

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_ Е. И. Шишацкая

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020 г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 – Биология

**ДЕТЕКЦИЯ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРИГИДРИТА В БИОЛОГИЧЕСКИХ  
ОБРАЗЦАХ МЕТОДОМ ЯМР-СПЕКТРОМЕТРИИ**

Научный руководитель \_\_\_\_\_  
подпись, дата

к.м.н., доцент А. В. Барон

Научный руководитель \_\_\_\_\_  
подпись, дата

д.б.н., доцент Е.В. Инжеваткин

Выпускник \_\_\_\_\_  
подпись, дата

М.В. Лошкарева

Красноярск 2020

## РЕФЕРАТ

Бакалаврская работа по теме «Детекция наночастиц ферригидрита в биологических образцах методом ЯМР-спектроскопии» содержит 48 страниц текстового документа, 19 рисунков, использовано 56 источников литературы.

Ключевые слова: наночастицы ферригидрита; ЯМР-спектроскопия, мыши, внутривенное введение, распределение в организме.

Цель работы: детекция наночастиц ферригидрита в биологических образцах методом ядерно-магнитного резонанса и оценка их распределения в тканях организма.

Для ответа на вопрос о возможности использования наночастиц ферригидрита в медицине необходимо понимание особенностей их распределения в организме после введения. Проводилась оценка возможности количественного определения наночастиц ферригидрита в образцах биологических тканей методом ЯМР-спектроскопии. Исследовалось содержание наночастиц ферригидрита в различных органах лабораторных животных после внутривенного введения методом ЯМР-спектроскопии. Подтверждались особенности распределения наночастиц ферригидрита в различных органах лабораторных животных после внутривенного введения гистологическими методами.

Доказана возможность использования метода ЯМР-спектроскопии для определения содержания наночастиц на основе ферригидрита в образцах биологических тканей. В течение суток после внутривенного введения количество частиц в печени, почках и селезенке достигает максимального уровня. При этом наибольшее количество наночастиц аккумулируется в печени. С использованием ЯМР-томографии показано, что наночастицы ферригидрита распределяются в печеночных балках. Гистологические исследования позволяют выявлять наличие наночастиц ферригидрита в различных тканях животных, а также вызванные ими повреждения тканей.

## Содержание

Введение.....	4
1 Обзор литературы .....	6
1.1 Возможности биомедицинского применения наночастиц .....	6
1.2 Получение и структура наночастиц ферригидрита бактериального происхождения .....	8
1.3 Структура и свойства наночастиц ферригидрита с арабиногалактаном, полученных химическим способом .....	11
1.4 Методы обнаружения наночастиц ферригидрита.....	13
1.5 Возможности биомедицинского применения ферригидрита .....	15
2 Материалы и методы.....	20
2.1 Оценка возможности детекции наночастиц ферригидрита в биологических образцах методом ЯМР-спектromетрии .....	21
2.2 Оценка распределения наночастиц ферригидрита в организме лабораторных животных после внутривенного введения методом ЯМР-спектromетрии .....	22
2.3 Оценка распределения наночастиц ферригидрита в организме лабораторных животных после внутривенного введения методом ЯМР-томографии .....	22
2.4 Гистологическая оценка распределения наночастиц в организме лабораторных животных .....	22
2.5 Статистическая обработка результатов .....	23
3 Результаты.....	24
3.1 Оценка возможности детекции наночастиц ферригидрита в биологических образцах методом ЯМР-спектromетрии .....	24
Заключение .....	24
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....	27

## Введение

В настоящее время одним из самых быстро развивающихся направлений исследований во всем мире является нанотехнология. Малые размеры частиц обуславливают появление новых, ранее неизвестных свойств наноматериалов. Например, для таких материалов могут быть характерны новые оптические, электрические, температурные свойства и т.д. По мнению многих авторов, использование нанотехнологий в медицине может коренным образом поменять существующие подходы к диагностике и лечению различных заболеваний [1-2].

Так, существуют данные об исследованиях возможного применения наночастиц для лечения интоксикаций, онкологических заболеваний, заболеваний системы крови и др. При этом предполагается, что в отличие от классических лекарственных препаратов, наночастицы могут быть менее токсичными и в ряде случаев более эффективными [3].

В частности, предполагается, что наночастицы, обладающие магнитными свойствами, могут применяться в качестве средства для адресной или управляемой, с помощью внешнего магнитного поля, доставки лекарственных субстанций к очагу патологии с контролируемым высвобождением действующего вещества. Это обеспечит минимизацию побочных эффектов и повышение концентрации действующего вещества непосредственно в очаге патологии [1, 4]. Они также могут использоваться и в качестве самостоятельных терапевтических агентов. Например, магнитные наночастицы на основе ферригидрита в сочетании с внешним переменным магнитным полем могут использоваться для локального нагрева определенных тканей, что может быть использовано для борьбы с новообразованиями [3].

В настоящее время известны различные способы получения магнитных наночастиц, что определяет их физико-химические особенности и характер

взаимодействия с организмом. В частности, существует способ получения биогенных магнитных наночастиц в результате культивирования определенных бактерий. Также существуют различные варианты их химического синтеза [3].

Исследование возможностей биомедицинского применения нанообъектов предполагает обязательную оценку их токсикологических (фармакологических) свойств, в частности, их токсикокинетические (фармакокинетические) характеристики. Это в свою очередь требует наличия надежных методов их обнаружения в организме. Учитывая наличие магнитных свойств, представляется возможным применение методов ядерно-магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопии) для их количественного определения в различных органах и тканях организма, а также ЯМР-томографии. Также весьма интересно определить характер влияния нанообъектов на состояние тканей тех органов, в которых они будут обнаружены, что возможно осуществить с использованием гистологических методик.

Целью работы стала детекция наночастиц ферригидрата в биологических образцах методом ядерно-магнитного резонанса и оценка их распределения в тканях организма.

Задачи:

1. Оценить возможности количественного определения наночастиц ферригидрата в образцах биологических тканей методом ЯМР-спектроскопии.
2. Исследовать содержание наночастиц ферригидрата в различных органах лабораторных животных после внутривенного введения методом ЯМР-спектроскопии.
3. Подтвердить особенности распределения наночастиц ферригидрата в различных органах лабораторных животных после внутривенного введения гистологическими методами.

## **1 Обзор литературы**

### **1.1 Возможности биомедицинского применения наночастиц**

Наночастицы обладают уникальными свойствами и в последнее время им находят все большее применение в различных областях биомедицины. Так, их предлагают использовать в качестве носителей для управляемой или целевой доставки лекарственных субстанций к патологическому очагу в организме пациента, а также при создании различных систем диагностики *in vitro*, и в качестве контрастирующих агентов для томографии [5-7].

Наночастицы могут иметь различное химическое строение, отличаться друг от друга своими размерами, они могут быть разной формы и обладать различными свойствами. Наночастицы – это сложные многокомпонентные структуры, иногда они многослойны, и каждый слой может обладать разными химико-физическими свойствами. В биологии и медицине имеется широкий диапазон наночастиц, которые используют. Так, например, липосомы – наносферы, заключенные в липидную оболочку. В отличие от других наночастиц они имеют большие размеры. Лекарство в таких наночастицах может помещаться на липидной оболочке, либо внутри частицы [1].

