

DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-4-29-44
© Коллектив авторов, 2020

Р. Ю. Яковлев¹, П. Г. Мингалёв², Н. Б. Леонидов³, Г. В. Лисичкин^{2,*}

ДЕТОНАЦИОННЫЙ НАНОАЛМАЗ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ НОСИТЕЛЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

¹ Институт геохимии и аналитической химии имени В. И. Вернадского Российской академии наук, Россия, 119991, Москва, ул. Косыгина, 19.

² Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, с. 3.

³ Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова Министерства здравоохранения РФ, Россия, 390026, Рязань, ул. Высоковольная, 9.

* e-mail: lisich@petrol.chem.msu.ru

Обобщены сведения о применении детонационного наноалмаза (ДНА) в биомедицинских приложениях. Приведены литературные и собственные данные по получению ДНА с биологически активными веществами и распределению частиц наноалмаза *in vivo*. Рассмотрены методы адсорбционной и ковалентной иммобилизации биологически активных веществ на поверхности ДНА. Выделены основные направления развития в области создания на основе ДНА систем доставки биологически активных и лекарственных веществ (ЛВ). Привлекательность биомедицинских приложений ДНА обусловлена совокупностью его свойств: биосовместимостью, возможностью конструирования функциональной поверхности частиц, сильной и специфической адсорбцией/конъюгированием с ЛВ и биомолекулами, большой удельной площадью поверхности, наличием стабильной флуоресценции.

Ключевые слова: наноалмаз; модифицирование поверхности; лекарственные вещества; биологически активные вещества; конъюгаты.

Одна из важнейших целей нанотехнологий состоит в создании систем доставки биологически активных (БАВ) и лекарственных веществ ЛВ на основе наночастиц. Доставка ЛВ обычно предполагает направленный транспорт ЛВ в заданную мишень — область организма, органа, клетки или клеточную органеллу. Наночастицы как средство доставки БАВ и ЛВ позволяют повысить биодоступность лекарств, уменьшить их дозу и снизить токсичность [1].

К настоящему времени в литературе описано более 400 видов наночастиц, которые в той или иной степени пригодны для использования в качестве носителей для БАВ. Из них наиболее изучены липосомы, полимерные наночастицы, наночастицы металлов (преимущественно Au), дендримеры, микроэмульсии, белки и др. [2]. До практического применения в медицине доведены лишь липосомы и в меньшей степени дендримеры и нанокристаллы. Однако липосомальные носители, будучи нетоксичными, биосовместимыми и ёмкими, недостаточно стабильны при хранении и существенно ограничены в практическом применении, так как не могут использоваться для терапии целого ряда органов. Поэтому разработка новых носителей для эффективных и низкотоксичных систем доставки ЛВ — актуальная комплексная научно-исследовательская задача.

Среди всего многообразия изучаемых наноматериалов в биомедицинских исследованиях в последние годы привлекают повышенное внимание углеродные

наноструктуры: фуллерены, графен и его оксид, углеродные нанотрубки (УНТ), карбин и детонационный наноалмаз (ДНА) [3, 4]. Углеродные наноструктуры являются одними из основных претендентов на роль “идеальных” носителей для систем доставки БАВ и ЛВ, так как их поверхность можно направленно функционализировать для оптимальной ковалентной или адсорбционной иммобилизации БАВ и ЛВ. Они могут пассивно проникать через мембраны различных типов клеток [5]. Варьирование размера и формы углеродных частиц может также влиять на скорость проникновения частиц в клетку. Однако возможность использования нанотрубок в качестве наноконтейнеров подвергается серьёзному сомнению в связи с их токсичностью *in vitro* и *in vivo* [6]. Разработка систем доставки ЛВ на основе фуллерена C₆₀ также вызывает большой интерес исследователей. С другой стороны, исследование безопасности фуллерена C₆₀ выявило его потенциальную канцерогенность и генотоксичность [7].

Графен и наиболее часто используемый в биомедицинских приложениях оксид графена, имеющие высокие значения удельной поверхности, широко изучаются как возможные наноносители в системах доставки БАВ и ЛВ. Тем не менее отмечается, что оксид графена, обладая антибактериальной активностью, связанной с окислительным и мембранным стрессом, может вызывать внутриклеточную инактивацию белков, перекисное окисление липидов, дисфункцию митохонд-

рий и, в итоге, апоптоз или некроз [8]. Поэтому применение графена и его оксида в биофармации и фармакологии, в том числе в системах доставки ЛВ требует дополнительных исследований биобезопасности. Вообще, можно сделать вывод о том, что влияние электронной структуры сопряженной π -системы на живые организмы при введении углеродных наноструктур приводит к окислительному и мембранному стрессу клеток, что обуславливает их токсическое действие [9].

Показано, что среди углеродных наноструктур наименьшим токсическим действием обладает детонационный наноалмаз [10, 11]. Поэтому в последнее время интерес исследователей смещается от рассмотренных выше углеродных наноструктур к ДНА [12]. Значительный и всё возрастающий интерес к ДНА подтверждается выделением в основополагающей по данной тематике международной конференции “Diamond and Carbon Materials” отдельной секции по применению ДНА как носителя в системах доставки ЛВ [13].

Детонационный наноалмаз

Получение ДНА. Детонационный синтез наноалмаза включает в себя подрыв в специальной камере взрывчатых веществ (ВВ), которые используются как исходный материал для формирования алмазных частиц. В центре этих частиц имеется ядро, в котором атомы углерода находятся в состоянии sp^3 -гибридизации кубической сингонии графитированной решетки алмаза [14]. На границе алмазного ядра имеются переходные структуры углерода с фрагментами деформированной алмазной структуры, луковичного углерода, графита, аморфного углерода и др., причем их содержание зависит от условий синтеза, очистки и дальнейшей обработки [15, 16]. Помимо алмазной фазы, часть примесей в ДНА составляют гетероатомы — О (5 % атомов и более), N (1 – 3 % атомов) и H (до 1 % атомов), входящие в состав функциональных групп поверхности [15]. Атомы азота, независимо от условий синтеза, могут входить также в состав алмазного ядра. Существенно также содержание несгораемых примесей. Они состоят из солей, оксидов и карбидов различных примесных элементов, например, Fe, Cr, K, Zn, Ti и др. Характер и количество примесей в ДНА может варьироваться в зависимости от производителя и от партии к партии [17, 18].

Полученную в результате детонации алмазную шихту (АШ) подвергают химической очистке. Для этого используют как газофазную, так и жидкофазную окислительную обработку. От несгораемых примесей избавляются обработкой АШ при повышенных температурах (до 200 °С) с помощью жидких окислителей. При этой обработке удаляются как неалмазный углерод, так и металлы (Fe, Cr, Al, Ti и др.), сорбированные на поверхности ДНА в процессе его получения.

Химическое модифицирование поверхности ДНА

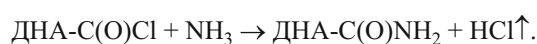
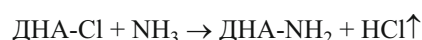
Как правило, ДНА разных производителей имеют различные свойства из-за различий сырья, условий синтеза и применяемых методов очистки. Кроме того, как уже отмечалось выше, на поверхности немодифицированного алмаза присутствуют самые разнообразные функциональные группы. Поэтому различны и ха-

рактеристики разных образцов ДНА, а результаты исследований, проводимых с ним, не всегда воспроизводимы (эффекты физико-химической и био-неэквивалентности) [17]. Для стандартизации химических и физико-химических характеристик поверхности ДНА его необходимо унифицировать.

Гидрирование поверхности является одним из наиболее широко изучаемых и применяемых процессов унификации поверхности как для ДНА, так и для синтетических алмазов [19, 20]. В результате гидрирования на поверхности ДНА увеличивается количество С-Н групп, что подтверждается элементным анализом и методом ИКС [15]. После обработки поверхности ДНА газообразным водородом при температуре 800 – 850 °С не все гидроксильные группы восстанавливаются, а получается бифункциональная поверхность, на которой имеются как Н, так и ОН группы [21]. Утверждают [22], что гидроксильные группы могут быть удалены при более высоких температурах или с более длительным временем гидрирования, или обработкой в водородной плазме. При повышении температуры гидрирования ДНА от 400 до 900 °С может меняться степень восстановления поверхности, вплоть до графитизации ДНА [23]. Однако, по данным работы [15], температура гидрирования до 800 – 850 °С не приводит к графитизации ДНА в течение 5 ч обработки [21, 24].

