

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»**

На правах рукописи



**Никитин Алексей Андреевич**

**Анизотропные наночастицы магнетита: синтез, изучение физических и биологических свойств, а также оценка перспективы использования в МРТ-диагностике**

05.16.08 Нанотехнологии и наноматериалы (Химия и химическая технология)

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Москва – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»

Научный руководитель:

**Мажуга Александр Георгиевич**

д.х.н., профессор РАН, ректор Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»

Научный консультант:

**Абакумов Максим Артемович**

к.х.н., доцент, зав. лабораторией «Биомедицинские наноматериалы» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»

Официальные оппоненты:

**Горин Дмитрий Александрович**

д.х.н., проф. центра фотоники и квантовых материалов автономной некоммерческой образовательной организации высшего профессионального образования «Сколковский институт науки и технологий»

**Гельперина Светлана Эммануиловна**

д.х.н., проф. кафедры химии и технологии биомедицинских препаратов Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»

**Гудилин Евгений Алексеевич**

д.х.н., член-корр. РАН, проф., заместитель декана и заведующий кафедрой наноматериалов факультета наук о материалах Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

Защита диссертации состоится «16» ноября 2021 года в 10<sup>00</sup> на заседании диссертационного совета РХТУ.05.07 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева» (125047, г. Москва, Миусская пл., д. 9) в конференц-зале.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре РХТУ им. Д. И. Менделеева и на официальном сайте университета <http://diss.muctr.ru>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
РХТУ.05.07, доцент, к.х.н.,

Мурадова А.Г.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** МНЧ представляют большой интерес для биомедицины, выступая, например, в качестве платформы для адресной доставки лекарств, в гипертермии для преобразования энергий внешних электромагнитных полей в тепловую энергию или в качестве КА в МРТ-диагностике. Несмотря на то, что ранее было показано, что морфология МНЧ обладает существенным влиянием на их магнитные и релаксационные свойства, до сих пор отсутствуют фундаментальные экспериментальные работы, которые устанавливали бы взаимоотношения между типом МНЧ, их физическими характеристиками, *in vitro* токсичностью, биораспределением в организме и контрастирующими свойствами в МРТ-диагностике на примере различных экспериментальных опухолевых моделей. Т2-КА для МРТ на основе МНЧ  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  выступают безопасной альтернативой Т1-КА, которые представлены хелатными комплексами  $\text{Gd}^{3+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ . Однако, большинство экспериментальных работ, описывающих перспективы использования МНЧ  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в МРТ, проведено на примере сферических МНЧ, тогда как наиболее привлекательными КА являются МНЧ с ярко выраженной анизотропией формы, изменяя которую можно контролируемо управлять магнитными свойствами материала.

**Цели и задачи работы.** Цель исследования заключалась в разработке методик синтеза анизотропных МНЧ сложных оксидов железа с контролируемой морфологией, а также исследовании свойств таких МНЧ для получения фундаментальных знаний о взаимоотношении тип МНЧ – физические свойства МНЧ – *in vitro* и *in vivo* свойства МНЧ – контрастирующий эффект в МРТ-экспериментах. Для достижения поставленной цели были сформулированы и решены следующие **задачи**:

1. Разработать методики синтеза анизотропных МНЧ сложных оксидов железа с контролируемой формой и размером;
2. Исследовать структуру и морфологию МНЧ методами ПЭМ, РСА, ИК-спектроскопии, в том числе, исследовать их статические и динамические магнитные свойства;
3. Разработать способ получения стабильных водных коллоидов МНЧ в физиологических условиях;
4. Исследовать цитотоксичность МНЧ *in vitro*, изучить их биораспределение на животных с экспериментальными опухолевыми моделями, а также оценить перспективы использования таких МНЧ в качестве МРТ-КА.

**Научная новизна.** Впервые была разработана методика синтеза КЛНЧМ с использованием алифатических и ароматических циклических карбоновых кислот, а также исследовано влияние последних на морфологию получаемых НЧ. Показано, что константа липофильности кислот, а также размер и геометрия их молекул являются ключевыми параметрами, обуславливающими формирование именно кластерных структур. Результаты магнитометрии продемонстрировали явление магнито-статического эффекта в полученных кластерных структурах. Разработана оригинальная двухстадийная методика синтеза СНЧМ с использованием микроволнового излучения, позволяющая проводить контролируемое восстановление немагнитного прекурсора до МНЧ без потери формы НЧ. Показано, что размер магнитного ядра НЧ можно контролировать путем изменения мольного соотношения прекурсоров. Проведено подробное исследование влияния морфологии НЧ на их статические и динамические магнитные свойства, а также получены соответствующие функциональные зависимости. В МРТ-экспериментах показано, что КНЧМ позволяют получать наибольшие значения скорости  $r_2$ -релаксации протонов воды в сравнении с НЧ другой формы, что в несколько раз превышает аналогичные значения для коммерческих КА. Кроме того, впервые была проведена комплексная оценка влияния морфологии НЧ на их биораспределение *in vivo*.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Разработанные в диссертации экспериментальные методики химического синтеза биосовместимых анизотропных НЧ могут представлять собой практические рекомендации к созданию высокоэффективных КА для повышения эффективности визуализации внутренних тканей и органов при проведении МРТ-диагностики. Обнаруженный в работе эффект выраженного накопления КлНЧМ в почках при их внутривенном введении диктует необходимость более тщательного изучения механизмов фармакодинамики КА на основе МНЧ сложных оксидов железа в зависимости от их морфологии и химии поверхности.

**Методология и методы исследований.** Методологическая основа диссертации представлена анализом современной научной литературы по изучаемой проблеме и общепринятыми методами проведения лабораторных исследований (экспериментов). В работе использованы следующие основные методы исследования: ПЭМ, РФА/РСА, мёссбауэровская спектроскопия, ИК-спектроскопия, магнитометрия, АЭС, ДСР, МРТ, интравитальная микроскопия.

**Положения, выносимые на защиту.**

1. Разработанные методики синтеза анизотропных НЧ позволяют получать монодисперсные кубические, кластерные и стержневидные НЧ в диапазоне размеров 10–40 нм. Форма НЧ может контролироваться путем подбора специфического ПАВ, а размер и монодисперсность магнитного ядра – концентрацией ПАВ, продолжительностью синтеза и скоростью нагрева реакционной смеси.

2. Статические и динамические магнитные свойства НЧ напрямую зависят от их морфологии и достигают оптимума для КНЧМ с размерами магнитного ядра 15–20 нм;

3. Форма НЧ является ключевым параметром, определяющим их биораспределение в организме при внутривенном введении препарата;

4. Объединение отдельных НЧ в кластерные структуры приводит к появлению новых свойств у материала за счет явления магнитостатического эффекта.

**Личный вклад автора.** Представленные в работе данные получены лично автором или при непосредственном участии автора на всех этап проводимых исследований. Вся синтетическая часть работы, ключевые физико-химические исследования, а также обработка данных была проведена лично автором. Автор самостоятельно сформулировал цель и задачи работы, проанализировал весь массив полученных данных, на основании которых сделал соответствующие заключения и сформулировал выводы по проделанной работе.

