

БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ СОЗДАНИЯ СТАБИЛЬНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ (ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА)

© 2022 г. И. Н. Кузнецова^{а,*}

^аРоссийский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: Kuz-ir@inbox.ru

Поступила в редакцию 02.06.2021 г.

После доработки 02.06.2021 г.

Принята к публикации 14.10.2021 г.

Обоснованы теоретические вопросы модификации физико-химических и биофизических свойств перфторуглеродов (ПФУ) и фосфолипидов (ФЛ) – компонентов наночастиц, определяющих целостность их структуры. Обозначены технические приёмы модификации физико-химических свойств перфтордекалина (ПФД), а также прочности липосомальной структуры ФЛ. Приведены примеры сохранения стабильности полученных наночастиц ПФД/ФЛ в течение 1–2 лет хранения в незамороженном состоянии.

Ключевые слова: перфторуглероды (ПФУ), наночастицы, фосфолипиды (ФЛ), структура, модификация, стабильность

DOI: 10.31857/S0044453722050181

Способность жидких перфторуглеродов (ПФУ) растворять большие количества газов и химическая инертность этих соединений послужили фундаментом для разработки на их основе кровезаменителя с функцией транспорта кислорода. Создание препаратов данного типа – социально-значимая задача, поскольку снижает потребность в донорской крови, что особенно важно в период возникновения критических ситуаций: военные конфликты, аварии, эпидемии и др. За период становления и развития этой проблемы (начиная с середины и до конца 20 века) были решены многие задачи: выбор ПФУ компонентов и эмульгаторов для создания фармакопейного продукта; необходимая степень их очистки как сырья; методы получения эмульсионных форм препаратов путём диспергирования в связи с тем, что ПФУ практически не растворимы в воде; предварительное их медико-биологическое изучение на различных моделях; создание фармакологических форм препаратов и их доклиническое и клиническое изучение. Наиболее известные препараты эмульсионного типа [1, 2]: флюозол ДА (Япония, эмульгатор – смесь плуороника F-68 и фосфолипидов (ФЛ)); оксигент (США, эмульгатор – ФЛ); перфторан (РФ, эмульгатор – проксанол П-268). Основу эмульгирующих составов флюозола и перфторана составляет блок-сополимер оксида этилена и оксида пропилена разных марок F-68 и П-268. Оба хоро-

шо растворимы в воде, но не обеспечивают надёжной стабилизации эмульгированных частиц. Вследствие этого флюозол ДА и перфторан должны храниться в замороженном состоянии (~–18°C). Для оксигента разрешено хранение в охлаждённом состоянии (~+4°C). Всем препаратам в разной степени свойственны побочные эффекты системного характера (реактогенность), проявляемые на разных этапах клинических испытаний [3–5]. Причины этого до конца не выяснены. До настоящего времени на рынке лекарственных средств отсутствуют эффективные ПФУ препараты-переносчики кислорода.

Большая часть исследований указанных препаратов касались клинико-биологических аспектов их применения. Физико-химические механизмы их действия, как причина достигнутого эффекта, как правило, не рассматривались. Не обосновывались требования стабильности к наночастицам, как активному началу эмульсионного биопрепарата. Вместе с тем, именно физико-химические свойства наночастиц ПФУ и определяют проявление и сохранение функциональной активности биопрепарата, предназначенного для внутривенного введения.

Задачи настоящей работы: рассмотреть физико-химические свойства ПФУ и ФЛ как биоматериала для создания стабильных наночастиц; обосновать важность понятия структуры применительно к наночастицам ПФУ биомедицинско-

Таблица 1. Физико-химические свойства ПФУ, составляющих основу медицинских препаратов [6]

Свойства	ПФД	ПФТПА	ПМЦП	ПФОБ	ПФДБ
Химическая формула	$C_{10}F_{18}$	$C_9F_{21}N$	$C_{12}F_{23}N$	$C_8F_{17}Br$	$C_{10}F_{21}Br$
Молекулярная масса, г/моль	462	521	595	499	599
Температура кипения, °С	142	131	168	143	180
Давление пара, мм Hg, (37°С)	12.7	18.0	2.0	10.5	1.5
Критическая температура растворения, $T_{кр}$, °С	22	44	40	-20	7
Растворимость кислорода мл/100 мл (об. %), (37°С)	40	45	40	53	—
Период полувыведения, $t_{1/2}$	7	65	90 (60)	4	40

Обозначения: ПФД – перфтордекалин, ПФТПА – перфтортрипропиламин, ПМЦП – перфторметилциклогексилпиперидин, ПФОБ – перфтороктилбромид, ПФДБ – перфтордибутилбромид; ПФД/ПФТПА составляют основу препарата флюосол-ДА, ПФД/ПМЦП – препарата перфторан, ПФОБ/ПФДБ – основа различных марок препарата оксигент.