Гидрированная поверхность наноалмаза малореакционноспособна, поэтому гидрированный алмаз подвергают дальнейшей обработке, чаще всего галогенированию. При этом поверхность ДНА активируется, а атом галогена можно заменить на функциональную группу прививаемого соединения [25]. Фторированный ДНА редко используют для замены атомов фтора на молекулы БАВ и/или ЛВ [26]. Хлорированный ДНА представляется более перспективным в качестве прекурсора перед прививкой БАВ и ЛВ на поверхность ДНА. Обработку ДНА обычно ведут молекулярным хлором при фотоиницировании [27] или в газовой фазе [24], хлористым тиоилом [28] или в плазме хлорсодержащего вещества, например, CCl_4 [29].

Поверхность ДНА, покрытая первичными аминогруппами, представляет собой удобную платформу для связывания с биомолекулами, в частности, с белками, ферментами или пептидными цепочками [30]. ДНА с привитыми соединениями, содержащими концевую аминогруппу, часто называют аминированными. Обычно аминирование проводят газообразным аммиаком при повышенной температуре (425 °С), используя уже хлорированную поверхность ДНА [31], по схеме:



При этом полного замещения поверхностных функциональных групп ДНА на аминогруппы не достигается [30].

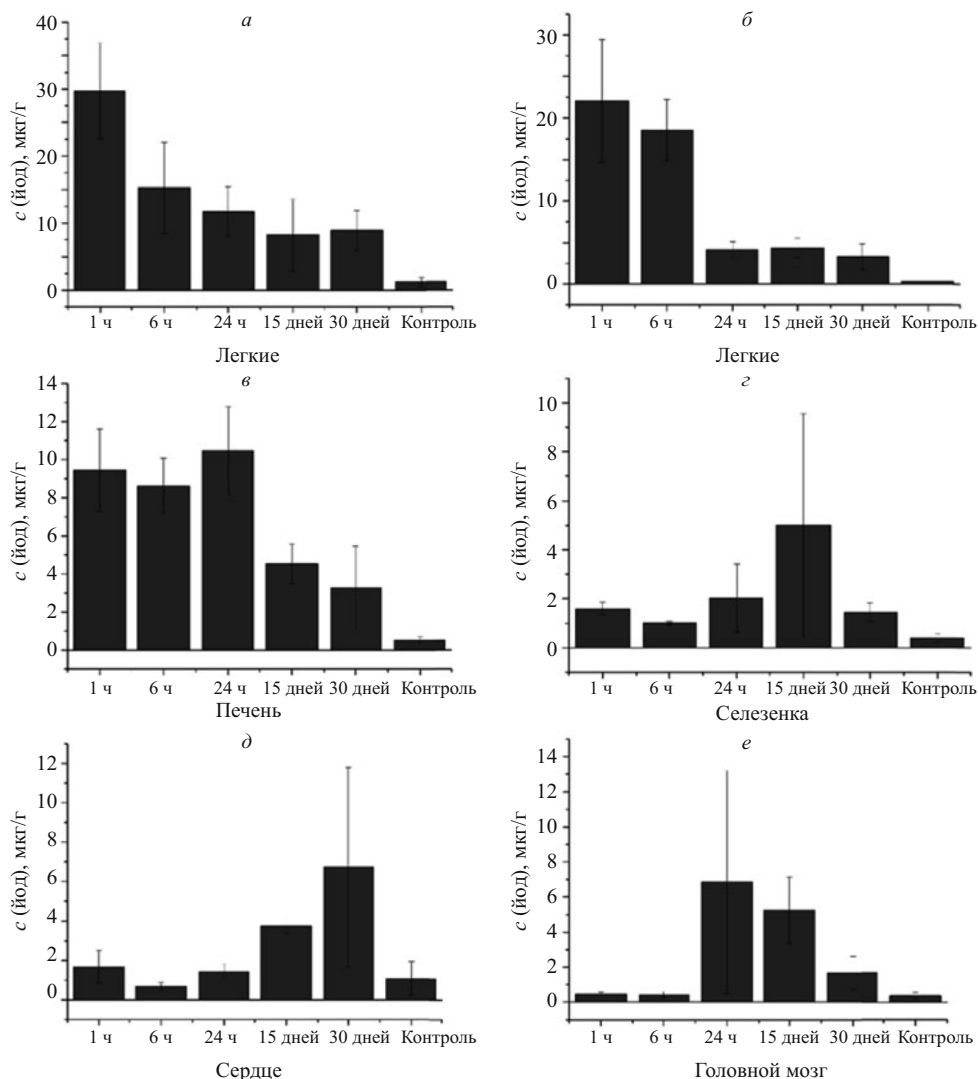


Рис. 1. Динамика накопления и выведения ДНА с рентгеноконтрастной меткой *ex vivo* методом ИСП-МС по органам кролика (среднее по 5 животным).

Биораспределение ДНА в организме экспериментальных животных

Изучению свойств частиц наноалмаза *in vivo* исследователями уделено пока еще недостаточно внимания. Этот вопрос рассматривается всего в нескольких работах. Первая работа по изучению биораспределения наноалмаза была выполнена с применением радиоактивной метки ^{125}I [32]. Однако в ней использовался не ДНА, а ультрадисперсный алмаз, полученный разрушением больших искусственных кристаллов алмаза, частицы которого размером ~ 50 нм имели острые сколотые углы. Обнаружено, что исследуемые частицы ультрадисперсного алмаза быстро изолируются в печени ($\sim 40\%$), в меньшей степени в легких ($\sim 6\%$) и селезенке ($\sim 1\%$). Испытания на 28 день после введения показали, что $\sim 60\%$ частиц сконцентрировано в печени и менее 10% — в легких. Полученные результаты свидетельствуют о ведущей роли тканевых макрофагов в абсорбции (распределении, метаболизме и экскреции) наноалмаза наряду с прочими твердыми частицами в крови. Однако степень биодоступности может варьироваться в зависимости от природы веще-

ства, конъюгированного с ДНА. В соответствии с возможной загрузкой механизм захвата имеет функциональное значение как для органов, так и для отдельных клеток [33].

В течение 48 ч исследовали биораспределение ДНА с размером частиц $2 - 8$ нм и чистотой более 95% с помощью радиоактивного изотопа ^{188}Re при интрахеальном введении мышам [34]. Установлено, что ДНА распределяются в селезенке, печени, костях и сердце при максимальном накоплении в легких.

В течение 28 сут изучали токсичность, накопление и выведение из легких у мышей ДНА (размер частиц 5 нм) и раздробленного синтетического наноалмаза (размер частиц 50 нм) при их интрахеальном введении [35]. На основании гистопатологических и ультраструктурных исследований был сделан вывод о том, что наноалмазы не оказывают очевидных негативных эффектов на легочную ткань в течение всего исследуемого периода. Выведение их из легких связано с поглощением их альвеолярными макрофагами и последующим клиренсом в трахею и затем в глотку.

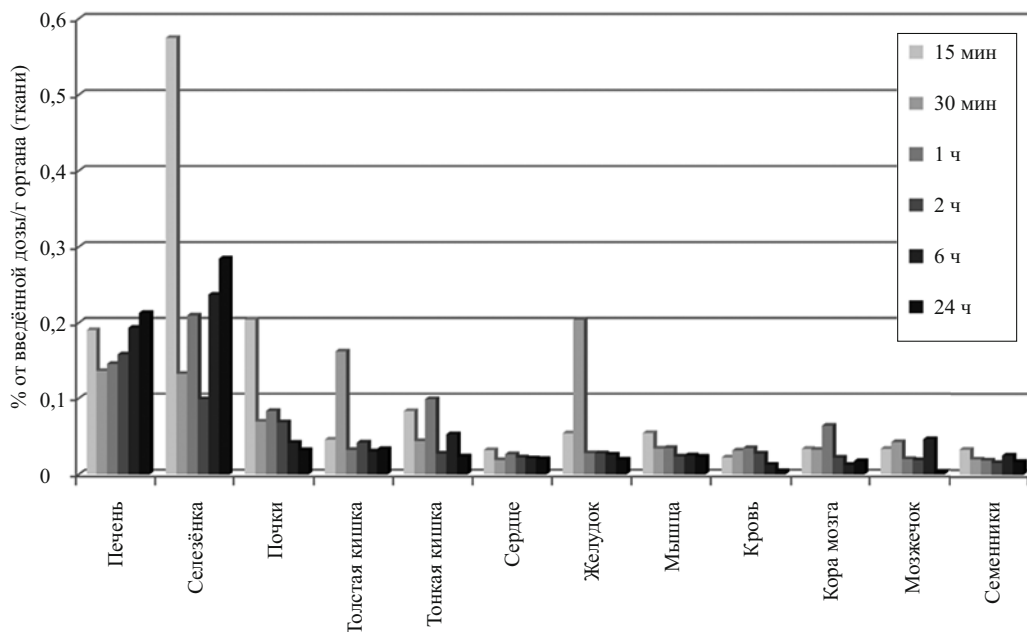


Рис. 2. Биораспределение $[^3\text{H}]$ -ДНА *ex vivo* в организме крыс от 15 мин до 24 ч при внутривенном введении в бедренную вену (среднее по 2 животным).

