

ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA JADERNÁ A FYZIKÁLNĚ INŽENÝRSKÁ

Katedra jaderné chemie

Obor: Jaderná chemie



**Studium podmínek značení SPIONs
terbiem-161**

**Study of SPIONs Labelling with
Terbium-161**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vypracoval: Matěj Štíbr

Vedoucí práce: RNDr. Martin Vlk, Ph.D.

Rok: 2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Student: **Matěj Štíbr**

Studijní program: Aplikace přírodních věd

Obor: Jaderná chemie

Název práce: **Studium podmínek značení SPIONs terbiem-161**
(česky)

Název práce: Study of SPIONs Labelling with Terbium-161
(anglicky)

Pokyny pro vypracování:

1. Vypracování rešeršního přehledu zabývajícího se přípravou magnetických nanočástic oxidů železa s vhodnými toxikologickými, morfologickými a fyzikálně chemickými vlastnostmi pro jejich využití v medicíně.
2. Optimalizace syntézy, povrchová modifikace a funkcionalizace magnetických nanočástic za účelem stabilizace.
3. Značení připravených nanosond vybranými radionuklidy.
4. Závěrečné vyhodnocení naměřených dat a sepsání práce.

Doporučená literatura:

- [1] Kennel, J. S. et al.: Nuclear Medicine and Biology 32 (2005) 859–867.
- [2] Adams, G. P. et al.: Nuclear Medicine and Biology 27 (2000) 339-346.
- [3] McDevitt, M. R. et al.: Science 294 (2001) 1537-1540.

Jméno a pracoviště vedoucího práce:

RNDr. Martin Vlček, Ph.D., Katedra jaderné chemie, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská

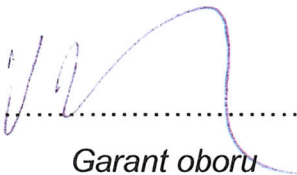
Jméno a pracoviště konzultanta:

Ing. Michal Sakmár, Katedra jaderné chemie, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská

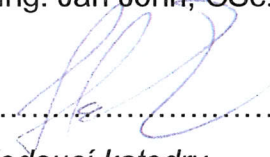
Datum zadání bakalářské práce: 20. 10. 2021

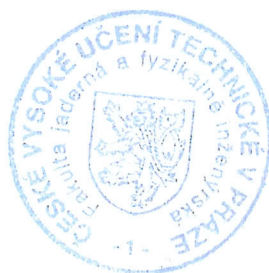
Termín odevzdání bakalářské práce: 7. 7. 2022

Doba platnosti zadání je dva roky od data zadání.



.....
Garant oboru

prof. Ing. Jan John, CSc.


.....
Vedoucí katedry



prof. Ing. Igor Jex, DrSc.


.....
Děkan

V Praze dne: 20. 10. 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci na téma „Studium podmínek značení SPIONs terbiem-161“ vypracoval samostatně a všechny použité zdroje uvádím v příloženém seznamu literatury.

V Praze dne

.....

Matěj Štíbr

Poděkování

Rád bych především poděkoval svému školiteli RNDr. Martinu Vlkovi, PhD. za odborné vedení, pomoc a připomínky při zpracování této bakalářské práce a také při zpracování FT-IR spekter. Rád bych také poděkoval svému konzultantovi Ing. Michalu Sakmárovi za pomoc při stabilitních studiích nanočástic, doc. RNDr. Jánů Kozempelovi, Ph.D., Ing. Marii Skálové a Ing. Martinu Palušákovi za přípravu ^{161}Tb , Ing. Janu Bártovi, Ph.D. za pomoc s měřením a interpretací XRPD difraktogramů a provedení termické analýzy. Nakonec moje poděkování patří Mgr. Volodymyru Lobazovi, Ph.D. za analýzu nanočástic metodou DLS a změření ζ -potenciálů.

Tato práce byla podpořena granty Technologické agentury ČR grant č. TO01000074 a Českého vysokého učení technického grant č. SGS22/188/OHK4/3T/14.

Název práce:

Studium podmínek značení SPIONs terbiem-161

Autor: Matěj Štíbr

Obor: Jaderná chemie

Druh práce: Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Martin Vlk, Ph.D.

Katedra jaderné chemie, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská,
ČVUT v Praze

Konzultant: Ing. Michal Sakmár

Katedra jaderné chemie, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská,
ČVUT v Praze

Abstrakt: Cílem bakalářské práce bylo sestavit rešeršní přehled o syntéze a stabilizace superparamagnetických nanočástic oxidů železa (SPIONs) a jejich využití jako nosičů medicínálních radionuklidů. Na základě této rešerše byly připraveny nanočástice magnetitu pomocí spolusrázcí metody, které byly stabilizované kyselinou citronovou a dále pak mikrovlně syntetizované, stabilizované PEG-1500 a F-HPMA. Charakterizace nanočástic byla provedena metodou XRPD a FT-IR. Hydrodynamický průměr nanočástic byl stanoven pomocí metody DLS a koloidní stabilita byla určena z hodnot ζ -potenciálů.

Na základě analýz byl pak vzorek nanočástic stabilizovaných kyselinou citronovou značen pomocí ^{68}Ga , ^{161}Tb a ^{177}Lu . Průměrné výtěžky značení byly v případě ^{68}Ga 88 %, v případě ^{161}Tb 91 % a nejlepšího výsledku 96 % bylo dosaženo v případě ^{177}Lu . Uvolňovaná aktivita ze ^{161}Tb - resp. ^{177}Lu -SPIONs byla studována v prostředí fyziologického roztoku, hovězí krevní plasmy, hovězího krevního séra, 1% a 5% roztoku hovězího albuminu v rámci jednoho poločasu přeměny daného radionuklidu. Výsledky ukázaly, že pouze v prostředí fyziologického roztoku se uvolňuje z povrchu nanočástic méně než 8 % celkové aktivity. V ostatních biologických maticích docházelo k rozpouštění nosiče v důsledku přítomných proteinů.

Klíčová slova: SPIONs, magnetit, nanočástice, terbium

Title:

Study of SPIONs Labelling with Terbium-161

Author: Matěj Štíbr

Branch: Nuclear Chemistry

Type of thesis: Bachelor's Degree project

Supervisor: RNDr. Martin Vlk, Ph.D.

Department of Nuclear Chemistry, Faculty of Nuclear Sciences and
Physical Engineering, CTU in Prague

Consultant: Ing. Michal Sakmár

Department of Nuclear Chemistry, Faculty of Nuclear Sciences and
Physical Engineering, CTU in Prague

Abstract: The aim of this work was the literature review of synthesis and stabilization of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) and their application as medicinal radionuclides carriers. Based on this review magnetite nanoparticles stabilized with citric acid were prepared using co-precipitation method followed by microwave-synthesized nanoparticles stabilized with PEG-1500 and F-HPMA. Characterization of nanoparticles was performed by XRPD and FT-IR. Hydrodynamic diameter of nanoparticles was determined by DLS method and colloidal stability was determined from the values of ζ -potentials.

Based on analysis, sample of nanoparticles stabilized with citric acid was radiolabelled with ^{68}Ga , ^{161}Tb and ^{177}Lu . Average radiolabelling yields were 88 % for ^{68}Ga , 91 % for ^{161}Tb and the best result of 96 % was achieved for ^{177}Lu . Released activity from [^{161}Tb]- resp. [^{177}Lu]-SPIONs was studied in saline solution, bovine plasma, bovine serum, 1% and 5% solution of bovine albumine within one half-life of given radionuclide. Results showed that only in saline solution the total released activity from nanoparticles surface did not exceed 8 %. In other biological matrices the carrier was dissolved due to the proteins present.

Key words: SPIONs, magnetite, nanoparticles, terbium

Seznam použitých zkratek

acac	acetylacetonát
AOT	1,4-bis((2-ethylhexyl)oxy)-1,4-dioxobutan-2-sulfonová kyselina
APTES	(3-aminopropyl)triethoxysilan
DEG	diethylenglykol
DLS	dynamický rozptyl světla (dynamic light scattering)
DTPA	diethylenetriaminpentaoctová kyselina
F-HPMA	poly(<i>N</i> -(2-hydroxypropyl)methakrylamid) značený fluoresceinem
FWHM	šířka v polovině výšky (full width at half maximum)
mABs	monoklonální protilátky
MDEA	methyldiethanolamin
MES	kyselina 2-(<i>N</i> -morfolino)-ethansulfonová
MPTS	(3-sulfanylpropyl)trimethoxysilan
MRI	magnetická rezonance
NOTA	kyselina 1,4,7-triazacyklononan-1,4,7-trioctová
PEG	polyethylenglykol
PET	pozitronová emisní tomografie
PRRT	terapie radioaktivními peptidy (peptide receptor radionuclide therapy)
SDS	dodecylsírán sodný
SPIONs	superparamagnetické nanočástice oxidu železa (superparamagnetic iron oxide nanoparticles)
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
TEOS	tetraethylorthosilikát
TG	termogravimetrie
TRIS	tris(hydroxymethyl)aminomethan
XRPD	rentgenová prášková difrakce (X-ray Powder Diffraction)

Obsah

1	Úvod	11
2	Teoretická část	12
3	Příprava nanočástic Fe₃O₄	13
3.1	Spolusrážecí metoda	13
3.2	Tepelný rozklad	14
3.3	Mikroemulsní technika	14
3.4	Hydrotermální a solvotermální metoda	15
3.5	Sol-gel a polyolová metoda	15
3.6	Sonochemická metoda	16
3.7	Flow injection syntéza	17
3.8	Elektrochemická metoda	17
3.9	Mikrovlnná metoda	17
3.10	Ostatní metody	18
4	Stabilizace a funkcionalizace nanočástic	18
4.1	Anorganické látky	19
4.1.1	Křemík	19
4.1.2	Zlato	20
4.2	Organické látky	20
4.2.1	Monomerní látky	20
4.2.1.1	Kyselina citronová	20
4.2.1.2	Fosfonové kyseliny	21
4.2.1.3	Trialkoxysilany	21
4.2.1.4	Pyrokatechol	22
4.2.2	Polymerní látky	22
4.2.2.1	Dextran	23
4.2.2.2	Polyethylenglykol	23
4.2.2.3	Polyvinylalkohol	24
4.2.2.4	Chitosan	24
5	Značení magnetických nanočástic radionuklidy	25
5.1	Technecium-99m	25
5.2	Germanium-69	26
5.3	Gallium-68	26
5.4	Rhenium-188	27
5.5	Yttrium-90	27

5.6	Měď-64	28
5.7	Lutecium-177	28
6	Značení magnetických nanočástic terbiem-161	29
7	Experimentální část	31
7.1	Použité chemikálie	31
7.2	Použité přístroje	31
7.3	Syntéza nanočástic $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$	32
7.4	Syntéza nanočástic $\text{Fe}_3\text{O}_4@PEG-1500$ a $\text{Fe}_3\text{O}_4@F-HPMA$	32
7.5	Značení $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$ povrchovou sorpcí ^{68}Ga	33
7.6	Značení $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$ povrchovou sorpcí ^{161}Tb	33
7.7	Značení $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$ povrchovou sorpcí ^{177}Lu	34
7.8	Stabilitní studie označených nanočástic $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$	34
8	Výsledky a diskuse	35
8.1	XRPD analýza	35
8.2	DLS analýza	37
8.3	FT-IR analýza	40
8.4	Termogravimetrická analýza	42
8.5	Značení nanočástic $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$	43
8.6	Stabilita značení nanočástic	45
9	Závěr	48
10	Literatura	50
11	Přehled publikovaných výsledků	56

1 Úvod

Obor nanotechnologií představuje perspektivní oblast zejména pro aplikaci ve zdravotnictví. Nanočásticové systémy se svojí velikostí v řádech jednotek až desítek nanometrů a vysokému měrnému povrchu umožňují efektivně vázat širokou paletu látek, jako jsou fluorescenční značky, mABs, peptidy a organické molekuly využitelné pro cílený transport, léčiva, nebo radionuklidy. Takto modifikované nanosondy pak představují multidimodální nástroj využitelný jak k diagnostice, tak i k terapii.

Slibné využití nabízejí nanočástice tvořené oxidem titaničitým a hydroxyapatitem. V obou případech se jedná o biokompatibilní materiály, které umožňují vytvořit nanosondy pro aplikaci ve zdravotnictví. Tyto nanočástice lze uplatnit jako nosiče pro novou oblast radioterapie – cílenou alfa terapii. Uvažovanými nuklidy pro tento druh radioterapie jsou ^{223}Ra a ^{225}Ac , které se přeměňují několika α a β^- přeměnami, což umožňuje deponovat podstatně větší část energie v daném místě určení. Nanočástice s nasorbovaným radionuklidem by pak sloužily jako *in vivo* generátory [1].

Do popředí se také dostávají superparamagnetické nanočástice oxidů železa (SPIONs). Oproti ostatním druhům nanočástic vykazují navíc magnetické vlastnosti, což otevírá nové možnosti jejich využití, např. jako kontrastní činidla v zobrazování magnetickou rezonancí, nebo léčbě pomocí hypertermie [2, 3]. Nespornou výhodou těchto částic je snadnost jejich přípravy a jejich biologická kompatibilita, která se zvyšuje, jsou-li nanočástice dále modifikovány [4]. Tyto nanočástice tak představují slibný nosič pro cílený transport léčiv a radionuklidů do požadovaných míst.

Lutecium-177 a terbiium-161 jsou β^- zářiče, jejichž vlastnosti umožňují jejich využití při radioterapii. V současné době je ^{177}Lu již v terapii využíváno ve formě značeného somatostatinového analogu k léčbě gastroenteropankreatických neuroendokrinních nádorů pozitivních na somatostatinový receptor. Využití ^{161}Tb se prozatím předpokládá v terapii kvůli jeho značným podobnostem s ^{177}Lu . Oproti tomuto radionuklidu však ^{161}Tb emituje více Augerových elektronů na jednu přeměnu, jež mají obecně kratší dosah a radiačně tolik nezatěžují okolní zdravou tkáň.

Cílem této práce bylo vypracování rešeršního přehledu zabývajících se přípravou magnetických nanočástic oxidů železa s vhodnými toxikologickými, morfologickými a fyzikálně chemickými vlastnostmi pro jejich využití v medicíně, dále pak syntetizovat nanočástice na bázi magnetitu a vhodnou funkcionalizací jejich povrchu je stabilizovat. Dalším cílem bylo připravené nanosondy označit pomocí ^{161}Tb a ^{177}Lu a ověřit stabilitu takto označených nanosond v biologických mediích. Posledním cílem bylo vyhodnocení naměřených dat.

2 Teoretická část

V posledních době vzrůstá zájem o výzkum a uplatnění nanotechnologií v běžném životě. Velký pokrok v tomto multidisciplinárním odvětví byl učiněn v oblasti nanočástic vykazující magnetické vlastnosti. Díky magnetickým vlastnostem je lze ovlivňovat vnějším magnetickým polem, což je unikátní vlastnost, kterou ostatní druhy nanočástic vyrobených z jiných materiálů postrádají. Kromě jejich velkého povrchu se magnetické nanočástice vyznačují tzv. superparamagnetismem. Takovéto nanočástice vykazují magnetickou jednodoménovost, kdy všechny magnetické momenty ve vnějším magnetické poli míří jedním směrem. Superparamagnetické materiály zároveň nevykazují žádnou hysterezi [5].

Mezi magnetickými nanočásticemi mají významnou roli ty, jež jsou tvořeny oxidy železa. Důvodem je jejich snadná dostupnost, co se týče jejich výroby, jelikož byla vyvinuta široká paleta metod poskytující nanočástice požadovaných vlastností. Další výhodou je nízká cena vstupních surovin. Mezi oxidy železa se zejména jedná o hematit (α - Fe_2O_3), maghemit (γ - Fe_2O_3) a magnetit (Fe_3O_4), z nichž magnetit má velmi malou cytotoxicitu [4], což je velmi důležitá vlastnost pro jeho biomedicínské uplatnění. Magnetit vytváří inverzní spinelovou strukturu, v níž atomy kyslíku tvoří plošně centrovanou kubickou mřížku a atomy železa obsazují intersticiální oktaedrické a tetraedrické polohy [2].

Díky svým magnetickým vlastnostem (viz Obr. 1) a velkému povrchu nalezly nanočástice oxidů železa své uplatnění hlavně v medicíně. Například při zobrazování pomocí MRI, kdy nanočástice ovlivňují T_1 a T_2 relaxační časy, čímž vytvářejí vyšší kontrast sledované oblasti. V této oblasti by mohly sloužit jako alternativy k používaným kontrastním látkám na bázi chelátů gadolinia [6]. Perspektivní uplatnění nalézají magnetické nanočástice také v oboru cíleného transportu léčiv, kde slouží jako nosiče s širokými možnostmi modifikace jejich povrchu různými skupinami, na které se mohou vázat další molekuly. Kohler et al. například modifikovali povrch nanočástic Fe_3O_4 pomocí (3-aminopropyl)trimethoxysilanu na jehož aminové funkční skupiny následně navázali cytostatikum methotrexát. Takto modifikované nanočástice prokázaly sníženou životaschopnost jak lidské buněčné linie rakoviny prsu, tak i rakoviny děložního čípku [7]. Magnetické nanočástice mohou být také využity k léčbě nádorových onemocnění pomocí hypertermie, při které jsou částice dopraveny do místa zasaženého rakovinou a pomocí externího magnetického pole generují teplo. Tím zničí nádorové buňky, které jsou obecně citlivější na vyšší teploty než buňky zdravé [8]. O dalším využití magnetických nanočástic v různých biomedicínských odvětví se lze dočíst například v [8, 9].



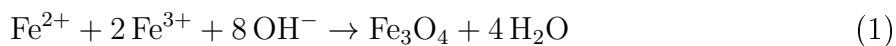
Obr. 1: Interakce nanočástic magnetitu s vnějším magnetickým polem.

3 Příprava nanočástic Fe_3O_4

Do současné doby bylo zkoumáno mnoho způsobů přípravy nanočástic Fe_3O_4 , které poskytují částice s různými parametry a kvalitou. Rovněž experimentální náročnost daných metod je různá, od jednoduché spolusrážecí reakce vyžadující běžné vybavení a vstupní suroviny až například po syntézu metodou flow injection vyžadující speciální aparaturu.

3.1 Spolusrážecí metoda

Spolusrážecí metoda je jednou z nejjednodušších a nejrozšířeněji používaných metod k přípravě nanočástic Fe_3O_4 . Princip této metody spočívá v přidávání báze do roztoku Fe^{2+} a Fe^{3+} , čímž dochází k vysrážení pevné fáze. V závislosti na molárním poměru Fe^{2+} a Fe^{3+} iontů se vytvářejí různé formy oxidů železa. Pro získání magnetitu je třeba udržovat molární poměr $\text{Fe}^{3+}:\text{Fe}^{2+}$ 2:1 viz (1) [2]:



Reakci je nutné provádět pod inertní atmosférou, jinak dochází k oxidaci magnetitu na maghemit. Podmínky, při kterých reakce probíhá, mají také zásadní vliv na konečné vlastnosti nanočástic jako je jejich velikost, složení a magnetické vlastnosti. Například se jedná o typ použité soli železa, poměru $\text{Fe}^{3+}:\text{Fe}^{2+}$, hodnotě pH, iontové síle roztoku, nebo druhu použité zásady. Dokonce i způsob sušení může ovlivnit výsledné vlastnosti, kdy například nejvyšší saturační magnetizace bylo dosaženo při sušení vakuem při 70 °C [9].

Nevýhodou této metody je, že poskytuje nanočástice s širokou distribucí velikosti. Tomu se dá zamezit přidávkem různých organických látek, jako je například kyselina

citronová, nebo olejová, anebo polymerů jako jsou polyethylenglykol nebo dextran. Tyto aditivní látky zároveň stabilizují nanočástice v suspenzi a nedochází tak k jejich agregaci.