Таблица 2. Сводные данные по составу препаратов флюосол-ДА (Япония), перфторан (Россия), оксигент (США) [6]

Составные части препаратов	Концентрация (мас. %/объем)				
	Флюосол ДА	Перфторан	Оксигент		
			AF0104	AF0143	AF0144
ПФД	14	13	—	—	—
ПФТПА	6	—	—	—	—
ПМЦП	—	6.5	—	—	—
ПФОБ	—	—	90	87	58
ПФДБ	—	—	—	3	2
Плюроник F-68 (проксанол-268)	2.72	4	—	—	—
Фосфолипиды	0.4	—	4	5.4	3.6
Калия олеат	0.032	—	—	—	—
Буфер	CO_3^{2-}	CO_3^{2-}	PO_4^{3-}	PO_4^{3-}	PO_4^{3-}
Двухвалентные катионы	+	+	—	—	—

Примечание. Различия эмульсионных препаратов, наряду с ПФУ-фазой, касаются в основном водно-солевого состава.

го назначения, а также разработанных физико-химических методов контроля их качества; рассмотреть некоторые теоретические аспекты биофизической химии взаимодействия ПФУ и эмульгатора на основе ФЛ; предложить практические рекомендации получения стабильных структурированных наночастиц на основе ПФУ и ФЛ.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ И ФОСФОЛИПИДОВ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

ПФУ, предназначенные для создания на их основе медицинских препаратов, представляют собой полностью фторированные органические соединения разных классов. По внешнему виду это – прозрачные бесцветные жидкости без запаха, в ~2 раза тяжелее воды. Показатель преломления

этих сред меньше, чем у воды. В табл. 1 приведены физико-химические параметры ПФУ медицинского назначения, в табл. 2 – схематически сведения о составах препаратов, разрешённых к клиническому применению, суммированные в работе [6].

Для всех ПФУ характерно отсутствие химического сродства (химической связи) ПФУ с газами крови. Аномально высокая способность растворять газы – следствие проявления слабых межмолекулярных сил (при прочности внутримолекулярной связи C–F (485.6 кДж/моль)). Содержание O_2 в указанных ПФУ находится в пределах 40–50%, если давление над жидкостью составляет 760 мм. В живом организме парциальное давление $O_2 \approx 150$ мм, соответственно, количество растворённого кислорода будет меньше (закон Генри–Дальтона).

Не обнаружено достоверных связей между молекулярной массой, температурой кипения и

упругостью пара, указывающих на предпочтительный выбор того или иного ПФУ для биологических целей. Однако, особого внимания заслуживает критическая температура растворения ПФУ в гексане ($T_{кр}$); это – температура, при которой смешиваются друг с другом равные объемы исследуемого соединения и гексана. Обычно ее рассматривают как меру относительной растворимости ПФУ в липидах, которая характеризует скорость их прохождения через клеточные мембраны. Чем ниже $T_{кр}$, тем лучше соединение растворимо в липидах, и тем оно быстрее выводится из организма. Величина $T_{кр}$ – один из основных, хотя отчасти и условных, параметров для выбора ПФУ в качестве основы “искусственной крови”, как быстро выводящийся компонент препарата. Для препаратов медицинского назначения длительность пребывания в органах рассматривается как неблагоприятный фактор. Низкие значения этого параметра для ПФД и ПФОБ обуславливает перспективу их включения в состав нового ПФУ препарата.

Фосфолипиды – соединения природного происхождения; чаще всего – эфиры глицерина (трёхатомного спирта), две ОН-группы которого связаны с монокарбоновыми кислотами, третья – с фосфатидной кислотой. Молекулы липидов и фосфолипидов содержат как полярные (гидрофильные), так и неполярные (гидрофобные) группы, т.е. являются амфифильными молекулами и способны образовывать в водной среде различные молекулярные ассоциаты.