Изучено биораспределение *in vivo* ДНА как отдельно, так и совместно с УНТ [36]. Для их визуализации использовалась радиоактивная метка $^{99\text{m}}\text{Tc}$. При однократном внутривенном введении мышам ДНА преимущественно накапливался в печени, селезенке и легких. Спустя 24 ч количество аккумулированного наноалмаза в легких снижалось, а в печени и селезенке продолжало накапливаться. По мнению авторов, это связано с перемещением наночастиц из легких в кровеносную систему, а затем последовательно в печень и селезенку. Высокое накопление ДНА в органах обусловлено малым размером наночастиц и их быстрым захватом тканевыми макрофагами через опсонизацию за счет связывания опсониев с наноалмазами и поглощения их макрофагами. При совместном введении наноалмаза и нанотрубок биораспределение наноалмаза *in vivo* существенно меняется. Так, при увеличении в смеси нанотрубок накопление ДНА в печени и селезенке животного уменьшалось, но при этом постепенно увеличивалось их количество в легких. В свою очередь, наноалмазы не оказывали существенного влияния на биораспределение УНТ *in vivo*.

Методом позитронно-эмиссионной томографии [37] было изучено биораспределение ДНА с меткой ^{18}F . Показано, что ДНА накапливались в большей степени в легких, селезенке и печени и экскретировались мочевыделительной системой. После удаления методом фильтрации частиц с большим кинетическим размером поглощение ДНА в легких и селезенке было подавлено, а накопление в печени значительно снизилось.

Применение ДНА с рентгеноконтрастной меткой позволило методом рентгеновской компьютерной томографии (РКТ) визуализировать циркуляцию этого конъюгата в кровеносной системе кролика [25]. Однако чувствительности метода РКТ не хватило для его обнаружения в основных органах, так как повышение

радиометрической плотности органов по Хаусфилду оказалось статистически недостоверным до и после введения конъюгата в организм. Поэтому было решено изучить распределение ДНА в органах кролика *ex vivo* методом ИСП-МС по изменению в них концентрации йода с течением времени [38]. Для этого изолированные органы животного переводили в жидкую фазу нагреванием в 1 М растворе едкого натра и непосредственно перед измерением проводили ультразвуковую обработку образцов. Результаты анализа биораспределения ДНА с рентгеноконтрастной меткой *ex vivo* методом ИСП-МС представлены на рис. 1 [25].

Установлено, что достаточно быстрое (уже через 1 ч после введения) и максимальное кумулирование ДНА происходит в легких (до 30 мкг/г), меньше — в селезенке (23 мкг/г). Максимальное содержание ДНА в других органах достигается медленнее: в печени и головном мозге через 1 сут, а в почках и в сердце — на 15 сут. При этом в сердце и головном мозге накапливается до 6,5 мкг/г. Выводится ДНА, как следует из данных рис. 1, из всех органов практически в течение 1 мес. Это открывает дополнительные возможности применения ДНА в фармацевтической практике для разработки пролонгированных лекарственных форм. Принципиально важно, что частицы ДНА проникают в головной мозг, преодолевая гематоэнцефалический барьер. Таким образом, возникает принципиальная возможность разработки на основе ДНА перспективных лекарственных средств для лечения болезней ЦНС.

Изучено временное изменение биораспределения тритийзамещенного наноалмаза $[^3\text{H}]$ -ДНА *ex vivo* в течение 24 ч при внутривенном его введении в бедренную вену крыс и определении радиоактивности в 13 органах и тканях (рис. 2).

Чтобы наглядно изучить распределение ДНА по каждому виду ткани или органа, из графика рис. 2 были убраны значения для легких, поскольку накопление в них было максимально и на порядок превышало накопление в других органах и тканях (4,5; 6,2; 4,7; 5,8; 1,8 и 2,5 % от введенной дозы/г органа, соответственно). Количество ДНА в легких достигает 4,4 %/г органа в течение 15 мин и повышается до 6,2 % к 30 мин. Через 6 ч количество частиц в легких снижается до 1,8 %, а к 24 ч накапливается до 2,3 %.

Следующим органом по количеству накопленного ДНА в течение 15 мин является селезенка, в которой ДНА определяется в количестве 0,6 % от введенной дозы/г органа. ДНА проникает в почки уже через 15 мин после введения, после чего концентрация ДНА постепенно снижается. Можно сделать вывод о том, что ДНА выводится через желудочно-кишечный тракт, в который он поступает через 30 мин после введения, и его концентрация увеличивается за это время в 4 раза — с 0,05 до 0,2 %/г. Также получена фармакокинетическая кривая накопления ДНА в крови, концентрация которого с течением времени постепенно снижается. Таким образом, были определены основные органы накопления и выведения ДНА в организме крысы.

Однако к настоящему времени биораспределение ДНА *in vivo* и влияние ДНА на органы и ткани экспериментальных животных изучены только в норме. Подобные данные при различных патологиях (инфекциях) в литературе отсутствуют, что делает подобные исследования чрезвычайно актуальными.

Биологическая активность и токсичность ДНА

Первым исследователем, предложившим использование ДНА в медицине, был В. Ю. Долматов [39]. Он обнаружил, что ДНА обладают высокой активностью к патогенным вирусам, микробам и бактериям и могут быть использованы в качестве энтеросорбента (адсорбента *in vivo*) [39]. Также изучена цитотоксичность ДНА, которая показала его хорошую биосовместимость на таких разных культурах клеток, как клетки аденокарциномы легких человека [40]; клетки HeLa (карцинома шейки матки человека) [41]; кератиноциты [42, 43]; клетки нейробластомы [43]; клетки РС-12 [43]; эмбриональные фибробласты [40, 43]; остеопрогениторные клетки [41]; макрофаги [43]; нейтрофилы [44].

Подтверждением биосовместимости ДНА *in vitro* служат показатели клеточной пролиферации и дифференциации [41], а также низкий уровень активных радикалов кислорода в обработанных клетках, тогда как его повышение указывает на клеточный стресс [43]. При продолжительном воздействии различия между обработанными клетками рака легких, эмбриональными фибробластами и контрольными группами незначительны либо не выявлены [40]. Таким образом, в отличие от прочих наномаркеров, в литературе приведены убедительные доказательства биосовместимости *in vitro* меток на основе ДНА.

Существуют различные предположения относительно механизма проникновения наноалмазов в клетку [40, 45]. Результаты исследований с 25 – 30 нм час-

тицами ДНА указывают на преобладание рецептор-опосредованного и клатрин-зависимого механизмов [41, 46]. Так, проникновению 140-нм флуоресцентных наноалмазов в значительной мере препятствует обработка клеток азидом натрия и 2-дезоксиглюкозой, приводящая к дефициту доступной энергии для проникновения, или оксидом фениларсина, специфическим ингибитором клатрина; с другой стороны, филиппин, специфический ингибитор кавеолина, не дает подобного результата. Однако размер частиц ДНА, конъюгированные функциональные группы, среда и тип клеток оказывают определенное влияние на этот процесс. Например, установлено [47], что 100-нм наноалмазы, конъюгированные с трансферрином, захватываются многочисленными трансферриновыми рецепторами на поверхности клеток HeLa по аналогичному клатрин-зависимому механизму. С другой стороны, ДНА того же размера [48], конъюгированные с гормоном роста, оставались вне клеток A549, предположительно присоединяясь к связывающему участку рецептора гормона роста на их поверхности, тогда как контрольные неконъюгированные ДНА проникали в клетки. Могут быть задействованы и иные рецептор-опосредованные механизмы проникновения. Например, флуоресцентные ДНА, конъюгированные с фолатом, захватываются клетками при кавеолин-зависимом эндоцитозе [46]. Показано [44], что ДНА проникают в нейтрофилы по 2 механизмам — фагоцитарно и посредством трансмембранной диффузии. Эти результаты в 2015 г. были подтверждены [49], было показано, что захват ДНА макрофагами может осуществляться как пиноцитозом, так и эндоцитозом.

Осуществимые механизмы абсорбции в организме и биосовместимость *in vitro* и *in vivo* обуславливают перспективность применения ДНА в качестве маркеров и носителей БАВ и ЛВ. Показано [50], что находящиеся в кровеносной системе частицы наноалмаза прикрепляются к мембранам эритроцитов, однако не вызывают иммунного ответа и не влияют на способность эритроцитов переносить кислород.

