

УДК 622.232; 546.3

Изучение биобезопасности нановеществ и наноматериалов

Т. Г. ТОЛСТИКОВА¹, Е. А. МОРОЗОВА¹, М. В. ХВОСТОВ¹, П. П. ЛАКТИОНОВ², Е. С. МОРОЗКИН², З. Р. ИСМАГИЛОВ³, О. Ю. ПОДЪЯЧЕВА³, С. В. СЫСОЛЯТИН⁴, А. Б. ВОРОЖЦОВ⁴, Р. К. ТУХТАЕВ⁵, Ч. Н. БАРНАКОВ⁶

¹Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова Сибирского отделения РАН, проспект Академика Лаврентьева, 9, Новосибирск 630090 (Россия)

E-mail: tg_tolstikova@mail.ru

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, проспект Академика Лаврентьева, 8, Новосибирск 630090 (Россия)

³Институт катализа им. Г. К. Борескова Сибирского отделения РАН, проспект Академика Лаврентьева, 11, Новосибирск 630090 (Россия)

⁴Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН, ул. Социалистическая, 1, Бийск 659322 (Россия)

⁵Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения РАН, ул. Кутателадзе, 18, Новосибирск 630128 (Россия)

⁶Институт угля и углехимии Сибирского отделения РАН, ул. Рукавишниковая, 21, Кемерово 650610 (Россия)

Аннотация

Представлены результаты токсикологического исследования *in vivo* и *in vitro* нановеществ и наноматериалов, полученных в институтах Сибирского отделения РАН. Установлено, что по значению острой токсичности *in vivo* нанопорошки оксидов алюминия, цинка, титана и углеродные наноматериалы можно отнести к 3-му (умеренно-токсичному) или к 4-му (малотоксичному) классу веществ, а нанопорошки меди соответствуют 2-му классу токсичности. На примере нанопорошков титана с помощью исследований *in vitro* показано, что металлические нанопорошки могут быть высокотоксичными для различных первичных (здоровых) клеток, но при этом не вызывать гибель раковых клеток.

Ключевые слова: нанопорошки металлов, токсичность, *in vivo*, *in vitro*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время нанотехнология признана приоритетным направлением научно-технического развития, от которого зависит, прежде всего, национальная безопасность России. Использование нановеществ в производстве новых наноматериалов, а также новых медицинских препаратов на их основе требует выяснения действия этих нановеществ на биологические объекты. Очевидно, что эффекты от искусственно созданных химических соединений и наноматериалов могут быть как мгновенными, так и отсроченными. [1]. Поэтому развитие нанотоксикологии, как одной из важных субдисциплин нанотехноло-

гии, очень актуально. Кроме того, своевременное комплексное исследование наночастиц и наноматериалов позволит адекватно оценить потенциальную опасность нанопроductов и нанотехнологий и тем самым обеспечить здоровье населения и сохранность окружающей среды.

Необходимо создание действующей “обратной связи” между медицинскими и техническими аспектами применения новых наноматериалов на ранних этапах их разработок, что позволит вовремя определить их токсические и другие вредные эффекты. Оценка токсичности новых наноматериалов и наночастиц на лабораторных животных является ключевым этапом определения риска

при использовании нанотехнологий [2, 3]. Такие эксперименты, если их проводить в полном объеме, весьма дорогостоящи, требуют много труда и времени, поэтому для оценки потенциальной опасности большого количества уже созданных и вновь создаваемых искусственных наночастиц и наноматериалов нужно вводить методы и на клеточных тест-объектах. Это позволит съэкономить значительные средства при выборе наиболее перспективных и безопасных направлений создания наноматериалов и нанотехнологий.

В этой связи нами проведены первичные токсикологические исследования нанопорошков никеля, железа, меди, титана и оксида алюминия, углеродных наноматериалов различной морфологии, как *in vitro*, так *in vivo*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Физико-химические характеристики исследованных нанопорошков

Нанопорошки никеля, отличающиеся размером частиц и толщиной защитной углеродной оболочки, получены в Институте химии твердого тела и механохимии СО РАН с использованием следующих методов:

– восстановление формиата никеля бензиловым спиртом: партия Ni-0369 со средним размером частиц около 500 нм и партия Ni-0376 со средним размером частиц порошка около 100 нм;

– восстановление комплексных соединений никеля с гидразинкарбоновой кислотой в этиленгликоле: партия Ni-0372 со средним размером частиц 20–40 нм;

– механохимическое измельчение никеля в смеси с сажей: партия Ni/C; наночастицы

никеля, каждая из которых покрыта слоем графита толщиной 5–10 нм;

– термическое разложение формиата никеля: партия Ni-г/р, размер частиц конечного продукта составляет около 50 нм.