Считается, что использование ФЛ в качестве эмульгатора ПФУ при диспергировании допускает возможность тепловой стерилизации конечного продукта, т.е. эмульсии [7]. Использование водорастворимого эмульгатора плуроника или проксанола для получения ПФУ препаратов-кровезаменителей этому условию не отвечает. Тепловая стерилизация – одно из необходимых требований GMP, направленное на улучшение потребительских свойств любого препарата, предназначенного для внутривенного введения, так как предполагает и обосновывает отсутствие биологических загрязнений в препарате.

Следует отметить, что технология получения и очистки ПФУ относится к числу трудоёмких и энергозатратных производств. Трудно ожидать, что в ближайшее время будут синтезированы новые ПФУ, идеально пригодные для использования в биологии и медицине. Рассмотрение и анализ материаловедческих свойств изученных в настоящее время ПФУ и ФЛ показало следующее. Теоретически разработка новых стабильных наночастиц ПФУ может идти по пути создания сложных композиционных структур и перфторуглеродной основы частиц, и эмульгирующего состава ФЛ. Определенное построение внутрен-

ней структуры компонентов открывает возможность управлять их физико-химическими и поверхностными свойствами и создавать новые биоматериалы, т.е. стабильные наночастицы ПФУ.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И СТРУКТУРА НАНОЧАСТИЦ ПФУ

Для использования в медико-биологических целях ПФУ диспергируют в водной среде в присутствии ПАВ, которые образуют на поверхности частиц структурно-механический барьер и обеспечивают, тем самым, сохранение их стабильности. “Реальные” эмульгированные частицы ПФУ имеют структуру двухслойного шара (корпускулы), в центре которого находится ПФУ (агрегатное состояние – жидкость), образующего ядро частицы. На поверхности корпускулы расположен слой эмульгатора [8]. Состояние оболочки эмульгатора, её структура зависит как от природы ПФУ, так и от природы эмульгатора. На это обстоятельство впервые обратили внимание японские учёные при изучении различных марок препарата флюозол [9].

Согласно теоретическим [8] и экспериментальным [9] результатам, толщина поверхностного слоя эмульгатора, содержащего ФЛ, находится в пределах ~5–10% от среднего диаметра частиц. Таким образом, толщина поверхностного слоя ПАВ для частиц диаметром 100–200 нм ориентировочно сопоставима с модельными структурами клеточных мембран или бислойных липидных плёнок [10].

Следует отметить, что газы O_2 , CO_2 и др. не образуют комплексов с молекулами ПФУ. Главное условие выполнения частицами ПФУ газотранспортной функции при циркуляции в сосудистом русле – сохранение корпускулярной природы частиц, т.е. два свойства наночастиц ПФУ (функциональная активность и стабильность) тесно связаны друг с другом.

Количество любого газа, содержащегося в эмульсии ПФУ, может быть рассчитано в соответствии с физическими законами их растворимости, исходя из парциального давления газа и объемного соотношения фракций ПФУ/ H_2O [11]. Формально физико-химические законы транспорта газов эмульсиями ПФУ, доказанные на различных моделях в опытах на животных и в условиях *in vitro*, выполнимы для этих сред и в условиях *in vivo*. Вместе с тем, с точки зрения биофизики, попадание частиц ПФУ в сосудистое русло означает для них дополнительное нежелательное воздействие окружающей среды. Вследствие этого “стресс-воздействия”, из-за разведения среды и взаимодействия с биологическими структурами плазмы и клетками крови, поверхностные свойства частиц, их стабильность изме-

нятся, что может оказать непредсказуемое влияние на нормальные условия доставки газов в этих “экстремальных” условиях.

Ясно, что для ПФУ-препаратов медико-биологического назначения необходимо ввести и использовать понятие структуры наночастиц для оценки стабильности *in vitro*, что имеет прогностическое значение для сохранения корпускулярности частиц *in vivo* [12].