Недавние исследования [51] показали, что размер, форма, поверхностный заряд и функциональность поверхности наночастиц может изменять характер их взаимодействия с клеткой. Принято считать, что ДНА является наноматериалом с минимальной токсичностью [52], хотя появляется все больше доказательств, что именно окисление поверхности ДНА может являться фактором, усиливающим его токсичность. Установлено [53], что под воздействием окисленных частиц ДНА происходит повреждение ДНК в эмбриональных стволовых клетках. В то же время обнаружена [54] бактерицидная активность ДНА, окисленных на воздухе. Показана связь между химией поверхности ДНА и его биологической активностью [55].

Изучено [56] влияние функционализированного наноалмаза на потенциальный окислительный стресс и антиоксидантную реакцию эритроцитов у пресноводного беспозвоночного *Daphnia magna*, являющегося обычным объектом таких исследований. Было изучено

2 типа алмаза — полиаллиламинированный и окисленный. Кроме того, чтобы обнаружить зависимость токсичности от размера, были использованы частицы с диаметром 5 и 15 нм и одинаковым функциональным покровом. Взрослые особи *Daphnia magna* подвергали воздействию каждого образца в 3 различных концентрациях на протяжении 24 ч. Было обнаружено, что все исследованные образцы наноалмаза вызывают образование активных форм кислорода в тканях. Наноалмаз размером 5 нм также вызывал существенные изменения в выделении белка Hsp70 и глутатион-S-трансферазы. Это свидетельствует о том, что воздействие мелких частиц на организм дафноидов значительно более выражено, причём природа функционального покрова поверхности заметной роли в данном случае не играет. Таким образом, функционализированный наноалмаз может вызывать окислительный стресс и окисление липидов клеточных мембран, причём мелкие частицы действуют сильнее.

Исследовали [57] влияние ДНА на 6 видов клеток человека (клетки легких, почек, толстой кишки, печени). Было показано, что ДНА с размерами частиц 20 и 100 нм эффективно входят в клетки и не вызывают каких-либо цитотоксических или генотоксических эффектов вплоть до концентрации 500 мкг/мл. В качестве сравнения можно привести работу тех же авторов [58], в которой частицы SiO₂ размером 25 нм при концентрации, в 10 раз ниже по сравнению с ДНА, показали в 9 раз больший генотоксический эффект.

Изучена [59] биосовместимость ДНА с организмами приматов и крыс. Результаты показали хорошую биосовместимость образцов наноалмаза в клинически значимых дозах. Более того, имеются сведения о том, что сам по себе наноалмаз (окисленная форма) способен подавлять развитие болезни Альцгеймера (опыты на крысах) [60].

Исследования токсичности ДНА *in vivo* показали неоднозначный результат. Так, при нанесении ДНА на кожу мышей [42] не отмечено контактной гиперчувствительности либо других аллергических реакций. При введении в трахею мышей частиц ДНА с размером 4 нм в дозе 1 мг/кг в результате фагоцитоза альвеолярными макрофагами в течение 24 ч количество наблюдаемых в альвеолах ДНА уменьшалось. Гистопатологические и ультраструктурные исследования на 7, 14 и 28 день после введения не выявили негативных воздействий на легкие; также не было установлено случаев миграции ДНА в кровотоки и/или другие органы [35]. Однако в другом исследовании с внутритрахеальным введением значительно более высоких доз (4 и 20 мг/кг) у мышей отмечались некоторые признаки токсической реакции в короткие сроки (3 дня) [34].

Исследование токсичности ДНА проводилось и с применением более инвазивных методов введения — подкожных, внутрибрюшинных и внутривенных инъекций. При подкожном [61] и внутрибрюшинном [62] введении соответственно мышам и крысам наноалмазные агрегаты обнаруживались рядом с неповрежденными клетками [61] и вызывали небольшую воспалительную реакцию [62]. При внутривенном введении

ДНА мышам в хвостовую вену не было потерь в массе тела и прочих различий клинических симптомов интоксикации по сравнению с контрольной группой, получавшей физиотерапевтический раствор даже спустя 90 дней после внутривенных инъекций [63]. Тем не менее при внутривенном введении ДНА кроликам отмечено кратковременное повышение уровня сывороточного билирубина, что указывает на усиление лизиса эритроцитов даже при постоянстве количества эритроцитов и концентрации гемоглобина. Отмечен также ряд других изменений метаболизма таких, как, например, снижение уровня сывороточного холестерина и липопротеинов низкой плотности и повышение триглицеридов, что, вероятно, связано с изолированием ДНА в печени [61]. Гистологический анализ срезов органов животного после введения частиц ДНА показал [34], что они могут вызывать дозозависимую токсичность в отношении легких, печени, почек и крови.

Стоит отметить, что противоречивые данные о токсичности ДНА могут быть вызваны его недостаточной очисткой после выделения из шихты, а также отсутствием в рассматриваемых работах данных о примесном составе и/или подробной “биографии” образца ДНА. Например, имеются сведения о зависимости токсичности углеродных материалов, в частности, УНТ от концентрации в них металлосодержащих примесей [64].

Вместе с тем в ряде работ гистоморфологические исследования показали биосовместимость и нетоксичность ДНА [65, 66]. Изучено [65] хроническое действие гидрозолей ДНА (размер частиц 100 нм, концентрация до 0,05 масс. %) при их пероральном введении мышам в течение 6 мес. При суммарном количестве использованных ДНА до 0,45 г морфологических изменений органов мышей не обнаружено. Состояние всех органов, в том числе органов выделительной системы, не отличалось от контрольной группы. Установлено [66], что гидрозоли ДНА не влияют на ткани пародонта животных, так как не было обнаружено признаков воспаления в области инъекции и в пародонте зубов. При этом ДНА оказывают положительное действие, уменьшая острый воспалительный процесс в тканях пародонта. В частности, на слизистой оболочке десны уменьшается воспаление, уменьшается глубина зубодесневых карманов. Исследовано влияние частиц ДНА на клетки уротелия и показано [67], что ни в одном из случаев эти частицы не вызывали каких-либо изменений в клетках.

В единственной работе [68] была изучена острая токсичность ДНА и определено значение LD₅₀ (мыши, *per os*), составившее более 7,5 г/кг. Обнаружено [69], что частицы наноалмаза существенно увеличивают радиочувствительность клеток, что может быть использовано в радиотерапии рака. Показано [70], что частицы ДНА могут проявлять токсичность в отношении уropатогенной *Escherichia coli*, причём, чем меньше размеры наноалмазов, тем выше токсичность.

Таким образом, данные о токсичности ДНА *in vitro* и *in vivo* неоднозначны и требуют дополнительного изучения и подтверждения с учетом чистоты ДНА, функционального состава, размеров частиц и т.д. Вме-

сте с тем необходимо отметить, что переносить известные данные о метаболизме, экскреции и токсичности частиц сажи (III класс токсичных веществ), их канцерогенности (группа 2B по классификации канцерогенных веществ) на ДНА неправомерно [71].

Конъюгаты ДНА с биологически активными веществами

Выше отмечалось, что ДНА имеют высокую удельную поверхность (250 – 350 м²/г), сверхмалый размер первичных частиц (4 – 6 нм), лабильный функциональный покров и химически инертное кристаллическое ядро. Наличие этих свойств делает ДНА перспективным носителем для создания систем доставки БАВ и ЛВ, люминесцентных маркеров для изучения клеточных взаимодействий и т.д. [72].

Иммобилизацию БАВ и/или ЛВ на поверхность ДНА можно осуществить 2 способами: ковалентной прививкой или адсорбционной иммобилизацией. На практике используют оба эти подхода, но в разной степени, чаще применяют более простой метод сорбции БАВ и ЛВ на поверхности ДНА, а не их ковалентную прививку. При этом, как правило, не приводится сравнение 2 способов иммобилизации БАВ и ЛВ по количеству закрепленного вещества, его активности, стабильности и др.

Адсорбционная иммобилизация. Адсорбционный метод получения систем доставки БАВ и/или ЛВ на основе ДНА имеет ряд преимуществ перед ковалентным связыванием: простота использования, возможность варьировать концентрацию активного вещества и создавать высококонцентрированные комплексы, а также в относительной легкости получения рН-зависимой десорбционной кривой высвобождения БАВ с поверхности ДНА. Описанные в литературе БАВ и ЛВ, адсорбированные на ДНА, представлены в табл. 1.

В начале исследований по использованию ДНА в биомедицинских приложениях наноалмаз за счет высокой сорбционной способности рассматривался в основном как перспективный адсорбент для молекул БАВ белковой природы, а также токсинов, антител и вирусов (табл. 1). Отмечены [73] высокие потребительские свойства окисленного наноалмаза как адсорбента, в частности, высокая сорбционная ёмкость и антиоксидантные свойства. Частицы наноалмаза, содержащиеся на поверхности пептиды сигнала ядерной локализации, могут быть использованы для ядерной терапии [74].

