15. (B) att.): Lipīdu šķīdina organiskajā šķīdinātājā (hloroforms), piejauc dietilēteri. Šajā šķīdumā ievada magnētisko šķidrums ūdens vidē. Maisījumu sonificē, kamēr veidojas emulsija. Iegūtā emulsija tiek ievietota apaļkolbā, un rotācijas ietvaicētājā notiek emulsijas organiskā šķīdinātāja ietvaicēšana, līdz iegūst želejveida maisījumu, kad lielākā šķīdinātāja daļa ir ietvaicēta [113]. Tad pakāpeniski (5–10 min. laikā) tas tālāk kļūst par suspensiju ūdenī. Pie iegūtās suspensijas pievieno nelielu ūdens daudzumu. Šķīdinātāja ietvaicēšana un H₂O pievienošana izsauc liposomu (vezikulu) veidošanos, kuras satur magnētiskās nanodaļiņas.

Garsia-Jimeno un līdz. [146] liposomu iegūšanai izmantoja modificēto AFI metodi, lai iegūtu fosfolipīda plēvīti. Fosfolipīdu šķīdina hloroforma/metanola (attiecībā 2:1) maisījumā. Process notiek 40°C temperatūrā pie pazemināta spiediena. Plēvīte tālāk tika hidratēta, izmantojot maisījumu, kas satur ēteri un nanodaļiņas (*FerroTec Corp.*) fizioloģiskajā šķīdumā (0,16 mol/l NaCl ūdenī). Šis maisījums tika sonificēts 5 min. 0°C temperatūrā. Organiskais šķīdinātājs tika ietvaicēts ar rotācijas ietvaicētāju pie 420–440 mm Hg spiediena istabas temperatūrā. Emulsija pārvērtās gelā un tālāk transformējas par liposomu suspensiju. Liposomas tika atšķaidītas ar fizioloģisko šķīdumu. Tālāk liposomas ekstrudēja caur polikarbonāta membrānas filtru ar 0,2 μm poru izmēru vismaz 9 reizes. Dažās publikācijās [142, 143] ir aprakstīts, kā no plēvītes, ko iegūst N₂ atmosfērā, veidojas liposomas, kuras ar ekstrudēšanu caur polikarbonātu filtriem tiek vienādotas un nesaistītās MNDs tālāk tiek atdalītas ar gela hromatogrāfiju. Dialīzē atdala neiekļauto MNDs no liposomām [110].

Beaune un līdz. [137] sintezēja hibrīdvezikulas (HVs)⁹, izmantojot AFI un VE metodes. Abi procesi sākas no ūdens-organiskās fāzes emulsijas, kurā bija disperģēti kvantu punkti (KP) (piemēram, CdSe/ZnS daļiņas)¹⁰, kas pārklātas ar tri-*n*-oktilfosfīna oksīdu (TOFO) un mehēmīta nanodaļiņas, pārklātas ar citrātjoniem. FF dispersijā vides pH = 7. KP ir fluorescējošas daļiņas. VE procesā starpstadija ir emulsijas veidošana, bet AFI procesam – starpstadija ir gela veidošana. Kā aktīvās vielas tika izmantotas gan DDAB, gan arī DOFH. Iegūtajām hibrīdvezikulām (HVs) bija magnētiskas un fluorescentas īpašības. Diametrs iegūtajām vezikulām ir diapazonā no 0,1 līdz 10 μm.

HVs iegūšana ar AFI metodi: Šķīdums ar KP daļiņām, kas suspendētas cikloheksānā, tika sajaukts ar virsmas aktīvu vielu (DOFH vai DDAB). Tad pievienoja magnētisko šķidrums ar mehēmīta nanodaļiņām. Jāatzīmē, ka, izmantojot AFI metodi, ūdens/eļļas emulsija tika iegūta pēc 2 min. sonifikācijas vannā un cikloheksāns ietvaicēts, izmantojot rotācijas ietvaicētāju. Iegūtā plānā plēvīte tika disperģēta ūdenī, iegūstot vezikulas.

HVs iegūšana ar vairāku emulsiju metodi: Organiskā fāze KP daļiņu šķīdums, kas suspendēts cikloheksānā; DDAB tika šķīdināts šajā fāzē. Magnētiskais šķidrums ti-

⁹Hibrīdvezikulas ir vezikulas, kuras satur ne tikai magnētisko šķidrums, bet arī kvantu punktus. Tās varētu būt kā vienlamelāras, tā daudzlamelāras, kas ir atkarīgs no izvēlētajās iegūšanas metodes.

¹⁰Nanodaļiņas ar izteikti diskrētām elektronu līmeņu enerģiju sistēmām bieži sauc par "kvantu punktiem" vai par "mākslīgajiem atomiem" (parasti to sastāvs ir kā tipiskiem pusvadītāju materiāliem [14]).

ka pievienots organiskajai fāzei istabas temperatūrā un emulsija tika iegūta, izmantojot maisītāju (20 s). Emulsiju ļoti ātri ievadīja ūdenī, tad cikloheksānu iztvaicēja 45–50°C temperatūrā slāpekļa plūsmā 30 minūšu laikā.

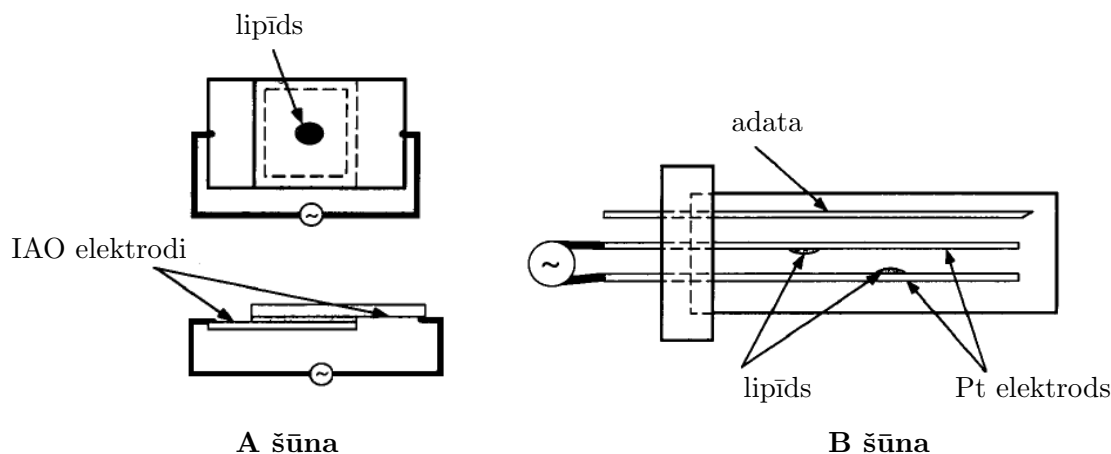
Autori [137], analizējot HVs fluorescentās mikroskopijas attēlu, noskaidroja, kā atšķiras fluorescence hibrīdās vezikulās, kas pagatavotas ar VE un AFI metodēm. Fluorescence ļauj kontrolēt KP lokalizāciju. Ja HVs iegūtas ar vairāku emulsiju metodi, to fluorescence tika novērota membrānu līmenī (uz membrānas un membrānu iekšienē); kad vezikulas tika iegūtas ar apgrieztās fāzes ietvaicēšanas metodi, tad notiek KP un NDs kopēja iekapsulēšana vezikulu iekšējā ūdens tilpumā (sk. 1.15. att.). Autori arī atzīmēja [137], ka fluorescējošām KP daļiņām piemīt tāda parādība kā fotodegradēšanās, kas ir atkarīga no apkārtējās vides īpašībām. Atkarībā no šķīdinātāja, piemēram ēteris/cikloheksāns, KP fotodegradēšanās notiek dažu minūšu laikā. Iekapsulējot KP vezikulā, autori fluorescētājā mikroskopā novēroja, ka HVs ir ļoti spilgtas un fotodegradēšanās efekts parādās tikai pēc dažām stundām.

1.5.3. Elektroformācijas metode

Ar elektroformācijas metodi galvenokārt iegūst gigantiskas vezikulas (liposomas), kas savu izmēru dēļ (5-200 μm) ir lieliska modeļu sistēma fizikāliem un biofizikāliem pētījumiem [147]. Gigantisko vienlamelāro vezikulu izmērs ir tuvs dzīvas šūnas izmēram, atsevišķas vezikulas var tikt apskatītas optiskajā mikroskopā [148]. Gigantisko vezikulu (liposomu) pētījumi saistīti [149] arī ar:

- membrānu izmantošanu šķīdumu osmotiskā spiediena mērījumiem;
- membrānu liekuma un elastīguma noteikšanu dažādos apstākļos;
- lipīda membrānu un virsmu dažādu mijiedarbību pētīšanu utt.

Lai izveidotu GVV, var izmantot arī liposomu elektroformācijas metodi [147–151]. Tās priekšrocības: liposomu izmēru homogenitāte, liposomu kvalitāte un iegūšanas ātrums (elektriskā lauka izmantošana paātrina GVV izveidošanu), kas ir nozīmīgi darbā ar biomolekulām. Ir aprakstīta [147, 152] sekojoša GVV elektroizveidošanas metode: gatavo lipīdu suspensiju, kuras sastāvā var atrasties gan lielas vienlamelāras vezikulas (LVVs), gan mazas vienlamelāras vezikulas (MVVs), kuras iepriekš gatavo ar tādām metodēm kā ekstrūzija – lipīda filtrācija caur noteikta izmēra membrānas filtriem un rotācijas ietvaicēšana. Šī svaigi pagatavotā emulsija (lipīda šķīdums $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$) tiek ievietota elektroformācijas šūnā kā viens punkts uz IAO stikliņa (stikliņš pārklāts ar indija-alvas oksīdu ($\text{In}_2\text{O}_3 : \text{SnO}_2$) – elektrovadošais slānis) (sk. 1.16. att. (A šūna) shēma), jeb uz Pt elektrodiem (stieples $D = 0,8 \text{ mm}$) 4–6 vietās visā garumā (sk. 1.16. att. (B šūna) shēma). Organiskais šķīdinātājs iztvaiko vakuumā 1 stundas laikā. Pēc šīs procedūras ļoti uzmanīgi un lēni šūnā pievieno ūdeni, lai novērstu lipīdu dispersiju. Un tikai tad izmanto elektrisko lauku ($\sim 10 \text{ Hz}$) un paaugstina spriegumu no 30 mV/mm uz 400 mV/mm 10 minūšu laikā. Pēc 2 stundām veidojas sfēriskas vezikulas. Parasti tās ir "piestiprinātas" pie vada. Dispersiju var "stimulēt" ar zemfrekvenču elektrisko lauku (4 Hz).



1.16. att.: Elektroizveidošanas šūnas skices. **A šūna:** nepieciešama temperatūras regulēšana. IAO elektrods – stiklīņš pārklāts ar indija-alvas oksīdu slāni ($\text{In}_2\text{O}_3 : \text{SnO}_2$). **B šūna:** process notiek istabas temperatūrā [152].

Izmanto divas dažādas eksperimentālas šūnas (1.16. att.) atkarībā no darba attāluma līdz mikroskopa objektīvam. A šūna (iekšējais tilpums $\sim 100\mu\text{l}$) tiek izmantota ar eļļas imersijas objektīva iestatīšanu, kad ir nepieciešama temperatūras kontrole. Eksperimentāla B šūna (iekšējais tilpums $\sim 300\mu\text{l}$) tiek izmantota pie istabas temperatūras, to novērojot ar ūdens imersijas objektīvu. Vezikulu elektroformācijas process sākas, tiklīdz eksperimentālā šūna ir piepildīta ar ūdeni vai vēlamo vidi, lai izvairītos no spontānas piebriešanas. Kopumā GVV's elektroformācija ietver trīs posmus, katrs no tiem tiek kontrolēts ar mainīgu elektrisko lauku [147].

- Process ilgst laiku t un atbilst lauka E ar konstantu frekvences f amplitudas pieaugumu līdz E_{max} : pamazām vezikulas sāk veidoties no lipīda plēvētes, kas bija izgulsnēta uz elektrodiem. Apmēram 20–30 min. laikā GVV's izmērs progresīvi palielinās. Lai kontrolētu šo posmu, elektriskajam laukam jābūt pietiekami spēcīgam, lai saglabātu vezikulu formu tuvu sfēriskai.
- Piebriešanas periods, kura laikā elektriskā lauka parametri (E_{max} un f) ir konstanti. Šis periods ir svarīgs, lai kontrolētu vezikulu izmēru.
- Beigu (atgūšanās) periods. Šajā posmā frekvence tiek samazināta, lai veicinātu vezikulu veidošanās noslēgšanos un turpmāku atdalīšanos no elektrodiem.

Tātad varam teikt, ka elektroformācijas metodi izmanto, kad nepieciešams iegūt gigantiskās vienlamelārās liposomas ar šauru izmēru sadalījumu, jo to veidošanās pamatā ir kontrolēts piebriešanas process.

1.6. Mīkstu materiālu pētīšanas metodes

Lai iegūtu informāciju par mīksto materiālu īpašībām, pielieto dažādas pētīšanas metodes. Tā piemēram, lai iegūtu informāciju par nanodaļiņu inkapsulācijas efektivitāti, inkapsulēto daļiņu skaitu un struktūru, pielieto magnētooptiskās metodes [153]. Hromatogrāfija tika izmantota, lai atdalītu dzelzs nanodaļiņas, kuras nav iekļautas liposomu struktūrās, no magnētiskām liposomām. Lai novērotu un novērtētu mikrometru izmēra liposomu formu un izmēru, izmanto optisko mikroskopiju (pamatmetode). Lipīdu bislāņi neabsorbē gaismu, tāpēc ir nepieciešams fāzu-kontrasta mikroskops [154]. Magnētiskās liposomas (vezikulas) var novērot parastā optiskā mikroskopā (*Leica* 40x NA 0.65), pateicoties iekapsulētā ferošķidrums oranžajai krāsai [140, 155]. Liposomu pētīšanai izmanto arī transmisijas elektronmikroskopiju (TEM) un atomspēku mikroskopiju (ASM).

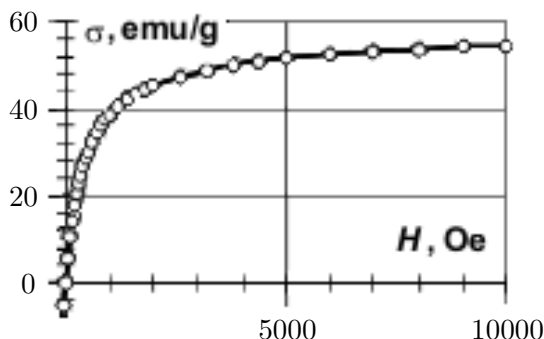
Troutier un līdz. [156] ir apkopojuši un analizējuši fizikālās metodes, ko plaši izmanto mīkstu materiālu pētīšanai un raksturošanai, tās parādītas 1.3. tabulā.

1.3. tabula: **Eksperimentālās metodes lipīdu/magnētisko nanodaļiņu asociātu pētīšanai [156]**

Metodes nosaukums	Informācija
Fluorescentā mikroskopija	Morfoloģija, lipīdu adsorbcija
Konfokālā skanējošā mikroskopija	Morfoloģija, lipīdu adsorbcija, liposomu membrānu caurlaidība
Transmisijas elektronmikroskopija	Morfoloģija
Skānējošā elektronmikroskopija	Morfoloģija
Krioelēktronmikroskopija	Morfoloģija, lipīdu adsorbcija, adsorbcijas mehānisms, lamelaritāte (membrānu struktūra)
Atomspēku mikroskopija	Virsmas topogrāfija
Dinamiskā gaismas izkliedes metode	Vidējais hidrodinamiskais diametrs
Elektroforētiskā gaismas izkliedes metode	Elektroforētiskais kustīgums / ζ -potenciāls
Ekstinkcijas mērījumi	Koloīda stabilitāte
Ramana spektroskopija	Lipīda/daļiņu mijiedarbība
Rentgenstaru fotoelektronu spektroskopija	Virsmas ķīmiskais sastāvs
Plūsmas citometrija	Lipīda adsorbcija/kvantitatīva analīze
Transmembrānu potenciālu mērījumi	Liposomu membrānu biezums
Termogravimetriskā analīze	Lipīdu daudzums
Diferenciālā skanējošā kalorimetrija	Lipīdu fāzu pārejas temperatūra
Fluorescentā depolarizācija	Lipīdu fāzu pārejas temperatūra
Deitērija kodolmagnētiskā rezonanse	Lipīdu garendifūzija, lipīdu membrānu sastāvs
Protonu kodolmagnētiskā rezonanse	Lipīdu agregātu (membrānu) sastāvs
Infrasarkanā spektroskopija	Lipīdu membrānu sastāvs
Fluorescences atgūšana pēc fotobalināšanas	Lipīdu agregātu plūstamība

1.6.1. Magnetizācijas liknes metode

Ferošķidrumu un magnētisko liposomu magnētisko īpašību raksturošanai lieto vibrācijas magnetometru [157], apstrādājot iegūtās magnetizācijas liknes (sk. 1.17. att.), un magnētoforēzi [137].



1.17. att.: Tipiska feromagnētiska šķidruma magnetizācijas likne (σ – magnetizācija uz vienu masas vienību, emu/g).

Magnetizācijas likne atspoguļo magnetizācijas atkarību no magnētiskā laukā. Apstrādājot to, var noteikt būtiskus koloīdu raksturojošus lielumus:

- magnētiska šķidruma piesātinājuma magnetizācija (M_s). Magnētiskā šķidruma magnetizācijas virziens ir vērsts uzliktā lauka virzienā un tā lielums ir vienāds ar magnētisko momentu summu tilpuma vienībā [19];
- paramagnētiska uzņēmība (χ) – fizikālais lielums, kas raksturo vielas magnetizācijas atkarību no magnētiskā lauka;
- koloīdālo daļiņu magnētisko momentu m_i sadalījumu, no kura var aprēķināt koloīdālo daļiņu izmēru sadalījumu, magnētiskā dzelzs oksīda koncentrāciju (mas.%). Daļiņu magnētiskais moments ir pamatfizikāls lielums, kas raksturo vielas magnētiskās īpašības. Jo lielāks ir daļiņas magnētiskais moments, jo mazāks magnētiskais lauks H_s ir nepieciešams piesātinājuma magnetizācijas novērošanai.

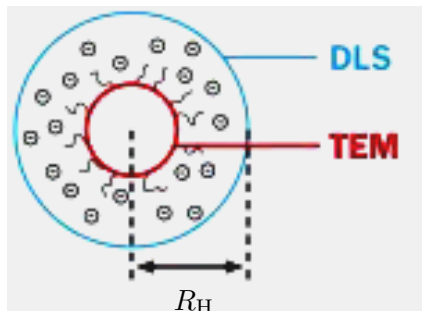
1.6.2. Dinamiskās gaismas izkliedes metode

Lai noteiktu liposomu hidrodinamisko diametru D_H , izmanto dinamiskās gaismas izkliedes (DGI) metodi. Šī metode balstās uz izkliedētās gaismas intensitātes reģistrāciju. Hidrodinamiskais diametrs ir lielāks par diametru, kas mērīts ar transmisijas elektronu mikroskopu (sk. 1.18. att.) [158].

Hidrodinamiskais rādiuss, vai Stoksa rādiuss – objekta izmērs, kuru aprēķina, izejot no pieņēmuma, ka tam piemīt sfēriska forma (lodīte), pēc tā difūzijas koeficienta šķidrumā (D_{dif}).

$$D_{\text{dif}} = \frac{kT}{6\pi\eta R}, \quad (1.1)$$

kur k – Bolcmaņa koeficients, T – temperatūra (K), η – šķidruma viskozitāte, π skaitlis (3,14159), R – lodītes rādiuss. No (1.1) attiecības pēc difūzijas koeficienta aprēķinātais rādiuss ir tā saucamais daļiņas hidrodinamiskais rādiuss.



1.18. att.: Nanodaļiņas hidrodinamiskā diametra izveidošanās attēls. NDs kodola izmērs noteikts ar transmisijas elektronmikroskopu (TEM). R_H – hidrodinamiskais rādiuss, kas ir noteikts ar DGI metodi.

1.6.3. Membrānu mehānisko īpašību noteikšanas metodes

Dabā sastopamās membrānas ir ļoti mīkstas, tādēļ tās fluktuē siltumfluktuācijas rezultātā. Šo fluktuāciju mērījumi ļauj gūt informāciju par membrānu fizikālajām īpašībām. Membrānu mehānisko un reoloģisko¹¹ īpašību noteikšanai tiek izmantotas gigantiskās vienslāņa vezikulas (GVVs). Vezikulas tilpumu var uzskatīt par konstantu, jo tas var mainīties, vienīgi ūdenim filtrējoties cauri membrānai. Bet šis process ir ļoti lēns. Ir divi galvenie iemesli, kāpēc GVVs ir populārākais membrānu mehānisko īpašību pētīšanas objekts:

- vezikulu milzīgais izmērs ļauj tās novērot optiskajā mikroskopā (tipiskais izmērs apm. 10–100 μm). Tā, piemēram, *Méléard* un līdz. [152, 159] novēroja gigantiskas vienlamelāras vezikulas spontānās deformācijas, kuras rodas Brauna kustības rezultātā;
- samērā vieglas iegūšanas metodes [152, 159].

Membrānu sistēmu iespēja izliekties pie nelielas slodzes ir visraksturīgākā mehāniskā īpašība šādu "mīkstu" materiālu raksturošanai; to raksturo liekuma elastības modulis (K_b), kuru ļoti grūti izmērīt tā ļoti nelielās vērtības dēļ (no dažiem kT līdz 100 kT) un kura lielums ir atkarīgs no bislāņa struktūras. Terminu **elastības liekuma modulis** definēja *Helfrich* 1973.g. [160], viņš pirmais novērtēja šo īpašību eritrocītu membrānām, izmantojot siltumfluktuācijas parādības. Ja vezikulas tilpums ir mazāks par maksimālo tilpumu, kāds var būt ķermenim ar doto virsmas laukumu, tad vezikula ir nepiebrīdusi un līdz ar to var fluktuēt. Raksturojot šīs fluktuācijas, var noteikt membrānu liekuma

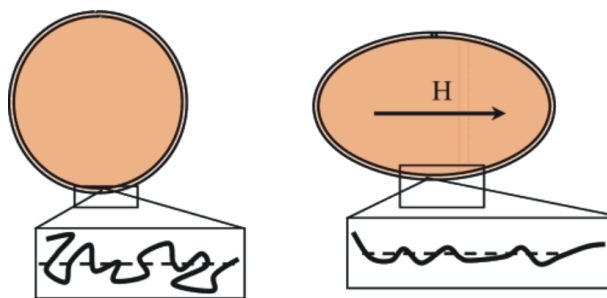
¹¹Reoloģija – materiāla deformācijas un plūstamības pētīšana, iekļaujot elastības, viskozitātes un plastiskās īpašības.

elastību. Eksistē korelācija starp membrānu mehāniskajām īpašībām un molekulu, kuras veido membrānu, struktūru [161, 162].

Membrānu liekuma elastības noteikšanas metodes varam sadalīt četrās kategorijās:

- vizuālā novērošana vezikulām, kuras deformējas termisko fluktuāciju (Brauna kustības) rezultātā [152, 159, 163, 164];
- mehāniskā deformācija kā membrānas atbilde uz mikropipetes aspirāciju; vai deformāciju elektriskajā laukā [154, 166];
- Rentgenstaru difrakcijas signālu analīze lamelārām sistēmām [152];
- pētīšanas objekts – magnētiskās vezikulas. Pētīšanas metode – magnētisko vezikulu metode.

Magnētisko vezikulu metode. *Ménager* un līdz. [155] piedāvāja jaunu metodi bislāņa elastības pētīšanai (magnētisko vezikulu metode). Šī metode balstās uz magnetoliposomu deformācijas (sk. 1.19. att.) mērīšanu homogēnā magnētiskajā laukā. Ievietojot magnētiskas vezikulas magnētiskā laukā, tās deformējas, izstiepjoties magnētiskā lauka spēka līniju virzienā. Tā kā elipsoīda laukums ir lielāks par sfēras laukumu pie dotā ķermeņa tilpuma, tad, vezikulai izstiepjoties, palielinās vezikulas projicētais laukums. Tas notiek tādēļ, ka membrānai pielikto magnētisko spēku dēļ pieaug spriegums membrānā, kas iztaiso membrānas siltumfluktuācijas. Izmantojot šo metodiku un magnetoforēzes metodi, ir iespēja aprēķināt liekuma moduļa vērtības liposomu membrānām [154, 167].



1.19. att.: Magnētisko liposomu no sfēriskas līdz elipsoidālai formai izlīdzināšanās deformācijas magnētiskā lauka iedarbībā [155].

Piemēram, membrānai, kuras sastāvā ir fosfolipīds – 1,2-dioloil-*sn*-glicero-3-fosfatidilholīns (DOFH), molekulas $K_b = 20$ kT [155]. Parādīts, ka elastības moduļa vērtība mainās, kad membrānai, kas veidota no DOFH, ir piemaisīts oktil- β -D-glikopiranozīds (OG). Elastības modulis K_b samazinās līdz dažiem kT. Jo mazāka K_b vērtība, jo mīkstāka membrāna [155]. Tas parāda, ka piemaisījumi ļoti ietekmē K_b vērtību, mainot membrānas elastību. Membrānas elastība ļauj raksturot un izvērtēt membrānas īpašības un potenciālo pielietojumu.

1.7. Materiālu biosavietojamība

Dzelzs oksīda nanodaļiņas pēc atbilstošas virsmas apstrādes (funkcionalizēšanas) plaši izmanto biomedicīnas pētījumos *in vivo*, piemēram, šūnu marķēšanai, lai neinvazīvi vizualizētu marķētas šūnas magnētiskās rezonanses attēlu veidošanai (MRI) pēc transplantācijas, uzlabotu medikamentu efektivitāti, gēnu transfekciju vai izmanto kā instrumentu magnētiskajā hipertermijā vēža ārstēšanai, audu atjaunošanai, magnetofekcijai [6, 168, 169]. Visi šie biomedicīnas un bioinženierijas pielietojumi prasa, lai nanodaļiņām ir augsta magnetizācijas vērtība un to izmērs ir mazāks par 100 nm, pie šaura daļiņu izmēru sadalījuma. Turklāt, ir nepieciešama īpaša magnētisku daļiņu virsmas pārklāšana, daļiņām ir jābūt ne tikai **netoksiskām un bioloģiski saderīgām**, bet arī jāļauj veikt mērķtiecīgs daļiņu transports [6]. Ir zināms, ka dzelzs oksīda daļiņas nav toksiskas, un galu galā sadalās, veidojot asins hemoglobīnu [6]. Tomēr, neskatoties uz sākotnējo pārlicību, ka dzelzs oksīda nanodaļiņām nepiemīt citotoksiskās īpašības, ir pierādīts, ka augstā intracelulārā koncentrācija, kura ir nepieciešama MRI efektivitātei, rada nopietnus draudus šūnu homeostāzei [170]. *Soenen* un līdz. [168] testēja dzelzs oksīda nanodaļiņas ar 4 dažādu veidu pārklājumu:

- (a) nanodaļiņas, pārklātas ar dekstrānu (*Endorem*);
- (b) nanodaļiņas, pārklātas ar karboksīdekstrānu (*Resovist*);
- (c) nanodaļiņas, pārklātas ar lipīdu – katjonas magnetoliposomas (MLs) (3.33% disteairiltrimetilamonija propāns (DSTAP));
- (d) ļoti mazas dzelzs oksīda nanodaļiņas, pārklātas ar citrātu (DONDs/citr).

Izmantojot sistemātiskus pētījumus, tika noteiktas drošas koncentrācijas katram daļiņu tipam, parādot, ka MLs var ievest līdz $67,37 \pm 5.98$ pg Fe/šūnā, bet DONDs/citr. ir vistoksiskākās daļiņas un var sasniegt tikai $18,65 \pm 2,07$ pg Fe/šūnā. Tika parādīts, ka MRI efektīvai vizualizēšanai nepieciešams lietot: (a) līdz 500 šūnas/ μ l marķētas ar dzelzs oksīda nanodaļiņām; (b) tikai 50 šūnas/ μ l marķētas ar MLs, un (c) 200 šūnas/ μ l marķētas ar *Endorem* un *Resovist*. Šie rezultāti parāda, cik svarīgi ir padziļināts citotoksiskās aktivitātes novērtējums šūnu marķēšanas pētījumiem, kā arī pie netoksisko koncentrāciju lielumiem dažas daļiņas šķiet mazāk piemērotas MRI vizualizēšanai marķētas šūnās. Analizējot literatūras datus, varam atzīmēt, ka, neskatoties uz kopējo viedokli, ka dzelzs nanodaļiņas ir it kā netoksiskas un biosavietojamas, dziļāka šo jautājumu pētīšana ļauj iegūt informāciju par drošāko koncentrāciju un daļiņu pārklājumu, kuri ir efektīvi un droši dzīvajiem organismiem un ļauj nodrošināt daļiņu pielietojuma mērķi.

Veselas aknas satur aptuveni 0,2 mg Fe/g, un cilvēka ķermenī kopumā dzelzs depo satur līdz 3500 mg Fe. Dzelzs oksīda daudzums, kas izmantojams diagnostiskiem izmeklējumiem (no 50 līdz 200 mg Fe), ir neliels, salīdzinot ar ķermeņa normālo dzelzs saturu [171]. Hroniska dzelzs toksicitāte attīstās tad, ja dzelzs koncentrācija aknās pārsniedz 4 mg Fe/g [171].

2. nodaļa

EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Pielietotie materiāli un aparatūra

2.1.1. Reaģenti

Magnētisko koloīdu iegūšanai

$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ (*Fluka*), HCl , NH_4OH (*Scharlau Chemie S.A.*), HNO_3 (*Lach:Ner*).

Nanodaļiņu pārklāšanai

Nātrija citrāts (*Lach:Ner*); dekstrāns ar molmasu 100 000 Da (dekstrāns 100), dekstrāns ar molmasu 40 000 Da (dekstrāns 40), karboksimetildekstrāna nātrija sāls ar molmasu 14 400 Da (KM-dekstrāns) (*Sigma-Aldrich*).

Magnētisko nanodaļiņu funkcionalizēšana ar rodamīnu B

Rodamīns B, dimerkaptodzintarskābe (DMSA), cistamīns, tetrametilamonija hidroksīds (TMAH) (*Acros Organics*); 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimīda sāļsskābā sāls ($\text{EDK} \cdot \text{HCl}$) (*Alfa Aesar*); KOH , HCl , NaCl (*Lach:Ner*).

Dzelzs jonu koncentrācijas noteikšanai

5-Sulfosalicilskābe, HNO_3 (*Lach:Ner*); NH_4OH (*Scharlau Chemie S.A.*).

Vezikulu (liposomu) iegūšanai

Hloroforms, dietilēteris (*Lach:Ner*); 1,1'-3,5-di(dodeciloksikarbonil)-4-fenil-1,4-dihidropiridīn-2,6-diil]dimetilēn-bispiridīnija dibromīds (KP-11) – sintezēts OSI Membrānaktīvu savienojumu un β -diketonu laboratorijā, tīrība virs 98%.

2.1.2. Aparatūra

- Svāri KERN ABJ 220-4 *Kern&Sohn GmbH*, maksimālais svēršanas svārs 220 g ($\pm 0,2$ mg), precizitāte 0,0001 g.
- pH-metrs *Sartorius Basic Meter PB-11*, mērdiapazons $0 \div 14$ ($\pm 0,01$), kalibrācijas standarti $\text{pH} = 4$, $\text{pH} = 7$, $\text{pH} = 10$ (*Reagecon*).
- Spektrofotometrs *UviLine 9400 SI Analytix*.
- Ultraskaņas vanna *Sonorex Type RK 100*.
- Rotācijas ietvaicētājs R-210 *Buchi* ar membrānsūkni (*Ilmvac GmbH*), izmanto magnētisku liposomu iegūšanai.
- Centrifuga *Eppendorf 5804*.

- Vibrometrijas magnetometrs *Lake Shore Cryotronics, Inc.*, model 7404 VSM koloīdu magnētisko īpašību noteikšanai, ar atbilstošo programmatūru (software) iegūto magnetizācijas datu apstrādāšanai. Programmatūras autors M.Maiorovs (LU Fizikas institūts).
- Zetasizer Nano S90 aparāts *Malvern Instruments Ltd.* ar oriģinālo programmatūru daļiņu hidrodinamisko parametru noteikšanai.
- Optiskā mikroskopija. Izmanto inversijas mikroskopu Leica DMI13000 B *Leica Microsystems*, objektīvs ar palielinājumu 40x.
- Atomspēku mikroskopija (ASM) (LU Ķīmiskās fizikas institūts). Nanoagregātu struktūras tika pētītas ar atomspēku mikroskopu MFP-3D-BIO *Asylum Research*. Attēlus registrēja Baiba Skrīvele (OSI, MAS).
- Transmisijas elektronmikroskopija. Vezikulu (liposomu un NDs attēlus reģistrēja Dr. habil. biol. V.Ose (Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs) ar transmisijas elektronmikroskopu JEM-1230 *JEOL Ltd.*, ar paātrināto spriegumu 100 kV. (Liposomu suspensijas (iegūtas ar spontānas piebriešanas metodi) adsorbē uz oglekļa-formvar pārklāta Cu režģa un negatīvi iekrāso ar 1% uranilacetāta ūdens šķīdumu. Liposomu suspensiju, kas iegūta ar AFI metodi, nekrāso.
- Magnētisku daļiņu rentgenogrammas ieguva Dr. fiz. A.Mišņovs (Fizikāli organiskās ķīmijas laboratorija, OSI) ar pulverdifraktometru ULTIMA IV *Rigaku, Japāna*. CuK₂ starojums, Ni- filtrs, 40x40 mA, 1,6 kW. *X'Pert HighScore* datu bāze PDF+.
- Mikrokonvekcijas attēlus reģistrēja un rezultātu analizēja Dr. fiz. K.Ērglis un G.Kitenbergs (Teorētiskās fizikas katedras Magnētisko mīkstu materiālu laboratorija (MML), LU FMF), izmantojot mikroskopu, kas aprīkots ar daļiņu attēlu ātrumu mērīšanas (DAAM) iekārtu (*Dantec Dynamics*).
- Termogravimetriskā (TG) un diferenciālā termālā analīze (DTA) tika veikta izmantojot *SHIMADZU DTG-60* instrumentu Ar atmosfērā (plūsma 50 ml/min., Argons 5.0 no *AGA Ltd.*) (Dr. fiz. J.Kleperis, Ūdeņraža enerģētikas materiālu laboratorija, LU Cietvielas fizikas institūts).

2.2. Magnētisko koloīdu iegūšanas un pētīšanas metodes

2.2.1. Skābu magnētisko koloīdu iegūšana

$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ un $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ attiecībā 1/2 šķīdina ūdenī (350 ml). Nepārtraukti kratot 30 min. laikā pievieno pa pilienam 11 M NH_4OH šķīdumu (25 ml). Izgulsnējas anjonas magnetīta (Fe_3O_4) nanodaļiņas. Tās atdala no ūdens fāzes ar magnēta palīdzību un divas reizes skalo ar destilētu ūdeni, kratot 10 min. Pēc skalošanas magnetīta nanodaļiņas atdala ar pastāvīgo magnētu vai centrifugēšanu. Pie atdalītājām nogulsnēm pievieno 2 M HNO_3 (40 ml), kratot 30 min. Lai iegūtu mehēmīta ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) nanodaļiņas, magnetīta nogulsnes oksidē ar 0,34 M $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ šķīdumu, sildot 90°C temperatūrā līdz $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ iegūšanai. Novēro raksturīgu nogulšņu krāsas maiņu – tās paliek brūnas. Magnētisko šķidrums iegūst, atdalītās nogulsnes peptizējot ar ūdeni.

2.2.2. Mehēmīta nanodaļiņu pārklāšana ar citrātjoniem

Nanodaļiņu pārklāšana ar citrātjoniem notiek pēc skāba magnētiska šķidruma (FF_{sk}) iegūšanas. Nepieciešamo FF_{sk} daudzumu ielej glāzē, kas atrodas ūdens vannā, un karsē līdz 90°C , vienlaicīgi maisa un titrē ar 0,5 M nātrija citrāta šķīduma ūdenī. Nanodaļiņu pārklāšana tiek kontrolēta ar pH-metru (*Sartorius Basic Meter* PB-11) līdz nepieciešamā pH iegūšanai. Tad titrēšana tiek pārtraukta. Šķidrums vēl 20–30 min. tiek maisīts. Pēc atdzesēšanas iegūtais ferošķidrums ar $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ /citr NDs tiek centrifugēts 10 min pie 9000 rpm apgriezieniem. Tādā veidā tiek iegūts ferošķidrums ar negatīvi lādētām NDs (FF_{citr}).

2.2.3. Magnētisko nanodaļiņu funkcionalizēšana ar rodamīnu B

17 mg rodamīna B (RhB), 4 mg cistamīna (pH = 3), 7 mg sausa EDK · HCl iemaisa 25 ml ūdens (pH = 3,2). Ar 0,1M KOH regulē kopējo šķīduma pH līdz 5,3. Pie šīs pH vērtības šķīdumu maisa 3 stundas. Tad pievieno 25 mg DMDS un 1,25 ml FF_{sk} . (1M) un vēl maisa 2 stundas pie pH = 3. Maisīšanas laikā jāregulē pH vērtība, lai saglabājas pH=3.

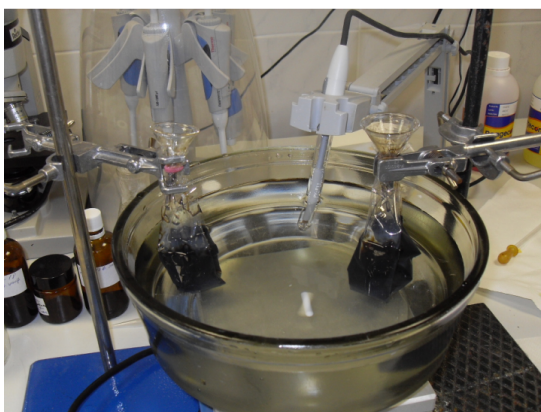
Radušās hibrīda magnētiskās nanodaļiņas ātri atdala ar pastāvīgā magnētā palīdzību. Tās divreiz mazgā ar ūdeni. Tad pievieno 25 ml ūdens. Ar 0,1M TMAH regulē šķīduma pH diapazonā 9–10, maisot vēl 45 min. Šķīdumu neitralizē ar 0,1M HCl līdz pH = 7. Pie iegūtās dispersijas pieliek NaCl (0,1 g NaCl uz katrām dispersijas 10 ml) – notiek flokulācija. Nogulsnes atdala ar pastāvīgo magnētu un redisperģē 25 ml ūdens. Mazgāšanas procedūru (flokulācija, dekantēšana, redisperģēšana) atkārto tikmēr, kamēr virsējais šķidruma slānis nebūs pilnīgi atmazgāts no liekā RhB). Kad supernatantam nav krāsas, nogulsnes redisperģē ūdenī (vai HEPES buferī). Iegūtās magnētiskās daļiņas, funkcionalizētas ar rodamīnu B, glabā ledusskapī tumšā pudelē, kas ir apvilktā ar foliju.

2.2.4. Magnētisku nanodaļiņu pārklāšana ar dekstrāniem

Dzelzs oksīda nanodaļiņu pārklāšanai ar dekstrāniem tika lietotas divas metodes.

1. Pārklāšana ar dekstrānu notiek **vienlaicīgi** (*in situ*) ar dzelzs sāļu līdzizgulsnēšanu sārmainā vidē ar turpmāku magnētisko koloīdu izveidošanu. Iegūtā magnetīta koloīda pH = 11. Ar dialīzes palīdzību pH lielums tiek mainīts līdz pH=7 vērtībai. Pārklātās daļiņas ir Fe₃O₄. Ferošķidrumu ar dekstrānu pārklātām nanodaļiņām centrifugē, lai atdalītu daļiņu agregātus.

Metodes apraksts. FeCl₂·4H₂O un FeCl₃·6H₂O attiecībā 1:2 šķīdina ūdenī (100 ml). Nepārtraukti maisot 15 min. 60°C temperatūrā, pielej 100 ml 10% dekstrāna šķīduma (vai KM-dekstrāna). Nepārtraukti maisot vēl 30 min. 60°C temperatūrā, pa pilienam pievieno 11M NH₄OH šķīdumu (25 ml). Iegūto magnētisko koloīdu (Fe₃O₄ daļiņas pārklātas ar dekstrānu) dializē 24–72 stundas (sk. 2.1. attēlā). Ar pH-metra palīdzību kontrolē pH vērtības izmaiņu. Kad ūdens pH kļūst sārmais, piem. pH = 8, ūdens tiek mainīts.



2.1. att.: Dialīzes procesa realizēšana laboratorijā. Dialīze (dialīzes materiāls ar caurlaidību vielām ar molmasu, kas ir mazāka par 12 400). Ar pH-metru tiek kontrolēta ūdens pH izmaiņa.

2. Magnētisko koloīdu pārklāšana ar dekstrānu notiek **pēc to iegūšanas**. Pārklātās daļiņas ir γ -Fe₂O₃. Iegūtā koloīda (γ -Fe₂O₃ daļiņas pārklātas ar dekstrānu) pH = 1,5. Izmantojot dialīzi, var mainīt ferošķidruma pH vērtību līdz 3,5.

Ja izmanto ferošķidrumu ar nanodaļiņām, kas pārklātas ar citrātjoniem (FF_{citr}), var iegūt FF_{deks} ar fizioloģisko pH vērtību (pH = 7).

Metodes apraksts. Pie iegūtā skābā ferošķidruma (40 ml) pielej 40 ml 10% dekstrāna šķīduma. Nepārtraukti maisot 30 min. silda 60°C temperatūrā, vai 2 stundas 37°C temperatūrā.

2.2.5. Dzelzs jonu koncentrācijas noteikšana

Lai noteiktu dzelzs jonu koncentrāciju ferošķidrums, izmanto kalorimetrisko analīzi. Dzelzs koncentrāciju ferošķidrums nosaka ar sulfosalicilskābes palīdzību [172], izmantojot spektrofotometru UviLine 9400. Pie $\lambda = 425$ nm mēra parauga (sārmainā vidē) optisko blīvumu un pēc kalibrēšanas līknes nosaka Fe saturu ferošķidrums.

Reaģenti Sulfosalicilskābe, 10% šķīdums, vai nātrija sulfosalicilāts, piesātināts NH_4OH šķīdums ūdenī (2:3). Standarta Fe (III) šķīdums, kas satur Fe 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (pagatavots no $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$).