Существуют полимерные наночастицы, например, полимерные мицеллы, которые имеют размер примерно 10 нм [8]. Полисахаридные наночастицы также используют для доставки лекарств [9].

В настоящее время так же большое внимание уделяется наноалмазам, которые рассматриваются как многообещающий материал, который был впервые разработан российскими учеными. Совокупность физико-химических свойств этих наночастиц, таких как химически полиморфная активная поверхность и возможности ее химической модификации, малая токсичность и высокая биосовместимость позволяют прогнозировать их применимость в биотехнологических и биомедицинских целях [2].

Керамические наночастицы имеют пористую структуру, в основу которой входит алюминий, титан, и кремний. Эти наночастицы чаще используют при лечении опухолевых заболеваний [10].

Для диагностирования заболеваний магнитно-резонансными методами используют наночастицы оксида железа, которые покрываются специальной защитной пленкой. Эти наночастицы могут обладать парамагнитными свойствами [11].

Также существуют композитные наночастицы, они имеют в своем строении металлическую оболочку и ядро. Эти частицы применяют для доставки лекарств, но для того чтобы оболочка раскрылась нужно воздействие температуры или излучение [12].

Нанокристаллы предложено применять для лечения ран на коже. Наночастицы серебра обладают антибактерицидным свойством, которые имеют размер 10-30 нм [13].

Фуллерены представляют собой одну из аллотропных модификаций углерода. Самый маленький фуллерен имеет 60 атомов углерода и размер всего 1 нм. Другие фуллерены достигают размеров чуть больше 10 нм. Фуллерены так же могут проявлять антиоксидантные свойства и потенциально считаются хорошим носителем для лекарств и радиоактивных меток [14].

Углеродные нанотрубки – это наночастицы, свернутые в форме цилиндров. Они могут быть однослойными или многослойными, а в размерах (в длину) могут достигать 1000 нм. Этот материал обладает высокой электропроводностью и прочностью. Чаще всего углеродные нанотрубки рассматривают в качестве носителей лекарств [15].

Флуоресцентными свойствами обладают квантовые наночастицы. Их размеры могут достигать 100 нм. Эти частицы используют в диагностике опухолевых заболеваний, а также для контроля активности клеток и тканей [1].

## 1.2 Получение и структура наночастиц ферригидрита бактериального происхождения

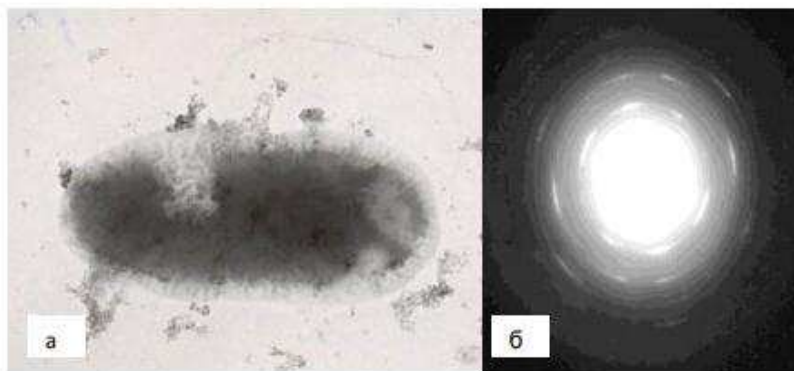
Среди живых организмов, магнитные наночастицы встречаются не только в бактериях, но так же в насекомых, водорослях, клетках птиц и млекопитающих [16-21]. Насекомые, рыбы, птицы и дельфины обладают способностью ориентироваться по магнитному полю Земли. Есть предположение, что магнитными рецепторами являются кристаллы магнетита, обнаруженные в клетках животных [22,17]. Микроорганизмы, которые принадлежат к роду *Leptothrix*, способны производить наночастицы оксидов железа, такие как ферригидрит или лепидокрокит [23].

В Красноярском научном центре СО РАН магнитные наночастицы получают в результате культивирования бактерий *Klebsiella Oxytoca*, выделенных из сапротеля озера Боровое Красноярского края. В озере отсутствуют процессы сульфатредукции и есть механизмы денитрификации и железовосстановления. В озере отбирали сапротель и пропускали его через магнитный сепаратор. Далее микроорганизмы помещались на агаризованную среду и выращивались в анаэробных условиях для получения колоний. Бактерии выращивали на минеральносолевой среде, содержащей необходимые для их роста N, P, K, Mg, S. [24-26]. Биомасса бактерий отделялась на ультразвуковом дезинтеграторе для того, чтобы выделить магнитные частицы. Для отделения частиц использовали самарий-кобальтовые магниты. Наночастицы имеют на своей поверхности органическую оболочку. Наличие такой органической оболочки говорит о биологическом происхождении магнитных частиц. На рисунке 1 (а) можно увидеть снимок бактерии, которая была выращена в культуре в течение 15 дней. На рисунке 1 (б) представлена картина электронной дифракции кристаллических образований [27].

Бактерии *Klebsiella Oxytoca* в процессе своей жизнедеятельности синтезируют наночастицы минерала ферригидрита  $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ . Ферригидрит есть в тканях человека и животных, там он входит в состав



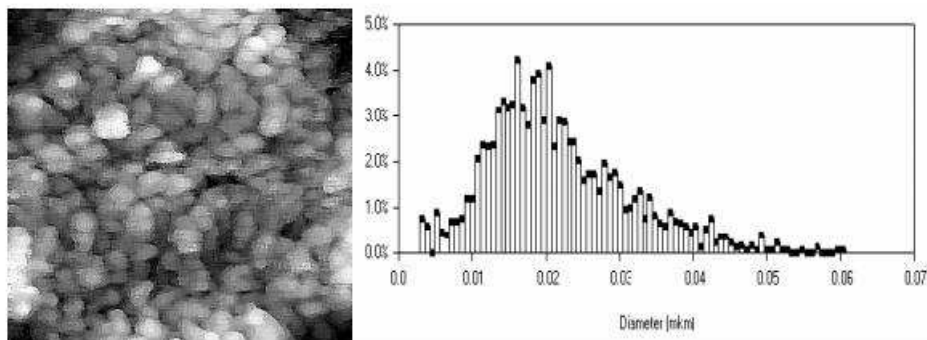
ферритина. Апоферритин – это цитозольный комплекс, представляющий собой капсулу с диаметром около 12 нм, он состоит из 24 полипептидных единиц белка. Внутри апоферритиновой капсулы находится наночастица гидроксида железа.



