

УДК 620.3

# «Зеленый» синтез серебряных наночастиц, обладающих цитотоксической активностью, на основе вторичных метаболитов лаванды узколистной

М. М. Белова<sup>1\*</sup>, В. О. Шипунова<sup>2,3,\*,\*</sup>, П. А. Котельникова<sup>2</sup>, А. В. Бабёнышев<sup>3</sup>, Е. А. Рогожин<sup>2</sup>, М. Ю. Чередниченко<sup>1</sup>, С. М. Деев<sup>2,4,5</sup>

<sup>1</sup>Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

<sup>3</sup>Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет), 141701, Долгопрудный, Институтский пер., 9

<sup>4</sup>Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», 115409, Москва, Каширское ш., 31

<sup>5</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

\*E-mail: viktoriya.shipunova@phystech.edu

\*Равный вклад.

Поступила в редакцию 07.02.2019

Принята к печати 06.05.2019

DOI: 10.32607/20758251-2019-11-2-47-53

**РЕФЕРАТ** Методом «зеленого» синтеза получены наночастицы серебра (НЧ). Коллоидно стабильные в фосфатно-солевом растворе наночастицы размером  $35.4 \pm 1.6$  нм получены при синтезе с растительным экстрактом лаванды узколистной *Lavandula angustifolia* Mill. и  $56.4 \pm 2.4$  нм – с ее каллусным экстрактом. НЧ охарактеризованы методами спектрофотометрии, динамического светорассеяния и сканирующей электронной микроскопии. Была изучена динамика синтеза НЧ, а также цитотоксические свойства частиц, полученных с использованием растительного экстракта. Посредством модификации НЧ бычьим сывороточным альбумином показано, что блокировка поверхности НЧ полностью подавляет их цитотоксическое действие в условиях *in vitro*. Синтезированные НЧ обладают свойством локализованного поверхностного плазмонного резонанса, малым размером и возможностью модификации поверхности белковыми молекулами, что в совокупности определяет их перспективность в качестве агентов для онкотераностики.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** вторичные метаболиты, «зеленый» синтез, лаванда, серебряные наночастицы.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** БСА – бычий сывороточный альбумин; ВМ – вторичные метаболиты; ЛППР – локализованный поверхностный плазмонный резонанс; МС – среда Мурасиге и Скуга; НЧ – наночастицы; ПЭГ – полиэтиленгликоль; ТДЗ – тидиазурон.

## ВВЕДЕНИЕ

Современные бионанотехнологии открывают широкие перспективы в создании лекарств нового поколения для борьбы с социально значимыми заболеваниями. Средства и методы бионанотехнологий позволяют получать различного рода наноструктуры, служа-

щие эффективными инструментами терапии и диагностики, а также тераностики различных заболеваний, особенно раковых.

Для разработки методов тераностики необходимо создание агентов, обладающих мультифункциональностью: сочетающих в себе диагностические

и терапевтические функции [1–5]. Такими агентами могут быть металлические наночастицы (НЧ), обладающие свойством локализованного поверхностного плазмонного резонанса (ЛППР) [6]. Высокая химическая активность поверхности таких наночастиц позволяет модифицировать их нацеливающими агентами для доставки к клеткам-мишеням, при этом наличие у данных наночастиц ЛППР делает возможным их применение как для детекции, так и для селективного уничтожения клеток посредством гипертермии [7, 8]. «Зеленый» синтез, подразумевающий экологически чистый метод получения частиц без использования агрессивных токсичных и дорогостоящих веществ, является альтернативным, экономически более выгодным и экологически безопасным способом получения наноструктур по сравнению с рядом традиционных физико-химических методов синтеза НЧ, часто дорогих, трудоемких и неэкологичных [9].

В качестве восстанавливающих агентов в таком синтезе широко используются вторичные метаболиты (ВМ), продуцируемые растениями [10–12]. Они особенно перспективны для «зеленого» синтеза благодаря низкой стоимости продукции, короткой продолжительности синтеза и биобезопасности. Также с помощью культивирования растений *in vitro* можно масштабировать производство необходимых веществ, так как такие методы позволяют получать в короткие сроки большое количество стандартизированного растительного материала, а также выделять необходимые ВМ круглый год.