Kopējās dzelzs jonu koncentrācijas noteikšana. Analizējamā šķīduma 10 ml jā satur dzelzs no 1 līdz 10 μg . Koncentrētie šķīdumi iepriekš tiek atšķaidīti mērkolbā, lai ņemtā alikvota daļa saturētu Fe jonu norādītā diapazonā. Šķīdumam jābūt neitrālam vai vāji skābam. Pielej 5 ml sulfosalicilskābes, 5 ml amonjaka ūdens šķīduma, maisa un pēc 10 min. mēra parauga optisko blīvumu pie $\lambda = 425$ nm.

Rezultātus atrod izmantojot kalibrēšanas līkni, kuru iegūst tādos pat apstākļos analizējot paraugus, izmantojot Fe (III) standarta šķīdumus.

2.2.6. Termogravimetriska un diferenciāla termāla analīze

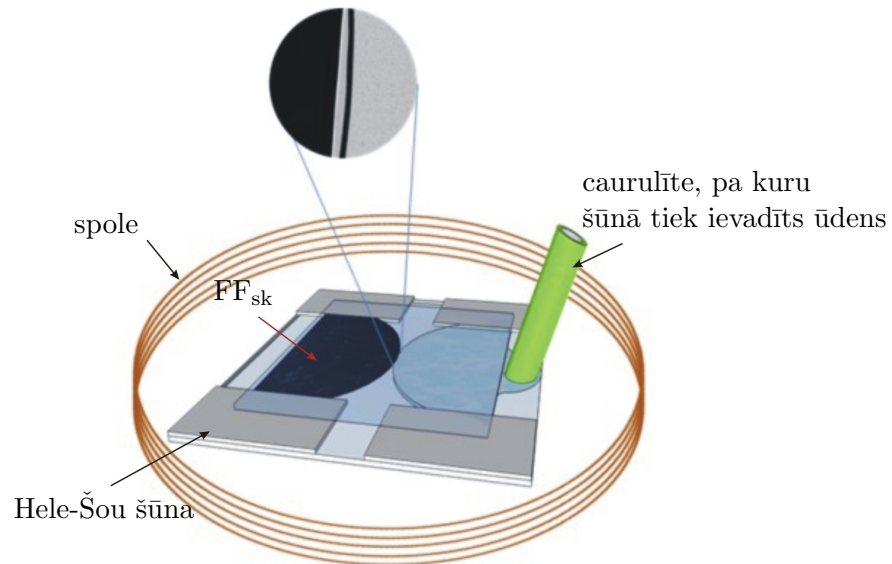
Lai noteiktu temperatūru, kad karsēšanas laikā sākas izmaiņas cietam KP-11 paraugam, lieto termogravimetrisko (TG) un diferenciālo termālo analīzi (DTA), izmantojot *SHIMADZU DTG-60* instrumentu argona atmosfērā (plūsma 50 ml/min.).

Nosver 30,712 mg KP-11, ko ievieto alumīnija šūnā, kura, savukārt, tiek ievietota ierīcē. Paraugu lēni karsē (1 stundu), paceļot temperatūru no 20 līdz 300°C. Siltuma emisija (vai absorbcija) mērīta attiecībā pret inertu materiālu (alumīnijs) inertā (Ar) atmosfērā, izmantojot termopāri, kas atrodas paraugā un inertā materiālā. Reģistrē temperatūras izmaiņas paraugā pret salīdzinošo inertā materiāla starpību (DTA, μV). DTA/TG rezultāts tika parādīts grafiski.

2.2.7. Mikrokonvekcijas eksperiments

Eksperimentāli mikrokonvekcija tiek pētīta Hele-Šou tuvinājumā, t.i., izmantojot šūnu, kuras gareniskie izmēri daudzkārt pārsniedz biezumu (10,0 × 10,0 × 0,127 mm). Šūna tiek ievietota spolē, kas rada homogēnu magnētisko lauku perpendikulāri šūnas plaknei (sk.2.2. att.). Sākotnēji tiek iepildīts magnētiskais šķidrums (ūdens bāzes) (09-12 FF_{sk}) no viena šūnas gala, līdz tas aizņem pusi no šūnas, veidojot pusmēness formas izliekumu. Tad no otra gala lēni tiek pildīts ūdens ar fluorescentām daļiņām ($D = 1 \mu\text{m}$; $\Phi_{\text{tilp}} = 0,1\%$), līdz abu šķidrums virsmas saskaras. No saskaršanās brīža notiek atšķirīgo koncentrāciju izsaukta samaisīšanās, kuru pastiprina magnētiskās mikrokonvekcijas parādība, ja magnē-

tiskais lauks pārsniedz sliekšņa vērtību. Samaisīšana tiek novērots ar optisko mikroskopu *Leica DMI13000 B* (objektīvs 10x), kas aprīkots ar daļiņu attēlu ātrumu mērīšanas (DAAM) iekārtu (*Dantec Dynamics*). Samaisīšanas process tiek reģistrēts ar divām kamerām ar filmēšanas ātrumu 250 kadri/s un 15,2 kadri/s.



2.2. att.: Eksperimentāla ierīce magnētiskās mikrokonvekcijas mērīšanai.

2.2.8. Daļiņu hidrodinamisko parametru noteikšana

Paraugu hidrodinamisko diametru noteica ar dinamiskās gaismas izkliedes metodi (DGI) izmantojot Zetasizer Nano S90 ierīci. Apstarojuma lāzera $\lambda = 633$ nm. Analizēšanai ņem 1–1,5 ml parauga (liposomas, ferošķidrums), kas sagatavots pēc 2.2.1–2.2.4; 2.3.1 un 2.3.3.–2.3.5 nodaļu apraksta, ievieto to ierīcē. Parauga analīzes rezultāti pēc apstrādes ar ierīces programmatūru tiek izvadīti uz displeju. Rezultāts var tikt sniegts gan tabulas formā, gan grafiski.

2.3. Liposomu iegūšana

2.3.1. 1,4-Dihidropiridīna atvasinājumu liposomu iegūšana

Liposomu dispersijas bez magnētiskā šķidrums iegūšana (KP-11/H₂O). Pie 15,5 mg 1,4-DHP atvasinājuma KP-11 pielej 5 ml ūdens un sonificē *Sonorex* ultraskaņas vannā 30 min.

1,4-DHP atvasinājumu daudzumu var mainīt, atkarībā no nepieciešamības.

2.3.2. Kritiskās micellu koncentrācijas noteikšana

Savienojumu kritiskā micellu koncentrācija tika noteikta, izmantojot *Zetasizer Nano S90* iekārtu ar *Malvern Instruments Ltd* programmatūru. Savienojumu paraugi tika iegūti kā 10 šķīdumu sērija, koncentrāciju diapazonā no 0,5 mg/ml līdz $0,1 \cdot 10^{-2}$ mg/ml. Katrs nākošais šķīdums tiek pagatavots divas reizes atšķaidot iepriekšējo.

2.3.3. Magnētisko liposomu iegūšana, sonificējot paraugu

Liposomu dispersijas, izmantojot FF_{citr} ar negatīvi lādētām NDs iegūšana (KP-11/FF_{citr}/H₂O). Pie 15,5 mg 1,4-DHP atvasinājuma KP-11 pielej 5 ml ūdens, 4,5 μl 09-12 FF_{citr} un sonificē *Sonorex* ultraskaņas vannā apmēram 60 min.

Liposomu dispersijas, izmantojot FF_{sk} ar pozitīvi lādētām NDs iegūšana (KP-11/FF_{sk}/H₂O). Pie 15,5 mg 1,4-DHP atvasinājuma KP-11 pielej 5 ml ūdens, 4,5 μl 10-03 FF_{sk} un sonificē *Sonorex* ultraskaņas vannā 40 min.

2.3.4. Spontānās piebriešanas metode

Petri trauciņā ievieto 5 mg 1,4-DHP atvasinājuma KP-11, kas šķīdināts hloroformā. Pēc hloroforma iztvaikošanas veidojas plāna lipīdu plēvīte, kurā iemaisa ferošķidrums, līdz veidojas oranža taukaina plēvīte. Tad virs plēvītes ielej 1–2 ml destilēta ūdens. Petri trauciņu karsē pie 45°C ūdens vannā, līdz liposomu pārejai ūdenī.

2.3.5. Apdzīvētās fāzes ietvaicēšanas metode

Pie noteikta daudzuma (no 100 līdz 900 μl) 1,4-DHP atvasinājuma KP-11/hloroforma šķīduma (KP-11 koncentrācija 10 mg/ml) pielej dietilēteri (3 ml) un magnētisko šķidrums (1 ml) (γ-Fe₂O₃ nanodaļiņas). Veic sonificēšanu *Sonorex* ultraskaņas vannā 20 min., lai iegūtu H₂O/organiskās fāzes emulsiju. Lai iegūtu liposomas, no emulsijas vakuumā ietvaicē ēteri un hloroformu (ietvaicēšanas temperatūra 25°C, un procesa laiks no 15 līdz 30 min.).

2.4. Bislāņu membrānu mehānisko īpašību pētīšana

2.4.1. Magnetoforēze

Magnetoforēzes eksperimentu veic optiskā mikroskopā, lai noteiktu magnetoliposomā iekļautā ferošķidruma magnētiskās īpašības un tā atšķaidīšanas faktoru α . Liposomu magnetoforēze tiek veikta nehomogēna pastāvīga magnēta magnētiskā laukā ar gradientu $d/dx = 360 \text{ Oe/cm}$ un intensitāti $H_m = 630 \text{ Oe}$ pie istabas temperatūras. Vezikulu kustības ātrumu v iegūst, apstrādājot optiskās mikroskopijas attēlus ar programmu *ImageJ* [173]. Vezikulas tiek analizētas pa vienai.

Pētīto vezikulu magnētisko momentu m_{vez} magnētiskā laukā H_m iegūst, izmantojot Stoksa vienādojumu:

$$m_{\text{ves}}(H_m) = \frac{3\pi\eta D_H v}{dH/dx}, \quad (2.1)$$

kur η – dispersiju vides viskozitāte (mūsu gadījumā tas ir ūdens), un D_H – vezikulu hidrodinamiskais diametrs, vienāds ar vezikulas diametru "nulles" laukā D_0^{vez} , kas ir novērojams optiskā mikroskopā. $m_{\text{vez}}(H_m) = V_{\text{vez}} M_{\text{vez}}(H_m)$, kur V_{vez} ir vezikulas tilpums un $M_{\text{ves}}(H_m)$ – vezikulā iekļautā atšķaidītā ferošķidruma magnetizācija.

Izmantotā ferošķidruma magnetizācija magnētiskā laukā H ir proporcionāla liposomā iekļauto nanodaļiņu tilpuma daļai Φ_{vez} ; Φ_{FF} – ir sākuma ferošķidruma nanodaļiņu tilpuma daļa. Atšķaidīšanas parametrs $\alpha = \Phi_{\text{vez}}/\Phi_{\text{FF}}$ tiek aprēķināts no sakarības:

$$\alpha = \frac{M_{\text{vez}}(H_m)}{M_{\text{FF}}(H_m)} = \frac{m_{\text{ves}}(H_m)}{V_{\text{vez}} M_{\text{FF}}(H_m)}, \quad (2.2)$$

kur magnetizācija; $M_{\text{FF}}(H_m)$ – izmantotā ferošķidruma magnetizācija.

2.4.2. Magnētisko vezikulu elastības moduļa (K_b) noteikšana

Dispersiju, kas satur magnētiskās vezikulas, ievieto optiskā šūnā ar biezumu $65 \mu\text{m}$. Vezikulu deformāciju homogēnā magnētiskā laukā novēro optiskā mikroskopā ar fāzu kontrastu pie istabas temperatūras. Attēlu apstrādāšanai izmanto *ImageJ* programmu [173]. Homogēnais magnētiskais lauks radīts ar četrus spolišu palīdzību. Katru spoli veido $368 \text{ } 0,7 \text{ mm}$ biezuma Cu stieples vijumi, kas dod kopējā magnētiskā lauka H intensitāti $0\text{--}200 \text{ Oe}$. Vezikulu deformāciju raksturo tās ekscentricitāte $e = \sqrt{1 - (b/a)^2}$ (a un b attiecīgi vezikulas kā elipsoīda garās un īsās ass izmēri).

Cēbers un *Perzynski* [174] izstrādāja iegūto datu aprēķinu metodi, lai iegūtu bislāņa membrānas liekuma elastības moduļa vērtību lielu deformāciju gadījumam. Sakarība starp ekscentricitāti e , vezikulu magnetizāciju $M_{\text{vez}}(H_{\text{int}})$ un dubultslāņa spriegumu τ [175] ir:

$$\frac{M_{\text{vez}}^2 D_0^{\text{vez}}}{\tau} = \frac{1}{\pi} h(e), \quad (2.3)$$

kur D_0^{vez} – vezikulu optiskā mikroskopā novērojamais diametrs. Funkcija $h(e)$ ir:

$$h(e) = \frac{(3 - 2e^2)(1 - e^2)^{1/2}/e^2 - (3 - 4e^2) \arcsin(e)/e^3}{(1 - e^2)^{7/6}((3 - e^2) \log((1 + e)/(1 - e)))/e^5 - 6/e^4}.$$

Elipsoidālā vezikulā tās magnetizāciju M_{vez} un tās spriegumu τ nosaka iekšējais magnētiskais lauks $H_{\text{int}} = H - 4\pi N(e)M_{\text{vez}}$, kur $N(e)$ ir elipsoīda demagnetizācijas koeficients. Tā kā magnētiskās īpašības ir diezgan vājas, $H_{\text{int}} = H$.

Svarīga nepiebriedušas vezikulas deformācijas īpašība ir bislāņa sprieguma pieaugums pie tā termisko fluktuāciju izlīdzināšanās

$$\tau = \tau_0 \exp\left(\frac{8\pi K_b \Delta\Sigma}{k_B T \Sigma_0}\right). \quad (2.4)$$

τ_0 ir sākotnējais dubultslāņa spriegums, kad nav uzlikts magnētiskais lauks (pie lauka nulles vērtības), τ – spriegums, kad uzlikts magnētiskais lauks, Σ_0 ir vezikulu virsmas laukums pie nulles magnētiskā lauka; $\Delta\Sigma$ ir vezikulu virsmas laukuma palielinājums magnētiskā laukā. Elipsoīdālas vezikulas gadījumā:

$$\frac{\Delta\Sigma}{\Sigma_0} = \frac{\arcsin(e)/e + (1 - e^2)^{1/2}}{2(1 - e^2)^{1/6}} - 1 = f(e). \quad (2.5)$$

Izsakot M_{vez} ar izmantotā sintēzes procesā ferošķidruma magnetizāciju M_{FF} un tā atšķaidīšanas faktoru α saskaņā ar (2.3), (2.4) un (2.5), iegūstam sakarību:

$$M_{\text{FF}}^2 = \frac{h(e)}{\pi\alpha^2 D_0^{\text{vez}}} \tau_0 \exp\left(\frac{8\pi K_b}{k_B T} f(e)\right), \quad (2.6)$$

kur gan e , gan M_{FF} ir atkarīgi no magnētiskā lauka. Izmantojot ferošķidruma magnētizācijas likni $M_{\text{FF}}(H)$, datu pāri (e, H) transformējas uz pāri (e, M_{FF}) , kurus, saskaņā ar sakarību 2.6, apraksta funkcija $c_1 h(e) \exp(c_2 f(e))$.

No datu aproksimācijas iegūtie parametri c_1 un c_2 ir attiecīgi saistīti ar τ_0 un K_b :

$$K_b = \frac{c_2}{8\pi} k_B T, \quad (2.7)$$

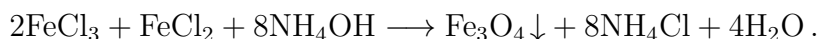
$$\tau_0 = \pi D_0^{\text{vez}} c_1 \alpha^2. \quad (2.8)$$

3. nodaļa

REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

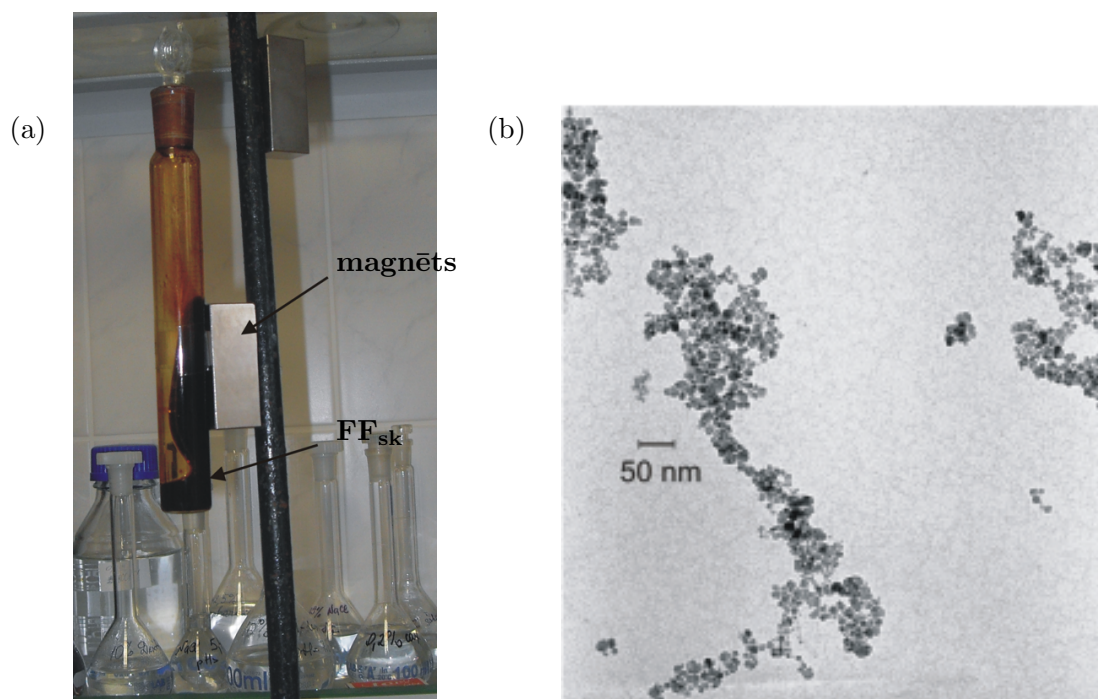
3.1. Iegūto magnētisko šķidrumu īpašības

Lai veiktu magnētisku ferošķidrumu pētīšanu, funkcionalizēšanu un mīkstu materiālu magnētisko nanosistēmu veidošanu, tika sintezēta virkne ferošķidrumu (FF) paraugu, izmantojot līdzizgulsnēšanās metodi [30, 31] pēc reakcijas shēmas:



Iegūtā magnetīta nogulsnes tika apstrādātas ar $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ šķīdumu pie 90°C . Šajā sintēzes posmā magnetīta (Fe_3O_4) nanodaļiņas (NDs) tika oksidētas, lai iegūtu mehemīta ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) nanodaļiņas. Magnētiskie šķidrumi tika iegūti, peptizējot mehemīta NDs ūdenī. Tādā veidā tika iegūti skābie ferošķidrumi ar mehemīta nanodaļiņām, kuru virsmas lādiņš ir pozitīvs, kā arī ferošķidrumi ar nanodaļiņām, kas pārklātās ar citrātjoniem (NDs/citr), kuru virsmas lādiņš ir negatīvs (FF_{citr}).

Ferošķidrumu magnētiskās īpašības var ilustrēt, parādot šķidrumu mijiedarbību ar pastāvīgu magnētu (sk. 3.1. (a) att.). Mēģene ar FF turas pie magnēta bez jebkāda stiprinājuma. Magnētisku nanodaļiņu (NDs) transmisijas elektronmikroskopijas (TEM) attēls parādīts 3.1. (b) attēlā.

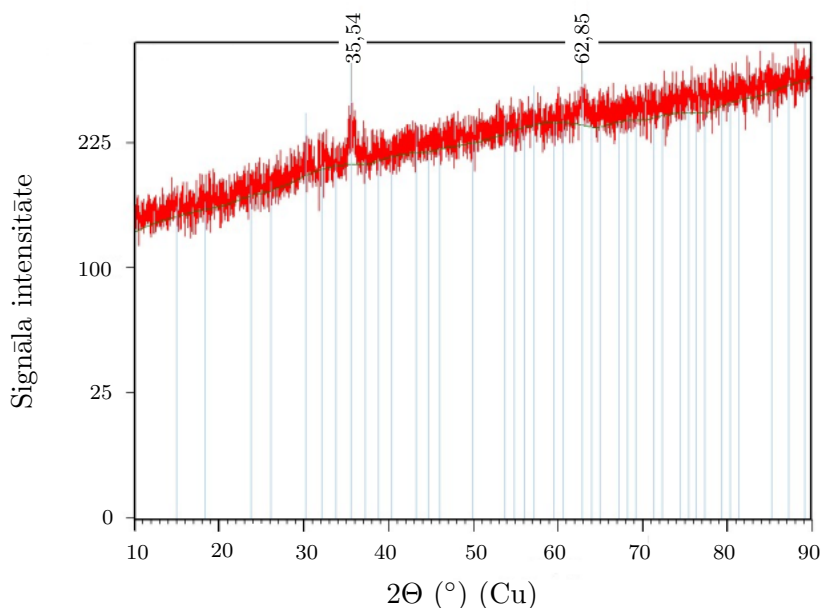


3.1. att.: (a) Skāba ferošķidruma ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanodaļiņas) magnētisko īpašību demonstrācija; (b) mehemīta nanodaļiņu TEM attēls. Mērogiedaļa 50 nm.

Ferošķidrumi, kas iegūti tālākai izmantošanai, tika pētīti, lai iegūtu nepieciešamo informāciju par to struktūru, magnētiskajām īpašībām, MNDs koncentrācijām un NDs izmēru sadalījumiem, kura ir apkopota tabulās, parādītās tālāk: magnētiskās īpašības – 3.3. tabulā, NDs koncentrācijas un to tilpumu daļas – 3.4. tabulā. Sīkāk par tabulās iekļautajiem rezultātiem tiks skaidrots sekojošās nodaļās.

3.1.1. Nanodaļiņu struktūra un sastāvs

Ar rentgenstarojuma difraktometriju¹ tika noskaidrota iegūtā magnētiskā šķidruma daļiņu struktūra. Tika pētīti skāba ferošķidruma (FF_{sk}) un ferošķidruma, kurā NDs pārklātas ar citrātjoniem (FF_{citr}), paraugi. Lai sagatavotu paraugu analīzei, izmantojot pulverdifraktometru, ferošķidrumu paraugi pirms tam tika žāvēti līdz pulverveida stāvoklim istabas temperatūrā. Skāba ferošķidruma parauga rentgenogramma parādīta 3.2. attēlā un to apstrādes rezultāti parādīti 3.1. tabulā. FF paraugs, kurā daļiņas pārklātas ar citrātjoniem (FF_{citr}), dod līdzīgu rentgenogrammu, tikai maksimumi ir mazāki nekā FF_{sk} nanodaļiņām.



3.2. att.: Ferošķidruma (paraugs 12-01 FF_{sk}) nanodaļiņu rentgenogramma. 2θ ir difrakcijas leņķis.

3.1. tabula: Ferošķidruma (paraugs 12-01 FF_{sk}) dzelzs oksīda rentgenogrammas maksimumi (3.2. att.) d – starpplakņu attālums. FWHM – refleksa pusplatums (Full Width at Half Maximum), (°).

Nr.	Poz. [2θ (°)]	FWHM (°)	d (Å)	Rel. Int. (%)
1.	35,54	0,79	2,526	73
2.	62,85	1,15	1,478	100

Iegūto datu salīdzināšana ar PDF4+ datu bāzes datiem, izmantojot *X-Pert HighScore* programmu, parādīja, ka eksperimentālā rentgenogramma atbilst mehēmīta fāzei, kas sastāv pārsvarā no Mehēmīta-C, (struktūra – kubiska, $a(\text{Å}) = 8,35$, krāsa gaiši brūna) un Mehēmīta-Q (struktūra – tetragonāla, $a(\text{Å}) = 8,34$, $c(\text{Å}) = 25,02$, krāsa – brūna). Mehēmītam-Q ir magnetītam līdzīga struktūra, kas atšķiras no Fe_3O_4 struktūras, jo satur vakances oktaedriskās starppoziācijas. Vakances var būt haotiskas vai sakārtotas, kristālrežģim ir tetragonāla simetrija [176]. Mehēmīta-Q modifikācija ir metastabila attiecībā pret hematītu ($\alpha-Fe_2O_3$) veidošanos. No Messbauera spektroskopijas un strukturāliem datiem [177] iegūtā informācija liecina, ka vislielākajai deformācijai ir pakļauti

¹Nanodaļiņu rentgenogrammu reģistrēja A.Mišņovs (Fizikāli organiskās ķīmijas laboratorija, OSI)

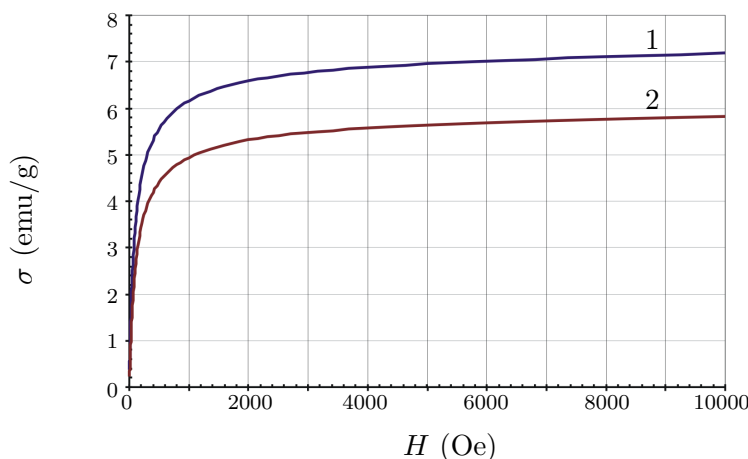
dzelzs joni tetraedriskās pozīcijās. Izmantojot rentgenlīniju platumu (sk. FWHM vērtības 3.1. tabulā) un Šerera formulu (3.1), tika aprēķināts kristalītu (nanodaļiņu) vidējais izmērs D_0 :

$$D_0 = \frac{0,9\lambda}{b \cos \theta}, \quad (3.1)$$

kur $\lambda = 1,542 \text{ \AA}$ ir starojuma viļņa garums, b – refleksa pusplatums ($^\circ$) un θ – difrakcijas leņķis (sk. tabula 3.1.). Parādīts, ka pētītā parauga vidējais daļiņu izmērs D_0 atrodas 8,50–11,50 nm intervālā.

3.1.2. Ferošķidrumu magnētiskās īpašības

Iegūto ferošķidrumu magnētiskās īpašības tika noteiktas, mērot un apstrādājot to magnetizācijas līknes, kuras tika iegūtas izmantojot vibrācijas magnetometru². 3.3. attēlā parādītas ferošķidrumu paraugu (12-01 FF_{sk}) un tā šķidruma pēc centrifugēšanas (12-01 FF_{sk}^c) magnetizācijas līknes (20 min.; 9000 rpm apgr.).



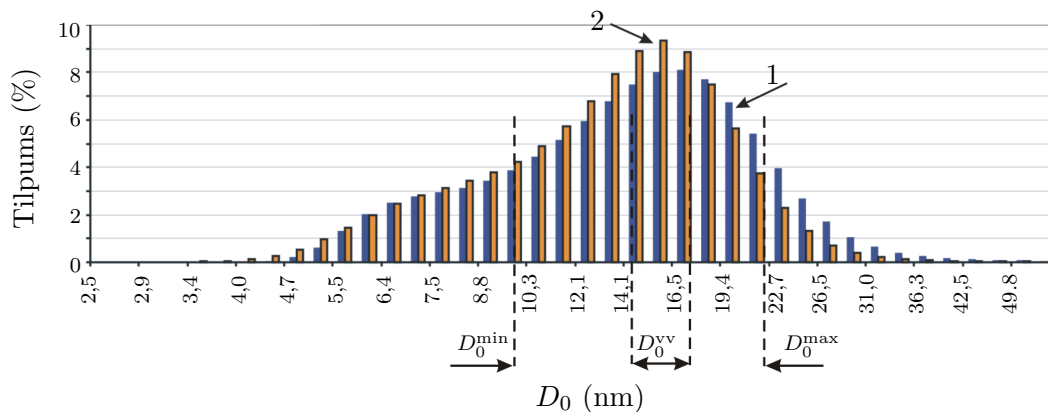
3.3. att.: Ferošķidruma 12-01 FF_{sk} magnetizācijas līknes: (1) pirms centrifugēšanas (piesātinājuma magnētizācija, $M_s = 7,18 \text{ emu/g}$); un (2) pēc centrifugēšanas (12-01 FF_{sk}^c) ($M_s = 5,82 \text{ emu/g}$). H – magnētiskā lauka intensitāte; σ – īpatnējā magnetizācija.

Magnetizācijas līknēm, kas parādītas 3.3. attēlā, piemīt superparamagnētiķiem raksturīga forma, jo daļiņu magnetizācijas nelielās vērtības magnētiskajā laukā pieaug un, palielinot magnētiskā lauka vērtības, iziet uz piesātinājumu [19, 157]; tas apliecina, ka ir iegūtas feromagnētiskās daļiņas ar nepieciešamajām īpašībām. Jo lielāks ir daļiņas magnētiskais moments, jo mazāks magnētiskais lauks H ir nepieciešams piesātinājuma magnetizācijas novērošanai. Magnetizācijas līknes piesātināšanu ne īpaši lielos laukos sauc par superparamagnētismu, bet materiālus, kam piemīt šādas īpašības, sauc par superparamagnētiķiem [19].

Centrifugējot ferošķidrumu, var ne tikai sašaurināt izmēru sadalījumu, bet arī sadalīt FF pēc to veidojošo nanodaļiņu izmēriem, atdalot NDs, kuru izmērs ir lielāks nekā sa-

²Rezultātus ieguva M.Majorovs, LU FI

daļījuma maksimuma vidējais NDs diametrs (sk. 3.4. att.). Parauga 12-01 FF_{sk} līdz un pēc centrifugēšanas raksturojošie lielumi ir apkopoti 3.2. tabulā. Salīdzinot 3.3. attēlā līknes, redzams, ka daļiņām ar lielāku izmēru piemīt lielāki magnētiskie momenti, kas ietekmē piesātinājuma magnetizāciju (sk. 3.2. tabula). Redisperģējot nosēdušās daļiņas, var iegūt ferošķidrumu ar lielāku magnētisko nanodaļiņu koncentrāciju (3.3. tabulā paraugs nr.1.).



3.4. att.: Parauga 12-01 FF_{sk} nanodaļiņu izmēru sadalījumu histogrammas: ferošķidrumš pirms centrifugēšanas (1) un pēc centrifugēšanas (12-01 FF_{sk}^c) (2).

3.2. tabula: Ferošķidrumu 12-01 FF_{sk} un 12-01 FF_{sk}^c (paraugs pēc centrifugēšanas) raksturojošie lielumi, kuri iegūti, apstrādājot magnetizācijas līknes (sk. 3.3. att.).

Paraugs:	12-01 FF _{sk}	12-01 FF _{sk} ^c
Piesātinājuma magnetizācija (M_s), emu/g:	7,18	5,82
Sākotnējā magnētiskā uzņēmība (χ), cm ³ /g:	$7,68 \cdot 10^{-3}$	$4,54 \cdot 10^{-3}$
NDs magnētiskais moments (m_i), emu:	$1,10 \cdot 10^{-15}$	$9,40 \cdot 10^{-16}$
Mehemīta koncentrācija, mas.% :	8,76	7,17
Mehemīta tilpuma daļa ($\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}}$), %:	1,79	1,46
Nanodaļiņu, kuru ir visvairāk ferošķidrumā, diametrs (D_0^{vv}), nm:	16,30	15,40
Maksimālais nanodaļiņu diametrs (D_0^{max}), nm:	22,50	20,20
Minimālais nanodaļiņu diametrs (D_0^{min}), nm:	9,80	9,50

Iegūto magnētisko šķidrumu (FF_{sk} un FF_{cit}) raksturojošie lielumi ir apkopoti 3.3. tabulā. Piesātinājuma magnetizācijas M_s lielums ir vienāds ar magnētisko momentu (m_i) summu tilpuma vienībā. Sākotnējā magnētiskā uzņēmība raksturo lauka orientējošās iedarbības konkurenci ar daļiņu siltumfluktuācijām, kā rezultātā pie mazām lauka vērtībām tikai neliels daļiņu skaits, ko nosaka attiecība $m_i H/k_B T$, ir orientēts lauka virzienā, kas vides magnetizācijai dod ieguldījumu $M \sim n m_i m_i H/k_B T$. Šajā gadījumā sākotnējo uzņēmību izsaka ar vienādojumu $\chi \sim n m_i^2/k_B T$ (precīzu aprēķinu dod $\chi = n m_i^2/3 k_B T$ – Lanževa formula). Sākotnējā magnētiskā uzņēmība – tā ir uzņēmība, kuru mēra mazos magnētiskos laukos un tā atbilst magnetizācijas līknes lineārajai daļai (sk. 3.3. att.).

Visi ferošķidrumi, kas parādīti 3.3. tabulā, iegūti izmantojot vienu iegūšanas procedūru. Lielāku NDs koncentrāciju var iegūt, izmantojot centrifugēšanu un redisperģējot

nogulsnes mazākā ūdens apjomā. Kad sintēzi realizē vienādos nosacījumos, iegūtais rezultāts var atšķirties, jo metodes gaitā ir daudz gadījuma rakstura faktoru, piemēram, var rasties magnētisko daļiņu zudumi daudzkārtējā magnētisko nogulsņu mazgāšanā un atdalīšanas posmā. Sintēzes procesā veidojas plašs NDs izmēru sadalījums.

3.3. tabula: **Ar magnetizācijas līknes metodi iegūtie magnētisko koloīdu raksturojošie lielumi.** FF_{sk} – ferošķidrumi ar pozitīvi lādētām nanodaļiņām. FF_{citr} – ferošķidrumi ar negatīvi lādētām NDs, kas pārklātas ar citrātjoniem.

Nr.	Paraugšs	Piesāt. magn. (M_s), emu/g	Sākotnējā uzņēmība (χ), cm^3/g	Daļiņu magnētiskais moments (m_i), emu	NDs konc., mas. %	Daļiņu sadalījumu raksturojošie izmēri (D_0 – diametrs), nm		
						D_0^{yv}	D_0^{\max}	D_0^{\min}
	1	2	3	4	5	6	7	8
1.	09-13 FF_{sk}	9,30	$6,40 \cdot 10^{-2}$	$7,06 \cdot 10^{-16}$	12,19	14,0	19,3	8,5
2.	09-02 FF_{sk}	5,91	$4,51 \cdot 10^{-2}$	$5,65 \cdot 10^{-16}$	7,94	13,0	17,2	8,8
3.	09-01 FF_{sk}	5,80	$4,06 \cdot 10^{-2}$	$5,40 \cdot 10^{-16}$	7,71	12,8	16,9	8,7
4.	11-02 FF_{sk}	5,56	$5,13 \cdot 10^{-2}$	$9,6 \cdot 10^{-16}$	6,90	15,5	20,9	10,0
5.	11-04 FF_{sk}	5,19	$3,71 \cdot 10^{-2}$	$7,28 \cdot 10^{-16}$	6,46	14,2	19,1	9,0
6.	10-03 FF_{sk}	4,43	$2,07 \cdot 10^{-2}$	$5,75 \cdot 10^{-16}$	5,96	13,1	17,1	8,7
7.	09-07 FF_{citr}	8,20	$7,08 \cdot 10^{-2}$	$5,84 \cdot 10^{-16}$	10,70	13,2	17,6	8,7
8.	09-03 FF_{citr}	5,63	$4,16 \cdot 10^{-2}$	$5,13 \cdot 10^{-16}$	7,36	12,6	16,9	8,4
9.	09-05 FF_{citr}	3,90	$3,51 \cdot 10^{-2}$	$5,90 \cdot 10^{-16}$	5,18	13,2	17,4	9,3
10.	09-06 FF_{citr}	3,66	$4,09 \cdot 10^{-2}$	$7,01 \cdot 10^{-16}$	4,83	14,0	18,3	10,1
11.	09-11 FF_{citr}	3,60	$3,29 \cdot 10^{-2}$	$5,87 \cdot 10^{-16}$	4,73	13,2	17,4	9,2
12.	09-12 FF_{citr}	3,00	$3,31 \cdot 10^{-2}$	$6,81 \cdot 10^{-16}$	3,80	13,8	17,9	9,9
13.	09-09 FF_{citr}	2,33	0	$4,72 \cdot 10^{-16}$	3,11	12,3	16,1	8,7
14.	09-10 FF_{citr}	1,89	$8,36 \cdot 10^{-3}$	$3,58 \cdot 10^{-16}$	2,53	11,2	14,7	7,9

3.1.3. Ferošķidrumu dzelzs oksīda nanodaļiņu koncentrācijas.

Nanodaļiņu tilpuma daļa

Dzelzs koncentrācija ferošķidrumos tika noteikta, izmantojot kalorimetrisko metodi ar 5-sulfosalicilskābi (ķīmiskā analīze). Dzelzs koncentrāciju izmanto koloidālo daļiņu tilpuma daļas (Φ_{tilp}) aprēķināšanai. Φ_{tilp} ir svarīgs lielums ferošķidrumu un citu objektu, kas satur FF, īpašību novērtēšanai: $M_s = M_0 \Phi_{tilp}$, kur M_s – piesātinājuma magnētizācija; M_0 – cietā materiāla magnetizācija (magnetīts, mehēmīts). 3.4. tabulā parādīti ferošķidrumu paraugu, kuru magnētiskās īpašības prezentētas 3.3. tabulā, magnētisko nanodaļiņu tilpumu daļas lielumi. Ferošķidrumu Φ_{tilp} aprēķināšanai izmanto dažādus paņēmienus:

a) svēršanas metodi, izmantojot ferošķidruma blīvumu ($\rho_{\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3}$, g/ml):

$$\Phi_{tilp}^{sv}(\%) = \frac{\rho_{FF} - \rho_{\text{H}_2\text{O}}}{\rho_{\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3} - \rho_{\text{H}_2\text{O}}} \cdot 100; \quad (3.2)$$

3.4. tabula: Dzelzs oksīda NDs tilpumu daļas (Φ_{tilp}) aprēķini, izmantojot ar ķīmisko analīzi un ar magnetizācijas līknes (ML) metodi iegūtās dzelzs oksīda koncentrācijas. $\rho_{\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3}$ ir cietas vielas blīvums, vienāds 4,9 g/cm³ [179].

Nr.	Paraugs	Svēršanas metode		Koncentrācija, noteikta ar ķīmisko analīzi				Koncentrācija, noteikta ar magnetizācijas līknes metodi				$\frac{\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}}}{\Phi_{\text{tilp}}^{\text{an}}}$	$\frac{\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}}}{\Phi_{\text{tilp}}^{\text{sv}}}$																		
		ρ_{FF} , (g/cm ³)	$\Phi_{\text{tilp}}^{\text{sv}}$ (%), apr. no (3.2)	$C_{\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3}$ (mg/ml)	$\Phi_{\text{tilp}}^{\text{an}}$ (%), apr. no (3.3)	[Fe] (mol/l)	$\Phi_{\text{tilp}}^{\text{an}}$ (%), apr. no (3.4)	$C_{\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3}$ (mg/ml)	$\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}}$ apr. no (3.3)	[Fe] (mol/l)	$\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}}$ (%), apr. no (3.4)																				
1.	09-13 FF _{sk}	1,099	2,53	128,70	2,62	1,60	2,52	8	2,49	1,52	2,40	121,9	2,18	1,34	2,11	107,00	3,01	1,91	3,01	107,00	2,18	1,34	2,11	107,00	3,01	1,91	3,01				
2.	09-02 FF _{sk}	1,077	1,97	107,25	2,18	1,34	2,14	7	1,62	0,99	1,50	79,40	1,50	0,92	1,45	73,6	2,30	1,46	2,30	73,6	1,50	0,92	1,45	73,6	1,50	0,92	1,45	73,6	1,50	0,92	1,45
3.	09-01 FF _{sk}	1,078	2,00	110,43	2,25	1,40	2,21	7	1,57	0,96	1,50	77,10	1,50	0,65	1,03	51,80	1,26	0,80	1,26	51,80	1,05	0,65	1,03	51,80	1,05	0,65	1,03	51,80	1,05	0,65	1,03
4.	11-02 FF _{sk}	1,058	1,48	75,08	1,52	0,94	1,48	7	1,40	0,86	1,36	69,00	1,40	0,61	0,95	48,30	1,29	0,82	1,29	48,30	0,98	0,61	0,95	48,30	0,98	0,61	0,95	48,30	0,98	0,61	0,95
5.	11-04 FF _{sk}	1,073	1,87	96,53	1,96	1,20	1,89	7	1,96	0,81	1,28	64,60	1,32	0,59	0,93	47,20	1,14	0,72	1,14	47,20	0,96	0,59	0,93	47,20	0,96	0,59	0,93	47,20	0,96	0,59	0,93
6.	10-03 FF _{sk}	1,065	1,66	85,80	1,75	1,07	1,69	7	1,75	0,74	1,17	59,60	1,22	0,48	0,76	38,00	1,10	0,70	1,10	38,00	0,77	0,48	0,76	38,00	0,77	0,48	0,76	38,00	0,77	0,48	0,76
7.	09-07 FF _{ctr}	1,110	2,82	151,58	3,09	1,91	3,01	7	3,09	1,91	3,01	107,00	2,18	1,34	2,11	107,00	3,01	1,91	3,01	107,00	2,18	1,34	2,11	107,00	2,18	1,34	2,11	107,00	2,18	1,34	2,11
8.	09-03 FF _{ctr}	1,082	2,10	116,66	2,37	1,46	2,30	7	2,37	1,46	2,30	73,6	1,50	0,92	1,45	73,6	2,30	1,46	2,30	73,6	1,50	0,92	1,45	73,6	1,50	0,92	1,45	73,6	1,50	0,92	1,45
9.	09-05 FF _{ctr}	1,051	1,30	64,35	1,31	0,80	1,26	7	1,31	0,80	1,26	51,80	1,05	0,65	1,03	51,80	1,26	0,80	1,26	51,80	1,05	0,65	1,03	51,80	1,05	0,65	1,03	51,80	1,05	0,65	1,03
10.	09-06 FF _{ctr}	1,050	1,28	65,24	1,33	0,82	1,29	7	1,33	0,82	1,29	48,30	0,98	0,61	0,95	48,30	1,29	0,82	1,29	48,30	0,98	0,61	0,95	48,30	0,98	0,61	0,95	48,30	0,98	0,61	0,95
11.	09-11 FF _{ctr}	1,050	1,28	57,74	1,17	0,72	1,14	7	1,17	0,72	1,14	47,20	0,96	0,59	0,93	47,20	1,14	0,72	1,14	47,20	0,96	0,59	0,93	47,20	0,96	0,59	0,93	47,20	0,96	0,59	0,93
12.	09-12 FF _{ctr}	1,049	1,25	55,20	1,12	0,70	1,10	7	1,12	0,70	1,10	38,00	0,77	0,48	0,76	38,00	1,10	0,70	1,10	38,00	0,77	0,48	0,76	38,00	0,77	0,48	0,76	38,00	0,77	0,48	0,76
13.	09-09 FF _{ctr}	1,040	1,00	44,24	0,90	0,55	0,87	7	0,90	0,55	0,87	31,10	0,64	0,39	0,62	31,10	0,87	0,55	0,87	31,10	0,64	0,39	0,62	31,10	0,64	0,39	0,62	31,10	0,64	0,39	0,62
14.	09-10 FF _{ctr}	1,030	0,76	38,04	0,77	0,48	0,76	7	0,77	0,48	0,76	25,30	0,51	0,32	0,51	25,30	0,76	0,48	0,76	25,30	0,51	0,32	0,51	25,30	0,51	0,32	0,51	25,30	0,51	0,32	0,51

b) izmantojot **dzelzs oksīda nanodaļiņu** ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) koncentrāciju ($C_{\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3}$, mg/ml), kas noteikta, analizējot magnetizācijas līknes:

$$\Phi_{\text{tilp}}(\%) = \frac{C_{\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3}}{\rho_{\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3}} \cdot 100; \quad (3.3)$$

c) izmantojot kalorimetriski noteikto (ķīmiskā analīze) **dzelzs koncentrāciju** ([Fe], mol/l). Šo formulu izmantoja Lucas un līdz. publikācijā [178]:

$$\Phi_{\text{tilp}}(\%) = \frac{(2M_{\text{Fe}} + 3M_{\text{O}}) \cdot [\text{Fe}]}{2\rho_{\text{Fe}_2\text{O}_3}} = 1,577 \cdot [\text{Fe}](\text{mol/l}), \quad (3.4)$$

kur M_{Fe} un M_{O} ir atbilstoši dzelzs un skābekļa molmasas, $\rho_{\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3}$ ir mehemīta blīvums (4,9 g/cm³). Tilpuma daļas lielumi, kas aprēķināti, izmantojot (3.3) un (3.4) vienādojumus, ir salīdzinoši tuvi. Ņemot vērā, kāda informācija par ferošķidrumu ir pieejama, lai iegūtu priekšstatu par NDs tilpuma daļas lielumu, var izmantot svēršanas metodi. Tomēr precīzi aprēķināt $\Phi_{\text{tilp}}(\%)$ vērtību var, izmantojot (3.3) vai (3.4) vienādojumus, atkarībā no tā, kāda informācija ir zināma – nanodaļiņu koncentrācija vai dzelzs jonu koncentrācija.