Například Mikhaylová et al. syntetizovali nanočástice magnetitu pomocí spolusrážení chloridu železitého a chloridu železnatého. Roztok těchto solí v molárním poměru $\text{Fe}^{3+}:\text{Fe}^{2+}$ 2:1 byl přidán do roztoku hydroxidu sodného, který byl předem zahříván na 80 °C. Reakce byla zároveň provedena v atmosféře dusíku. Vzniklé částice měly průměr se střední hodnotou okolo 8 nm. Tyto částice dále modifikovali (3-aminopropyl)trimethoxysilanem, kyselinou L-aspartovou a hovězím sérovým albuminem [10].

3.2 Tepelný rozklad

Spolusrážecí metoda je sice velmi snadná na provedení, ale neumožňuje precizní kontrolu nad tvorbou nanočástic o různé velikosti. Syntéza pomocí tepelného rozkladu prekurzorů železa naopak umožňuje vytvořit nanočástice s úzkou distribucí velikosti částic. Princip této metody spočívá v tom, že dochází k rozkladu komplexů železa, nebo jeho organických sloučenin ve vysokovroucím organickém rozpouštědle obsahující surfaktanty jako jsou mastné kyseliny, které stabilizují vznikající částice. Nejčastěji používanými prekurzory jsou $\text{Fe}(\text{CO})_5$, $\text{Fe}(\text{acac})_3$, oleát železitý, $\text{Fe}(\text{cup})_3$ (cup = *N*-nitrosophenylhydroxylamin) a další. Takto získané nanočástice mají velikost okolo 30 nm a menší [9]. Nevýhodou této metody je, že získané částice jsou hydrofobní a k tomu aby získaly hydrofilní vlastnosti je nutné je dále upravit například výměnou ligandu, nebo přidavkem bipolárního surfaktantu [8].

Kohler et al. například syntetizovali magnetické nanočástice zahříváním $\text{Fe}(\text{acac})_3$ ve směsi difenyletheru, hexadekan-1,2-diolu, kyseliny olejové a (9*Z*)-octadec-9-en-1-aminu (oleylaminu) při teplotě 265 °C v atmosféře dusíku. Vznikly tak hydrofobní nanočástice jejichž povrch byl obalen kyselinou olejovou a oylelaminem [11]. Rovněž byla popsána syntéza nanočástic rozkladem solí mastných kyselin s železem, kdy jako nekoordinující rozpouštědlo byl použit oktadekan a jako surfaktant příslušná mastná kyselina tvořící sůl při teplotě 300 °C. V průběhu experimentu byly zkoumány kyseliny obsahující 10-18 uhlíků v řetězci, jmenovitě: dekanová, laurová, myristová, palmitová, olejová a stearová kyselina. Výsledná velikost nanočástic byla v rozmezí 6 až 50 nm v závislosti na koncentraci a druhu použité kyseliny [12].

3.3 Mikroemulsní technika

Princip metody se zakládá na vytvoření malých kapiček kapaliny v druhé kapalině, jež jsou spolu nemísitelné a emulze je dále stabilizována pomocí molekul surfaktantu. Rozeznáváme dva druhy mikroemulsí a to olej ve vodě a reversní mikroemulsi voda v oleji.

V reversní mikroemulsi mají kapičky vody průměr 1–50 nm, což umožňuje kontrolovanou tvorbu nanočástic o požadované velikosti. Velikost těchto kapiček může být upravena na základě molárního poměru surfaktantu ku vodě [5]. K tvorbě nanočástic dochází spolusrážecí metodou, kdy jedna mikroemulze obsahuje rozpuštěné soli železa a druhá identická mikroemulze obsahuje rozpuštěnou bázi, jejichž smícháním dojde v kapičkách k vysrážení nanočástic. Tyto nanočástice mohou být extrahovány přidáním acetonu nebo ethanolu a následným provedením filtrace. Nevýhodou této metody jsou nízké výtěžky v porovnání s ostatními metodami a také nutnost použití velkého množství rozpouštědla.

Gupta et al. syntetizovali nanočástice magnetitu za pomoci reversní mikroemulze, která byla vytvořena smícháním 0,05 M surfaktantu AOT a hexanu. Uvnitř hydrofilního jádra micel byla rozpuštěna směs Fe^{3+} a Fe^{2+} iontů v molárním poměru 2:1. Přidáním 1 M hydroxidu sodného pod inertní atmosférou dusíku za stálého míchání byl vysrážen magnetit. Takto byly získány nanočástice magnetitu o velikosti v rozmezí 10–15 nm. Pomocí mikroemulze byly zároveň částice pokryty vrstvou polyethylenglykolu [13].

3.4 Hydrotermální a solvotermální metoda

Hydrotermální metoda je založena na krystalizaci látky za teplot kolem 130–250 °C a tlaku 0,3–4 MPa v autoklávu [9]. Takto získané nanočástice vykazují mnohem větší krystalinitu než nanočástice připravené jinými metodami, což má za následek vyšší magnetizaci. Bylo také zjištěno, že velikost vytvářených nanočástic roste s reakční dobou a také se zvyšujícím se obsahem vody v reakční směsi [8]. Je-li použito nevodné prostředí, tak je metoda nazývá solvotermální. Hydrotermální metod lze využít k syntéze magnetických nanočástic různých tvarů, například trubičky, nebo prstýnky. Při takovém procesu ovlivňují výsledný tvar nanočástic reakční doba, koncentrace Fe^{3+} iontů a přítomnost aditivních fosforečnanových a síranových aniontů [9].

Xiao et al. navrhli metodu přípravy ultramalých (< 5 nm) nanočástic Fe_3O_4 pomocí redukce hydroxidu železitého kyselinou askorbovou. Využitím molárního poměru kyseliny askorbové ku hydroxidu železitému 1:6 bylo docíleno ideální redukce Fe^{3+} na Fe^{2+} a jako dominantní fáze vznikl Fe_3O_4 . V experimentu byla reakční směs zahřívána v autoklávu při teplotě 150 °C, přičemž vznikly nanočástice o velikosti zhruba 5 nm. V průběhu reakce docházelo k redukci kyseliny askorbové na kyselinu dehydroaskorbovou, která stabilizovala vzniklé nanočástice [14].

3.5 Sol-gel a polyolová metoda

Sol-gel metoda se využívá k přípravě keramických materiálů a oxidů kovů. Principem je kondenzace koloidního roztoku prekurzoru (sol), který v průběhu reakce zesítovává a vytváří tak třídímenzionální strukturu označovanou jako gel. Jelikož tyto reakce probíhají

při laboratorní teplotě je nutné k dokončení krystalizace zahřívání. Typickými materiály pro tuto metodu jsou alkoxydy a soli železa [9]. Například Qi et al. navrhli syntézu nanočástic magnetitu metodou sol-gel. V jejich experimentu rozpustili chlorid železitý a chlorid železnatý v ethanolu v atmosféře dusíku, s následným přidavkem propylenoxidu, čímž došlo k vytvoření gelu. Takto vytvořený gel byl žihán ve vakuu a velikost získaných nanočástic byla v rozmezí 9–12 nm [15].

Zvláštní postavení má polyolové metoda. Oproti sol-gel metodě kdy dochází k oxidační reakci, při polyolové syntéze dochází naopak k redukční reakci. Při této metodě je prekurzor suspendován a zahříván v polyolu, který slouží jako rozpouštědlo a redukční činidlo. Oproti solvotermální metodě reakce probíhá za normálního tlaku. Výhodou použití polyolů je následná stabilizace výsledných nanočástic, čímž tedy ovlivňují i velikost a zamezují agregaci [8]. Caruntu et al. ukázali, že velikost vzniklých nanočástic závisí na druhu použitého alkoholu. Při jejich experimentu použili jako rozpouštědlo diethylenglykol (DEG), methyldiethanolamin (MDEA) a směs diethylenglykol–methyldiethanolamin v poměru 1:1 (*w/w*). Ve všech případech byly v příslušném alkoholu rozpuštěn FeCl_3 a FeCl_2 v poměru 2:1 a k této směsi byl přidán roztok hydroxidu sodného v příslušném alkoholu. Směs byla poté zahřívána při 210–220 °C. Částice vzniklé syntézou z DEG měly velikost přibližně 6 nm, ty vzniklé z MDEA vykazovali velikost přibližně 17 nm, zatímco ty ze směsi DEG–MDEA 11 nm [16].

Výhodou těchto dvou metod je, že takto vyrobené nanočástice jsou velice hydrofilní, díky hydrofilním ligandům na jejich povrchu. Využití vyšších teplot při syntéze má za důsledek vyšší saturační magnetizaci nanočástic. Nevýhodou je použití drahých aloxidů jako prekurzorů a uvolnění značného množství alkoholu při žihání, což může být značně nebezpečné.

3.6 Sonochemická metoda

Sonochemická metoda (sonolýza) je způsob přípravy nanočástic, kdy se využívá vystavení roztoku, obsahující prekurzor, působení ultrazvuku. Ultrazvuk vytváří v roztoku malé bublinky, které hromadí energii a když přesáhnou určitou velikost dojde k jejich kolapsu a uvolnění nahromaděné energie. Takto se lokálně vytváří teplota okolo 5000 K a tlak 100 MPa [9].

Sonolýzou vodného $\text{Fe}(\text{CO})_5$ v přítomnosti dodecylsíranu sodného (SDS) byly například připraveny nanočástice Fe_3O_4 . V experimentu byl vodný roztok $\text{Fe}(\text{CO})_5$ a SDS vystaven působení ultrazvuku po dobu 3 hodin při laboratorní teplotě. Takto byly získány amorfní nanočástice magnetitu stabilizované pomocí SDS o středním průměru 8 nm [17].

3.7 Flow injection syntéza

Tato metoda využívá stejné chemické reakce jako spolusrážecí metoda, avšak umožňuje vyšší kontrolu nad probíhající reakcí a zaručuje vysokou opakovatelnost výsledků. Principem je, že reakce probíhá v kapilárním reaktoru, kdy do laminárního toku jedné reakční složky je vstříkována druhá reakční složka. Salazar-Alvarez et al. navrhli vlastní aparaturu, na které zkoumali různé možnosti mísení reakčních složek na výsledné vlastnosti vznikajících nanočástic. Zkoumali celkem čtyři metody: A) do kapilárního reaktoru byly najednou vstříkovány roztok NaOH a roztok obsahující ionty Fe^{3+} a Fe^{2+} ve stechiometrickém poměru 2:1. Metoda B) zahrnovala střídavé dávkování předešlých dvou roztoků do kapilárního reaktoru. Při metodě C) využívali vytváření zón v reaktoru pomocí inertního média a při metodě D) přidávali přerušovaně roztok iontů železa do rovnoměrného toku roztoku NaOH. Ukázali, že jako nejlepší se jeví metoda A) a zároveň, že velikost částic a distribuce jejich velikostí lze ovlivnit koncentrací reaktantů a rychlostí toku [18].

3.8 Elektrochemická metoda

Jednou z dalších možností přípravy nanočástic je využití elektrolýzy. Fajaroh et al. zkoumali přípravu nanočástic magnetitu bez využití surfaktantů ve vodném roztoku. Zároveň se také zaměřili na ovlivnění reakce přidávkem hydroxidů sodného, dále na vliv vzdálenosti mezi elektrodami a na použité proudové hustotě. V jejich experimentu použili železnou katodu a anodu z oceli pokryté vrstvou vysoce čistého železa získaného elektrodepozicí v roztoku FeSO_4 . Zjistili, že reakce probíhá i bez přidavku OH^- , ale tento přírůstek urychluje reakci. Dále zjistili, že velikost částic se zvětšuje s rostoucí proudovou hustotou a snižuje se se zvyšující se vzdáleností mezi elektrodami. Připravili tak nanočástice se středním průměrem mezi 10 až 30 nm v závislosti na experimentálních podmínkách [19].

3.9 Mikrovlnná metoda

Mikrovlnné záření, konkrétně jeho elektrická složka, interaguje s dipóly molekul, čímž je uvádí do pohybu. Tento pohyb molekul poté přispívá k lokálnímu zahřívání. Díky tomu je tento způsob ohřevu oproti konvenčnímu rychlejší a energeticky úspornější.

Mikrovlnné záření využili Osborne et al. v návrhu dvou syntéz magnetických nanočástic stabilizovaných pomocí dextransu. První způsob sestával ze dvou kroků, kdy v prvním kroku připravili holé nanočástice pomocí redukce FeCl_3 hydrazinem ve vodném prostředí. Tuto reakční směs poté za stálého míchání ozařovali mikrovlnami po dobu 10 minut při teplotě okolo 100 °C. Ve druhém kroku nejprve zredukovali dextran pomocí NaBH_4 . Tento redukovaný dextran poté rozpustili ve vodné suspenzi nanočástic, přidali další FeCl_3 a NaOH. Roztok dále vystavili mikrovlnnému záření po dobu 2 minut při teplotě 100 °C. Druhý způsob sestával pouze z jediného kroku. Oproti předchozímu případu rozpustili

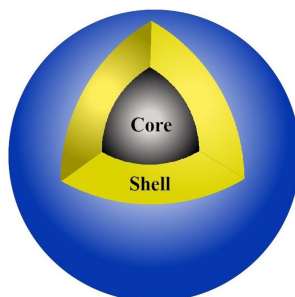
FeCl_3 ve vodě a tentokrát přidali i redukovaný dextran. Dále do roztoku přidali hydrazin a směs ozařovali mikrovlnami po dobu 10 minut při teplotě okolo $100\text{ }^\circ\text{C}$. Pomocí metody XRPD zjistili, že difraktogramy obou částic odpovídají buď magnetitu nebo maghemitu. Na základě této metody nedokázali odlišit jaká fáze tvoří tyto částice. Nanočástice připravené v jednom kroku poté vykazovali menší velikost, užší distribuci velikostí částic a lepší magnetické vlastnosti [20].

3.10 Ostatní metody

Kromě výše zmíněných metod existuje celá řada jiných minoritně využívaných způsobů syntézy nanočástic lišící se postupem i použitým vybavením. Například se jedná o aerosolové metody, laserem indukovanou pyrolýzu, anebo biosyntetické postupy [8, 9].

4 Stabilizace a funkcionalizace nanočástic

V důsledku velkého povrchu oproti objemu a hydrofobní povaze částic dochází k jejich shlukování, čímž ztrácí svoje vlastnosti a již nevytvářejí stabilní koloidní suspenzi. Dalším faktorem ovlivňujícím agregaci jsou silné magnetické dipól-dipólové interakce mezi nanočásticemi [13]. Z tohoto důvodu je nutné nanočástice stabilizovat. Jedním ze způsobů je vytvoření tzv. core-shell struktury (viz Obr. 2), kde core označuje nanočástici magnetitu a shell označuje obal nanočástice tvořený například anorganickými materiály nebo polymery. Takto vytvořený obal nejenom zabraňuje agregaci částic, ale také je chrání před nežádoucí oxidací. Vhodnou volbou látek lze povrch dekorovat $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$ a dalšími skupinami, přes které se mohou vázat látky obsahující skupiny $-\text{COOH}$, $-\text{X}$ a jiné, využitelné například pro cílenou dopravu léčiv, chelataci iontů, nebo lze volbou obalových látek nanočástice v organismu „maskovat“, aby se dostaly na správné místo určení. Pro biologické aplikace je důležité, aby byly částice hydrofilní. I tuto vlastnost lze zajistit vhodnou volbou obalového materiálu.



Obr. 2: Core-shell struktura nanočástic.

Další možnost jak nanočástice stabilizovat vychází z myšlenky uzavřít nanočástice v matici nejčastěji tvořené nějakým druhem polymeru (polymerosomy). Nevýhodou to-

hoto procesu je, že nanočástice jsou v materiálu pevně fixovány. Jelikož core-shell struktury jsou nejčastěji používané, bude v následujících odstavcích pojednáno o různých materiálech používaných na stabilizaci nanočástic tímto způsobem.

4.1 Anorganické látky

4.1.1 Křemík

Použití křemíku jako povrchového materiálu je velmi rozšířené díky jeho vlastnostem a také jednoduchosti obalení nanočástic. Mezi jeho přednosti patří chemická inertnost, což předurčuje takto modifikované nanočástice k využití v biomedicíně, dále na svém povrchu obsahuje hydrofilní skupiny, což usnadňuje suspendování částic ve vodném prostředí. Další jeho vlastností je schopnost omezovat dipólové interakce a tak zabraňovat agregaci nanočástic. Povrch vytvořené křemíkové vrstvy obsahuje velké množství silanolových skupin, které lze různými reakcemi modifikovat. Tak například reakcí tohoto křemíkového obalu s (3-aminopropyl)triethoxysilanem lze na povrch nanočástic zavést aminoskupiny, které mohou být využity k navázání dalších molekul a sloužit tak specifickým účelům.

Bylo popsáno několik metod obalování nanočástic Si-vrstvou. Mezi nejpoužívanější patří Stöberova metoda a mikroemulsní metoda. Stöberova metoda je založena na hydrolýze sol-gel prekurzoru, nejčastěji se jedná o tetraethylorthosilikát (TEOS), nebo vinyltriethoxysilan [9]. Reakce probíhá v prostředí alkoholu, ve kterém jsou dispergovány nanočástice a do této směsi se přidává křemíkový prekurzor spolu s vodou nebo vodným roztokem amoniaku.

Deng et al. připravili nanočástice magnetitu spolusrázcí metodou, na kterých poté studovali reakční podmínky pro vytvoření křemíkového obalu pomocí Stöberovy metody. V jejich experimentu studovali vliv použitého alkoholu, poměru alkoholu k vodě, množství použitého vodného amoniaku a množství TEOS. Při použití methanolu došlo mimo jiné k vytvoření nanočástic čistého křemíku. Výsledkem bylo, že při použití isopropylalkoholu a propan-1-olu zase docházelo ke shlukování výsledných částic. Jako nejlepší se proto jevil ethanol. Při použití objemu rozpouštědel, kdy poměr EtOH:voda byl 4:1, vykazovaly částice nejnižší polydisperzitu. Při použití menšího množství vody docházelo k vytváření agregátů, zatímco při větším množství vody docházelo k příliš rychlé hydrolýze TEOS a vznikaly tak nanočástice křemíku. Experiment také ukázal, že množství přidávaného vodného roztoku amoniaku ovlivňuje tvorbu obalu nanočástic. Velký přídavek roztoku opět způsoboval rychlou hydrolýzu TEOS a vznikali tak nežádoucí křemíkové částice. Autoři článku také zjistili, že tloušťka křemíkového obalu roste s přídavkem TEOS, což má za následek sníženou saturační magnetizaci [21].

Princip mikroemulsní metody je naprosto stejný jako při přípravě nanočástic touto metodou. Nanočástice dispergované v kapičkách mikroemulze jsou obalovány hydrolýzou

TEOS v bazickém prostředí. Výhodou této metody je větší kontrola nad tloušťkou výsledné vrstvy křemíku, ale nevýhodou je použití velkého množství rozpouštědla a následná separace core-shell nanočástic.

4.1.2 Zlato

Zlato lze díky své inertnosti pokládat jako ideální materiál pro obalení nanočástic magnetitu. Nicméně díky rozdílné povaze těchto dvou materiálů je tento proces obtížný. Xu et al. připravili nanočástice magnetitu obalené zlatem pomocí redukce HAuCl_4 . V jejich experimentu nejdříve připravili částice Fe_3O_4 stabilizované oleylaminem a kyselinou olejovou tepelným rozkladem oleátu železitého. Tyto částice byly poté pokryty zlatem díky redukcí HAuCl_4 v prostředí chloroformového roztoku oleylaminu. Oleylamin sloužil jako mírné redukční činidlo a zároveň jako surfaktant. Nanočástice získané tímto způsobem měly průměr okolo 12 nm [22]. Takto pokrytý povrch pomocí zlata může být dále funkcionalizován pomocí thiolů, které mohou sloužit jako můstek pro další látky.