При создании успешного наноагента для эффективного воздействия на раковые клетки необходимо учитывать целый ряд параметров, таких, как размер, состав, покрытие, другие физико-химические свойства, параметры циркуляции в кровотоке и т.д. Биосовместимость – один из наиболее существенных параметров, влияющих на принципиальную возможность использования препарата *in vivo*. НЧ, полученные методом «зеленого» синтеза, часто обладают большей биосовместимостью за счет использования природных веществ с необходимой биологической активностью (благородные металлы, ВМ, белки), что успешно используется для проведения различных исследований как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*. Такие частицы рассматриваются как перспективные для применения в тераностике [13, 14].

В данной работе методом «зеленого» синтеза с использованием водных экстрактов лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) получены НЧ серебра. Изучена динамика синтеза НЧ, а также их цитотоксические свойства до и после модификации поверхности в условиях *in vitro*.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Введение растительного материала в культуру *in vitro*

Семена лаванды узколистной *L. angustifolia* Mill. сорт Munstead (семейство Яснотковые, Lamiaceae Mart.) стерилизовали 5% раствором гипохлорита натрия (экспозиция 10 мин). После стерилизации семена двукратно отмывали в стерильной дистиллированной воде и помещали в чашки Петри с безгормональной средой Мурасиге и Скуга (МС) [15]. Контрольные семена проращивали в нестерильных условиях на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой. Всхожесть семян оценивали на 15-е сутки по ГОСТ 30556-98 [16]. Через 3 недели после посадки семян проростки пересаживали в контейнеры на среду МС для дальнейшего развития.

### Клональное микроразмножение

Растения высотой 10 см (4–6 узлов) нарезают на черенки (узел с сегментами междоузлия) и размножали в два этапа: посадка на среду МС с добавлением 0.5 мг/л тидиазулона (ТДЗ) для стимуляции роста надземной части, затем пересаживали на среду ¼ МС с добавлением 0.2 мг/л α-нафтилуксусной кислоты для индукции ризогенеза [17].

### Индукция каллусогенеза

Стеблевые экспланты помещали на среду МС с добавлением 0.5 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д). Для индукции каллусогенеза использовали ранее культивированные *in vitro* растения.

### Получение водных экстрактов

Водные экстракты получали из надземной части асептических растений и каллуса. Растительный материал, замороженный в жидком азоте, растирали в ступке. По достижении гомогенатом комнатной температуры к нему добавляли дистиллированную воду в соотношении 1 : 3. Смесь помещали на водяную баню и кипятили в течение 30 мин [18], экстракт фильтровали, центрифугировали в течение 60 мин при 20000 g, отбирали супернатант и использовали его для синтеза наночастиц.

### Выделение преобладающих фракций растительного экстракта

Водный экстракт растений лаванды исследовали с помощью аналитической хроматографии. Анализировали хроматограммы образцов водного экстракта растения и каллуса лаванды на трех длинах волн (214, 280 и 320 нм). Фракции, соответствующие максимальным пикам (обозначены цифрами на рис. 5А), где высушивали с использованием лиофилизатора, растворяли в среде RPMI-1640

с 10% фетальной бычьей сыворотки и использовали для оценки цитотоксичности.

### Синтез наночастиц

Серебряные наночастицы получены методом «зеленого» синтеза путем смешивания 50 мкл раствора нитрата серебра в воде (1 г/л) и 50 мкл экстрактов либо растений, либо каллусов лаванды в диапазоне концентраций от 30 до 0.5%. В процессе синтеза частиц измеряли спектры поглощения при 350–800 нм в четырех временных точках (30, 60, 150, 240 мин) с использованием планшетного анализатора Infinite M100 Pro (Tecan, Австрия). Эффективность синтеза НЧ оценивали по интенсивности пика ЛППР. Наличие пика поверхностного плазмонного резонанса считается качественным критерием присутствия в системе металлических НЧ [19, 20].

Морфологию синтезированных наночастиц исследовали методом сканирующей электронной микроскопии при ускоряющем напряжении 10 кВ на микроскопе MAIA3 Tecan (Чехия).

### Модификация наночастиц

НЧ модифицировали бычьим сывороточным альбумином (БСА) путем сорбции белка на поверхности частиц. Эффективность модификации НЧ косвенно подтверждена путем измерения их гидродинамического размера. Размер частиц определяли методом динамического рассеяния света на анализаторе Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Ltd.).