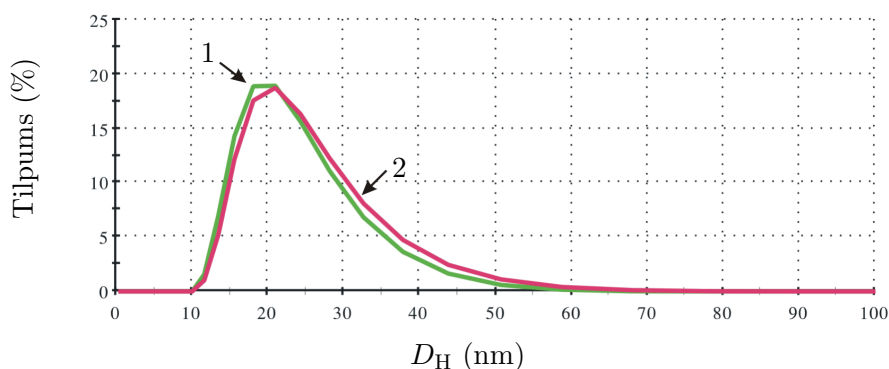
Mehemīta koncentrācija, kas noteikta ar magnetizācijas līknes (ML) metodi, ir mazāka, nekā koncentrācija, kas noteikta ar ķīmisko analīzi (sk. 3.4. tabulā). Tas pierāda, ka tikai daļai no cietās vielas ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), kas ir suspendēta šķīdumā, piemīt magnētiskās īpašības. No 3.4. tabulā apkopotiem datiem varam secināt, ka kvalitatīvos ferošķīdumos magnētiskās fāzes saturs var mainīties 70–90% robežās. Šis lielums labi atbilst literatūras datiem [157, 180], saskaņā ar kuriem īpatnējā magnetizācija samazinās, samazinoties daļiņu izmēriem. Ir zināms, jo mazāki ir magnētisko daļiņu izmēri, jo lielāks ir to regulārās struktūras nesakārtotības efektīvais dziļums. Tomēr daļiņu izmērs, kā redzam no 3.3. un 3.4. tabulu datiem, nav vienīgais faktors, jo daļiņu izmērs dažādos ferošķīdumos atšķiras nenozīmīgi (D_0^{vv} izmērs variējas no 11,2 līdz 15,5 nm). Literatūrā ir izvirzīts pieņēmums [180, 181], ka viens no šī efekta cēloņiem ir tā saucamais "mirušais" slānis, kas veidojas uz daļiņas virsmas, kad virsmas spiniem ir samazināts kaimiņu skaits. Otrs pieņēmums – tāpat ķīmisku reakciju rezultātā, īstenojot dzelzs oksīda magnētisko nanodaļiņu sintēzi, izmantojot līdzizgulsnēšanas metodi gaisā, pie dzelzs sāļu šķīduma tiek pievienots amonija hidroksīds, kā rezultātā veidojas ne tikai magnetīts, bet arī $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ daļiņas. Ir zināms ka $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ raksturo tā saucamais "vājais" feromagnētisms [14]. Nanodaļiņu pārklājums arī samazina FF magnētiskās īpašības. Tā, piemēram, skābo ferošķīdumu 1.-6. paraugu magnētiskās fāzes daļa ir 83%; ferošķīdumu ar NDs/citr 7.–14. – magnētiskās fāzes daļa ir 72% (sk. 3.4. tabulā). Paraugi, kas prezentēti 3.4., tabulā tika izmantoti daļiņu funkcionalizēšanai un magnētisku liposomu iegūšanai.

3.1.4. Ferošķīduma nanodaļiņu hidrodinamiskais diametrs

Vēl viens veids, kā raksturot magnētiska šķīduma NDs izmēru sadalījumu, ir dinamiskās gaismas izkliedes (DGI) metode. Tā ir ātra izmēru noteikšanas metode, kura

balstās uz izkliedētās gaismas intensitātes reģistrāciju un ļauj noteikt hidrodinamisko daļiņu diametru (D_H), kas ir lielāks par NDs kodola diametru (D_0). Hidrodinamisko diametru aprēķina pēc tā difūzijas koeficienta. Iegūto ferošķidrumu nanodaļiņu (NDs) hidrodinamiskie diametri tika noteikti ar DGI metodi, izmantojot Zetasizer Nano S90 aparātu.

Lai noskaidrotu kā citrātjonu pārklājums ietekmē nanodaļiņu izmēru sadalījumu, ar DGI metodi tika analizētas skāba ferošķidruma (13-01 FF_{sk}) un ferošķidruma (13-02 FF_{citr}), kurā mehemīta (γ -Fe₂O₃) nanodaļiņas pārklātas ar citrātjoniem (NDs/citr)³, hidrodinamisko diametru histogrammas.



3.5. att.: γ -Fe₂O₃ NDs hidrodinamisko diametru izmēru sadalījumi. 1. līkne – paraugs 13-01 FF_{sk}: NDs sadalījuma maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs $D_H^{\text{vid}} = 22,97$ nm. 2. līkne – paraugs 13-02 FF_{citr}: $D_H^{\text{vid}} = 22,16$ nm.

3.5. tabula: Ferošķidrumu paraugu 13-01 FF_{sk} un 13-02 FF_{citr} NDs magnētisko un hidrodinamisko sadalījumu raksturojošo izmēru salīdzinājums. (D_H^{Z-Ave} – visa sadalījuma vidējais daļiņu hidrodinamiskais diametrs; D_H^{vid} – daļiņu sadalījuma maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs; D_H^{vv} – daļiņu, kuru ir visvairāk ferošķidrumā, hidrodinamiskais diametrs).

Nr.	Pražs	Daļiņu izmēri, iegūti ar magnetizācijas līknes metodi			Daļiņu izmēri, iegūti ar DGI metodi		
		D_0^{vv} (nm)	D_0^{max} (nm)	D_0^{min} (nm)	D_H^{vv} (nm)	D_H^{vid} (nm)	D_H^{Z-Ave} (nm)
1.	10-03 FF _{sk}	13,1	17,1	8,7	24,36	27,69	34,21
2.	11-01 FF _{citr}	12,5	16,4	8,4	24,30	30,53	45,83

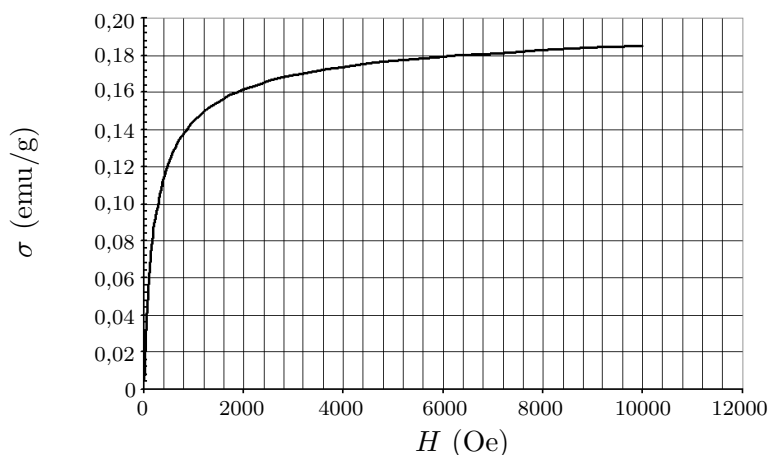
Salīdzinot paraugu 13-01 FF_{sk} un 13-02 FF_{citr} NDs izmēru sadalījumu, kas parādīti 3.5. attēlā, redzam, ka to profili sakrīt. Skaitliskie rezultāti, kas apkopoti 3.5. tabulā, nenozīmīgi atšķiras, jo paraugs 13-02 FF_{citr} pēc pārklājuma procedūras tika centrifugēts, daļa no lielākām NDs tika izgulsnētas. 3.5. tabulā salīdzināti 3.5. attēlā parādītie paraugu magnētisko un hidrodinamisko izmēru sadalījumi. No iegūtajiem rezultātiem varam secināt, ka nanodaļiņu pārklājums ar citrātjoniem būtiski neietekmē to hidrodinamisko diametru.

³Paraugs 13-02 FF_{citr} tika iegūts, pārklājot skābā ferošķidrumu parauga 13-01 FF_{sk} nanodaļiņas ar citrātjoniem, pievienojot pie tā pa pilienam un nepārtraukti maisot 0,5M nātrija citrāta šķīdumu (3 ml).

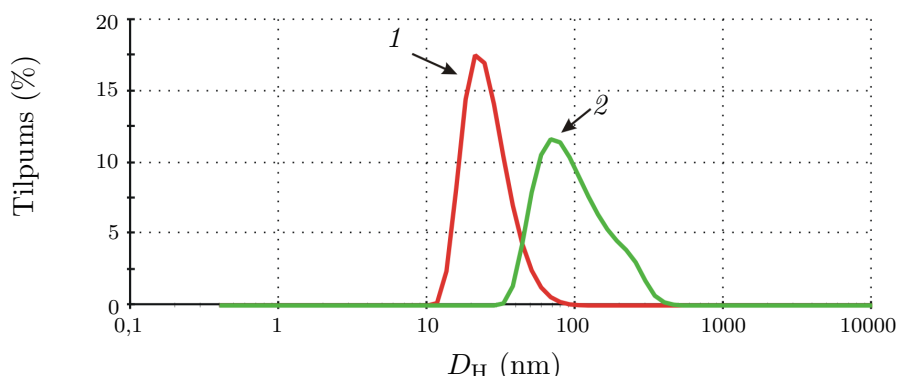
3.2. Feromagnētisko nanodaļiņu funkcionalizācija

3.2.1. Ar rodamīnu B funkcionalizētas dzelzs oksīda nanodaļiņas

Funkcionalizēšana ar fluorescējošo vielu, piemēram rodamīnu B (Rh B), ir viena no iespējām, kā paplašināt magnētisko nanodaļiņu pielietojumu. Fluorescējošas NDs izmanto par marķieri, lai sekotu NDs atrašanās vietai, piemēram, vezikulā. Fluorescējošas daļiņas tika iegūtas izmantojot funkcionalizēšanai iepriekš sintezēto magnētisko koloīdu (paraugs 10-03 FF_{sk}) ar γ -Fe₂O₃ NDs. 10-03 FF_{sk} ferošķidrums magnētiskās īpašības parādītas 3.3. tabulā (6. paraugs). NDs funkcionalizēšana tika veikta pēc procedūras, kas aprakstīta eksperimentālā daļā (56. lpp.). Ferošķidruma parauga (10-04 FF_{Rh}), kura mehemīta NDs ir funkcionalizētas ar RhB, iegūtajai magnetizācijas līknei (sk. 3.6. att.) piemīt superparamagnētiķiem raksturīgā forma, kas apliecina, ka ir iegūtas fluorescentas NDs ar nepieciešamajām īpašībām [157].



3.6. att.: Ferošķidruma, kas satur fluorescējošas mehemīta NDs (paraugs 10-04 FF_{Rh}), magnetizācijas līkne. H ir magnētiskā lauka intensitāte; σ ir īpatnējā magnetizācija.



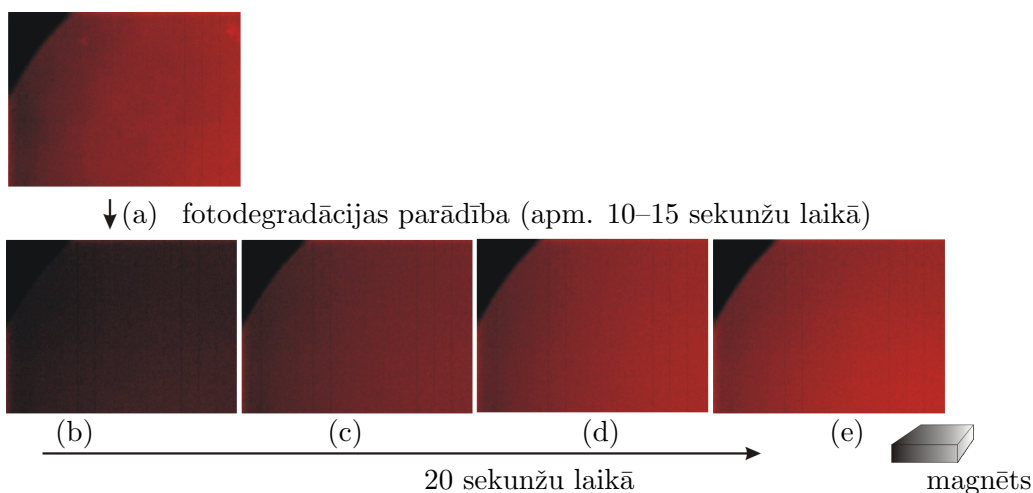
3.7. att.: Ferošķidrumu paraugu 10-03 FF_{sk} NDs pirms (1. līkne) un pēc funkcionalizēšanas ar RhB NDs paraugs 10-04 FF_{Rh} (2. līkne) hidrodinamisko diametru sadalījumi. Parauga 10-03 FF_{sk} maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs $D_H^{\text{vid}} = 27,69 \text{ nm}$, parauga 10-04 FF_{Rh} $D_H^{\text{vid}} = 109,0 \text{ nm}$.

Ar dinamiskās gaismas izkliedes (DGI) metodi iegūtie rezultāti parādīja, kā palielinājas fluorescējošo nanodaļiņu izmērs (paraugs 10-04 FF_{Rh}) (3.7. att. 2. līkne, maksimu-

ma vidējais hidrodinamiskais diametrs $D_H^{\text{vid}} = 109,0$ nm), salīdzinot ar daļiņu sākotnējo izmēru, kuras izmantojām funkcionalizēšanai ar RhB (paraugs 10-03 FF_{sk}) (3.7. att. 1. likne, $D_H^{\text{vid}} = 27,69$ nm). No tā varam spriest, ka pie mehēmīta nanodaļiņām ir piesaistījies rodamīns B. Ar ML un DGI metodēm pirms un pēc funkcionalizēšanas ar RhB iegūtie ferošķidrumu raksturojošie lielumi apkopoti un salīdzināti 3.6. tabulā. Novēroto magnētisko īpašību samazināšanos var skaidrot ar RhB piesaistīšanās procesā notiekošo FF atšķaidīšanu, jo nanodaļiņu magnētiskie momenti pirms un pēc RhB piesaistīšanas mainās nenozīmīgi.

3.6. tabula: Ar rodamīnu B funkcionalizētu dzelzs oksīda nanodaļiņu ferošķidrumu 10-03 FF_{sk} un 10-04 FF_{Rh} raksturojošie lielumi, kas iegūti ar magnetizācijas līknes un DGI metodēm.

Paraugs:	10-03 FF _{sk}	10-04 FF _{Rh}
Piesātinājuma magnetizācija (M_s), emu/g:	4,43	0,19
Sākotnējā uzņēmība (χ), cm ³ /g:	$2,07 \cdot 10^{-2}$	$8,70 \cdot 10^{-4}$
NDs magnētiskais moments (m_i), emu:	$5,75 \cdot 10^{-16}$	$5,25 \cdot 10^{-16}$
Mehēmīta koncentrācija, mas.% :	5,96	0,23
Mehēmīta tilpuma daļa ($\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}}$), %:	1,22	0,05
Nanodaļiņu, kuru ir visvairāk FF, diametrs (D_0^{vv}), nm:	13,1	12,7
Maks. nanodaļiņu diametrs (D_0^{max}), nm:	17,1	17,4
Min. nanodaļiņu diametrs (D_0^{min}), nm:	8,7	7,1
Daļiņu sadalījuma maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs (D_H^{vid}), nm	26,6	109

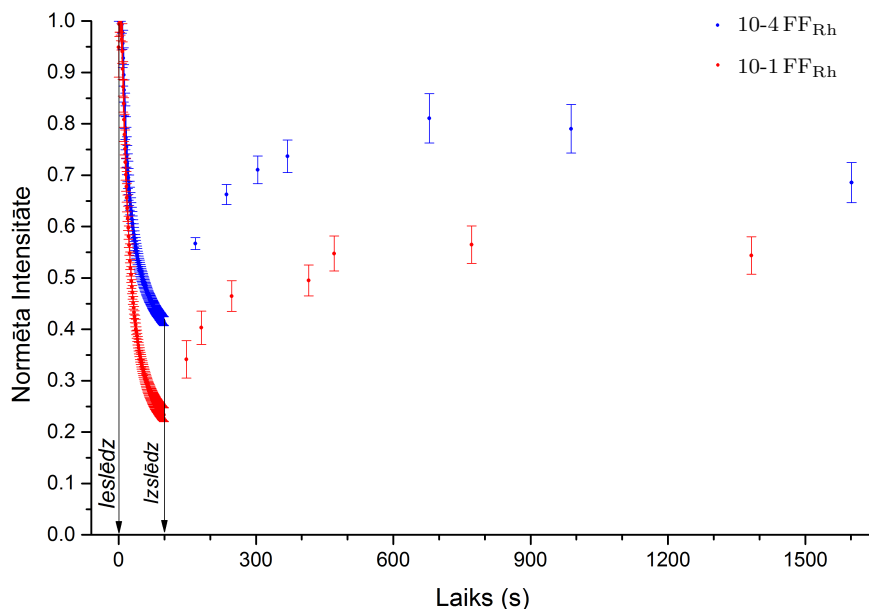


3.8. att.: Ferošķidruma 10-4 FF_{Rh} fluorescējošo daļiņu optiskās mikroskopijas attēli atkarībā no laika.

Iegūto koloīdu pētījām ar fluorescējošo mikroskopu Leica DMI3000B (filtrs N 2.1, ierosināšanas diapazons – zaļš; ierosināšanas filtrs BP 515–580), lai noteiktu tā fluorescences īpašības. 3.8. attēlā parādīta fotodegradācijas parādība. Daļiņām, kas pārklatās ar rodamīnu B, starojums ir sarkanā krāsā, kura piemīt RhB šajā viļņu diapazonā. Ar laiku paraugs paliek tumšāks (a)–(b). Tas ir tā saucamais fotodegradācijas efekts⁴ (b). Savukārt,

⁴Fotodegradācijas, piemēram, fotoatbalināšanās parādība notiek, ja apstarojuma rezultātā fluorofors

pietuvinot magnētu pie parauga, redzam, ka paraugs atkal sāk fluorescēt. Magnēts pievelk svaigu (neapstarotu) magnētisko fluorescējošo daļiņu slāni – attēli (b)–(e) (sk. 3.8. att.). Ņemot vērā novēroto parādību, un to, ka pēc modifikācijas daļiņu izmēri ievērojami paliecinājās (kā parādīts 3.7. attēlā), varam secināt, ka ir izveidotas fluorescējošas magnētiskas nanodaļiņas. Izmantojot tās, var izveidot metodi daļiņu difūzijas koeficienta noteikšanai. Šīs metodes būtību paskaidro 3.9. attēlā parādītie rezultāti⁵.



3.9. att.: Ar rodamīnu B funkcionalizētu ferošķidrumu ar NDs, fluorescentās gaismas intensitātes pieauguma pēc apstarojuma izslēgšanas difūzijas procesā atkarība no laika. Intensitātes vienības ir normētas pret sākotnējo (pie laika $t = 0$).

Ferošķidrumu paraugi 10-4 FF_{Rh} (svaigi pagatavots) un 10-1 FF_{Rh} (glabājas līdz eksperimentam 1 mēn.) ar nanodaļiņām, kas tika funkcionalizētas ar rodamīnu B, apmēram 100 s tika apgaismoti ar ierosmes gaismu ($\lambda = 515 - 580$ nm) un tika novērots fluorescentās gaismas ($\lambda = 590$ nm izspīdēšana) intensitātes samazinājums. Pēc 100 s ierosmes gaismas tika izslēgta un tika novērots fluorescentās gaismas intensitātes pieaugums, apstarojot paraugu ar 1 s īsiem ierosmes impulsiem. Šī parādība ir saistīta ar svaigu, nebalinātu daļiņu nonākšanu mikroskopa redzes laukā difūzijas procesa rezultātā. Apzīmēsim lāzera apstarotā laukuma rādiusu ar R (eksperimentā $R = 0,5$ mm). Nebalinātu daļiņu difūzijas procesu apraksta vienādojums:

$$\frac{\partial c(r, t)}{\partial t} = D_{\text{dif}} \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial c(r, t)}{\partial r} \right) \quad (3.5)$$

pie sākuma nosacījuma $c(r, 0) = 0$; $r < R$ un $c(r, 0) = 1$; $r > R$, kas apraksta to, ka visas daļiņas, kuras atradās apstarotajā laukumā, ir izbalinātas (fotodegradētas). Difūzijas

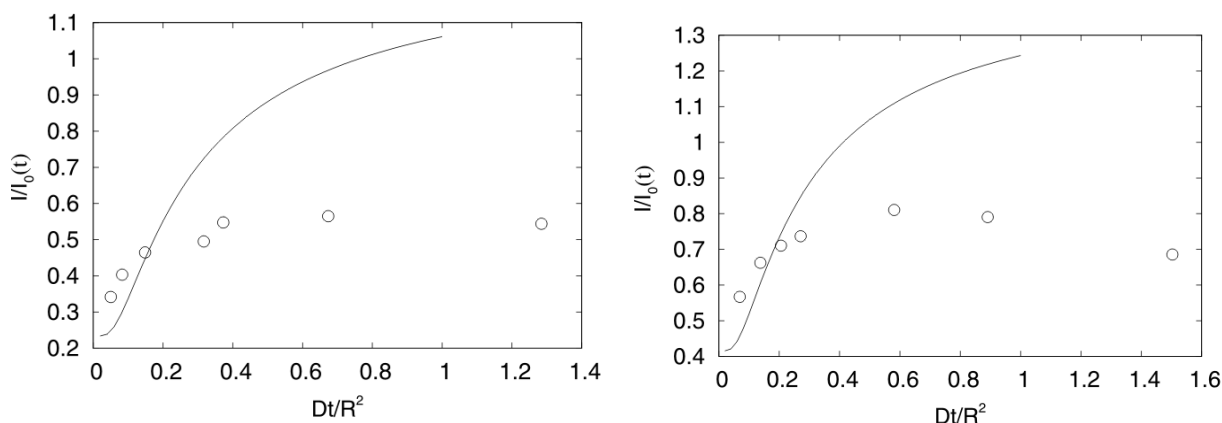
zaudē spēju fluorescēt sakarā ar fotonu izraisītajiem ķīmiskajiem bojājumiem un kovalentās saites modifikāciju.

⁵Eksperimentu veica G.Kitenbergs MMML LU FMF laboratorijā.

procesa rezultātā svaigas daļiņas nokļūst mikroskopa redzes laukā ($0,39 \times 0,3$ mm, ko aproksimējam kā apli ar rādiusu $r_0 = 0,15$ mm). Tādā gadījumā normēta novērotās gaismas summārā intensitāte $I/I_0(t)$ var tikt izteikta kā

$$\frac{I}{I_0}(t) = \frac{2\pi \int_0^{r_0} c(r, t) r dr}{\pi r_0^2}. \quad (3.6)$$

Difūzijas vienādojuma (3.5) skaitliska atrisinājuma rezultātā aprēķinātā funkcija $I/I_0(D_{\text{dif}}t/R^2)$ parādīta 3.10. attēlā ar nepārtrauktu līniju.



3.10. att.: Normētā fluorescentās gaismas intensitāte kā funkcija no bezdimensionāla laika Dt/R^2 . Nepārtrauktā līnija – teorētiski aprēķinātā sakarība, riņķi – eksperimentālie rezultāti. (a) Paraugs 10-1 FF_{Rh}; (b) paraugs 10-4 FF_{Rh}.

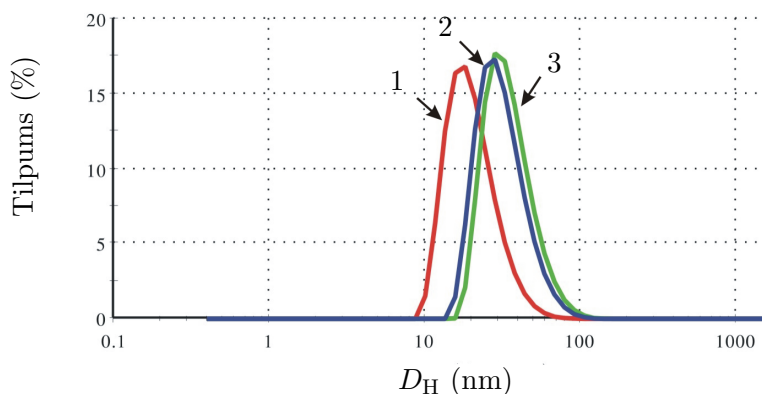
Ņemts vērā, ka sākotnējās fotodegradācijas rezultātā ne visas daļiņas ir tikušas izbalinātas, kā rezultātā sākotnējā fluorescentās gaismas intensitāte ir

$$I/I_0(0) \cong 0,23.$$

Eksperimenta rezultāti, piemēklējot raksturīgā difūzijas laika $\tau_{D_{\text{dif}}} = R^2/D_{\text{dif}}$ vērtību $\tau_{D_{\text{dif}}} = 10^3$ s, parauga 10-1 FF_{Rh} gadījumā attēloti 3.10. (a) attēlā ar riņķiem. Raksturīgais difūzijas laiks atbilst daļiņu difūzijas koeficientam $D_{\text{dif}} = 2,5 \cdot 10^{-6}$ cm²/s, kas ir aptuveni par kārtu lielāks nekā sagaidāmais daļiņām ar hidrodinamisko rādiusu 15 nm, noteiktam ar DGI metodi. Šīs neatbilstības iemesli šobrīd paliek neskaidri. Iespējams, ka koloidālā šķīdumā ne viss rodamīns B ir piesaistīts daļiņām. Otrkārt, acīmredzot daļa no svaigām daļiņām arī tiek fotodegradēta, tās apstarojot ar īsiem gaismas impulsiem. Līdzīga rezultātu apstrāde paraugam 10-4 FF_{Rh} parādīta 3.10. (b) attēlā. Šajā gadījumā novērtētais difūzijas koeficients ir tāds pats kā pirmajā gadījumā. Lai arī 3.10. (a) un (b) attēlos parādītā eksperimentālo un teorētisko rezultātu atbilstība nav perfekta, tomēr iegūtie rezultāti parāda, ka, pirmkārt, ir izdevies sintezēt fluorescentas magnētiskas NDs un, otrkārt, var cerēt, ka uz fotodegradācijas efekta pamata ir iespējams izveidot metodi koloidālu daļiņu difūzijas koeficienta noteikšanai. Piezīmēsim vēl vienīgi, ka lielāko interesi šādas daļiņas izraisa kā marķieri, lai noteiktu to inkorporācijas mehānismus dažādās bioloģiskās struktūrās.

3.2.2. Ar dekstrānu pārklātu magnētisku nanodaļiņu īpašības ūdens vidē

Dzelzs oksīda nanodaļiņu pārklājumam izmantojam dekstrānus ar dažādu molmasu (FF_{deks}) un karboksimetildekstrāna nātrija sāli ($FF_{\text{KM-deks}}$). Pārklāšanu veicām ar divām metodēm, kas aprakstītas eksperimentālajā daļā. *In situ* metode, kad pārklāšana notiek vienlaicīgi ar NDs iegūšanu (pārklājamās nanodaļiņas – Fe_3O_4), un *pēc sintēzes* metode, kad ar dekstrānu apstrādā iepriekš iegūtās $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ NDs. *Pēc sintēzes* pārklāšanai literatūrā ir doti sekojoši procesa nosacījumi: 30 minūtes 60°C temperatūrā [60, 61] vai divas stundas 37°C temperatūrā [62].



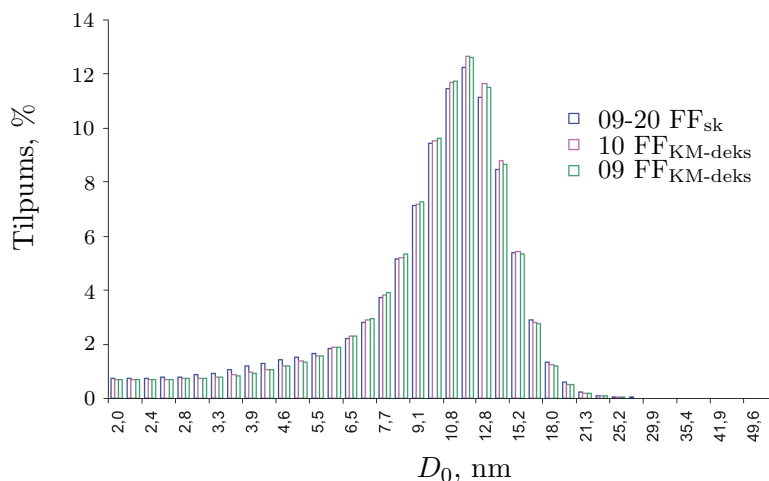
3.11. att.: **Hidrodinamisko diametru sadalījumi: 1. līkne – nepārklātām $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ NDs (09-20 FF_{sk}); 2. līkne – pēc pārklāšanas ar KM-dekstrānu, izmantojot *pēc sintēzes* metodi 37°C temperatūrā (10 $FF_{\text{KM-deks}}$), 3. līkne – 60°C temperatūrā (09 $FF_{\text{KM-deks}}$).**

3.7. tabula: **Ferošķidrumu paraugu, kas parādīti 3.11. attēlā, hidrodinamisko diametru sadalījumu skaitliskie rezultāti.**

Paraugs:	09-20 FF_{sk}	10 $FF_{\text{KM-deks}}$	09 $FF_{\text{KM-deks}}$
NDs magnētiskais diametrs (D_0^{vv}), nm	11,8	11,8	11, 8
Sadalījumu maksimuma NDs vidējais hidrodinamiskais diametrs ($D_{\text{H}}^{\text{vid}}$), nm:	20,92	32,31	35,80
Polidispersitātes indekss (PDI)	0,239	0,133	0,141
Visa sadalījuma NDs vidējais hidrodinamiskais diametrs ($D_{\text{H}}^{\text{Z-Ave}}$), nm:	29,72	40,48	44,59

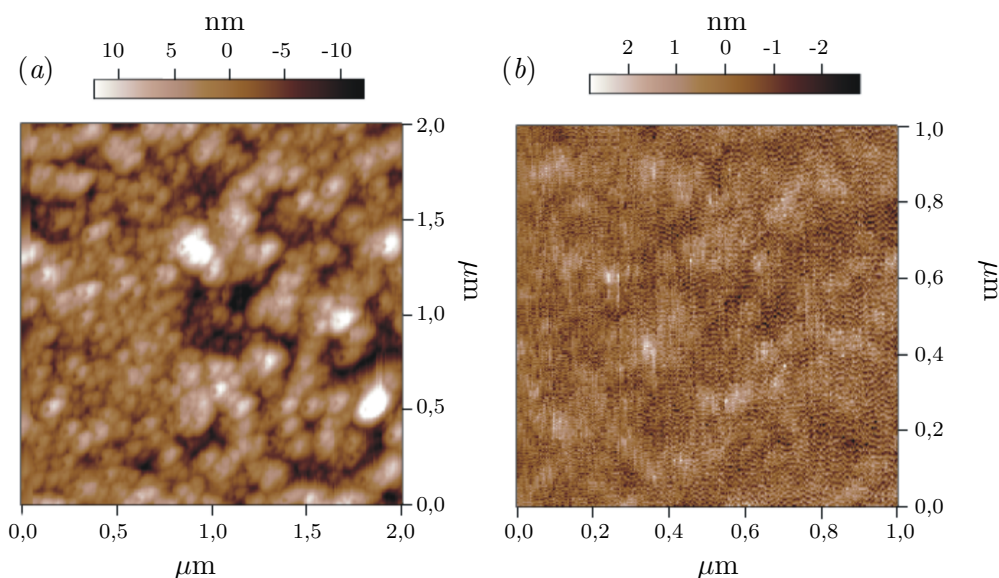
3.11. attēlā parādīti FF paraugu hidrodinamisko diametru sadalījumi paraugam pirms NDs apstrādes ar karboksimetildekstrānu (KM-dekstrānu) (1. līkne) un pēc pārklāšanas, izmantojot *pēc sintēzes* metodi: 2 stundas 37°C temperatūrā (2. līkne), 30 min. 60°C temperatūrā (3. līkne), kas iegūti ar DGI metodi. Tika novērots, ka abos gadījumos iegūtais rezultāts ir praktiski vienāds, ko labi ilustrē iegūto paraugu hidrodinamisko izmēru sadalījumi un dati, kas parādīti 3.7. tabulā. Vēl parādīts, ka NDs pārklāšana ar dekstrāniem palielina to hidrodinamisko diametru un neitēkmē pārklāto NDs magnētisko diametru. Novērotais tika pamatots, salīdzinot attiecīgo paraugu: ar KM-dekstrānu pārklātu (paraugi 09 $FF_{\text{KM-deks}}$, 10 $FF_{\text{KM-deks}}$) un nepārklātu $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ NDs (paraugs 09-20 FF_{sk}) hidrodinamisko diametru sadalījumu (sk. 3.11. att.) un magnētisko diametru sadalījumu histogrammas (sk. 3.12. att.), kas ir noteiktas ar ML metodi. Magnetizācijas līknes un

magnētisko NDs izmēru sadalījumi FF ar nepārklātām un pārklātām mehēmīta NDs ir vienādi.



3.12. att.: Magnētisko diametru sadalījumu histogrammas nepārklātām γ -Fe₂O₃ NDs (09-20 FF_{sk}) un γ -Fe₂O₃ NDs, kas pārklātas ar KM-dekstrānu (09 FF_{KM-deks} un 10 FF_{KM-deks}).

Polidispersitātes indeksa⁶ (PdI) vērtības samazināšanās, pārklājot NDs ar karboksimetildekstrāna nātrija sāli (KM-dekstrāns) (sk. 3.7. tabulā), var tikt skaidrota ar KM-dekstrāna stiprāku piesaistīšanos pie daļiņu virsmas un to, ka KM-dekstrāns novērš daļiņu agregāciju, kas labi atbilst literatūras datiem [60].



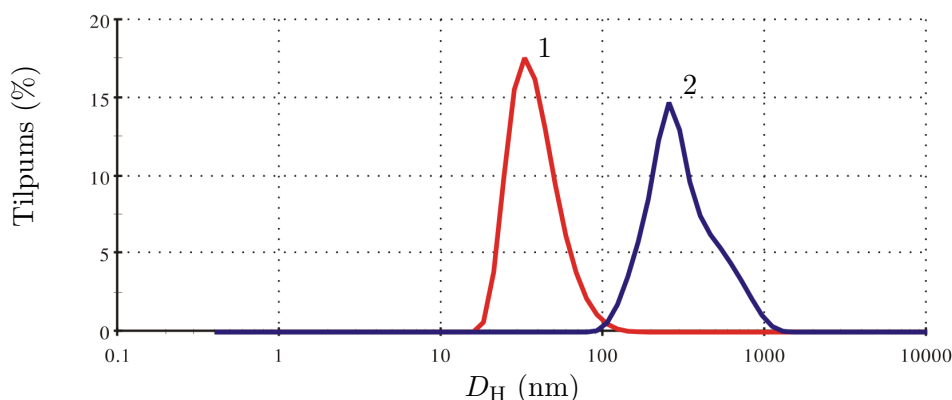
3.13. att.: (a) Ferošķidruma (09-20 FF_{sk}) γ -Fe₂O₃ NDs līdz pārklāšanai un (b) to pašu NDs pēc pārklāšanās ar KM-dekstrānu (09 FF_{KM-deks}) ASM attēli.

Šo parādību ilustrē arī paraugu atomspēku mikroskopijas attēli. 3.13. attēlā parādīti parauga 09-20 FF_{sk} ar nepārklātām γ -Fe₂O₃ nanodaļiņām (sk. 3.13. (a) att.) un parauga 09 FF_{deks} ar KM-dekstrānu pārklātām γ -Fe₂O₃ nanodaļiņām (sk. 3.13. (b) att.)

⁶Polidispersitātes indekss (PdI), kas iegūts, izmantojot DGI ierīci, ir hidrodinamisko diametru sadalījuma standartnovirzes (σ) un vidējā hidrodinamiskā diametra (D_H^{Z-Ave}) vērtības attiecības kvadrāts $PdI = \left(\frac{\sigma}{D_H^{Z-Ave}}\right)^2$ un raksturo sistēmas heterogenitāti pēc daļiņu izmēriem.

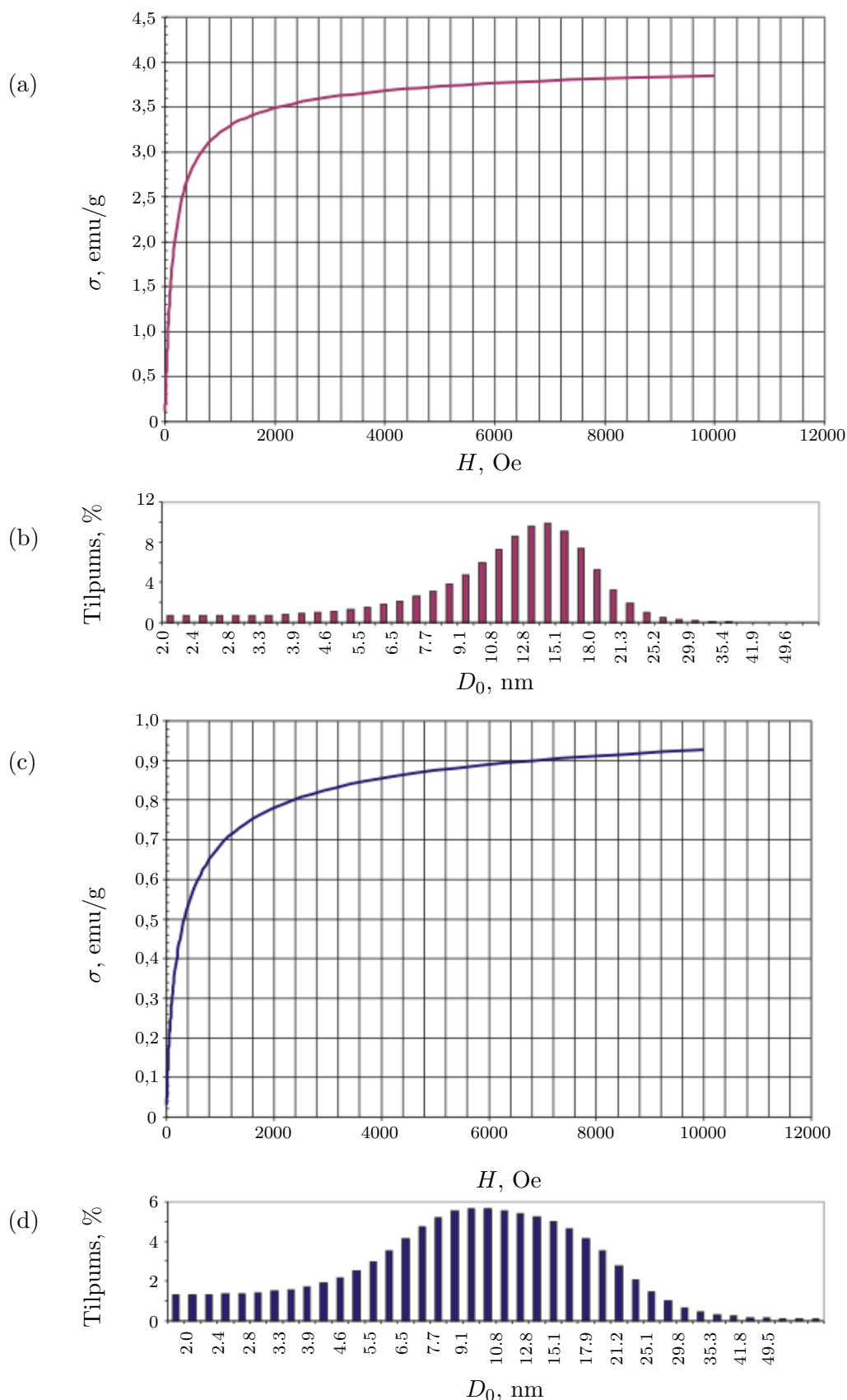
ASM attēli. Redzams, kā nepārklātās nanodaļiņas ASM paraugu sagatavošanas procesā salīp, veido agregātus, un otrādi, NDs, kas pārklātas ar KM-dekstrānu, pateicoties pārklājumam, nav salīpušas, nav agregētas.