Нанопорошки оксида алюминия, железа, меди, титана получены в Институте проблем химико-энергетических технологий СО РАН электровзрывом металлической проволоки (ЭВП) [4]. Физико-химические характеристики нанопорошков приведены в табл. 1.

Физико-химические характеристики исследованных углеродных наноматериалов

Углеродные наноматериалы, различающиеся в значительной степени по своей структуре и морфологии, получены в Институте катализа СО РАН: углеродные нанотрубки (УНТ), углеродные нановолокна (УНВ), азотсодержащие УНВ (N-УНВ), аморфный микропористый углерод (АМУМ) и азотсодержащий АМУМ (N-АМУМ).

Углеродные нанотрубки, УНВ и N-УНВ синтезированы путем каталитического разложения углеводородных смесей (метан, этан, этилен, этилен-аммиак) на металлических катализаторах. Полученные материалы мезопористые, имеют упорядоченную графитоподобную структуру с удельной поверхностью до 350 м²/г. Диаметр трубок составляет около 20–30 нм (рис. 1).

Аморфный микропористый углерод и N-АМУМ синтезированы путем карбонизации различных органических и азотсодержащих органических предшественников. Полученные образцы характеризуются высокой удельной поверхностью (до 3200 м²/г) и объемом микропор до 1.88 см³/г. Исследование методом

ТАБЛИЦА 1

Физико-химические характеристики нанопорошков

Параметр	Порошок			
	Al (Alex TM)	Fe	Cu	Ti
Средний размер частиц, нм	160	120	120	120
Массовая доля активного металла, %	90–92 (Al ₂ O ₃ 7–9)	98	90	95
Удельная поверхность, м ² /г	15.5	7.7	7.0	7.5

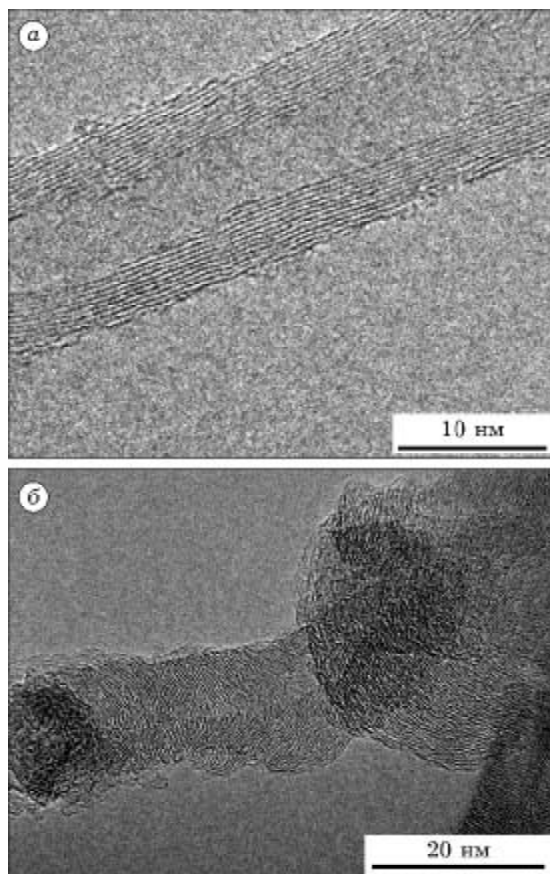


Рис. 1. Микрофотографии многостенной углеродной нанотрубки (а) и углеродного нановолокна (б).

ПЭМ показало, что структура АМУМ и N-АМУМ (1–17 % N) представлена изогнутыми графитовыми слоями, расположенными относительно друг друга на расстоянии, примерно равном 1 нм.