**-Рисунок 1 - а - Снимок бактерии культуры, выращенной в течение 15 дней, б - Картина микродифракции кристаллических образований, находящихся внутри бактериальной клетки**

Ферритин имеет минеральное ядро, которое имеет выраженную кристаллическую структуру. Ядро ферритина обладает антиферромагнитным спиновым упорядочением атомов трехвалентного железа [27,28]. Ферригидрит относится к веществам антиферромагнетикам. Из-за малого размера частиц магнитные моменты ионов  $Fe^{3+}$ , находящиеся на поверхности частицы, оказываются некомпенсированными, и формируют “паразитный” интегральный магнитный момент отдельной частицы. Суспензию наночастиц осаждали на металлической подложке и затем высушивали. Далее на полученные образцы напыляли вольфрам с использованием магнетронной системы подготовки подложек «МАГ-2000-ВУ» с вакуумным универсальным постом ВУП-4. Тонкая структура наночастиц была изучена с помощью лазерно-зондового сканирующего мультимикроскопа СММ-2000 (ОАО «Завод ПРОТОН-МИЭТ») в режиме, как атомно-силовой микроскопии, так и сканирующей туннельной микроскопии. На рисунке 2 (а) представлено СТМ-изображение наночастиц, осажденных

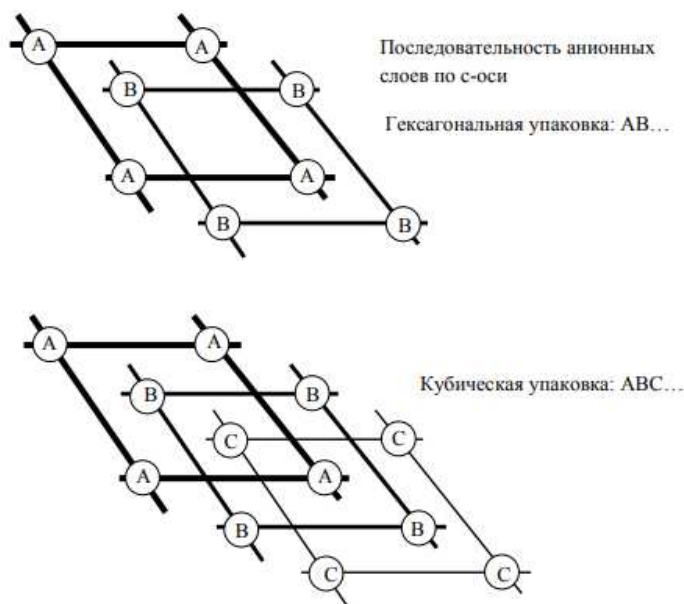
на подложку из суспензии, а на рисунке 2 (б) приведена соответствующая кривая морфологического анализа [28,29].



**-Рисунок 2 - а - СТМ-изображение наночастиц, б – кривая распределения наночастиц по размерам**

Две решетки окисей и гидроокисей формируются с помощью плотной упаковки анионов - ОН-групп и кислородов. Существует два типа упаковок – гексагональной и кубической формы. В ферригидрите имеются два типа анионных упаковок. Кубическая упаковка состоит из двухслойного железа Fe1 – у которой, два соседних слоя октаэдров заняты железом. У гексагональной упаковки формируется однослойное железо Fe2 у которой, один слой состоит из октаэдров занятых железом, а второй слой состоит из пустых октаэдров. Чередование кубических и гексагональных слоев может быть случайное (это может зависеть от условий синтеза), так же это влияет на чередование позиций Fe1 и Fe2. У стандартного ферригидрита позиции Fe1 и Fe2 заселены соотношением 2:1. Это означает, что на одну кубическую упаковку приходится один слой гексагональной упаковки анионов. На рисунке 3 стандартный ферригидрит должен иметь анионную упаковку АВАС. Но если химический сдвиг больше величины, то это говорит о том, что ферригидрит пересыщен водой.

Проведенные исследования термообработки бактериального ферригидрита показывают нам, что данная фаза является неустойчивой, но может сохраняться в длительном времени. Новые магнитные свойства формируются у ферригидрита в процессе отжига [29,30].



-Рисунок 3 – Схемы гексагональной и кубической упаковок анионов

### 1.3 Структура и свойства наночастиц ферригидрита с арабиногалактаном, полученных химическим способом

Магнитные наночастицы железа получают химическим осаждением. Эти нанокристаллы представлены в виде квадратных пластин со средним размером около 25 нм. У этого феррита как и у бактериального ферригидрита есть тетраэдрические и октаэдрические варианты, которые обозначаются как А и В. Это наночастица имеет на своей поверхности гидроксильные и водородные радикалы. Эти частицы имеют толщину около 5 нм. Так же эти частицы могут быть использованы при гипертермии (разогреве) клеток [50].

Частицы имеют высокое значение намагниченности. Эти частицы представляют из себя смесь сферической формы и наностержней. Частицы со сферической формой, диаметр которых 5–6 нм, являются суперпарамагнетиками, а частицы похожие на стержни диаметром примерно 5 нм магнитными. Магнитные наночастицы имеют высокоактивную поверхность, которая приводит к высокой сорбционной способности. Химический ферригидрит может быть использован в качестве материала-

носителя для целевой доставки лекарств, а также для высокоспецифичных и высокочувствительных биосенсоров и сорбентов для обнаружения или поиска биомолекул в биологической жидкости. При низких частотах  $\sim 1$  кГц происходит механическое колебание магнитных наночастиц. В переменном магнитном поле эти частицы могут быть использованы в наноразмерной хирургии в качестве ножа для разрушения клеток. Такие наноразмерные образцы представляет собой смесь двух типов частиц: первый тип - это сферические частицы со средним диаметром – 5–6 нм, а второй - стержни с диаметром 5 нм и длиной 30 нм. В тетраэдрическом и октаэдрическом положении стоят катионы  $Fe^{3+}$ . Эти частицы стабильны в коллоидном растворе [51-52].

Более мелкие суперпарамагнитные частицы (с размерами до 20 нм) по сравнению с более крупными ферромагнитными (частицами в заблокированном состоянии) характеризуются на порядки меньшим магнитным моментом и нулевым магнитным гистерезисом. Было показано, что нанокристаллы магнетита в форме квадратных пластин с высоким аспектным отношением (1/9) характеризуются константой магнитной анизотропии, в несколько раз превышающей константу сферических частиц магнетита, что приводит к повышенным гистерезисным характеристикам при сохранении малого объема частицы. Наночастицы имеют форму квадратных пластин со средними размерами  $90 \times 90 \times 10$  нм. Они представляют собой магнетит со структурой шпинели, содержащий незначительное количество катионных вакансий. Нанобиокомпозиты на основе полисахаридов обладают синергетическим свойством. Наночастицы арабиногалактана - нанокристаллы в виде пластин со средним размером около 25 нм. Магнитные наночастицы имеют высокоактивную поверхность, которая приводит к высокой сорбционной способности таких образцов. Из-за этого они могут быть использованы в качестве материалов-носителей для целевой доставки лекарств и как высокоспецифичные и высокочувствительные биосенсоры и

сорбенты для обнаружения или поиска биомолекул в биологической жидкости [31].