### Изучение цитотоксических свойств

Цитотоксические свойства растительного экстракта, его преобладающих фракций и НЧ, полученных с помощью данного экстракта до и после стабилизации БСА, изучали при помощи стандартного МТТ-теста. Исследование проводили на клеточных линиях различного происхождения: СНО (клетки яичника китайского хомячка), SK-BR-3 (аденокарцинома молочной железы человека), SKOV3-lip (аденокарцинома яичника человека), а также на линии SKOV-kat, трансфицированной красным флуоресцентным белком Katushka, для прижизненного мониторинга развития злокачественных образований *in vivo* на модельных лабораторных животных [21].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наночастицы серебра для биомедицинских применений синтезированы с использованием водного экстракта лаванды узколистной – эфиромасличного растения, широко применяющегося в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности. Использование вторичных метаболитов (ВМ) лаван-

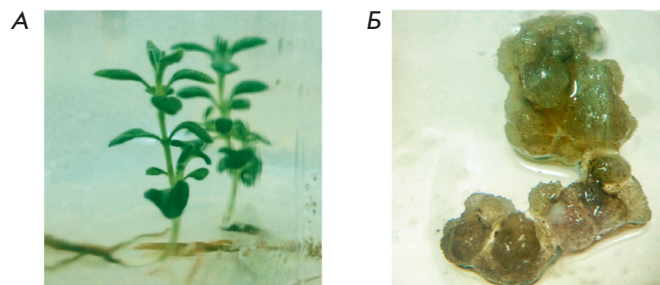


Рис. 1. Растения (А) и каллус (Б) *Lavandula angustifolia* Mill. сорта Munstead, полученные в культуре *in vitro*

ды, способных восстанавливать ионы металлов из их солей, является перспективным экологически безопасным способом создания НЧ с антибактериальными и цитотоксическими свойствами. Ряд наночастиц, полученных путем восстановления ионов металлов, обладает свойством поверхностного плазмонного резонанса и, как следствие, возможностью нагрева, что может использоваться в онкотерапии для гипертермии тканей.

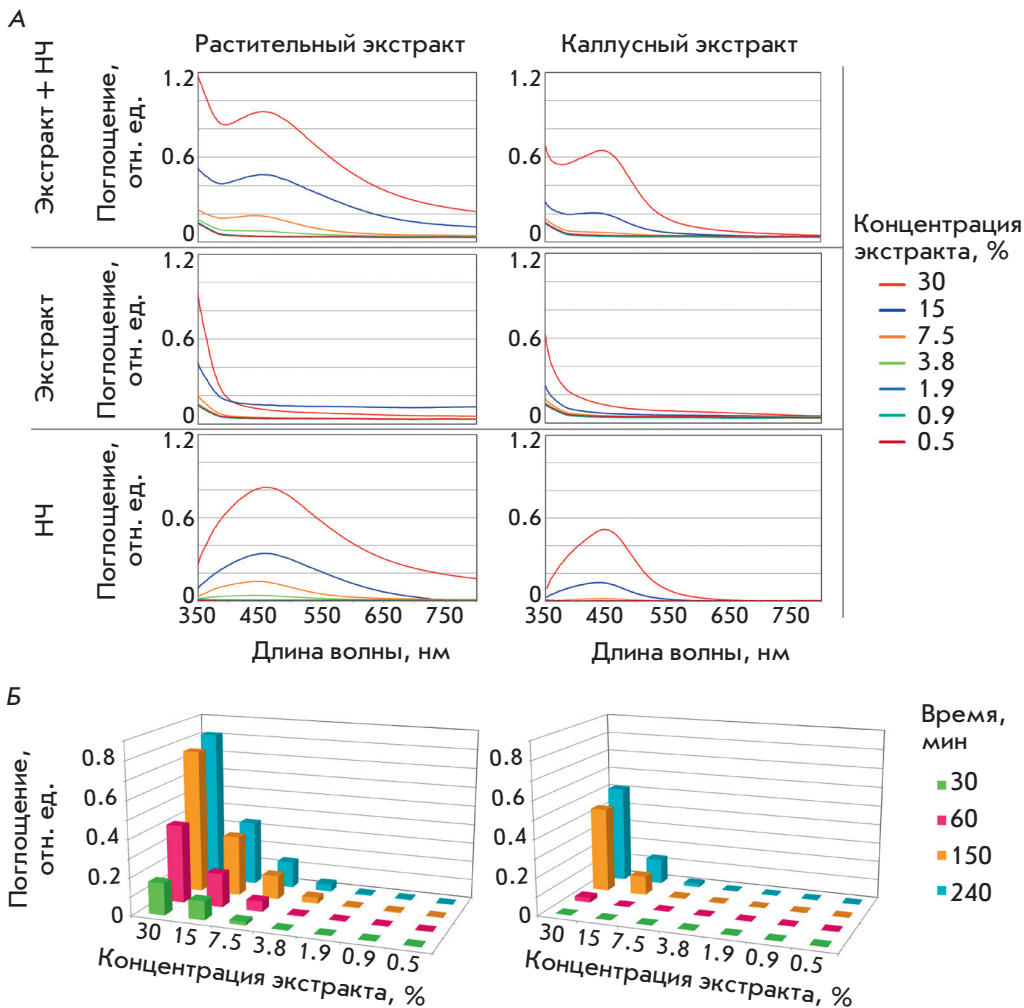
### Культура клеток и тканей лаванды узколистной