С помощью РФЭС было установлено, что азот в N-УНВ находится в двух основных состояниях: пиридиноподобном ($E_{\text{св}} = 398.5$ эВ) и графитоподобном ($E_{\text{св}} = 400.8$ эВ). В свою очередь, в N-АМУМ азот присутствует в нескольких формах: пиридиноподобной ($E_{\text{св}} = 398.6$ эВ), пиррольной ($E_{\text{св}} = 400$ эВ) и графитоподобной ($E_{\text{св}} = 400.9$ эВ) (III) [5–7].

Методы исследования *in vivo*

Определение токсикологических параметров нановеществ и наноматериалов проводили на белых беспородных мышцах массой 20–25 г, полученных из лаборатории экспериментальных животных Института цитологии и

генетики СО РАН. Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986). Мыши находились в стандартных пластиковых клетках фирмы Velaz на подстилке из мелкой древесной стружки, размер клеток для мышей составлял 4×25×14 см. Температура воздуха в виварии 20–23 °С, влажность – не более 50 %, объем воздухообмена (вытяжка : приток) – 8 : 10, световой режим (день : ночь) – 1 : 1. Кормление животных осуществлялось стандартным гранулированным комбикормом с минеральными и витаминными добавками и кашей из круп.

Экспериментальные группы формировались из 8–10 особей с одинаковой массой.

Токсичность нанопорошков и наноматериалов определяли при внутрижелудочном способе введения. Раствор в виде 3 % крахмальной взвеси вводили через зонд в желудок в количестве 0.2 мл/10 г массы тела. Длительность наблюдений составляла 14 сут от момента введения. Расчет среднесмертельных доз проводили по методу Кербера [8].

Регистрируемые показатели. Состояние животных оценивали по внешнему виду, поведению, а также с помощью интегральных показателей: по изменению массы тела (весы ОНАУС, США), температуры тела (электрофизиологический комплекс LabLinc, Coulbourn Instruments, США), спонтанной двигательной активности и исследовательской реакции (автоматическая регистрация двигательных актов в камере TruScan, Coulbourn Instruments, США). По окончании эксперимента проводили вскрытие животных с макроскопическим патоморфологическим исследованием внутренних органов с целью оценки токсического воздействия вводимых веществ.

Методы исследований *in vitro*

Исследования *in vitro* проводили для изучения цитотоксического и стимулирующего действия ряда наноматериалов на первичные и длительно культивируемые клетки человека.

В качестве модели использованы первичные эндотелиоциты, выделенные из пупочной вены новорожденных, первичные фибробласты из ткани десны человека, клетки

цервикальной аденокарциномы HeLa и клетки рака молочной железы MCF-7. Для количественной оценки цитотоксического действия наноматериалов использован МТТ-тест, основанный на способности митохондриальных дегидрогеназ конвертировать водорастворимый 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиум бромид (МТТ) в формазан, который кристаллизуется внутри клетки. Перевод формаза в раствор с помощью подходящих органических растворителей, таких как диметилсульфоксид (ДМСО) или изопропанол, и последующая фотометрия позволяют точно сопоставить изменение оптической плотности раствора по отношению к контролю с изменением количества жизнеспособных клеток, а в цитотоксических исследованиях – оценить специфическую гибель клеток, индуцированную тем или иным цитотоксическим агентом. Минимальное количество клеток, которое детектируется в лунке 96-ячеечного планшета, составляет 2,5 тыс. Для определения точности метода проведено измерение относительного количества клеток в 10 повторениях при использовании 5 и 10 тыс. клеток на одну точку (лунку 96-ячеечного планшета). Показано, что точность измерения характеризуется относительной погрешностью 5%. Минимальное детектируемое различие в количестве живых клеток (или минимальное достоверно детектируемое количество мертвых клеток) при использовании в анализе от 5 до 12 тыс. клеток/лунку 96-ячеечного планшета составляет 5% ($p = 0.05$) (вычисленное как \pm доверительный интервал для средней величины).