В настоящее время показано, что процесс адсорбции различных БАВ и/или ЛВ на поверхность ДНА зависит от его предварительного модифицирования, т.е. от химической природы поверхностных функциональных групп [25, 75]. Частицы наноалмаза с привитым октадециламином (ОДА-ДНА) эффективно сорбируют дексаметазон [76]. Полученный конъюгат обладает высокими противовоспалительными свойствами и может быть использован для терапии ревматоидного артрита. Отмечено, что сами по себе частицы ОДА-ДНА также обладают некоторой противовоспалительной активностью.

В исследовании [77] наноалмаза как потенциально-го носителя лекарственных средств при лечении ВИЧ показано, что частицы исходного наноалмаза обладают значительно большей сорбционной ёмкостью, чем покрытые только СООН или NH₂ группами. Кроме того, отмечена высокая перспективность наноалмаза как носителя для лекарственных форм, проникающих через гематоэнцефалический барьер. Следует отметить, что химическая природа БАВ или ЛВ, а также их структурные и объёмные характеристики могут также вносить существенный вклад в процесс их сорбции на частицы ДНА.

Сделан вывод [105] о том, что модифицированные ДНА адсорбируют линейные и не связывают кольцевые молекулы ДНК. Можно сделать вывод о том, что адсорбция различных веществ может зависеть от типа и характера используемой поверхности ДНА. Изучено [79] влияние стерических затруднений на степень адсорбции гликопротеинов на поверхность ДНА и предложено для повышения эффективности сорбции использовать линкерную цепочку между ДНА и адсорбируемым веществом. К гидроксильированному ДНА прививали (3-аминопропил)триметоксисилан, к аминогруппе которого присоединяли янтарную кислоту и уже к последней — аминифенилборную кислоту (АФБК), являющуюся специфическим реагентом на гликопротеины. При этом янтарную кислоту авторы не рассматривали в качестве БАВ или ЛВ, а использовали как линкерную молекулу. Отдельно авторы провели синтез ДНА-АФБК без линкерной ножки. Было показано, что адсорбция гликопротеинов (фетуин, овальбумин и рибонуклеаза В поджелудочной железы быка) на поверхности с линкером (ДНА-линкер-АФБК) в 2 раза выше, чем без него (ДНА-АФБК), и в 4 раза выше, чем на гидроксильированном ДНА, на котором наблюдается только неспецифическая адсорбция. При этом максимальное значение адсорбции для овальбумина возрастает со 150 мг/г (гидроксильированный ДНА и ДНА-АФБК) до 350 мг/г (ДНА-линкер-АФБК), а для фетуина с 300 мг/г (гидроксильированный ДНА)

Таблица 1
Биологически активные объекты, адсорбируемые на поверхности ДНА

Белки / ферменты	ЛВ	Гормоны
Каталаза [61]	Доксорубин [80 – 86]	Бычий инсулин [98]
Гистон [61]	Маларидин [84]	Антитела
Лизоцим [61, 78]	Паклитаксел (РТХ) [42, 87 – 89]	Мышиный иммуноглобулин G [99]
Бычий сывороточный альбумин [79]	Тетрациклин [90]	Цетуксимаб [87, 89]
Овальбумин [79]	Ванкомицин [90]	Прочие
Фетуин [79]	Эпирубин [91]	Меллитин [100]
Рибонуклеаза В [79]	Митоксантрон [92]	Вирусы [101]
Холестерин эстераза [61]	Амоксициллин [93]	<i>транс</i> -Ретиноевая кислота [86]
Холестерин оксидаза [61]	Дексаметазон [94]	Хлорин е6 [102]
Пероксидаза [61]	Пурваланол А [94]	Куркумин [103]
Пирофосфатаза [75]	Цисплатин [95]	Пептиды сигналов ядерной локализации [74]
	Гефитиниб [96]	Эрлотиниб [96]
	Дексаметазон [97]	4-Гидрокситамоксифен [94]
		микроРНК [104]

и 800 мг/г (ДНА-АФБК) до 1300 мг/г (ДНА-линкер-АФБК). Количество адсорбированных веществ определяли методами ВЭЖХ и УФС [79].

В большинстве работ по адсорбции различных БАВ и/или ЛВ на поверхность ДНА авторы не указывают параметры гидрозолей ДНА до и после проведения адсорбции. В литературе крайне мало сведений, связывающих размер агрегатов ДНА с характером адсорбции ЛВ и БАВ и их фармакологической активностью. Одним из немногих исключений является исследование [106] адсорбции лизоцима на поверхности ДНА в зависимости от размера его частиц. В этой работе изучена адсорбция лизоцима на окисленной поверхности ДНА с использованием частиц с размером 5, 50, 100, 200, 300, 400 и 500 нм. Показано, что максимальная адсорбция фермента в 3 раза выше для ДНА с размерами 5 нм по сравнению с частицами 100 нм. Также была изучена [106] активность адсорбированного лизоцима в зависимости от размера частиц ДНА, которая определялась теоретически, с использованием метода ИК-спектроскопии. Критерием сохранения активности служило наименьшее смещение полос пика NH группы от его нормального положения. Показано, что активность иммобилизованного фермента на ДНА с размерами частиц 5 и 50 нм составляла ~ 18 %, а для частиц 100 нм — 77 % от активности нативного фермента. С дальнейшим увеличением размеров частиц ДНА активность монотонно снижалась и для частиц с размерами 500 нм составляла ~ 60 %. С использованием этой модели, установлено, что ДНА с размером частиц 100 нм и более являются наиболее удобными в качестве платформ для иммобилизации белков, благодаря сохранению активности последних.

Детально изучены адсорбционные равновесия в системе тетрациклин или ванкомицин/наноалмаз [90]. Такое исследование крайне важно для создания систем по доставке ЛВ в организме. В качестве адсорбентов были исследованы исходный, карбоксилированный и аминированный образцы наноалмаза. Показано, что адсорбцию лекарственных препаратов можно описать изотермами Ленгмюра и Фрейндлиха. Исследование процессов десорбции показало, что их скорость можно эффективно менять, изменяя pH среды.

Инфекции мочевыводящих путей — одна из насущных проблем современной медицины. Адресная доставка амоксициллина [93], эффективного средства по борьбе с такими инфекциями, использована в качестве платформы при исследовании частиц наноалмаза, преимуществ которых заключаются в биосовместимости, удобном размере частиц и инертности поверхности. Было показано, что амоксициллин успешно сорбируется на поверхности гидрированного наноалмаза, а также наноалмаза с полиэтиленминовым покрытием. ИК-исследование показало, что антибиотик при этом не претерпевает существенных изменений.

Влияние химического характера поверхности детонационного наноалмаза на адсорбцию антибиотика выявлено с помощью меченного тритием амикацина [107]. Обнаружено, что наноалмаз с карбоксилированной поверхностью сорбирует в 2 раза больше амика-

цина, чем наноалмаз с гидрированной поверхностью. Выдерживание наноалмазов с сорбированным амикацином в виде гидрозоля в течение 1 мес приводит к высвобождению до 9,6 и 6,4 мг/г антибиотика, соответственно. Результаты демонстрируют возможность создания системы доставки амикацина на основе наноалмазов.

Ряд работ посвящен адсорбции на поверхность ДНА социально значимых ЛВ: противоопухолевого антибиотика доксорубицина [85, 108], гормона инсулина [98], противоопухолевых препаратов гефитиниба и эрлотиниба [96] и др. Создание систем доставки этих ЛВ на основе ДНА призвано повысить эффективность их введения в организм, снизить дозу и токсичность.

Известны работы по адсорбции ЛВ, включающие не только получение их изотерм сорбции и десорбции, но и попытки создания лекарственных форм. Так, изучалась [98] адсорбция инсулина на поверхности ДНА. Было показано, что полученный конъюгат имеет pH-зависимый характер десорбции инсулина в щелочной среде. Частицы ДНА в смеси с инсулином в воде в соотношении 4:1 адсорбировали до 80 % инсулина на своей поверхности. Десорбция инсулина происходила до его 31 % содержания на поверхности ДНА одинаково в щелочном и водном растворах. Однако количество инсулина на поверхности ДНА после 5 дней выдержки в растворе NaOH (pH = 10,5) и в нейтральной водной среде оказалось равным 46 и 2 %, соответственно. Связывание инсулина с поверхностью ДНА подтверждено методом ИКС и изменениями ζ -потенциалов гидрозолей ДНА. Дополнительно адсорбция и десорбция инсулина на поверхности ДНА визуализировалась с помощью метода СЭМ. Важный вывод [98] состоит в том, что инсулин в адсорбированном состоянии инактивируется, но его специфическая активность восстанавливается после десорбции с поверхности ДНА. Показано [109], что частицы гидрированного детонационного наноалмаза с растительным вторичным метаболитом, цитропеном (5,7-диметоксикумаринном), способны более эффективно снижать рост опухолевых клеток В16F10, по сравнению с нативным препаратом.