#### **1.4 Методы обнаружения наночастиц ферригидрита**

В данный момент является актуальной проблема выведения магнитных наночастиц из организма после их применения. В настоящее время активно изучается поведение наночастиц в организме: пути и механизмы их распределения и выведения.

Одним из методов, которые могут быть использованы для исследования миграции магнитных наночастиц, является ЯМР-томография. Главное положительное качество этого метода заключается в том, что он позволяет производить прижизненные исследования распределения интересующих частиц, не требует использования радиоактивных материалов, а также позволяет избежать проблем, связанных с трудностью надежной адсорбции к исследуемым частицам и клеткам различных меток, например, GFP [32,33]. Тем не менее, в применении ЯМР-томографии для визуализации клеток с помощью магнитных наночастиц имеются трудоемкие манипуляции, связанные с их долгосрочным отслеживанием, например, стволовые клетки и клетки-предшественники продолжают активно делиться после трансплантации, что приводит к многократному ослаблению сигнала. Также магнитно-резонансная томография не может различить мертвую клетку от живой, а это значит, что этот способ может дать только косвенные сведения о количестве частиц в ткани [32-35].

ЯМР - это физическое явление, используемое для изучения свойств молекул материи путем облучения ядер атомов радиоволнами в магнитном поле.

Мы обнаруживали на ЯМР-спектрометре зависимость интенсивности сигнала от времени релаксации. Время релаксации - это то время, за которое теряется поперечная составляющая намагниченность за время  $T_2$  и

происходит увеличение продольной составляющей намагниченности за время  $T_1$ .

В гомогенных образцах жидкостей и твердых тел увеличение продольной составляющей намагниченности происходит экспоненциально.

Поперечная релаксация происходит по кривой Гаусса в твердых телах и экспоненциально – в жидкостях, в приближении быстрого молекулярного движения.

### **Устройство ЯМР-спектрометра:**

- Мощный магнит является центром ЯМР-спектрометра. Образец помещается в ампулу, которая заключается между полюсами сильного электромагнита.
- Источником излучения служит радиочастотный генератор. Под действием магнитного поля начинают резонировать ядра.
- Поглощение энергии фиксируется радиочастотным мостом. Частоту увеличивают до тех пор, пока она не достигнет некоего предела, выше которого резонанс невозможен.
- Снимают несколько спектров.
- В современных приборах ЯМР используется метод так называемой импульсной спектроскопии, основанной на фурье-преобразованиях полученного сигнала. В настоящее время все ЯМР-спектрометры строятся на основе мощных сверхпроводящих магнитов с постоянной величиной магнитного поля.
- Так же производят возбуждение ядер с помощью импульса, продолжительностью несколько микросекунд. Для того чтобы все ядра облучались одинаково, используют короткие импульсы большой мощности. Продолжительность импульса выбирают так, чтобы ширина частотной полосы была больше ширины спектра на один-два порядка [36].

## 1.5 Возможности биомедицинского применения ферригидрита

По-видимому, в скором времени наночастицы на основе железа можно будет использовать при лечении злокачественных новообразований. Так, Pushkar Kulkarni и др. разрабатывают новые магнитные наночастицы, которые содержат иринотекан, который используется для лечения злокачественных новообразований кишечника. Также эти частицы могут быть использованы как дополнение для удержания лекарственного средства в легких для максимальной эффективности с использованием внешнего магнита, что может быть выгодным при терапии рака легких. Исследование проводилось как *in vivo*, так и *in vitro* [4].

В работе Utembe W и др. было показано, что оксид железа обладает противовоспалительными свойствами, наночастицы были не токсичны для животных. Детекцию наночастиц в тканях проводили с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) в качестве агента, контрастирующего с опухолью в печени. Железные наночастицы совмещали с маггемитом ( $\gamma$ - $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ). Материал для этих исследований выбирали исходя из того, что он должен быть биodeградируемым, нетоксичным и иметь функциональные группы на поверхности для активных процессов. Количество железа в капсулах определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Железо определяли количественно из супернатата. При вскрытии не наблюдалось значительных особых изменений, результаты были сходны с контрольными животными. Наночастицы определяли в печени, селезенке, почках, легких и в сердце. Результаты показали, что исследованные частицы не токсичны и обладают противовоспалительными свойствами. Также отбирались маркеры для адресной доставки. Предполагается, что эти магнитные наночастицы в будущем могут быть использованы в лечении онкологических заболеваний [37].

В другой работе К.Г. Добрецов и др., изучали воздействие наночастиц на носовой кости и хрящевой ткани с использованием магнитного поля.

Результаты показали, что магнитные наночастицы, помещенные в градиент магнитного поля, могут проникать внутрь хрящевой и костной ткани. Использовалась ткань перегородки носа 10 пациентов. Без воздействия магнитным полем, наночастицы не проникали в хрящевую ткань, но были расположены на краю хряща. При воздействии магнитного поля на наночастицы, они проникали через костные пластинки во все типы тканей. Результаты показывают, что магнитное воздействие на железосодержащие наноматериалы в течение 20 мин приводит к проникновению наночастиц в толщину хрящевой и костной тканей [38].

Wang F. и другие вводили в ткань мышцы декстран и частицы железа, затем отслеживали их в разных промежутках времени. Эксперименты показали, что концентрация наночастиц, содержащихся во вводимом препарате, постепенно снижается в живой ткани. Суспензию декстрана железа вводили перорально, а так же суспензия содержала наночастицы акаганита ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), суспензию соединяли с декстраном и использовали при лечении железодефицитной анемии. Разовую дозу препарата железа и декстрана вводили в спину крысы с помощью подкожной инъекции. После введения, содержание ферритина в организме было выше, чем у контрольных групп. Внутриклеточное железо было обнаружено в лизосомах. Можно сказать, что после введения железо по истечению двух дней начинает убывать. Содержание ферритина увеличивалось через 7 дней. Железо в значительной степени накапливается в макрофагах соединительной ткани [39].

Магнитные наночастицы при воздействии внешнего магнита могут быть использованы для направленного транспорта при доставке лекарственных препаратов и генов, а также для иммобилизации и отделения магнитных меток от биологических объектов. Также более крупные частицы могут быть использованы для высвобождения лекарственных средств или при биологическом зондировании [40].



Наночастицы используют для гипертермии, то есть под воздействием внешнего магнитного поля происходит разогрев наночастиц, что приводит к локальному нагреву определенных тканей, например, новообразований [3].

Гипертермию можно сочетать с лучевой и химиотерапией, тем самым увеличивая эффективность химиолучевой терапии при минимальных дозах [41].

В одном из исследований были использованы высоко лимфотропные суперпарамагнитные наночастицы. МРТ выявил небольшие узловые метастазы у пациентов с раком простаты, этот метод оказался более эффективным в обнаружении опухоли [42].

Так же, магнитные наночастицы с пришитым оксидом железа в сочетании с ближней инфракрасной областью спектра были использованы для удобного наблюдения во время операций опухоли головного мозга [43].