**Степень достоверности и апробация работы.** Степень достоверности представленных количественных данных определяется инструментальной погрешностью использованного в работе оборудования и статистической обработкой полученных результатов. Результаты работы были представлены в виде устных и стендовых докладов на российских и международных научных конференциях, в числе которых: Nanotechnology in Medicine: From Molecules to Humans (Хернштайн, Австрия, 2016); VII International Conference «Nanoparticles, nanostructured coatings and microcontainers: technology, properties, applications» (Томск, Россия, 2016); Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2017» (Москва, Россия, 2017); International Baltic Conference on Magnetism «IBCM 2017» (Светлогорск, Россия, 2017); International Conference On Nanomedicine And Nanobiotechnology «ICONAN 2017» (Барселона, Испания, 2017); XII International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers «MagMeet 2018» (Копенгаген, Дания, 2018); XI International Conference on Nanomaterials – Research & Application «NANOCON 2019» (Брно, Чешская Республика, 2019), VII Троицкая конференция с международным участием "Медицинская физика" (ТКМФ-7) (Москва, Россия, 2020).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликована 21 печатная работа, в числе которых 2 статьи в изданиях из перечня ВАК, 1 статья, входящая в базу данных научного

цитирования РИНЦ, 7 статей, входящих в базы данных научного цитирования Scopus/Web of Science, 9 тезисов докладов всероссийских и международных научных конференций, 2 патента на изобретение.

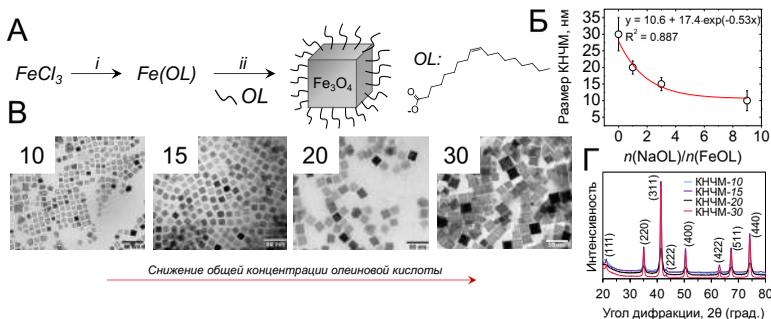
**Связь работы с государственными программами.** Результаты работы были получены в рамках грантов ФЦП №14.607.21.0132; РФФИ № 18-29-0906; Министерства образования и науки РФ № K2-2018-008.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, экспериментальной части, описывающей материалы, методики синтеза НЧ и методы их исследования, результатов и их обсуждения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 108 страницах печатного текста, содержит 11 таблиц и 63 рисунка. Список литературы включает 145 источников.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

### 1. Разработка методик синтеза аннизотропных НЧ, а также исследование их структуры и морфологии.

**1.1 Разработка методики синтеза КНЧМ и исследование их свойств.** Основной разрабатываемой методики синтеза КНЧМ послужил метод термического разложения предварительного синтезированного FeOL в 1-октадецене ( $T = 314\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Разработанная методика, схема которой представлена на Рис. 1А, позволила успешно получить монодисперсные высококристаллические НЧ с ярко выраженной кубической формой и размерами 10–30 нм (Рис. 1В). Постепенное увеличение мольного соотношения  $n_{\text{NaOL/FeOL}}$  привело к уменьшению среднего размера КНЧМ (Рис. 1Б). При этом полученная зависимость размера КНЧМ от мольного соотношения  $n_{\text{NaOL/FeOL}}$  имела экспоненциальный характер и, таким образом, позволяет теоретически предсказать необходимое количество NaOL для получения КНЧМ с желаемым размером в диапазоне 10 – 30 нм.

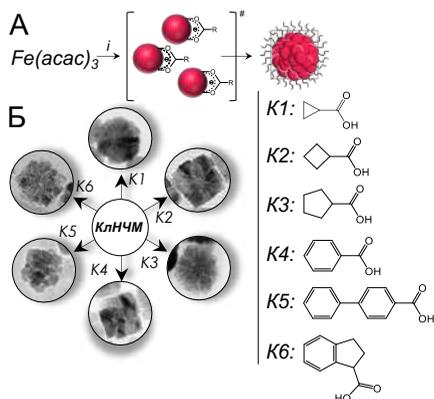


**Рисунок 1.** (А) Схематическое изображение методики синтеза КНЧМ. (Б) Зависимость среднего размера магнитного ядра КНЧМ (по ребру) от мольного соотношения NaOL/FeOL в реакционной смеси. (В) ПЭМ-микрофотографии синтезированных КНЧМ (шкала: 50 нм). (Г) Рентгенограммы порошков КНЧМ. **Реагенты и условия:** (i) NaOL; C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>/EtOH/H<sub>2</sub>O; 80 °С, 4 ч; (ii) OA; NaOL; 1-октадецен; Ar; 314 °С.

Примечательно, что в диапазоне  $4 < n_{\text{NaOL/FeOL}} < 9$  получаемые КНЧМ имели практически одинаковый размер. Вероятнее всего, такая закономерность обусловлена тем, что в данном диапазоне мольных соотношений в реакционной смеси уже присутствует большой избыток олеат-ионов, которые плотно адсорбируются на поверхности формирующихся зародышей НЧ, тем самым, уменьшая свободную поверхностную энергию зародышей НЧ и осложняя диффузию ионов железа из раствора к поверхности растущего кристалла. Методом РФА было показано, что положение и относительная

интенсивность всех лефлексов на рентгенограммах образцов КНЧМ соответствует фазе чистого магнетита ( $Fe_3O_4$ ), для которого значение параметра решетки кристалла  $a = 0,8396$  нм (JCPDS №19-0629) (Рис. 1Г), в то время как сами КНЧМ являются монокристаллами, о чем свидетельствует корреляция данных об их размере, установленном методами РСА и ПЭМ (Таблица 1).

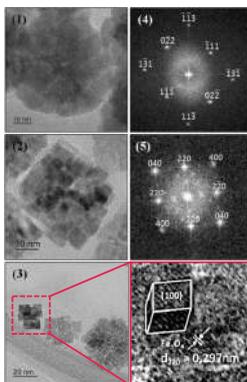
**1.2 Разработка методики синтеза КЛНЧМ и исследование их свойств.** В ходе проведения исследований было обнаружено, что при термическом разложении  $Fe(acac)_3$  в дибензиловом эфире с добавлением различных алициклических и ароматических карбоновых кислот в качестве ПАВ образуются кластерные наноструктуры различного типа (Рис. 2). Разработанная впоследствии методика позволила одностадийно синтезировать монодисперсные высококристаллические нанокластеры с различной морфологией.



**Рисунок 2.** (А) Схематическое изображение методики синтеза КЛНЧМ. (Б) ПЭМ-микротопографии синтезированных КЛНЧМ с различной морфологией. **Реагенты и условия:** (i) 1,2-ГДД; циклические алифатические и ароматические карбоновые кислоты; дибензиловый эфир; Ar; 260°C.

Примечательно, что образование КЛНЧМ происходило из предварительно сформированных в реакционной смеси индивидуальных НЧ, о чем свидетельствовало их наличие на ПЭМ-микротопографиях образцов, а также отчетливо различимое расстояние между

отдельными НЧ в кластере (Рис. 3). Вероятнее всего, ключевым этапом формирования КЛНЧМ является процесс адсорбции-десорбции органических кислот на поверхности НЧ на стадии их зародышеобразования и последующего роста. Количество десорбированной кислоты будет выше в случае органической кислоты, имеющей наибольшее сродство к растворителю – дибензиловому эфиру, имеющему показатель липофильности  $\log P = 3,95$ . Так, например, в отличие от ОА ( $\log P = 6,78$ ) и ее производных, циклопропан- и циклобутанкарбоновая кислоты (образцы K1 и K2) имеют наименьший размер молекул, низкую температуру кипения и  $\log P$  равный 0,48 и 0,87, соответственно, что обеспечивает

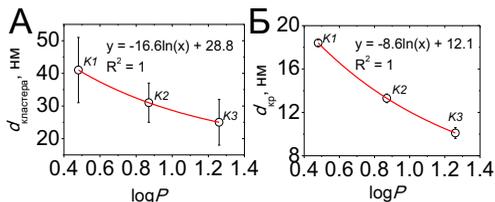


беспрепятственную диффузию ионов  $Fe^{3+}$  из раствора к поверхности растущих нанокристаллов. В результате, можно видеть, что КЛНЧМ формируются из крупных кристаллитов, которые упорядочиваются за счет магнитных эффектов.