Nanodaļiņu pārklāšanas metožu salīdzinājums. Lai noskaidrotu, kā pārklāšanas metodes – *pēc sintēzes* un *in situ*, ietekmē nanodaļiņu izmērus, tika iegūti paraugi (07 FF_{deks} un 12 FF_{deks}), izmantojot dekstrānu 100 nanodaļiņu pārklāšanai. Paraugi tika pētīti ar DGI (3.14. att.) un ML metodēm (3.15. att.). Pētīto paraugu magnētiska ferrošķidrums raksturojošie lielumi, kas iegūti ar magnetizācijas līknes metodi un nanodaļiņu hidrodinamiskie diametri, kas iegūti ar dinamiskās gaismas izkliedes metodi, apkopoti 3.8. tabulā. 3.14. attēlā 1. līkne ir NDs hidrodinamisko diametru sadalījums daļiņām, kas pārklātas ar *pēc sintēzes* metodi: $D_H^{Z-Ave} = 48,3$ nm, PdI = 0,120. Savukārt, 3.14. attēlā 2. līkne raksturo NDs, pārklātu ar *in situ* metodi, hidrodinamisko diametru sadalījumu: $D_H^{Z-Ave} = 271,4$ nm, PdI = 0,241.



3.14. att.: Ar dekstrānu 100 pārklātu nanodaļiņu hidrodinamisko diametru sadalījumi: 1. līkne – pārkļāšana veikta ar *pēc sintēzes* metodi (07 FF_{deks}); 2. līkne – pārkļāšana veikta ar *in situ* metodi (12 FF_{deks}).

Attiecīgo paraugu (07 FF_{deks} un 12 FF_{deks}) magnetizācijas līknes un NDs izmēru sadalījumu histogrammas parādītas 3.15. attēlā. Tika salīdzinātas magnetizācijas līknes un NDs izmēru sadalījumi ferrošķidrums, kuriem pārklāšana veikta, izmantojot gan *pēc sintēzes* metodi (3.15. (a), (b) att.) gan *in situ* metodi (3.15. (c), (d) att.). Parādīts, salīdzinot 3.15. attēlā (b) un (d) histogrammas, ka dekstrāns ietekmē NDs nukleāciju līdzizgulsnēšanās reakcijā, ko redzam, salīdzinot magnētisko NDs diametru (D_0) daļiņām, iegūtām ar *in situ* un *pēc sintēzes* metodēm (sk. 3.8. tabulu). Ar *pēc sintēzes* pārklāšanu ar dekstrānu 100, iegūto nanodaļiņu, kuru ir visvairāk ferrošķidrums, magnētiskais diametrs ($D_0^{yv} = 13,8$ nm) ir ievērojami lielāks nekā daļiņām, kas iegūtas, pārklājot NDs ar dekstrānu 100, lietojot *in situ* metodi ($D_0^{yv} = 9,5$ nm), kas labi atbilst *Pardoe* un līdz. [58] viedoklim, ka polimēra izmantošana NDs sintēzes procesa gaitā ierobežo daļiņu izmēru.

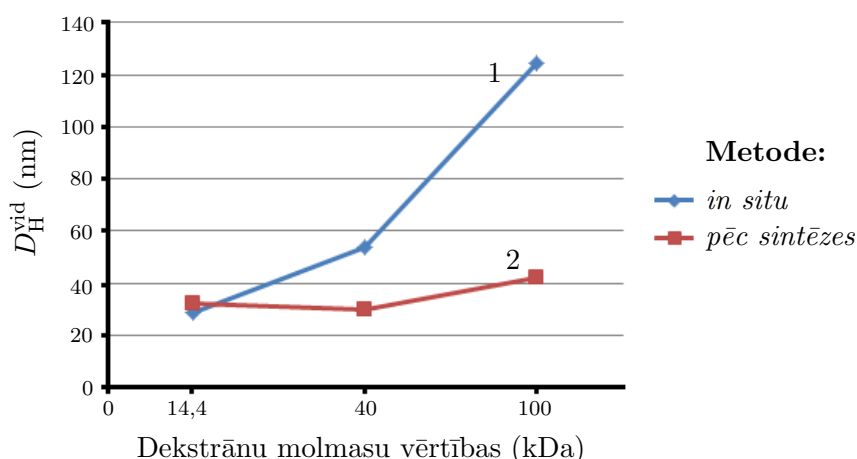


3.15. att.: Parauga 07 FF_{deks} (a) magnetizācijas līkne un (b) izmēru sadalījuma histogramma $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ NDs, pārklātām ar dekstrānu 100 (pārklāšana ar *pēc sintēzes* metodi). Parauga 12 FF_{deks} (c) magnetizācijas līkne un (d) izmēru sadalījuma histogramma Fe_3O_4 NDs, pārklātām ar dekstrānu 100 (pārklāšana ar *in situ* metodi).

3.8. tabula: Magnētisko materiālu raksturojošie lielumi, kas iegūti ar magnetizācijas līknes un DGI metodēm, ar dekstrānu 100 pārklātām ferošķidrumu NDs (sk. 3.15. att.), izmantojot *pēc sintēzes* un *in situ* pārklāšanas metodes.

Paraugs:	07 FF _{deks}	12 FF _{deks}
Pārklāšanas veids:	<i>pēc sintēzes</i>	<i>in situ</i>
Parauga pH :	1,50	7,50
Piesātinājuma magnetizācija (M_s), emu/g:	3,85	0,93
Sākotnējā uzņēmība (χ), cm ³ /g:	$2,36 \cdot 10^{-2}$	$6,40 \cdot 10^{-3}$
NDs magnētiskais moments (m_i), emu:	$6,70 \cdot 10^{-16}$	$2,20 \cdot 10^{-16}$
Dzelzs oksīda koncentrācija, mas.‰ :	5,08	1,12
Mehemīta tilpumu daļa ($\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}}$), %:	1,04	0,22
Nanodaļiņu, kuru ir visvairāk FF, diametrs (D_0^{v}), nm:	13,8	9,50
Maksimālais nanodaļiņu diametrs (D_0^{max}), nm:	18,4	19,3
Minimālais nanodaļiņu diametrs (D_0^{min}), nm:	9,30	5,40
PdI	0,146	0,241
Vidējais daļiņu hidrodinamiskais diametrs ($D_H^{\text{Z-Ave}}$), nm	40,7	271
Daļiņu sadalījuma maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs (D_H^{vid}), nm	39,8	338

Lai noskaidrotu kā dekstrānu molekulsvars ietekmē dzelzs oksīda nanodaļiņu pārklājumu, tika veikta NDs pārklāšana ar dažādu molekulsvaru dekstrāniem, izmantojot *pēc sintēzes* un *in situ* metodes. Iegūtie paraugi tika pētīti ar ML un DGI metodēm (paraugu nanodaļiņu magnētiskie un hidrodinamiskie diametri parādīti 3.9. tabulā). Apkopojot ar DGI metodi iegūto NDs hidrodinamisko diametru sadalījumu datus atkarībā no pārklāšanas metodēm un pārklājošā materiāla molekulsvara, tika grafiski atrasta hidrodinamisko diametru lielumu atkarība no pārklājošā dekstrānu molekulsvara, kas ir parādīta 3.16. attēlā.



3.16. att.: Dzelzs oksīda NDs hidrodinamisko diametru sadalījumu maksimuma vidējā hidrodinamiskā diametra D_H^{vid} atkarība no pārklājošā dekstrāna molmasas. 1. līkne – pārklāšana ar *in situ* un 2. līkne – ar *pēc sintēzes* metodēm.

Pārklājot NDs ar dekstrānu, kam lielāka molmasa, NDs hidrodinamiskais diametrs arī ir lielāks. Izmantojot pārklāšanai *in situ* metodi, šī sakarība ir ievērojami izteiktāka (sk.

3.16. att. 2. līkne). Ar magnetizācijas līknes metodi tika noteikti ferošķidrumu magnētisko kodolu izmēri (D_0) ar dekstrāniem pārklātām Fe_3O_4 nanodaļiņām, kad pārklāšana notiek vienlaicīgi ar MNDs nukleāciju. Tā, piemēram, izmantojot KM-dekstrānu, pārsvarā veidojas nanodaļiņas ar $D_0^{\text{v}} = 6,60$ nm, savukārt, izmantojot dekstrānu 40 un dekstrānu 100, NDs diametri ir 8,63 nm un 11,0 nm, attiecīgi (sk. 3.9. tabulā). Līdzizgulsnēšanas reakcijās KM-dekstrāna klātbūtnē izveidoto NDs magnētisko diametru mazākus lielumus varam skaidrot ar KM-dekstrāna stiprāku piesaistīšanos pie daļiņu virsmas, kas labi atbilst literatūras datiem [59], salīdzinājumā ar vājāku dekstrāna mijiedarbību, kuru veido ūdeņraža saites [51, 67]. Tātad, ņemot vērā lielas pārklāto NDs hidrodinamisko diametru vērtības un mazas magnētisko nanodaļiņu izmēra vērtības, varam secināt, ka izmantojot pārklājuma *in situ* metodi, dekstrāns var apvalkot daļiņu agregātus, veidojot agregātus ar lielu hidrodinamisko diametru.

3.9. tabula: **Magnētisko nanodaļiņu, pārklātu ar dažādu molmasu dekstrāniem, aprēķināto ($D_{\text{H}}^{\text{apr}}$) un eksperimentāli iegūto hidrodinamisko diametru salīdzinājums ($D_{\text{H}}^{\text{vid}}$ ir sadalījumu maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs).**

Paraugs	Izmantojamais dekstrāns (molekulsvars)	D_0^{v} (nm)	$D_{\text{H}}^{\text{vid}}$ (nm)	$D_{\text{H}}^{\text{apr}}$ (nm)	$\frac{D_{\text{H}}^{\text{vid}}}{D_{\text{H}}^{\text{apr}}}$
<i>Pēc sintēzes:</i>					
10 FF _{KM-deks}	KM-dekstrāns (14,4 kDa)	11,90	32,05	20,00	1,60
16 FF _{deks}	dekstrāns (40 kDa)	15,90	29,72	28,48	1,04
07 FF _{deks}	dekstrāns (100 kDa)	13,80	42,01	32,46	1,29
<i>In situ:</i>					
11 FF _{KM-deks}	KM-dekstrāns (14,4 kDa)	6,60	28,91	14,70	1,97
08 FF _{deks}	dekstrāns (40 kDa)	8,63	53,57	21,21	2,53
06 FF _{deks}	dekstrāns (100 kDa)	11,00	124,2	29,66	4,19

Senti un līdz. [182], pētot dekstrānu ar dažādām molmasām īpašības, atrada, ka polimēra molmasa un tā girācijas rādiuss⁷ (R_g) ir saistīti kā

$$R_g[\text{Å}] = 0,66M_w^{0,43}, \quad (3.7)$$

kur M_w ir dekstrānu molmasa. Aprēķinātie girācijas rādiusi izmantotam tīram dekstrānam šķīdumā ir sekojoši:

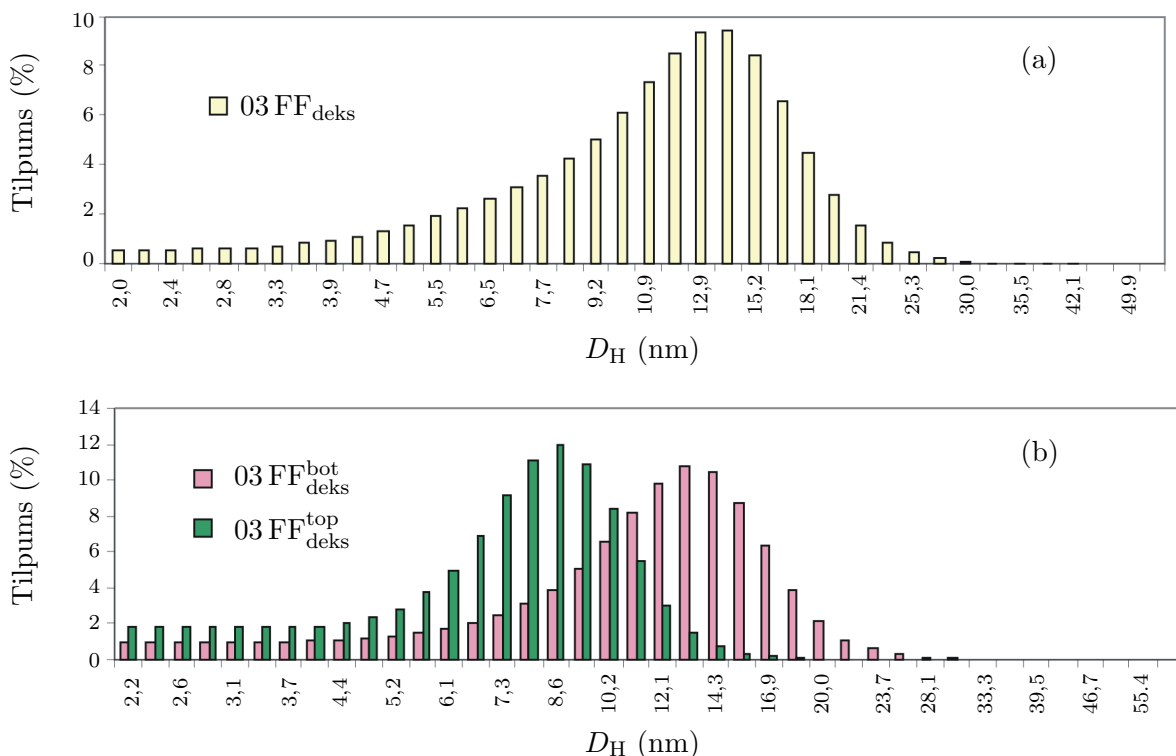
$$\begin{aligned} \text{dekstrānam 100} & R_g = 9,33 \text{ nm}; \\ \text{dekstrānam 40} & R_g = 6,29 \text{ nm}; \\ \text{KM-dekstrānam} & R_g = 4,05 \text{ nm}. \end{aligned}$$

Tika aprēķināts varbūtējais pārklāto NDs hidrodinamiskais diametrs, izmantojot sekojošu sakarību: $D_{\text{H}}^{\text{apr}} = D_0^{\text{v}} + 2R_g$, kur D_0^{v} ir NDs, kuru ir visvairāk konkrētā ferošķidrumā, magnētiskais diametrs; R_g ir izmantotā dekstrāna girācijas rādiuss. 3.9. tabulā salīdzināti aprēķinātie un eksperimentāli, ar dinamiskās gaismas izkliedes metodi noteiktie hidrodinamiskie diametri nanodaļiņām, kas pārklātas ar dekstrānu. Eksperimentāli ar DGI metodi

⁷Girācijas rādiuss raksturo objekta masas sadalījumu tilpumā. Ja visa tā masa ir koncentrēta vienā punktā, tā girācijas rādiuss ir nulle.

noteiktās reālās hidrodinamisko diametru vērtības ir lielākas, salīdzinot ar aprēķinātajām, kas, acīmredzot, arī apstiprina daļiņu aglomerāciju pārklāšanas procesā un to, ka nanodaļiņas ir pārklātas vairāk nekā ar vienu dekstrāna slāni. Lielāka NDs aglomerācija raksturīga tām veidojoties līdzizgulsnēšanas procesā dekstrāna šķīduma klātbūtnē (*in situ*).

Augstgradienta magnētiskā separācija un ferošķidruma koncentrēšana. Dialīzes un centrifugēšanas procesu gaitā FF tiek atšķaidīts. Turklāt, izmantojot pārklāšanai *in situ* metodi, iegūto nanodaļiņu izmēru sadalījums ir diezgan plašs. Lai atdalītu ļoti maza izmēra nanodaļiņas no lielām, izmanto augstgradienta magnētisku separāciju.



3.17. att.: Ar dekstrānu 100 pārklātu magnētisko NDs diametru (D_0) sadalījumu histogrammas (a) līdz un (b) pēc augstgradienta magnētiskās separācijas. Augšējā frakcija – paraugs 03 FF_{deks}^{top}, apakšējā frakcija – 03 FF_{deks}^{bot}. Pārklāšana veikta ar *pēc sintēzes metodi*.

Augstgradients magnētiskais lauks tiek realizēts mēģenē, kurā ievieto niķeļa stiepli (Ni pastiprina magnētiskā lauka iedarbību). Ar FF aizpildītā mēģene tiek piestiprināta pie pastāvīga magnēta. Separācija turpinās atkarībā no izmantotā pārklājuma dekstrāna molmasas no 7 līdz pat 20 dienām. Lielāks laiks separācijai nepieciešams NDs, pārklātām ar mazas molmasas dekstrāniem. Tā kā magnēts atrodas zem mēģenes, kur notiek separācija, fāze, kur atrodas liela izmēra magnētiskas NDs, tiek nosaukta par **apakšējo** (bot) frakciju. Un otrādi, fāze ar maza izmēru NDs tiek apzīmēta par **augšējo** (top) frakciju.

Ar dekstrānu 100 pārklātu magnētisku nanodaļiņu, izmantojot *pēc sintēzes metodi* (paraugs 03 FF_{deks}) magnētisko diametru (D_0) sadalījumu histogrammas, iegūtas ar magnētiskās līknes metodi, līdz un pēc augstgradienta magnētiskās separācijas (14 dienu

laikā) parādītas 3.17. attēlā. Ar magnetizācijas līknes un DGI metodēm iegūto paraugu 03 FF_{deks} pirms un pēc augstgradienta magnētiskās separācijas raksturojošie lielumi apkopoti un salīdzināti 3.10. tabulā.

3.10. tabula: Ar dekstrānu 100 pārklātu magnētisko nanodaļiņu (γ -Fe₂O₃) (03 FF_{deks}) raksturojošie lielumi, iegūti ar magnetizācijas līknes un DGI metodēm, līdz un pēc augstgradientās magnētiskās separācijas.

Paraugs:	03 FF _{deks}	03 FF _{deks} ^{top} augšējā frakc.	03 FF _{deks} ^{bot} apakšējā frakc.
Piesāt. magnetiz. (M_s), emu/g:	2,25	0,22	3,29
Sākotnējā uzņēm. (χ), cm ³ /g:	$1,19 \cdot 10^{-2}$	$2,43 \cdot 10^{-4}$	$1,32 \cdot 10^{-2}$
NDs, kuras visvairāk FF, magn. moments (m_i), emu:	$7,04 \cdot 10^{-16}$	$1,21 \cdot 10^{-16}$	$4,63 \cdot 10^{-16}$
γ -Fe ₂ O ₃ konc., mas%:	2,99	0,29	4,43
γ -Fe ₂ O ₃ tilp. daļa ($\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}}$), %:	0,61	0,05	0,90
NDs, kuru ir visvairāk FF, diametrs (D_0^{vv}), nm:	14,0	7,80	12,2
Maks. NDs diametrs (D_0^{max}), nm:	18,3	15,8	9,8
Mīn. NDs diametrs (D_0^{min}), nm:	8,40	5,80	8,70
Sadalījumu maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs (D_H^{vid}), nm:	40,9	26,6	131
Aprēķinātais hidrodinamiskais diametrs (D_H^{apr}), nm:	32,7	26,5	30,9
Eksperimentāli noteiktā NDs hidrodinamiskā diametra attiecība pret aprēķināto, $D_H^{\text{vid}}/D_H^{\text{apr}}$:	1,25	1,01	4,24

Analizējot datus, kuri parādīti 3.10. tabulā, varam secināt, kā augšējās frakcijas sadalījumu maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs ir ievērojami mazāks, nekā apakšējās frakcijas hidrodinamiskais diametrs. Eksperimentālais mērījums sakrīt ar aprēķināto hidrodinamisko diametru. Lielo apakšējās frakcijas pārklāto nanodaļiņu hidrodinamisko diametru vērtību var saistīt ar magnētiskā lauka ilgstošas iedarbības ietekmi. Pārklātās NDs ar lielu magnētisko diametru (D_0) ir agregētas. Apakšējās frakcijas polidispersitātes indeksa vērtība ir maza (PdI = 0,161). Augšējās frakcijas PdI = 0,386. Lai arī apakšējās frakcijas polidispersitātes indeksa vērtība ir maza, salīdzinot ar augšējās frakcijas, tomēr teorētiski aprēķināto un eksperimentāli noteikto hidrodinamisko diametru attiecība apakšējai frakcijai ir 4x lielāka (4,24) nekā augšējai (1,01) (sk. 3.10. tabulu).

3.3. Magnētisko koloīdu hidrodinamika un siltumfizika

3.3.1. Magnētiskā mikrokonvekcija

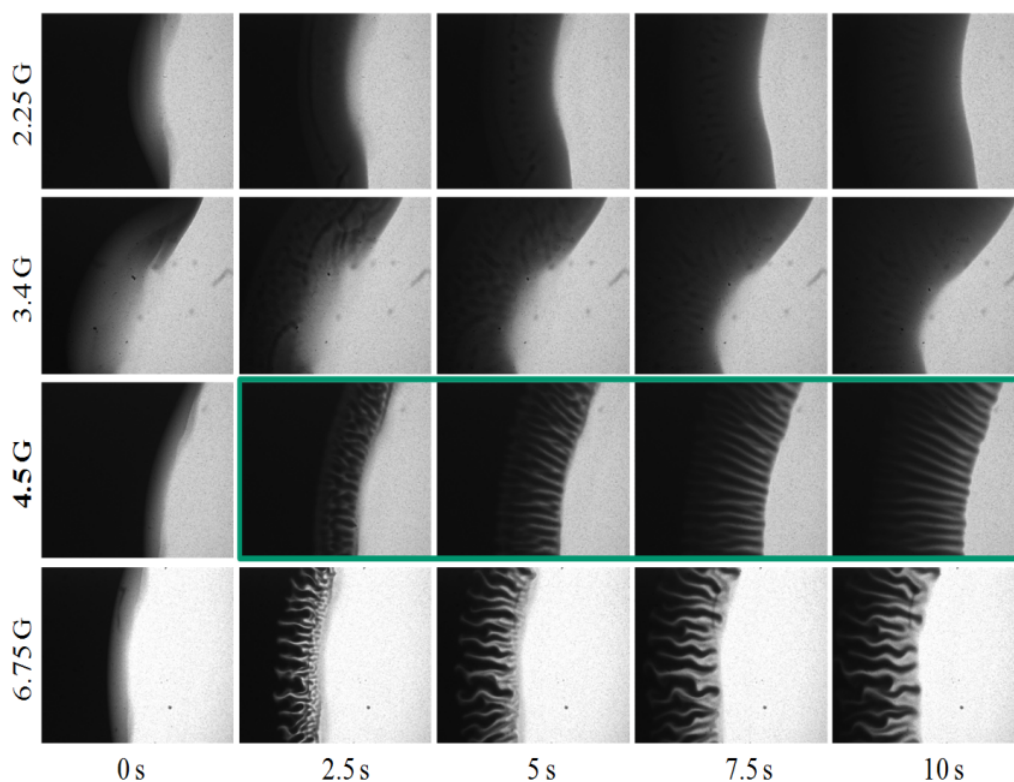
Tika pētīta mikrokonvekcija, inducēta ar pastāvīgu magnētisku lauku. Tas ir interesanti samaisīšanas procesu intensifikācijai mikrofluidikā. Magnētiskā mikrokonvekcija ir parādība, kas novērojama, sajaucoties magnētiskajam šķidrumam un citam sajakstīgam šķidrumam homogēnā magnētiskajā laukā. Tās rezultātā uz šķidrumu sajakšanās frontes veidojas hidrodinamiskas nestabilitātes, kas, tālāk attīstoties, iegūst raksturīgu pirkstveida formu magnētiskā pašlauka radīto ponderomotoro spēku dēļ.

Eksperimentāli mikrokonvekcija tiek pētīta Hele-Šou šūnā, kuras gareniskie izmēri daudzkārt pārsniedz biezumu ($10,0 \times 10,0 \times 0,127$ mm). Mikrokonvekcijas eksperimentā izmantotā ferošķidruma (paraugs 09-02 FF_{sk} ar γ -Fe₂O₃ NDs) raksturojošie lielumi, iegūtie ar magnetizācijas līknes metodi, parādīti 3.3. tabulā. Magnētisko nanodaļiņu tilpumu daļa $\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}} = 1,62\%$, kas ir 76% no kopējās, noteiktās ar ķīmisko analīzi, tilpumu daļas ($\Phi_{\text{tilp}}^{\text{an}} = 2,18\%$).

Šūna tiek ievietota spolē, kas rada homogēnu magnētisko lauku perpendikulāri šūnas plaknei. Sākotnēji tiek iepildīts ferošķidrums no viena šūnas gala, līdz tas aizņem pusi no šūnas, veidojot pusmēness formas izliekumu. Tad no otra gala lēni tiek iepildīts ūdens, līdz abu šķidrumu virsmas saskaras. No saskaršanās brīža notiek atšķirīgo koncentrāciju izsaukta samaisīšanās, kuru papildina magnētiskās mikrokonvekcijas parādība, ja magnētiskais lauks pārsniedz sliekšņa vērtību. Magnētisko NDs koncentrācijas lauku attēli iegūti ar mikroskopu, kas aprīkots ar daļiņu attēlu ātrumu mērīšanas (DAAM) iekārtu (*Dantec Dynamics*). Magnētisks šķidrums, kas ievietots ārējā homogēnā magnētiskā laukā, rada, atkarībā no tā konfigurācijas, nehomogēnu magnētisko lauku. Starp ferošķidrumu un tīro nesešķidrumu (ūdens) veidojas difūzs robežslānis, kurā daļiņu koncentrācija samazinās līdz nullei. Ja uz slāni darbojas tam perpendikulārs magnētiskais lauks, difūzā robežslānī veidojas nehomogēns inducētais lauks. Tā rezultātā uz magnētisko koloīdu darbojošais lauks pieaug nesešķidruma virzienā. Tā kā ponderomotorais spēks, kurš darbojas uz magnetizējošos vidi, ir proporcionāls tā magnetizācijai un tātad magnētisko daļiņu koncentrācijai, tad, līdzīgi kā nehomogēni sasildīta šķidruma konvektīvās nestabilitātes gadījumā, veidojas konvektīvā nestabilitāte.

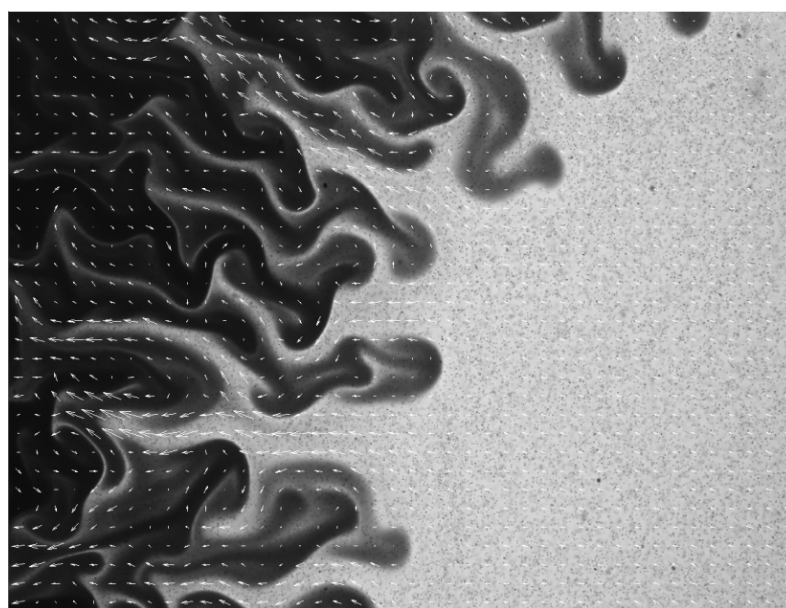
Kritisko lauka vērtību nosaka magnētiskais Releja skaitlis, kurš raksturo attiecību starp raksturīgo šķidruma kustības laiku un daļiņu difūzijas laiku. Šī parādība tika atklāta ZA Fizikas institūtā 1983. gadā [183], bet tās adekvāts modelis tika izveidots 1994. gadā [184], tomēr eksperimentāli dotā parādība ir palikusi praktiski neizpētīta. Izmantojot Magnētisko Mīksto Materiālu Laboratorijas (MMML, FMF LU) eksperimentālās iespējas⁸ un sintezētos ferošķidrumus, pirmo reizi pasaulē tika reģistrēti FF mikrokonvektīvās kustības ātrumu lauki un to evolūcija laikā, kas aprakstītas mūsu grupas publicētajā darbā [185].

⁸Eksperimentu veica K.Ērglis un G.Kitenbergs MMML LU FMF laboratorijā.



3.18. att.: Mikrokonvektīvās kustības dinamika atkarībā no magnētiskā lauka intensitātes un laika [185].

Mikrokonvektīvās kustības dinamika laikā ir parādīta 3.18. attēlā, kur var skaidri redzēt, ka mikrokonvektīvā kustība rodas, magnētiskam laukam pārsniedzot sliekšņa vērtību, kura ir apmēram 3 G. Reģistratīvā ātruma lauka reģistrācija parādīta 3.19. attēlā.



3.19. att. Reģistratīvā ātruma lauka reģistrācija [185].

Noteiktie ātruma lauki ļāva noteikt kustības virpuļainības evolūciju laikā. Mikrokonvektīvā kustība attīstoties sasniedz savu maksimumu, bet tālāk dzīest daļiņu difūzijas

dēļ, izlīdzinoties koncentrācijām starp veidojošiem magnētiskiem pirkstiem. Tas ilustrē magnētiskās mikrokonvekcijas potenciālo izmantošanu mikrofluidikā, jo, attīstoties mikrokonvekcijai un tai dziestot, tiek panākta būtiska magnētisko daļiņu un nesējšķidruma samaisīšanās. Ir labi zināms, ka dažādu šķidrumu samaisīšana ir būtiska problēma mikrofluidikā. Eksperimentālais rezultāts kvalitatīvi atbilst iepriekš veiktajām (TFK FMF LU) dotās parādības skaitliskām simulācijām [185].

Jāpiezīmē, ka, veicot ātruma lauku mērījumus, tika atrasts, ka, neskatoties uzniecīgām blīvumu starpībām starp magnētisku koloīdu ($\rho = 1,077$ g/ml) un nesējšķidrumu (ūdens $\rho = 1$ g/ml), būtiska nozīme ir arī gravitācijas spēku izsauktai kustībai.

3.3.2. Termoforēze

Ir zināms, ka koloīdos eksistē tā saucamais termoforēzes efekts, kurš raksturojas ar daļiņu kustību temperatūras gradienta iespaidā. Tā lielumu raksturo Soret koeficients S_T , kā rezultātā koloidālo daļiņu plūsmu var izteikt kā

$$j = -D\nabla c - DS_T c \nabla T, \quad (3.8)$$

kur D ir daļiņu difūzijas koeficients un c ir daļiņu koncentrācija tilpuma vienībā.

Literatūrā [186] dota teorētiska sakarība starp termodifūzijas koeficientu S_T un lādētas koloidālas daļiņas elektrofizikāliem parametriem. Lādēto koloidālu daļiņu termodifūzijas modeli izstrādājis *Morozovs* [186], kurš parādīja, ka Soret koeficients ir atkarīgs no Debaja un daļiņu rādiusu attiecības, kā arī koloidālo daļiņu virsmas potenciāla φ_v

$$S_T = -\frac{3}{4} \frac{R_H}{L_B T} u(\lambda, \varphi_v). \quad (3.9)$$

R_H ir nanodaļiņu hidrodinamiskais rādiuss un $L_B = e^2/\varepsilon k_B T$ ir Bjerruma garums⁹; e – elementārais elektriskais lādiņš, ε – dielektriskā caurlaidība. Termodifūzijas kustību raksturojošā funkcija $u(\lambda, \varphi_v)$ ir atkarīga no attiecības λ starp dubultslāņa biezumu un nanodaļiņu rādiusu R_0

$$\lambda = \frac{r_D}{R_0}$$

un $\varphi_v = e\varphi_{R_0}/k_B T$ – nanodaļiņu virsmas potenciāla, izteikta bezdimensionālās vienībās, kur

$$\varphi_{R_0} = \frac{2k_B T}{e} \operatorname{arcsch} \frac{2\pi\sigma L_B}{ke}, \quad (3.10)$$

kur k – siltumvadītspējas koeficients. Dubultslāņa biezumu izsaka ar Debaja garumu r_D un atrod pēc formulas:

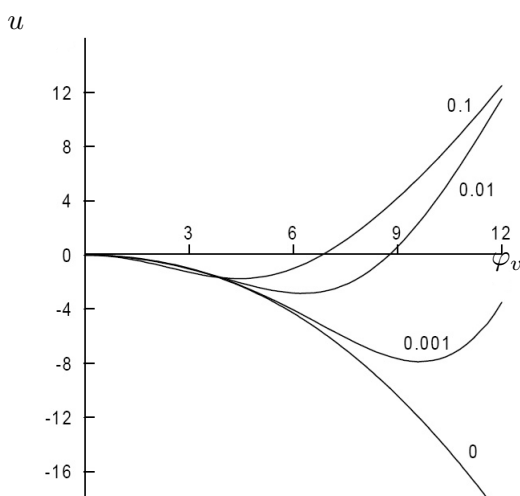
$$r_D = \frac{1}{\sqrt{4\pi N_A L_B \sum c_i z_i^2}}, \quad (3.11)$$

kur z_i ir jonu ar koncentrāciju c_i lādiņš. Teorētiskās modelēšanas rezultāti dažādu para-

⁹Divu lādētu daļiņu attālums, pie kura to elektostatiskās mijiedarbības enerģija ir vienāda ar siltumkustības enerģiju.

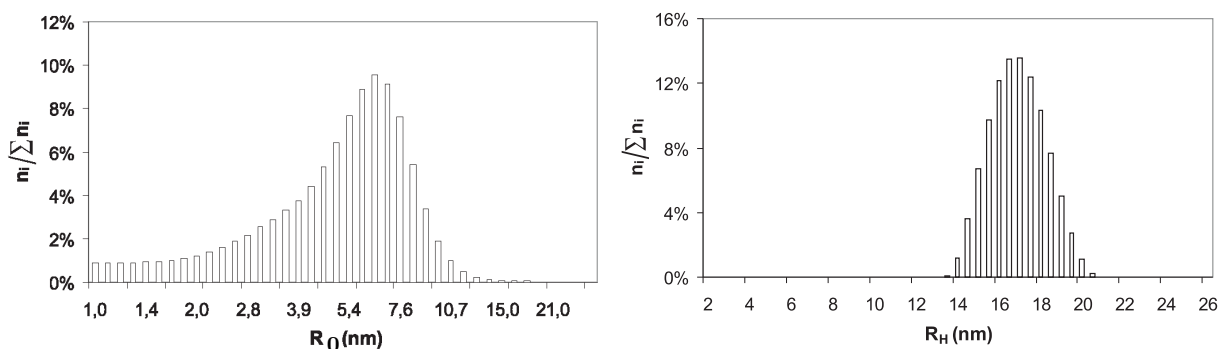
metra λ vērtībām parādīti 3.20. attēlā [186].

Mūsu darba [187] mērķis bija dotās pārādības un teorētisko modelēšanas eksperimentāla pārbaude.



3.20. att.: Termofūzijas ātrums u kā funkcija no nanodaļiņu virsmas potenciāla ζ un koeficienta λ (tā vērtības norādītas pie līknēm) [186].

Šim nolūkam tika sintezēti mehēmīta γ -Fe₂O₃ nanodaļiņu koloīdi. Pirmais paraugs S1 tika sintezēts kā "ideālais" teorētiskā modeļa pārbaudei. Tā nanodaļiņām ir pozitīvs virsmas lādiņš. Ferokoloīda pH=1,6. Daļiņu tilpuma koncentrācija $\Phi_{\text{tilp}} = 1,6\%$. Debaja garums atbilstoši (3.11) vienādojumam ir 1,96 nm. Nanodaļiņu rādiusa R_0 sadalījums, kas tika noteikts ar magnetizācijas līknes metodi, parādīts 3.21. (a) attēlā.



3.21. att.: Paraugam S1 (a) magnētisku nanodaļiņu izmēru sadalījums materiālā; (b) nanodaļiņu hidrodinamisko rādiusu sadalījums paraugā [187].

Vidējais magnētiskais rādiuss (R_0) S1 paraugam ir 7,4 nm (vidējais magnētiskais rādiuss ir 6,6 nm un mehēmīta režģa konstante ir 0,8 nm). Soret koeficienta mērījumi dod sekojošu S_T lielumu $-0,17 \pm 0,01 \text{ K}^{-1}$. Nanodaļiņu hidrodinamiskais rādiuss tika noteikts ar Zetasizer Nano S90 aparātu. Iegūtie rezultāti parādīti 3.21. (b) attēlā. S1 paraugam iegūtais vidējais hidrodinamiskais rādiuss R_H ir 17 nm.

Salīdzinot eksperimentāli noteikto hidrodinamisko rādiusu R_H ar aprēķināto hidrodinamisko rādiusu (magnētisko daļiņu rādiusam 6,6 nm pieskaitot režģa konstanti un dubultslāņa biezumu, iegūstam 9,4 nm), redzam, ka eksperimentāli noteiktais hidrodina-

miskais rādiuss ir aptuveni divas reizes lielāks par aprēķināto. Tad var uzskatīt, ka koloīdā notiek neliela daļiņu agregācija.

Otrais paraugs S2 sintezēts ar nolūku iegūt aglomerēto daļiņu apvalkā. Cietu $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanodaļiņu tilpumu daļa ir 3,0%. NDs tika disperģētas glicerīna:ūdens (tilp.% attiecībā 50:50) šķīdumā. Aprēķinātā dielektriskā caurlaidība $\varepsilon = 63$, tad tam atbilstošā Bjerruma garuma vērtība maz atšķirās no tās vērtības ūdenī. Magnētisko nanodaļiņu virsmas lādiņš ir pozitīvs, koloīda pH ir 1,2. Aprēķinātais kopējais jonu spēks ir 0,126 mol/l, Debaja garums ir 1,09 nm. Ar DGI metodi noteiktais vidējais rādiuss $R_H = 35$ nm pie $T = 20^\circ\text{C}$ ir divreiz lielāks nekā paraugam S1. Šāda tipa NDs aglomerācija tika pētīta [188] darbā. Tika atrasts, ka NDs tilpuma koncentrācija aglomerātos, neatkarīgi no dažādu parametru vērtībām, ir 24%. Papildus testi rāda, ka agregācija ir atgriezeniska un neved pie flokulācijas un nogulsniem [188].

3.11. tabula: **Sintezēto paraugu datu analīze saskaņā ar teorētiski aprēķinātiem rezultātiem [187].**

Paraugs	vide	šķidrums pH	Debaja garums, r_D (nm)	NDs rādiuss, R_0 (nm)	NDs hidrodin. rādiuss, R_H (nm)
S1	ūdens	1,6	2,0	7,4	17
S2	ūdens: glicerīns (1:1)	1,2	1,1	7,9	35
Paraugs	Soret koef. S_T (K^{-1})	termodif. kustības ātrums, u	attiecība, $\lambda = r_D/R_0$	nanodaļiņu virsmas potenciāls φ_v	φ_v pretrunas ar teorēt. modeli
S1	-0,17	2,78	0,27	6,1	20%
S2	-0,11	0,86	0,14	5,4	20%

Zinot eksperimentāli noteikto virsmas lādiņa blīvumu $\sigma < 0,20$ C/m² [32] un koloidālo daļiņu izmērus (R_0 un R_H rādiusi), pēc darbā [187] dotajām formulām no eksperimentāli noteiktiem termodifūzijas koeficientiem koloīdiem ar dotajām pH vērtībām, aprēķinātas eksperimentā novērotās virsmas vērtības salīdzinātas ar teorētiski aprēķinātām. Šo vērtību salīdzinājums kopā ar raksturīgiem koloīdu parametriem parādīts 3.11. tabulā.

Eksistējošā lādētās nanodaļiņas termodifūzijas teorētiskā modeļa salīdzinājums ar eksperimentālajiem datiem parādīja 20% atšķirību. Galvenais šādas nesakritības iemesls ir dažādās teorētiskās metodes dubultslāņa biezuma novērtēšanai, kā arī nanodaļiņu izmēru sadalījuma polidispersitāte.

3.4. Iegūto magnētisko liposomu īpašības

Vezikulas (vai liposomas) – sfēriski veidojumi ar ieslēgumu to centrā, kurus no apkārtējās vides norobežo membrāna. Ja membrānu veido lipīdu bislānis, šo sfērisko veidojumu sauc par **liposomu**. Lipīda bislānī lipofīlās daļas atrodas viena pret otru, bet polārā daļa veido liposomas ārējo un iekšējo virsmu. Ja liposomas iekšējais tilpums aizpildīts ar ferošķidrumu, tādas liposomas ir magnētiskas un tiek sauktas par **magnetoliposomām**.

Magnetoliposomu iegūšanas metodes aprakstītas eksperimentālajā daļā. Darbā tika izmantotas sekojošas liposomu iegūšanas metodes: **sonifikācija, spontānās piebriešanas (SpPi) un apgrieztās fāzes ietvaicēšanas (AFI) metodes**.

Liposomu iegūšanai izmantojām katjono 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu: 1,1'-[(3,5-didodeciloksikarbonil-4-fenil-1,4-dihidropiridīn-2,6-diil)dimetilēn]-bispiridīnija dibromīdu ($C_{49}H_{71}N_3O_4Br_2 \times 2H_2O$, molmasa $925,94 + 36,04$ g/mol; $t_{sadal} = 156 - 158^\circ C$) (**KP-11**), kas sintezēts Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo savienojumu un β -diketonu laboratorijā (OSI MAS), pēc literatūrā aprakstītas metodes [131].

Pēc literatūras datiem, magnētisku liposomu sintēzei izmantojot katjono lipīdu 1,2-dioloil-*sn*-glicero-3-fosfatidilholīnu (DOFH) [135, 137], lieto ferošķidrumu (FF_{citr}) ar mehēmīta ($\gamma-Fe_2O_3$) nanodaļiņām, kas pārklātas ar citrātjoniem ($\gamma-Fe_2O_3/citr$). Tā kā KP-11 ir jauns lipīdveida savienojums, tika nolemts izmantot magnetoliposomu iegūšanai dažādus ferošķidrumus (FF): (a) FF, kas satur $\gamma-Fe_2O_3$ nanodaļiņas (NDs) ar pozitīvi lādētu virsmu (FF_{sk}); (b) FF, kas satur $\gamma-Fe_2O_3$ nanodaļiņas, kas pārklātas ar citrātjoniem, ar negatīvi lādētu virsmu (FF_{citr}) un salīdzināt rezultātus, lai iegūtu informāciju par NDs virsmas lādiņu ietekmi uz magnetoliposomu veidošanos. Izmantoto FF magnētiskās un fizikālās īpašības parādītas 3.3. un 3.4. tabulās. Eksperimentālie rezultāti reģistrēti ar atomspēku mikroskopijas (ASM)¹⁰, transmisijas elektronmikroskopijas (TEM)¹¹ un dinamiskās gaismas izkliedes (DGI) metodēm.