Один из наиболее изученных вопросов — адсорбция на поверхности ДНА антибиотика доксорубицина — инициатора клеточного апоптоза [80, 110]. Адсорбция доксорубицина (в виде гидрохлорида) проводилась для создания высокоустойчивых суспензий на ДНА, имеющего размеры частиц 2 – 8 нм и высокую концентрацию OH и COOH групп на поверхности. Эти функциональные группы обеспечивают необходимый функциональный покров для электростатического взаимодействия с катионом доксорубицина (Dox-NH_3^+). Адсорбцию осуществляли добавлением 10 мг ДНА к 1 мл раствора антибиотика. Обнаружено, что при добавлении к полученной смеси 10 мг NaCl адсорбция доксорубицина увеличивалась до 10 масс. %. При удалении NaCl однократной декантацией и редиспергированием в дистиллированной воде наблюдается обратный эффект и на поверхности ДНА остается

около 1 масс. % адсорбированного доксорубина. Полученные результаты показывают, что изменение концентрации противоионов в растворе может стать удобным и эффективным способом варьирования концентрации веществ, адсорбированных на поверхности ДНА. Наличие сорбции доксорубина на поверхности ДНА показано только при высоких значениях рН. Обнаружено, что при создании такого комплекса происходит снижение токсического действия антибиотика, а его специфическая активность существенно увеличивается [80]. Для повышения сорбционной ёмкости по доксорубину было предложено [83] использовать частицы наноалмаза, покрытые полиэтиленгликолем.

Совместная доставка 2 или более химиотерапевтических агентов через нанополосы может обеспечить эффективный подход к максимизации синергических или аддитивных эффектов. Исследована [84] эффективность лекарственной формы на основе наноалмаза, содержащей доксорубин и маляридин — производное нафтиридина, широко применявшееся в качестве противомаларийного средства. В последнее время было обнаружено, что это вещество является ингибитором р-гликопротеина и обладает высокой противоопухолевой активностью. Было показано, что такая система эффективна в борьбе с раком, резистентным к нескольким лекарственным средствам. Исследована эффективность совместного действия доксорубина и полностью *транс*-ретиноевой кислоты, адсорбированных на поверхности наноалмаза [86]. Показано, что использование таких лекарственных форм значительно более эффективно, чем использование ЛВ в отсутствие носителя.

Создание противораковых лекарственных форм на основе наноалмаза изучено в работе [87]. Были исследованы 2 противораковых препарата — паклитаксел (блокатор митоза) и цетуксимаб, который усиливает митотическую катастрофу и замедляет рост опухоли при колоректальном раке человека. Образец нанесённого паклитаксела обладал сходными со свободным препаратом свойствами, тогда как чистый наноалмаз не оказывал влияния на рост раковых клеток. Образец НА — паклитаксел — цетуксимаб также эффективно препятствовал росту опухолевых клеток. Таким образом, показано, что наноалмаз является многообещающим носителем для разработки новых лекарственных форм в терапии рака. Сходное исследование предпринято авторами [89].

Использовали [95] адсорбцию противоракового препарата цисплатина на поверхность конъюгатов наноалмаза с альгинатом натрия. Было показано, что цисплатин в такой форме лучше накапливается в раковых клетках и дольше там удерживается. Помимо этого, токсичность и, соответственно, безопасность такой формы ниже, чем у чистого цисплатина. Аналогичный подход использован [100] при применении наноалмаза как подложки, к поверхности которой химически привита полиглутаминовая кислота. Такие частицы заряжены отрицательно, и за счёт этого эффективно удерживают на поверхности меллитин в качестве противо-

ракового препарата. Показано, что скорость высвобождения меллитина зависит от рН среды — чем ниже этот показатель, тем выше скорость высвобождения.

Лекарственные формы на основе сорбированного паклитаксела исследованы в [88]. В качестве адсорбента были использованы частицы наноалмаза размером 5 нм, покрытые гидроксильными группами. Показано, что для труднорастворимых в воде лекарственных препаратов, таких как паклитаксел, частицы наноалмаза могут выступать в качестве резервуара и способствовать выделению ЛВ прямо в клетке.

Для фотодинамической и/или фототермической терапии рака могут быть использованы частицы наноалмаза с сорбированным на них хлорином еб [102]. Обработка таких частиц лазером в течение 5 мин ведёт к повышению окружающей температуры до 45 °С и генерации синглетного кислорода. Опыты на животных показали, что введение такого препарата в опухоль с последующим облучением лазером ведёт к эффективному уменьшению опухоли. Подобный подход использован также в работе [83]. Предложены конъюгаты мезопористых кремнийорганических частиц с наноалмазом, на которые сорбировали доксорубин.

Созданию лекарственных форм для лечения одной из наиболее опасных форм рака — рака молочной железы с тройным негативным фенотипом (triple-negative breast cancer, TNBC) — посвящена работа [104]. МикроРНК известны как эффективное средство противодействия этой форме рака, однако значительные сложности представляет адресная доставка этих молекул в опухоль. На основе наноалмаза, протамина и фолиевой кислоты были сконструированы многослойные самособирающиеся наногибриды для доставки микроРНК в клетки TNBC. Авторами продемонстрирован значительный потенциал такого подхода. Аналогично для лечения глиобластом были использованы конъюгаты наноалмаза, полиглицерина и доксорубина [111].

Работа [112] посвящена синтезу и исследованию композитов наноалмаз — цетуксимаб — цисплатин. Цетуксимаб ковалентно закрепляли на поверхности частиц наноалмаза и сорбировали на полученный конъюгат цисплатин. Было обнаружено, что система наноалмаз — цетуксимаб — цисплатин может значительно ингибировать рост клеток гепатоцеллюлярной карциномы печени, а терапевтическая активность этой системы оказалась лучше, чем у неспецифического конъюгата наноалмаз — цисплатин. Кроме того, для визуализации частиц можно использовать трехмерную технологию на основе характерного сигнала комбинационного рассеяния от наноалмаза при 1332 см^{-1} . Эти выгодные свойства системы наноалмаз — цетуксимаб — цисплатин позволяют предположить, что она является весьма перспективной для дальнейших диагностических и терапевтических целей. Осуществлено сходное исследование [113].

Изучена [94] адсорбция на ДНА ряда важных химиотерапевтических ЛВ: пурваланола А — препарата от рака печени, 4-гидрокситамоксифена — препарата от рака молочной железы и дексаметазона — противовоспалительного препарата широкого спектра дейст-

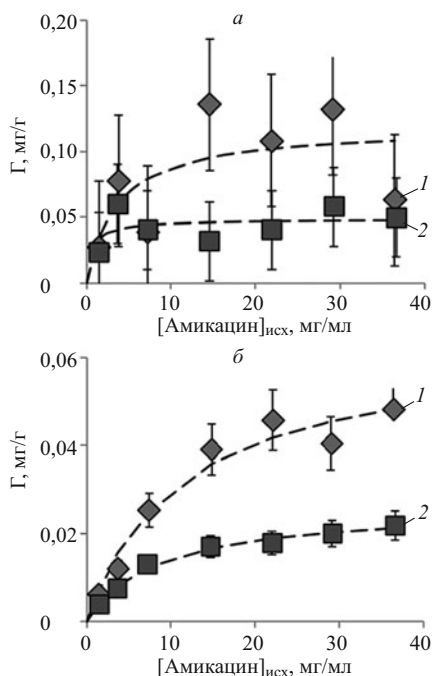


Рис. 3. Адсорбция амикацина на поверхности окисленного ДНА (1) и гидрированного ДНА (2): а) изотермы равновесной адсорбции; б) количество прочно связанного амикацина с поверхностью ДНА.

вия. Адсорбцию ЛВ подтверждали методами УФС, динамического рассеяния света (ДРС) и измерением ζ -потенциала частиц. Изучение методом клеточного анализа (МТТ) токсичности комплексов на примере 4-гидрокситамоксифена показало, что выживаемость клеток MCF 7 для адсорбированного вещества сокращается в 5–6 раз, а для нативного вещества — примерно в 7 раз по сравнению с контролем. В результате сделан вывод о том, что применение ДНА в качестве транспортной платформы для доставки ЛВ не только решает проблему применения нерастворимых в водной среде лекарственных средств, но и повышает адресность их доставки, снижает дозу и токсичность. Сходные результаты получены в работе [103], где малорастворимый в воде куркумин, используемый в ка-

честве противоракового препарата, сорбировали на поверхность частиц наноалмаза. Мелкие агломераты наноалмаза с сорбированным куркумином стабилизировали покрытием их полиэтиленгликольсукцинатом альфа-токоферола.