**Рисунок 3.** ПЭМВР-микротопографии КЛНЧМ. Микрофотографии образцов K1 (1) и K6 (2); процесс формирования кластера K6 (3); электронные дифрактограммы образцов K1 (4) и K6 (5).

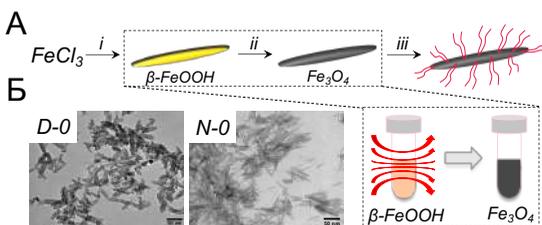
Кроме того, было установлено, что в ряду “циклопропан-, циклобутан-, циклопентанкарбоновая кислота” размер всей КЛНЧМ и отдельных кристаллитов, из которых состоит такой кластер, уменьшался по логарифмическому закону с увеличением  $\log P$  кислот (Рис. 4). При этом каждое увеличение  $\log P$  на 0,4 приводило к уменьшению размера как всего

кластера, так и его отдельных кристаллитов в  $\sim 1,3$  раза. Сопоставление данных о размере КлНЧМ, полученных методами РСА и ПЭМ, свидетельствовало о том, что синтезированные образцы являются поликристаллическими структурами (Таблица 1). Методом РФА также было установлено, что КлНЧМ являются чистым  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .



**Рисунок 4.** Зависимость размеров (А) КлНЧМ и (Б) отдельных кристаллитов в составе КлНЧМ от константы липофильности циклических алифатических карбоновых кислот.

**1.3 Разработка методики синтеза СНЧМ и исследование их свойств.** Для получения СНЧМ была разработана двухстадийная методика синтеза (Рис. 5А). На первом этапе высокотемпературным гидролизом  $\text{FeCl}_3$  в присутствии ПАВ (DOPA или разветвленного высокомолекулярного PEI ( $M_w \sim 25\text{кДа}$ )) были синтезированы прекурсоры – стержневидные НЧ акагенита ( $\beta\text{-FeOOH}$ ), не обладающие магнитными свойствами (Рис. 5Б). При этом было установлено, что тип ПАВ напрямую влияет на аспектное соотношение получаемых стержневидных НЧ. Использование DOPA привело к образованию крупных стержневидных НЧ  $\beta\text{-FeOOH}$  ( $D-0$ ) с длиной  $L = 40$  нм и диаметром  $d = 10$  нм (аспектное соотношение 4:1), тогда как в присутствии PEI были получены стержневидные НЧ ( $N-0$ ) с  $L = 21$  нм и  $d = 4$  нм (аспектное соотношение 5,3:1) (Рис. 5Б). На втором этапе с использованием микроволнового синтеза было проведено восстановление  $\beta\text{-FeOOH}$  до  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . В качестве восстановителя использовали  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Протекающая при этом реакция восстановления  $\beta\text{-FeOOH}$  до  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  может быть представлена следующим уравнением:  $12\beta\text{-FeOOH}_{(тв)} + \text{N}_2\text{H}_{4(р)} = 4\text{Fe}_3\text{O}_{4(тв)} + 8\text{H}_2\text{O} + \text{N}_2$ . 3-х циклов облучения и 0,05М  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  оказалось достаточно для полного восстановления прекурсора без потери его формы. Более высокие концентрации  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  при 3-х циклах облучения привели к образованию полиморфных НЧ, а меньшее количество циклов облучения – к образованию примесей гётита ( $\alpha\text{-FeOOH}$ ).

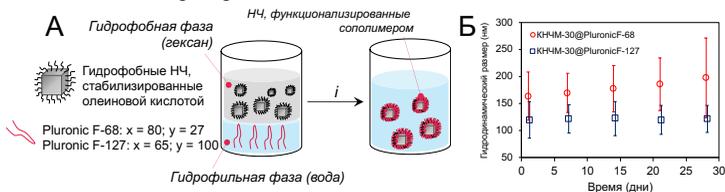


**Рисунок 5.** (А) Схематическое изображение методики синтеза и модификации СНЧМ, а также (Б) ПЭМ-микрофотографии синтезированных НЧ акагенита. **Реагенты и условия:** (i) DOPA ( $D-0$ ) или PEI ( $N-0$ ),  $80^\circ\text{C}$ , 2 ч; (ii)  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (50–60%), NaOH, микроволновое облучение

(каждый цикл включал нагревание раствора до  $100^\circ\text{C}$ , инкубирование в течение 30 сек и охлаждение до  $35^\circ\text{C}$ ); (iii) ОА, УЗ-обработка.

**2. Функционализация НЧ сополимерами Pluronic.** Так как синтез некоторых типов НЧ проводился в неполярных средах с добавлением жирных кислот и их производных в качестве ПАВ, для проведения дальнейших *in vitro* и *in vivo* исследований такие НЧ были функционализированы клинически одобренными блок-сополимерами Pluronic® (F-127 и F-68) (НЧ@Pluronic), отличающимися друг от друга содержанием гидрофильных (x) и гидрофобных звеньев (y) в их структуре. Функционализация НЧ осуществлялась в двухфазной системе ( $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ -вода) путем реализации механизма гидрофобных взаимодействий полиоксипропиленовых групп Pluronic и остатков ОА на поверхности НЧ (Рис. 6А). На примере КНЧМ-30@Pluronic анализ их агрегативной стабильности в PBS

методом ДСР показал, что Pluronic F-127 является наиболее предпочтительным с точки зрения дальнейшего применения полученных наноконъюгатов в *in vivo* МРТ-диагностике. В этом случае НЧ находились в растворе в виде отрицательно заряженных мицелл с  $D_{ГД} \sim 100$  нм (Рис. 6Б). В свою очередь, НЧ, функционализованные Pluronic F-68, не обладали достаточной агрегативной стабильностью, тогда как значения  $D_{ГД}$  достигали 200 нм, что не является желательным ввиду высокого риска образования тромбов в сосудах при внутривенном введении препарата.



**Рисунок 6.** (А) Схематическое изображение процесса получения конъюгатов НЧ@Pluronic. (i) 24 ч, 25 °С, Аг. (Б) Зависимость  $D_{ГД}$  КНЧМ-30@Pluronic от продолжительности инкубации в растворе PBS.