В работе Пахомовой и др. изучали активные формы кислорода (АФК) выделяемые клетками печени крысы при воздействии наночастиц ферригидрита. В результате проведенного исследования показано, что наночастицы биогенного ферригидрита способствуют усилению генерации активных форм кислорода в клетках печени. О генерации АФК в клетках печени судили по параметрам хемилюминесцентной реакции. Введение наночастиц не приводило к изменению тонуса сосудов изолированной печени: перфузионное давление оставалось на уровне контрольных значений, что свидетельствует о нормальной циркуляции жидкости в органе. Также было показано, что добавление биогенного ферригидрита в перфузионный раствор Кребса стимулирует прооксидантную активность в отношении продукции первичных АФК клетками [44].

В другой работе было показано, что биогенные частицы ферригидрита оказывают существенное влияние на эффективность протравителей семян зерновых культур. Наночастицы статистически значимо повышают всхожесть семян овса. Наночастицы биогенного ферригидрита существенно стимулируют рост корней при низких концентрациях порядка 1,5 мг/л [45].

Так в работе Столяра и др. выяснилось, что при ультразвуковой обработке ферригидрита происходит расщепление молекулы воды на свободные радикалы. В результате чего из реакций образуется молекулярный водород ( $H_2$ ), перекись водорода ( $H_2O_2$ ), свободные радикалы  $\bullet H$ ,  $\bullet OH$ ,  $\bullet OH_2$ ,  $\bullet O_2H$ , сольватированные электроны [46].

В другой работе магнетит исследовали в качестве агента доставки лекарств. Суспензию магнетита с инъекцией вводили в лимфатический узел. В ходе опыта не наблюдалось явного скопления наночастиц в таких органах, как печень, селезенка, почки, сердце и легкие. При этом обнаружено, что наночастицы легко проходят через клеточную мембрану.

В другом исследовании Yang et al., к магнитными наночастицам прикрепляли активированный уголь для исследования раковых клеток. Уголь адсорбировали на магнитных частицах и вводили суспензию мышам в хвост. Таким образом, выяснилось, что носитель не оказывал относительно токсического действия на опухолевые клетки. Они не наблюдали уменьшение метастазного лимфатического узла у инъекцированных крыс. [47].

В другой работе использовали магнетитовые катионные липосомные наночастицы, покрытые декстраном. Выяснили, что с их помощью можно эффективно повышать температуру опухолевых клеток. В последние годы такая методика была предложена в качестве одного из потенциальных методов лечения рака. Данные частицы обладают рядом полезных свойств. Во-первых, они обеспечивают нагрев зоны опухоли. Кроме того, данные частицы способны поглощать больше энергии при воздействии переменного магнитного поля. Также их можно использовать в качестве контрастных агентов при ЯМР-исследованиях [48].

В работе Uchiyama и др., 2015 изучали катионный ультрамалый (диаметром 7 нм) суперпарамагнитный оксид железа (ферригидрит) и его пригодность в качестве контрастного агента для магнитного резонанса. Крысам вводили внутривенно суспензию частиц. Частицы не провоцировали

токсических, а также воспалительных процессов в сосудистом русле. Однако было обнаружено повышение концентрации частиц в печени, селезенке и почках. От наночастиц почки и мочевой пузырь очищаются за несколько дней, но полное выведение из печени и селезенки происходит только через 4 недели. Частицы не влияют на почечные и печеночные ферменты, а также на количество лейкоцитов. Кроме того, наночастицы были легко сконцентрированы в бедре крысы магнитом [49].

В другой работе Mohamed M. Fathy прикреплял магнитные наночастицы оксида железа к липосомам (LMNP). Исследователи лечили частицами крыс линии Вистар. Лечение началось с различных соединений железа, вводимых перорально в течение 13 дней. В группах показатели железа в крови имели нормальные значения, а структуры печени, селезенки и почки на гистологических препаратах остаются нормальными. Благодаря сочетанию с липосомами, эти частицы обладают высокой терапевтической активностью [50].

По данным, представленным в статье Edouard Alphanbery, наночастицы оксида железа, в силу своей биосовместимости, могут быть использованы для лечения железодефицитной анемии. При этом было обнаружено, что частицы накапливаются в печени и селезенке, и затем могут выводиться из организма макрофагами и клетками Купфера печени, так же возможно выведение с калом [51].

## 2 Материалы и методы

Работу проводили на базе Международного научного центра исследований экстремальных состояний организма Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» и Красноярского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии».

В работе использовали магнитные наночастицы на основе ферригидрита  $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ , синтезируемые в культуре *Klebsiella oxytoca*, полученные в Красноярском научном центре СО РАН и Институте физики СО РАН. Линейные размеры наночастиц ферригидрита составляют 2–5 нм [46-51].

Также использовали наночастицы ферригидрита, полученные путем химического синтеза методом соосаждения, сферической формы с линейными размерами 10 нм. Для осаждения частиц приготавливался раствор:  $\text{FeSO}_4$  в порошке массой 0,24 г и растворяли его в 100 мл дистиллированной воды. Затем соль  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  растворяли в этих же 100 мл вместе с  $\text{FeSO}_4$ . Далее в этот же раствор добавляли 0,2 г арабиногалактана и затем, по каплям добавляли 25% раствора гидроксида аммония до полного прохождения реакции (раствор становился черным т.к. выпадали частица магнетита) так образовывался коллоидный раствор частиц магнетита в воде. В процессе реакции раствор обрабатывали ультразвуком (частота 22 КГц, мощность 50 Вт/см<sup>2</sup> [52].

Все манипуляции с животными в эксперименте проводили с соблюдением этических принципов обращения с лабораторными животными в соответствии с Российским законодательством и международными нормами. [53,54].

## **2.1 Оценка возможности детекции наночастиц ферригидрита в биологических образцах методом ЯМР-спектromетрии**

В качестве лабораторных животных использовали мышей самцов аутбредной популяции весом  $28 \pm 2$  г, полученных в питомнике Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Новосибирская обл.). Количество на каждую группу составляло 5 – 7 голов.

При получении гомогенатов для анестезии животных применялся эфирный наркоз. С использованием гепарина кровь у животных набирали из подключичной вены, затем животных умерщвляли с помощью цервикальной дислокации. Затем органы помещались в стеклянный гомогенизатор и гомогенизировались с добавлением дистиллированной воды. Вода добавлялась в соотношении: печень 1:1, легкие 1:6, почки 1:4, селезенка 1:10 на массу ткани. Образцы помещали в контейнеры ЯМР-спектрометра Bruker AVANCE DPX 200 (Центр коллективного пользования приборами КНЦ СО РАН), на котором проводили все измерения. Рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение значений интенсивности сигнала и времени релаксации.

Исходная суспензия ферригидрита с концентрацией 560 мг/л разбавлялась бидистиллированной водой в 5 раз и добавлялась в гомогенаты печени и легких. Получены гомогенаты следующих органов: печени, легких. Для построения калибровочных графиков приготавливали несколько образцов с разными разведениями:

1. 50 мкл Fe + 950 мкл гомогената (разведение 1/100);
2. 25 мкл Fe + 975 мкл гомогената (разведение 1/200);
3. 12,5 мкл Fe + 987,5 мкл гомогената (разведение 1/400);
4. 10 мкл Fe + 990 мкл гомогената (разведение 1/500).