В процессе культивирования *in vitro* получены проростки лаванды узколистной (рис. 1А). Всхожесть семян при введении в культуру *in vitro* не отличалась достоверно от всхожести в контрольном образце и составляла  $80.0 \pm 19.6\%$ , что свидетельствует об эффективности выбранного способа стерилизации.

При размножении растений на среде МС с добавлением 0.5 мг/л ТДЗ получены проростки средней высотой  $6.4 \pm 2.1$  см. Наблюдалось множественное побегообразование, что считается хорошим показателем эффективности увеличения вегетативной массы растений. Также у 4% черенков наблюдался спонтанный ризогенез, такие растения не нуждались в дальнейшей пересадке.

Для укоренения оставшихся растений использована среда, содержащая низкие концентрации макроэлементов,  $\frac{1}{4}$  МС с добавлением 0.2 мг/л  $\alpha$ -нафтилуксусной кислоты, при этом частота ризогенеза составила 90.7–93.3%. Этот этап клонального микроразмножения помог значительно повысить эффективность образования корней у полученных ранее растений.

Частота каллусогенеза стеблевых эксплантов составила 95–99%. Каллус имел рыхлую консистенцию, а также светло-зеленый оттенок (рис. 1Б). Каллус с такими свойствами в дальнейшем можно использовать для получения суспензии растительных клеток, что позволит увеличить выход ВМ в культуре *in vitro*.



**Рис. 2.** Анализ эффективности синтеза НЧ. А – спектры поглощения смеси экстракта и НЧ (верхние панели), экстракта (средние панели) и НЧ (нижние панели) в диапазоне длин волны 350–800 нм, полученные в ходе инкубации в течение 240 мин водного раствора нитрата серебра (1 г/л) и растительного (левые панели), и каллусного (правые панели) экстрактов в концентрациях 0.5–30% (показано цветом). Б – интенсивность пиков плазмонного резонанса при синтезе серебряных НЧ в зависимости от концентраций растительного (левая панель) и каллусного (правая панель) экстрактов и времени инкубации (показано цветом) экстрактов с водным раствором нитрата серебра (1 г/л)