4.2 Organické látky

4.2.1 Monomerní látky

Běžnými látkami používanými ke stabilizaci nanočástic magnetitu jsou kyselina olejová a oleylamin. Takto stabilizované nanočástice nejčastěji vznikají při syntéze pomocí tepelného rozkladu organického prekurzoru jako je $\text{Fe}(\text{acac})_3$, nebo oleát železitý. Při běžném postupu je $\text{Fe}(\text{acac})_3$ zahříván při teplotě okolo 300 °C v prostředí kyseliny olejové, oleylaminu a případně jiných vysokovroucích organických rozpouštědlech pod dusíkovou atmosférou. V průběhu reakce směs mění barvu z původně červenooranžové až na černou, což značí tvorbu nanočástic magnetitu [11]. Nevýhodou použití těchto látek je jejich hydrofobní povaha a tudíž nemožnost použití takto stabilizovaných nanočástic ve vodném prostředí.

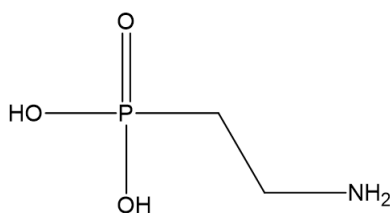
4.2.1.1 Kyselina citronová

K získání stabilizovaných hydrofilních nanočástic lze využít například kyselinu citronovou. Tato trikarboxylová kyselina je schopna se kovalentně vázat na povrch nanočástice buď jednou, nebo dvěma karboxylovými skupinami v závislosti na sterickém bránění a zakřivení povrchu nanočástice. To znamená, že minimálně jedna karboxylová skupina je volná a umožňuje tak disperzi nanočástic ve vodném prostředí [8]. Tento způsob stabilizace využili Sahoo a kol. při svých pokusech. Nejprve byly připraveny nanočástice magnetitu spolusrážením FeCl_2 a FeCl_3 v molárním poměru 1:2, kde jako zásada byl použit vodný roztok amoniaku. Směs byla zahřívána při 80 °C v argonové atmosféře a k ní byl přidán monohydrát kyseliny citronové. Reakční směs byla dále zahřívána při 95 °C. Pomocí

TEM byla určena velikost nanočástic v intervalu 4–20 nm. Volné karboxylové skupiny na povrchu nanočástic byly poté využity k navázání barviva rhodamin 110 [23].

4.2.1.2 Fosfonové kyseliny

Fosfonové kyseliny byly rovněž studovány v souvislosti se stabilizací a funkcionalizací nanočástic magnetitu. Fosfonové kyseliny jsou bidentátní ligandy vytvářející silné Fe–O–P vazby na povrchu nanočástic. Tyto vazby jsou mnohem silnější než ty vytvářené pomocí karboxylových kyselin a takové částice vykazují dobrou stabilitu v čase při neutrálním pH [24]. Sahoo et al. porovnávali vlastnosti nanočástic magnetitu stabilizovaných pomocí mastných kyselin, fosfonových kyselin a alkylfosfátů. Jako mastné kyseliny byly použity kyselina olejová a kyselina laurová. Pro stabilizaci fosfonovými kyselinami byly zvoleny dodecylfosfonová a hexadecylfosfonová kyselina. Jako zástupce alkylfosfátů byl zvolen dihexadecylfosfát. Bylo zjištěno, že tyto ligandy vytvářejí kvazi dvojvrstvu na povrchu částic, kdy první vrstva je silně vázána na povrchu. Oproti částicím pokrytým kyselinou olejovou však vykazovali tyto částice nižší disperzi v roztoku [25]. Das et al. vytvořili stabilizované nanočástice použitím bifunkčního ligandu (2-aminoethyl)fosfonové kyseliny (Obr. 3). Nanočástice byly vytvořeny typickou spolusrážecí metodou. K suspenzi těchto nanočástic o pH přibližně 6 byla přidána čerstvě připravená (2-aminoethyl)fosfonová kyselina a tato suspenze byla zahřívána při 60 °C 12 hodin. Tímto postupem byly připraveny nanočástice o středním průměru 9 nm, jejichž povrch byl pokryt aminoskupinami. Nanočástice následně byly podrobeny reakcím s dalšími látkami, díky široké paletě reakcí aminoskupin [26].

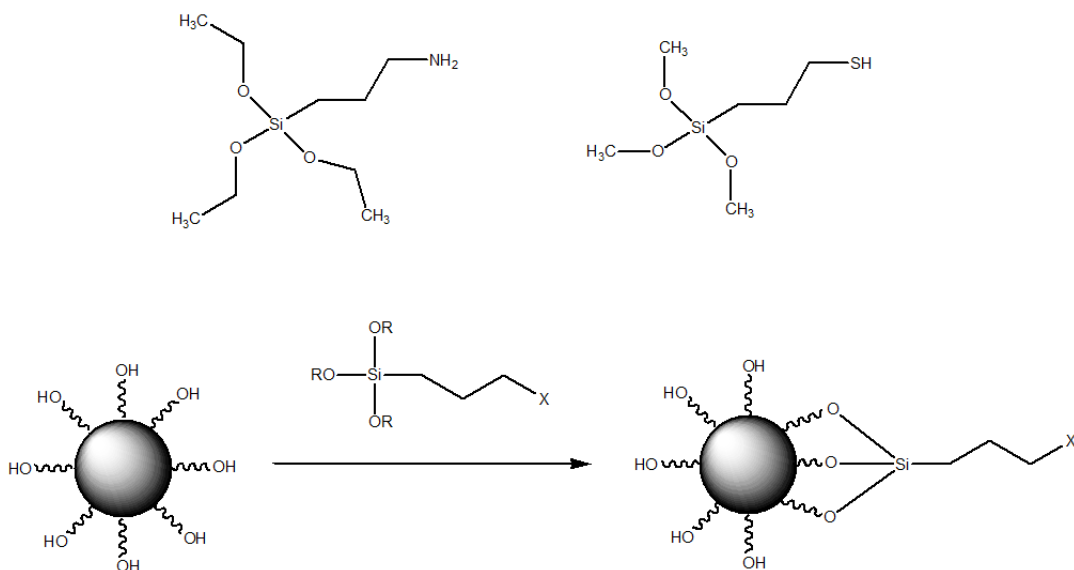


Obr. 3: (2-aminoethyl)fosfonová kyselina.

4.2.1.3 Trialkoxysilany

Hojně využívanými látkami ke stabilizaci a hlavně k získání nových funkčních skupin na povrchu nanočástic jsou deriváty trialkoxysilanu. Hydrolýzou těchto látek vznikají na povrchu nanočástic pevné vazby Fe–O–Si, které jednak stabilizují povrch nanočástic a zároveň volný konec silanu nesoucí požadovanou funkční skupinu obohacuje povrch o tyto skupiny. Výhodou použití trialkoxysilanů je, že nesnižují saturační magnetizaci [9]. Mezi nejčastěji používané trialkoxysilany patří: (3-aminopropyl)trimethoxysilan

a (3-aminopropyl)triethoxysilan (APTES) určené k zavedení aminoskupiny na povrch nanočástic a (3-sulfanylpropyl)trimethoxysilan (MPTS) k zavedení thiolové skupiny (Obr. 4). Pallavicini et al. připravili nanočástice magnetitu, jejichž povrch byl modifikován thiolovými skupinami. Jejich postup spočíval v přípravě nanočástic spolusrážecí metodou, kdy vzniklé nanočástice byly dispergovány ve směsi ethanolu a vody, přičemž pH tohoto roztoku bylo upraveno na mírně bazické a za stálého míchání byl přidán MPTS. Následně byl roztok míchán 3,5 hodiny při laboratorní teplotě. Experimentálně bylo zjištěno, že množství volných $-SH$ skupin na povrchu nanočástic lze ovlivnit přidávaným poměrem MPTS/ Fe_3O_4 . Takto modifikované nanočástice byly následně použity k reakci s methoxypolyethylenglykolmaleinimidem, nebo se zlatými nanočásticemi [27].



Obr. 4: (3-aminopropyl)triethoxysilan (vlevo) a (3-sulfanylpropyl)trimethoxysilan (vpravo). Reakce trialkoxysilanů s hydroxylovými skupinami na povrchu nanočástic (dole) [28].

4.2.1.4 Pyrokatechol

Ke stabilizaci a funkcionalizaci povrchu byl studován pyrokatechol a jeho deriváty, které vytvářejí s železitými ionty komplexy. Nejčastěji používaným derivátem pyrokatecholu je dopamin. Nevýhodou použití dopaminu je jeho možnost disociace z povrchu nanočástic při fyziologickém pH, jeho oxidace a reaktivita aminoskupin vedoucí k polymeraci. Uvedené problémy mohou být eliminovány zavedením nitroskupiny na aromatický kruh dopaminu [24].

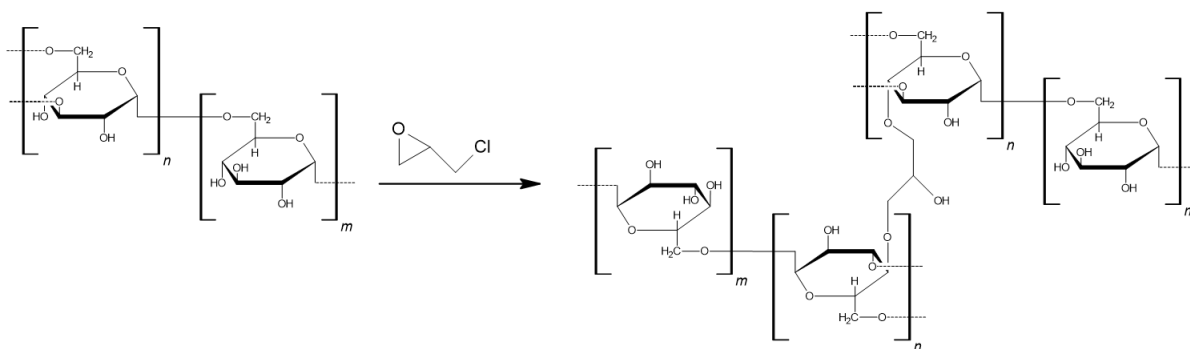
4.2.2 Polymerní látky

Byly popsány dva způsoby stabilizace magnetické nanočástic pomocí polymerních látek. Prvním způsobem probíhá *in situ*, kdy jsou nanočástice pokryty polymerem již při jejich

syntéze. Druhým ze způsobů je jejich obalení až poté, co byly syntetizovány. Mezi nejpoužívanější polymerní stabilizátory patří dextran, škrob, chitosan, polyethylenglykol (PEG), polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidin, kyselina polyakrylová, případně deriváty výše uvedených látek.

4.2.2.1 Dextran

Dextran je větvený polysacharid sestávající z glukózových jednotek spojených buď α -1,6- nebo α -1,3-glykosidickou vazbou. Na povrch magnetických nanočástic se váže pomocí hydroxylových skupin, které chelatují atomy železa, nebo pomocí vodíkových vazeb, čímž vytváří biokompatibilní obal. Jeho adsorpce se většinou provádí *in situ* při spolusrážení solí železa. Khalkhali et al. syntetizovali magnetické nanočástice obalené dextranskem spolusrážením FeCl_2 a FeCl_3 v molárním poměru 1:2 v přítomnosti 0,5% roztoku dextranskem (13–20 kDa) pomocí vodného roztoku amoniaku. Takto připravené nanočástice byly použity jako nosič pro potenciální protinádorovou látku kurkumin. Metodou DLS bylo zjištěno, že velikost stabilizovaných nanočástic je menší než těch nestabilizovaných s hodnotami 58 nm, resp. 126 nm [29]. Nevýhodou použití dextranskem je jeho slabá afinita k povrchu nanočástic, která může vést až k jeho oddělení po určitém čase. Silnější vazba k povrchu může být docílena použitím karboxymethyldextranskem, anebo ještě lépe použitím epichlorhydrinu jako síťovacího činidla, které propojí jednotlivé řetězce dextranskem (Obr. 5) [24].

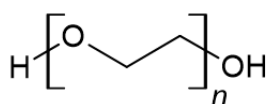


Obr. 5: Reakce dextranskem s epichlorhydrinem. Převzato z [24].

4.2.2.2 Polyethylenglykol

Polyethylenglykol (Obr. 6) je hydrofilní lineární polymer, jež vzniká polymerací oxiranu. Jeho výhodou je, že může být připraven s různou molární hmotností a tedy i s různou délkou řetězce a také na jeho konce mohou být zavedeny různé skupiny, které buď umožňují pevnější vazbu na povrch nanočástic, anebo mohou sloužit k navázání dalších látek. Další jeho nezanedbatelnou výhodou je jeho biokompatibilita. Nanočástice obalené PEG jsou zároveň minimálně zachytávány retikuloendotelovým systémem a tudíž je prodloužena doba

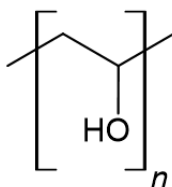
jejich cirkulace v krvi. Takto modifikované nanočástice jsou vhodné pro značení buněk po navázání specifického ligandu s výjimkou buněk retikuloendotelového systému [30]. Kohler et al. připravili magnetické nanočástice modifikované bifunkčním nízkomolekulárním PEG. Při jejich experimentu byl nejprve připraven PEG-bis(trifluorethylester) reakcí PEG dikarboxylátu s 2,2,2-trifluorethanolem. Tento ester byl následně ponechán zreagovat s APTES, čímž vznikl silanový derivát PEG. Takto modifikovaný PEG byl navázán na magnetické nanočástice (vyrobené termálním rozkladem $\text{Fe}(\text{acac})_3$) v prostředí toluenu sonifikací lázně po dobu 4 hodin při teplotě 50 °C. Trifluorethylesterová skupina sloužila jako stabilní odstupující skupina pro vytvoření amidové vazby v organickém rozpouštědle, zatímco hydrolyzou této skupiny vznikla odpovídající kyselina, která mohla tvořit amidovou vazbu ve vodném prostředí. Obě tyto možnosti byly demonstrovány navázáním kyseliny folové [11].



Obr. 6: Polyethylenglykol.

4.2.2.3 Polyvinylalkohol

Polyvinylalkohol (Obr. 7) je hydrofilní, biokompatibilní polymer sestávající z monomerních jednotek vinylalkoholu. Jia et al. připravili magnetické nanočástice spolusrážecí metodou, které následně stabilizovali pomocí polyvinylalkoholu. Takto stabilizované nanočástice poté využili jako nosič pro ω -transaminasu. Aby bylo možné připojit ω -transaminasu na nanočástice využili glutaraldehyd jako spojovací článek. Stabilizované nanočástice měly velikost 30–40 nm a zároveň pozitivně ovlivnily vlastnosti ω -transaminasy [31].

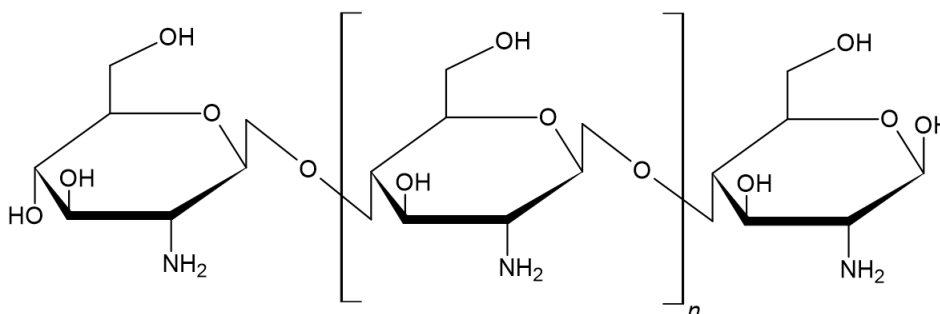


Obr. 7: Polyvinylalkohol.

4.2.2.4 Chitosan

Dalším přírodním polymerem používaným ke stabilizaci a funkcionalizaci povrchu nanočástic je chitosan (Obr. 8). Jedná se o hydrofilní, biokompatibilní polymer vyráběný

deacetylací chitinů s různým stupněm deacetylace. Jelikož chitosan obsahuje jak amino, tak i hydroxylové skupiny jedná se o užitečnou sloučeninu umožňující navázání dalších látek. Zhang et al. například využili chitosanem stabilizované magnetické nanočástice k imobilizaci lakasy (oxidasa). V jejich experimentu byly syntetizovány nanočástice spolusrážecí metodou, následně byly dispergovány v roztoku chitosanu v 1% kyselině octové a poté byl do tohoto roztoku přidán roztok tripolyfosfátu. Celý roztok byl sonifikován při laboratorní teplotě. Takto modifikované nanočástice byly aktivovány pomocí glutaraldehydu, který sloužil jako spojovací článek pro připojení lakasy. Při zkoumání vlastností imobilizované lakasy bylo zjištěno, že oproti volné lakase vykazovala imobilizovaná lakasa zlepšení v ohledu pH stability a termostability, byla stabilní i po delší dobu skladování a také vykazovala delší interval znovupoužití [32].



Obr. 8: Chitosan.

5 Značení magnetických nanočástic radionuklidy

Schopnosti reagovat na změnu magnetického pole a biokompatibilita určují magnetické nanočástice jako perspektivní látky pro uplatnění v medicíně. Samotné nanočástice mohou sloužit jako kontrastní látky při vyšetření magnetickou rezonancí (MRI). Jako kontrasty mohou nanočástice také sloužit při pozitronové emisní tomografii (PET) v případě, že na jejich povrchu je imobilizován pozitronový zářič. V případě hybridního zobrazování MRI/PET tak lze využít pouze jednu kontrastní látku na bázi SPIONs. Nanočástice označené různými radionuklidy mohou také sloužit při cílené radioterapii jako nosiče, přičemž může být využita jejich schopnost funkcionalizace povrchu specifickými cílicími látkami.

5.1 Technecium-99m

Hojně využívaným diagnostickým radionuklidem je ^{99m}Tc ($T_{1/2} = 6 \text{ h}$) deexcitující se z naprosté většiny izomerním přechodem za současné emise fotonu o energii přibližně 140 keV. Získává se elucí generátoru $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ ve formě technecistanu $^{99m}\text{TcO}_4^-$.

Madru et al. značili nanočástice Fe_3O_4 modifikované polyethylenglykolem pomocí $^{99\text{m}}\text{Tc}$. V jejich experimentu byly využity již vyrobené nanočástice suspendované ve vodě. K eluovanému roztoku technecianu byl přidán chlorid cínatý jako redukční činidlo a suspenze nanočástic. Směs byla poté inkubována 1 hodinu při laboratorní teplotě, přičemž výtěžek značení byl 99 %. Značené nanočástice vykazovaly také dobrou stabilitu po 24 hodinách jak ve vodě tak v lidském séru. Takto připravené nanočástice byly poté využity pro biodistribuční studii na kryším modelu a snímkování pomocí magnetické rezonance a jednofotonové emisní tomografie [33].

5.2 Germanium-69

Germanium-69 ($T_{1/2} = 39,05 \text{ h}$) je EZ, β^+ zářič, jehož využití se potencionálně předpokládá pro PET snímkování. Jeho výhodou je krátký poločas přeměny a snadnost jeho přípravy pomocí reakce $^{69}\text{Ga}(p,n)^{69}\text{Ge}$ na cyklotronu.