Контрольную пробу получали добавлением 200 мкл H<sub>2</sub>O к 800 мкл гомогената тканей. После получения проб осуществляли оценку содержания ферригидрита в гомогенатах методом ЯМР-спектromетрии.

## **2.2 Оценка распределения наночастиц ферригидрита в организме лабораторных животных после внутривенного введения методом ЯМР-спектроскопии**

Для оценки распределения наночастиц ферригидрита в организме лабораторных животных суспензию наночастиц ферригидрита в дистиллированной воде в концентрации 2 мг/мл в пересчете на железо вводили мышам в хвостовую вену в объеме 200 мкл.

Через 1,5 часа, 1 сутки, 7 суток, 14 суток после внутривенного введения наночастиц осуществляли взятие органов: печени, селезенки, легких и почек. Органы гомогенизировали как описано в 2.1. Полученные образцы гомогенатов исследовали с помощью ЯМР-спектрометра Bruker AVANCE DPX 200.

## **2.3 Оценка распределения наночастиц ферригидрита в организме лабораторных животных после внутривенного введения методом ЯМР-томографии**

Суспензию наночастиц ферригидрита лабораторным животным (мышам) вводили, как описано в 2.2. Томографические исследования были выполнены с использованием ЯМР-томографа на базе Bruker AVANCE DPX 200. Исследования проводили через 2 суток после внутривенного введения наночастиц в организм лабораторных мышей.

## **2.4 Гистологическая оценка распределения наночастиц в организме лабораторных животных**

Исследования проводились на половозрелых самцах крыс породы Вистар, массой тела 200-250 г. Содержание и манипуляции над животными

проводили в соответствии с основными этическими принципами в сфере биоэтики [53,54]. В опытах был использован водный золь наночастиц ферригидрита  $Fe_2O_3 \cdot nH_2O$ . Концентрация золя  $Fe^{3+}$  использовавшаяся в эксперименте, синтезируемого в культуре *Klebsiella oxytoca*, составляла 2.4 г/л. Дозы введения препарата были подобраны таким образом, чтобы обеспечить одинаковое количество железа при однократном введении каждому лабораторному животному. Для эксперимента, в частности, была выбрана многократная доза введения ферригидрита по 0.2 мл на одно животное каждые 8 дней в течение 1-го месяца.

Водный золь вводили внутримышечно в область бедра. В соответствии с задачами исследования лабораторные животные были разделены на 2 группы (в количестве по 8 голов): 1) контроль; 2) животные, которым вводили водный золь наночастиц ферригидрита.

По окончании эксперимента всех животных подвергали эвтаназии с дальнейшим проведением гистологического изучения образцов тканей печени, селезенки, почки и легких. Гистологические препараты готовили по общепринятым методикам с последующим их окрашиванием для обзорных целей гематоксилином и эозином, а так же использовали метод Перлса для выявления железа с помощью реакции берлинской лазури.

## **2.5 Статистическая обработка результатов**

По результатам исследования в пакете электронных таблиц MS Excel была сформирована база данных, на основе которой производился статистический анализ. Для полученных данных определяли среднее арифметическое значение ( $\bar{X}$ ), ошибку средней арифметической ( $m$ ). Проверку гипотезы о статистической достоверности различий выборок проводили с помощью критерия Манна-Уитни [55].

## **3 Результаты**

### **3.1 Оценка возможности детекции наночастиц ферригидрита в биологических образцах методом ЯМР-спектromетрии**

Из текста бакалаврской работы изъятые результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

### **Заключение**

Известно, что наночастицы различной природы могут иметь большое значение в развитии промышленных технологий и в области биотехнологий. В медико-биологической сфере с использованием наночастиц связывают надежды на создание прорывных технологий диагностики и лечения ряда социально-значимых заболеваний. В настоящее время наночастицы находятся на стадии изучения и исследования, но позже с накоплением знаний частицы будут входить в нашу жизнь.

Для ответа на вопрос о возможности и целесообразности использования наночастиц ферригидрита в области биомедицины необходимо понимание возможностей их выведения из организма после использования, а также характера распределения наночастиц в организме при различных способах введения.

Таким образом, целью настоящей работы стала детекция наночастиц ферригидрита в биологических образцах методом ядерно-магнитного резонанса и оценка их влияния на состояние тканей организма.

В результате работы было установлено, что зависимость сигнала ЯМР-спектрометра носит линейный характер от концентрации, что подтверждает возможность использования метода ЯМР-спектromетрии для определения содержания магнитных наночастиц в образцах биологических тканей.

В течение суток после внутривенного введения количество частиц в печени, почках и селезенке достигает максимального уровня. При этом



наибольшее количество наночастиц аккумулируется в печени. К 14-м сут в печени и селезенке количество наночастиц снижается. В почках наблюдается повышенный относительно контроля уровень частиц в течение всего исследованного периода. В легких содержание наночастиц достигает наибольшего уровня через 7 сут после внутривенного введения. Через 90 минут после внутривенного введения наибольшее количество наночастиц обнаруживается также в печени.

Данные томографии позволяют сделать вывод, что наночастицы ферригидрита распределяются в печеночных балках. Однако полученные данные не дают ответа на вопрос, включаются ли наночастицы в печеночные клетки или находятся во внеклеточном пространстве. В остальных исследованных нами органах с помощью томографии наночастицы не были визуализированы, что, по-видимому, связано с недостаточным разрешением использованного прибора.

Гистологические исследования позволили выявлять наличие наночастиц ферригидрита в различных тканях животных и обнаружить вызываемые ими патологические изменения.

Таким образом, ЯМР-спектметрия является методом, позволяющим детектировать наночастицы ферригидрита в биологических тканях животных после внутривенного введения и количественно определять их включение в ткани, оценивать их распределение в организме и токсикокинетические характеристики. Сочетание методов ЯМР-спектметрии и гистологических методов позволяет оценить влияние наночастиц на органы животных.

## Выводы

1. Зависимость интенсивности сигнала от времени релаксации носит экспоненциальный характер во всех экспериментальных группах и в контрольной группе.