3.4.1. Ar sonifikācijas metodi iegūtās liposomas

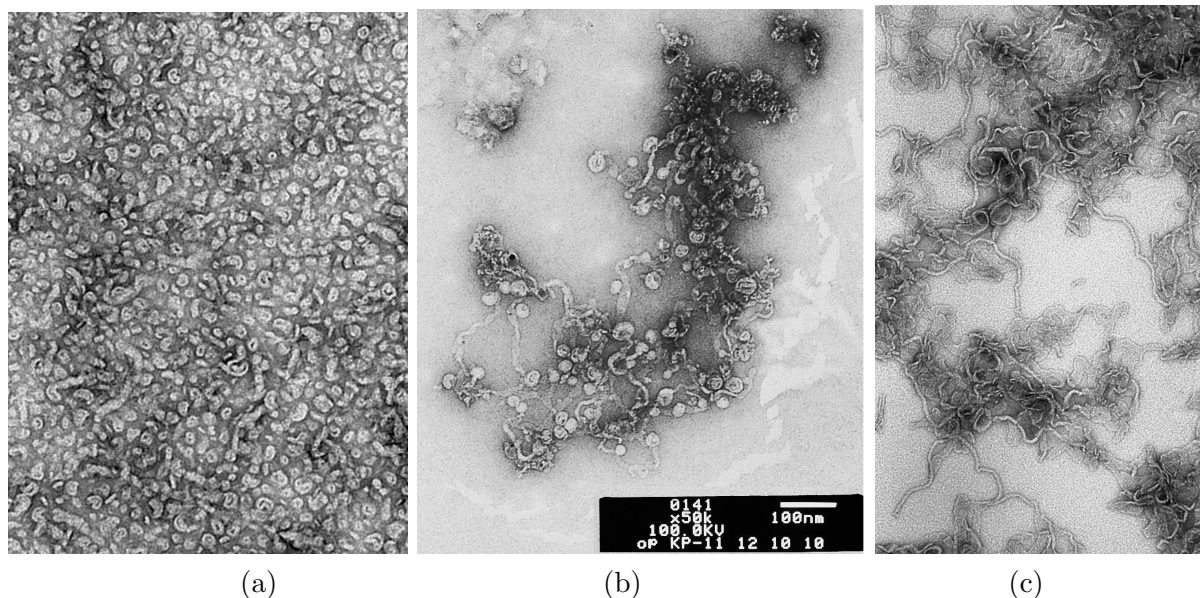
Ar sonifikācijas metodi tika pagatavoti dažādi liposomu dispersijas paraugi: izmantojot ferošķidrumu ar negatīvi lādētām NDs (FF_{citr}); ferošķidrumu ar pozitīvi lādētām NDs (FF_{sk}) un liposomu dispersija bez magnētiskā šķidruma (liposomu iegūšanas aprakstu sk. eksperimentālā daļā 60. lpp.).

Liposomu dispersijas, kas iegūtas neizmantojot FF, īpašības. Ar sonifikācijas metodi tika iegūts liposomu dispersiju paraugs KP-11/ H_2O . Paraugs ir dzidrs. Dispersijas pH ir 4,6. KP-11 koncentrācija ir 3,1 mg/ml. Elektronmikroskopijas rezultāti rāda, ka paraugā sonifikācijas rezultātā rodas dažādas formas liposomas un veidojumi. 3.22. attēlā parādīti viena parauga (KP-11/ H_2O) trīs dažādu vietu attēli: (a) un (b) "klasiskas" apaļas

¹⁰B.Skrīvele, OSI

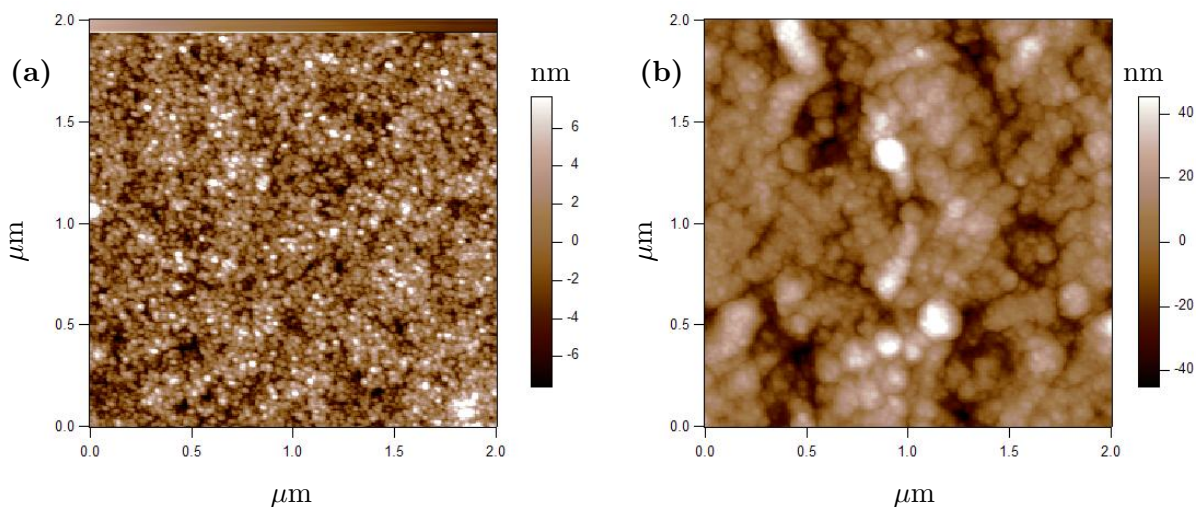
¹¹V.Ose-Klinklāva, LV BMC

formas vezikulas (liposomas), kā arī tiek novēroti lipīda dubultslāņa fragmenti (sk. 3.22. (c) att.). Liposomu izmērs, noteikts ar TEM mikroskopiju, ir 30–50 nm. Paraugu ASM dati arī dod līdzīgus vezikulu izmērus (sk. 3.23. (a) att.), ar ASM noteikts paraugam KP-11/H₂O, vezikulu izmērs 30–50 nm.



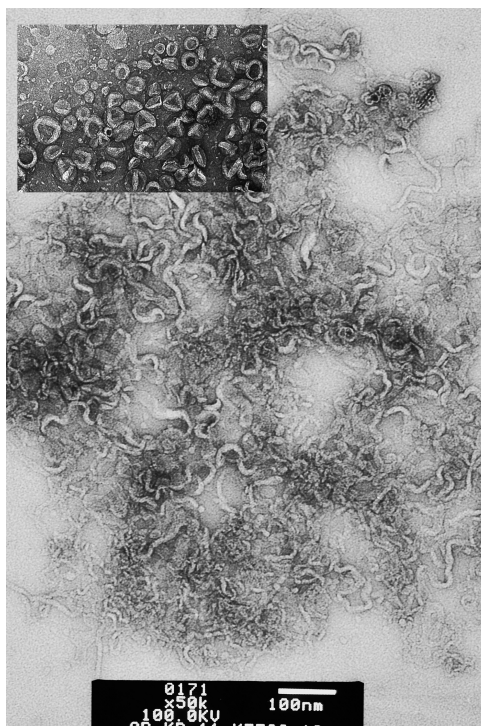
3.22. att.: TEM attēls: liposomu dispersijas paraugs (KP-11/H₂O) ar aktīvās vielas koncentrāciju 3,1 mg/ml. Sonifikācijas laiks 30 min. Liposomu izmērs 30–50 nm.

Liposomu dispersijas, kas satur FF_{citr} ar negatīvi lādētām γ -Fe₂O₃ NDs, īpašības. Ar sonifikācijas metodi tiek pagatavots liposomu dispersijas paraugs, kas satur magnētisko šķidrumu ar negatīvi lādētām NDs, KP-11/FF_{citr}/H₂O. Liposomu dispersijas pH ir 7. KP-11 koncentrācija paraugā KP-11/FF_{citr}/H₂O ir 3,1 mg/ml. Iegūtajā liposomu dispersijā mehēmīta koncentrācija ir 0,05 mg/ml, NDs tilpuma daļa $\Phi_{FF} = 10^{-3}\%$. Parauga KP-11/FF_{citr}/H₂O ASM rezultāts parādīts 3.23. (b) attēlā.



3.23. att.: Liposomu dispersiju ASM attēli: (a) paraugs KP-11/H₂O, liposomu izmērs 30–50 nm; (b) paraugs KP-11/FF_{citr}/H₂O, liposomu izmērs 40–90 nm.

Vezikulu izmērs noteikts 30–50 nm diapazonā. Vajag atzīmēt, ka, atšķirībā no parauga KP-11/H₂O ASM attēla, liposomu dispersijā ar nanodaļiņām, kas pārklātas ar citrātjoniem, maza izmēra vezikulas salīp un veido diezgan regulārus agregātus.

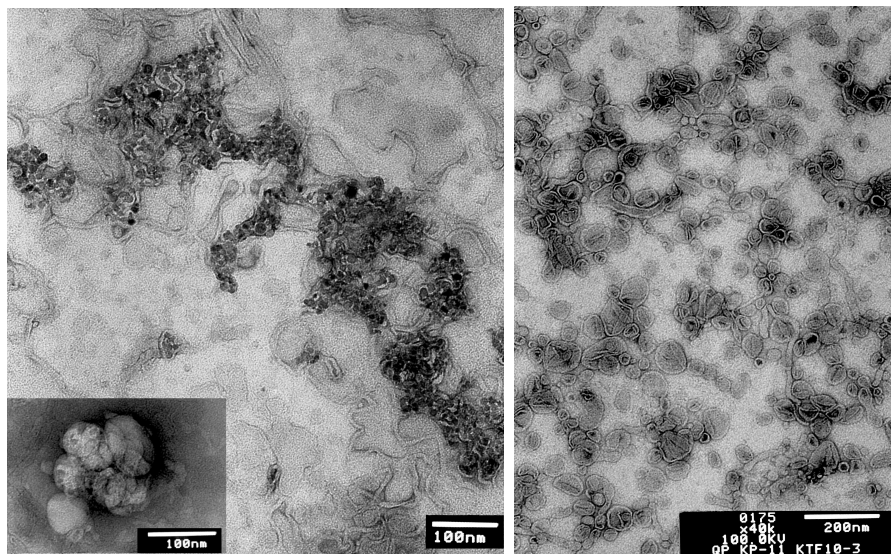


3.24. att.: Liposomu dispersijas KP-11/FF_{citr}/H₂O, iegūtas ar sonifikācijas metodi, TEM attēli. Liposomu izmērs 30–60 nm.

Parauga KP-11/FF_{citr}/H₂O elektronmikroskopijas attēli (sk. 3.24. att.) parādīja, ka dispersijā tika novērotas maza izmēra liposomas (30–60 nm), bislāņu fragmenti, pie dažiem bislāņu fragmentu sakopojumiem ir klāt dzelzs oksīda daļiņu agregāti. Salīdzinot vezikulu izmērus, reģistrētus KP-11/FF_{citr}/H₂O paraugam ar ASM un TEM, redzams, ka rezultāti ir līdzīgi, objektu diametri ir salīdzināmi.

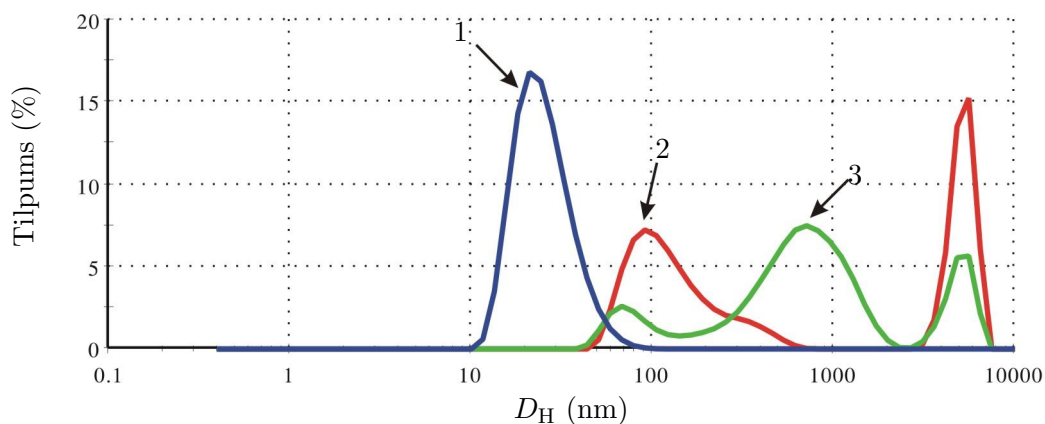
Liposomu dispersijas, kas satur magnētisko šķidrumu (FF_{sk}) ar pozitīvi lādētām γ -Fe₂O₃ NDs, īpašības. Ar augstāk aprakstīto sonifikācijas metodi tiek pagatavots liposomu dispersijas paraugs KP-11/FF_{sk}/H₂O. Liposomu dispersijas pH ir 4,1. Dispersija ir dzidra. Izmantojamajā ferošķidruma (10-03 FF_{sk}) pH ir 1,5. KP-11 koncentrācija paraugā ir 3,1 mg/ml. Iegūtajā liposomu dispersijā γ -Fe₂O₃ nanodaļiņu koncentrācija ir 0,08 mg/ml. NDs tilpuma daļa $\Phi_{FF} = 1,5 \cdot 10^{-3}\%$. Ar TEM reģistrēti parauga KP-11/FF_{sk}/H₂O attēli dažādās vietās parādīti 3.25. attēlā. Ar elektronmikroskopiju tika noteikts, ka vienā paraugā var eksistēt gan apaļas, gan cauruļveida liposomas, kuras ir aizpildītas ar dzelzs oksīda nanodaļiņām. Izmantojot NDs ar pozitīvu virsmas lādiņu, tiek novērota lielāka spēja veidot apaļas magnētiskas liposomas ar izmēru 50–80 nm, atšķirībā no nanodaļiņām ar negatīvu virsmas lādiņu (paraugu KP-11/FF_{citr}/H₂O), kuru liposomām ir dažādas formas. To varētu skaidrot tādējādi, ka katjonam lipīdam (KP-11) ir diezgan liela polārā daļa ($a = 120 \text{ \AA}^2$) [174] un, kad lipīds savienojas ar negatīvi

lādētām NDs, tad veidojas lieli agregāti – daļiņas salīp. To var redzēt 3.23. (b) ASM attēlā. Dispersija ir stabila apmēram 2 nedēļas, tad tiek novērotas magnētisku agregātu nogulsnes.



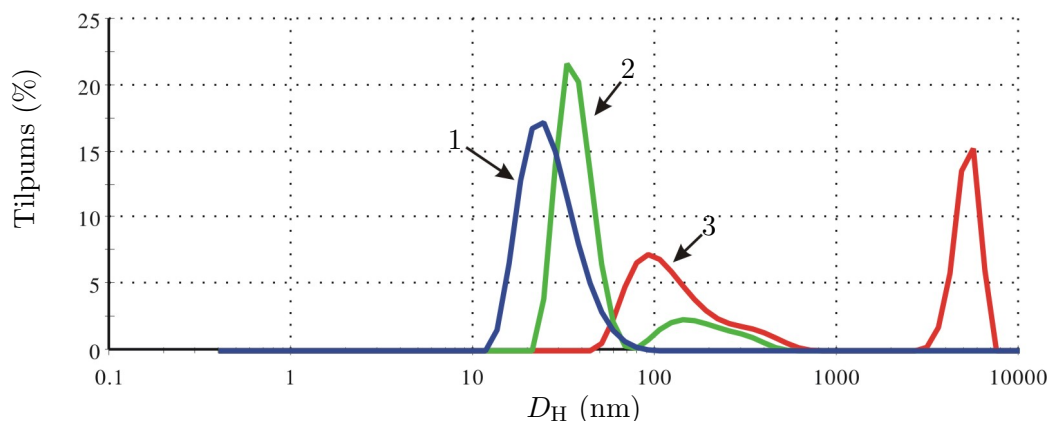
3.25. att.: Liposomu dispersijas KP-11/FF_{sk}/H₂O, iegūtas ar sonifikācijas metodi, TEM attēli. Liposomu izmērs 50–80 nm.

Lai novērtētu liposomu dispersijas paraugu, iegūtu ar sonifikācijas metodi, īpašības un to, kā izmantotā ferošķidruma NDs virsmas lādiņš ietekmē liposomu veidošanos un formu, tika izmantota arī dinamiskās gaismas izkliedes (DGI) metode. Zetasizer Nano S90 aparāta analīzēm izmanto liposomu dispersijas bez speciālas sagatavošanas. Tādējādi liposomu paraugi atrodas ūdenī (naturālā vidē) bez jebkādas deformācijas. Hidrodinamiskais diametrs ir lielāks par diametru, kas ir mērīts ar TEM, jo disperģētās daļiņas kustas šķīdumā. Tad objekta izmēru aprēķina pēc tā difūzijas koeficienta šķīdumā, izejot no pieņēmuma, ka tam piemīt sfēriska forma. Analizējot sadalījumu, var raksturot iegūto dispersiju.



3.26. att.: Ar sonifikācijas metodi iegūtu liposomu dispersiju hidrodinamisko diametru sadalījumi: 1. līkne – paraugs 09-12 FF_{citr} FF; 2. līkne – KP-11/H₂O; 3. līkne – KP-11/FF_{citr}/H₂O.

Liposomu dispersijas paraugu, izmantojot FF ar nanodaļiņām, kam ir negatīvs virsmas lādiņš (paraugs KP-11/FF_{citr}/H₂O) un pozitīvs virsmas lādiņš (paraugs KP-11/FF_{sk}/H₂O), hidrodinamisko diametru sadalījumi parādīti 3.26. un 3.27. attēlos attiecīgi.



3.27. att.: Ar sonifikācijas metodi iegūtu liposomu dispersiju hidrodinamisko diametru sadalījumi: 1. līkne – 10-03 FF_{sk} FF paraugs; 2. līkne – KP-11/FF_{sk}/H₂O; 3. līkne – KP-11/H₂O.

Katra parauga sadalījums tiek salīdzināts gan ar liposomu iegūšanas procesā izmantotā ferošķidrums sadalījumu, gan ar liposomu dispersiju, kas nesatur magnētiskās NDs (paraugs KP-11/H₂O) hidrodinamisko diametru sadalījumu. Liposomu dispersiju paraugu, iegūtu ar sonifikācijas metodi, hidrodinamisko diametru sadalījumu skaitliskie rezultāti apkopoti un salīdzināti 3.12. tabulā.

3.12. tabula: Ar sonifikācijas metodi iegūtu liposomu dispersijas paraugu hidrodinamisko diametru sadalījumu (sk. 3.26. un 3.27. att.) skaitlisko rezultātu salīdzinājums. PdI – polidispersitātes indekss. D_H^{Z-Ave} – visa sadalījuma vidējais daļiņu hidrodinamiskais diametrs.

Paraugs	dispersiju pH	PdI	D_H^{Z-Ave} (nm)	Sadalījuma lokālo maksimālo vidējais hidrodinamiskais diametrs, D_H^{vid} (nm)		
				1. maksim.	2. maksim.	3. maksim.
KP-11/H ₂ O	4,6	0,355	165,7	150,9	5153	–
09-13 FF _{citr}	7,0	0,140	35,68	26,32	–	–
KP-11/FF _{citr} /H ₂ O	5,2	0,356	359,2	81,11	742,5	4977
10-03FF _{sk} /H ₂ O	1,5	0,147	34,21	27,69	–	–
KP-11/FF _{sk} /H ₂ O	4,1	0,277	148,7	36,99	195,3	–

Analizējot liposomu dispersiju hidrodinamisko izmēru sadalījumu, TEM un ASM rezultātus, tika novērota rezultātu atbilstība. Piemēram, liposomu dispersijas, kas nesatur magnētiskas NDs (paraugs KP-11/H₂O 3.26. att. 2. līkne un 3.27. att. 3. līkne), hidrodinamiskā izmēru sadalījumā ir divi maksimumi ar attiecīgiem vidējiem hidrodinamisko diametru lielumiem: 1. maksimuma $D_H^{vid} = 150,9$ nm un 2. maksimuma $D_H^{vid} = 5153$ nm. Ar TEM un ASM noteiktie "kvaziapaļie" liposomu diametri atrodas 30–50 nm diapazonā. TEM attēli parādīja šajā liposomu dispersijā lielu skaitu bislāņa fragmentu (3.22. att.), kā

arī apaļu liposomu agregātus ar bislāņa fragmentiem. Parauga KP-11/H₂O 1. maksimuma hidrodinamisko diametru lielumu varam pieņemt kā raksturīgo apaļo liposomu, agregēto ar neliela garuma bislāņa fragmentiem (sk. 3.22. (a), (b) att.). Parauga 2. maksimums atbilst bislāņa fragmentu agregātu hidrodinamiskajiem izmēriem.

Tāpat var interpretēt parauga KP-11/FF_{citr}/H₂O hidrodinamisko izmēru sadalījumu (sk. 3.26. att., 3. likne). Liposomu dispersijā hidrodinamisko diametru sadalījumam ir trīs maksimumi, kuri atbilst: 1. maksimums ($D_H^{\text{vid}} = 81,1$ nm) atbilst apaļas formas magnētiskām liposomām; 2. maksimums ($D_H^{\text{vid}} = 742,5$ nm) atbilst liposomu dispersijai ar NDs/citr, maza izmēra vezikulu agregātiem (sk. 3.23. (b) att.). 3. maksimums – atbilst bislāņa fragmentu agregātiem.

Ar sonifikācijas metodi, izmantojot KP-11 lipīdveida savienojumu kā aktīvo vielu un magnētisku ferošķidrumu ar pozitīvi lādētu nanodaļiņu virsmu, iegūtas mazu liposomu dispersijas. Liposomas ir viendabīgas pēc formas, par ko liecina KP-11/FF_{sk}/H₂O hidrodinamisko diametru sadalījuma (sk. 3.27. att.), $PdI = 0,277$. Šis lielums ir mazāks nekā dispersiju paraugu KP-11/FF_{citr}/H₂O un KP-11/H₂O polidispersitātes indeksa vērtības $PdI = 0,356$ un $PdI = 0,355$ attiecīgi (sk. 3.12. tabulā), kas rāda, ka paraugā ir vairāk dažāda diametra objekti. Ar sonifikācijas metodi iegūtajās liposomu dispersijās ir novērojamas ne tikai maza izmēra liposomas, bet arī nanodaļiņu agregāti un bislāņa membrānu fragmenti. TEM un ASM metodes nedod viennozīmīgu atbildi, vai iegūtajās liposomās ir iekļautas magnētiskas nanodaļiņas. Lai iegūtu magnētiskās liposomas ar izmēru, kuru var novērot optiskajā mikroskopā, izmanto spontānās piebriešanas metodi.

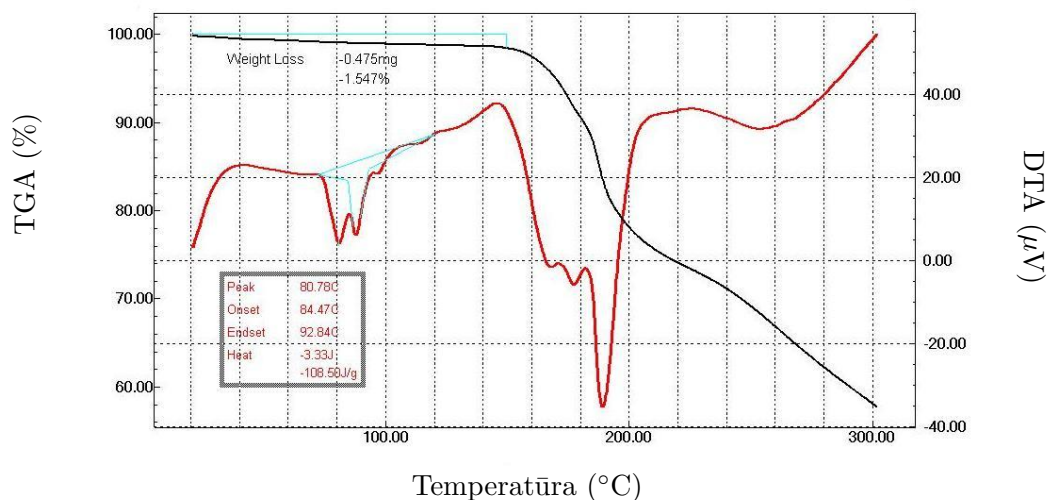
3.4.2. Ar spontānās piebriešanas metodi iegūtas liposomas

Liposomu iegūšanas process, izmantojot spontānās piebriešanas (SpPi) metodi, ir ļoti vienkārši realizējams. Šī metode neprasa speciālu aprīkojumu un ļauj mainīt procesa parametrus (piebriešanas temperatūra, komponentu koncentrācija un to attiecība, procesa ilgums), meklējot optimālos sintēzes nosacījumus. Neliela izmēra Petri trauciņā ievieto 1,4-DHP atvasinājuma KP-11, kas šķīdināts hloroformā. Aktīvās vielas daudzums tika atrasts, veicot izmēģinājuma eksperimentus ar mazāku KP-11 daudzumu. Liposomas, kas ir redzamas mikroskopā, sāka veidoties, izmantojot 5 mg aktīvās vielas. Pēc hloroforma iztvaicēšanas veidojas plāna lipīdu plēvīte, kurā iemaisa ferošķidrumu, līdz veidojas oranža taukaina plēvīte. Tad virs plēvītes ielej 1–2 ml destilēta ūdens. Petri trauciņu karsē ūdens vannā līdz liposomu pārejai ūdenī.

KP-11 termogravimetriska (TG) un diferenciāla termāla analīze (DTA). Lai noteiktu temperatūru, kad karsēšanas laikā sākas izmaiņas cietā KP-11 parauga stāvoklī, un noteiktu temperatūras diapazonu, kurā var veidoties liposomas tika veikta KP-11 termogravimetriska (TG) un diferenciāli termālā analīze (DTA)¹². 1,4-DHP atvasinājuma KP-11 DTA/TG analīze tika veikta argona atmosfērā (plūsma 50 ml/min.). Tika nosvērts

¹²DTA/TG analīzi veica J.Kleperis (Ūdeņraža enerģētikas materiālu laboratorija, LU CFI)

KP-11 paraugs un ievietots alumīnija šūnā, kura, savukārt, tika ievietota ierīcē. Paraugs tika lēni karsēts, paceļot temperatūru no 20 līdz 300°C. DTA/TG rezultāts pārādīts 3.28. attēlā.



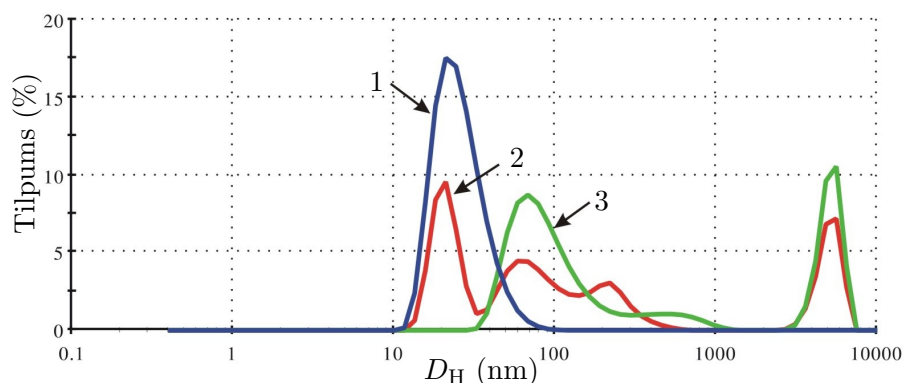
3.28. att.: 1,4-DHP atvasinājuma KP-11 DTA/TG analīzes rezultāts, kurš ir attēlots kā vielas masas izmaiņas atkarība no temperatūras (melnā līkne); siltuma absorbcijas atkarība no karsēšanas temperatūras (sarkanā līkne).

KP-11 tika karsēts līdz 300°C. Siltuma emisija vai absorbcija, kas parādās parauga karsēšanas procesā, tika mērīta attiecībā pret inerti materiālu (alumīnijs), izmantojot termopārus, kas atrodas paraugā un inertā materiālā. Reģistrē temperatūras izmaiņas paraugā pret salīdzinošo inertā materiāla starpību (DTA, μV). Analizējot temperatūras līkni (sk. sarkano līkni 3.28. attēlā), novērojām, ka pie apmēram 80°C temperatūras ir pirmie minimumi – endotermisks process – sākas vielas stāvokļa izmaiņas: pāreja uz gēla fāzi. Analizējot masas izmaiņas līknes (sk. melno līkni 3.28. att.), no 20° līdz 150°C temperatūrā notiek masas zaudēšana (divu ūdens molekulu zaudējums, savienojums KP-11 ir kristālhidrāta veidā, kas satur divas ūdens molekulas). Otrais endotermiskais process – kušana sākas 150°C temperatūrā. Šis rezultāts labi sakrīt ar literatūras datiem [189], kurā dots šī savienojuma raksturojums. Tālāk notiek pilna KP-11 sagraušana. Tādējādi, spontānās piebriešanas procesu īstenošanai noteikts temperatūru diapazons 30–80°C.

Liposomu dispersiju magnētiskā separācija. Lai atdalītu neiekļautās magnētiskās NDs no liposomām, tiek izmantota magnētiskā separācija. Galvenais princips – pastāvīga magnēta izmantošana. Magnētisko separāciju realizē gan glāzē, kas stāv uz pastāvīga magnēta virsmas, gan šļircē. Šļirci izmantošana piemērota liposomu dispersiju atdalīšanai no liposomās neiekļautām nanodaļiņām, īpaši, ja liposomu dispersijai ir mazs tilpums. Pēc iegūšanas liposomu dispersiju (0,5 ml) atšķaida ar ūdeni (1 ml). Ievieto šķidrumu šļircē un piestiprina to pie pastāvīgā magnēta sānu malas, tad tiek veikta magnētiskā separācija 24 stundas. Izņemot šļirci virzuli, **augšējā fāze**¹³ atdalās, kamēr **apakšējā fāze**¹⁴ ar liposomās neiekļautām NDs vēl turas pie magnēta.

¹³Paraugu pēc sadalīšanas augšējās fāzes apzīmēšanai tiks tālāk izmantots apzīmējums "top".

¹⁴Paraugu pēc sadalīšanas apakšējās fāzes apzīmēšanai tiks tālāk izmantots apzīmējums "bot".



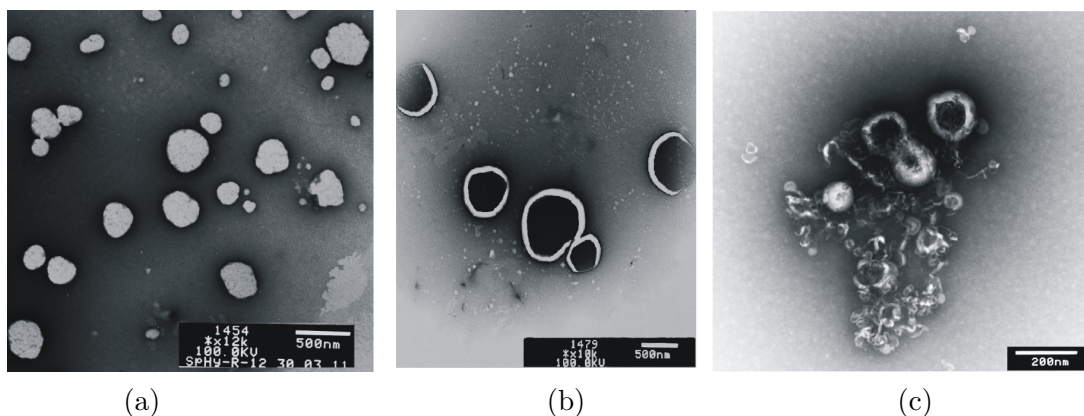
3.29. att.: Liposomu dispersiju (paraugs SpHy-R-1: 10 mg KP-11; 10 μ l 10-03 FF_{sk}; $t = 70-80^{\circ}\text{C}$; procesa laiks 20 min.) un izmantotā ferošķidruma NDs hidrodinamisko izmēru sadalījumu salīdzinājums. 1. līkne – 10-03 FF_{sk}; 2. līkne – paraugs SpHy-R-1 pirms magnētiskās separācijas; 3. līkne – liposomu dispersiju paraugs SpHy-R-1^{top} pēc liposomās neiekļauto NDs magnētiskās atdalīšanas.

Analizējot 3.29. attēla datus, redzam, ka liposomu dispersijas parauga pirms magnētiskās separācijas (SpHy-R-1) (2. līkne) pirmais maksimums sakrīt ar iegūšanā izmantotā ferošķidruma sadalījumu (1. līkne) un atbilst liposomās neiekļauto NDs signālam. Liposomu dispersijas parauga pēc magnētiskās separācijas augšējā fāze SpHy-R-1^{top} (3. līkne) demonstrē, ka neiekļautās NDs ir atdalītas. Savukārt, 3.29. att. 3. līknes un 2. līknes otrais un trešais maksimumi attēlo dažādu izmēru liposomu eksistenci paraugā. Ar DGI metodi iegūto liposomu dispersiju paraugu SpHy-R-1 un SpHy-R-1^{top} skaitliskie dati parādīti 3.13. tabulā.

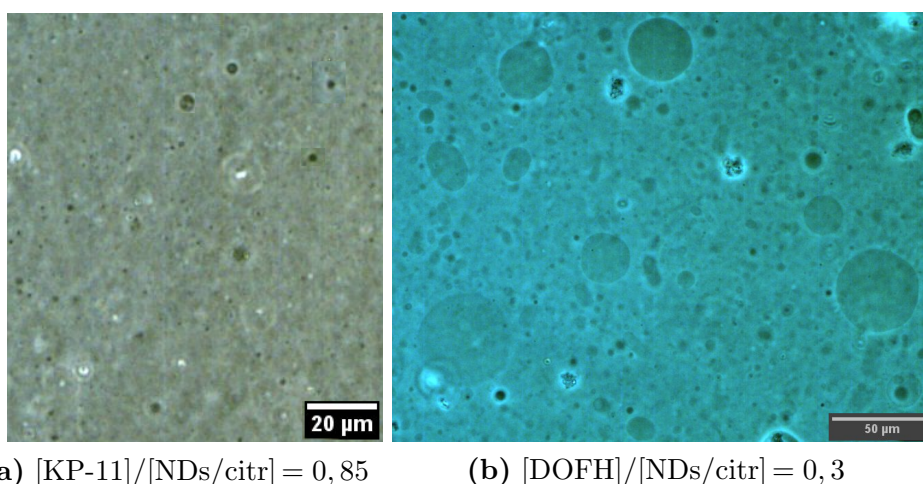
3.13. tabula: Ar DGI metodi iegūto liposomu dispersijas izmēru sadalījumu skaitliskie rezultāti (dati no 3.29. att.). PdI – polidispersitātes indekss.

Paraugs	PdI	D_H^{Z-Ave} (nm)	Sadalījuma lokālo maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs, D_H^{vid} (nm)			
			1. maksim.	2. maksim.	3. maksim.	4. maksim.
SpHy-R-1	0,251	136,8	21,19	76,23	230,4	5120
SpHy-R-1 ^{top}	0,416	143,4	93,44	540,7	5107	–
10-03 FF _{sk}	0,154	33,85	26,63	–	–	–

Ferošķidruma daudzuma un nanodaļiņu pārklājuma ietekme uz liposomu veidošanu. Literatūrā minētos pētījumos, lietojot katjonos fosfolipīdus, pārsvarā tiek lietotas magnētiskās nanodaļiņas ar negatīvi lādētu virsmu. Jau tika parādīts, izmantojot sonifikācijas metodi liposomu iegūšanai, ka, izmantojot kā aktīvo vielu 1,4-DHP atvasinājumu KP-11, rezultāti nav tik viennozīmīgi. Lai sasniegtu labāko rezultātu, bija nepieciešams noskaidrot, kādas magnētiskās NDs ir labākas magnētisku liposomu veidošanai. Tika iegūti liposomu dispersijas paraugi, izmantojot FF ar pozitīvi lādētām $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanodaļiņām (FF_{sk}), kā arī ferošķidrumu ar negatīvi lādētām NDs/citr (FF_{citr}).



3.30. att.: TEM attēli ar SpPi metodi iegūtai liposomu dispersijai, izmantojot negatīvi lādētās NDs/citr (5 mg KP-11; 10 μl FF_{citr}, 2 ml H₂O; 40–50°C; 40 min.). Liposomu izmērs 70–900 nm. (a), (b) un (c) viena parauga dažādu vietu attēli.



(a) $[\text{KP-11}]/[\text{NDs/citr}] = 0,85$

(b) $[\text{DOFH}]/[\text{NDs/citr}] = 0,3$

3.31. att.: Liposomu dispersijas OM attēli: (a) 5 mg KP-11; 30 μl 11-01 FF_{citr}; 3 ml H₂O). Redzamais liposomu diametrs 1,2–4,5 μm ; (b) 1 mg DOFH; 10 μl 09-06 FF_{citr}; 1 ml H₂O). Redzamais liposomu diametrs 3,7–47 μm .

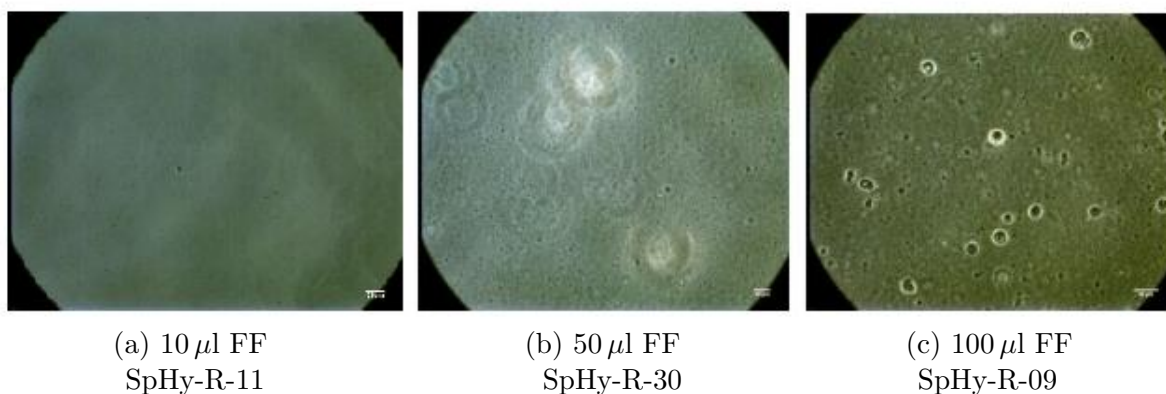
Izmantojot negatīvi lādētās daļiņas, jau iemaisot FF_{citr} savienojuma KP-11 veidotajā plēvētē, notiek agregācija, veidojas nogulsnes. Šīs parādības dēļ tika izmantoti minimāli FF_{citr} daudzumi: 10 μl un 30 μl . Ar FF_{citr} iegūtajai magnētisko liposomu dispersijai, tika reģistrēti TEM (sk. 3.30. att.) un optiskās mikroskopijas (OM) dati (sk. 3.31. (a) att.). Analizējot iegūtos datus, redzam, ka vienā paraugā veidojas gan maza izmēra liposomas (3.31. (a) att., 3.30. (a, b) att.), gan arī bislāņa fragmenti (3.30. (c) att.). Liposomas un bislāņa fragmenti veido agregātus (sk. 3.30. (c) att.).

Iegūtais rezultāts, kad membrānveidojoša viela ir 1,1'-[3,5-di(dodeciloksikarbonil)-4-fenil-1,4-dihidropiridīn-2,6-diil]dimetilēn-bispiridīnija dibromīds (KP-11), atšķiras no literatūrā aprakstītā [135, 155], kad gigantisko liposomu¹⁵ iegūšanai ar SpPi metodi izmanto 1,2-dioleil-*sn*-glicero-3-fosfatidilholīnu (DOFH). Lai ilustrētu liposomu veidošanos atkarībā no izmantotā lipīda struktūras, tika veikta modeļsintēze ar DOFH. Gan DOFH, gan KP-11 ir amfifili, to struktūras ar polāro daļu un divām nepolāram alkilķēdēm veido bislāņu membrānas. Iegūtās liposomu dispersijas OM attēli parādīti 3.31. attēlā.

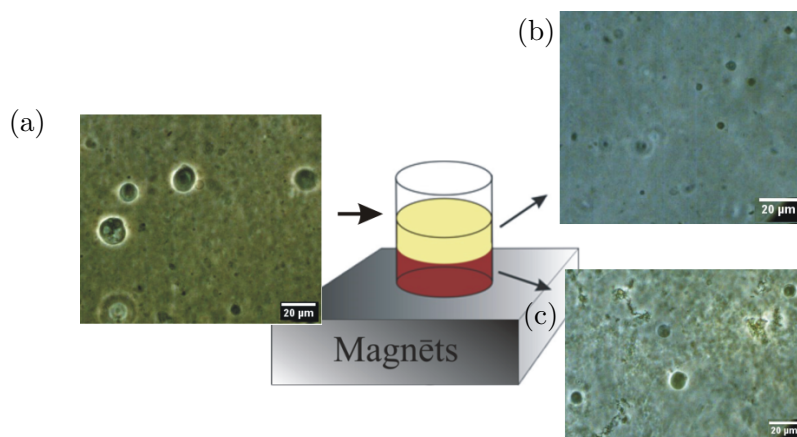
¹⁵Gigantiskas vienlamelāras liposomas izmērs ir > 20 μm .

Magnētisku liposomu, kas iegūtas, izmantojot DOFH, D_0^{vez} var sasniegt pat $47 \mu\text{m}$ (sk. 3.31.(b) att.). Agregāciju nenovērojām.