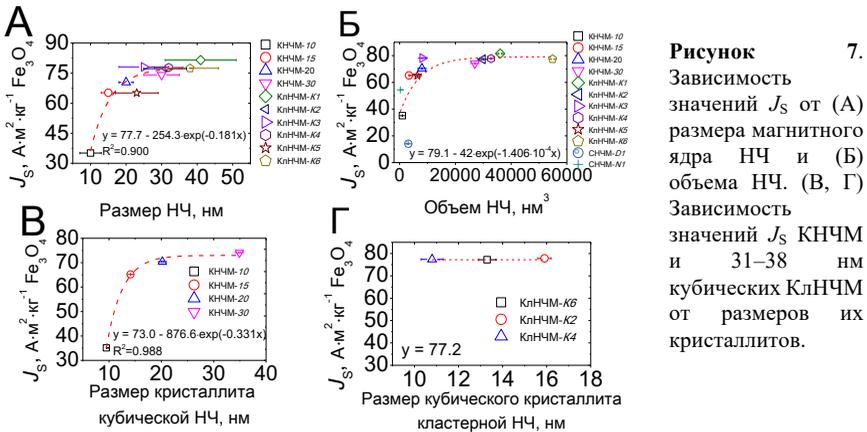
**3. Сравнительный анализ магнитных свойств полученных НЧ.** На заключительном этапе был проведен сравнительный анализ зависимости магнитных свойств НЧ от их морфологии (Таблица 1). Было установлено, что с увеличением среднего размера НЧ значения  $J_S$  возрастают, практически достигая значений для объемного материала ( $J_S(\text{Fe}_3\text{O}_4) = 92 \text{ A} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$  при  $T = 300 \text{ K}$ ) уже при 40 нм (Рис. 7А). При этом зависимость  $J_S$  от размера НЧ в диапазоне 10–40 нм лучше всего описывается экспоненциальным законом, что хорошо согласуется с некоторыми ранее опубликованными работами.

**Таблица 1.** Основные характеристики полученных образцов НЧ

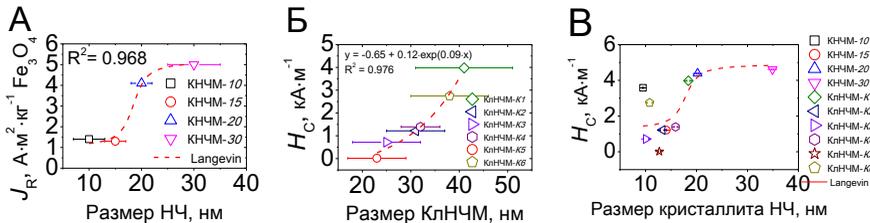
Образец	Размер по ПЭМ, нм	Размер кристаллита, нм	Удельная намагниченность насыщения $J_S$ , $\text{A} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$	Остаточная намагниченность $J_R$ , $\text{A} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$	Коррзпитивная сила $H_C$ , $\text{KA} \cdot \text{m}^{-1}$	Скорость $r_2$ -релаксации, $\text{с}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$
КНЧМ-10	10 ± 3	9,4(0)	35	1,4	3,6	190
КНЧМ-15	15 ± 2	14,1(2)	65	1,3	1,2	300
КНЧМ-20	20 ± 2	20,2(1)	70	4,1	4,4	367
КНЧМ-30	30 ± 5	34,9(1)	74	5,0	4,6	134
КлНЧМ-К1	41±10	18,4(3)	82	4,2	4,0	104
КлНЧМ-К2	31±6	13,3(4)	77	1,4	1,2	128
КлНЧМ-К3	25±7	10,1(5)	78	0,9	0,7	125
КлНЧМ-К4	32±4	15,9(3)	78	1,6	1,4	131
КлНЧМ-К5	23±6	12,7(2)	65	2,1	0,02	114
КлНЧМ-К6	38±8	10,8(5)	77	4,5	2,7	138
СНЧМ-Д1	$L = 40 \pm 10$ $d = 10 \pm 3$	-	14	1,5	7,9	14
СНЧМ-Н1	$L = 21 \pm 4$ $d = 4 \pm 1$	-	54	14	11,2	51

Для всех типов НЧ, включая СНЧМ, также была обнаружена экспоненциальная зависимость  $J_S$  от объема  $V$  магнитного ядра НЧ (Рис. 7Б). Принимая во внимание, что полученные КНЧМ являются монокристаллами, можно видеть, что изменение значений  $J_S$  для КНЧМ в зависимости от размеров их кристаллитов также хорошо описывается экспоненциальной функцией и возрастает с  $35 \text{ A} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Fe}_3\text{O}_4$  для КНЧМ-10 до  $74 \text{ A} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Fe}_3\text{O}_4$  для КНЧМ-30 (Рис. 7В). Однако, в то же самое время, в случае поликристаллических образцов кубических КлНЧМ-К2, К4 и К6, имеющих практически одинаковый размер

магнитного кластера (31–38 нм), увеличение размера их отдельных кристаллитов никак не влияет на значения  $J_S$  ( $\sim 77 \text{ A} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{кг}^{-1}$  при  $T = 300 \text{ K}$ ) для всего кластера (Рис. 7Г), что может быть объяснено магнитостатическим эффектом.



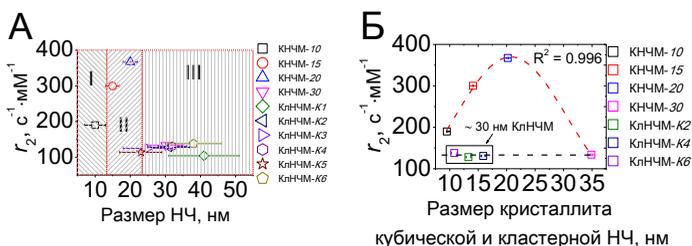
Это также подтверждается и тем фактом, что полученные значения  $J_S$  для КНЧМ, имеющих размер аналогичный размеру кубических кристаллитов КлНЧМ-К2, К4 и К6, оказались  $< 77 \text{ A} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{кг}^{-1}$ . В случае остаточной намагниченности  $J_R$  не удалось выявить однозначной зависимости ее значений от размеров НЧ, что, вероятнее всего, также связано с явлением магнитостатического эффекта для КлНЧМ. Однако, на примере КНЧМ можно видеть, что значения  $J_R$  резко возрастали для НЧ с размерами  $> 20 \text{ нм}$ , что хорошо согласуется с ранее установленным критическим размером зерен ( $\sim 20 \text{ нм}$ ), ниже которого  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  переходит в суперпарамагнитное состояние (Рис. 8А)



**Рисунок 8.** (А) Зависимость значений  $J_R$  КНЧМ от их размера. Зависимость  $H_C$  (Б) от размера КлНЧМ и (В) от размера отдельных кристаллитов НЧ.

В виду ярко выраженных различий в морфологии НЧ, также не прослеживалось однозначной зависимости значений  $H_C$  от размера их ядра. Однако, в случае КлНЧМ, значения  $H_C$  возрастали экспоненциально с ростом размера КлНЧМ, тогда как для КлНЧМ с размерами  $< 24 \text{ нм}$   $H_C \rightarrow 0$ , что также согласуется с критическим размером перехода  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в суперпарамагнитное состояние (Рис. 8Б). В свою очередь, можно видеть, что значения  $H_C$  изменяются в зависимости от размера кристаллита НЧ по экспоненциальному закону, тогда как максимум  $H_C$  достигается для монокристаллических КНЧМ-30 (Рис. 8В). Из МРТ-экспериментов было установлено, что функция распределения скоростей  $r_2$ -релаксации протонов воды в коллоидных растворах в зависимости от размера и объема НЧ имеет

уни模альное распределение с экстремумом в области 20 нм (Рис. 9А), что хорошо согласуется с ранее описанными в литературе тремя режимами определения  $r_2$ .