2. Концентрационные зависимости носят линейный характер, что подтверждает возможность использования метода ЯМР-спектроскопии для определения содержания магнитных наночастиц в образцах биологических тканей.
3. В течение суток после внутривенного введения количество частиц в печени, почках и селезенке достигает максимального уровня. При этом наибольшее количество наночастиц аккумулируется в печени.
4. С использованием ЯМР-томографии показано, что наночастицы ферригидрата распределяются в печеночных балках.
5. Гистологические исследования позволяют выявлять наличие наночастиц ферригидрата в различных тканях животных, а также вызванные ими повреждения тканей.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Инжеваткин, Е.В. Оценка эффективности применения ассоциированных с ампициллином биогенных наночастиц ферригидрата в сочетании с магнитным полем для местного лечения ожоговых ран / Е.В. Инжеваткин [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2020. -№ 5.-С. 614-618.
2. Инжеваткин, Е.В. Использование ЭПР-спектрометрии для выявления наноалмазов в биоматериалах и изучения их распределения в организме животных после внутривенного введения / Е.В. Инжеваткин, А.В. Барон, Н.Г. Максимов, М.Б. Волкова, А.П. Пузырь, Н.О. Ронжин, В.С. Бондарь // Актуальные вопросы биологической физики и химии // 2018. Т. 3. № 1. С. 183-188.
3. Kouhpanji, M.R.Z. A Guideline for Effectively Synthesizing and Characterizing Magnetic Nanoparticles for Advancing Nanobiotechnology: A Review / M.R.Z. Kouhpanji [et al.] // MDPI. - 2020. – №20. – p. 9. doi: 10.3390/s20092554.
4. Pushkar Kulkarni. Magnetic nanoparticle formulation for targeted delivery of chemotherapeutic irinotecan to lungs / Pushkar Kulkarni [et al ] // Drug Delivery and Translational Research.-2018.-№10.-p.24-34.
5. Syed Mohd Danish Rizvia. Gold nanoparticles: A plausible tool to combat neurological bacterial infections in humans / Syed Mohd Danish Rizvia [et al.] // Biomedicine & Pharmacotherapy.-2018.-№107.-p.7-18.
6. Chakravarty S. Tantalum oxide nanoparticles as versatile contrast agents for X-ray computed tomography / Chakravarty S [et al.] // Royal society of Chemistry.-2020.-№12.-p. 7720-7734.
7. Mahsa Tarantash. Preparation, characterization and in vitro anticancer activity of paclitaxel conjugated magnetic nanoparticles / Mahsa Tarantash [et al.] // Drug Development and Industrial Pharmacy.-2018.-0363-9045.-p.1520-5762.

8. Yuyan Jiang. Multimodal Biophotonics of Semiconducting Polymer Nanoparticles / Yuyan Jiang and Kanyi Pu // Account of chemical research.-2018.-№10.-p.102.
9. Wen Jen Lin. Polysaccharide-modified nanoparticles with intelligent CD44 receptor targeting ability for gene delivery / Wen Jen Lin, Wei Chi Lee // International Journal of Nanomedicine.-2018.-№13.-p.3989–4002.
10. Matsumura Y. Metal (Au, Pt) - Latex Nanocomposites as Probes for Immunochromatographic Test Strips with Enhanced Sensitivity / Y Matsumura [et al.] // American Chemical Society.-2018.-№10.-p. 31977-3198.
11. Agnieszka Skoczeń. Low Doses of Polyethylene Glycol Coated Iron Oxide Nanoparticles Cause Significant Elemental Changes Within the Main Organs / Agnieszka Skoczeń [et al.] // Chemical research in toxicology.-2018.-№10.-p.1021.
12. Loutfy SA. Antiviral Activity of Chitosan Nanoparticles Encapsulating Curcumin Against Hepatitis C Virus Genotype 4a in Human Hepatoma Cell Lines / SA Loutfy [et al.] // Dove Medical Press.-2020.-№15.-p. 2699-2715.
13. Sangiliyandi Gurunathan. Cytotoxic Potential and Molecular Pathway Analysis of Silver Nanoparticles in Human Colon Cancer Cells HCT116 / Sangiliyandi Gurunathan [et al.] // International journals of Molecular Science.-2018.-№19.-p.2269.
14. M. Darvish Ganji. First-principles and Molecular Dynamics simulation studies of functionalization of Au<sub>32</sub> golden fullerene with amino acids / M. Darvish Ganji [et al.] // Scientific Reports.-2018.-№8.-p.11400.
15. José Cobeña-Reyes. Complex Behavior of Ordered and Ice-like Water in Carbon Nanotubes Near the Bulk Boiling Point / José Cobeña-Reyes [et al.] // The Journal of Physical Chemistry Letters.-2018.-№10.-p.1021.

16. Nguyen TH. The Bioeffects Resulting from Prokaryotic Cells and Yeast Being Exposed to an 18 GHz Electromagnetic Field. / TH Nguyen // Public Library of Science. - 2016. - №11. - С.e0158135
17. Wang Q. Effective degradation of Di-n-butyl phthalate by reusable, magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticle-immobilized Pseudomonas sp. W1 and its application in simulation / Wang Q [et al.] // Chemosphere. - 2020. -№ 126339. - doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.126339.
18. Киршвинка Д. Биогенный магнетит и магниторецепция: Новое о биомагнетизме / Д. Киршвинка [и др.] // Мир. - 1989.- т.1. - 352 с.
19. Верховцева, Н. В. Образование бактериями магнетита и магнитотаксис / Н. В Верховцева [и др.] // Успехи микробиологии. - 1992. - т. 25. - С. 51-79.
20. Столяр, С. В. Исследование наночастиц биогенного ферригидрита методом ферромагнитного резонанса: спин-стекольное состояние поверхностных спинов / С. В. Столяр [и др.] // Письма в журнал экспериментальной и теоретической физики. -2020. - т. 111. №3-4. - С. 197-202.
21. Bazyliński, D. A., Frankel, R. B. Magnetosome formation in prokaryotes./ D. A. Bazyliński, R. B Frankel // Nature Rev. - 2004. - №2 - P. 217-230.
22. Kannan Badri Narayanan, Natarajan Sakthivel. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes / Narayanan Kannan Badri, Sakthivel Natarajan // Advances in Colloid and Interface Science. - 2010. - №156. - P. 1–13.
23. Kunoh T. Amino group in Leptothrix sheath skeleton is responsible for direct deposition of Fe(III) minerals onto the sheaths / T Kunoh [et al.] // Sci Rep.-2017.-7(1).-c.6498.doi: 10.1038/s41598-017-06644-8.
24. Vaghari H. Application of magnetic nanoparticles in smart enzyme immobilization / H Vaghari [et al.] // Biotechnol Lett.-2016.-№38.-c.223-33. doi: 10.1007/s10529-015-1977-z.
25. İnce İ. Thymoquinone Glucuronide Conjugated Magnetic Nanoparticle for Bimodal Imaging and Treatment of Cancer as a Novel Theranostic Platform