Ņemot vērā iepriekšējo rezultātu (3.31. (a) att.), kad liposomu iegūšanā izmantojām KP-11 un negatīvi lādētas NDs, novērojot daļiņu agregāciju un nogulšņu veidošanos, turpmāk magnetoliposomu iegūšanai tiek lietotas pozitīvi lādētas NDs. Tika pētīta ferrošķidruma FF_{sk} daudzuma, katjonā lipīda un nanodaļiņu ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) molāro koncentrācijas (mol/l) attiecību ($[\text{KP-11}]/[\text{NDs}]$) ietekme uz liposomu veidošanos un to daudzumu. Ar SpPi metodi iegūtās liposomu dispersijas, kad mainīgais parametrs ir FF_{sk} daudzums, tika pakļautas magnētiskajai separācijai. Katra atdalītā fāze tika apskatīta optiskajā mikroskopā. Nesadalītu dispersiju optiskās mikroskopijas attēli parādīti 3.32. attēlā. 3.33. attēlā parādīta parauga (3.32. (c) att.) magnētiskās separācijas shēma un iegūto augšējās un apakšējās fāžu OM attēli. Analizējot attēlus, redzam, ka separācijas gaitā atdalās ne tikai liposomās neiekļautās nanodaļiņas, bet arī magnētisku vezikulu daļa (3.33. (c) att.).



3.32. att.: OM attēli ar SpPi metodi iegūtai liposomu dispersijai (5 mg KP-11; 11-02 FF_{sk} ; $t = 40 - 50^\circ\text{C}$; procesa ilgums 20 min.), mainot FF daudzumu. Noteiktie liposomu diametri: (a) $1 - 3 \mu\text{m}$; (b) $1 - 10 \mu\text{m}$; (c) $3 - 18 \mu\text{m}$. Mērogiedaļa $20 \mu\text{m}$.



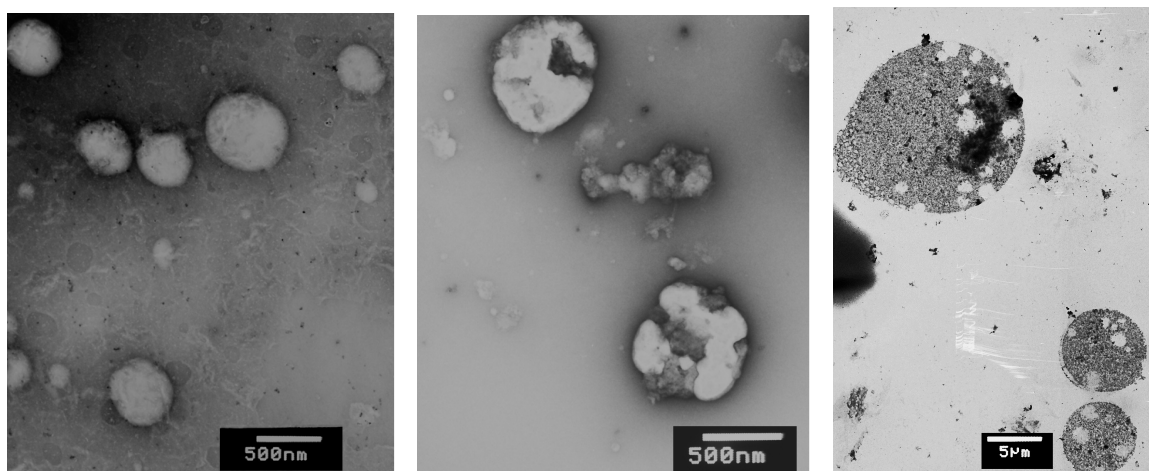
3.33. att.: Ar SpPi metodi iegūtu liposomu dispersiju (10 mg KP-11; $100 \mu\text{l}$ 11-02 FF_{sk} ; $t = 45 - 50^\circ\text{C}$; $\tau = 20 \text{ min.}$) OM attēli: (a) pirms magnētiskās separācijas (paraugs SpHy-R-9); (b) pēc magnētiskās separācijas augšējā fāze (SpHy-R-9^{top}); (c) magnētiskā – apakšējā fāze (SpHy-R-9^{bot}), kas satur magnētiskās liposomas un brīvas NDs.

Liposomu dispersijas pirms un pēc magnētiskās separācijas raksturojošie rezultāti atspoguļoti 3.14. tabulā. Atrasts, ka FF daudzums ietekmē iegūto liposomu lielumu un to daudzumu. NDs daudzuma palielinājums un $[KP-11]/[NDs]$ attiecības samazināšana palielina lielu liposomu skaitu. Parādīts, ka ar NDs daudzuma palielināšanos veidojas vairāk liela izmēra magnētiskās liposomas (sk. 3.14. tabulu).

3.14. tabula: Ar SpPi metodi iegūtu liposomu izmēru atkarība no sintēzē izmantotā FF daudzuma. Liposomu izmēri noteikti ar OM metodi un programmas ImageJ palīdzību. D_0^{vez} – optiskajā mikroskopā redzamais liposomu diametrs. $\frac{[KP-11]}{[NDs]}$ – molāro koncentrāciju attiecība.

Nr.	Paraugs	FF _{sk} (μ l)	γ -Fe ₂ O ₃ (mg)	$\frac{[KP-11]}{[NDs]}$	D_0^{vez} diapazons (μ m)
1.	SpHy-R-11	10	0,75	1,152	1,7–4,8
2.	SpHy-R-30	50	3,75	0,231	2,0–7,6
	SpHy-R-30 ^{top}				<1,0–7,4
	SpHy-R-30 ^{bot}				1,8–12,7
3.	SpHy-R-09	100	7,51	0,113	3,2–18,0
	SpHy-R-09 ^{top}				1,0–5,0
	SpHy-R-09 ^{bot}				3,2–18,9

Šis rezultāts tāpat ir apstiprināts, analizējot paraugu pēc magnētiskās separācijas atdalītās fāzes ar transmisijas elektronmikroskopijas palīdzību (3.34. att.). Liposomas, kas ir iegūtas, sintēzē izmantojot 50 μ l ferošķidruma, parādītas 3.34. (a) un (b) attēlos. Ir redzams, ka liposomas parauga apakšējā fāzē satur magnētiskās daļiņas. Savukārt, magnētiskas liposomas (apakšējā fāzē), kas iegūtas, izmantojot 100 μ l ferošķidruma, parādītas 3.34. (c) attēlā ir lielas un satur daudz dzelzs oksīda NDs.



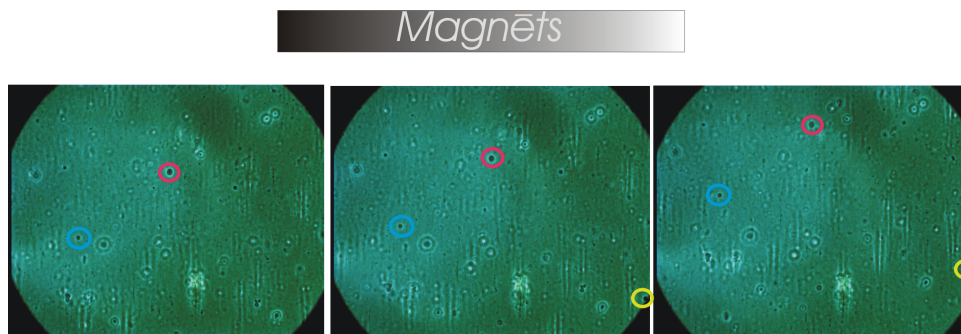
(a) SpHy-R-30^{top}. Liposomu izmērs 300–700 nm

(b) SpHy-R-30^{bot}. Liposomu izmērs apt. 750 nm

(c) SpHy-R-09^{bot} no 6,25 līdz 13,2 μ m

3.34. att.: TEM attēli liposomu dispersijai pēc magnētiskās separācijas: (a) parauga SpHy-R-30^{top} (augšējā fāzē) (sk. 3.14. tabulā paraugs nr.2); (b) parauga SpHy-R-30^{bot} (c) parauga SpHy-R-09^{bot} (3.14. tabulā paraugs nr.3).

Augšējā fāzē satur ne tikai "tukšas", bet arī magnētiskās lipomas, kas tiek pierādīts ar magnetoferēzes eksperimentu. Šajā eksperimentā svarīgi, lai lipomās neiekļautās NDs tiktu atdalītas, tādēļ magnetoferēzes eksperiments tika veikts, izmantojot liposomu dispersijas augšējo fāzi, kas atdalīta pēc separācijas. Liposomu magnētisko īpašību raksturojums magnetoferēzes rezultātā parādīts 3.35. attēlā.



3.35. att.: Magnetoferēzes optiskās mikroskopijas attēli. Paraugs sagatavots, izmantojot SpPi metodi (5 mg KP-11, 50 μl , FF_{sk}, $t = 45^\circ\text{C}$, $\tau = 20$ min.)

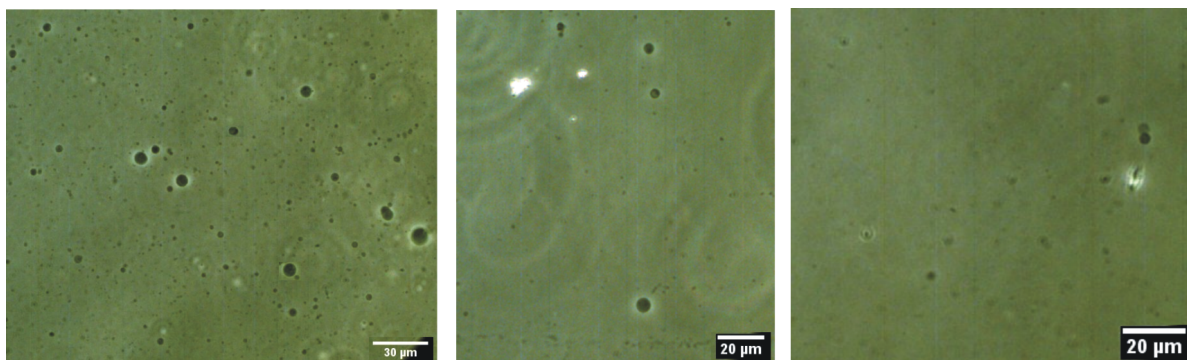
Magnētiskā indukcija 2 cm attālumā no magnēta, kur tiek veikts eksperiments, ir 628 G; gradients ir 360 G/cm. Ar krāsainiem apliem atzīmētas atsevišķas magnētiskās lipomas (6–8 μm), kuras pārvietojas magnētiskā laukā. Maza izmēra lipomas (0,8–1,0 μm) veido magnētisko liposomu ķēdes. Gubins un līdz. [14] izpētījuši, ka tādu parādību var novērot, kad nanodaļiņu dipola-dipola mijiedarbības enerģija ir lielāka par siltuma kustības (Brauna kustības) enerģiju $k_B T$ (Bolcmaņa konstante); tad magnētiskās daļiņas apvienojas ķēdes ansambļos. Šādas līdzīgas ķēdes veidojas arī mūsu pētījumu rezultātā, kas pierāda, ka KP-11 veidotās lipomas satur magnētiskās NDs. Tāpat var prognozēt, ka lielākā daļa magnētisko NDs ir iekļautas liposomu iekšpusē.

Turpretī, eksistē iespēja, ka apakšējā fāzē var atrasties "tukšas" lipomas, kuru virspusē adsorbējas magnētiskās NDs, vai magnētiskās lipomas ar mazu NDs saturu. Izmantojot magnētisko separāciju pakāpeniski vai regulējot separācijas laiku, var izdalīt atsevišķi "tukšas" lipomas (kas nesatur magnētisku materiālu), magnētiskās lipomas un lipomās neiekļautās nanodaļiņas. Kā jau tika parādīts, SpPi procesā veidojas gan magnētiskas, gan "tukšas" lipomas, kuras nesatur magnētisko šķidrumu. Paliecinot ferošķidruma daudzumu sintēzes procesā, vairāk veidojas magnētiskas lipomas. Tomēr, šajā variantā ir problemātiski atdalīt neiekļautās magnētiskās nanodaļiņas no magnētiskajām liposomām.

Piebrīšanas temperatūras ietekme uz liposomu veidošanos. Piebrīšanas temperatūra ir vēl viens svarīgs sintēzes parametrs, kas ietekmē liposomu veidošanos. Lai atrastu temperatūras režīmu, kad vairāk veidojas liela izmēra (redzamas optiskā mikroskopā) magnētiskas lipomas, tika iegūtas liposomu dispersijas ar SpPi metodi pie dažādām temperatūrām. Mērķtiecīgi tika iegūtas liposomu dispersijas, kas nesatur ferošķidrumu (FF) (5 mg 1,4-DHP atvasinājums KP-11, 2 ml H₂O; $\tau = 20$ min.) 30°C;

45–50°C; 60°C temperatūrās, kā arī liposomu dispersijas, kas satur FF (5 mg KP-11; 50 μ l FF_{sk}; τ = 20 min.) plašā temperatūras diapazonā no 30°C līdz 80°C.

Iegūtās dispersijas tika pētītas ar optiskās mikroskopijas, dinamiskās gaismas izkliedes metodēm un transmisijas elektronmikroskopiju. Ar SpPi metodi pie dažādām temperatūram iegūtu liposomu, neizmantojot ferošķidrumu, OM attēli atkarībā no piebriešanas temperatūras parādīti 3.36. attēlā. Skaidri redzama tendence – ar temperatūras palielināšanu samazinās gan liposomu izmērs, gan lielo liposomu skaits.



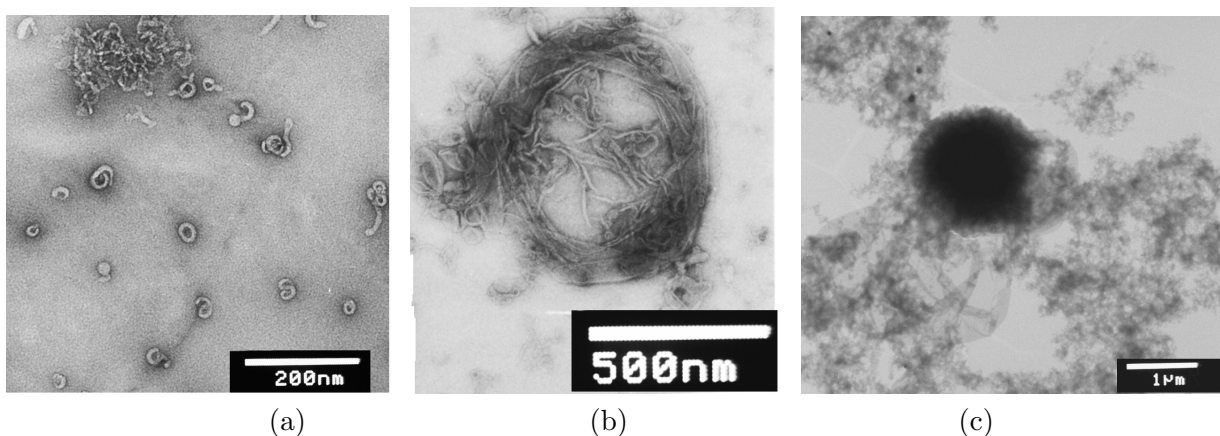
(a) SpHy-54

(b) SpHy-57

(c) SpHy-58

3.36. att.: Ar SpPi metodi iegūtu liposomu dispersiju (5 mg KP-11, 2 ml H₂O; τ = 20 min.), neizmantojot ferošķidrumu, OM attēli. Piebriešanas temperatūra: (a) 30°C; (b) 45–50°C; (c) 60°C.

”Tukšo” liposomu dispersijas (paraugs SpHy-R-60) iegūts 30°C temperatūrā, kad piebriešanas laiks ir 40 min, viena parauga triju atšķirīgu vietu TEM rezultāti parādīti 3.37. attēlā. TEM attēli dod vērtīgu informāciju par iegūto objektu struktūru. Dispersijā veidojas pēc izmēra un struktūras ļoti dažādi objekti, dati ir līdzīgi liposomām, kuras tika iegūtas ar sonifikācijas metodi. 3.37. (a) attēlā redzami mazi (20–30 nm) veidojumi, liposomas un lipīda bislāņa fragmenti, 3.37. (b) attēlā – sfēriskas struktūras veidošanās stadija. Tās veidojas no membrānveidīgiem savijumiem un var sasniegt 500 nm diametru. 3.37. (c) attēlā ir redzamas tievas smalkas micellas un elektronblīvi sfēriski veidojumi ar izmēru 1,0–1,5 μ m.



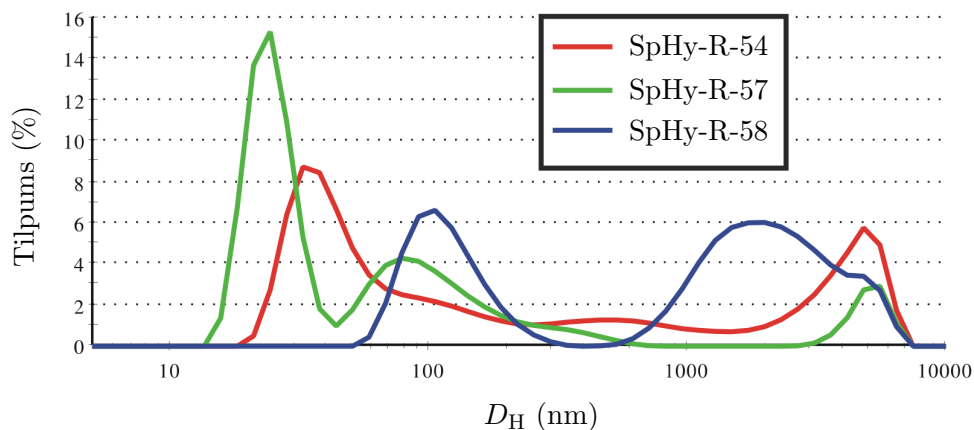
(a)

(b)

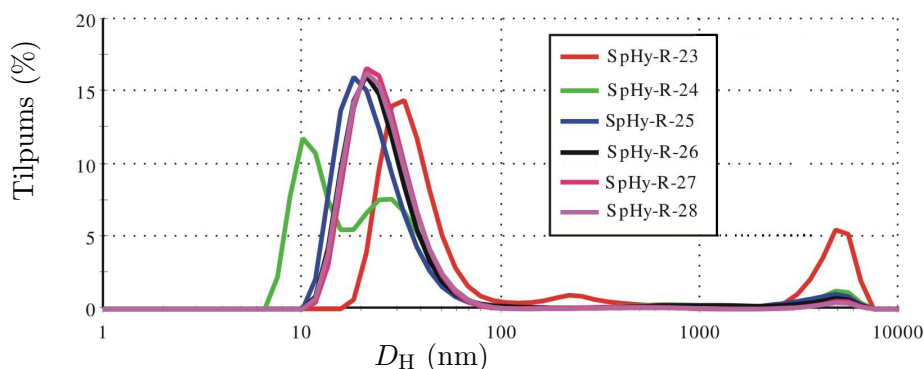
(c)

3.37. att.: ”Tukšo” liposomu dispersijas parauga SpHy-R-60 TEM attēli. Paraugs sagatavots, izmantojot SpPi metodi (5 mg KP-11, t = 30°C, τ = 40 min.)

Pie dažādām temperatūram (sk. 3.15. tabulu) iegūto dispersiju, kas nesatur NDs, hidrodinamisko diametru sadalījumi parādīti 3.38. attēlā. Ar TEM parādītā (3.37. att.) veidoto struktūru daudzveidība tika apstiprināta arī ar DGI metodi, analizējot dispersiju, iegūtu neizmantojot FF, hidrodinamisko diametru sadalījumu (sk. 3.38. att.). Abas metodes apstiprina dažādu veidojumu eksistenci paraugos.

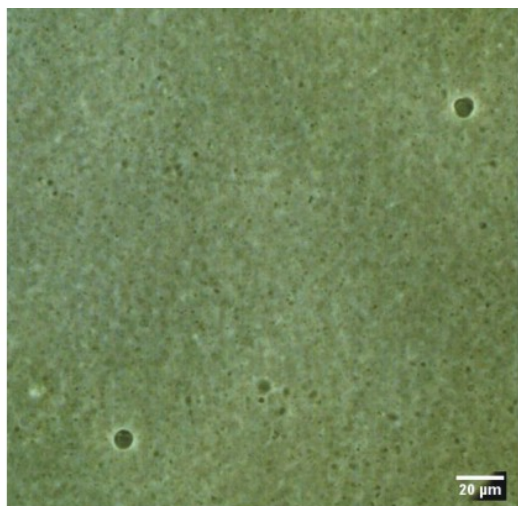


3.38. att.: Ar SpPi metodi dažādās piebriešanas temperatūrās iegūtu liposomu dispersiju (5 mg 1,4-DHP atvasinājums KP-11, 2 ml H₂O; $\tau = 20$ min.) neizmantojot FF, hidrodinamisko diametru sadalījumi: SpHy-R-54 (30°C); SpHy-R-57 (45–50°C); SpHy-R-58 (60°C).

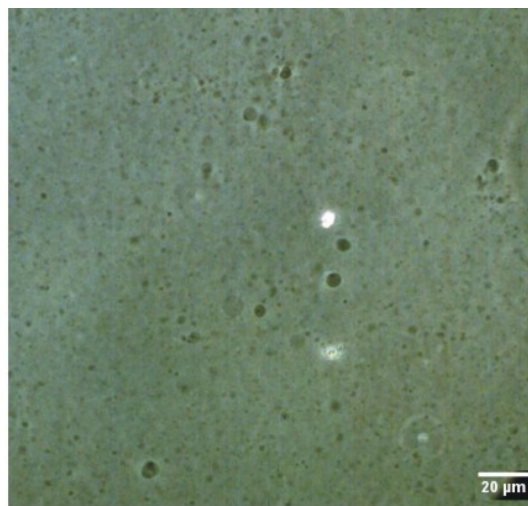


3.39. att.: Ar SpPi metodi dažādās piebriešanas temperatūrās iegūtu liposomu dispersiju (5 mg KP-11; 50 μ l; procesa laiks $\tau = 20$ min.), hidrodinamisko diametru sadalījumi: SpHy-R-23 (30 – 35°C); SpHy-R-24 (40 – 45°C); SpHy-R-25 (45 – 50°C); SpHy-R-26 (60 – 65°C); SpHy-R-27 (70 – 75°C); SpHy-R-28 (80 – 85°C).

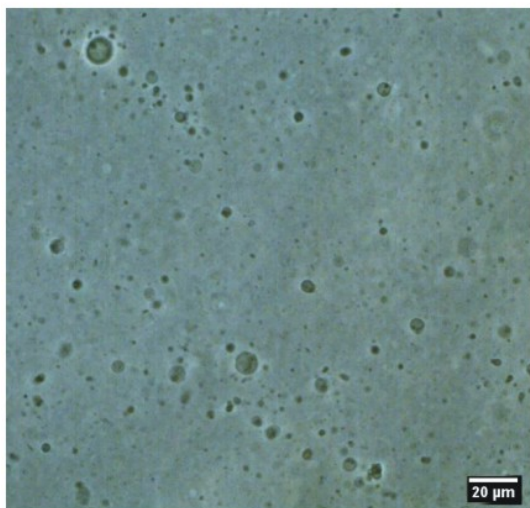
”Tukšu” liposomu dispersijas paraugam SpHy-R-57, iegūtam 45 – 50°C temperatūrā, PDI vērtība ir salīdzinoši mazāka nekā paraugiem SpHy-R-54 (30°C) un SpHy-R-58 (60°C) (sk. 3.15. tabulu. 1.–3. paraugi). Liposomu dispersijā (paraugs SpHy-R-57 3.38. att. zaļā līkne) vairākumā ir ”tukšas” liposomas (vai veidojumi), kuras ir pietiekoši mazas pēc izmēra un nav novērojamas optiskajā mikroskopā. Tātad, izmantojot temperatūras intervālu 45 – 50°C, var izvairīties no ”tukšu” liposomu, micellu un citu agregātu klātbūtnes liposomu dispersijas paraugā. Salīdzinot magnētisku liposomu dispersijas OM un DGI rezultātus (sk. 3.15. tabulu, 5.-6. paraugi un 3.14. tabulu, 2. paraugs), tika atrasts, ka temperatūras intervālā 40–50°C vairāk veidojas liela izmēra (lielākas nekā 1 μ m) magnētiskas liposomas.



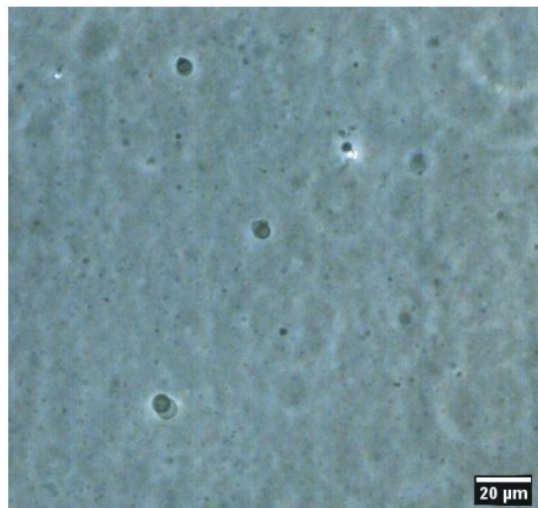
(a) SpHy-R-23



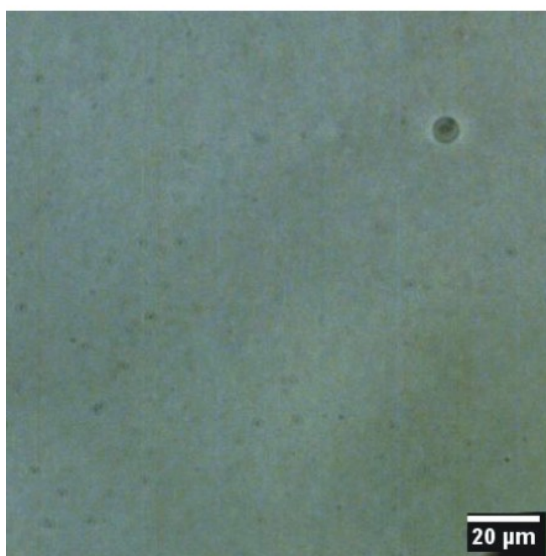
(b) SpHy-R-24



(c) SpHy-R-25



(d) SpHy-R-26



(e) SpHy-R-27

**5 mg KP-11; 50 μ l 11-02 FF_{sk};
procesa laiks 20 min.**

Temperatūra:

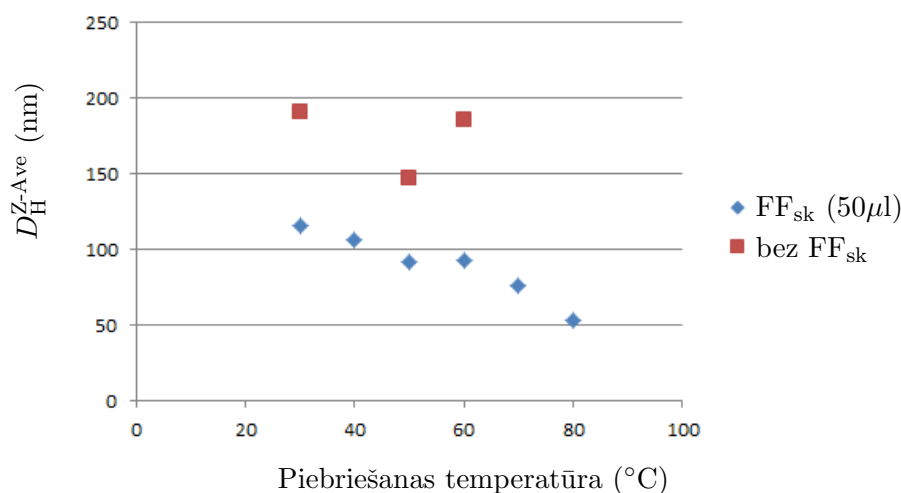
- (a) 30 – 35°C, liposomu izmērs 1–6 μ m
- (b) 40 – 45°C, liposomu izmērs 2–7 μ m
- (c) 45 – 50°C, liposomu izmērs 2–10 μ m
- (d) 60 – 65°C, liposomu izmērs 2–6 μ m
- (e) 70 – 75°C, liposomu izmērs < 1–3 μ m

3.40. att.: Ar SpPi metodi iegūtu liposomu dispersijas OM attēli. Liposomu izmēra un daudzuma atkarībā no piebriešanas temperatūras.

3.15. tabula: Ar SpPi metodi iegūtu liposomu izmēru atkarība no piebriešanas temperatūras. DGI (sk. 3.39. att.) un OM (sk. 3.40. att.) rezultāti. $t^{\circ}\text{C}$ – piebriešanas temperatūra; PdI – polidispersitātes indekss; $D_{\text{H}}^{\text{Z-Ave}}$ – visa sadalījuma vidējais hidrodinamiskais diametrs; $D_{\text{H}}^{\text{vid}}$ – sadalījuma lokālo maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs; D_0^{vez} – optiskajā mikroskopā redzamais liposomu diametrs.

Nr.	Paraugs	FF (μl)	t ($^{\circ}\text{C}$)	PdI	$D_{\text{H}}^{\text{Z-Ave}}$ (nm)	$D_{\text{H}}^{\text{vid}}$ (nm)			D_0^{vez} (μm)
						1.maks.	2.maks.	3.maks.	
1.	SpHy-R-54	0	30	0,453	191,4	64,81	649,7	4121	1 – 8,5
2.	SpHy-R-57	0	45 – 50	0,269	146,9	24,91	132,0	5048	1 – 4,7
3.	SpHy-R-58	0	60	0,406	185,2	–	120,2	2455	< 1–2, 8
4.	SpHy-R-23	50	30 – 35	0,491	115,5	37,0	285,3	4758	1 – 6
5.	SpHy-R-24	50	40 – 45	0,963	106,9	29,73	717,6	4679	2 – 7
6.	SpHy-R-25	50	45 – 50	0,861	91,60	24,51	499,1	3928	2 – 10
7.	SpHy-R-26	50	60 – 65	0,939	92,75	26,51	934,8	4178	2 – 6
8.	SpHy-R-27	50	70 – 75	0,549	75,84	26,37	415,4	4784	< 1 – 3
9.	SpHy-R-28	50	80 – 85	0,566	53,56	26,29	–	1200	< 1 – 2

Liposomu dispersiju, kas satur ferošķidrums un iegūtas, izmantojot dažādas piebriešanas temperatūras, hidrodinamisko diametru sadalījumi parādīti 3.39. attēlā un optiskās mikroskopijas rezultāti – 3.40. attēlā. Ar DGI un optisko mikroskopiju iegūtie rezultāti apkopoti 3.15. tabulā, no kuras datiem izveidots 3.41. attēls.



3.41. att.: Liposomu dispersiju, kas nesatur (3.38. att.) un satur magnētiskās NDs (3.39. att.) sadalījumu vidējo hidrodinamisko diametru $D_{\text{H}}^{\text{Z-Ave}}$ atkarība no piebriešanas temperatūras.

3.41. attēlā parādītas liposomu dispersijas sadalījumu vidējo hidrodinamisko diametru $D_{\text{H}}^{\text{Z-Ave}}$ vērtības atkarībā no sintēzē izmantotās piebriešanas temperatūras. Sarkanā līkne rāda "tukšo" liposomu dispersiju $D_{\text{H}}^{\text{Z-Ave}}$ vērtības atkarībā no temperatūras. 40–50 $^{\circ}\text{C}$ temperatūrā novērojama $D_{\text{H}}^{\text{Z-Ave}}$ vērtības samazināšanās, tā saucamo – "bedre". Tālāk, ar temperatūras palielinājumu, palielinās sadalījumu vidējais hidrodinamiskais diametrs. Zilā līkne raksturo liposomu dispersijas, kas iegūtas izmantojot FF. Novērojam sadalījumu

vidējā hidrodinamiskā diametra vērtību nelielu samazināšanos. D_H^{Z-Ave} skaitlisko lielumu ietekmē ne tikai liposomu izmērs, bet arī to daudzums. Kā parādīts optiskās mikroskopijas 3.40. (b) un (c) attēlā, vislabākie rezultāti ir tad, kad novērots lielākais liposomu skaits un lielums, kas ir 40–55°C temperatūrā (paraugi SpHy-R-24 un SpHy-R-25).

3.16. tabula: **Procesa ilguma (τ) ietekme uz veidoto liposomu izmēriem 30°C un 40–50°C temperatūrās; 50 μ l FF_{sk}. Liposomu izmēri noteikti ar OM pirms un pēc magnētiskās separācijas. D_0^{vez} – optiskajā mikroskopā redzamais liposomu diametrs. LVVs – lielās vienlamelārās vezikulas, kuru diametri ir 100 nm – 20 μ m diapazonā.**

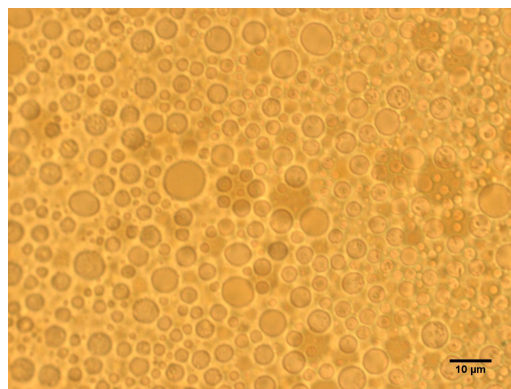
Nr.	Paraugs	t (°C)	Laiks τ (min.)	D_0^{vez} (μ m)
1.	SpHy-R-45 SpHy-R-45 ^{top} SpHy-R-45 ^{bot}	30	10	1,3–4,1 (liposomu nav daudz) 1,6–5,5 0,9–1,0 (NDs agregāti, maza izmēra LVVs)
2.	SpHy-R-46 SpHy-R-46 ^{top} SpHy-R-46 ^{bot}	30	20	2,2–14 2,9–11,2 (daudz maza izmēra LVVs) 2,2–10 (liposomu skaits ir neliels)
3.	SpHy-R-47 SpHy-R-47 ^{top} SpHy-R-47 ^{bot}	30	30	0,9–9,0 (ļoti daudz neliela izmēra LVVs) 1,8–6,8 (daudz maza izmēra LVVs) 1,3–5,9
4.	SpHy-R-44 SpHy-R-44 ^{top} SpHy-R-44 ^{bot}	30	40	1,3–12,8 (daudz LVVs) 1,6–11 (daudz LVVs) 0,9–1,0 (daudz neliela izmēra liposomu)
5.	SpHy-R-48 SpHy-R-48 ^{top} SpHy-R-48 ^{bot}	30	50	0,9–1,0; 1–6,8 1,3–11,8 0,9; 1–6,6 (liela izmēra LVVS nav daudz)
6.	SpHy-R-35 SpHy-R-35 ^{top} SpHy-R-35 ^{bot}	40–50	10	1,0–9,0 1,6–8,2 NDs agregāti
7.	SpHy-R-36 SpHy-R-36 ^{top} SpHy-R-36 ^{bot}	40–50	15	daudz maza izmēra LVVs apm. 0,9–1,0 daudz maza izmēra LVVs apm. 2,0 NDs agregāti
8.	SpHy-R-30 SpHy-R-30 ^{top} SpHy-R-30 ^{bot}	45–50	20	1,0; 2,2–7,57 0,9–7,34 1,8–12,7 (liels liposomu skaits)
9.	SpHy-R-29 SpHy-R-29 ^{top} SpHy-R-29 ^{bot}	45–50	30	1,3–6,7; 9,4 (liels liposomu skaits) 1,5–6,0 2,0–5,5 (liels liposomu skaits)
10.	SpHy-R-39 SpHy-R-39 ^{top} SpHy-R-39 ^{bot}	45–50	40	1,1–3,8 (neliels skaits) 1,6–6,8 (neliels skaits) 0,9 (necīgs skaits)
11.	SpHy-R-40 SpHy-R-40 ^{top} SpHy-R-40 ^{bot}	45–50	45	1,0–1,3 (pārsvarā); 5,9 (necīgs skaits) 2,0 (pārsvarā); 3,8–7,9 (neliels skaits); apm. 1,0–1,5

Piebriešanas procesa laika ietekme uz magnētisko liposomu veidošanos. Analizējot iegūtos rezultātus (sk. 3.16. tabulu), varam secināt, ka temperatūra ir ļoti svarīgs parametrs, tāpat arī procesa laiks. Lai iegūtu magnētiskās liposomas 30°C temperatūrā, procesa laikam jābūt 30–50 min. Tomēr lielu LUVs daudzums ir ļoti neliels. Savukārt, veicot liposomu iegūšanu 45–50°C temperatūrā, optimālais procesa laiks ir 20 min. Pagarinot procesa laiku, liposomu izmēri samazinās. Varam pieņemt, ka, karsējot liposomu dispersijas ilgāku laiku, liela izmēra liposomas tiek sagrautas, jo tādas nav redzamas mikroskopā.

Magnētisko liposomu iegūšanai, izmantojot spontānās piebriešanas metodi un savienojumu KP-11 kā aktīvo vielu, ir daudz faktoru, kuri ietekmē rezultātu. Analizējot visus datus par magnētisko liposomu dispersiju iegūšanu un īpašībām, tika atrasts, ka spontānās piebriešanas procesā veidojas kā magnētiskās, tā arī "tukšās" liposomas. Pierādīts, ka ar temperatūras un procesa laiku var regulēt iegūto magnetoliposomu skaitu un lielumu. Optimālie temperatūras nosacījumi magnētisko liposomu sintēzei, izmantojot lipīdveida katjonu amfifīlu 1,4-DHP atvasinājumu KP-11 un pozitīvi lādētas γ -Fe₂O₃ NDs, atrasti 45–50°C temperatūras diapazonā. Tātad varam secināt, ka SpPi metode ir ļoti vienkārši realizējama, neprasa sarežģītu aparātūru. Kā trūkumu var minēt gadījuma rakstura faktoru, kas ir nozīmīgs liposomu veidošanai un rezultātu atkārtojamībai. Tomēr ir skaidri redzama eksperimenta rezultātu tendence.

3.4.3. Ar apgrieztās fāzes ietvaicēšanas metodi iegūtās liposomas

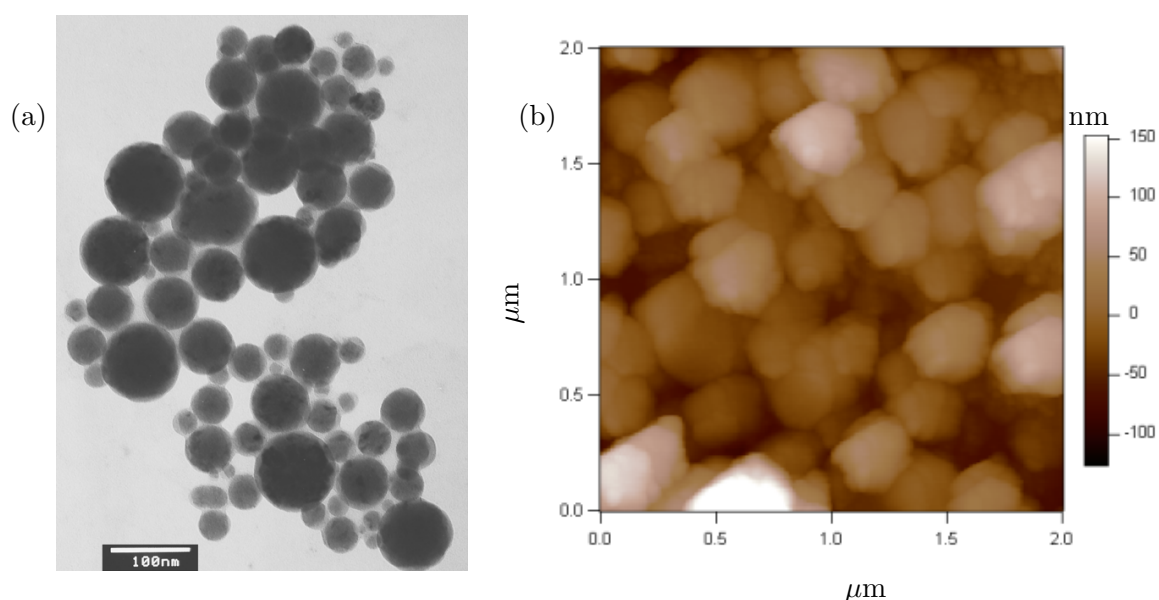
Lai pārbaudītu apgrieztās fāzes ietvaicēšanas (AFI) metodi un skatītu, kā citas metodes izmantošana ietekmē iegūto liposomu dispersiju struktūru, īpašības, tika iegūti magnetoliposomu paraugi, izmantojot AFI metodi. Realizējot magnetoliposomu iegūšanu, vienīgais mainīgais parametrs ir 1,4-dihidropiridīna atvasinājuma KP-11 daudzums, kas izmantots. Ferošķidrums (FF) daudzums visos liposomu dispersiju paraugos ir vienāds (1 ml). Tika izvērtēti un analizēti rezultāti, kas iegūti ar OM, kā arī ar TEM un ASM metodēm. Ietvaicēšanu realizējām, izmantojot rotācijas ietvaicētāju.



3.42. att.: Optiskās mikroskopijas attēls emulsijai, kas iegūta pēc sonifikācijas. Tas liecina (brūna krāsa), ka vezikulu (vai micellu) iekšpusē atrodas feroksidrums.

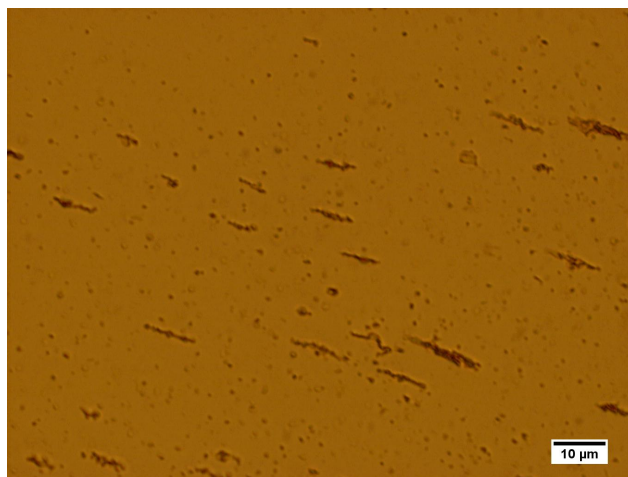
Lai iegūtu magnētiskās liposomas ar apgrieztās fāzes ietvaicēšanas metodi, vispirms jāgatavo organiskās fāzes emulsija, kuras sastāvā ir katjonais lipīds – savienojuma KP-11 noteikta daudzuma šķīdums hloroformā (koncentrācija 10 mg/ml), dietilēteris un ferrošķidrums ar γ -Fe₂O₃ NDs. Šis maisījums tiek 20 minūtes sonificēts ultraskaņas vannā. Iegūtā H₂O/organiskās fāzes emulsija tika analizēta optiskajā mikroskopā un rezultāti parādīti 3.42. attēlā. Analizējot attēlus, varam spriest, ka tumšā vezikulu krāsa apstiprina, ka FF iekļaušana organiskajā fāzē notiek jau emulsijas pagatavošanas laikā. Otrās metodes posms ir emulsijas ietvaicēšana pie pazemināta spiediena. Ietvaicēšanas temperatūru nosaka dietilētera viršanas temperatūra ($t = 34^{\circ}\text{C}$). Ietvaicēšana var turpināties no 15 līdz 40 minūtēm, atkarībā no katra atsevišķā parauga, kamēr nav ietvaicēts viss organiskais šķīdinātājs.