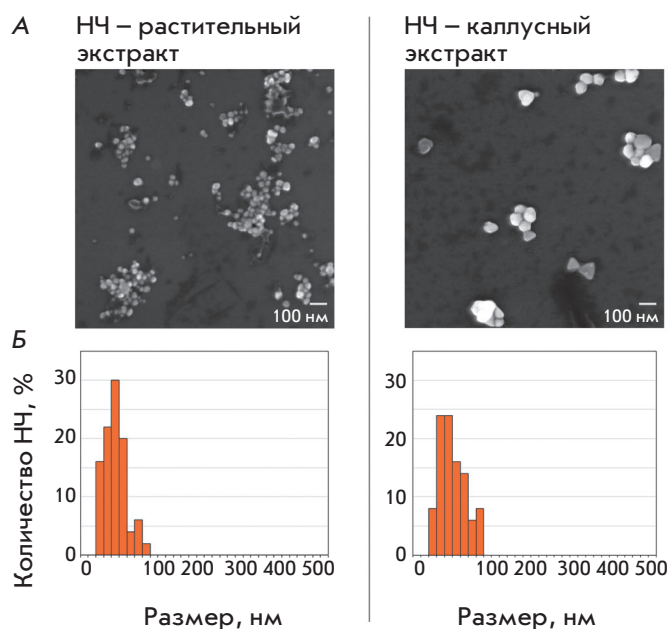
### Синтез наночастиц

Частицы были получены посредством длительного инкубирования раствора нитрата серебра и экстрактов из растений и каллуса лаванды как описано в разделе «Экспериментальная часть». Для количественной оценки эффективности синтеза наночастиц, обладающих пиком ЛППР, оценивали спектрофотометрическим методом, что позволяет выявить пик ЛППР и определить его интенсивность. Спектры смесей раствора нитрата серебра и экстрактов из растений и каллуса лаванды, полученные в разных временных точках (рис. 2), позволяют сделать вывод о монотонно возрастающей зависимости между поглощением образца НЧ на длине волны, соответствующей пику ЛППР, и концентрацией экстрактов, а также временем инкубации соли серебра с экстрактом. Наибольшее поглощение образцов, наблюдаемое при синтезе с растительным экстрактом (30%) в течение 240 мин инкубации, составило 0.82 отн.ед., что превышает аналогичный показатель для кал-

лусного экстракта в 1.6 раза (рис. 2). В дальнейшем для синтеза НЧ использовали экстракт в концентрации 7.5%, так как при этой концентрации наблюдался достаточно интенсивный пик плазмонного резонанса, подтверждающий формирование наноструктур, а также поддерживался избыток соли серебра в растворе.

Далее была изучена коллоидная стабильность НЧ. Частицы проявляли агрегационную и седиментационную стабильность в фосфатно-солевом растворе в течение длительного времени (3 месяца, дальнейшие наблюдения не проводили) без какой-либо поверхностной модификации, что считается хорошим показателем выбранного метода синтеза. Стоит отметить, что в большинстве случаев металлические частицы требуют дополнительной обработки различными стабилизаторами (цитратом натрия, различными белками, ПЭГом и другими полимерами) для достижения коллоидной стабильности в буферных растворах. Синтезированные НЧ могут быть исполь-





**Рис. 3.** Анализ морфологии серебряных НЧ. А – электронные микрофотографии НЧ, полученные с использованием сканирующей электронной микроскопии при ускоряющем напряжении 10 кВ на микроскопе MAIA3 Tescan (Чехия). Б – гистограммы распределения количества НЧ (%) по размеру (нм)

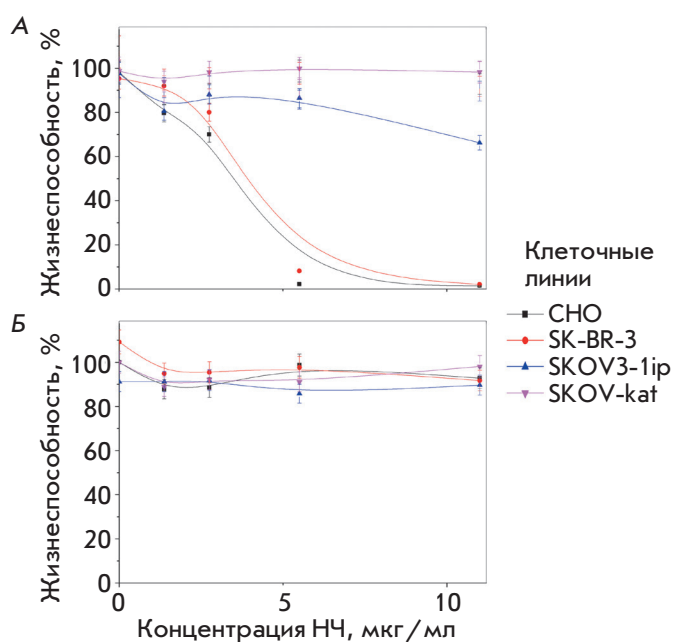
зованы для последующей модификации биологически активными молекулами, в том числе распознающими раковые клетки полипептидами (антителами, скаффолдами), требующими длительного хранения в солевых растворах.