Авторами настоящего обзора исследована адсорбционная иммобилизация аминогликозидного антибиотика амикацина на поверхности ДНА. Для изучения адсорбции был специально синтезирован и очищен меченный тритием амикацин. Последний в смеси с немеченым амикацином был использован для приготовления растворов, из которых проводили сорбцию. Исследование адсорбции проводилось с использованием гидрозолей ДНА, окисленного в смеси кислот (ДНА-СООН) и восстановленного водородом (ДНА-Н). Было обнаружено, что величина адсорбции амикацина на ДНА зависит от природы поверхностных функциональных групп (рис. 3). Так, для окисленного и гидрированного ДНА значение максимальной величины равновесной адсорбции амикацина составило 130 и 50 мг/г, соответственно (рис. 3, а). При этом количество необратимо сорбированного антибиотика оказалось равным 48 и 22 мг/г, соответственно (рис. 3, б).

В настоящее время в России и за рубежом патентуется способ иммобилизации ЛВ на окисленную поверхность ДНА, имеющих NH_2 , NH_3 , COOH и другие функциональные группы [114].

Ковалентная иммобилизация. В начале исследований углеродных наночастиц ковалентную прививку БАВ и ЛВ для создания систем их доставки проводили не на ДНА, а на углеродных нанотрубках и фуллеренах. Отметим, что именно эти работы впоследствии и привели к пристальному вниманию к ДНА как носителю в системах доставки БАВ. Это ознаменовало новый этап в биомедицинском применении ДНА, что прежде всего связано с наличием богатого функционального покрова и относительной легкости его функционализации в противоположность фуллеренам и нанотрубкам. В литературе имеется значительное число работ по ковалентной прививке БАВ и ЛВ на поверхность наноалмаза, из которых приведем наиболее значимые примеры (табл. 2).

Описана [118] иммобилизация ферментов (трипсин и аспарагинамидаза F) на поверхность ДНА для их эффективного протеолиза. Степень прививки определяли по изменению концентрации фермента в растворе после реакции. Показано, что активность ферментов при иммобилизации существенно не меняется. Кроме того, иммобилизованные на поверхности ДНА ферменты проявляют гораздо более высокую термическую и химическую устойчивость по сравнению с нативными и сохраняют высокую активность даже после 10-кратного использования. Работа [119] посвящена ковалентному закреплению химотрипсина и папаина на поверхности ДНА. Показано, что ферменты атакуют белки на плазматической мембране, включая молекулы клеточной адгезии. Инкубация с конъюгированными ферментами приводит к морфологическим из-

Таблица 2
Вещества, ковалентно связанные с поверхностью ДНА

Белки / ферменты	Гормоны	ДНК, РНК
Трансферрин [115]	Гормон роста [116]	ДНК [105, 129]
Зеленый флуоресцентный белок [116]	Антитела	siРНК [130]
Бычий сывороточный альбумин [99, 117]	Антитела кролика [99]	Прочие
Трипсин [118]	Цетуксимаб [112]	NHS-биотин [12]
Химотрипсин [119]	Мышиный иммуноглобулин G [99]	Поли-L-лизин [131]
Папаин [119]	ЛВ	Полиэтиленгликоль – диамин [46]
Аспарагин амидаза F[118]	Метотрексат [122]	Фолиевая кислота [46, 132]
Красители	Паклитаксел [123]	Кремниевые чипы [78]
NHS-TAMRA [120]	Глицин [25]	Декстран [133]
IRDye-800CW [121]	Лизин [124]	
	Доксорубин [125]	
	Гемцитабин [126]	
	Амонафид [127]	
	Амикацин [107, 128]	

менениям клеток, но не влияет на их жизнеспособность.

Ковалентно присоединяли к ДНА паклитаксел [123] через многостадийный процесс, схематично изображенный на рис. 4. Связывание паклитаксела с ДНА было подтверждено методами ПМР и ИКС. Показано, что на каждую частицу ДНА прививается до 7 молекул ЛВ. Исследование биологической активности конъюгата выявило её потерю после обработки 1 М раствором NaOH. Конъюгат ДНА-паклитаксел в концентрации 0,1 – 50 мг/мл в течение 48 ч понижал жизнеспособность клеток человеческой легочной карциномы на 12 %. 1 мкг/мл конъюгата ДНА-паклитаксел обеспечивал 50 % ингибирование клеточной выживаемости в клетках A549, что совпало с активностью нативного паклитаксела. Эти данные показывают, что связанный с поверхностью ДНА паклитаксел, также как и несвязанный, является эффективным индуктором гибели клеток легочной карциномы, что подтверждает сохранение эффективности ЛВ после его иммобилизации на ДНА.

Перспективным методом является фототермическая терапия рака. Предложено использовать ковалентно привитую к поверхности наноалмаза фолиевую кислоту [132]. Полученные частицы в основном реагируют с положительными фолатными рецепторами, характерными для раковых клеток. Последующее воздействие ИК-лазера позволяет эффективно удалять клетки, взаимодействовавшие с конъюгатами НА/ФК.

Похожие объекты были исследованы в работе [125]. Здесь на поверхность наноалмаза прививали одновременно фолиевую кислоту и доксорубин. Было показано, что такие частицы преимущественно взаимодействуют с положительными фолатными рецепторами. Эксперименты *in vivo* показали, что модифицированный наноалмаз накапливается в основном в опухолевых клетках, вызывая их гибель. Исходя из этих результатов, можно сделать вывод о том, что кластеры НА/ФК-Докс могут быть успешно использованы в качестве наноконтейнеров для доставки противоопухолевого препарата.

Весьма важным является вопрос о том, как частицы наноалмаза распределяются в организме. Метод магнито-резонансной визуализации позволяет это определить. Однако для промышленного наноалмаза использование этого метода невозможно. Для решения этой проблемы предложено [134] использовать конъюгаты наноалмаза с соединениями гадолиния. Показано, что используемые конъюгаты обладают высокой биосовместимостью. Описана магнито-резонансная визуализация наноалмаза с парамагнитными примесями, основанная на эффекте Оверхаузера [135].

Очень удобным методом визуализации является флуоресценция, однако получение флуоресцирующих частиц наноалмаза сопряжено со значительными трудностями и отличается низкой воспроизводимостью. Предложен метод получения таких частиц по реакции Дильса – Альдера с флуоресцирующим полимером [136]. Показано, что такие частицы могут служить наноконтейнерами для противоопухолевого препарата

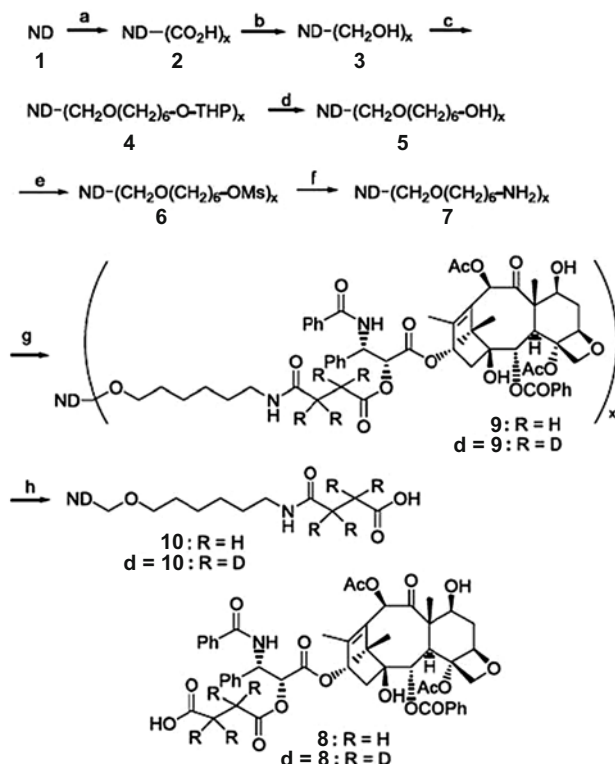


Рис. 4. Схема химического синтеза конъюгата ДНА – паклитаксел [123].

цисплатина, а скорость его высвобождения можно регулировать изменением pH среды. Высокие потребительские свойства наноалмаза как носителя для лекарственных форм в борьбе с раком обсуждаются также в обзоре [137]. Предложено [138] заключать частицы флуоресцентных наноалмазов в оболочку полидопамина. Это препятствует агрегации частиц алмаза в физиологических средах. С другой стороны, химия полидопамина, образующего поверхность частиц, позволяет привить к ней широкий круг разнообразных молекул.