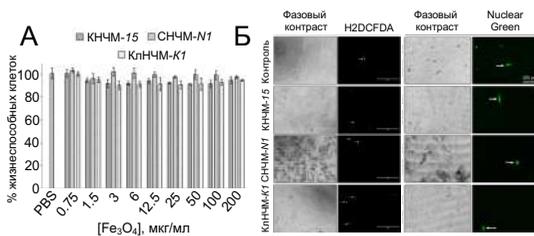


**Рисунок 9. Динамические магнитные свойства НЧ@Pluronic F-127.** (А) Зависимость скорости  $r_2$ -релаксации протонов воды от размера магнитного ядра НЧ, а также (Б) от размера отдельных кристаллитов КНЧМ и кубических КлНЧМ.

Примечательно, что распределение значений  $r_2$  в присутствии КНЧМ@Pluronic F-127 имело одномодальный характер с максимумом для 20 нм КНЧМ ( $367 s^{-1} \cdot mM^{-1}$ ), тогда как для КНЧМ с размером  $>20$  нм значения  $r_2$  постепенно снижались. Так, для 30 нм КНЧМ-30 значение  $r_2$  уже не отличалось от аналогичных значений для 31 – 38 нм КлНЧМ-К2, К4 и К6. Несмотря на то, что КлНЧМ были составлены из одиночных кристаллитов, имеющих размеры, схожие с размерами КНЧМ, значения  $r_2$  существенно не изменились и, главным образом, зависели от размера всего кластера (Рис. 9Б). Важно отметить, что полученные значения  $r_2$  для всех образцов НЧ в разы превышают аналогичное значение для коммерческого КА Feraheme® ( $r_2 = 89 s^{-1} \cdot mM^{-1}$ ), а также значения  $r_2$  для кубических и сферических НЧ аналогичных размеров, ранее описанных в литературе. Такая высокая контрастирующая способность анизотропных НЧ, в частности КНЧМ, связана с тем, что эффективная площадь поверхности таких НЧ для диффузии молекул воды может быть в несколько раз больше, чем у сферических НЧ. Кроме того, анизотропия формы НЧ приводит к образованию локальных градиентов магнитного поля вблизи вершин куба, что приводит к увеличению  $r_2$ -сигнала. Оценка динамических магнитных свойств коллоидных растворов СНЧМ D-1 и N-1 выявила невысокие значения скоростей  $r_2$ -релаксации (14 и 51  $s^{-1} \cdot mM^{-1}$ , соответственно). Высокая остаточная намагниченность СНЧМ, вероятнее всего, привела к частичной агрегации СНЧМ, что повлекло за собой снижение значений параметра  $r_2$ .

#### 4. *In vitro* и *in vivo* исследования.

**4.1 Исследование токсичности НЧ *in vitro*.** Оценку влияния формы и размера НЧ на их токсичность *in vitro* осуществляли для трех типов НЧ@Pluronic F-127 (Рис. 10).



#### Рисунок

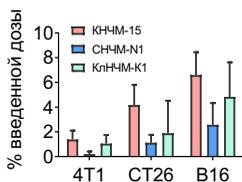
10.

(А) Жизнеспособность клеток SC-1, оценённая с помощью MTS-теста после 48 ч совместной инкубации в культуральной среде с PBS (контроль) или НЧ@Pluronic F-127. Результаты показаны как среднее  $\pm$  SEM. (Б) Исследование образования АФК в клетках, обработанных НЧ (левая панель), и

обнаружение апоптотических/некротических клеток после обработки НЧ (правая панель). Белые стрелки указывают на отдельные клетки с повышенным уровнем образования АФК (левая панель) и единичные мертвые клетки (правая панель).

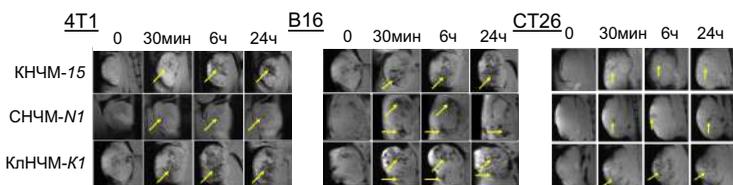
Сравнение токсичности образцов КНЧМ-15, КлНЧМ-К1 и СНЧМ-Н1, имеющих одинаковый  $D_{ГД} \sim 100$  нм и схожий размер кристаллитов в диапазоне 15–20 нм, на нормальных фибробластах мыши SC-1 не выявило никаких токсических эффектов вплоть до концентраций 200 мкг  $Fe_3O_4 \cdot мл^{-1}$  (Рис. 10А), что эквивалентно уровню НЧ в плазме крови после их внутривенного введения экспериментальным мышам в дозе 5–10 мг  $Fe_3O_4 \cdot кг^{-1}$  веса. Для дополнительного подтверждения биосовместимости НЧ проводили прижизненное окрашивание клеток (24 ч инкубации, 200 мкг  $Fe_3O_4 \cdot мл^{-1}$ ) специфическими красителями на АФК, а также апоптоз/некроз (Рис. 10Б). В конечном итоге, также не было обнаружено никаких различий в уровне АФК и маркеров клеточной гибели между контрольными клетками и клетками, обработанными НЧ. Таким образом, на основании полученных результатов можно предположить, что в рамках проводимых экспериментов форма НЧ никак не влияла на оказываемый ими цитотоксический эффект.

**4.2 Исследование биораспределения НЧ *in vivo* и оценка перспективы их использования в качестве КА в МРТ-диагностике.** *In vivo* исследования проводили на трех экспериментальных опухолевых моделях: В16 (меланома), 4Т1 (рак молочной железы) и СТ26 (рак толстой кишки). При достижении определенного размера опухоли коллоидный раствор НЧ@Pluronic F-127 вводился в концентрации 5 мг  $Fe_3O_4 \cdot кг^{-1}$  веса. Изучение влияние формы НЧ на их биораспределение, а также оценка эффективности контрастирования опухолей различного типа в МРТ-экспериментах, также осуществлялись для образцов КНЧМ-15, КлНЧМ-К1 и СНЧМ-Н1. Для изучения биораспределения НЧ@Pluronic F-127 измеряли концентрации железа методом АЭС в органах контрольной группы мышей и группы с привитыми опухолями через 24 ч после внутривенной инъекции препаратов. Несмотря на некоторую вариабельность между различными опухолевыми моделями, полученные результаты ясно указывают на то, что печень и селезенка захватили большую часть НЧ, что согласуется с многочисленными экспериментальными работами. Кроме того, была зафиксирована весьма высокая концентрация СНЧМ в легких на всех типах опухолевых моделей (до 200 мкг  $Fe \cdot г^{-1}$  органа), что вероятнее всего может быть связано с влиянием формы таких НЧ на снижение скорости их циркуляции в сосудах, приводящее к увеличению адгезии СНЧМ к эндотелиальным клеткам. Также был подтвержден факт того, что накопление НЧ в солидных опухолях происходит EPR-зависимым образом и зависит от типа опухоли (Рис. 11).



**Рисунок 11.** Процент введенной дозы (ID) НЧ, доставленной к опухолям 4Т1, СТ26 и В16 через 24 часа после внутривенной инъекции НЧ. Результаты показаны как среднее  $\pm$  SEM.

Максимальное значение накопления НЧ (6,6% ID) наблюдалось в опухолях В16, что превышает почти в 10 раз среднее значение для пассивной доставки (0,7%), известное из литературы, тогда как минимальное значение (0,8% ID) было получено для опухолей 4Т1, что, вероятнее всего, связано с их морфологией. Эффективность доставки КНЧМ-15, СНЧМ-20 и КлНЧМ-К1 для всех типов опухолей составила 3,79%; 2,94%; и 1,21% ID, соответственно. Аналогично, наилучший контраст в МРТ-экспериментах был выявлен на модели В16, что согласуется с тем фактом, что ортогипотические опухоли имеют тенденцию накапливать НЧ более эффективно, чем гетеротопические. В этом случае НЧ были обнаружены в 88% опухолей (Рис. 12, Таблица 2). Среди всех исследованных НЧ КлНЧМ-К1 продемонстрировали наилучшее контрастирование (96% всех опухолей), что, вероятнее всего, обусловлено их наиболее выраженными магнитными свойствами.