Chakravarty et al. využili afinity germania k oxidům kovů k přípravě magnetických nanočástic bez využití chelatačních činidel. Při jejich experimentu byly využity magnetické nanočástice stabilizované pomocí kyseliny polyakrylové, které poté byly inkubovány spolu s ^{69}Ge při $\text{pH} \sim 7$ a teplotě $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Výtěžek značení dosahoval po 3 hodinách více než 70 % a po 24 hodinách přibližně 90 %. Pro zvýšení stability částic *in vivo* byl dále jejich povrch pokryt pomocí PEG. Studie takto označených nanočástic na myším modelu poté ukázala potenciál jejich využití při snímkování pomocí PET a MRI [34].

5.3 Gallium-68

Dalším radionuklidem využívaným k zobrazování pomocí PET je ^{68}Ga ($T_{1/2} = 67,7 \text{ min}$). Jedná se o EZ a β^+ zářič, který se získává z $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátoru. Mateřský radionuklid je v generátoru zachycen na stacionární fázi tvořené Al_2O_3 , TiO_2 , nebo SnO_2 a dceřiný produkt ^{68}Ga je z něj vymýván pomocí kyseliny chlorovodíkové.

Hajiramezanali et al. využili magnetické nanočástice vytvořené spolusrážecí metodou, stabilizované pomocí *N,N,N*-trimethylchitosanu a dále modifikované pomocí DOTA a bombesinu k označení pomocí ^{68}Ga . DOTA sloužila jako ligand pro použité gallium, zatímco peptid bombesin sloužil jako cílicí látka pro detekci rakoviny prsu. Radiochemická čistota jimi syntetizovaných nanočástic byla vyšší než 98 % a v průběhu 2 hodin bylo uvolněno méně než 7 % ^{68}Ga z nanočástic v prostředí lidského séra. Částice poté využili ke studiu biodistribuce a jako kontrastní látku pro PET/MRI zobrazování na myších, jímž byla implantována lidská buněčná linie rakoviny prsu T-47D [35].

5.4 Rhenium-188

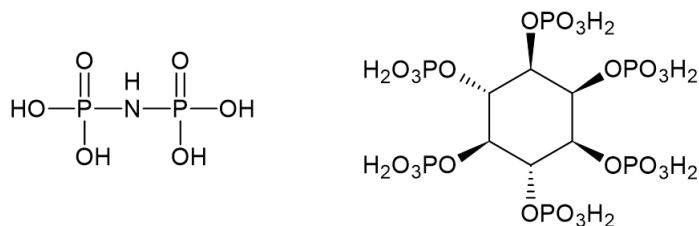
Jedním z mnoha radionuklidů, který lze využít v nukleární medicíně je i β^- zářič rhenium-188 ($T_{1/2} = 17$ hod). Tento radionuklid je získáván z $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ generátoru. Wolfram-188 ($T_{1/2} = 69,8$ d) je připravován ozařováním ^{186}W v jaderném reaktoru neutrony a v generátoru je zachycen na stacionární fázi tvořené oxidem hlinitým. K eluci ^{188}Re ve formě rhenistanu je využíván fyziologický roztok.

Cao et al. zkoumali možnosti značení nanočástic magnetitu modifikovaných různými ligandy pomocí ^{188}Re . Celkem použili dva ligandy: L-histidin a (Z)-2-methoxyimino-2-(2-aminothiazol-4-yl)octovou kyselinu. Oba tyto ligandy byly navázány na nanočástice magnetitu, jejichž povrch byl nejdříve obalen pomocí *N*-[3-(trimethoxysilyl)propyl]ethylendiaminem. V případě L-histidinu byl ještě využit k propojení glutaraldehyd. Oba druhy těchto nanočástic byly poté značeny pomocí komplexu $[\text{}^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ v prostředí 0,5 M MES. Nejlepších výsledků značení bylo dosaženo při inkubaci po dobu 40 minut při teplotě 70 °C. Zároveň vyšší účinnost značení bylo dosaženo u nanočástic modifikovaných L-histidinem a taktéž tyto nanočástice uvolňovali méně radionuklidu v hovězím séru [36].

5.5 Yttrium-90

Yttrium-90 s poločasem přeměny $T_{1/2} = 64,1$ hod je β^- zářič využívaný v nukleární medicíně jako terapeutický radionuklid pro léčbu nádorových onemocnění. Získává se z $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ generátoru, kde mateřský radionuklid ^{90}Sr je štěpným produktem uranu v jaderných reaktorech.

Radović et al. navrhli způsob značení nanočástic magnetitu pomocí ^{90}Y . V jejich experimentech byly využity jako ligandy pro ^{90}Y imidodifosfát a inositol hexafosfát (Obr. 9). Oba ligandy zároveň sloužily ke stabilizaci nanočástic v roztoku. Výtěžky značení pro oba druhy nanočástic dosahovaly více než 98 % již po jedné hodině, kdy nanočástice byly inkubovány při laboratorní teplotě za stálého míchání. Nanočástice také vykazovaly dobrou stabilitu ve fyziologickém roztoku a lidském séru i po 72 hodinách. Biodistribuční studie na krysím modelu ukázaly, že většina značených nanočástic se akumuluje v játrech, slezině a plicích. Výsledky této studie také ukázaly na potenciální využití obou druhů značených nanočástic v kombinované léčbě rakoviny pomocí hypertermie a radioterapie [37].



Obr. 9: Imidodifosfát (vlevo) a inositol hexafosfát (vpravo).

5.6 Měď-64

Měď-64 je díky svým příznivým vlastnostem vhodným radionuklidem k PET, nebo k cílené léčbě rakoviny. Díky svému poločasu přeměny $T_{1/2} = 12,7$ hod, který je mnohem delší oproti jiným radionuklidům využívaným v PET (^{68}Ga , ^{11}C , ^{18}F) je možné měď-64 využít ke sledování pomalejších fyziologických dějů. Jedná se o EZ, β^+ , β^- zářič, který je nejčastěji vyráběn na cyklotronu reakcí $^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$.

Pro posouzení výhod a nevýhod povrchového značení a značení jádra magnetických nanočástic, byly použity skupinou Zhang et al. radionuklidy ^{64}Cu a ^{59}Fe . Nanočástice značené pomocí ^{59}Fe přímo v jádře byly syntetizovány pomocí solvotermální metody částečnou náhradou neradioaktivního FeCl_3 za radioaktivní $^{59}\text{FeCl}_3$. Povrchově značené nanočástice byly vytvořeny taktéž solvotermální metodou a jejich povrch byl označen chelatací ^{64}Cu pomocí NOTA. Oba druhy značení vykazovaly vysoký výtěžek a taktéž dobrou stabilitu. Na základě jimi provedených experimentů se jako výhodnější jeví značení na povrchu, nicméně i to je nutné dále modifikovat, jelikož při *in vivo* studiích se ukázalo, že dochází k disociaci [^{64}Cu]-NOTA z povrchu nanočástic. K řešení tohoto problému byly navrženy dvě možnosti: buď obalit povrch nanočástic vrstvou křemíku, na který by se kovalentně vázala NOTA, anebo využít polymerní obal nanočástic, na který by se opět kovalentně vázala NOTA pomocí linkeru [38].

5.7 Lutecium-177

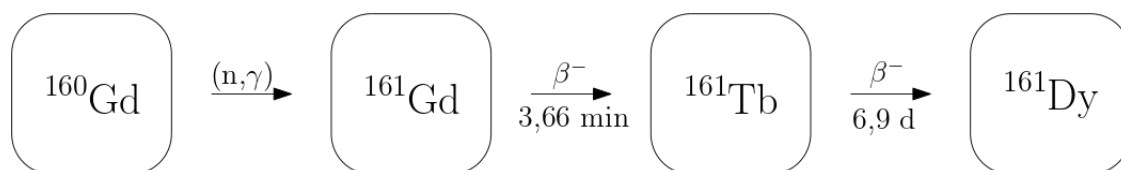
Velmi zajímavým terapeutickým radionuklidem v PRRT je lutecium-177 ($T_{1/2} = 6,65$ d). Jedná se o β^- zářič přeměňující se na stabilní hafnium-177. Kromě přeměny na základní stav ^{177}Hf , vede i přeměna ^{177}Lu na některou z excitovaných hladin ^{177}Hf , které se deexcitují gamma fotony o energiích například 113 keV a 208 keV [40]. Aktuálně je ^{177}Lu využíváno v terapii ve formě přípravku [^{177}Lu]-edotreotid, jenž je určen k léčbě neresekovatelných nebo metastázujících, progresivních a dobře diferencovatelných gastroenteropankreatických neuroendokrinních nádorů pozitivních na somatostatinový receptor, u dospělých [41].

Značení nanočástic magnetitu modifikovaných pomocí kyseliny citronové, kyseliny polyakrylové a polyethylenglykolu pomocí ^{177}Lu zkoumala skupina Ognjanović et al. Ve studii byly využity nanočástice syntetizované polyolovou metodou a stabilizované třemi zmíněnými látkami. Ke značení byla využita sorpce lutecia ve formě roztoku $^{177}\text{LuCl}_3$ v 0,04 M HCl při laboratorní teplotě. Výtěžky značení se ve všech případech pohybovaly okolo 99 %. Takto značené nanočástice navíc vykazovaly velice dobrou stabilitu jak ve fyziologickém roztoku, tak i lidském séru, kdy se uvolnilo méně než 5 % původní aktivity i po 96 hodinách. Ze studií provedených na jiných radionuklidech se ukázalo, že nanočástice modifikované polyakrylovou kyselinou mají potenciál stát se účinným teranostickým nástrojem [42].

6 Značení magnetických nanočástic terbiem-161

Terbium-161 s poločasem přeměny $T_{1/2} = 6,9\text{ d}$ je β^- zářič o jehož využití v nukleární medicíně se zatím jenom uvažuje. Tyto úvahy vycházejí z jeho podobnosti k luteciu-177, které je již využíváno k léčbě některých druhů nádorových onemocnění. Díky chemické podobnosti vytvářejí oba radionuklidy komplexní sloučeniny se stejnými koordinačními skupinami. Oproti ^{177}Lu má však ^{161}Tb několik výhod. Terbium emituje několik fotonů o energii 75 keV, které mohou být zachycovány při snímkování pomocí gama kamery. Dále při přeměně β^- terbium emituje v průměru více konverzních a Augerových elektronů, které dokáží předat více energie na krátké vzdálenosti. Nakonec, terbium emituje více elektronů v poměru k fotonům než lutecium [39].

Radionuklid je produkován ozařováním terče obsahující ^{160}Gd v jaderném reaktoru. V případě syntézy v malém měřítku lze použít jako terčový materiál $^{160}\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$. Pro větší měřítko je vhodnější jako terčový materiál použít $^{160}\text{Gd}_2\text{O}_3$, kvůli hygroskopické povaze $^{160}\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$. V jaderném reaktoru dochází k reakci $^{160}\text{Gd}(n,\gamma)^{161}\text{Gd}$. Vznikající ^{161}Gd ($T_{1/2} = 3,66\text{ min}$) se poté přeměňuje na požadované ^{161}Tb (Obr. 10). Terbium je poté z terčového materiálu separováno iontovou výměnou na chromatografické koloně [43].



Obr. 10: Schéma vzniku a přeměny ^{161}Tb .

V současné době nejsou žádné publikace, které by se zabývaly značením magnetických nanočástic pomocí ^{161}Tb . Oproti tomu existují publikace, které se zabývají navázáním jediného přírodního stabilního izotopu ^{159}Tb na magnetické nanočástice, nejčastěji kvůli využití luminiscenčních vlastností terbia. Nicméně tyto studie mohou sloužit jako vodítka pro navázání nestabilního ^{161}Tb na nanočástice. Nejčastěji je využíváno dvou způsobů modifikace nanočástic pomocí terbia: inkorporace iontů terbia do krystalové mřížky nanočástic a chelatace terbia na povrchu nanočástic.

Pro doping krystalové mřížky magnetitu lze využít prosté spolusrážecí syntézy, kdy část železitých iontů je nahrazena ekvivalentním množstvím terbitých iontů. Ve studii Rekorajska et al. byl zkoumán vliv přídavku Tb^{3+} a Gd^{3+} v koncentraci 0 at.% – 15 at.% na výsledné vlastnosti syntetizovaných nanočástic magnetitu pomocí spolusrážecí metody. Výsledkem výzkumu bylo, že obsah Tb^{3+} a Gd^{3+} až do koncentrace 2,5 at.% nijak zásadně neovlivnil krystalografickou strukturu magnetitu. Zároveň saturační magnetizace těchto nanočástic se snížila přibližně jenom o 20 % oproti nanočásticím bez přidaného lanthanoidu [44]. S využitím tohoto postupu se naskýtají dvě možnosti jak označit nanočástice pomocí ^{161}Tb . Za prvé buď stabilní terbium vyměnit za izotop ^{161}Tb již na

začátku syntézy, nebo nanočástice syntetizovat s přidavkem ^{160}Gd a poté nanočástice ozařovat v jaderném reaktoru. Tento způsob by ale měl řadu negativ, neboť by došlo jenom k částečné přeměně ^{160}Gd na ^{161}Tb a takovéto nanočástice by bylo prakticky nemožné od sebe separovat. Dále k získání ^{161}Tb se používá gadolinium obohacené o izotop ^{160}Gd , takže by docházelo i k bočním reakcím, které v tomto případě nejsou žádoucí ve smyslu radiochemické čistoty.

Druhým způsobem jak modifikovat nanočástice pomocí terbia je jeho chelatace na povrchu nanočástic. Tímto způsobem se získávají multifunkční nanočástice, které vykazují superparamagnetismus, díky svému magnetickému jádru a také luminiscenční vlastnosti, díky atomu terbia. Jedním z možných ligandů pro terbium jsou deriváty imidazolu. Například 1-vinylimidazol byl využit ve studii Círcu et al. ke komplexaci terbia na povrchu nanočástic magnetitu a studiu vlivu takto modifikovaných nanočástic na hovězí sérový albumin. Nanočástice byly připraveny spolusrážecí metodou a následně byly obaleny křemíkem pomocí hydrolyzy TEOS. Na tyto nanočástice byl poté navázán (3-sulfanylpropyl)triethoxysilan, na jehož $-\text{SH}$ skupiny v dalším kroku byl připojen 1-vinylimidazol. Konečným přidavkem některé soli kovu vzácných zemin (včetně terbia) bylo docíleno výsledné komplexace kovu na tyto nanočástice. Při studiu interakce nanočástic s hovězím sérovým albuminem bylo zjištěno, že tyto nanočástice vykazují schopnost indukovat částečnou konverzi β struktur bílkovin na α struktury [45].

Jiný přístup syntézy luminiscenčních magnetických nanočástic využili Ma et al. Stejně jako předchozí autoři využili spolusrážecí metodu k syntéze nemodifikovaných nanočástic magnetitu. Tyto nanočástice byly stabilizovány pomocí kyseliny citronové a následně byly ještě obaleny křemíkem hydrolyzou TEOS. Na tento křemíkový obal byla následně připojena molekula, která sestávala z APTES, DTPA a *p*-aminobenzoové kyseliny. APTES plnil funkci linkeru, DTPA zase sloužila jako ligand pro Tb^{3+} a *p*-aminobenzoová kyselina fungovala jako absorpční centrum pro dopadající světelné záření, jehož energie byla na *p*-aminobenzoové kyselině zachytávána a předávána terbiu, které se tak excitovalo. Magnetické nanočástice s takto navázaným terbiem pak vykazovali jak superparamagnetické, tak i luminiscenční vlastnosti [46].

7 Experimentální část

7.1 Použité chemikálie

K syntéze nanočástic magnetitu byly použity následující chemikálie: hexahydrát chloridu železitého - $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, p.a. (VWR Chemicals), heptahydrát síranu železnatého - $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, p.a., monohydrát kyseliny citronové, p.a., 25% vodný roztok amoniaku, p.a. (Lach-Ner), polyethylenglykol 1500 (Lachema N.P. Brno), hydrazin monohydrát 78–82% (Sigma-Aldrich), F-HPMA byl připraven na ústavu makromolekulární chemie AV ČR RNDr. Ondřejem Sedláčkem, Ph.D. a Mgr. Martinem Hrubým, Ph.D., DSc.

^{68}Ga bylo eluováno z $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátoru pomocí 0,1 M HCl (Eckert & Ziegler, aktivita 1,53 GBq ke dni 20.2.2019). Zásobní roztok $^{161}\text{TbCl}_3$ byl připraven na katedře jaderné chemie fakulty jaderné a fyzikálně inženýrské Českého vysokého učení technického v Praze doc. RNDr. Jánem Kozempelem, Ph.D., Ing. Marií Skálovou a Ing. Martinem Paluškem. Roztok $^{177}\text{LuCl}_3$ pocházel od ITM Medical Isotopes GmbH. Stabilitní studie značení byly prováděny ve fyziologickém roztoku (Fresenius Kabi), hovězí krevní plasmě, hovězím krevním séru a hovězím krevním albuminu (Biowest).

7.2 Použité přístroje

XRPD analýza probíhala na přístroji Rigaku MiniFlex 600 s měděnou rentgenkou (40 kV, 15 mA) v geometrii θ - 2θ v kontinuálním režimu a rozsahu 10 – $80^\circ 2\theta$ na skleněné destičce. Ke zpracování difraktogramů byl použit program PDXL 2 a k identifikaci obsažených fází ve vzorku byla využita databáze ICDD PDF-2. ζ -potenciál a hydrodynamický průměr částic byl stanovován na přístroji Nano-ZS model ZEN 3600. Infračervená spektra byla získána pomocí FT-IR spektrometru Nicolet iS50 ve střední infračervené oblasti. Rozsah vlnočtů byl 400 – 4000 cm^{-1} s rozlišením 2 cm^{-1} . K měření byla využita transmisní technika v matici NaCl. Spektra byla zpracována v programu OMNIC 9. Termogravimetrická analýza byla provedena na přístroji Labsys Evo (Setaram) s TG/DTA adaptérem určeným do 1200°C s vysokou citlivostí. Měření probíhalo vůči prázdnému korundovému kelímku jako referenčnímu standardu. Ultračistá voda ($18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ při 25°C) byla získávána z přístroje Direct-Q (Merck Milipore). Syntéza pomocí mikrovlnného záření probíhala v mikrovlnném reaktoru Anton Paar Monowave 200. Aktivita byla měřena na ionizační komoře Curiementor 3 od firmy PTW. Pro analýzu značení nanočástic ^{68}Ga byly využity jako stacionární fáze ITLC-SG desky (Agilent Technologies) a jako mobilní fáze byl použit 0,1 M roztok citronanu sodného. Vyhodnocení TLC desek bylo provedeno pomocí elektronické autoradiografie pomocí přístroje Bioscan AR-2000 Imaging Scanner (Canberra Packard).