Ferošķidruma nanodaļiņu virsmas lādiņa ietekme uz liposomu veidošanos, izmantojot AFI metodi. Izmantojot magnētiskas NDs, kas pārklātas ar citrātjoniem, lai iegūtu liposomu dispersiju, sintēzes procesā notiek daļiņu un lipīda agregācija. Ir nepieciešama ekstrūzija. Sintēzes rezultātā, izmantojot galvenokārt NDs/citr, var iegūt liposomas ar diametru 40–300 nm, kas ir parādīts ar TEM datiem (sk. 3.43. (a) att.) un apstiprināts arī ASM (sk. 3.43. (b) att.) attēlos. Optiskā mikroskopā ir redzamas magnētiskas liposomas ar izmēru 1–1,5 μm (sk. 3.44. att.). To nav daudz. Liposomas ir magnētiskas. 3.44. attēlā parādīts, ka, pietuvinot paraugam pastāvīgu magnētu, liposomas, kas satur magnētiskas nanodaļiņas, veido tā sauktos ķēdes ansambļus. Kā jau tika minēts iepriekšējā nodaļā (100 lpp.), pēc analogijas ar literatūras datiem [14], pierādījām, ka mūsu gadījumā veidojas magnētiskas liposomas.



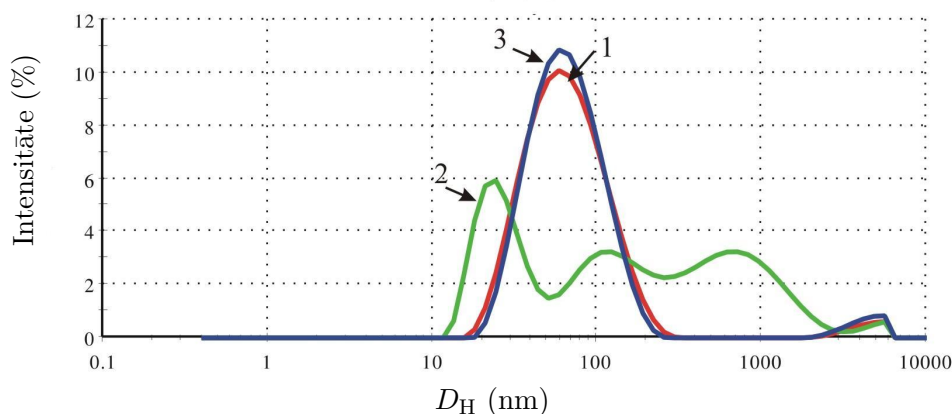
3.43. att.: Ar AFI metodi iegūtu magnētisku liposomu (2 mg KP-11), izmantojot negatīvi lādētas NDs, (a) TEM attēls un (b) ASM attēls.

Izmantojot KP-11 kā membrānveidojošo aģentu un pozitīvi lādētas NDs ar AFI metodi liposomu sintēzei, varam pagatavot liela izmēra magnētiskās liposomas (līdz 20 μm).



3.44. att.: Ar AFI metodi (2 mg KP-11) iegūtu magnētisku liposomu, izmantojot negatīvi lādētas NDs, OM attēls.

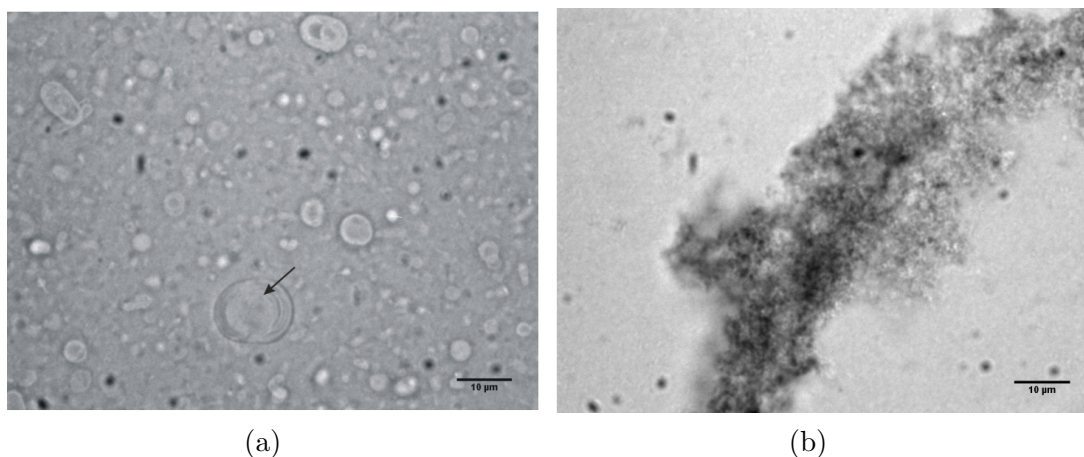
Liposomu dispersijas tika pakļautas magnētiskajai separācijai, lai atdalītu liposomās neiekļautās NDs. Magnētiskās separācijas process tika aprakstīts iepriekšējā daļā (sk. 96. lpp.) un šajā gadījumā realizēts šļircē, izmantojot pastāvīgo magnētu. Ar šo procedūru iespējams atdalīt lielo izmēru magnētiskās liposomas (augšējā fāze) no maza izmēra magnētiskajām liposomām, kuras atdalās kopā ar neiekļautajām NDs.



3.45. att.: Magnētisko liposomu (8 mg KP-11) hidrodinamisko diametru sadalījumi: 1. līkne – paraugs pirms magnētiskās separācijas; 2. līkne – pēc magnētiskās separācijas augšējā fāze; 3. līkne – pēc magnētiskās separācijas apakšējā fāze.

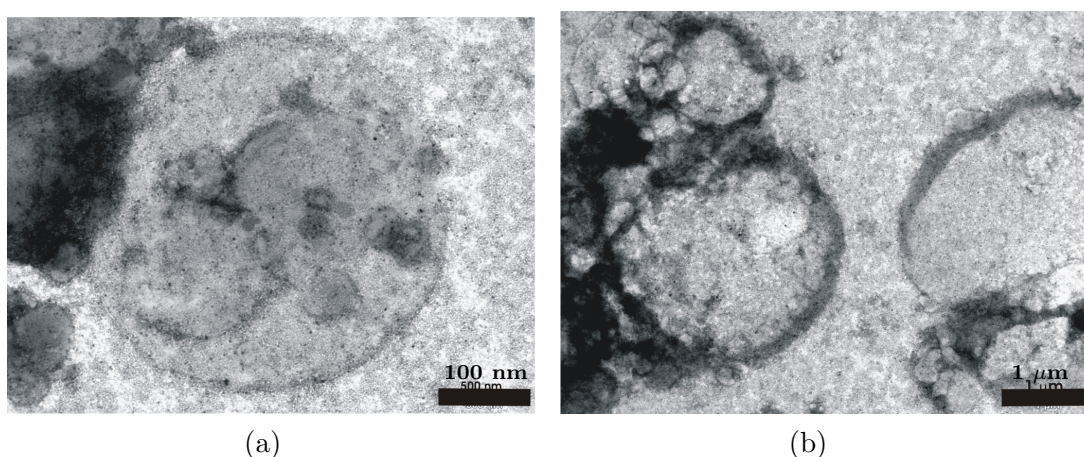
3.45. attēlā parādīta parauga, kas iegūts, izmantojot 8 mg KP-11, ar dinamiskās gaismas izkliedes metodi reģistrētu liposomu sadalījumi pirms un pēc magnētiskās separācijas. 3.45. attēlā 2. līkne demonstrē, ka augšējā fāzē ir ļoti plašs liposomu sadalījums pēc izmēriem, tās polidispersitātes indekss $PdI = 0,848$, atšķirībā no 1. un 3. līknes, kad $PdI = 0,245$, kas norāda, ka paraugā ir dažāda izmēra magnētiskās liposomas.

Tas arī ir redzams, analizējot parauga augšējās fāzes optiskās mikroskopijas attēlu (sk. 3.46. att.). Liposomas ir dažādas ne tikai pēc izmēra. Ar bultiņu parādīta multilamelāra liposoma (MLv), kad ir vairāk nekā viens bislānis. MLv sintezējas, paaugstinot lipīda koncentrāciju, kas līdzīgi novērots fosfolipīdiem [108].



3.46. att.: Magnētisko liposomu dispersijas (8 mg KP-11) OM attēli: (a) liposomu dispersijas pēc magnētiskās separācijas augšējā fāze (liposomu diametrs 1–20 μm); (b) liposomu dispersijas pēc magnētiskās separācijas apakšējā fāze (maza izmēra magnētiskās liposomas (līdz 1 μm) un liposomās neiekļautie NDs agregāti).

Liposomu dispersijas (8 mg KP-11) augšējā fāze tika pētīta arī ar transmisijas elektronmikroskopiju. 3.47. attēlā parādīti tās rezultāti, kuri sakrīt ar optiskās mikroskopijas datiem.

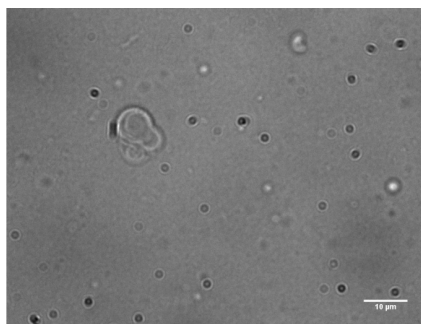
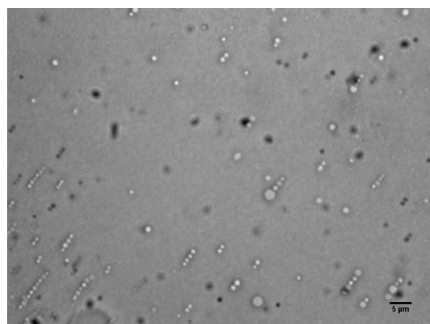


3.47. att.: TEM attēli ar AFI metodi iegūtām magnētiskām liposomām (8 mg KP-11): (a) liposomu lielums 18,5 μm , (b) liposomu lielums 2,5 μm .

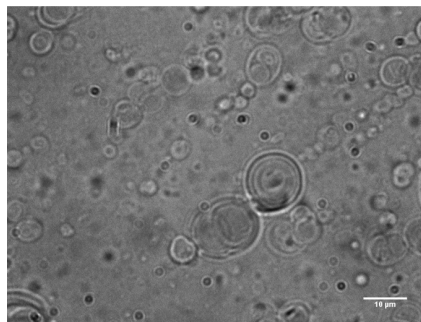
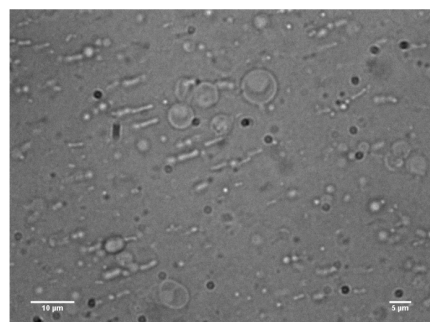
3.48. attēlā parādīti ar AFI metodi iegūtas liposomu dispersijas OM rezultāti. Liposomu dispersijas, kas iegūtas, izmantojot pozitīvi lādētas NDs un dažādu savienojuma KP-11 daudzumu, paraugi analizēti pirms un pēc magnētiskās separācijas. Mainot savienojuma KP-11 daudzumu, eksperimentāli tika pierādīts (sk. 3.48. att.), ka KP-11 koncentrācijas palielināšana dod lielāku iespēju liposomu veidošanai. Iegūto liposomu izmēru sadalījums ir ļoti plašs. Veidojas gan vienlamelāras, gan daudzlamelāras vezikulas, bet to daudzums nav liels. Optiskās mikroskopijas attēli (sk. 3.48. att.) tika iegūti, pietuvinot priekšmetstikliņam ar paraugu pastāvīgo magnētu. Visos attēlos redzams, ka liposomu dispersijās gan pirms, gan pēc magnētiskās sadalīšanas liposomas apvienojas ķēdēs. Tā ir specifiska magnētisko liposomu atbilde uz magnētiskā lauka iedarbību. Iegūto liposomu veidi ir dažādi, piemēram, vienslāņa un daudzslāņu liposomas.

Pirms magnētiskās atdalīšanas

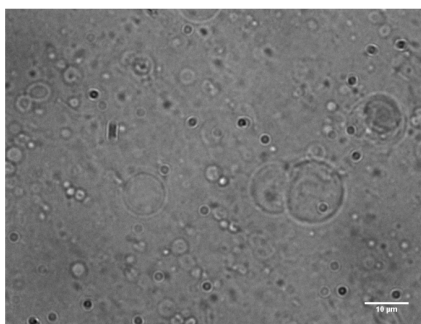
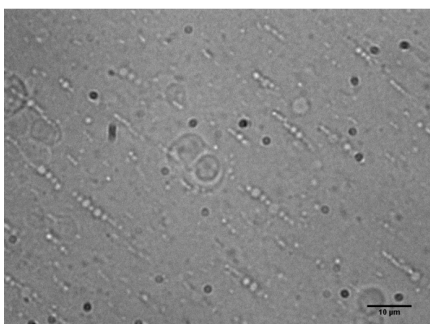
Pēc magnētiskās atdalīšanas (augšējā fāze)



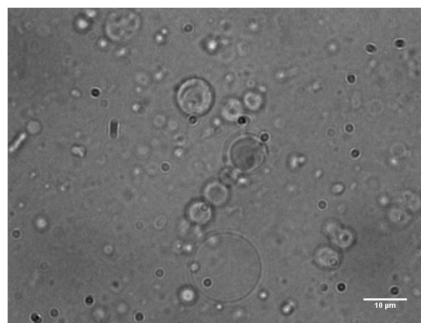
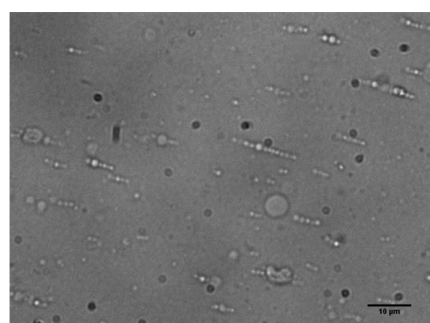
(a) 2 mg KP-11
liposomu izmērs
1–3 μm



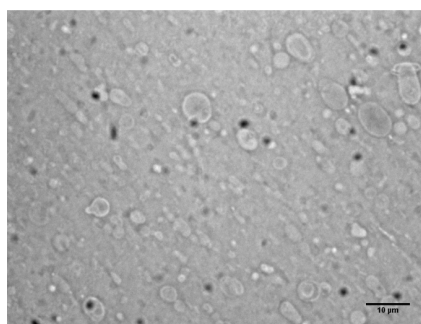
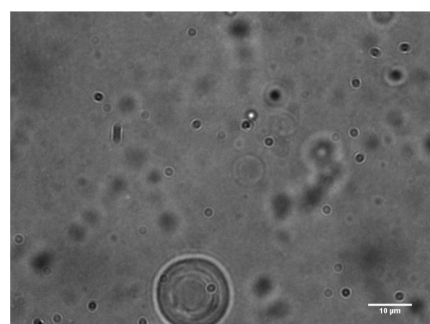
(b) 3 mg KP-11
liposomu izmērs
1–10 μm



(c) 4 mg KP-11
liposomu izmērs
1–16 μm



(d) 5 mg KP-11
liposomu izmērs
1–17 μm



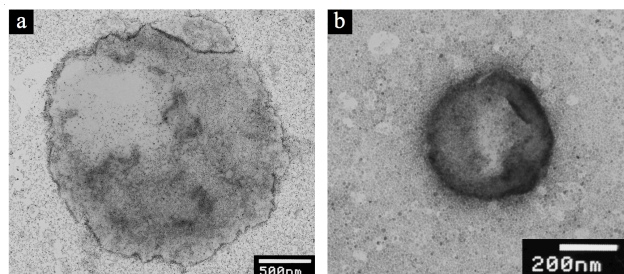
(e) 8 mg KP-11
liposomu izmērs
1–14 μm

3.48. att.: Ar AFI metodi iegūtu magnētisku liposomu dispersijas paraugu, izmantojot FF_{sk} ar pozitīvi lādētām nanodaļiņām un variējot izmantoto KP-11 daudzumu, OM attēli.

Novērojot iegūtās liposomu dispersijas optiskajā mikroskopā pēc 6 mēnešiem, noskaidrots, ka lielā izmēra liposomas sabrūk. Liposomas ar diametru diapazonu 1–6 μm ir stabilākas. Parādīts, ka pie lielākas savienojuma KP-11 koncentrācijas iegūtajām liposomām ir garāks dzīves periods, jo veidojas vairāk nekā viena bislāņa membrānas, tā saucamās multilamelārās vezikulas. Tātad, izmantojot AFI metodi, varam iegūt liela izmēra magnētiskās liposomas, lai tās izmantotu kā modeli membrānu mehānisko īpašību pētīšanai. Magnētisko vezikulu īpašību raksturošanai perspektīvā tiks izmantoti vezikulu magnetoforēzes mērījumi. Bislāņu mehāniskās īpašības tiks noteiktas, piemēram, membrānu elastības raksturošanai, kas ir svarīga membrānveidojošo vielu praktiskajam pielietojumam bioloģijā un zāļu formu izstrādei farmakoloģijā, mērot vezikulu deformāciju magnētiskajā laukā.

3.4.4. Iegūto magnētisko liposomu elastība

Lipīda bislāņu liekumu elastībai ir būtiska loma liposomu endocitozes¹⁶ procesos šūnās. Lai noteiktu bislāņa membrānas mehāniskās īpašības, to elastības moduļa vērtību, jāveic magnetoforēze un jānosaka magnētisko vezikulu deformācija magnētiskajā laukā. Šī metode dod informāciju par vezikulā iekļautā FF īpašībām un tā atšķaidīšanās faktoru. Mērot vezikulu deformāciju, iegūst ekscentricitāti (e ¹⁷), vezikulu izmēru, kuru izmanto elastības moduļa aprēķināšanai. Tās noteikšanai ar AFI metodi, kas ir aprakstīta eksperimentālajā daļā, tika iegūtas magnētiskas liposomas, un to liekuma elastība noteikta, mērot iegūto liposomu deformāciju ārējā magnētiskā laukā un liposomu dispersijas magnetoforēzi. Liposomu iegūšanai tika izmantoti: lipīds KP-11 un ferošķidrums 11-04 FF_{sk} ar $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanodaļiņām (ferošķidruma īpašības sk. 3.3. un 3.4. tabulās). Koloidālo NDs tilpuma daļa noteikta, izmantojot ķīmisko analīzi $\Phi_{\text{tilp}}^{\text{an}} = 1,8\%$; magnētisku NDs $\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}} = 1,3\%$. FF blīvums $\rho = 1,073 \text{ g/cm}^3$. Tika iegūti daži liposomu paraugi, izmantojot dažādu lipīda daudzumu: A paraugam – 9 mg KP-11; B paraugam – 8 mg; C paraugam – 7 mg un D paraugam – 3 mg. Lai atdalītu liposomā neiekļautās magnētiskās nanodaļiņas, tika veikta dispersijas magnētiskā separācija.



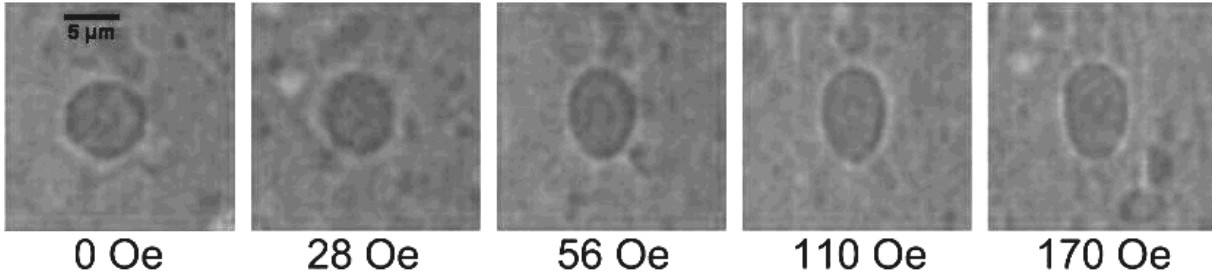
3.49. att.: Ar AFI metodi iegūto magnētisko vezikulu TEM attēli. (a) A paraugs un (b) B paraugs no 3.17. tabulas [174].

Liposomu dispersijas tika pētītas ar optisko mikroskopu un ar transmisijas elektronmikroskopu. 3.49. attēlā parādīti dažu dispersiju liposomu TEM attēli. Tipisks liposomu

¹⁶Šūnu ārējā materiāla inkorporācija, veidojot membrānu vezikulas

¹⁷Ekscentricitāte $e = \sqrt{1 - (b/a)^2}$ (a un b attiecīgi vezikulas kā elipsoīda garās un īsās ass izmēri).

izmērs, noteikts ar TEM, ir mazāks nekā novērots ar optisko mikroskopu, jo lielāka izmēra liposomas tiek sagraudas TEM paraugu sagatavošanas gaitā. Ar optisko mikroskopu noteiktie iegūto liposomu diametri ir 5–20 μm diapazonā. Vezikulu (B1 no 3.18. tabulas) deformācija pie dažādām magnētiskā lauka intensitātes vērtībām parādīta 3.50. attēlā.

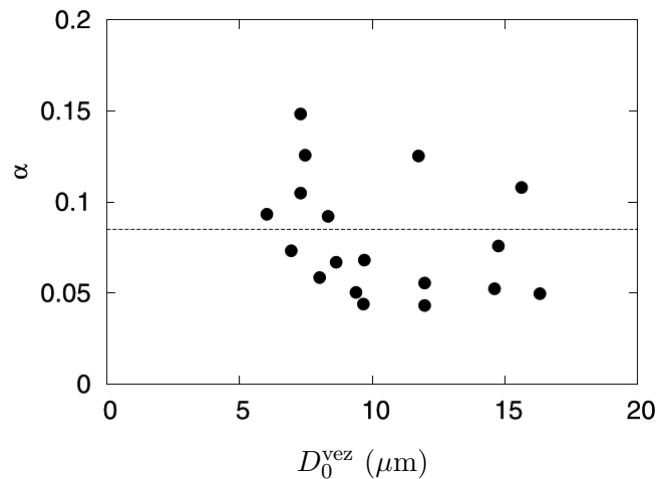


3.50. att.: Magnētisku liposomu ar optiskajā mikroskopā redzamo diametru $D_0^{\text{vez}} = 7 \mu\text{m}$ (liposoma B1 sk. 3.18. tabulu) deformācija magnētiskajā laukā [174].

3.17. tabula: Pētīto vezikulu dispersiju īpašības: $C_{\text{KP-11}}$ ir sintēzē izmantotā pamatšķīduma lipīda koncentrācija; $\bar{\alpha}$ ir liposomā ietvertā ferošķīduma vidējais šķaidīšanas faktors α (sk. 3.51. att.).

Liposomu dispersijas	$C_{\text{KP-11}}$ (mol/l)	$\bar{\alpha}$
paraugs A	$9,72 \cdot 10^{-3}$	0,104
paraugs B	$8,64 \cdot 10^{-3}$	0,098
paraugs C	$7,56 \cdot 10^{-3}$	0,100
paraugs D	$3,24 \cdot 10^{-3}$	0,085

Liposomu dispersijas paraugu īpašības (FF koncentrācija, vidējais šķaidīšanas faktors) parādītas 3.17. tabulā. Jāatzīmē, ka sintēzes procesa beigās, liposomā iekļautam FF ir tāds pats nanodaļiņu izmēru sadalījums kā sākotnējā ferošķīdumā, tomēr tas ir atšķaidīts. Šķaidīšanu raksturo šķaidīšanas faktors α , kas ir mazāks par 1. D parauga vezikulu (ar dažādu diametru no 5 līdz 20 μm) aprēķinātās α vērtības parādītas 3.51. attēlā, demonstrējot ievērojamu liposomā iekļautā FF magnētisko nanodaļiņu koncentrācijas samazināšanos, salīdzinot ar sākuma FF koncentrāciju.



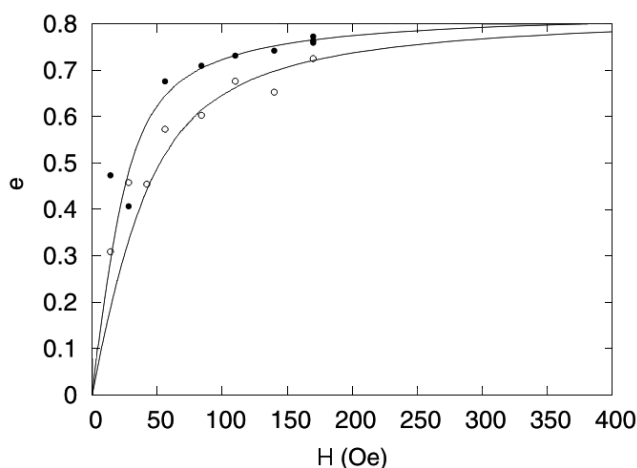
3.51. att.: Šķaidīšanas faktors $\alpha = M_{\text{ves}}/M_{\text{FF}}$ kā funkcija no pētīto vezikulu D parauga OM redzamā diametra. Vidējais šķaidīšanas faktors $\bar{\alpha} = 0,085$ [174].

Atrasts, ka tā ir aptuveni 7 reizes mazāka nekā sintēzes procesā izmantotajam magnētiskam koloīdam. Iegūtās šķaidīšanas faktoru vidējās vērtības $\bar{\alpha}$ katrai no pētāmajām liposomu dispersijām parādītas 3.17. tabulā. Visām dispersijām α vērtības ar kārtu 10^{-1} , kas atbilst vezikulā iekļautu nanodaļiņu tilpuma koncentrācijai $\Phi_{\text{tilp}}^{\text{magn}} = 0,2\%$. Tika novērots, ka katrai pētītajai vezikulai vienās dispersijās ir sava šķaidīšanas faktora α vērtība un šī vērtība nav atkarīga no vezikulu diametra D_0^{vez} .

3.18. tabula: Pētītās magnētisko liposomu īpašības. D_0^{vez} ir liposomu diametrs; K_b – liekumu elastības konstante; τ_0 ir sākotnējais dubultslāņa spriegums, kad nav uzlikts magnētiskais lauks (pie lauka nulles vērtības).

Vezikulas	D_0^{vez} (μm)	$K_b/k_B T$	τ_0 (erg/cm^2)
A1	11,3	2,00	$5,0 \cdot 10^{-6}$
B1	7,0	1,40	$3,2 \cdot 10^{-6}$
B2	12,5	4,80	$4,6 \cdot 10^{-6}$
C1	7,0	0,22	$7,2 \cdot 10^{-6}$
D1	11,9	0,77	$1,2 \cdot 10^{-5}$

Elastības eksperimentā vezikulu deformācija tika reģistrēta kā funkcija no pieliktā magnētiskā lauka (sk. 3.52. att.). Apstrādājot liposomas ekscentricitātes (e) atkarību no magnētiskā lauka (H), kā parādīts 3.52. attēlā, atrasts, ka dotā tipa liposomas raksturojas ar zemu liekuma elastības moduli. To var saistīt ar īpaši lieliem lipīda (KP-11) polārās daļas izmēriem. 3.18. tabulā parādīti atrastie vezikulu liekuma elastības moduļi $K_b/k_B T$. Elastības moduļu vērtības atrodas intervālā $0,22\text{--}5,0 k_B T$. Šie lielumi ir diezgan zemi, ievērojot, ka redzamā membrānu deformācija nav liela. Tika atrasts, ka sākotnējais bislāņa spriegums $\tau_0 \sim 10^{-6} - 10^{-5} \text{ erg}/\text{cm}^2$ labi atbilst datiem, kas iegūti citu amfifilu bislāņiem (piemēram, tādiem fosfatidilholīniem¹⁸ kā DOFH un POFH, kuru τ_0 variējas no $10^{-10} - 10^{-6} \text{ erg}/\text{cm}^2$, atkarībā no liposomu izmēra) [165, 166].



3.52. att.: Ar magnētisko lauku izraisīta liposomas B1 (līkne ar melniem punktiem) un D1 (līkne ar baltiem punktiem) deformācijas $e(H)$ atkarība no pieliktā magnētiskā lauka. Ar nepārtraukto līniju attēlota teorētiskā sakarība (2.6) vien. (atbilstošās K_b un τ_0 vērtības dotas 3.18. tabulā) [174].

¹⁸Fosfatidilholīni – fosfolipīdu klase, kuram holīns ir polārā daļa.

Bislāņa elastības moduļa lielums ir ļoti atkarīgs no amfifila morfoloģijas [161]. KP-11 ir liela polārā daļa ($a = 120 \text{ \AA}^2$) un hidrofobās ķēdes (12C) ($L = 12d$). $d = 1,27 \text{ \AA}$ ir metilēngrupas garums. Teorētiski aprēķinātais $K_b/k_B T$ ir 1,72. Šis lielums ir tuvs vidējam eksperimentāli noteiktajam lielumam 1,80.

Literatūrā ir dati par citu amfifilu elastības moduļu vērtībām. Vajag atzīmēt, ka tās iegūtas ar dažādām metodēm un var atšķirties. Tā piemēram, [165] darbā elastības moduļi tika aprēķināti, izmantojot vezikulu deformāciju elektriskā laukā un to vērtības tādiem fosfolipīdiem kā 1,2-dioleil-*sn*-glicero-3-fosfatidilholīns (DOFH) un 1-palmitoil-2-oleoil-*sn*-glicero-3-fosfatidilholīns (POFH) ir attiecīgi $15,2 k_B T$ un $14,5 k_B T$. Izmantojot termisko fluktuāciju analīzes metodi, DOFH elastības moduļa vērtība ir $6,0 k_B T$ un POFH elastības moduļa vērtība ir $9,75 k_B T$. Magnētisko liposomu membrānu, kuru veidoja DOFH, moduļa vērtība, kura tika aprēķināta [155] darbā, variējas ap $20 k_B T$.

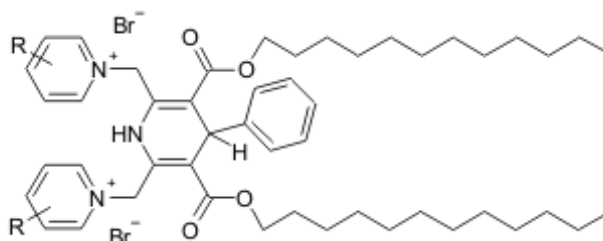
Mūsu darbā izmantojam aprēķinu metodi, kuru speciāli lielu deformāciju gadījumam izstrādāja *Cēbers* un *Perzinsky* [174, 190]. Lai salīdzinātu rezultātus tika sintezētas magnētiskas vezikulas, izmantojot DOFH kā membrānveidojošu vielu. Šādām vezikulām ar izmēru apmēram $50 \mu\text{m}$ (optiskās mikroskopijas dati 3.31.(b) att.) elastības modulis, kas aprēķināts ar izmantoto metodi ir $K_b = 9,76 k_B T$. Darba autori [190] pētīja endosomu¹⁹ deformāciju magnētiskā laukā. Izmantojot mūsu darbā piemēroto metodi, tika atrasts, ka endosomu elastības moduļa vērtība ir $5,2 k_B T$ un $\tau_0 = 0,06 \text{ erg/cm}^2$.

Perspektīvā tiks veikta membrānu elastības moduļa noteikšana, izmantojot termisko fluktuāciju analīzes metodi, kas ļaus salīdzināt rezultātus iegūtus ar dažādu aprēķinu metožu palīdzību. Tā rezultātā tiks veikti plašāka lipīdu klāsta, t.sk. sintētisko lipīdveida 1,4-DHP atvasinājumu veidoto membrānu īpašību mērījumi.

¹⁹Endosoma – iekššūnas membrānu organoīdu.

3.5. Iegūto liposomu kritiskā micellu koncentrācija

Raksturojot pašasociējošos liposomas veidojošus savienojumus, svarīgs lielums ir kritiskā micellu koncentrācija (KMK). KMK ir koncentrācija, sākot no kuras šķīdumā veidojas liposomas vai citi nanoagregāti.



KP-11: R=H;
 KP-11-N(Me)₂: R=4-N(CH₃)₂
 KP-11-Me: R=3-CH₃;
 KP-11-Ac: R=3-COCH₃

3.53. att.: 1,4-Dihidropiridīna atvasinājumi: savienojums KP-11 un tā tuvi struktūras analogi.

Lai raksturotu savienojumu KP-11 un tā tuvus struktūras analogus (sk. 3.53. att.), veicām KMK noteikšanu, izmantojot DGI metodi. Tika pagatavots sākotnējais liposomu šķīdums ar atbilstošu savienojumu, koncentrācija 0,5 mg/ml, tāpat kā iepriekšējos pētījumos. Katrs nākošais šķīdums tiek pagatavots divas reizes atšķaidot iepriekšējo, iegūstot 10 šķīdumu sēriju katram paraugam koncentrāciju diapazonā no 0,5 mg/ml līdz $0,1 \cdot 10^{-2}$ mg/ml. Paraugus analizējam ar DGI metodi, izmantojot *Topel* un līdz. piedāvāto metodiku [191], skatot parauga signāla intensitātes atkarību no savienojuma koncentrācijas.

3.19. tabula: Izvēlēto katjono 1,4-DHP atvasinājumu zeta-potenciāli, un, ar DGI metodi iegūto liposomu dispersijas izmēru sadalījumu skaitliskie rezultāti. PdI – polidispersitātes indekss, D_H^{Z-Ave} – visa sadalījuma vidējais hidrodinamiskais diametrs.

Savienojums	PdI	D_H^{Z-Ave} (nm)	Sadalījuma lokālo maksimuma vidējais hidrodinamiskais diametrs, D_H^{vid} (nm)/(%)		Zeta-potenciāls (mV)
			1. maksim.	2. maksim.	
KP-11	0,345	113	151/98,6	5210/1,1	82,1±9,54
KP-11-N(Me) ₂	0,323	100	151/96,6	24,10/3,4	65,9±13,6
KP-11-Me	0,607	74,8	147/88,7	2,21/3,4	67,0±11,7
KP-11-Ac	0,270	150	154/100	–	61,0±11,7

Ļoti atšķaidītos šķīdumos intensitāte ir tuva tīra ūdens intensitātei, noteiktai ar DGI metodi. Savukārt, paaugstinot savienojuma koncentrāciju, pieaug liposomu skaits paraugā līdz ar to arī intensitāte. Līknes lūzuma punktu pieņem par aptuveno savienojumu kritisko micellu koncentrāciju. Noteiktās KMK vērtības visiem savienojumiem ir 30, 35,

20 un 15 μM 25°C temperatūrā, atbilstoši. Varam secināt, ka nelielas izmaiņas molekulas katjonajā daļā būtiski neietekmē amfifilo 1,4-DHP atvasinājumu kritisko micellu koncentrāciju.

Izvēlētajiem savienojumiem tika noteikti arī veidoto liposomu zeta-potenciāli²⁰ un hidrodinamiskie diametri, izmantojot DGI metodi, rezultāti atspoguļoti 3.19. tabulā [130], paraugi gatavoti kā jau tika aprakstīts iepriekš.

Analizējot iegūtos datus, redzam, ka visu savienojumu veidoto liposomu zeta-potenciāli ir pozitīvi un ar salīdzināmām vērtībām, kas liecina, ka līdzīgas struktūras veidoto liposomu virsmas īpašības ir vienādas [130]. Analizējot izvēlēto savienojumu liposomu dispersijas polidispersitātes indeksu un hidrodinamisko diametru vērtības, redzam, ka savienojumam KP-11-Ac ir vismazākā PDI vērtība (0,270), kas liecina, ka ir viendabīgāks paraugs nekā citu savienojumu gadījumā. To apliecina šī savienojuma liposomu hidrodinamiskais diametrs, jo ir tikai viens raksturīgais maksimums, kamēr pārējiem izvēlētajiem savienojumiem, veidojot liposomas, dažu procentu robežās ir liposomas ar atšķirīgu hidrodinamisku diametru [130]. Pārējie savienojumi plašāk tiks pētīti nākotnē.

²⁰Zeta-potenciālus nosacīja *E. Morin-Picardat*, Farmācijas fakultāte Helsinku Universitātē.

Secinājumi

- Realizēta magnētisko koloīdu sintēze ūdens vidēs. Parādīts, ka magnētisku koloīdu sintēzē ūdens vidēs, izmantojot līdzizgulsnēšanas metodi, iespējams iegūt ferošķidrumus ar nepieciešamajām virsmas īpašībām, tajā skaitā ar pozitīvi lādētu virsmu (pēc sintēzes nosacījumiem), vai negatīvi lādētu virsmu, izmantojot pārklāšanai citrātjonus.
- Iegūti biosavietojami magnētiski koloīdi, funkcionalizējot nanodaļiņas ar dekstrāniem. Parādīta dekstrānu ietekme uz nanodaļiņu izmēriem to veidošanās procesā. Izmantojot pārklāšanas metodi, kad pārklāšana notiek vienlaicīgi ar nanodaļiņu nukleāciju (*in situ* metode), iegūtām nanodaļiņām ir mazāks izmērs, nekā pārklājot nanodaļiņas pēc to iegūšanas (*pēc sintēzes* metode). Šādas daļiņas perspektīvā var tikt izmantotas šūnu marķēšanai pie to transplantācijas.
- Izmantojot sintezētos magnētiskos koloīdus, parādīta iespēja tos izmantot dažādu fizikālu parādību pētījumos – magnētiskās mikrokonvekcijas, koloidālu daļiņu termoforēzes procesos u.c.
- Noskaidroti optimālie apstākļi magnetoliposomu iegūšanai, izmantojot ferošķidrumus (koloīdi satur $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanodaļiņas) un katjona tipa 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu – 1,1'-3,5-di(dodeciloksikarbonil)-4-fenil-1,4-dihidropiridīn-2,6-diil]dimetilēn-bispiridīnija dibromīdu (KP-11), variējot ferošķidrumus un katjonā lipīda daudzumu. Parādīts, ka liposomu veidošanai ir izmantojamas pozitīvi lādētas nanodaļiņas. Izmantojot spontānās piebriešanas metodi, atrasti sekojošie optimālie magnētisku liposomu iegūšanas nosacījumi: 5 mg KP-11; 50 μl ferošķidruma, piebriešanas procesa temperatūra ir 45–50°C, procesa laiks – 20–30 min.
- Parādīts, ka apgrieztās fāzes ietvaicēšanas metode, izmantojot 1,4-dihidropiridīna atvasinājumu KP-11, ir piemērota gigantisku magnētisku liposomu iegūšanai. Variējot KP-11 daudzumu, var regulēt liposomu izmēru.
- Novērojot magnetoliposomu deformāciju ārējā magnētiskā laukā, izmantojot aprēķinu metodi lielu deformāciju gadījumam, parādīts, ka lipīda KP-11 membrānām ir mazs liekuma elastības modulis (elastības moduļu vērtības atrodas intervālā 0,22–5,0 $k_B T$), ko varētu saistīt ar šī lipīda polārās daļas lieliem izmēriem. Izmantojot

šo pašu metodi, tika atrasts, ka endosomas elastības moduļa vērtība ir $5,2 k_B T$, kas ir salīdzināma ar lipīda KP-11 membrānas elastības moduļa vērtību.

- Izmantojot dinamiskās gaismas izkliedes metodi, noteikta kritiskā micellu koncentrācija katjonajam 1,4-dihidropiridīna atvasinājumam KP-11 un tā tuviem struktūras analogiem. Noteiktās kritiskās micellu koncentrācijas vērtības visiem savienojumiem ir 15–30 μM robežās 25°C temperatūrā. Varam secināt, ka nelielas izmaiņas molekulas katjonajā daļā būtiski neietekmē amfifilo 1,4-DHP atvasinājumu kritisko micellu koncentrāciju.

Bibliogrāfija

- [1] **Figuerola, A., Di Corato, R., Manna, L., Pellegrino, T.** From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications. *Pharm. Research.*, 2010, vol. 62, 126–143.
- [2] **Lang, C., Schüler, D.** Biogenic nanoparticles: production, characterization, and application of bacteria magnetosomes. *J.Phys.: Cond. Matter.*, 2006, vol. 18, S2815–S2828.
- [3] **Shinkai, M.** Functional magnetic particles for medical application. *J. Biosci. Bioeng.*, 2002, vol. 94, 606–613.
- [4] **Mahmoudi, M., Sant, S., Wang, B., Laurent, S., Sen, T.** Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Development, surface modification and applications in chemotherapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2011, vol. 63, 24–46.
- [5] **Bacri, J.-C., Cabuil, V., Cebers, A., Menager, C., Perzynski, R.** Flattening of ferro-vesicle undulations under a magnetic field. *Europhys. Lett.*, 1996, vol. 33, 235–240.
- [6] **Gupta, A.K., Gupta, M.** Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 2005, vol. 26, 3995–4021.
- [7] **Dobson, J.** Remote control of cellular behaviour with magnetic nanoparticles. *Nat. Nanotechnol.*, 2008, vol. 3, 139.
- [8] **Oh, J.K., Park, J.M.** Iron-oxide-based superparamagnetic polymeric nanomaterials: Design, preparation, and biomedical application. *Prog. Polym. Sci.*, 2001, vol. 36, 168–189.
- [9] **Jun, Y., Lee, J-H., and Cheon, J.** Chemical design of nanoparticle probes for high-performance magnetic resonance imaging. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, vol. 47, 5122–5135.
- [10] **Corot, C., Robert, P., Idée, J.-M., Port, M.** Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2006, vol. 58, 1471–1504.