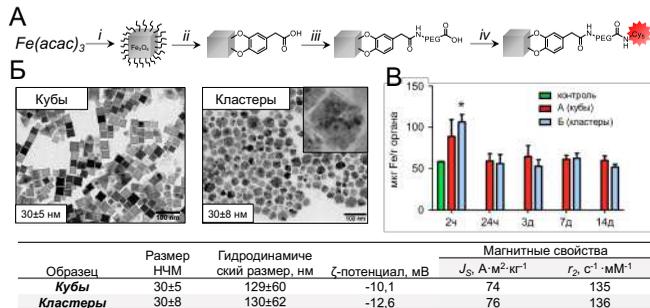


**Рисунок 12.** Динамика накопления НЧ в опухолях различного типа в течение 24 ч при внутривенной инъекции раствора НЧ (5 мг Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>·кг<sup>-1</sup>).

**Таблица 2.** Процент опухолей с усилением контрастирования после введения НЧ

Образец	4Т1	В16	СТ26	Все типы опухолей
<b>КНЧМ-15</b>	100%	57±20%	70±15%	73±10% *
<b>СНЧМ-№1</b>	60±16%	100%	30±15%	63±9% * #
<b>КлНЧМ-К1</b>	100%	100%	90±10%	96±4% * #
<b>Все типы НЧ</b>	82±8%	88±7% **	63±9% **	78±5%

Также стоит отметить, что наиболее яркий контраст опухолей достигался на временном промежутке 6–24 ч после введения КНЧМ-15 и КлНЧМ-К1, тогда как накопление СНЧМ-№1 достигало максимума в течение первых 30 минут после введения (Рис. 12). Такое поведение СНЧМ-№1 вероятнее всего обусловлено их формой, которая, как сообщалось ранее, более эффективно предотвращает неспецифическое поглощение НЧ купферовскими клетками печени в сравнении с НЧ другой формы, демонстрирующими пролонгированное кровообращение. Для более полного исследования того, как строение магнитного ядра НЧ определяет пути их биораспределения в организме, были дополнительно синтезированы 30 нм кластерные НЧ кубической формы (кластеры) с характеристиками, аналогичными кубическими НЧ (кубы) того же размера (Рис. 13).



**Рисунок 13.**

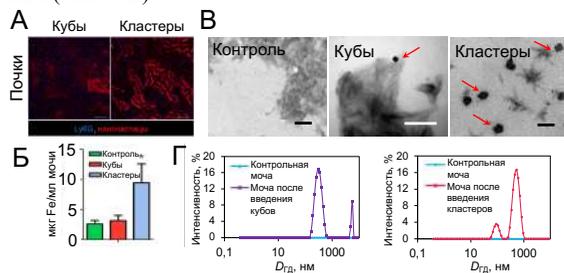
(А) Схематическое изображение методики синтеза и функционализации НЧ. (Б) ПЭМ-микротографии кубических и кластерных НЧ (указан размер ребра куба).

(В) Концентрация железа в почках

экспериментальных мышей, измеренная методом АЭС через разные промежутки времени после внутривенного введения НЧ в дозе 5 мг НЧ·кг<sup>-1</sup> веса. Результаты показаны как среднее ± станд. отклонение. Статистическая обработка данных проводилась с помощью t-теста Даннета ( $n = 5$ ,  $*P < 0,05$ ). **Реагенты и условия:** (i) ОА, ОАм, дибензиловый эфир, Аг; 296 °С, 4 ч (кубы); 1-инданкарбоновая кислота, дибензиловый эфир, Аг, 1) 210 °С, 1 ч; 2) 260 °С, 30 мин (кластеры); (ii) ДФУК, MeOH/н-С<sub>6</sub>H<sub>14</sub>, 50 °С, 6 ч; (iii) COOH-PEG-NH<sub>2</sub>, NHS/EDC, H<sub>2</sub>O, 25 °С, 24 ч; (iv) Су5, NHS/EDC, H<sub>2</sub>O, 25 °С, 24 ч.

Гидрофобные НЧ были модифицированы аминокарбокси-производным ПЭГ, что позволило обеспечить высокую агрегативную стабильность наноконъюгатов в солевых буферах, а также ковалентно связать такие наноконъюгаты с флуоресцентным красителем Су5 для возможности отслеживания их биораспределения в организме методом интравитальной микроскопии. При изучении биораспределения НЧ был зарегистрирован

необычный факт их накопления в почках, особенно ярко выраженный в случае кластеров (Рис. 13В). Полученные результаты интравитальной микроскопии убедительно свидетельствуют о том, что накопление НЧ в почках опосредуется их переносом из капилляров в трубчатый эпителий и сопровождается выделением в мочу в течение первых часов после инъекции (Рис. 14А). АЭС показала повышенную концентрацию железа в моче мышей после инъекции  $10\times$  дозы кластеров ( $50 \text{ мг Fe}_3\text{O}_4 \cdot \text{кг}^{-1}$  веса), а уровень железа у мышей после инъекции той же дозы кубов был сопоставим с контролем, обработанным PBS (Рис. 14Б).

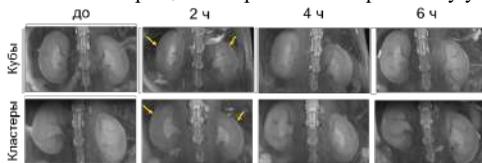


**Рисунок 14.**

(А) Микрофотографии конфокальной микроскопии почек через 2 ч после инъекции НЧ с концентрацией  $5 \text{ мг Fe}_3\text{O}_4 \cdot \text{кг}^{-1}$  веса (шкала: 100 мкм). (Б) Концентрации железа, измеренные методом АЭС, в контроле и через 2 ч после

внутривенозного введения НЧ в дозе  $50 \text{ мг Fe}_3\text{O}_4 \cdot \text{кг}^{-1}$  веса. Результаты показаны как среднее  $\pm$  SEM. Статистическая обработка данных проводилась с помощью t-теста Даннета ( $n = 5$ ,  $*P < 0,05$ ). (В) Микрофотографии НЧ в контрольной моче и через 2 ч после внутривенозного введения НЧ в дозе  $50 \text{ мг Fe}_3\text{O}_4 \cdot \text{кг}^{-1}$  веса. (Г) Гидродинамический размер образцов мочи после внутривенозного введения НЧ в дозе  $\text{Fe}_3\text{O}_4 \cdot \text{кг}^{-1}$  веса.

Так как подобная картина могла быть связана с биодegradацией кластеров на более мелкие кристаллиты (кубы), из которых он состоит, была исследована моча животных методом ПЭМ (Рис. 14В). В контрольных образцах были обнаружены только кристаллы солевых осадков. Внешний вид кластеров в моче отличался от их первоначальной формы, и свидетельствовал о травление их поверхности, но диссоциация кластеров на более мелкие субъединицы не наблюдалась. Более того, агрегация кластеров в моче также была обнаружена методом ДСР (Рис. 14Г). Также была проведена МРТ-визуализация почек экспериментальных животных с использованием синтезированных кубов и кластеров (Рисунок 15). Можно видеть, что периферическая зона почек подвергалась отрицательному контрастированию через 2 часа после инъекции как кубов, так и кластеров, и уровень сигнала возвращался обратно к контрольному уже через 6 часов (Рис. 15).