7.3 Syntéza nanočástic $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$

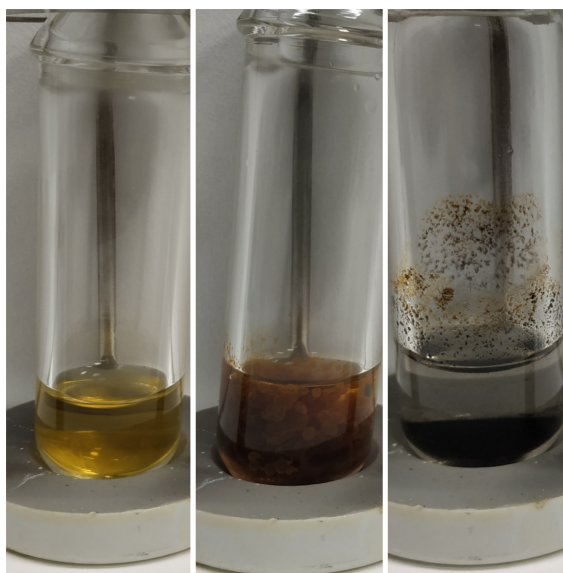
Syntéza stabilizovaných nanočástic byla provedena spolusrážecí metodou v zásaditém prostředí podle [47]. Postup syntézy byl následující: 4,34 g (16 mmol) chloridu železitého - $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ a 2,26 g (8 mmol) heptahydrátu síranu železnatého - $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ bylo rozpuštěno v 80 ml ultračisté vody v 250ml kulaté baňce. Reakční směs byla zahřívána na olejové lázni na teplotu 70 °C za intenzivního míchání magnetickým míchadlem a současného probublávání dusíkem po dobu 30 minut. Následně bylo přidáno najednou 20 ml 25% vodného roztoku amoniaku, čímž došlo k barevné změně reakční směsi z oranžové na černou. Reakční směs byla dále zahřívána 30 minut a poté k ní byly přidány 4 ml roztoku monohydrátu kyseliny citronové o koncentraci 0,5 g/ml (10 mmol). Směs byla zahřívána na 90 °C po dobu 60 minut. Po této době byla reakční směs vyjmuta z lázně a byla ponechána zchladnout na laboratorní teplotu. Nanočástice byly separovány centrifugací a promyty třikrát 20 ml ultračisté vody. Po posledním promytí byly nanočástice suspendovány v ultračisté vodě na přibližnou koncentraci 6 mg/ml. Vzorek byl označen SP_C.

7.4 Syntéza nanočástic $\text{Fe}_3\text{O}_4@PEG-1500$ a $\text{Fe}_3\text{O}_4@F-HPMA$

Nanočástice magnetitu stabilizované PEG-1500 a F-HPMA byly připraveny ve dvou krocích. Nejprve byly syntetizovány neobalené částice podle postupu uvedeného ve studii Wang et al. [48]. Následně byly nanočástice stabilizovány příslušným polymerem o různých koncentracích. Postup syntézy byl následující: do 30ml reakční vialky bylo naváženo 81 mg (0,5 mmol) $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ a tato navážka byla rozpuštěna v 5 ml ultračisté vody. Poté byl přidán 1 ml hydrazin monohydrátu. Ihned došlo k vytvoření hnědo-červené sraženiny (viz Obr. 11). Vialka byla zavíčkovaná a umístěna do mikrovlnného reaktoru. Program zahřívání byl nastaven tak, aby byla reakční směs co nejrychleji zahřána na 100 °C, na této teplotě udržována 10 minut a následně ochlazená na teplotu 30 °C. Vzniklá černá usazena byla odpipetována a promyta 4 krát ultračistou vodou do neutrálního pH. Následně byly nanočástice dispergovány ve 2 ml ultračisté vody. Pro stabilizaci byly vždy použity 2 ml připravené suspenze nanočástic, do které byl přidán 1 ml roztoku stabilizátoru o určité koncentraci. Jednotlivé navážky stabilizátoru pro přípravu roztoku jsou uvedeny v Tab. 1. Následně byla reakční směs promíchána a ponechána 60 minut v ultrazvukové lázni. Nanočástice byly poté separovány neodymovým magnetem a promyty 3 krát 3 ml ultračisté vody. Stabilizované nanočástice byly nakonec dispergovány ve 3 ml ultračisté vody na přibližnou koncentraci 7 mg/ml.

Tab. 1: Navážky m stabilizátoru pro přípravu 1 ml roztoku použitého ke stabilizaci částic.

PEG-1500		F-HPMA	
Vzorek	m [mg]	Vzorek	m [mg]
SP_P90	90	SP_H15	15
SP_P45	45	SP_H7	7,5
SP_P22	22,5	SP_H3	3,7



Obr. 11: Příprava nanočástic magnetitu pomocí mikrovlnného záření. Vlevo roztok FeCl_3 , uprostřed vznik sraženiny po přidání roztoku hydrazinu, vpravo suspenze po zahřátí v mikrovlnném reaktoru s černou sraženinou magnetitu.

7.5 Značení $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$ povrchovou sorpcí ^{68}Ga

Pro ověření schopnosti sorpce radionuklidů byla provedena orientační zkouška značení vzorku SP_C pomocí ^{68}Ga . Zásobní roztok $^{68}\text{GaCl}_3$ byl získán elucí $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátoru pomocí 3 ml 0,1 M kyseliny chlorovodíkové. K 500 μl zásobního roztoku SP_C v 15ml centrifugační zkumavce byly přidány 2 ml 0,1 M TRIS pufru. Orientačně změřené pH roztoku bylo 9. Poté byl do roztoku přidán 1 ml zásobního roztoku $^{68}\text{GaCl}_3$ o aktivitě 4,62 MBq. Vzniklý roztok měl pH orientačně 8. Roztok nanočástic byl následně ponechán míchat na orbitální třepače 30 minut při laboratorní teplotě. Ověření adsorpce ^{68}Ga na povrch nanočástic bylo provedeno pomocí ITLC-SG desek vyvíjených vzestupně v 0,1 M roztoku citronanu sodného. Desky byly vyhodnoceny pomocí autoradiografie.

7.6 Značení $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$ povrchovou sorpcí ^{161}Tb

Nanočástice byly značeny v pěti sériích z důvodu pozdějšího studia stability značení v biologických maticích. Do každé 5ml scintilační vialky bylo odpipetováno 500 μl zásobního

roztoku SP_C (~ 3 mg), 2 ml 0,1 M TRIS pufru a 1 ml roztoku $^{161}\text{TbCl}_3$ v 0,1 M roztoku HCl (50,0–54,4 MBq). Roztok byl míchán a následně ponechán inkubovat při laboratorní teplotě na orbitální třepače v šikmé poloze 30 minut. Po inkubaci byla změřena aktivita nanočástic a poté byly separovány od supernatantu neodýmovým magnetem, supernatant byl odpipetován a byla změřena jeho aktivita. Nanočástice byly následně 2 krát promyty 3,5 ml fyziologického roztoku. K nanočásticím bylo přidáno 3,5 ml fyziologického roztoku a byly suspendovány. Následně byly separovány magnetem, supernatant byl odpipetován a byla změřena jeho aktivita. Po promytí byly nanočástice v každé vialce rozdispergovány v 600 μl fyziologického roztoku a obsah každé vialky byl po 200 μl rozdělen do tří 1,5ml Eppendorfových zkumavek. Obsah každé zkumavky byl doplněn na 1 ml příslušnou biologickou maticí.

7.7 Značení $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$ povrchovou sorpcí ^{177}Lu

Pro značení nanočástic byl použit komerční roztok $^{177}\text{LuCl}_3$. Z vialky bylo odebráno 200 μl zásobního roztoku a ten byl naředěn na 5 ml v 0,1 M HCl. Nanočástice byly značeny v pěti sériích pro následné stabilitní studie. Do 5ml scintilačních vialek bylo odpipetováno 500 μl zásobního roztoku SP_C (~ 3 mg), 2 ml 0,1 M TRIS pufru a 1 ml roztoku $^{177}\text{LuCl}_3$ v 0,1 M roztoku HCl (56,0 MBq - 64,7 MBq). Roztoky byly míchány a následně ponechány inkubovat při laboratorní teplotě 30 minut na orbitální třepače v šikmé poloze. Po inkubaci byla změřena aktivita roztoků a nanočástice byly separovány neodýmovým magnetem. Supernatanty byly odpipetovány a nanočástice byly promyty 2 krát 3,5 ml fyziologického roztoku. Aktivity jednotlivých supernatantů byly změřeny. Po promytí byly nanočástice suspendovány v 600 μl fyziologického roztoku a obsah každé scintilační vialky byl po 200 μl rozpipetován do tří 1,5ml Eppendorfových zkumavek. Obsah každé zkumavky byl doplněn na 1 ml příslušnou biologickou maticí pro studium stability značení.

7.8 Stabilitní studie označených nanočástic $\text{Fe}_3\text{O}_4@H_3\text{Cit}$

Označené nanočástice byly nadále využity pro sledování uvolňování aktivity v různých biologických maticích. Byly použity následující matrice: fyziologický roztok, hovězí sérum, hovězí plasma, hovězí albumin v koncentraci 1 % a 5 % (w/w). Při experimentu byly nanočástice ponechány třepat na orbitální třepače při laboratorní teplotě a v daných časových intervalech byla změřena aktivita suspenze a následně byly nanočástice separovány neodýmovým magnetem, matrice byla odpipetována a nanočástice byly opět dispergovány v příslušné maticí. Následně byla stanovena aktivita uvolněná do matrice. Stanovení aktivity probíhalo 1; 2; 4; 8; 24 a 48 hodin po označení a poté 0,5; 0,75 a 1 násobek poločasu daného radionuklidu.

8 Výsledky a diskuse

8.1 XRPD analýza

Kvalitativní analýza připravených nanočástic byla provedena pomocí stanovení pozice píků na získaných difraktogramech. Jednotlivé difraktogramy byly analyzovány v programu PDXL 2. Zjištěné pozice píků byly poté porovnávány s databází ICDD PDF-2. K odhadu velikosti krystalitů byl využit Halder-Wagnerův model pro rozšíření difrakčních linií β . Rozšíření linií je způsobeno jednak vlivem instrumentace, tak vlivem velikosti krystalitů a mikrostrukturálním napětím. Rozšíření pocházející od instrumentace bylo odečteno parabolickou aproximací ze změřených pološířek (FWHM) difrakčních píků vzorku částečně stavené keramiky s minimálním rozšířením difrakčních linií. Následně bylo rozšíření zbavené vlivu instrumentace rozloženo pomocí parabolické aproximace na Lorentzovskou složku β_{size} pocházející od velikosti krystalitů a Gaussovskou složku β_{strain} pocházející od mikrostrukturálního napětí následovně:

$$\beta^2 = \beta_{size} \cdot \beta + \beta_{strain}^2. \quad (2)$$

Pro rozšíření způsobené vlivem velikosti krystalitů platí Scherrerova rovnice:

$$\beta_{size} = \frac{K \cdot \lambda}{l \cdot \cos \theta} [\text{rad}], \quad (3)$$

kde K je Scherrerova konstanta, λ je vlnová délka použitého rentgenové záření ($\lambda = 0,154059$ nm), θ je difrakční úhel a l [nm] je velikost krystalitů. Rozšíření β_{strain} způsobené mikrostrukturálním napětím je zavedeno jako:

$$\beta_{strain} = \varepsilon \cdot \tan \theta, \quad (4)$$

kde ε je mikrostrukturální napětí. Dosazením vztahů (3) a (4) do rovnice (2) a následnou úpravou byl získán vztah charakterizující rozšíření difrakčních linií v důsledku velikosti krystalitů a mikrostrukturálního napětí:

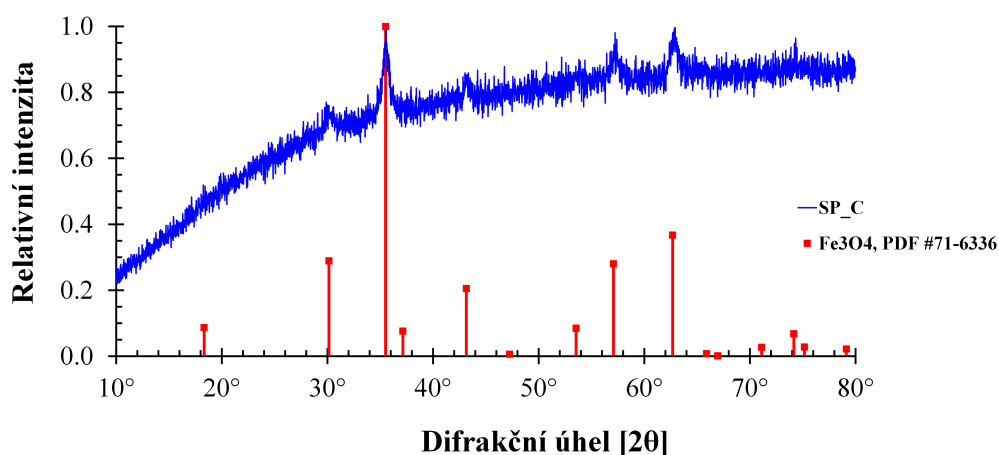
$$\frac{\beta^2}{\tan^2 \theta} = \frac{K \cdot \lambda}{l} \cdot \frac{\beta}{\tan \theta \cdot \sin \theta} + \varepsilon^2. \quad (5)$$

Vynesením závislosti $\beta^2 / \tan^2 \theta$ na $\beta / (\tan \theta \cdot \sin \theta)$ byla získána lineární závislost, jejíž proložením váženou lineární regresí byla získána velikost krystalitů l [49]. Pro vzorky magnetitu byla pro jednotlivé difraktogramy v programu PDXL 2 odečtena hodnota šířky difrakčních píků v polovině jejich výšky FWHM. Hodnota Scherrerovy konstanty byla zvolena $K = 0,8290$. Na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ tak byly obdrženy velikosti krystalitů uvedené v Tab. 2. Koeficienty rozšíření pro stanovení intervalu spolehlivosti na dané hladině významnosti byly určeny pomocí Studentova rozdělení. Difraktogramy připravených vzorků SP_C, SP_P a SP_H jsou uvedeny na Obr. 12-14. Porovnáním poloh difrakčních

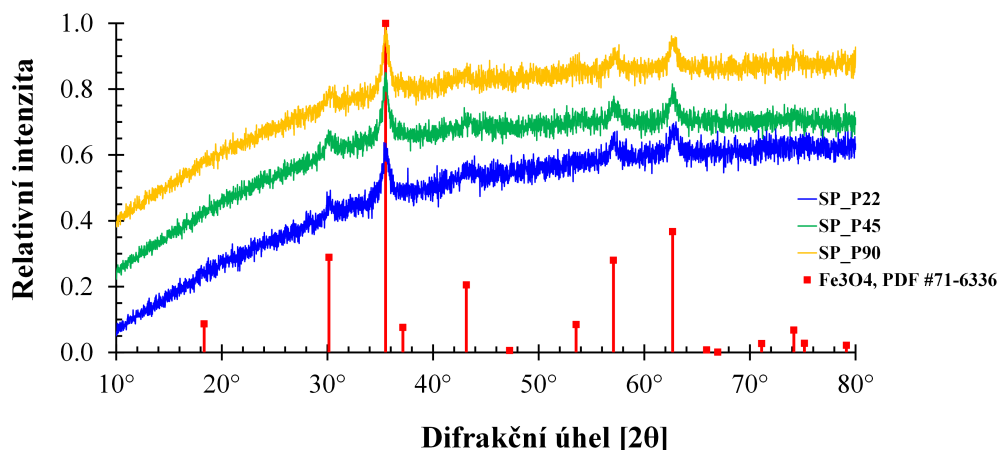
Tab. 2: Velikost krystalitů d_k vypočtené pomocí Halder-Wagnerova modelu z rozšíření difrakčních linií.

Vzorek	d_k [nm]
SP_C	$10,4 \pm 4,3$
SP_P90	$11,2 \pm 6,1$
SP_P45	$12,2 \pm 7,3$
SP_P22	$9,4 \pm 6,0$
SP_H15	$11,7 \pm 2,8$
SP_H7	$11,0 \pm 3,8$
SP_H3	$9,1 \pm 5,7$

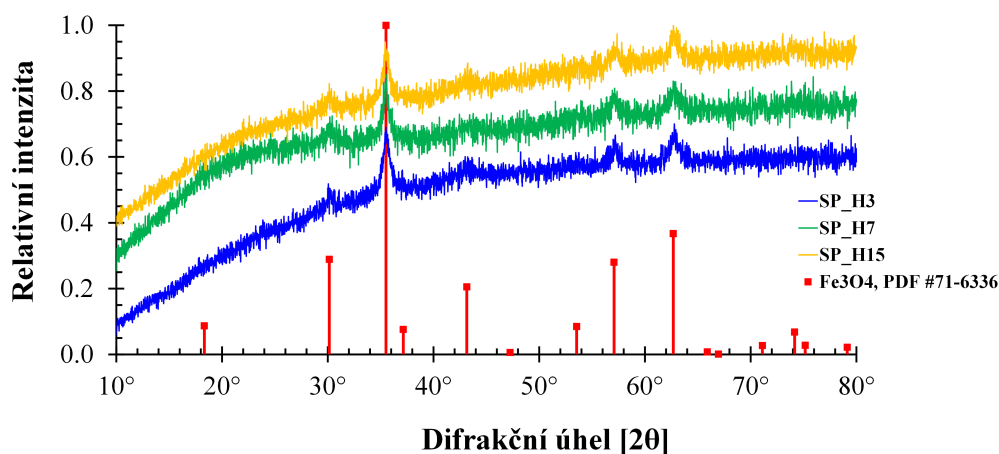
píků s databází ICCD PDF-2 bylo potvrzeno vytvoření magnetitové fáze ve všech vzorcích. U všech vzorků bylo také možno pozorovat vysoké pozadí, které bylo způsobeno fluorescencí v důsledku absorpce fotonového záření místo jeho rozptylu na atomech krystalové mřížky. Důvodem takto vysoké fluorescence bylo použití měděné rentgenky, jejíž charakteristické záření K_α bylo využito k analýze. Energie tohoto záření je v případě atomů železa vhodná k jejich excitaci. Snížení pozadí by bylo možné dosáhnout za využití chromové, nebo kobaltové rentgenky. Z Tab. 2 je patrné, že nejmenší střední velikost krystalitů v závislosti na použitém stabilizátoru vykazují vzorky SP_C, SP_P22 a SP_H3. Z hlediska využití nanočástic v medicíně nicméně větší roli hraje hydrodynamický průměr částic, který uvažuje velikost nanočástic společně s jejich solvátovým obalem.



Obr. 12: Difraktogram vzorku SP_C.



Obr. 13: Difraktogramy vzorků SP_P.



Obr. 14: Difraktogramy vzorků SP_H.

8.2 DLS analýza

Připravené vzorky nanočástic magnetitu byly analyzovány pomocí DLS. Získané střední hodnoty hydrodynamických průměrů stabilizovaných nanočástic jsou uvedeny v Tab. 3, ze které vyplývá, že nejmenší střední hydrodynamický průměr měly nanočástice stabilizované kyselinou citronovou. V případě nanočástic stabilizovaných PEG-1500 nejmenšího průměru dosahoval vzorek SP_P45 a v případě nanočástic stabilizovaných F-HPMA vzorek SP_H15. Podstatný rozdíl ve velikosti mezi vzorkem stabilizovaným kyselinou citronovou a vzorky stabilizovanými PEG-1500 a F-HPMA byl pravděpodobně způsoben provedení syntézy. Zatímco vzorek SP_C byl stabilizován přímo v reakční směsi, tak vzorky PEG-1500 a F-HPMA byly stabilizované až po syntéze nanočástic magnetitu. Tento způsob syntézy způsobil, že nanočástice měly mnohem více času k agregaci, což vyústilo ve zvýšenou hodnotu naměřeného hydrodynamického průměru. Vliv také mělo promývání syntetizovaných neobalených nanočástic, při kterém nedošlo pokaždé k úplné separaci nanočástic

od promývacího roztoku, čímž byla ztracena část nanočástic s menšími průměry.