- [11] **Ito, A., Shinkai, M., Honda, H., and Kobayashi, T.** Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *J. Biosci. Bioeng.*, 2005, vol. 100, 1–11.
- [12] **Laurent, S., Dutz, S., Häfeli, U.O., Mahmoudi, M.** Magnetic fluid hyperthermia: Focus on supermagnetic iron oxide nanoparticles. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2011, vol. 166, 8–23.
- [13] **Sun, C., Lee, J.S.H., Zhang, M.** Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 2008, vol. 60, 1252–1265.
- [14] **Gubin, S.P., Koksharov, Yu.A., Khomutov, G.B., Yurkov, G.Yu.** Magnetic nanoparticles: preparation, structure and properties. *Russian Chem. Rev.*, 2005, vol. 74, 489–520.
- [15] *Физический энциклопедический словарь*; Советская энциклопедия: Москва, 1983.
- [16] **Shmakov, A.N., Krykova, G.N., Tsybulya, S.V., Chuvilin, A.L., Solovyeva, L.P.** Vacancy ordering in γ -Fe₂O₃: Synchrotron x-ray powder diffraction and high-resolution electron microscopy studies. *J. Appl. Cryst.*, 1995, vol. 28, 141–145.
- [17] **R. Weissleder, R., Stark, D.D., Engelstad, B.L., Bacon, B.R., Compton, C.C., White, D.L., Jacobs, P., Lewis, J.** Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity, *Amer. J. Roentgenol.* 1989, vol. 152, 167–173.
- [18] **Seino, S., Kinoshita, T., Nakagawa, T., Kojima, T., Taniguci, R., Okuda, S., Yamamoto, T.A.** Radiation induced synthesis of gold/iron-oxide composite nanoparticles using high-energy electron beam. *J Nanopart. Res.*, 2008, vol. 10, 1071–1076.
- [19] **Rosensweig, R.E.** *Ferrohydrodynamics*; Cambridge University Press: England, 1985, 357.
- [20] **Блум, Э. Я., Майоров, М.М., Цеберс, А.О.** *Магнитные жидкости*; Зинатне: Рига, 1989 (krievu val.).
Blums, E., Cebers, A., Majorov, M.M. *Magnetic Fluids*; Walter de Gruiter: Berlin, New York, 1997 (tulkots angļu val.).
- [21] **Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Elst, L.V., Mullers, R.N.** Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem. Rev.*, 2008, vol. 108, 2064–2110.
- [22] **Lang, C., Schüler, D., Faivre, D.** Synthesis of magnetite nanoparticles for bio- and nanotechnology: Genetic engineering and biomimetics of bacterial magnetosomes. *Micromol. Biosci.*, 2007, vol. 7, 144–151.

- [23] **Philipse, A.P., Maas, D.** Magnetic colloids from magnetotactic bacteria: Chain formation and colloidal stability. *Langmuir*, 2002, vol. 18, 9977–9984.
- [24] **Allen, M., Willits, D., Mosolf, J., Young, M., Douglas, T.** Protein cage constrained synthesis of ferrimagnetic iron oxide nanoparticles. *Adv. Mater.*, 2002, vol. 14, 1562–1565.
- [25] **Lisy, M.-R., Hartung, A., Lang, C., Schüler, D., Richter, W., Reichenbach, J.R., Kaiser, W.A., Hilger, I.** Fluorescent bacterial magnetic nanoparticles as bimodal contrast agents. *Invest. Radiol.*, 2007, vol. 42, 235–241.
- [26] **Schüler, D., Frankel, R.B.** Bacterial magnetosomes: microbiology, biomineralization and biotechnological applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1999, vol. 52, 464–473.
- [27] **Heyen, U., Schüler, D.** Growth and magnetosome formation by microaerophilic *Magnetospirillum* strains in an oxygen-controlled fermentor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2003, vol. 61, 536–544.
- [28] **Bacri, J.-C., Massart, R.** Synthèse et étude physicochimique de colloïdes magnétiques non surfactes en milieu aqueux. *Nouveau journal de chimie*, 1983, vol. 7, 325–331.
- [29] **Reimars, G.W., Khalafalla, S.E.** U.S. Patent 3 843 540, 1974; *IEEE Trans. Mag.*, 1981, vol. Mag-17, 1247.
- [30] **Massart, R.** Préparation de ferrofluides aqueux en l’absence de surfactant; comportement en fonction du pH et de la nature des ions présents en solution. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 1980, vol. 291, C1–C3.
- [31] **Massart, R.** Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media. *IEEE*, 1981, vol. MAG-17, 1247–1248.
- [32] **Bee, A., Massart, R., Neveu, S.** Synthesis of very fine maghemite particles. *JMMM*, 1995, vol. 149, 6–9.
- [33] **Koneracka, M., Kopčansky, P., Timko, M. Ramchand, C.N.** Direct binding procedure of proteins and enzymes to fine magnetic particles. *JMMM*, 2002, vol. 252, 409–411.
- [34] **Răcuciu, M., Creangă, D.E., Airinei, A.** Citric-acid-coated magnetite nanoparticles for biological applications. *Eur. Phys. J. E*, 2006, vol. 21, 117–121.
- [35] **Tombacz, E., Majzik, A. Horvat, Z.S., Illes, E.** Magnetite in aqueous medium: coating its surface and surface coated with it. *Rom. Reports in Phys.*, 2006, vol. 58, 281–286.

- [36] **Song Zhang, Zhiping Bian, Chunrong Gu, Yu Zhang, Shiyang He, Ning Gu, Jinan Zhang.** Preparation of anti-human cardiac troponin I immunomagnetic nanoparticles and biological activity assays. *Colloids Surf. B*, 2007, vol. 55, 143–148.
- [37] **An-Hui Lu, A., Salabas, E.L., Schuth, F.** Magnetic nanoparticles: Synthesis, protection, functionalization, and application. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, vol. 46, 1222–1244.
- [38] **Răcuciu, M., Creangă, D.E., Călugăru, Gh.** Synthesis and rheological properties of an aqueous ferrofluid. *J. Optoelectronics Adv. Materials*, 2005, vol. 7, 2859–2264.
- [39] **Massart, R., Roger, J., Cabuil, V.** New trends in chemistry of magnetic colloids: Polar and non polar magnetic fluids, emulsions, capsules and vesicles. *Brazilian Journal of Physics*, 1995, vol. 25, 135–141.
- [40] **Dubois, E.** Structure and Dynamics of ferrofluids and magnetic fluids in liquid metals. In: *Proceedings of Training school on magneto sciences*, Riga, Latvia, May 18–22 2009, 249–299.
- [41] **Munshi N, De TK, Maitra, A.** Size modulation of polymeric nanoparticles under controlled dynamics of microemulsion droplets. *J. Colloid Interface Sci.*, 1997, vol. 190, 387–391.
- [42] **Gržeta, B., Ristić, M., Nowik, I., Musić, S.** Formation of nanocrystalline magnetite by thermal decomposition of iron choline citrate. *J. Alloys. Compd.*, 2002, vol. 334, 304–312.
- [43] **Wang, X., Zhuang, J., Peng, Q., Li, Y.D.** A general strategy for nanocrystal synthesis. *Nature*, 2005, vol. 437, 121–124.
- [44] **Massart, R., Cabuil, V.** Synthèse en milieu alcalin de magnetite colloïdale: contrôle du rendement et de la taille des particules. (Effect of some parameters on the formation of colloidal magnetite in alkaline-medium-yield and particle size control.) *J. Chim. Phys. – Chim. Biol.*, 1987, vol. 84, 967–973 (franču val.).
- [45] **Campelj, S., Makovec, D. and Drogenik, M.** Preparation and properties of water-based magnetic fluids. *J. Phys.: Condens. Matter.*, 2008, vol. 20, 204101–5.
- [46] **Fauconnier, N., Bee, A., Roger, J., Pons, J.N.** Adsorption of gluconic and citric acids of maghemite particles in aqueous medium. *Progr. Colloid Polym. Sci.*, 1996, vol. 100, 212–216.

- [47] **Fauconnier, N., Bee, A., Roger, J., and Pons, J.N.** Synthesis of aqueous magnetic liquids by surface complexation of maghemite nanoparticles. *J. Mol. Liquids*, 1999, vol. 83, 233–242.
- [48] **Fauconnier, N., Pons, J.N., Roger, J., Bee, A.** Thiolation of maghemite nanoparticles by dimercaptosuccinic acid. *J. Colloid Interface Sci.*, 1997, vol. 194, 427–433.
- [49] **Roger, J., Pons, J.N., Massart, R., Halbreich, A., Bacri, J.C.** Some biomedical applications of ferrofluids. *Eur. Phys. J. Appl. Phys.*, 1999, vol. 5, 321–325.
- [50] **Denizot, B., Tanguy, G., Hindre, F., Rump, E., Jeune, J., Jallet, P.** Phosphorylcholine coating of iron oxide nanoparticles. *J. Coll. Interf. Sci.*, 1999, vol. 209, 66–71.
- [51] **Veiseh, O., Gunn, J.W., Zhang, M.** Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2010, vol. 62, 284–304.
- [52] **Korth, D.B., Keng, P., Shim, I., Bowles, S.E., Tang, C., Kowalewski, T., Nebesny, K.W., Pyun, K.J.** Polymer-coated ferromagnetic colloids from well-defined macromolecular surfactants and assembly into nanoparticle chains. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, vol. 128, 6562–6563.
- [53] **Barber, S.M., Costanzo, P.J., Moore, N.W., Patten, T.E., Lancaster, K.S., Lebrilla, C.B., Kuhl, T.L.** Bilateral, difunctional nanosphere aggregates and their assembly mediated by polymer chains. *J. Phys. Chem.*, 2006, vol. 110, 4538–4542.
- [54] **Geng, B.Y., Ma, J.Z., Liu, X.W., Du, Q.B.** Hydrophilic polymer assisted synthesis of room-temperature ferromagnetic Fe_3O_4 nanochains. *Appl. Phys. Lett.*, 2007, vol. 90, 043120-1–043120-3.
- [55] **Goetze, T., Gansau, C., Buske, N., Roeder, M., Gornert, P., Bahr, M.** Biocompatible magnetic core/shell nanoparticles. *JMMM*, 2002, vol. 252, 399–402.
- [56] **Zhang, J.L., Srivastava, R.S., Misra, R.D.** Core-shell magnetite nanoparticles surface encapsulated with smart stimuli-responsive polymer: Synthesis, characterization, and LCST of viable drug-targeting delivery system. *Langmuir*, 2007, vol. 23, 6342–6351.
- [57] **Ioan, C.E., Aberle, T., and Burchard, W.** Structure properties of dextran. 2. Dilute solution. *Macromolecules*, 2000, vol. 33, 5730–5739.

- [58] **Pardoe, H., Chua-anusorn, W., St.Pierre, T. G., Dobson, J.** Structural and magnetic properties of nanoscale iron oxide particles synthesized in the presence of dextran or polyvinyl alcohol. *JMMM*, 2001, vol. 225, 41–46.
- [59] **Dutz, S., Andrä, W., Hergt, R., Müller, R., Oestreich, C., Schmidt, C., Töpfer, J., Zeisberger, M., Bellemann, M.E.** Influence of dextran coating on the magnetic behaviour of iron oxide nanoparticles. *JMMM*, 2007, vol. 311, 51–54.
- [60] **Pollert, E., Knížek, K., Maryško, M., Závěta, K., Lančok, A., Boháček, J., Horák, D., Babič, M.** Magnetic poly(glycidyl methacrylate) microspheres containing maghemite prepared by emulsion polymerization. *JMMM*, 2006, vol. 306, 241–247.
- [61] **Aurich, K., Schwalbe, M., Clement, J.H., Weitschies, W., Buske, N.** Polyaspartate coated magnetite nanoparticles for biomedical applications. *JMMM*, 2007, vol. 311, 1–5.
- [62] **Wotschadlo, J., Liebert, T., Heinze, T., Wagner, K., Schnabelrauch, M., Dutz, S., Müller, R., Steiniger, F., Schwalbe, M., Kroll, T.C., Höffken, K., Buske, N., Clement, J.H.** Magnetic nanoparticles coated with carboxymethylated polysaccharide shell–Interaction with human cell. *JMMM*, 2009, vol. 321, 1469–1473.
- [63] **Mornet, S., Portier, J., Duquert, E.** A method for synthesis and functionalization of ultrasmall superparamagnetic covalent carriers based on maghemite and dextran. *JMMM*, 2005, vol. 293, 127–134.
- [64] **DeNardo, Miers, L.A., Natarajan, A., Foreman, A.R., Gruettner, C., Adamson, G.N., Ivkov, R.** Development of tumor targeting bioprobes (111In-Chimeric L6 monoclonal antibody nanoparticles) for alternating magnetic field cancer therapy. *Clin. Cancer Res.*, 2005, vol. 11, 7087s–7092s.
- [65] **Berry, C.C., Curtis, A.S.G.** Functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 2003, vol. 36, R198–R206.
- [66] **Berry, C.C.** Progress in functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 2009, vol. 42, 224003–224012.
- [67] **Hong, R.Y., Li, J.H., Qu, J.M., Chen, L.L., Li, H.Z.** Preparation and characterization of magnetite/dextran nanocomposite used as a precursor of magnetic fluid. *Chem. Eng. J.*, 2009, vol. 150, 572–580.
- [68] **Wilhelm, C., Billotey, C., Roger, J., Pons, J.N., Bacri, J.-C., Gazeau, F.** Intracellular uptake of anionic superparamagnetic nanoparticles as a function of their surface coating. *Biomaterials*, 2003, vol. 24, 1001–1011.

- [69] Tartaj, P., Morales, M.P., Veintemillas-Verdaguer, S., Gonzalez-Carreño, T., Serna, C.J. Synthesis, properties and biomedical applications of magnetic nanoparticles. In: *Handbook of Magnetic Materials*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2006; 403.
- [70] Hong, R.Y., Feng, L.L., Liu, G.H., Li, H.Z., Zheng, Y., Wei, D.G. Synthesis, characterization and MRI application of dextran-coated Fe₃O₄ magnetic nanoparticles. *Biochem. Eng. J.*, 2008, vol. 42, 290–300.
- [71] Hradil, J., Pisarev, A., Babič, M., Horák, D. Dextran-modified oxide nanoparticles. *China Particuology*, 2007, vol. 5, 162–168.
- [72] Horák, D., Babič, M., Jendelová, P., Herynek, V., Trchová, M., Likavčanová, K., Kapcalová, M., Hájek, M., Syková, E. Effect of different magnetic nanoparticle coatings on the efficiency of stem cell labeling. *JMMM*, 2009, vol. 321, 1539–1547.
- [73] Ruiz, J.M., Benoit, J.P. *In vivo* peptide release from poly(lactic-co-glycolic acid) copolymer 50/50 microspheres. *J. Cont. Rel.*, 1991, vol. 16, 177–186.
- [74] Miller, E., Peppas, N.A., Winslow, D.N. Morphological changes of ethylene/vinyl acetate based on controlled delivery systems during release of water-soluble solutes. *J. Memb. Sci.*, 1983, vol. 14, 79–92.
- [75] Zhao, X., Harris, J.M. Novel degradable poly(ethylene glycol) hydrogels for controlled release of protein. *J. Pharm. Sci.*, 1998, vol. 87, 1450–1458.
- [76] Massia, S.P., Stark, J., Letbetter, D.S. Surface immobilized dextran limits cell adhesion and spreading. *Biomaterials*, 2000, vol. 21, 2253–2261.
- [77] Jeong, Y., Nah, J.-W., Na, K., Cho, C.S., Kim, S.H. Self assembling nanospheres of hydrophobized pullulans in water. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 1999, vol. 25, 917–927.
- [78] Thorek D.L.J., Chen, A.K., Czupryna, J., A.Tsourkas. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles probes for molecular imaging. *Ann. Biomed. Eng.*, 2006, vol. 34, 23–38.
- [79] Gupta, A. K., Wells, S. Surface-modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: Preparation, characterization, and cytotoxicity studies. *IEEE Trans. Nanobiosci.*, 2004, vol. 3, 66–73.
- [80] Zhang, Y., Kohler, N., Zhang, M. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake. *Biomaterials*, 2002, vol. 23, 1553–1561.

- [81] **Gupta, A.K., Curtis, A.S.G.** Surface modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: interaction studies with human fibroblasts in culture. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2004, vol. 15, 493–496.
- [82] **Berry, C.C., Wells, S., Charles, S., Curtis, A.S.G.** Dextran and albumin derivatised iron oxide nanoparticles: influence on fibroblasts *in vitro*. *Biomaterials*, 2003, vol. 24, 4551–4557.
- [83] **Groman, E. V., K. G. Paul, T. B. Frigo, H. H. Bengeler, J. M. Lewis.** Heat stable colloidal iron oxides coated with reduced carbohydrates and carbohydrate derivatives, US Patent 6599498, in US, Advanced Magnetics, Inc., 2003.
- [84] **D'Souza, A.J., Schowen, R.L., Topp, E.M.** Polyvinylpyrrolidone- drug conjugate: synthesis and release mechanism. *J. Cont. Rel.*, 2004, vol. 94, 91–100.
- [85] **Sahoo, Y., Pizem, H., Fried, T., Golodnitsky, D., Burstein, L., Suke-nik, C.N., Markovich, G.** Alkyl phosphonate/phosphate coating on magnetite nanoparticles: a comparison with fatty acids. *Langmuir*, 2001, vol. 17, 7907–7911.
- [86] **Shan, G.B., Xing, J.M., Luo, M.F., Liu, H.Z., Chen, J.Y.** Immobilization of *Pseudomonas delafieldii* with magnetic polyvinyl alcohol beads and its application in biodesulfurization. *Biotechnol. Lett.*, 2003, vol. 25, 1977–1981.
- [87] **Burugapalli, K., Koul, V., Dinda, A.K.** Effect of composition of interpenetrating polymer network hydrogels based on poly(acrylic acid) and gelatin on tissue response: a quantitative *in vivo* study. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2004, vol. 68A, 210–218.
- [88] **Lewin, M., Carlesso, N., Tung, C.-H., Tang, X.-W., Cory, D., Scadden, T., Weissleder, R.** Tat peptide-derivatized magnetic nanoparticles allow *in vivo* tracking and recovery of progenitor cells. *Nat. Biotechnol.*, 2000, vol. 18, 410–414.
- [89] **Bhadriraju, K., Hansen, L.K.** Hepatocyte adhesion, growth and differentiated function on RGD-containing proteins. *Biomaterials*, 2000, vol. 21, 267–272.
- [90] **Chen, G., Hoffman, A.S.** Preparation and properties of thermoreversible, phase separating enzyme-oligo(N-isopropylacrylamide) conjugates. *Bioconjug. Chem.*, 1993, vol. 4, 509–514.
- [91] **Khor, E., Lim, L.Y.** Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, 2003, vol. 24, 2339–2349.
- [92] **Olsen, D., Yang, C., Bodo, M., Chang, R., Leigh, S., Baez, J., Carmichael, D., Perala, M., Hamalainen, E.R., Jarvinen, M., Polarek, J.** Recombinant collagen and gelatin for drug delivery. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2003, vol. 55, 1547–1567.

- [93] **Kim, D. K., Voit, W., Zapka, W., Bjelke, B., Muhammed, M., Rao, K.V.** Biomedical application of ferrofluids containing magnetite nanoparticles. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, 2001, vol. 676, Y8.32.31.31–36.
- [94] **Goodarzi, A., Sayoo, Y., Swihart, M.T., Prasad, P.N.** Aqueous ferrofluid of citric acid coated magnetite particles. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, 2004, vol. 789, 129–134.
- [95] **Wagner, S., Schnorr, J., Pilgrim, H., Hamm, B., Taupitz, M.** Monomer-coated very small superparamagnetic iron oxide particles as contrast medium for magnetic resonance imaging: Preclinical *in vivo* characterization. *Invest. Radiol.*, 2002, vol. 37, 167–177.
- [96] **Sahoo, Y., Goodarzi, A., Swihart, M.T., Ohulchansky, T.Y., Kaur, N., Furlani, E.P., Prasad, P.N.** Aqueous ferrofluid of magnetic nanoparticles: Fluorescence labeling and magnetophoretic control. *J. Phys. Chem. B*, 2005, vol. 109, 3879–3885.
- [97] **Bertorelle, F., Wilhelm, C., Roger, J., Gazeau, F., Menager, C., Cabuil, V.** Fluorescence-modified superparamagnetic nanoparticles: Intracellular uptake and use in cellular imaging. *Langmuir*, 2006, vol. 22, 5385–5391.
- [98] **Skaat, H., Margel, S.** Synthesis of fluorescent-maghemite nanoparticles as multimodal imaging agents for amyloid- β fibrils detection and removal by a magnetic field. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009, vol. 386, 645–649.
- [99] **Wijaya, A., Hamad-Schifferli, K.** High-density encapsulation of Fe_3O_4 nanoparticles in lipid vesicle. *Langmuir*, 2007, vol. 23, 9546–9550.
- [100] **Mulder, W.J.M., Strijkers, G.J., van Tilborg, G.A.F., Griffioen, A.W., Nicolay, K.** Lipid-based nanoparticles for contrast-enhanced MRI and molecular imaging. *NMR Biomed.*, 2006, vol. 19, 142–164.
- [101] **Torchilin, V.P.** Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2005, vol. 4, 145–160.
- [102] **Šegota, S., Težak, D.** Spontaneous formation of vesicles. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2006, vol. 121, 51–75.
- [103] **Васьковский, В.Е.** Липиды. *Соросовский образовательный журнал*, 1997, Nr. 3, 32–37.
- [104] **Walde, P., Cosentino, K., Engel, H., Stano, P.** Giant vesicles: Preparations and applications. *ChemBioChem*, 2010, vol. 11, 848–865.
- [105] **Israelachvili, J.N., Mitchell, D.J., Ninham, B.W.** Theory of self-assembly of lipid bilayers and vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, 1977, vol. 470, 185–201.

- [106] **Israelachvili, J.N.** *Intermolecular and surface forces*. Academic Precc, Third Edition, 2011, 674.
- [107] **Saveyn, P., Cocquyt, J., Gradzielski, M., Van der Meeren, P.** Osmotic effect on the enclosed volume and interlamellar spacing of multilamellar DODAC vesicles. *Coloids Surf., A*, 2008, vol. 319, 62–70.
- [108] **Gradzielski, M.** Vesicles and vesicle gels-structure and dynamics of formation. *J. Phys.: Condens. Matter*, 2003, vol. 15, R655–R697
- [109] **Giri, J., Thakurta, S.G., Bellare, J., Nigam, A.K., Bahadur, D.** Preparation and characterization of phospholipid stabilized uniform sized magnetite nanoparticles. *JMMM*, 2005, vol. 293, 62–68.
- [110] **Mishra, B., Bhavesh, B., Patel, B., Pharm, P., Tiwari, S., Pharm, M.** Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechn., Biology, and Medicine*, 2010, vol. 6, 9–24.
- [111] **Beaune, G., Menager, C.** *In situ* precipitation of magnetic fluid encapsulated in giant liposomes. *J. of Coll. and Interf. Sci.*, 2010, vol. 343, 396–399.
- [112] **Soenen, S.J.H., Illyes, E., Vercauteren, D., Braeckmans, K., Majer, Z., De Smedt, S.C., De Cuyper, M.** The role of nanoparticles concentration-dependent induction of cellular stress in the internalization of non-toxic cationic magnetoliposomes. *Biomaterials*, 2009, vol. 30, 6803–6813.
- [113] **Szoka Jr., F., Papahadjopoulos, D.** Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978, vol. 75, 4194–4198.
- [114] **De Cuyper, M., Hodenius, M., Lacava, Z.G.M., Azevedo, R.B., da Silva, M.F., Morais, P.C., Santana, M.H.A.** Attachment of water-soluble proteins to the surface of (magnetizable) phospholipid colloids via NeutrAvidin-derived phospholipid. *J. Colloid Interface Sci.*, 2002, vol. 245, 274–280.
- [115] **De Cuyper, M., Joniau, M.** Magnetoliposomes. Formation and structural characterization. *Eur. Biophys. J.*, 1988, vol. 15, 311–319.
- [116] **Urtti, A., Hyvönen, Z., Plotniece, A., Makarova, N., Reine, I., Tirzitis, G., Vigante, B., Cekavicus, B., Shmidlers, A., Krauze, A., Zhalubovskis, R., Duburs, G., Turunen, M., Ylä-Herttuala, S., Jääskeläinen, I., Toppinen, M.-R.** Patent Pat. WO 01/62946 A1, Int.Cl.⁷ C12N 15/87, 30.08.2001. Cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives useful for delivery of nucleotide containing compounds. – Intern. Appl. No. PCT/FI01/00185, 22.02.2001.

- [117] **Triggle, D.J.** 1,4-Dihydropyridines as calcium channel ligands and privileged structures. *Cell Mol. Neurobiol.*, 2003, vol. 23, 293–303.
- [118] **Baindur, N., Rutledge, A., Triggle, D.J.** A homologous series of permanently charged 1,4-dihydropyridines: novel probes designed to localize drug binding sites on ion channels. *J. Med. Chem.*, 1993, vol. 36, 3743–3745.
- [119] **Chang, C.-C., cao, S., Kang, S., Kai, L., Tian, X., Pandey, P., Dunne, S.F., Luan, C.-H., Surmeier, D.J., Silverman, R.B.** Antagonism of 4-substituted 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylates toward voltage-dependent L-type Ca^{2+} channels Cav1.3 and Cav1.2. *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, vol. 18, 3147–3158.
- [120] **Klimaviciusa, L., Klusa, V., Duburs, G., Kaasik, A., Kalda, A., Zharkovsky, A.** Distinct effects of atypical 1,4-dihydropyridines on 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced toxicity. *Cell Biochem. Funct.*, 2007, vol. 25, 15–21.
- [121] **Manpadi, M., Uglinskii, P.Y., Rastogi, S.K., Cotter, K.M., Wong, Y.S., Anderson, L.A., Ortega, A.J., Van Slambouck, S., Steelant, W.F., Rogelj, S., Tongwa, P., Antipin, M.Y., Magedov, I.V., Kornienko, A.** Three-component synthesis and anticancer evaluation of polycyclic indenpyridines lead to the discovery of a novel indenheterocycle with potent apoptosis inducing properties. *Org. Biomol. Chem.*, 2007, vol. 5, 3865–3872.
- [122] **Kourimska, L., Pokorny, J., Tirzitis, G.** The antioxidant activity of 2,6-dimethyl-3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydropyridine in edible oils. *Nahrung*, 1993, vol. 37, 91–93.
- [123] **Duburs, G., Vigante, B., Plotniece, A., Krauze, A., Sobolevs, A., Briede, J., Kluša, V., Velēna, A.** Dihydropyridine derivatives as bioprotectors. *Chemistry Today*, 2008, vol. 26, 68–70.
- [124] **Görlitzer, K., Kramer, C., Boyle, C.** Synthesis and transformations of ethyl 1,4-dihydro-4-oxo-[1]benzofuro[3,2-b]pyridine-3-carboxylate, new antibacterial agents. *Pharmazie*, 2000, vol. 55, 651–658.
- [125] **Briede, J., Daija, D., Stivriņa, M., Duburs, G.** Effect of cerebrocrast on the lymphocyte blast transformation activity in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell. Biochem. Funct.*, 1999, vol. 17, 89–96.
- [126] **Briede, J., Stivrina, M., Stoldere, D., Vigante, B., Duburs, G.** Effect of cerebrocrast on body and organ weights, food and water intake, and urine output of normal rats. *Cell. Biochem. Funct.*, 2008, vol. 26, 908–915

- [127] **Tasaka, S., Ohmori, H., Gomi, N., Iino, M., Machida, A., Kiue, A., Naito, S., Kuwano, M.** Synthesis and structure-activity analysis of novel dihydropyridine derivatives to overcome multidrug resistance. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2001, vol. 11, 275–277.
- [128] **Cindric, M., Cipak, A., Serly, J., Plotniece, A., Jaganjac, M., Mrakovcic, L., Lovakovic, T., Dedic, A., Soldo, I., Duburs, G., Zarkovic, N., Molnar, J.** Reversal of multidrug resistance in murine lymphoma cell by amphiphilic dihydropyridine antioxidant derivative. *Anticancer Res.*, 2010, vol. 30, 4063–4070.
- [129] **Martin, B., Sainlos, M., Aissaoui, A., Oudrhiri, N., Nauchecorne, M., Vigneron, J.P., Lehn, J.M., Lehn, P.** The design of cationic lipids for gene delivery. *Curr. Pharm. Des.*, 2005, vol. 11, 375–394.
- [130] **Pajuste, K., Hyvönen, Z., Petrichenko, O., Kaldre, D., Rucins, M., Cekavicus, B., Ose, V., Skrivele, B., Gosteva, M., Morin-Picardat, E., Plotniece, M., Sobolev, A., Duburs, G., Ruponen, M., Plotniece, A.** Gene delivery agents possessing antiradical activity: self-assembling cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives. *New J. Chem.*, 2013, vol. 37, 3062–3075. DOI:10.1039/C3NJ00272A.
- [131] **Hyvönen, Z., Plotniece, A., Reine, I., Chekavichus, B., Duburs, G., Urtti, A.** Novel cationic amphiphilic 1,4-dihydropyridine derivatives for DNA delivery. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000, vol. 1509, 451–466.
- [132] **Pajuste, K.** *Amfifilo katjono piridīna atvasinājumu sintēze jaunu gēnu transporta formu izveidei.* Promocijas darbs, Rīga, 2010.
- [133] **Rocha, F.M., de Pinho S.K., Zollner, R.L., Santana M.H.A.** Preparation and characterization of affinity magnetoliposomes useful for the detection of antiphospholipid antibodies. *JMMM*, 2001, vol. 225, 101–108.
- [134] **De Cuyper, M., Joniau, M.** Mechanistic aspects of the adsorption of phospholipids onto lauric acid stabilized Fe₃O₄ nanocolloids. *Langmuir*, 1991, vol. 7, 647–652.
- [135] **Beaune, G., Ménager, C., Cabuil, V.** Location of magnetic and fluorescent nanoparticles encapsulating inside giant liposomes. *J. Phys. Chem. B*, 2008, vol. 112, 7424–7429.
- [136] **Lesieur, S., Grabiele-Maldelmont, C., Ménager, V., Cabuil, V., Dadhi, D., Pierrot, P., Edwards, K.** Evidence of surfactant-induced formation of transient pores in lipid bilayers by using magnetic-fluid-loaded liposomes. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, vol. 125, 5266–5267.

- [137] **Beaune, G., Dubertret, B., Clément, O., Vayssettes, C., Cabuil, V., Ménager, C.** Giant vesicles containing magnetic nanoparticles and quantum dots: Feasibility and tracking by fiber confocal fluorescence microscopy. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, vol. 46, 5421–5424.
- [138] **Martina, M., Fortin, J.-P., Menager, C., Clement, O., Barratt, G., Grabielle-Madelmont, C., Gazeau, F., Cabuil, V., Lesieur, S.** Generation of superparamagnetic liposomes revealed as highly efficient MRI contrast agents for *in vivo* imaging. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, vol. 127, 10676–10685.
- [139] **Reeves, J.P., Dowben, R.M.** Formation and properties of thin-walled phospholipid vesicles. *J. Cell. Physiol.*, 1969, vol. 73, 49–60.
- [140] **Ménager, C., Meyer, M., Cabuil, V., Cebers, A., Bacri, J.-C., Perzynski, R.** Magnetic phospholipid tubes connected to magnetoliposomes: Pearling instability induced by a magnetic field. *Eur. Phys. J. E*, 2002, vol. 7, 325–337.
- [141] **Sandre, O., Ménager, C., Prost, J., Cabuil, V., Bacri, J.-C., Cebers, A.** Shape transitions of giant liposomes induced by an anisotropic spontaneous curvature. *Phys. Rev. E*, 2000, vol. 62, 3865–3870.
- [142] **Martina, M.-S., Nicolas, V., Vilhelm, C., Menager, C., Barratt, G., Lesieur, S.** The *in vitro* kinetics of the interactions between PEG-ylated magnetic-fluid-loaded liposomes and macrophages. *Biomaterials*, 2007, vol. 28, 4143–4153
- [143] **Sabate, R., Barnadas-Rodriguez, R., Callejas-Fernandez, J., Hidalgo-Alvarez, R., Esterich, J.** Preparation and characterization of extruded magnetoliposomes. *Pharm. Nanotechn.*, 2008, vol. 347, 156–162.
- [144] **Menager, C., Cabuil, V.** Synthesis of magnetic DDAB vesicles. *Colloid Polym. Sci.*, 1994, vol. 272, 1295–1299.
- [145] **Menager, C., Cabuil, V.** Letter to the editors. Synthesis of magnetic liposomes. *J. Colloid Interface Sci.*, 1995, vol. 169, 251–253.
- [146] **Garsía-Jimeno, S., Escribano E., Queralt, J., Esterlich, J.** Magnetoliposomes prepared by reverse-phase followed by sequential extrusion: Characterization and possibilities in the treatment of inflammation. *Int. J. Pharm.*, 2011, vol. 405, 181–187.
- [147] **Pott, T., Bouvrais, H., Méléard, Ph.** Giant unilamellar vesicle formation under physiologically relevant conditions. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2008, vol. 154, 115–119.
- [148] **Bagatolli, L.A., Parasassi, T., Gratton, E.** Giant phospholipid vesicles: comparison among the whole lipid sample characteristics using different preparation

- methods. A two photon fluorescence microscopy study. *Chem. Phys. Lipids*, 2000, vol. 105, 135–147.
- [149] **Estes, D.J., Mayer, M.** Electroformation of gigant liposomes from spin-coated films of lipids. *Colloids Surf., B*, 2005, vol. 42, 115–123.
- [150] **Peterlin, P., Arrigler, V.** Electroformation in a flow chamber with solution exchange as a means of preparation of flaccid giant vesicles. *Colloids Surf., B*, 2008, vol. 64, 77–87.
- [151] **Politano, T.J., Froude, V.E., Jing, B., Zhu, Y.** AC-electric field dependent electroformation of gigant lipid vesicles. *Colloids Surf., B*, 2010, vol. 79, 75–82.
- [152] **Méléard, P., Gerbeaud, C., Pott, T., Fernandez-Puente, L., Bivas, I., Mitov, M.D., Dufourcq, J., Bothorel, P.** Bending elasticities of model membranes: Influences of temperature and sterol content. *Biophys. J.*, 1997, vol. 72, 2616–2629.
- [153] **Cintra, E.R., Ferreira, F.S., Santos Junior, J.L., Campello, J.C., Socolovsky, L.M., Lima, E.M., Bakuzis, A.F.** Nanoparticle agglomerates in magnetoliposomes. *Nanotechnology*, 2009, vol. 20, 045103 (6 lpp.).
- [154] **Méléard, P., Gerbeaud, C., Bardusco, P., Jeandaine, N., Mitov, M.D., Fernandez-Puente, L.** Mechanical properties of model membranes studied from shape transformations of gigant vesicles. *Biochimie*, 1998, vol. 80, 401–413.
- [155] **Ménager, C., Guemghar, D., Perzynski, R., Lesieur, S., Cabuil, V.** Lipid bilayer elasticity measurements in giant liposomes in contact with a solubilizing surfactant. *Langmuir*, 2008, vol. 24, 4968–4974.
- [156] **Troutier, A.-L., Ladavière, C.** An overview of lipid membrane supported by colloidal particles. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2007, vol. 133, 1–21.
- [157] **Bibik, E.E., Matygullin, B.Ya., Raikher, Yu.L., Shliomis, M.I.** Magneto-tactic properties of magnetic colloids. *Magnetohydrodynamics*, 1973, vol. 1, 58–62.
- [158] **Sato, T., Fukasawa, T., Aramaki, K., Glatter, O., Buchner, R.** Molecular to diffusion dynamics and static structures of aqueous micellar solutions: A SAXS/DLS/DRS study. *J. Mol. Liq.*, 2011, vol. 159, 76–82.
- [159] **Méléard, P., Pott, T., Bouvrais, H., Ipsen, J.H.** Advantages of statistical analysis of gigant vesicle flickering for bending elasticity measurements. *Eur. Phys. J. E*, 2011, vol. 34, 116–121.
- [160] **Helfrich, W.** Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments. *Z. Naturforsch*, 1973, vol. C 28, 693–703.

- [161] **Wurger, A.** Bending elasticity of surfactant films: The role of the hydrophobic tails. *Phys. Rev. Lett.*, 2000, vol. 85, 337–340.
- [162] **Kurtisovski, E., Taulier, N., Ober, R., Waks, M., Urbach, W.** Molecular origin of model membrane binding rigidity. *Phys. Rev. Lett.*, 2007, vol. 98, 258103-1–258103-4.
- [163] **Evans, E., Rawicz, W.** Entropy-driven tension and bending elasticity in condensed-fluid membranes. *Phys. Rev. Lett.*, 1990, vol. 64, 2094–2097.
- [164] **Waugh, R.E., Song, J., Svetina, S., Zeks, B.** Local and nonlocal curvature elasticity in bilayer membranes by tether formation from lecithin vesicles. *Biophys. J.*, 1992, vol. 61, 974–982.
- [165] **Niggemann, G., Kummrow, M., Helfrich, W.** The bending rigidity of phosphatidylcholine bilayers: Dependence on experimental method, sample cell sealing and temperature. *Journal de Physique II*, 1995, no. 3, 413–425.
- [166] **Kummrow, M., Helfrich, W.** Deformation of giant lipid vesicles by electric fields. *Phys. Rev. A*, 1991, vol. 44, 8356–8360.
- [167] **Beaune, G., Soussan, E., Blanzat, M., Rico-Lattes, I., Cabuil, V., Ménager, C.** Interaction between cationic vesicles and giant magnetic vesicles. *C.R.Chimie*, 2009, vol. 12, 38–44.
- [168] **Soenen, S.J.H., Himmelreich, U., Nuytten, N., De Cuyper, M.** Cytotoxic effects of iron oxide nanoparticles and implications for safety in cell labeling. *Biomaterials*. 2011, vol. 32, 195–205
- [169] **Eleršič, K., Pavlič, J.I., Iglič, A., Vesel, A., Mozetič, M.** et al. Electric-field controlled liposome formation with embedded superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Chem. Phys. Lipids*, 2012, vol. 165, 120–124.
- [170] **Verma, A., Stellacci, F.** Effect of surface properties on nanoparticle-cell interactions. *Small*, 2010, vol. 6, 12–21.
- [171] **Bonnemain, B.** Superparamagnetic agents in magnetic resonance imaging, physico-chemical characteristics and clinical applications. *J. Drug Target.*, 1998, vol. 6, 167–174.
- [172] **Шарло, Г.** *Методы аналитической химии. Количественный анализ неорганических соединений.* Химия; Москва, 1965, 623–626.
- [173] <http://rsb.info.nih.gov/ij/>

- [174] **Petrichenko, O., Ērglis, K., Cēbers, A., Plotniece, A., Pajuste, K., Béalle, G., Ménager, C., Dubois, E., Perzynski, R.** Bilayer properties of giant magnetic liposomes formed by cationic pyridine amphiphile and probed by active deformation under magnetic forces. *Eur. Phys. J. E: Soft Matter Biol. Phys.*, 2013, vol. 36, 9.
- [175] **Cebers, A.** Virial method of investigation of statics and dynamics of drops of magnetizable liquids. *Magnetohydrodynamics*, 1985, vol. 21, 19–26.
- [176] **Петров, В.Н., Устинов, А.Б.** Магнитные свойства поверхности Fe_3O_4 . *Поверхность. Рентгеновские и нейтронные исследования*, 2010, vol. 5, 40–45.
- [177] **Баринов, Г.И., Аплеснин, С.С.** Изменение критического индекса намагниченности маггемита в области структурного фазового перехода. *Физика твердого тела*, 2006, vol. 48, 80–82.
- [178] **Lucas, I.T., Durand-Vidal, S., Dubois, E., Chevalet, J., Turq, P.** Surface charge density of maghemite nanoparticles: Role of electrostatics in the proton exchange. *J. Phys. Chem. C*, 2007, vol. 111, 18568–19576.
- [179] **Печерский, Д.М., Соколов, Д.Д.** Палеомагнитология, петромагнитология и геология. *Словарь-справочник для соседей по специальности*. 2011. paleomag.ifz.ru/books/Pechersky.htm.
- [180] **Авдеев, М.В.** Структурные особенности магнитных жидкостей. *Усп. физ. наук*, 2007, vol. 177, 1139–1144.
- [181] **Zhang, L., Papaefthymiou, G.C., Ying, J.Y.** Size quantization and interfacial effects on a novel $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ magnetic nanocomposite via sol-gel matrix-mediated synthesis. *J. Appl. Phys.*, 1997, vol. 81, 6892–6900.
- [182] **Senti, F.R., Hellman, N.N., Ludwig, N.H., Babcock, G.E., Tobin, R., Glass, C.A., Lamberts, B.L.** Viscosity, sedimentation, and light-scattering properties of fractions of an acid-hydrolyzed dextran. *J. Polym. Sci.*, 1955, vol. XVII, 527–546.
- [183] **Mayorov, M.M., Cebers, A.** Magnetic microconvection on the diffusion front of ferroparticles. *Magnetohydrodynamics*, 1983, vol. 19, 376–380.
- [184] **Cebers, A.** Stability of diffusion fronts of magnetic particles in porous media (Hele Shaw cell) under the action of external magnetic field. *Magnetohydrodynamics*, 1997, vol. 33, 48–55.
- [185] **Ērglis, K., Tatulcenkov, A., Kitenbergs, G., Petrichenko, O., Ergin F.G., Watz B.B., Cēbers, A.** Magnetic field driven micro-convection in the Hele-Shaw cell. *J. Fluid Mech.*, 2013, vol. 714, 612–633.

- [186] **Morozov, K.I.** Thermodiffusion in magnetic colloids. *JMMM*, 1999, vol. 201, 248–251.
- [187] **Mezulis, A., Maiorov, M., Petrichenko, O.** Thermodiffusion motion of electrically charged nanoparticles. *Centr. Eur. J. Phys.*, 2012, vol. 10, 989–994.
- [188] **Bacri, J.-C., Perzynski, R., Salin, D., Cabuil, V., Massart, R.** Phase diagram of an anionic magnetic colloid: experimental study of the effect of ionic strength. *Colloid Interface Sci.*, 1989, vol. 132, 43–53.
- [189] **Pajuste, K., Plotniece, A., Kore, K., Intenberga, L., Cekavicus, B., Kaldre, D., Duburs, G., Sobolev, A.** Use of pyridinium ionic liquids as catalysts for the synthesis of 3,5-bis(dodecyloxycarbonyl)-1,4-dihydropyridine derivative. *Centr. Eur. J. Chem.*, 2011, vol. 9, 143–148.
- [190] **Wilhelm, C., Cebers, A., Bacri, J.-C., Gazeau, F.** Deformation of intracellular endosomes under a magnetic field. *Eur. Biophys. J.*, 2000, vol. 32, 655–660.
- [191] **Topel, Ö, Çakir, B.A., Budama, L., Hoda, N.** Determination of critical micelle concentration of polybutadiene-*block* -poly(ethyleneoxide) diblock copolymer by fluorescence spectroscopy and dynamic light scattering *J. Mol. Liq.*, 2013, vol. 177, 40–43.

Patstāvības apliecinājums

Promocijas darbs "Feromagnētiskas nanodaļiņas un to pielietojums mīkstu materiālu (dihidropiridīna tipa lipīdu organiski savienojumi, polimēri) funkcionalizācijai" izstrādāts Latvijas Universitātes Fizikas un matemātikas fakultātē un Latvijas Organiskās sintēzes institūta Membrānaktīvo savienojumu un β -diketonu laboratorijā.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors:

Oksana Petričenko

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. habil. fiz., prof. Andrejs Cēbers

Dr. ķīm. Aiva Plotniece

Pielikums