- /İ. İnce [et al.] // Curr Radiopharm.- 2020. -doi: 10.2174/2211556009666200413085800.
- 26.Abu-Bakr AF. On the theory of magnetic hyperthermia: clusterization of nanoparticles / AF Abu-Bakr [et al.] // Philos Trans A Math Phys Eng Sci. - 2020.- №378. -P. 20190251.
- 27.Balaev D.A. Change in the magnetic properties of nanoferrihydrite with an increase in the volume of nanoparticles during low-temperature annealing / D.A. Balaev [и др.] // Physics of the Solid State.-2016.-Т. 58.- № 9.-С. 1782-1791.
- 28.Балаев Д.А. Температурное поведение антиферромагнитной восприимчивости нано-ферригидрита из измерений кривых намагничивания в полях до 250 кое / Д.А Балаев [и др.] // Физика твердого тела.-2017.-Т. 59.-№ 10.-С. 1920-1926.
- 29.Kiseleva L., Stolyar S.V., Ladygina V. P. Magnet-facilitated selection of electrogenic bacteria from marine sediment / A L Kiselev [et al.] // Biomed research international.- 2015.-№9. -P.280-282.
- 30.Столяр С.В. Влияние ультразвуковой обработки на магнитные наночастицы ферригидрита в суспензионном состоянии / С.В. Столяр [и др.] // Известия российской академии наук. Серия физическая. - 2017.- №5.- С. 660-663.
- 31.S. V. Stolyar. Anisometric Iron Oxide-Based Nanoparticles and Sols Based on Them: Preparation and Properties / Stolyar S. V. [et al.] // Journal of Superconductivity and Novel Magnetism.-2019.- №32.-с.- 971–975.
- 32.Jiang Z. Toxic effects of magnetic nanoparticles on normal cells and organs / Z Jiang [et al.] // Life Sci.- 2019.- №220. -P. 156-161.
- 33.Jiang B. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Pluripotent Cells, an Unlimited and Quality-Controllable Source for Therapeutic Applications / B Jiang // Stem Cells.- 2019.-№37. -P. 572-581.

- 34.Podlesnikar T. Cardiovascular magnetic resonance imaging to assess myocardial fibrosis in valvular heart disease / T Podlesnikar [et al.] // Int J Cardiovasc Imaging.- 2018. -№34. -P. 97-112.
- 35.Хауссер К.Х., Кальбитцер Х.Р. ЯМР в медицине и биологии:структура молекул, томография, спектроскопия in vivo / К.Х. Хауссер [и др.] // Киев: Наукова думка.- 2016.- с. 258.
- 36.Блюмих Б. / Б. Блюмих //Мир физики и техники. Основы ЯМР. Москва:Техносфера.-2007.- с.148.
- 37.Utembe W. Chirality, a neglected physico-chemical property of nanomaterials? A mini-review on the occurrence and importance of chirality on their toxicity / W Utembe // Toxicol Lett.-2019.- p. 58-65.
- 38.Добрецов К.Г. Способ адресной доставки антибиотика в полости носа при раневых и воспалительных процессах (экспериментальное исследование) / К.Г Добрецов [и др.] // Российская ринология.-2017. - Т. 25.-№ 4.-С. 3-8.
- 39.Wang F. Dextran coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as a near-infrared laser-driven photothermal agent for efficient ablation of cancer cells in vitro and in vivo / Wang F. [et al.] // Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.-2018.-№90 .-p. 46-56.
- 40.R. K. Gilchrist, R. Medal, W. D. Shorey. Selective inductive heating of lymph nodes / Gilchrist R. K. [et al.] // Ann Surg. – 1957. – Vol. 79. – P. 596–606.
- 41.Singh A. Magnetic nanoparticles for amalgamation of magnetic hyperthermia and chemotherapy: An approach towards enhanced attenuation of tumor / A. Singh [et al.] // Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. – 2020. – doi: 10.1016/j.msec.2020.110695
- 42.Pandey N. Thermo-responsive Fluorescent Nanoparticles for Multimodal Imaging and Treatment of Cancers / N Pandey // Nanotheranostics. -2020. – Vol.4. - P. 1-13.

43. Zou J. Nanoparticles modified by triple single chain antibodies for MRI examination and targeted therapy in pancreatic cancer / J Zou [et al.] // *Nanoscale*. – 2020. – Vol. 12. – P. 4473-4490.
44. Пахомова, В.Г. Изменение генерации активных форм кислорода в печени после введения биогенного ферригидрита / В.Г Пахомова [и др.] // *Здоровье. Мед. экология. Н.-№3*. – 2017. – р.70.
45. Шевелёв, Д.И. Влияние биогенных наночастиц ферригидрита на всхожесть семян и биометрические показатели проростков овса / Д.И Шевелёв [и др.] // *Успехи современной науки*. – 2017. – Том 5. – №2.
46. С.В. Столяр. Влияние ультразвуковой обработки на магнитные наночастицы ферригидрита в суспензионном состоянии / Столяр С.В. // *Известия РАН. Серия физическая*. – 2017. – №5. – с. – 269-272.
47. С.Т. Yang. Gadolinium (III) based nanoparticles for T<sub>1</sub>-weighted magnetic resonance imaging probes / С.Т. Yang [et al.] // *RSC Advances*. – 2016. – №6. – р.60945.
48. Mehrdad Samadishadlou. Magnetic carbon nanotubes: preparation, physical properties, and applications in biomedicine / Mehrdad Samadishadlou // <http://dx.doi.org/10.1080/21691401.2017.1389746>.
49. Nguyen M.P. Integration of iron oxide nanoparticles and polyaspartamide biopolymer for MRI image contrast enhancement and efficient drug-delivery system in cancer therapy / MP Nguyen [et al.] // *Nanotechnology*. – 2020. – doi: 10.1088/1361-6528/ab8f49/
50. Mohamed M. Fathy. Magnetic nanoparticles-loaded liposomes as a novel treatment agent for iron deficiency anemia: In vivo study / Mohamed M. Fathy [et al.] // *Life Sciences*. – 2019. – №234. – с. – 116787.
51. Edouard Alphandery. Biodistribution and targeting properties of iron oxide nanoparticles for treatments of cancer and iron anemia disease / Edouard Alphandery [et al.] // *Nanotoxicology*. – 2019. – doi:10.1080/17435390.2019.1572809.



- 52.S. V Stolyar, L.A. Magnetic nanoconstructions of iron oxides coated with arabinogalactan functionalized with DNA aptamer / L.A, V Stolyar [et all.] // J. Phys. Conf. Ser.- 2019.-№1399.-с.22026.
- 53.ГОСТ Р 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. – Введ. 01.07.2016. – Москва : Стандартинформ, 2019. – 23 с.
- 54.СП 2.2.1.3218.2014 Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Главный государственный санитарный врач Российской федерации 29.08-2014. – Введ. 06.02.2015. – Москва: Собрание законодательства Российской Федерации, 2015. – 11 с.
- 55.Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф Лакин //Москва: Высшая школа.-1990.-351 с.
- 56.Шепітько, В.І. Морфофункціональна характеристика селезінки щура в нормі / В.І Шепітько [и др.] // Світ медицини та біології.-2010.-№3.-100с.

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

                      Е. И. Шипицакая


«03» июля 2020 г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**


06.03.01 – Биология

**ДЕТЕКЦИЯ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРИ ГИДРИТА В БИОЛОГИЧЕСКИХ  
ОБРАЗЦАХ МЕТОДОМ ЯМР-СПЕКТРОМЕТРИИ**


Научный руководитель

  
подпись, дата      к.м.н., доцент А. В. Барон  
22.06.20

Научный руководитель

  
подпись, дата      д.б.н., доцент Е.В. Инжеваткин  
22.06.20

Выпускник

  
подпись, дата      М.В. Лошкарева  
22.06.20

Красноярск 2020