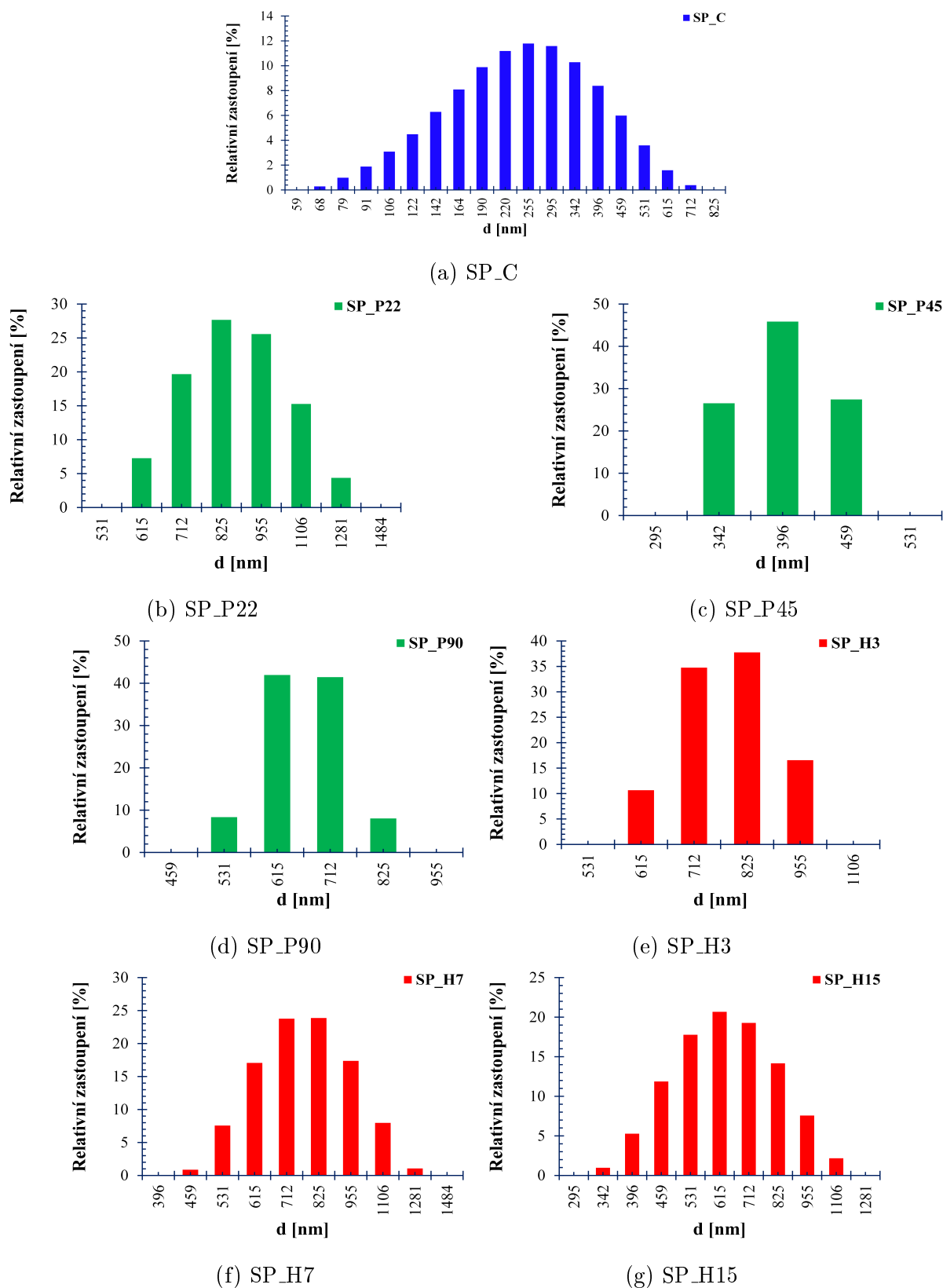
Tab. 3: Střední hydrodynamické průměry d stabilizovaných nanočástic stanovené metodou DLS a ζ -potenciály připravených roztoků nanočástic.

Vzorek	d [nm]	ζ [mV]
SP_C	269,1	-40,7
SP_P90	665,4	-32,2
SP_P45	398,9	-25,5
SP_P22	884,0	-34,2
SP_H15	652,3	-29,5
SP_H7	786,7	-31,7
SP_H3	785,0	-42,5

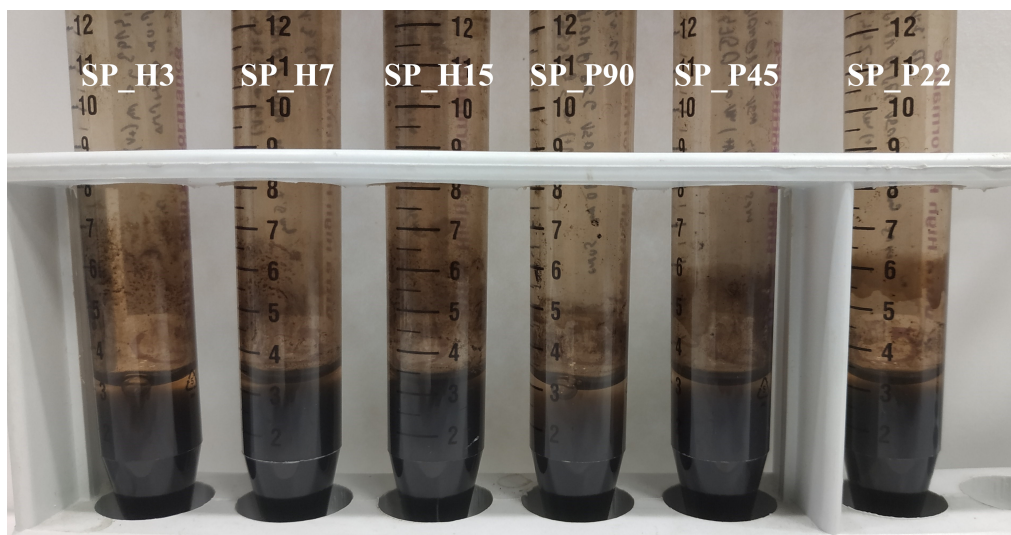
Kromě průměrných hodnot hydrodynamických průměrů byla pro každý vzorek také stanovena distribuce velikostí z naměřených intenzit signálů, jež jsou uvedené na Obr. 15. Z těchto distribucí je patrné, že vzorek SP_C sice vykazoval nejmenší střední hydrodynamický průměr z připravených vzorků, nicméně jeho distribuce je značně široká. Toto je běžná vlastnost nanočástic připravených pomocí spolusrážecí metody. Vzorky stabilizované PEG-1500 již vykazovaly užší distribuci, nicméně jejich střední velikost byla podstatně vyšší než v případě vzorku SP_C. Ze všech tří vzorků měl nejužší distribuci a zároveň nejmenší střední velikost vzorek SP_P45. Nejhůře dopadl vzorek SP_P22. Vzorky stabilizované pomocí F-HPMA také vykazovaly mnohem širší distribuci velikostí než vzorky stabilizované PEG-1500. Nejužší distribuci ze sady vykazoval vzorek SP_H3, nicméně jeho střední velikost byla srovnatelná se vzorkem SP_H7. Vzorky SP_H7 a SP_H15 vykazovaly podobný rozsah intervalu velikostí, avšak vzorek SP_H15 byl posunut k nižším velikostem oproti vzorku SP_H7. Ve všech těchto případech, kdy byla získána široká distribuce velikostí by bylo možné využít ultrafiltraci k zúžení této distribuce a odstranění příliš velkých agregátů.

Informaci o koloidní stabilitě nanočástic udávají hodnoty ζ -potenciálu uvedené v Tab. 3. Jako stabilní koloidní systémy jsou považovány takové, jež mají ζ -potenciál větší než 30 mV, nebo menší než -30 mV. Tuto podmínku nesplňovaly vzorky SP_P45 a SP_H15. Nízký ζ -potenciál vzorku SP_C byl způsoben přítomností kyseliny citronové na povrchu částic, která má minimálně jednu karboxylovou skupinu orientovanou do okolního prostředí [8].

Vzorek SP_C obecně vykazoval velice dobrou stabilitu v průběhu času. V průběhu 3 měsíců nebyla pozorována žádná sedimentace. V případě ostatních vzorků docházelo k rychlé sedimentaci, přestože jejich ζ -potenciál byl menší než -30 mV. To bylo pravděpodobně v důsledku mnohem větší velikosti částic, než jakou vykazovaly částice vzorku SP_C. Částečnou sedimentaci syntetizovaných vzorků SP_P a SP_H je možné pozorovat na Obr. 16.



Obr. 15: Distribuce velikostí d stabilizovaných nanočástic magnetitu získané pomocí metody DLS.

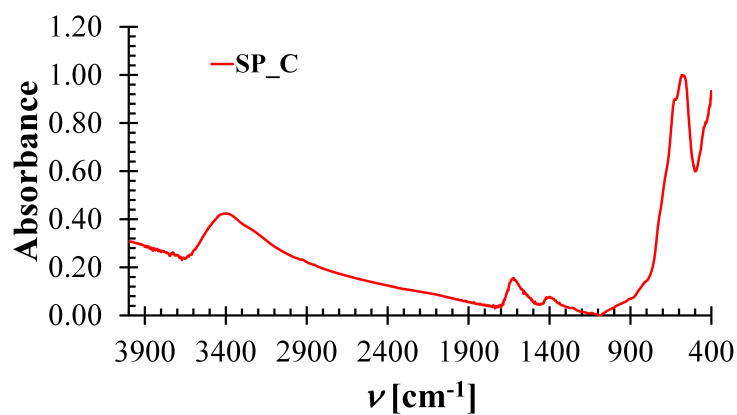


Obr. 16: Sedimentace vzorků SP_H a SP_P po 2 dnech od syntézy.

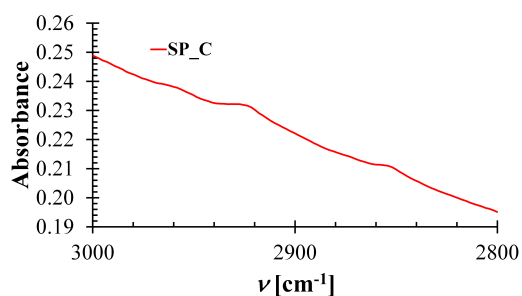
8.3 FT-IR analýza

Vytvoření obalu nanočástic bylo rovněž potvrzeno pomocí infračervené spektrometrie transmisí metodou v matrici NaCl. Pro vzorek SP_C bylo získáno spektrum uvedené na Obr. 17. V tomto spektru byly identifikovány valenční vibrační pásy v oblasti 3396 cm^{-1} náležící skupině $-\text{OH}$, dále pak pás deformačních vibrací v oblasti 1622 cm^{-1} taktéž náležící skupině $-\text{OH}$. Slabě intenzivní pás v oblasti 2924 cm^{-1} byly přiřazeny asymetrickým valenčním vibracím skupiny CH_2 , které rovněž náleží pás 2853 cm^{-1} odpovídající valenčním symetrickým vibracím. Pás v oblasti 1402 cm^{-1} odpovídal deformačním vibracím skupiny CH_2 sousedící s karbonylovou skupinou $\text{C}=\text{O}$. Pás 1256 cm^{-1} odpovídal valenčním vibracím vazby $\text{C}-\text{O}$. Valenčním vibracím vazby $\text{C}-\text{O}$ pocházející od skupiny terciárního alkoholu $\text{R}_3\text{C}-\text{OH}$ byl přiřazen pás 1142 cm^{-1} . Široké intenzivní pásy v oblasti 581 cm^{-1} odpovídaly vibracím vazeb $\text{Fe}-\text{O}$.

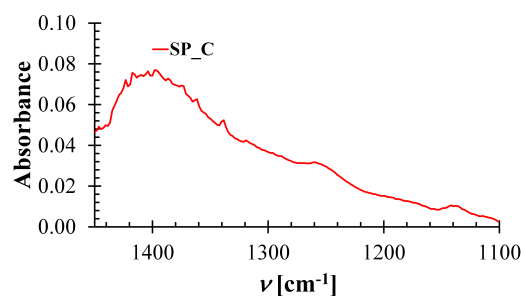
Pro nanočástice stabilizované F-HPMA byl vybrán k analýze vzorek SP_H15, jehož IR spektrum je uvedeno na Obr. 18. Pás v oblasti 3507 cm^{-1} byl přiřazen valenčním vibracím skupiny NH , k němuž byl určen komplementární pás deformačních vibrací v oblasti 1539 cm^{-1} . Valenčním vibracím $-\text{OH}$ skupiny byl přiřazen široký pás 3425 cm^{-1} . Této skupině byl přiřazen další charakteristický pás v oblasti 1629 cm^{-1} odpovídající deformačním vibracím. Taktéž byl pozorován pás 2971 cm^{-1} odpovídající valenčním asymetrickým vibracím skupiny CH_2 a pás valenčních vibrací téže skupiny v oblasti 2928 cm^{-1} . Této skupině také náležel pás 1453 cm^{-1} odpovídající deformačním vibracím. Skupině CH_3 byly přiřazeny pásy 2849 cm^{-1} odpovídající valenčním symetrickým vibracím a 1379 cm^{-1} odpovídající deformačním deštníčkovým vibracím. Pás 1200 cm^{-1} byl přiřazen valenčním vibracím $\text{C}-\text{O}$. Široké intenzivní pásy v oblasti 582 cm^{-1} byly opět přiřazeny vibracím vazeb $\text{Fe}-\text{O}$.



(a) Celkové spektrum.

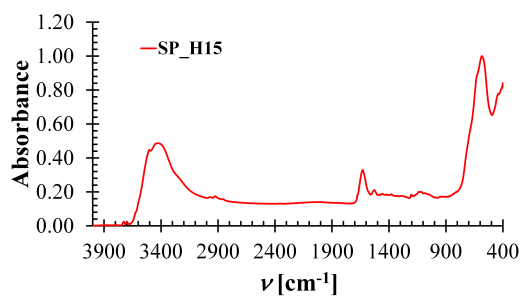


(b) Detail oblasti 3000–2800 cm^{-1} .

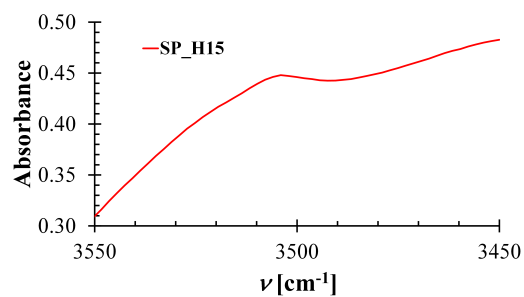


(c) Detail oblasti 1450–1100 cm^{-1} .

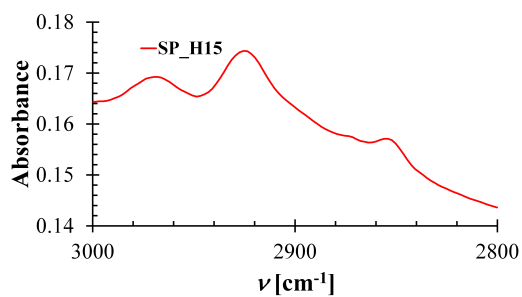
Obr. 17: IR spektrum nanočástic magnetitu stabilizovaných kyselinou citronovou.



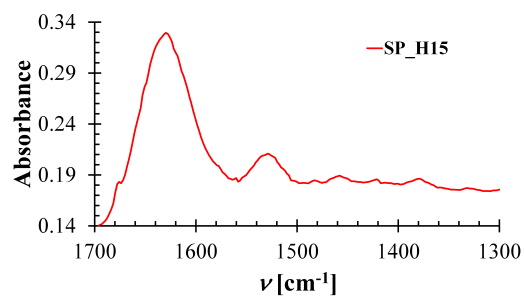
(a) Celkové spektrum



(b) Detail oblasti 3550–3450 cm^{-1} .



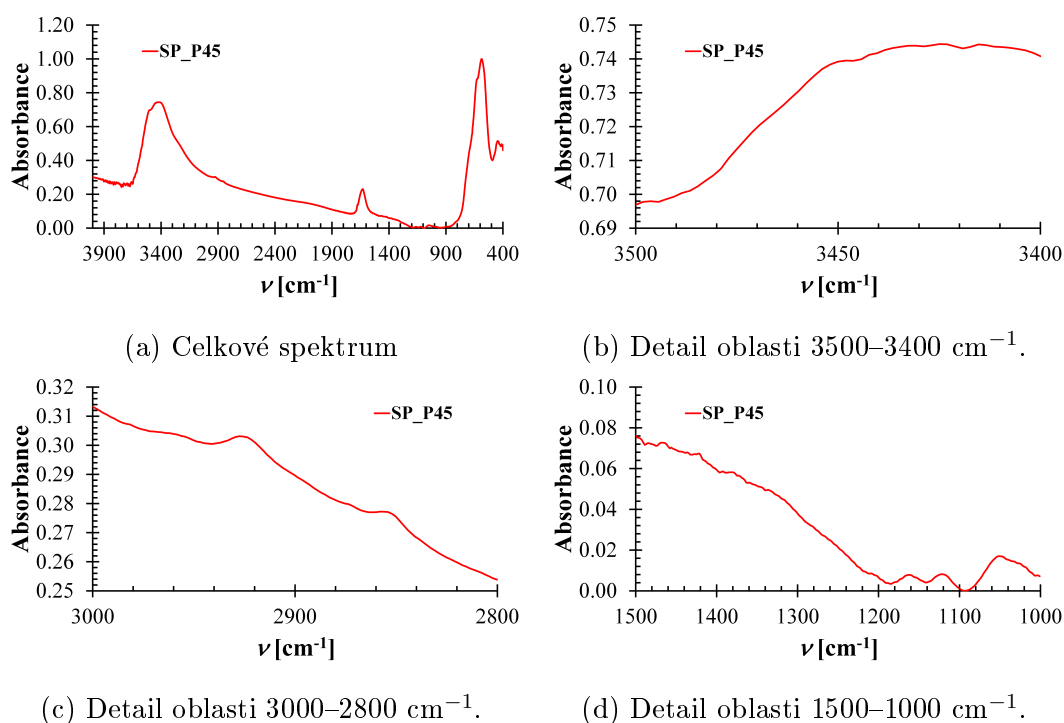
(c) Detail oblasti 3000–2800 cm^{-1} .



(d) Detail oblasti 1700–1300 cm^{-1} .

Obr. 18: IR spektrum nanočástic magnetitu stabilizovaných F-HPMA.

Jako vzorek nanočástic stabilizovaných PEG-1500 byl pro infračervenou analýzu vybrán vzorek SP_P45, jehož spektrum je uvedeno na Obr. 19. Pás 3424 cm^{-1} byl identifikován jako valenční vibrace skupiny $-\text{OH}$, které byl rovněž přiřazen pás 1629 cm^{-1} náležící deformačním vibracím. Pásky 2927 cm^{-1} a 2852 cm^{-1} odpovídaly valenčním asymetrickým a symetrickým vibracím skupiny CH_2 . Této skupině rovněž patřil pás deformačních vibrací v oblasti 1466 cm^{-1} . V oblasti otisku prstu byl identifikován pás 1119 cm^{-1} náležící valenčním symetrickým vibracím COC a rovněž pás 1050 cm^{-1} patřící valenčním vibracím skupiny CO, jež je typická pro primární alkoholy. Intenzivní pás 589 cm^{-1} byl přiřazen vibracím vazeb Fe–O. Pás 3503 cm^{-1} pocházející od valenčních vibrací skupiny NH, jež se ve struktuře polyethylenglykolu vůbec nenachází, byl způsoben pravděpodobně zbytkovou přítomností hydrazinu použitého pro syntézu těchto částic.