**Рисунок 15.** МРТ-изображения почек экспериментальных мышей после внутривенозной инъекции НЧ ( $5 \text{ мг Fe}_3\text{O}_4 \cdot \text{кг}^{-1}$  веса). Стрелки указывают на кору почки.

## Выводы:

1. Разработаны оригинальные методики синтеза анизотропных НЧ сложных оксидов железа, которые позволяют получать монодисперсные высококристаллические кубические НЧ с размером магнитного ядра 10–30 нм (длина ребра куба), стержневидные НЧ с длиной 20 и 40 нм и аспектным соотношением 4:1 и 5,3:1, соответственно, и кластерные структуры различной морфологии (кубические, сферические) с размером отдельных кристаллитов от 10 до 18 нм и общим размером кластера от 23 до 41 нм. Показано, что тип ПАВ, использованного в реакции, напрямую влияет на морфологию образующихся НЧ. Так, обнаружено, что использование мононенасыщенных производных жирных кислот

приводит к образованию КНЧМ, алифатических и ароматических циклических карбоновых кислот – к образованию КлНЧМ, а использование DOPA или PEI – к образованию СНЧМ.

2. Методами РФА и мёссбауэровской спектроскопии было доказано, что полученные НЧ являются чистым магнетитом. ИК-спектроскопия с Фурье преобразованием подтвердила наличие характеристических колебаний, указывающих на присутствие адсорбированных на поверхности НЧ молекул ПАВ, использованных в реакциях. Кроме того, было изучено влияние формы и размера НЧ на их статические и динамические магнитные свойства. Установлено, что значения удельной намагниченности насыщения возрастают по экспоненциальному закону по мере увеличения размера магнитного ядра НЧ и достигают значений объемного материала для 30–40 нм НЧ. Для кластерных НЧ продемонстрирован магнитостатический эффект, обусловленный упорядочиванием магнитных моментов отдельных кристаллитов, из которых состоит кластер, и приводящий к повышению значений намагниченности насыщения. Показано, что оптимальный диапазон размеров НЧ, позволяющий получать высокие значения скорости  $r_2$ -релаксации ( $>300 \text{ с}^{-1} \cdot \text{мМ}^{-1}$ ) в МРТ-экспериментах, составляет 15–20 нм.

3. Показано, что поверхность НЧ может быть функционализирована органическими лигандами за счет реализации механизмов гидрофобных взаимодействий, а также прямого ковалентного связывания НЧ непосредственно с органическим лигандом. Установлено, что использование блок-сополимеров Pluronic F-127 приводит к образованию мицелл из НЧ с гидродинамическим размером ~100 нм. Такие мицеллы позволяют осуществлять пассивную доставку НЧ к опухолевым образованиям за счет EPR-эффекта. Ковалентная модификация поверхности НЧ лигандами на основе производного ПЭГ и ДФУК позволила функционализировать НЧ флуоресцентным красителем Су5 и обеспечить высокую агрегативную стабильность коллоидов НЧ в физиологических условиях.

4. Установлено, что НЧ, функционализированные сополимером Pluronic F-127, не токсичны вплоть до концентраций 200 мкг  $\text{Fe}_3\text{O}_4 \cdot \text{мл}^{-1}$ , в то время как сама токсичность НЧ не зависит от их морфологии в диапазоне 10–40 нм. Установлено, что биораспределение и процент накопления НЧ в органах и опухолевых образованиях напрямую связан с морфологией НЧ. Показано, что при одинаковом размере кристаллитов, КНЧМ со средним размером 15 нм лучше других НЧ накапливаются в опухолях при внутривенном введении, достигая максимального значения 6,6% от введенной дозы в случае меланомы В16, что превышает почти в 10 раз среднее значение для пассивной доставки (0,7%), известное из литературы. Проведено исследование механизма экскреции НЧ почками и продемонстрирована возможность использования КлНЧМ для их контрастирования, что, в свою очередь, может быть использовано в качестве альтернативы токсичным Т1-КА.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Публикации в научных изданиях из перечня ВАК

1. Изучение эффективности контрастирования различных видов опухолей с использованием кубических наночастиц магнетита / **А. А. Никитин**, В. А. Науменко, С. С. Водопьянов, А. С. Гаранина, Н. Д. Федорова, Е. Д. Калабай, А. Г. Савченко, М. А. Абакумов, А. Г. Мажуга // Бюллетень сибирской медицины. – 2018. – Т. 17, № 1. – С. 139–148.
2. Магнитно-резонансная томография для персонализированной оценки и прогнозирования эффективности доставки наноформуляций противоопухолевых препаратов / В. А. Науменко, А. С. Гаранина, С. С. Водопьянов, **А. А. Никитин**, А. О. Преловская, Е. И. Демихов, М. А. Абакумов, А. Г. Мажуга, В. П. Чехонин // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2018. – № 6. – С. 22–26.

### Публикации в научных изданиях, индексируемых в базе данных РИНЦ

1. Иванова, А. В. Исследование гидродинамических параметров коллоидов наночастиц методом динамического светорассеяния / А. В. Иванова, **А. А. Никитин**, М. А. Абакумов // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2020. – Т. 84, № 11. – С. 1580–1586.

#### Публикации в научных изданиях, индексируемых в базах данных Scopus/Web of Science

1. Anisotropic iron-oxide nanoparticles for diagnostic mri: synthesis and contrast properties. / **A. A. Nikitin**, M. A. Khramtsov, A. G. Savchenko, M. A. Abakumov, A. G. Mazhuga // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2018. – Vol. 52, No. 3 – P. 231–235.
2. Synthesis of iron oxide nanorods for enhanced magnetic hyperthermia / **A. Nikitin**, M. Khramtsov, A. Garanina, P. Mogilnikov, N. Sviridenkova, I. Shchetinin, A. Savchenko, M. Abakumov, A. Majouga // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. – 2019. – Vol. 469. – P. 443–449.
3. Synthesis of iron oxide nanoclusters by thermal decomposition / **A. Nikitin**, I. Shchetinin, N. Tabachkova, M. Soldatov, A. Soldatov, N. Sviridenkova, E. Beloglazkina, A. Savchenko, N. Fedorova, M. Abakumov, A. Majouga // *Langmuir*. – 2018. – Vol. 34, № 15. – P. 4640–4650.
4. Synthesis, characterization and MRI application of magnetite water-soluble cubic nanoparticles / **A. Nikitin**, M. Fedorova, V. Naumenko, I. Shchetinin, M. Abakumov, A. Erofeev, P. Gorelkin, G. Meshkov, E. Beloglazkina, Y. Ivanenkov, N. Klyachko, Y. Golovin, A. Savchenko, A. Majouga // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. – 2017. – Vol. 441. – P. 6–13.
5. Neutrophil-mediated transport is crucial for delivery of short-circulating magnetic nanoparticles to tumors / V. Naumenko, **A. Nikitin**, A. Garanina, P. Melnikov, S. Vodopyanov, K. Kapitanova, D. Potashnikova, D. Vishnevskiy, I. Alieva, A. Ilyasov, B. Eletskaia, M. Abakumov, V. Chekhonin, A. Majouga // *Acta Biomaterialia*. – 2020. – Vol. 104. – P. 176–187.
6. Intravital microscopy reveals a novel mechanism of nanoparticles excretion in kidney / V. Naumenko, **A. Nikitin**, K. Kapitanova, P. Melnikov, S. Vodopyanov, A. Garanina, M. Valikhov, A. Ilyasov, D. Vishnevskiy, A. Markov, S. Golyshev, D. Zhukov, I. Alieva, M. Abakumov, V. Chekhonin, A. Majouga // *Journal of Controlled Release*. – 2019. – Vol. 307. – P. 368–378.
7. Biodistribution and Tumors MRI Contrast Enhancement of Magnetic Nanocubes, Nanoclusters, and Nanorods in Multiple Mice Models / V. Naumenko, A. Garanina, **A. Nikitin**, S. Vodopyanov, N. Vorobyeva, Y. Tsareva, M. Kunin, A. Ilyasov, A. Semkina, V. Chekhonin, M. Abakumov, A. Majouga // *Contrast Media and Molecular Imaging*. – 2018. – Vol. 2018, P. 1–12.