В результате обработки изображений, полученных методом электронной микроскопии, определен средний размер наночастиц –  $35.4 \pm 1.6$  нм при синтезе с растительным экстрактом и  $56.4 \pm 2.4$  нм при синтезе с каллусным экстрактом (рис. 3Б). НЧ в основном имели округлую форму, однако часть частиц, полученных с использованием каллусного экстракта, имела форму тетраэдра или более сложных многогранников (рис. 3А).

Следует отметить, что размер НЧ, используемых *in vivo*, имеет большое значение, поскольку он определяет свойства наночастиц и влияет на прохождение ими гематоэнцефалического барьера [22–24].

Следовательно, при синтезе наночастиц необходимо учитывать все параметры, влияющие на их размер, а также иметь возможность воздействовать на эти параметры для получения наночастиц оптимального размера для успешного проникновения в клетку.

В дальнейших экспериментах использовали серебряные НЧ, полученные с растительным экстрактом,



**Рис. 4.** Исследование цитотоксичности серебряных НЧ с помощью МТТ-теста. Зависимость жизнеспособности (%) клеточных линий CHO, SK-BR-3, SKOV3-1ip и SKOV-kat (показаны цветом) от содержания в среде серебряных НЧ (мкг/мл) до (А) и после (Б) стабилизации бычьим сывороточным альбумином (БСА)

так как они по всем параметрам превосходили НЧ, синтезированные с помощью каллусного экстракта – имели большую интенсивность пика ЛППР, меньший размер и более стабильную форму. Поскольку применение наночастиц для задач онкотерапии подразумевает модификацию их поверхности различными соединениями (антитела, аффибоды и др.), которая значительно влияет на конечный гидродинамический размер, поэтому для работы выбраны наночастицы с меньшим средним диаметром.

### Изучение цитотоксических свойств НЧ

С целью изучения перспективности синтезированных НЧ для различных биомедицинских применений, в частности для онкотерапии, исследована биосовместимость данных НЧ в культуре *in vitro*. С использованием стандартного МТТ-теста исследовано действие НЧ, полученных с помощью растительного экстракта, а также выделенных из него фракций, которые, вероятно, влияют на цитотоксичность как самого экстракта, так и НЧ.

По данным МТТ-теста (рис. 4А) синтезированные немодифицированные наночастицы обладали цитотоксическими свойствами по отношению к клеточным линиям CHO и SK-BR-3 в большей степени, SKOV3-1ip – в меньшей. На жизнеспособность