Для количественной оценки стимулирующего действия наноматериалов использован тест, направленный на измерение уровня интерлейкина-6 (ИЛ-6) – одного из основных провоспалительных цитокинов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение токсичности нанопорошков никеля

Интерес к нанопорошкам никеля связан с широкими перспективами их использования в различных отраслях промышленности, в том

числе при производстве многослойных конденсаторов, диффузионной сварке разнородных металлов, производстве ферритов, магнитов и жаропрочных сплавов, фильтрующих элементов, аккумуляторных и сварочных электродов, композиционных материалов и др. Наряду с порошками серебра и меди нанопорошки никеля относятся к числу наиболее востребованных на рынке нанометаллов. В то же время по степени воздействия на человеческий организм и способности вызывать отдаленные биологические последствия порошки никеля относятся к веществам 1-го, самого высокого, класса опасности. В связи с этим исследование их токсических свойств имеет важное значение для обеспечения безопасности как производителей, так и потребителей этих порошков [2].

Для изучения токсичности нанопорошки никеля Ni-0369, Ni-0376, Ni-0372, Ni/C, Ni-т/р вводили мышам однократно в виде 3% крахмальной взвеси в дозах 500, 1000, 2000, 2500 мг/кг.

Анализ проведенных исследований нанопорошков никеля Ni-0369, Ni-0376, Ni-0372, Ni/C показал, что однократное внутрижелудочное их введение в дозах от 500 до 2500 мг/кг не приводит к гибели животных. Общее их действие выражается в незначительном угнетении центральной нервной системы в большей дозе. Среднесмертельная доза для этих образцов при внутрижелудочном способе введения (LD_{50}) для мышей превышает 2000 мг/кг. Только для образца Ni-т/р, полученного термическим разложением формиата никеля, среднесмертельная доза оказалась несколько ниже и составила менее 1000 мг/кг: токсическая картина отравления наблюдалась при введении нанопорошка в дозе 700 мг/кг.

Поведение и состояние опытных животных соответствовало фоновым показателям во всем диапазоне доз. У животных не отмечено статистически значимых изменений температуры тела по сравнению с контролем, прирост массы тела был равномерным во всех группах. Введение всех образцов порошков никеля не оказывало существенного влияния на состояние центральной нервной системы опытных животных.

На основании макроскопического патоморфологического анализа внутренних органов,

проведенного через 14 сут после введения нанопорошков никеля, патологических изменений органов грудной и брюшной полости не выявлено.

Токсичность нанопорошков железа, меди, титана и оксида алюминия

Известно, что наночастицы металлов и их оксидов представляют интерес в качестве биологически активных материалов. В частности, наномедь предлагается использовать при постинфарктном состоянии и как антибактериальное средство. Наножелезо является ранозаживляющим средством. Эти же металлы обладают цитостатической активностью [9]. Однако комплексных (*in vivo* и *in vitro*) исследований токсичности наноматериалов и нанометаллов не проводилось. В то же время алюминий, железо, никель, медь, титан и цинк широко исследуются в композиционных материалах для создания перспективных взрывчатых составов и смесевых твердых ракетных топлив, где знания о токсичности также необходимы.

В следующей серии экспериментов была определена токсичность нанопорошков железа, меди, титана и оксида алюминия при внутрижелудочном способе введения на мышцах в дозах 200, 500, 1000, 2000, 2500 мг/кг. Изучение токсичности этих нанопорошков показало, что однократное внутрижелудочное их введение в дозах от 500 до 2500 мг/кг не вызывало гибели животных, общее действие выражалось в незначительном угнетении центральной нервной системы в большей дозе. Однократное введение меди в диапазоне доз от 200 до 400 мг/кг приводило к гибели животных. Для нанопорошков оксида алюминия, железа и титана среднесмертельная доза при внутрижелудочном способе введения (LD_{50}) для мышей превышала 2000 мг/кг, для нанопорошка меди она составляла 225 мг/кг.

Поведение и состояние опытных животных соответствовало фоновым показателям во всем диапазоне доз. У животных не отмечено статистически значимых изменений температуры тела по сравнению с контролем, прирост массы тела был равномерным во всех группах.

Исследование влияния нанопорошков металлов на двигательную-эмоциональную активность животных при однократном внутриже-

лудочном введении в дозах 10 и 500 мг/кг показало, что все исследованные нанопорошки в дозе 10 мг/кг увеличивают исследовательскую реакцию животных. При этом нанопорошки железа и титана уменьшают пройденное животным расстояние, что может свидетельствовать о большей степени обратимого угнетающего (отрицательного) воздействия на центральную нервную систему в данной дозе. А в дозе 500 мг/кг только нанопорошок титана значительно угнетает двигательную активность животных, что выражается в снижении всех показателей. Остальные исследованные нанопорошки металлов выраженного влияния на двигательную-эмоциональную поведение животных не оказывают.