Для теоретического описания и анализа изменений структуры наночастиц выделены следующие представления и предложен адекватный информационный аппарат (т.е. конкретная прикладная биоинформатика) для оценки их качества, который включает определение следующих физико-химических параметров [13, 14]:

– размер и распределение частиц по размерам, весьма информативен для этих целей метод спектра мутности [15, 16];

– однородность природы частиц в эмульсии, которая связана с особенностью свойств используемых соединений ПФУ и ФЛ: ПФУ практически не растворимы в воде и являются плохими растворителями для большого числа веществ, в том числе и для ФЛ [17, 18] (Вследствие этого в эмульсии могут присутствовать два типа частиц: частицы с прочной связью ФЛ с фторуглеродным ядром частиц и свободные или липосомальные ФЛ. Однородность природы частиц характеризуется совпадением (в пределах погрешности измерений) экспериментальных и расчётных значений мутности: $\tau_{\text{экс}}$ и $\tau_{\text{расч}}$) [19].);

– сохранение поверхностных свойств частиц в определённом интервале значений, который определяют с помощью косвенного параметра — индекса взаимодействия эмульгированных наночастиц с модифицированной сывороткой крови K_t [20].

Наблюдение за комплексом указанных физико-химических параметров характеризует сохранение (или изменение) целостности структуры частиц и имеет определенную предсказательную силу, характеризующую качество препаратов (стабильность и реактогенность) [12].

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОСТРОЕНИЯ СТАБИЛЬНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПФУ

Все препараты на основе эмульгированных наночастиц ПФУ по определению — метастабильные среды. Их стабильность определяется прочностью структурно-механического барьера вокруг перфторуглеродной поверхности частиц. Попытки ряда исследователей идти по пути подбора оптимального ФЛ-эмульгатора не увенчались успехом [21]. Постановка и решение этого вопроса выходит за рамки классической коллоид-

ной химии. Здесь требуются более широкий подход, который можно отнести к методам биофизической химии или мембранологии, и создание биомембранной поверхности частиц [10].

Успешное решение этого вопроса сводится к постановке и решению двух самостоятельных задач. Во-первых, модификации перфторуглеродной основы путем введения другой ПФУ-добавки, которая способна увеличить силу взаимодействия (адгезию) между модифицированной основой частицы и эмульгатором, т.е. ФЛ. Во-вторых, модификация свойств молекул эмульгатора ФЛ путем перевода их в другую форму с изменением их стерической ориентации в эмульгирующей водной среде.

В случае синергизма взаимодействия модифицированных компонентов ПФУ и эмульгирующей среды может быть получен ожидаемый эффект: увеличение стабильности структуры новых наночастиц ПФУ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СТАБИЛЬНЫХ СТРУКТУРИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ И ФОСФОЛИПИДОВ

Этап 1. Обоснование модифицированного состава ПФУ-фазы наночастиц. Анализ биофизических свойств ПФУ-материалов (табл. 1) показал, что наиболее перспективными компонентами для новой среды могут быть ПФД или ПФОБ, как наиболее быстро выводящиеся из организма соединения. Из всех названных ПФУ только ПФОБ вследствие самых низких значений $T_{\text{кр}}$ имеет хороший контакт и частичную взаимную растворимость с ФЛ. Вместе с тем, именно благодаря этому свойству организация структурно-механического барьера для частиц ФЛ/ПФОБ не является достаточно жесткой, не обладает “упругостью” и не может обеспечить сохранение целостности структуры при различного рода воздействиях. Поэтому в качестве основного компонента, пригодного для модификации внутренней структуры наночастиц следует выбирать ПФД. Для увеличения его слабого контакта с ФЛ к фазе ПФД в качестве добавки в наших работах был использован ПФОБ. Кроме того, известно стабилизирующее действие ПФТПА в качестве дополнительного агента в составе ПФД-фазы эмульсии для препаратов флюосол и перфторан (табл. 2). Этот принцип использования второго компонента, замедляющего процесс разрушения эмульсий ПФУ по Оствальду, используется при получении всех разработанных ПФУ-препаратов. В результате для модификации основного компонента ПФД в частицах целесообразно использовать смешанную добавку ПФОБ/ПФТПА.