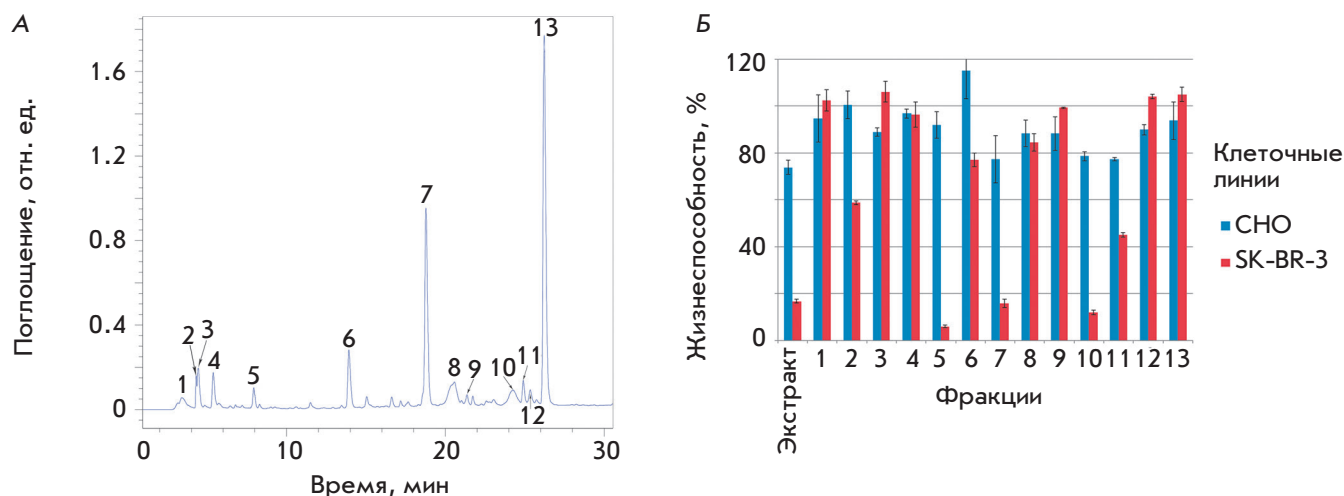


Рис. 5. Цитотоксичность растительного экстракта лаванды узколистной. А – хроматограмма растительного экстракта ( $\lambda = 280$  нм). Цифрами показаны пики поглощения, соответствующие преобладающим фракциям, полученным из экстракта. Б – исследование цитотоксичности растительного экстракта и его основных фракций с помощью МТТ-теста. Зависимость жизнеспособности (%) клеточных линий CHO, SK-BR-3 (показаны цветом) от содержания в среде растительного экстракта и его фракций (1–13)

клеток линии SKOV-kat, немодифицированные НЧ, не влияли.

Действие растительного экстракта и его основных фракций, выделенных методом аналитической хроматографии, на клеточные линии CHO и SK-BR-3 оценили с использованием МТТ-теста. Были выделены фракции, соответствующие пикам с наибольшим поглощением при  $\lambda = 280$  нм (рис. 5А). На основании данных, представленных на рис. 5А, предположили, что цитотоксичность полученных НЧ по отношению к этим клеточным линиям обусловлена наличием на поверхности НЧ биологически активных веществ, а именно, вторичных метаболитов из растительного экстракта, используемого в процессе синтеза НЧ. Для подтверждения этой гипотезы проанализировано цитотоксическое действие как 1% экстракта, так и его фракций, высушенных и растворенных в ростовой среде. По данным МТТ-теста (рис. 5Б), фракции 2 и 6 проявляли значительно большую цитотоксичность по отношению к линии SK-BR-3, но не влияли на жизнеспособность линии CHO. Фракции 3, 9 и 12 вызывали противоположный эффект. Наибольшее цитотоксическое действие на обе клеточные линии оказывал сам экстракт, а также фракции 5, 7, 10 и 11, причем воздействие на жизнеспособность клеточной линии SK-BR-3 было более выражено. Таким образом, можно сделать вывод, что цитотоксические свойства растительного экстракта и, вероятно, цитотоксические свойства НЧ определяют в основном фракции 5, 7, 10 и 11.

Поскольку НЧ оказывали цитотоксическое действие на некоторые клеточные линии, предположили, что блокирование поверхности частиц биосовместимым белком может уменьшить данный эффект. В качестве блокирующего белка был выбран бычий сывороточный альбумин (БСА), не влияющий на жизнеспособность клеток.

Диаметр частиц БСА после стабилизации увеличился в среднем на 71.9 нм. Согласно результатам МТТ-теста, в культуре *in vitro* модифицированные таким образом наночастицы не оказывали цитотоксического воздействия на все изученные клеточные линии (рис. 4Б). Полученные данные свидетельствуют о том, что БСА экранирует поверхность НЧ, блокируя таким образом их цитотоксичность.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом «зеленого» синтеза с использованием водных экстрактов растений и каллуса лаванды узколистной получены коллоидно стабильные наночастицы серебра. Отработаны условия синтеза стабильных в фосфатно-солевом буфере НЧ, имеющих оптимальный для применения в онкотераностике размер –  $35.4 \pm 1.6$  нм. НЧ охарактеризованы методами спектрофотометрии, динамического светорассеяния и сканирующей электронной микроскопии. Изучены цитотоксические свойства частиц, полученных с использованием растительного экстракта. Доказано, что блокировка поверхности НЧ белком БСА полностью подавляет их цитотоксическое действие в усло-

виях *in vitro*. Полученные НЧ обладают совокупностью свойств, предопределяющих перспективность создания на их основе multifunctional агентов, сочетающих в себе диагностические и терапевтические функции. ●

*Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда, проект № 19-14-00112, и программы повышения конкурентоспособности НИЯУ МИФИ (договор № 02.а03.21.0005).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bazak R., Houry M., El Achy S., Kamel S., Refaat T. // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2015. V. 141. № 5. P. 769–784.
2. Guryev E.L., Volodina N.O., Shilyagina N.Y., Gudkov S.V., Balalaeva I.V., Volovetskiy A.B., Lyubeshkin A.V., Sen' A.V., Ermilov S.A., Vodeneev V.A., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018. V. 115. № 39. P. 9690–9695.
3. Nikitin M.P., Shipunova V.O., Deyev S.M., Nikitin P.I. // *Nat. Nanotechnol.* 2014. V. 9. P. 716–722.
4. Shipunova V.O., Zelepukin I.V., Stremovskiy O.A., Nikitin M.P., Care A., Sunna A., Zvyagin A.V., Deyev S.M. // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2018. V. 10. № 20. P. 17437–17447.
5. Zelepukin I.V., Shipunova V.O., Mirkasymov A.B., Nikitin P.I., Nikitin M.P., Deyev S.M. // *Acta Naturae.* 2017. V. 9. № 14. P. 58–65.
6. Abramenko N.B., Demidova T.B., Abkhalimov E.V., Ershov B.G., Krysanov E.Yu., Kustov L.M. // *J. Hazardous Materials.* 2018. V. 347. P. 89–94.
7. Deyev S., Proshkina G., Ryabova A., Tavanti F., Menziani M.C., Eidelstein G., Avishai G., Kotlyar A. // *Bioconjugate Chem.* 2017. V. 28. № 10. P. 2569–2574.
8. Tregubov A.A., Nikitin P.I., Nikitin M.P. // *Chem. Rev.* 2018. V. 118. № 20. P. 10294–10348.
9. Sharma V.K., Yngard R.A., Lin Y. // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2009. V. 145. P. 83–96.
10. Ghosh S., Patil S., Ahire M., Kitture R., Gurav D.D., Jabgunde A.M., Kale S., Pardesi K., Shinde V., Bellare J. // *J. Nanobiotechnol.* 2012. V. 10. № 17. P. 1–10.
11. Harris A.T., Bali R. // *J. Nanoparticle Res.* 2008. V. 10. № 4. P. 691–695.
12. Rai M., Yadav A. // *IET Nanobiotechnol.* 2013. V. 7. № 3. P. 117–124.
13. Ovais M., Khalil A.T., Raza A., Khan M.A., Ahmad I., Islam N.U., Saravanan M., Ubaid M.F., Ali M., Shinwari Z.K. // *Nanomedicine.* 2016. V. 11. № 23. P. 3157–3177.
14. Soundarrajan C., Sankari A., Dhandapani P., Maruthamuthu S., Ravichandran S., Sozhan G., Palaniswamy N. // *Bioprocess. Biosyst. Eng.* 2012. V. 35. № 5. P. 827–833.
15. Murashige I., Skoog F. // *Physiol. Plant.* 1962. № 15. P. 473–497.
16. ГОСТ 30556-98. Семена эфиромасличных культур. Методы определения всхожести. – Введ. 2000-07-01 – Семена масличных культур: Сб. ГОСТов. М.: Стандартинформ, 2010.
17. Gonçalves S., Romano A. // *Biotechnol. Adv.* 2012. V. 6. P. 1–9.
18. Makarov V.V., Makarova S.S., Love A.J. // *Langmuir.* 2012. V. 28. P. 1–5.
19. Сотников Д.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. // *Успехи биол. химии.* 2015. Т. 55. С. 391–420.
20. Vasileva P., Donkova B., Karadjova I., Dushkin C. // *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* 2011. V. 382. P. 203–210.
21. Zdobnova T., Sokolova E., Stremovskiy O., Karpenko D., Telford W., Turchin I., Balalaeva I., Deyev S. // *Oncotarget.* 2015. V. 6. № 31. P. 30919–30928.
22. Kelf T.A., Sreenivasan V.K., Sun J., Kim E.J., Goldys E.M., Zvyagin A.V. // *Nanotechnology.* 2010. V. 21. № 28. P. 1–8.
23. Xin H., Sha X., Jiang X., Chen L., Law K., Gu J., Chen Y., Wang X., Fang X. // *Biomaterials.* 2012. V. 33. № 5. P. 1673–1681.
24. Zhou Y., Peng Z., Seven E.S., Leblanc R.M. // *J. Controlled Release.* 2018. V. 270. P. 290–303.