При макроскопическом исследовании внутренних органов токсического действия не обнаружено.

Все нанопорошки в изученных дозах не оказывают патологического влияния на температуру и массу тела и токсического воздействия на внутренние органы.

На основании полученных результатов сделано заключение о том, что нанопорошки титана, железа, оксида алюминия, полученные методом электровзрыва металлической проволоки, относятся к 3-му (умеренно-токсичному) классу веществ. Нанопорошок меди отнесен ко 2-му (токсичному) классу веществ.

Ввиду того, что нанопорошки значительно угнетали двигательную активность животных, проведена отдельная серия экспериментов (табл. 2), в которых исследуемые соединения вводили однократно внутрижелудочно в дозе 10 и 500 мг/кг. Через 1 ч после введения соединений животных помещали в центр фотосенсорной установки TruScan (Coulbourn Instruments, США), где в течение 2 мин регистрировали показатели вертикальной и горизонтальной активности мышей.

Установлено, что все исследованные агенты в дозе 10 мг/кг увеличивают исследовательскую реакцию животных (см. табл. 2, показатели З и И), при этом нанопорошки железа и титана уменьшают пройденное расстояние, что может свидетельствовать о снижении двигательной активности.

В дозе 500 мг/кг только нанопорошок титана значительно угнетает двигательную активность животных, что выражается в снижении всех показателей. Остальные соедине-

ТАБЛИЦА 2

Влияние нанопорошков металлов на показатели двигательного-эмоционального поведения животных

Нанопорошок	А	Б	В	Г	Д	FP CENTRE DIST	Е
<i>Доза 10 мг/кг</i>							
Контроль	10.9±0.8	106±1.04	330.5±13.3	2.8±0.1	14±1.0	85.9±11	8.8±1.1
Оксид алюминия	11.5±0.8	106.9±1.3	297±11.1	2.5±0.1	12.1±1.3	113.3±8.1	9.9±0.8
Медь	11.6±1.1	105.9±1.3	293.8±23.3	2.4±0.2	14.1±1.3	104±13.7*	12.4±1.5
Железо	10.8±1.03	105.5±1.7	277±18.9*	2.3±0.2	14.5±1.7	126±9.9*	6.5±1.2
Титан	11.5±0.6	105.3±1.0	273.7±128*	2.3±0.1	14.8±1.0	98.6±10.5	8.8±1.9
<i>Доза 500 мг/кг</i>							
Контроль	13±0.89	101.2±0.9	288.52±27.3	2.36	18.8±0.9	–	12.8±2.1
Оксид алюминия	15±1.18	97.8±1.9	210±16.7*	1.68*	22.2±1.9	–	10.2±1.0
Железо	15.5±1.48	94±4.1	226.6±25.2	1.83	26±4.1	–	9.8±1.1
Титан	17.5±0.89*	88.5±3.5*	191±19.9*	1.55*	31.5±3.5*	–	6.5±2.1

Примечание. А – количество двигательных актов, Б – время активности, с; В – пройденное расстояние, см; Е – количество вертикальных стоек, Ж – время, проведенное в стойках, с; З – количество исследованных

* $p < 0.05$ относительно контроля.

ния выраженного влияния на двигательное-эмоциональное поведение животных не оказывают (см. табл. 2).

Введение нанопорошков железа и титана привело к токсическим влияниям на ЦНС при исследованиях *in vivo*, поэтому на моделях *in vitro* было изучено цитотоксическое и стимулирующее действие на первичные и длительно культивируемые клетки человека.

Из полученных данных следует, что присутствие нанопорошка железа оказывало более слабый цитотоксический эффект на первичные эндотелиоциты, выделенные из пупочной вены новорожденных, первичные фибробласты из ткани десны человека, клетки цервикальной аденокарциномы HeLa и клетки рака молочной железы MCF-7, который выявлялся при концентрациях наноматериалов, близких к максимальным (100 мкг/мл). Обнаружены интересные свойства нанопорошка титана, который не вызывал гибель раковых клеток, но в то же время оказался очень токсичным для первичных клеток уже в дозе 80 мкг/мл.