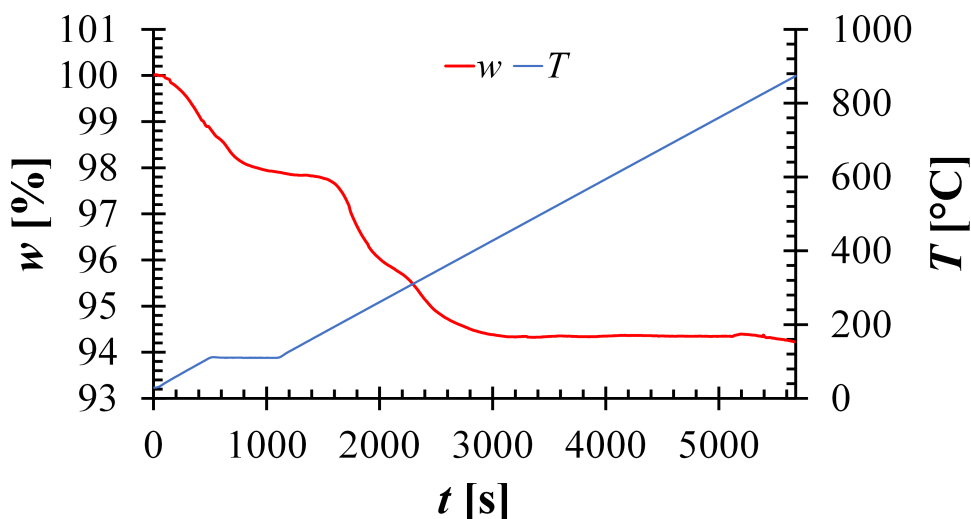


Obr. 19: IR spektrum nanočástic magnetitu stabilizovaných PEG-1500.

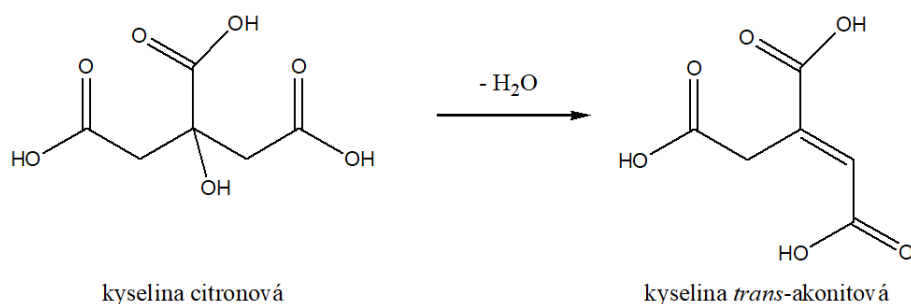
8.4 Termogravimetrická analýza

Vzorek SP_C byl navíc podroben termogravimetrické analýze pro prokázání přítomnosti obalu kyseliny citronové. Analýza byla provedena v inertní atmosféře argonu s průtokem 20 ml/min . Vzorek byl nejprve zahříván z 30 °C na 110 °C rychlostí 10 °C/min a tato teplota byla udržována po 10 minut. Následně byla teplota zvyšována na 900 °C rychlostí 10 °C/min . TG křivka je uvedena na Obr. 20. Konstantní teplota 110 °C byla v průběhu experimentu udržována z důvodu odstranění navázané vody. Tomu odpovídá první strmý

pokles TG křivky, kdy na prvním platu se nacházely pouze nanočástice obalené kyselinou citronovou. S rostoucí teplotou dále docházelo k teplotní degradaci kyseliny citronové což značí následující poklesy na TG křivce. Z poklesu křivky je patrné, že kyselina se rozkládala ve dvou krocích. Při prvním kroku docházelo k její dehydrataci na kyselinu *trans*-akonitovou ve shodě s literaturou [50], viz Obr. 21. Další krok pravděpodobně zahrnoval kombinaci dehydratace a dekarboxylace, nicméně toto nebylo možné na použitém přístroji ověřit.



Obr. 20: TG křivka vzorku SP_C ukazující závislost relativního úbytku hmotnosti w na čase t a závislost teploty T na čase v průběhu analýzy.

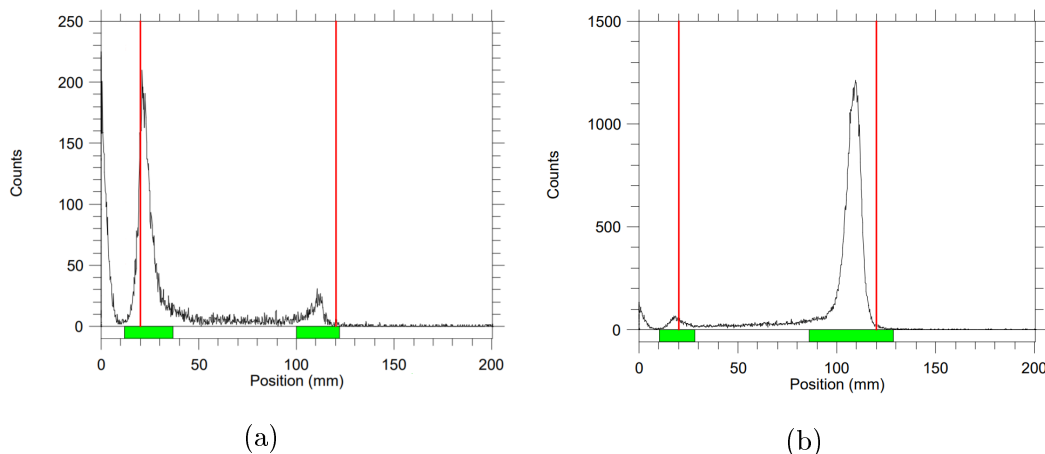


Obr. 21: Dehydratace kyseliny citronové na kyselinu *trans*-akonitovou.

8.5 Značení nanočástic $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{H}_3\text{Cit}$

Na základě provedených analýz byl pro značení vybrán vzorek SP_C. Tento vzorek vykazoval nejlepší koloidní stabilitu v průběhu času, přestože jeho ζ -potenciál nebyl nejmenší. Zároveň pomocí spolusrážecí metody bylo možné vyrobit mnohem větší množství částic, než v případě mikrovlnné syntézy, které pak byly uchovávány jako zásobní roztok. Nejprve bylo provedeno značení pomocí ^{68}Ga pro potvrzení sorpční schopnosti nanočástic. Výběr

^{68}Ga byl proveden na základě jeho krátkého poločasu přeměny a zároveň jeho možné eluce z $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátoru. Analýza byla provedena pomocí tenkovrstvé chromatografie a vyhodnocení ITLC (mobilní fáze 0,1 M citronan sodný) bylo provedeno pomocí autoradiografie. Získaný chromatogram je uveden na Obr. 22a.



Obr. 22: (a) Radiochromatogram ^{68}Ga značeného vzorku SP_C. (b) Radiochromatogram $^{68}\text{GaCl}_3$.

Intenzivní pík na počátku startovní linie s retenčním faktorem 0,032 náležel označeným nanočásticím, zatímco pík s retenčním faktorem 0,896 patřil nenavázanému galliu. Z plochy píků byl určen výtěžek značení na 88 %. Na Obr. 22b je uveden chromatogram roztoku $^{68}\text{GaCl}_3$. Intenzivní pík s retenčním faktorem 0,873 opět náležel volnému galliu, zatímco málo intenzivní pík na startovní linii pocházel od koloidního gallia.

Po ověření schopnosti sorpce byly nanočástice označeny pomocí ^{161}Tb a ^{177}Lu . Celkem byly nanočástice každým radionuklidem označeny v pěti sériích pro pozdější studium stability značení. Aktivity nanočástic a promývacích roztoků společně s výtěžky značení jsou uvedeny v Tab. 4. Výtěžky byly spočítány pomocí vztahu:

$$Y = \frac{A_0 - A_1 - A_2 - A_3}{A_0} \cdot 100\%. \quad (6)$$

Na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ tak byly určeny výtěžky značení:

$$Y(^{161}\text{Tb}) = (91 \pm 5)\% \quad Y(^{177}\text{Lu}) = (96 \pm 1)\%,$$

kde byly využity koeficienty rozšíření vycházející ze Studentova rozdělení.

Tab. 4: Výtěžky značení Y pro jednotlivé série, kde A_0 je původní aktivita roztoku nanočástic a A_1 , A_2 , A_3 jsou aktivity odseparovaných roztoků.

^{161}Tb					
Číslo série	A_0 [MBq]	A_1 [MBq]	A_2 [MBq]	A_3 [MBq]	Y [%]
1	54,4	2,5	0,7	0,2	94
2	53,9	1,8	0,7	0,2	95
3	51,4	3,0	0,7	0,8	91
4	50,0	4,9	0,2	0,2	89
5	50,1	7,1	0,2	0,1	85

^{177}Lu					
Číslo série	A_0 [MBq]	A_1 [MBq]	A_2 [MBq]	A_3 [MBq]	Y [%]
1	64,7	2,2	0,4	0,03	96
2	56,0	2,3	0,03	0,03	96
3	56,1	2,3	0,03	0,03	96
4	56,8	1,8	0,03	0,03	97
5	56,6	1,8	0,4	0,03	96

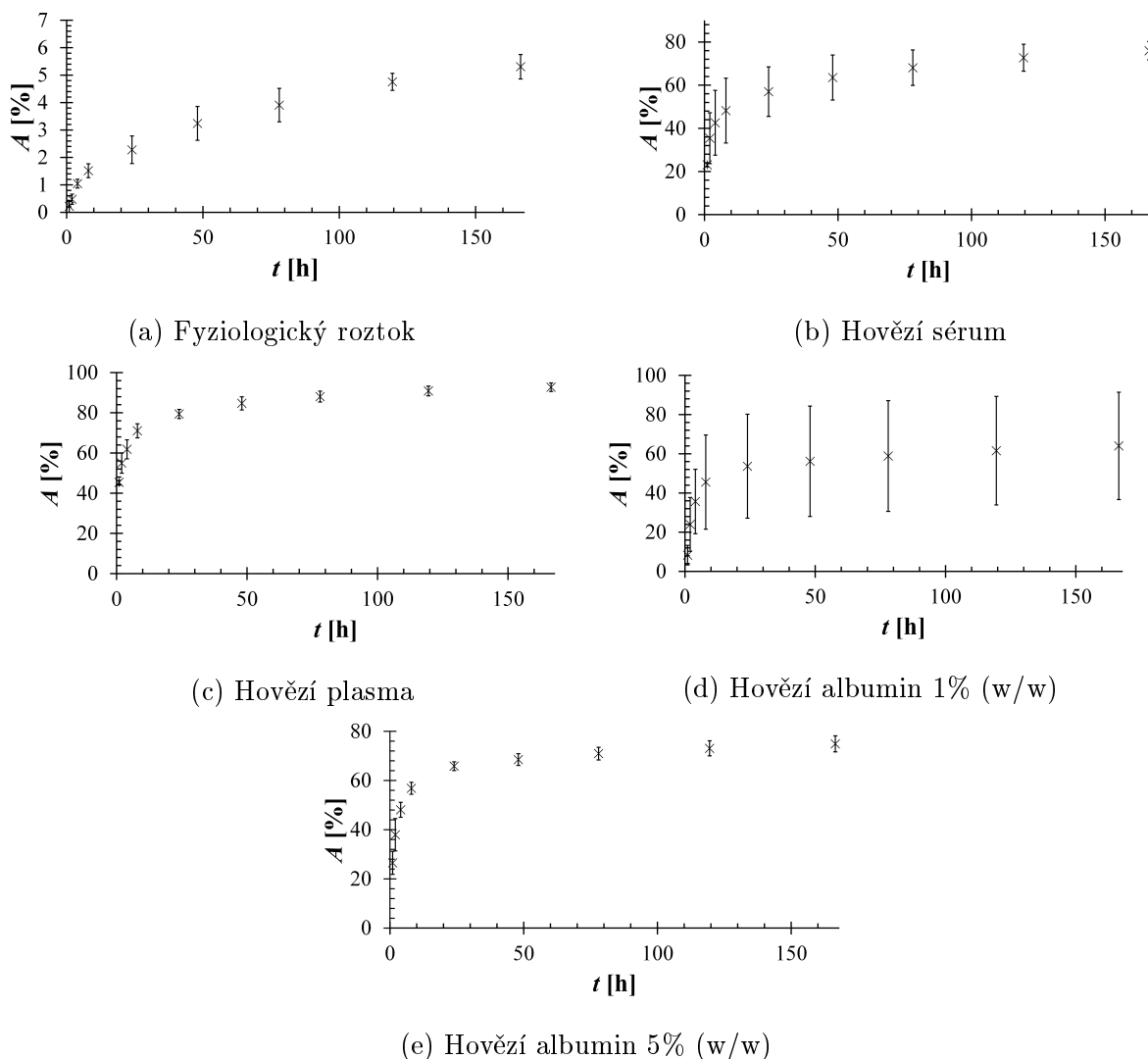
8.6 Stabilita značení nanočástic

Procento uvolněné aktivity A do použité matrice bylo stanoveno na základě vztahu:

$$A = \frac{A_s \cdot 2^{\frac{t}{T_{1/2}}}}{A_0} \cdot 100 \%, \quad (7)$$

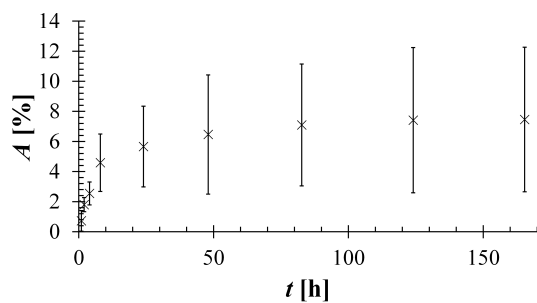
kde A_s je aktivita supernatantu odpipetovaného od částic po jejich separaci magnetem, t je čas od zahájení experimentu, $T_{1/2}$ je poločas přeměny daného radionuklidu a A_0 je aktivita suspenze nanočástic na počátku experimentu.

Pro ^{177}Lu byly získány závislosti uvolňované kumulativní aktivity na čase pro jednotlivé matrice uvedené na Obr. 23. V případě stability ve fyziologickém roztok došlo k uvolnění průměrně 5,3 % celkové aktivity během 1 poločasu přeměny ^{177}Lu . V prostředí hovězího séra došlo k uvolnění 76,0 % celkové aktivity. Nejhoršího výsledku bylo dosaženo v hovězí plasmě, kde došlo k uvolnění 92,7 % celkové aktivity. V prostředí 1% roztoku hovězího albuminu byla průměrná uvolněná aktivita 64,0 % v rámci 1 poločasu přeměny. Vysoká míra odchylek oproti ostatním vzorkům byla pravděpodobně způsobena chybou při pipetování roztoku, kdy došlo k napipetování části nanočástic. Označené nanočástice v prostředí 5% roztoku albuminu uvolnily v průběhu 1 poločasu přeměny 74,9 % celkové aktivity. Zároveň ve všech prostředích kromě fyziologického roztoku bylo pozorováno postupné rozpouštění nanočástic.

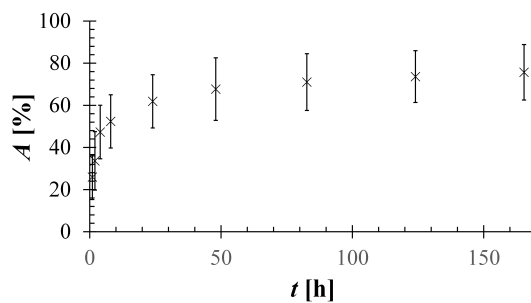


Obr. 23: Procento celkové uvolňované aktivity A ^{177}Lu v závislosti na čase t pro jednotlivé biologické matrice.

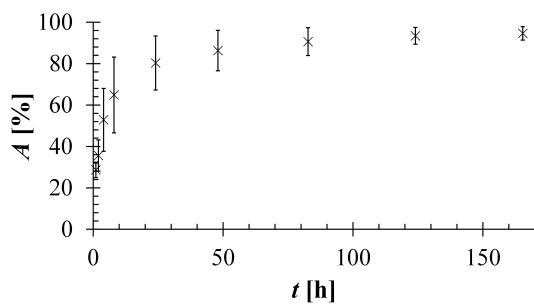
Závislost celkové uvolňované aktivity na čase pro nanočástice označené ^{161}Tb v různých biologických maticích je uvedena na Obr. 24. Nanočástice dispergované ve fyziologickém roztoku uvolnily v průběhu 1 poločasu průměrně 7,5 % celkové aktivity. Nejvíce aktivity bylo uvolněno z povrchu nanočástic v prostředí hovězího plasmy, v průměru 94,6 % celkové aktivity. O něco nižší průměrná celková uvolněná aktivita 75,7 % byla naměřena v prostředí hovězího séra. V prostředí 1% roztoku albuminu došlo v průběhu experimentu k uvolnění 27,0 % celkové aktivity, zatímco v prostředí 5% roztoku albuminu činila hodnota celkové uvolněné aktivity 62,8 %. Opět i v tomto případě bylo pozorováno postupné rozpouštění nanočástic ve všech zkoumaných prostředích, kromě fyziologického roztoku.



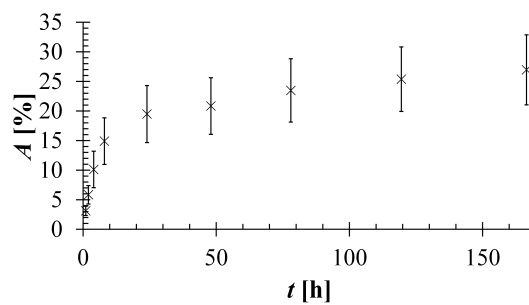
(a) Fyziologický roztok



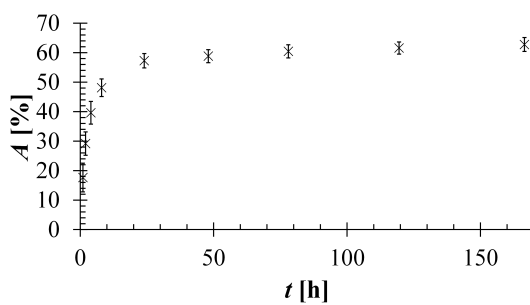
(b) Hovězí sérum



(c) Hovězí plasma



(d) Hovězí albumin 1% (w/w)



(e) Hovězí albumin 5% (w/w)

Obr. 24: Procento celkové uvolňované aktivity $A^{161}\text{Tb}$ v závislosti na čase t pro jednotlivé biologické matrice.

9 Závěr

V úvodu této práce byl zpracován rešeršní přehled o metodách přípravy magnetických nanočástic, převážně pak nanočástic magnetitu. Na toto téma pak následovala kapitola o metodách stabilizace nanočástic a vytvoření core-shell struktury pomocí anorganických a organických látek. V závěru rešeršní části byl představen přehled o současných postupech značení magnetických nanočástic medicínálními radionuklidy.

V experimentální části byly připraveny magnetické nanočástice spolusrážecí a mikrovlnnou metodou. Nanočástice připravené srážením iontů Fe^{3+} a Fe^{2+} byly v průběhu syntézy stabilizovány kyselinou citronovou. Pomocí rentgenové práškové difrakce bylo potvrzeno vytvoření nanočástic magnetitu. Následující FTIR analýzou bylo potvrzeno vytvoření obalu kyseliny citronové na povrchu nanočástic. Pomocí termogravimetrie byla rovněž prokázána přítomnost obalu nanočástic. Metodou DLS byl stanoven střední hydrodynamický průměr částic 269,1 nm. Měření nicméně prokázalo vytvoření polydisperzních nanočástic s širokou distribucí velikostí. Hodnota ζ -potenciálu $-40,7$ mV ukazovala na vytvoření stabilního koloidního roztoku nanočástic.

Magnetické nanočástice připravené redukcí Fe^{3+} pomocí hydrazinu v mikrovlnném reaktoru byly po jejich syntéze stabilizovány PEG-1500 a F-HPMA o různých koncentracích. Vytvoření magnetitových nanočástic bylo potvrzeno pomocí rentgenové práškové difrakce. Na změřených IR spektrech bylo potvrzeno vytvoření stabilizačního obalu. Analýza pomocí DLS prokázala, že syntetizované nanočástice měly střední hydrodynamický průměr přibližně dvakrát až třikrát větší, než nanočástice stabilizované kyselinou citronovou. Tento rozdíl byl pravděpodobně způsoben metodou stabilizace nanočástic. Oproti nanočásticím stabilizovaným kyselinou citronovou však všechny vzorky vykazovaly užší distribuci velikostí. U většiny vzorků získané ζ -potenciály ukazovaly na vytvoření stabilního koloidního roztoku, nicméně z důvodu velkého průměru nanočástic docházelo k jejich sedimentaci.