Выбранная двухкомпонентная добавка ПФОБ/ПФТПА обладает двумя противоположными, отличными по форме, механизмами стабилизации фазы ПФД-наночастиц. Во-первых, внутренним механизмом: увеличение силы сцепления молекул ФЛ, как эмульгатора, вокруг частиц с молекулами ПФД и ПФОБ внутри частиц. Во-вторых, внешним механизмом: замедлением процесса молекулярной перегонки молекул ПФД через водную среду по Оствальду за счёт ПФТПА. Этот смешанный двойственный механизм является новым, неизвестным и существенным признаком стабилизации инфузионных сред на основе ПФД/ФЛ.

Этап 2. Модификация эмульгирующей способности фосфолипидов по отношению к перфторуглеродам. Принципиальным является вопрос, насколько могут ФЛ обеспечить прочность структурно-механического барьера вокруг эмульгированных частиц, поскольку ФЛ не растворимы в воде и не являются хорошими липофильными агентами для различных ПФУ. Теоретически увеличение прочности связи молекул ФЛ с ПФУ может быть достигнуто путем создания направленной ориентации гидрофобной части молекул ФЛ по отношению к ПФУ. Известно, что при низкой концентрации взвеси ФЛ в водной среде образуются простые липосомы [10]. В этом случае гидрофобные части молекул ФЛ, “головки”, находятся с внешней стороны липосомы, а гидрофильные части “хвосты” обращены внутрь. В таком состоянии гидрофобная часть молекул ФЛ стремится к гидрофобным молекулам ПФУ. Вследствие этого ФЛ в липосомальной форме обладают большей поверхностной активностью (адсорбцией) прилипания к поверхности ядра частиц, т.е. к ПФД. В результате при определенном соотношении фаз ПФД/ФЛ (липосомальная форма) прикрепленные молекулы ФЛ выполняют роль структурно-механического барьера. При этом липосомы в качестве самостоятельной субстанции в водной среде эмульсии отсутствуют.

Сохранение корпускулярности наночастиц при разного рода воздействиях зависит еще и от стабильности “микроструктуры” адсорбционного ФЛ-слоя, т.е. от прочности межмолекулярных связей молекул ФЛ. В соответствии с основными положениями мембранологии и биофизики мембран [10], увеличение прочности собственной липосомальной структуры ФЛ может быть достигнуто с помощью их полимеризации, а также путем усложнения состава липидного эмульгатора за счет введения дополнительного компонента (адьюванта), который может встраиваться в межмолекулярные фосфолипидные образования. По сути оба приема – это моделирование ситуации в биомембранах.

Следует отметить, что технологически оба этапа представляют первоначально два самостоятельных процесса, которые в дальнейшем объединяются: подготовленную ПФУ-смесь компонентов диспергируют в водном липосомальном эмульгаторе ФЛ с помощью гомогенизатора высокого давления. Это – общепринятый приём. Конечный результат зависит от типа оборудования, применения допустимых режимов диспергирования, а также от температурного фактора в реакторе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем аналитическом обзоре подчёркивается важность сохранения структуры наночастиц ПФУ в обеспечении эффективности эмульсионного биопрепарата. Это – новый подход в решении проблемы. Ранее (20 век) разработчики указанных препаратов (табл. 2) данный аспект не рассматривали и не учитывали. Выдвинутое в наших исследованиях понятие структуры наночастиц ПФУ для биопрепарата имеет ключевое значение. В этом случае становится возможным рассматривать отдельно физико-химические свойства элементов структуры и обосновывать роль их взаимодействия для построения стабильной структуры частиц в целом.

Сформулированные нами рабочие теоретические принципы и практические аспекты их применения были использованы в наших исследованиях [22, 23]. Показано, что наночастицы ПФД/ФЛ, полученные нами согласно приведённым рекомендациям, сохраняют критические параметры в течение одного-двух лет хранения в замороженном состоянии при $\sim +4$ С. Сохраняются следующие физико-химические параметры: средний диаметр и распределение частиц по размерам, однородность природы эмульгированных частиц, а также их поверхностные свойства, т.е. сохраняется корпускулярная природа частиц (или структура двухслойного шара [7]). Полученные экспериментальные результаты доказывают правомерность приведенных теоретических положений о перспективах создания сложных композиционных материалов как компонентов двухслойных частиц ПФУ. Последнее обстоятельство позволяет решать прикладные технологические задачи получения стабильных ПФУ-биопрепаратов.