#### Публикации в сборниках материалов и тезисов научных конференций

1. Experimental evaluation of magneto-mechanical forces mediated by magnetic nanoparticles in low-frequency magnetic field / **A. Nikitin**, A. Yurenya, T. Zatsepin, A. Majouga, M. Abakumov // XI International Conference on Nanomaterials – Research & Application «NANOCON 2019»: book of abstracts / chairman R. Zboril. – Brno : Tanger, 2019. – P. 85. – ISBN: 978-80-87294-94-9.
2. Development and use of iron oxide nanoclusters in biomedicine / **A. A. Nikitin**, N. D. Fedorova, V. A. Naumenko, A. S. Garanina, S. S. Vodopyanov, N. S. Vorobyeva, A. Yu. Yurenya, A. G. Savchenko, M. A. Abakumov, A. G. Majouga // 12th International conference on the scientific and clinical applications of magnetic carriers (MagMeet) : book of abstracts / organizers U. Hafeli, W. Schuett, M. Zborowski. – Copenhagen, 2018. – P. 144.
3. Magnetite nanoclusters as promising material for biomedical applications / **A. Nikitin**, M. Fedorova, N. Fedorova, I. Shchetinin, V. Naumenko, M. Abakumov, A. Savchenko, A. Majouga // International Conference On Nanomedicine And Nanobiotechnology (ICONAN) : book of abstracts / Pompeu Fabra University. – Barcelona, 2017. – P. 165–166.
4. One-pot method for producing magnetic nanocrystal clusters / **A. A. Nikitin**, N. D. Fedorova, M. F. Fedorova, I. V. Shchetinin, V. A. Naumenko, M. A. Abakumov, A. G. Savchenko, A. G.

- Majouga // International Baltic Conference On Magnetism (IBCM) : book of abstracts / Immanuel Kant Baltic Federal University. – Svetlogorsk, 2017. – P. 137.
5. Advantages and disadvantages of cubic magnetite nanoparticles for therapy and diagnostics of malignant neoplasms / **A. Nikitin**, V. Naumenko, I. Schetinin, M. Abakumov, A. Savchenko, A. Majouga // II Международная научно-практическая школа-конференция «Магнитные наноматериалы в биомедицине: получение, свойства, применение» : сборник тезисов / Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС». – Звенигород, 2017. – С. 33–34.
6. Кластеры из наночастиц магнетита для биомедицинского применения / **А. А. Никитин**, Н. Д. Федорова, И. В. Щетинин, М. А. Абакумов, А. Г. Савченко, А. Г. Мажуга // «Ломоносов–2017» : материалы международного молодежного научного форума / отв. Ред. И. А. Алешковский, А. В. Андриянов, Е. А. Антипов. – М. : МАКС Пресс, 2017. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM); 12 см. – ISBN 978-5-317-05504-2.
7. Федорова, Н. Д. Кластеры из наночастиц магнетита для биомедицинского применения / Н. Д. Федорова, **А. А. Никитин**, М. А. Абакумов // XII Международная (XXI Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых : сборник тезисов / под редакцией П. Б. Курапова, М. А. Абакумова, В. В. Шумянцева, В. В. Стрельникова. – Москва, 2017. – С. 60–61.
8. **Nikitin, A.** Shape- and size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles for mri And drug delivery / A. Nikitin, A. Savchenko, A. Majouga // 7th International Conference on nanoparticles, nanostructured coatings and microcontainers: technology, properties, applications : book of abstracts of / Tomsk Polytechnic University. – Tomsk, 2016. – P. 56–57.
9. Theranostic Materials for MRI and targeted delivery based on functionalized magnetite nanoparticles / **A. Nikitin**, M. Fedorova, M. Abakumov, I. Schetinin, A. Savchenko, A. Majouga // Nanotechnology in Medicine: From Molecules to Humans : book of abstracts / Engineering Conference International : USA, 2016. – P. 10.

#### Патенты РФ

1. Патент № 2664062 Российская Федерация, МПК C01G 49/08 (2006.01), B82B 3/00 (2006.01), B82Y 30/00 (2011.01), A61K 49/18 (2006.01). Способ получения кластеров из наночастиц магнетита : № 2016151256 : заявл. 26.12.2016 : опубл. 14.08.2018 / А. А. Никитин, М. Ф. Федорова, И. В. Щетинин, М. А. Абакумов, Е. К. Белоглазкина, Н. Л. Клячко, Ю. И. Головин, А. Г. Савченко, А. Г. Мажуга. – 7 с. : ил.
2. Патент № 2686931 Российская Федерация, МПК C01G 49/08 (2006.01), B01J 19/12 (2006.01), B82B 3/00 (2006.01), B82Y 30/00 (2011.01), B82Y 5/00 (2011.01), A61P 35/00 (2006.01), A61K 33/26 (2006.01), A61K 41/00 (2006.01), A61K 49/06 (2006.01). Способ получения стержневых наночастиц магнетита : № 2017144639 : заявл. 19.12.2017 : опубл. 06.05.2019 / А. А. Никитин, М. А. Храмов, М. А. Абакумов, А. Г. Мажуга. – 2 с. : ил.

**Сокращения, принятые в тексте:** АФК-активные формы кислорода; АЭС-атомно-эмиссионная спектроскопия; 1,2-ГДД-1,2-гексадекандиол; ДОРА-6-нитродофамин; ДСР-динамическое светорассеяние; ДФУК-3,4-дигидроксифенилуксусная кислота; ИК-инфракрасный; КА-контрастный агент; КлНЧМ-кластерные наночастицы магнетита; КНЧМ-кубические наночастицы магнетита; МНЧ-магнитные наночастицы; МРТ-магнитно-резонансная томография; НЧ-наночастицы; ПАВ-поверхностно-активное вещество; ПЭГ (PEG)-полиэтиленгликоль; ПЭИ (PEI)-полиэтиленмин; ПЭМ-просвечивающая электронная микроскопия; ПЭМВР-просвечивающая электронная микроскопия высокого разрешения; РСА-рентгеноструктурный анализ; РФА-рентгенофазовый анализ; СНЧМ-стержневидные наночастицы магнетита; Су5-Цианин-5-амин; EDC-1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодимид; EPR-эффект повышенной проницаемости и удержания; EtOH-этанол; Fe(acac)<sub>3</sub>-ацетилацетонат железа (III); FeOL-олеатный комплекс железа (III); ID-введенная доза препарата; MeOH-метанол; NaOL-олеат натрия; NHS-N-гидроксисукцинимид; OA-олеиновая кислота; OAm-олеиламин; PBS-натрий-фосфатный буфер; SEM-стандартная ошибка среднего.