Исследование влияния нанопорошков металлов на секрецию провоспалительных цитокинов показало, что ни один из исследованных наноматериалов практически не влияет на концентрацию провоспалительного цитокина ИЛ-6 в культуре первичных клеток.

Полученные данные о токсическом воздействии нанопорошка титана на живые системы подтверждают тот факт, что одни и те же наноматериалы могут проявлять неоднородное токсическое воздействие как на целый организм, так и на отдельные клетки.

Определение острой токсичности углеродных наноматериалов

Острую токсичность углеродных материалов определяли при внутрижелудочном способе введения на мышах в дозах 1000, 2000, 2500, 3000, 4000 и 5000 мг/кг.

В последние годы появились работы, в которых показана широкая возможность использования углеродных наноматериалов в биомедицине. Во-первых, это создание биосенсоров, основанных на ферментных электродах, закрепленных на углеродных нанотрубках, для анализа биологических сред (глюкозы, холестерина, мочевины, аминокислот и др.) [10, 11]. Во-вторых, использование углеродных нанотрубок для внутриклеточной терапии, т.е. доставки нужного реагента в клетку для лечения таких заболеваний, как рак, СПИД и т.д. [12, 13]. В-третьих, применение углеродных нанотрубок и углеродных нановолокон непосредственно для уничтожения бактерий, микробов и даже раковых клеток [13].

Ж	З	И
11.6±1.7	4.6±0.8	5.8±1.0
14.1±1.5	9.38±1.2*	11.4±1.4*
18.4±2.6*	8.9±0.5*	9.6±0.5*
11.3±2.5	7.88±1.2*	9.4±1.4
13±2.7	7.5±0.6*	9.9±0.7*
25.6±2.2	44	56
18.6±2*	28	32
14.2±1.8*	28	35
8.33±3*	35	48

Г – скорость движения, см/с; Д – неподвижный момент, с; отверстий; И – время исследовательской реакции, с.

Функционализация углеродных наноматериалов (N, B, F) является перспективным направлением в получении углеродных трубок или волокон с новыми химическими свойствами. Например, введение азота в N-УНВ позволяет изменять электрическую проводимость углеродных волокон [7]. С другой стороны, присутствие на поверхности углеродного материала готовых азотсодержащих функциональных групп может упростить процедуру иммобилизации целевых биологических молекул для последующей адресной доставки реагента в клетку. В связи с этим исследование острой токсичности углеродных наноматериалов и функционализированных

азотом углеродных наноматериалов представляется чрезвычайно актуальным.

В данной статье приведены данные по изучению токсических свойств углеродных наноматериалов в зависимости от структуры (графитоподобная или аморфная), морфологии (трубки, волокна), текстуры (удельная поверхность), присутствия азота в материале и его количества (0–17 мас. % N), количества оставшегося после отмывки в углеродном материале металлического катализатора (зольность 0–9 мас. %). Результаты исследований представлены в табл. 3.

ВЫВОДЫ

На основании проведенных исследований сделаны следующие выводы:

1. Физико-химические характеристики углеродных нановолокон и введение в УНВ азота не оказывают влияния на величину среднесмертельной дозы; вся группа веществ относится к 4-му (малотоксичному) классу веществ.

2. Исследованные углеродные нанотрубки (УНТ) относятся к 3-му (умеренно-токсичному) классу веществ, нерастворимы в воде, что выгодно их отличает от водорастворимых углеродных нанотрубок. Как известно, водорастворимые углеродные нанотрубки, в зависимости от их поступления в организм животных, проявляют различное токсическое воздействие на живые системы. В частности, при пероральном введении они распределя-

ТАБЛИЦА 3

Острая токсичность углеродных наноматериалов

Материал	N, мас. %	$S_{уд}$, м ² /г	Зольность, %	ЛД ₅₀ , мг/кг
<i>Углеродные нанотрубки (УНТ)</i>				
УНТ	0	200	1.8	>3000
<i>Углеродные нановолокна (УНВ и N-УНВ)</i>				
УНВ	0	220	1.3	>5000
N-УНВ	1	270	2	>5000
N-УНВ	3.4	290	5	>5000
N-УНВ	7.5	220	9	>5000
<i>Аморфный микропористый углерод (АМУМ и N-АМУМ)</i>				
АМУМ	0	2700	1.2	>3000
N-АМУМ	5	800	0	>5000
N-АМУМ	17	1300	0.8	>5000