В литературе мы не встретили сведений об обоснованных подходах увеличения стабильности эмульсионных ПФУ-препаратов, а также о работах, в которых был бы достигнут подобный уровень стабильности наночастиц ПФУ при сохранении их структуры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Riess J.G. // Chemical Review. 2001. Т. 101. Р. 2797.

2. Кузнецова И.Н. // Хим.-фарм. журн. 2003. Т. 37. № 8. С. 20.
3. Coch C.S., Cushing M.M. // Crit. Care Clin. 2009. V. 2. P. 399–414. 2008.12.007
<https://doi.org/1016/j/jccc>
4. Henkel-Hanke T., Oleck M. // Am. As. Nurse Anesthetist J. 2007. V. 75. № 3. P. 205.
5. Маевский Е.И., Аксёнова О.Г., Богданова Л.А. и др. // Вестн. службы крови России. 2001. № 4. С. 23.
6. Riess J.G., Flaim S.F., Klein D.H., Weers J.G. // Сб. науч. трудов: Физиологическая активность фторсодержащих соединений (эксперимент и клиника). Пушкино, 1995. С. 73–90.
7. Lowe K.C. // Art. Cells, Blood Substit., Immobil. Biotech. 2000. Т. 28. № 1. P. 25.
8. Кузнецова И.Н., Безрукова А.Г., Лопатин В.Н. и др. // Биофизика 1988. Т. 33. № 1. С. 126.
9. Naito R., Yokoyama K. Perfluorochemical Blood Substitutes. Technical Information Series No. 5. The Green Cross Corporation. 1–47, Chome, Joto-ku, Osaka, Japan, 1978.
10. Накагаки М. Физическая химия мембран. М.: Мир, 1991. 254 с.
11. Кузнецова И.Н. // Хим.-фарм. журн. 1988. № 9. С. 1039.
12. Kuznetsova I.N. // J. Physics: Conference Series. 2011. V. 291. P. 012022.
<https://doi.org/10.1088/1742-6596/291/012022>
13. Кузнецова И.Н. Функциональная активность и стабильность эмульсий перфторуглеродов: Дис. ...докт. биол. наук. СПб.: Рос. НИИ гематологии и трансфузиологии, 1999. 319 с.
14. Kuznetsova I.N. // Current Bionanotechnology. 2015. V. 1. P. 51.
15. Кленин В.И., Щеголев С.Ю., Лаврушин В.И. Характеристические функции светорассеяния дисперсных систем. Саратов: Изд-во Саратовск. ун-та, 1977. 177 с.
16. Кузнецова И.Н., Кругляк З.А. // Хим.-фарм. журн. 1987. Т. 31. № 12. С. 1492.
17. Задымова Н.М., Цикурина Н.Н., Потешина М.В. // Коллоидн. журн. 2003. Т. 65. № 3. С. 347.
18. Sole-Violan L., Devallez B., Postel M. et al. // New J. Chem. 1993. V. 17. № 8–9. P. 581.
19. Кузнецова И.Н., Юрченко В.С., Кочеткова Г.А. // Хим.- фарм. журн. 2009. Т. 43. № 7. С. 34.
20. Кузнецова И.Н., Гохман Н.С., Лаврова Ю.В. // Журн. физ. химии. 1993. Т. 67. № 9. С. 1884.
21. Tarara T.E., Malinoff S.H., Pelura T.J. // Artificial Cells, Blood Substitutes, and Immobilization Biotechnology, 1994. V. 22. № 4. С. 1287.
22. Кузнецова И.Н., Юрченко В.С., Кочеткова Г.А. // Хим.- фарм. журн. 2012. Т. 46. № 2. С. 52. Kuznetsova I.N., Yurchenko V.S., Kochetkova G.A. // Pharmaceutical Chemical Journal. 2012. V. 46. № 2.
<https://doi.org/10.1007/s11094-012-0745-9>
23. Кузнецова И.Н., Старицына Н.Н., Лянгузов А.Ю. // Журн. физ. химии. 2020. Т. 94. № 3. С. 443. Kuznetsova I.N., Staritsyna N.N., Lianguzov A.Yu. // Russ. J. Phys. Chem. A. 2020. V. 94. № 3. P. 608.
<https://doi.org/10.1134/S0036024420020211>
<https://doi.org/10.31857/S0044453720020211>