Na základě provedených analýz byly ke značení vybrány nanočástice stabilizované kyselinou citronovou. Nejprve byla ověřena sorpční schopnost nanočástic pomocí ^{68}Ga . TLC analýzou byl stanoven výtěžek značení 88 %. Následně byly nanočástice označeny pomocí ^{161}Tb a ^{177}Lu . V případě značení ^{161}Tb byl průměrný výtěžek (91 ± 5) % a v případě ^{177}Lu byl průměrný výtěžek (96 ± 1) %. Označené nanočástice byly podrobeny studiu uvolňování aktivity v prostředí fyziologického roztoku, hovězí krevní plasmy, hovězího krevního séra, 1% a 5% roztoku hovězího albuminu. Nanočástice označené ^{177}Lu v prostředí fyziologického roztoku uvolnily 5,3 % celkové aktivity v průběhu 1 poločasu přeměny, v prostředí 1% roztoku albuminu uvolnily 64,0 % celkové aktivity, v prostředí 5% roztoku albuminu uvolnily 74,9 % celkové aktivity, v prostředí hovězího séra uvolnily 76,0 % celkové aktivity a v prostředí hovězí plasmy 92,7 % celkové aktivity. Nanočástice označené ^{161}Tb uvolnily v prostředí fyziologického roztoku 7,5 % celkové aktivity v rámci 1 poločasu přeměny,

v prostředí 1% roztoku albuminu 27,0 % celkové aktivity, v prostředí 5% roztoku albuminu 62,8 % celkové aktivity, v hovězím séru 75,7 % celkové aktivity. Nejhoršího výsledku bylo dosaženo v hovězí plasmě, kdy bylo uvolněno 94,6 % celkové aktivity v rámci 1 poločasu přeměny.

Stabilitní studie ukázaly, že pouhá sorpce radionuklidu na povrch nanočástic magnetitu nepostačuje k zabránění jeho uvolňování z povrchu. Zároveň bylo pozorováno rozpouštění nanočástic ve studovaných maticích. Z těchto důvodů by do budoucna bylo vhodné vytvořit nanočásticovou konstrukci na bázi magnetitu uzavřeného do odolnějšího obalu tvořeného například křemíkem, jehož povrch by byl funkcionalizován chelátorem, který by zaručil mnohem pevnější vazbu radionuklidu.

10 Literatura

- [1] KUKLEVA, E., P. SUCHÁNKOVÁ, K. ŠTAMBERG, M. VLK, M. ŠLOUF a J. KOZEMPEL. Surface protolytic property characterization of hydroxyapatite and titanium dioxide nanoparticles. *RSC Advances*. 2019, 9(38), 21989-21995. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/C9RA03698A
- [2] GUPTA, A. K. a M. GUPTA. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*. 2005, 26(18), 3995-4021. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2004.10.012
- [3] DULIŇSKA-LITEWKA, J., A. ŁAZARCZYK, P. HALUBIEC, O. SZAFRAŇSKI, K. KARNAS a A. KAREWICZ. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles—Current and Prospective Medical Applications. *Materials*. 2019, 12(4). ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma12040617
- [4] LEWINSKI, N., V. COLVIN a R. DREZEK. Cytotoxicity of Nanoparticles. *Small*. 2008, 4(1), 26-49. ISSN 16136810. Dostupné z: doi:10.1002/smll.200700595
- [5] LU, A., E. L. SALABAS a F. SCHÜTH. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application. *Angewandte Chemie International Edition*. 2007, 46(8), 1222-1244. ISSN 14337851. Dostupné z: doi:10.1002/anie.200602866
- [6] BASHIR, M. R., L. BHATTI, D. MARIN a R. C. NELSON. Emerging applications for ferumoxytol as a contrast agent in MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2015, 41(4), 884-898. ISSN 10531807. Dostupné z: doi:10.1002/jmri.24691
- [7] KOHLER, N., C. SUN, J. WANG a M. ZHANG. Methotrexate-Modified Superparamagnetic Nanoparticles and Their Intracellular Uptake into Human Cancer Cells. *Langmuir*. 2005, 21(19), 8858-8864. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/la0503451
- [8] LAURENT, S., D. FORGE, M. PORT, A. ROCH, C. ROBIC, L. VANDER ELST a R. N. MULLER. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chemical Reviews*. 2008, 108(6), 2064-2110. ISSN 0009-2665. Dostupné z: doi:10.1021/cr068445e
- [9] WU, W., Z. WU, T. YU, C. JIANG a W.-S. KIM. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Science and Technology of Advanced Materials*. 2015, 16(2). ISSN 1468-6996. Dostupné z: doi:10.1088/1468-6996/16/2/023501
- [10] MIKHAYLOVA, M., D. K. KIM, C. C. BERRY, A. ZAGORODNI, M. TOPRAK, A. S. G. CURTIS a M. MUHAMMED. BSA Immobilization on Amine-Functionalized

- Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Chemistry of Materials*. 2004, 16(12), 2344-2354. ISSN 0897-4756. Dostupné z: doi:10.1021/cm0348904
- [11] KOHLER, N., G.E. FRYXELL a M. ZHANG. A Bifunctional Poly(ethylene glycol) Silane Immobilized on Metallic Oxide-Based Nanoparticles for Conjugation with Cell Targeting Agents. *Journal of the American Chemical Society*. 2004, 126(23), 7206-7211. ISSN 0002-7863. Dostupné z: doi:10.1021/ja049195r
- [12] JANA, N. R., Y. CHEN a X. PENG. Size- and Shape-Controlled Magnetic (Cr, Mn, Fe, Co, Ni) Oxide Nanocrystals via a Simple and General Approach. *Chemistry of Materials*. 2004, 16(20), 3931-3935. ISSN 0897-4756. Dostupné z: doi:10.1021/cm049221k
- [13] GUPTA, A.K. a S. WELLS. Surface-Modified Superparamagnetic Nanoparticles for Drug Delivery: Preparation, Characterization, and Cytotoxicity Studies. *IEEE Transactions on Nanobioscience*. 2004, 3(1), 66-73. ISSN 1536-1241. Dostupné z: doi:10.1109/TNB.2003.820277
- [14] XIAO, L., J. LI, D. F. BROUGHAM, et al. Water-Soluble Superparamagnetic Magnetite Nanoparticles with Biocompatible Coating for Enhanced Magnetic Resonance Imaging. *ACS Nano*. 2011, 5(8), 6315-6324. ISSN 1936-0851. Dostupné z: doi:10.1021/nn201348s
- [15] QI, H., B. YAN, W. LU, C. LI a Y. YANG. A Non-Alkoxide Sol-Gel Method for the Preparation of Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles. *Current Nanoscience*. 2011, 7(3), 381-388. ISSN 15734137. Dostupné z: doi:10.2174/157341311795542426
- [16] CARUNTU, D., G. CARUNTU a C. J. O'CONNOR. Magnetic properties of variable-sized Fe₃O₄ nanoparticles synthesized from non-aqueous homogeneous solutions of polyols. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2007, 40(19), 5801-5809. ISSN 0022-3727. Dostupné z: doi:10.1088/0022-3727/40/19/001
- [17] ABU MUKH-QASEM, R. a A. GEDANKEN. Sonochemical synthesis of stable hydrosol of Fe₃O₄ nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2005, 284(2), 489-494. ISSN 00219797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcis.2004.10.073
- [18] SALAZAR-ALVAREZ, G., M. MUHAMMED a A. A. ZAGORODNI. Novel flow injection synthesis of iron oxide nanoparticles with narrow size distribution. *Chemical Engineering Science*. 2006, 61(14), 4625-4633. ISSN 00092509. Dostupné z: doi:10.1016/j.ces.2006.02.032
- [19] FAJAROH, F., H. SETYAWAN, W. WIDIYASTUTI a S. WINARDI. Synthesis of magnetite nanoparticles by surfactant-free electrochemical method in an aqueous system. *Advanced Powder Technology*. 2012, 23(3), 328-333. ISSN 09218831. Dostupné z: doi:10.1016/j.appt.2011.04.007

- [20] OSBORNE, E. A., T. M. ATKINS, D. A. GILBERT, S. M. KAUZLARICH, K. LIU a A. Y. LOUIE. Rapid microwave-assisted synthesis of dextran-coated iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging. *Nanotechnology*. 2012, 23(21). ISSN 0957-4484. Dostupné z: doi:10.1088/0957-4484/23/21/215602
- [21] DENG, Y.H., C.-C. WANG, J.-H. HU, W.-L. YANG a S.-K. FU. Investigation of formation of silica-coated magnetite nanoparticles via sol-gel approach. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2005, 262(1-3), 87-93. ISSN 09277757. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfa.2005.04.009
- [22] XU, Z., Y. HOU a S. SUN. Magnetic Core/Shell Fe₃O₄/Au and Fe₃O₄/Au/Ag Nanoparticles with Tunable Plasmonic Properties. *Journal of the American Chemical Society*. 2007, 129(28), 8698-8699. ISSN 0002-7863. Dostupné z: doi:10.1021/ja073057v
- [23] SAHOO, Y., A. GOODARZI, M. T. SWIHART, T. Y. OHULCHANSKY, N. KAUR, E. P. FURLANI a P. N. PRASAD. Aqueous Ferrofluid of Magnetite Nanoparticles: Fluorescence Labeling and Magnetophoretic Control. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2005, 109(9), 3879-3885. ISSN 1520-6106. Dostupné z: doi:10.1021/jp045402y
- [24] TURCHENIUK, K., A. V. TARASEVYCH, V. P. KUKHAR, R. BOUKHERROUB a S. SZUNERITS. Recent advances in surface chemistry strategies for the fabrication of functional iron oxide based magnetic nanoparticles. *Nanoscale*. 2013, 5(22). ISSN 2040-3364. Dostupné z: doi:10.1039/c3nr04131j
- [25] SAHOO, Y., H. PIZEM, T. FRIED, D. GOLODNITSKY, L. BURSTEIN, C. N. SUKENIK a G. MARKOVICH. Alkyl Phosphonate/Phosphate Coating on Magnetite Nanoparticles: A Comparison with Fatty Acids. *Langmuir*. 2001, 17(25), 7907-7911. ISSN 0743-7463. Dostupné z: doi:10.1021/la010703+
- [26] DAS, M., D. MISHRA, T. K. MAITI, A. BASAK a P. PRAMANIK. Bio-functionalization of magnetite nanoparticles using an aminophosphonic acid coupling agent: new, ultradispersed, iron-oxide folate nanoconjugates for cancer-specific targeting. *Nanotechnology*. 2008, 19(41). ISSN 0957-4484. Dostupné z: doi:10.1088/0957-4484/19/41/415101
- [27] PALLAVICINI, P., E. CABRINI, A. CASU, G. DACARRO, Y. ANTONIO DIAZ-FERNANDEZ, A. FALQUI, C. MILANESE a F. VITA. Silane-coated magnetic nanoparticles with surface thiol functions for conjugation with gold nanostars. *Dalton Transactions*. 2015, 44(48), 21088-21098. ISSN 1477-9226. Dostupné z: doi:10.1039/C5DT02812D

- [28] VLK, M., V. VALOVÁ, M. ŠTÍBR, Z. SOBKULIAKOVÁ, J. KOZEMPEL. Multimodální magnetické nanomateriály v diagnostice a terapii. *Nukleární medicína* 2022, 11(2), 22-31. ISSN 1805-1146
- [29] KHALKHALI, M., S. SADIGHIAN, K. ROSTAMIZADEH, F. KHOEINI, M. NAGHIBI, N. BAYAT, M. HABIBIZADEH a M. HAMIDI. Synthesis and characterization of dextran coated magnetite nanoparticles for diagnostics and therapy. *BioImpacts*. 2015, 5(3), 141-150. ISSN 2228-5660. Dostupné z: doi:10.15171/bi.2015.19
- [30] VEISEH, O., J. W. GUNN a M. ZHANG. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010, 62(3), 284-304. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2009.11.002
- [31] JIA, H., F. HUANG, Z. GAO, C. ZHONG, H. ZHOU, M. JIANG a P. WEI. Immobilization of ω -transaminase by magnetic PVA-Fe₃O₄ nanoparticles. *Biotechnology Reports*. 2016, 10, 49-55. ISSN 2215017X. Dostupné z: doi:10.1016/j.btre.2016.03.004
- [32] ZHANG, K., W. YANG, Y. LIU, K. ZHANG, Y. CHEN a X. YIN. Laccase immobilized on chitosan-coated Fe₃O₄ nanoparticles as reusable biocatalyst for degradation of chlorophenol. *Journal of Molecular Structure*. 2020, 1220. ISSN 00222860. Dostupné z: doi:10.1016/j.molstruc.2020.128769
- [33] MADRU, R., P. KJELLMAN, F. OLSSON, et al. ^{99m}Tc-Labeled Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Multimodality SPECT/MRI of Sentinel Lymph Nodes. *Journal of Nuclear Medicine*. 2012, 53(3), 459-463. ISSN 0161-5505. Dostupné z: doi:10.2967/jnumed.111.092437
- [34] CHAKRAVARTY, R., H. F. VALDOVINOS, F. CHEN, et al. Intrinsically Germanium-69-Labeled Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and In-Vivo Dual-Modality PET/MR Imaging. *Advanced Materials*. 2014, 26(30), 5119-5123. ISSN 09359648. Dostupné z: doi:10.1002/adma.201401372
- [35] HAJIRAMEZANALI, M., F. ATYABI, M. MOSAYEBNIA, et al. ⁶⁸Ga-radiolabeled bombesin-conjugated to trimethyl chitosan-coated superparamagnetic nanoparticles for molecular imaging: preparation, characterization and biological evaluation. *International Journal of Nanomedicine*. 2019, 14, 2591-2605. ISSN 1178-2013. Dostupné z: doi:10.2147/IJN.S195223
- [36] CAO, J., Y. WANG, J. YU, J. XIA, C. ZHANG, D. YIN a Urs O. HÄFELI. Preparation and radiolabeling of surface-modified magnetic nanoparticles with rhenium-188 for magnetic targeted radiotherapy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2004, 277(1-2), 165-174. ISSN 03048853. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmmm.2003.10.022

- [37] RADOVIĆ, M., M. MIRKOVIĆ, M. PERIĆ, et al. Design and preparation of ^{90}Y -labeled imidodiphosphate- and inositol hexaphosphate-coated magnetic nanoparticles for possible medical applications. *Journal of Materials Chemistry B*. 2017, 5(44), 8738-8747. ISSN 2050-750X. Dostupné z: doi:10.1039/C7TB02075A
- [38] ZHANG, J., Y. MA, W. YANG, et al. Comparative study of core- and surface-radiolabeling strategies for the assembly of iron oxide nanoparticle-based theranostic nanocomposites. *Nanoscale*. 2019, 11(13), 5909-5913. ISSN 2040-3364. Dostupné z: doi:10.1039/C9NR00428A
- [39] LEHENBERGER, S., C. BARKHAUSEN, S. COHRS, et al. The low-energy β^- and electron emitter ^{161}Tb as an alternative to ^{177}Lu for targeted radionuclide therapy. *Nuclear Medicine and Biology*. 2011, 38(6), 917-924. ISSN 09698051. Dostupné z: doi:10.1016/j.nucmedbio.2011.02.007
- [40] DASH, A., M. R. A. PILLAI a F. F. KNAPP. Production of ^{177}Lu for Targeted Radionuclide Therapy: Available Options. *Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2015, 49(2), 85-107. ISSN 1869-3474. Dostupné z: doi:10.1007/s13139-014-0315-z
- [41] LUTATHERA. Státní ústav pro kontrolu léčiv [online]. Praha, 2010 [cit. 2021-12-04]. Dostupné z: <https://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0222514&tab=texts>
- [42] OGNJANOVIĆ, M., M. RADOVIĆ, M. MIRKOVIĆ, Ž. PRIJOVIĆ, M. PUERTO MORALES, M. ČEH, S. VRANJEŠ-ĐURIĆ a B. ANTIĆ. ^{99m}Tc -, ^{90}Y -, and ^{177}Lu -Labeled Iron Oxide Nanoflowers Designed for Potential Use in Dual Magnetic Hyperthermia/Radionuclide Cancer Therapy and Diagnosis. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2019, 11(44), 41109-41117. ISSN 1944-8244. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.9b16428
- [43] GRACHEVA, N., C. MÜLLER, Z. TALIP, et al. Production and characterization of no-carrier-added ^{161}Tb as an alternative to the clinically-applied ^{177}Lu for radionuclide therapy. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*. 2019, 4(1). ISSN 2365-421X. Dostupné z: doi:10.1186/s41181-019-0063-6
- [44] REKORAJSKA, A., G. CICHOWICZ, M. K. CYRANSKI, M. PEKAŁA a Paweł KRYSINSKI. Synthesis and characterization of Gd^{3+} - and Tb^{3+} - doped iron oxide nanoparticles for possible endoradiotherapy and hyperthermia. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2019, 479, 50-58. ISSN 03048853. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmmm.2019.01.102
- [45] CÎRCU, M., T. RADU, A.S. PORAV a R. TURCU. Surface functionalization of $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ core-shell nanoparticles with vinylimidazole-rare earth

- complexes: Synthesis, physico-chemical properties and protein interaction effects. *Applied Surface Science*. 2018, 453, 457-463. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2018.05.096
- [46] MA, Z., D. DOSEV, M. NICHKOVA, R. K. DUMAS, S. J. GEE, B. D. HAMMOCK, K. LIU a I. M. KENNEDY. Synthesis and characterization of multifunctional silica core-shell nanocomposites with magnetic and fluorescent functionalities. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2009, 321(10), 1368-1371. ISSN 03048853. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmmm.2009.02.040
- [47] VALOVÁ, V. Příprava “core-shell” magnetických teranostických nanosond. Praha, 2018. Diplomová práce. České vysoké učení technické v Praze, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, Katedra jaderné chemie.
- [48] WANG, W-W, Y-J ZHU a M-L RUAN. Microwave-assisted synthesis and magnetic property of magnetite and hematite nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*. 2007, 9(3), 419-426. ISSN 1388-0764. Dostupné z: doi:10.1007/s11051-005-9051-8
- [49] BÁRTA, J. Radiation- and photo-induced preparation of synthetic garnets based on LuAG ($\text{Lu}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$). Praha, 2015. Disertace. České vysoké učení technické v Praze, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská.
- [50] WYRZYKOWSKI, D., E. HEBANOWSKA, G. NOWAK-WICZK, M. MAKOWSKI a L. CHMURZYŃSKI. Thermal behaviour of citric acid and isomeric aconitic acids. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2011, 104(2), 731-735. ISSN 1388-6150. Dostupné z: doi:10.1007/s10973-010-1015-2

11 Přehled publikovaných výsledků

1. ŠTÍBR, M., M. VLK, M. SAKMÁR, J. BÁRTA, V. LOBAZ, O. SEDLÁČEK, M. HRUBÝ, J. KOZEMPEL. Příprava superparamagnetických nanočástic oxidů železa pro značení farmaceutickými radionuklidy. Zborník recenzovaných příspěvkov. s. 943-948. 2022. ISBN 978-80-223-5385-4. Študentská vedecká konferencia PriF UK Bratislava
2. VLK, M., V. VALOVÁ, M. ŠTÍBR, Z. SOBKULIAKOVÁ, J. KOZEMPEL. Multimodální magnetické nanomateriály v diagnostice a terapii. Nukleární medicína 2022, 11(2), 22-31. ISSN 1805-1146