ются по тканям и органам, исключая мозг, снижают жизнеспособность клеток, увеличивают содержание воспалительного маркера интерлейкина-8. Эти же нанотрубки характеризуются высокой аффинностью к молекуле ДНК, что делает их потенциальными мутагенами. Основной причиной повреждающего действия углеродных наноструктур является индукция активных форм кислорода и окисление биологических молекул [14–16].

3. Токсичность аморфного микропористого углерода зависит от содержания азота в материале и снижается от 3-го класса умеренно-токсичных веществ (0 % N) до 4-го (малотоксичного) класса веществ (5 или 17 % N).

4. Низкая токсичность исследованных углеродных наноматериалов определяет их перспективность для создания наноструктурированных форм лекарственных препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Межакадемического проекта СО РАН № 9 совместно с организациями УрО и ДВО РАН, государственных академий наук России, национальных академий наук стран СНГ, Монголии и Китая.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Yoshikawa T., Nabeshi H. and Yoshioka Y. // *Yakugaku zasshi*. 2008. Vol. 128, No. 12. P. 1715.
- 2 Fischer H. C. and Chan W. C. // *Curr. Opin Biotechnol.* 2007. Vol. 18, No. 6. P. 565.
- 3 Medina C., Santos-Martinez M. J., Radomski A., Corrigan O. I. and Radomski M. W. // *Br. J. Pharmacol.* 2007. Vol. 150, No. 5. P. 552.
- 4 Лернер М., Ворожцов А., Eisenreich N., Давыдович В., Родкевич Н. // *Изв. вузов. Физика*. 2008. № 4. С. 190.
- 5 Shalagina A. E., Ismagilov Z. R., Podyacheva O. Yu., Kvon R. I. and Ushakov V. A. // *Carbon*. 2007. Vol. 45, No. 9. P. 1808.
- 6 Ismagilov Z. R., Shalagina A. E., Podyacheva O. Yu., Barnakov Ch. N., Kozlov A. P., Kvon R. I., Ismagilov I. Z. and Kerzhentsev M. A. // *Kinet. Catal.* 2007. Vol. 48, No. 4. P. 581.
- 7 Ismagilov Z. R., Shalagina A. E., Podyacheva O. Yu., Barnakova Ch. N. // *Carbon*. 2009. Vol. 21. P. 1922.
- 8 Бельский М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Медгиз, 1963.
- 9 Karlsson H. L., Cronholm P., Gustafsson J. and Moller L. // *Chem. Res. Toxicol.* 2008. Vol. 21. P. 1726.
- 10 Rubianes M. D. and Rivas G. A. // *Electrochem. Commun.* 2007. No. 9. P. 480.
- 11 Besteman K., Lee J.-O., Wiertz F. G. M., Heering H. A. and Dekker C. // *Nanolett.* 2003. Vol. 3, No. 6. P. 727.
- 12 Park S., Kim Y.-Su, Kim W. B., Jon S. // *Nanolett.* 2009. Vol. 9, No. 4. P. 1325.
- 13 Lacerda L., Raffa S., Prato M., Bianco A., Kostarelos K. // *Nanotoday*. 2007. Vol. 2, No. 6. P. 38.
- 14 Geys J., Nemmar A., Verbeken E., Smolders E., Ratoi M., Hoylaerts M. F., Nemer B. and Hoet P. H. M. // *Environ. Health Perspect.* 2008. Vol. 2116, No. 12. P. 1607.
- 15 Reeves J. F., Davies S. J., Dodda N. J. F. and Jha A. N. // *Fund. Mol. Mechan. Mutagen.* 2008. Vol. 640, No. 1–2. P. 113.
- 16 Lam C. W., James J. T., McCluskey R., Arepalli S., Hunter R. L. // *Crit. Rev. Toxicol.* 2006. Vol. 36, No. 3. P. 189.