Получены [128] детонационные наноалмазы с хлорированной (ДНА-Cl) и карбоксилированной (ДНА-COOH) поверхностями. Антибиотик широкого спектра действия амикацин (Amik) ковалентно прививали на хлорированную поверхность (ДНА-Amik) и иммобилизовали адсорбцией на карбоксилированную поверхность (Amik/ДНА-COOH). Биологическое тестирование *in vitro* показало наличие антибактериальной активности полученных образцов в отношении *Staphylococcus aureus* FDA P209 и *Escherichia coli* ATCC 25922, близких по активности к свободному амикацину. Было обнаружено, что для поддержания антибактериальной активности образцов после их предварительной обработки необходимы важные факторы, такие как использование антиоксидантов (гидросульфит и цитрат натрия) и лиофилизация.

Крайне важным, как и в случае адсорбционной иммобилизации биологически активных молекул, остаётся вопрос об их конформационной подвижности и стерической доступности. Исследованы [129] свойства ковалентно закреплённых на поверхности наноал-

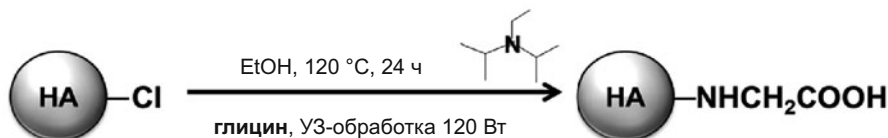


Рис. 5. Схема прививки глицина на ДНА [143].

маза молекул ДНК. Показано, что подвижность этих молекул для исследованных объектов практически не отличается от таковой для свободных молекул в растворе.

Осуществлена [26] прививка к поверхности фторированного ДНА этилендиамина и аминокислоты глицина. Ковалентную прививку подтверждали с помощью метода ИКС. Размеры частиц полученных конъюгатов ДНА — этилендиамина и ДНА — глицин составляли 262 и 310 нм, соответственно, и значительно превышали размеры агрегатов исходного ДНА. Этот эффект объясняют тем, что дальнейшая агрегация частиц происходит за счет диполь-дипольного взаимодействия и образования водородных связей между молекулами привитых соединений.

Проведено [124] модифицирование поверхности наноалмаза лизином; полученные модифицированные частицы исследованы в качестве носителей для биологических молекул. Обнаружено, что гидрозоль полученных частиц обладает высокой седиментационной устойчивостью, кроме того, эти частицы эффективно сорбируют из растворов различные белки и интерферирующие РНК. Последнее представляет значительный интерес, так как эти РНК могут быть использованы для терапии рака. Закреплению интерферирующих РНК на поверхности наноалмаза посвящена также работа [130], показано, что полученные конъюгаты эффективно препятствуют развитию раковых опухолей.

Изучено [127] ковалентное закрепление на поверхности наноалмаза противоракового препарата амонафида. Показано, что полученные конъюгаты эффективны в лечении рака молочной железы. На поверхности наноалмаза был закреплён цитостатический препарат метотрексат [122]. Показано, что скорость высвобождения препарата зависит от кислотности среды; чем она выше, тем скорость больше.

Развивая идею эффективности ковалентной прививки аминокислот к ДНА, показали возможность последовательного наращивания полипептидных цепочек на его поверхности [27]. Восстановленную поверхность ДНА модифицировали (3-аминопропил)триметоксисиланом, игравшим роль линкерного блока, и осуществили его ковалентное связывание с аминокислотами 3 аминокислот (глицин, серин и фенилаланин), защищенными флуоренилметилоксикарбониллом. Ковалентная прививка соединений подтверждалась элементным анализом и методом ИКС. Определенные размеры частиц полученных конъюгатов показали, что после прививки линкерного блока диапазон распределения размеров увеличился от 100 – 200 нм для исходного и восстановленного ДНА до 150 – 500 нм для полученных конъюгатов. Этот эффект

объяснили тем, что после силанирования поверхности ДНА его частицы агрегировали за счет взаимодействия линкерных блоков и поверхностных функциональных групп.

Частицы наноалмаза с ковалентно привитыми на поверхность полипептидами могут служить удобными контейнерами для доставки лекарственных средств. Так, для этой цели был предложен наноалмаз с привитым на поверхность полилизинном [139]. Эти частицы заряжены положительно, и вследствие этого хорошо сорбируют производные цитозинфосфат-гуаниновых олигонуклеотидов, которые заряжены отрицательно. С другой стороны, эти олигонуклеотиды известны как мощные иммуностимуляторы, и их воздействие на опухолевые клетки ведёт к подавлению роста опухоли. Таким образом, подобные гибридные материалы могут быть успешно использованы в иммунотерапии рака.

Предложено использовать частицы наноалмаза в качестве универсальных контейнеров для адресной доставки лекарств [140]. Для этого на поверхность наноалмаза прививают перфтороктановую кислоту. Показано, что частицы с таким покрытием самопроизвольно собираются в нанокластеры, однако коллоидные растворы таких частиц остаются устойчивыми. Обнаружено, что такие наноконтейнеры обладают рядом преимуществ по сравнению со стандартными на основе полиэтиленгликоля или фосфолипидов. Рассмотрены проблемы и решения в области адресной доставки ЛВ с использованием наноалмаза в качестве носителя [141, 142].

Авторами настоящего обзора был получен конъюгат ДНА — глицин через взаимодействие хлорированного ДНА и аминогруппы глицина в присутствии основания Хунига (N,N-диизопропилэтиламин) (рис. 5) [143].

Полученный конъюгат был охарактеризован методом РФЭС (табл. 3). Как видно из табл. 3, происходит существенное увеличение содержания азота на поверхности ДНА, что свидетельствует о прививке глицина на поверхность ДНА. По базам NIST атом N 1s в олекуле свободного глицина характеризуется энергиями связи 400,6 и 398,7 эВ. В конъюгате эта энергия оказалась равна 399,6 эВ, что соответствует среднему значению.

На микрофотографиях ПЭМ конъюгата ДНА – глицин была зафиксирована оболочка вокруг частиц размером не менее 1 нм, которую не имели исходные частицы ДНА. По-видимому, это может свидетельствовать о большей доле глицина, включенного в конъюгат (рис. 6). Аминокислотный анализ показал, что включение глицина в разных образцах составляло 5 – 21 % масс.

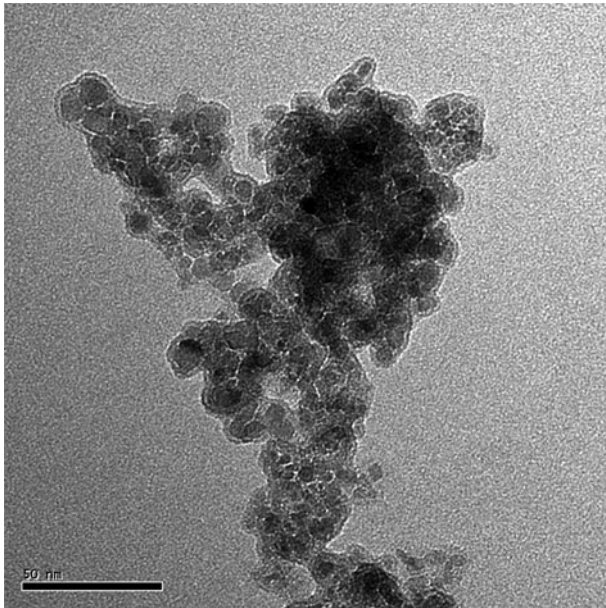


Рис. 6. Микрофотография ПЭМ конъюгата ДНА – глицин.

Основные изменения ИК-спектра полученного конъюгата ДНА – глицин, по сравнению с ДНА и глицином, касаются области $1400 - 1100 \text{ см}^{-1}$, в которой присутствуют 4 пика — $1384, 1305, 1212, 1153 \text{ см}^{-1}$, соответственно (рис. 7). Данные максимумы отсутствуют на спектрах исходных веществ-компонентов — глицина и ДНА. Пики являются уширенными, что согласуется с уширением пиков в ИК-спектре привитых веществ, и имеют разный наклон плеча, что указывает на их сложное строение и объединение нескольких близлежащих максимумов в один. Таким образом, можно сделать вывод, что при прививке глицина на поверхность ДНА колебания связей в молекуле привитого глицина существенно изменяются по сравнению со свободной молекулой.

Для объяснения этого явления предполагаем, что при ковалентном связывании частицы ДНА с молекулой глицина происходит обобществление их электронных структур и на поверхности ДНА образуется супрамолекулярная структура, проявляющая новые физико-химические и биологические свойства.

На моделях экспериментальной психофармакологии были изучены более 10 видов специфической активности конъюгата ДНА с глицином в сравнении с нативным глицином, ДНА и лекарственными препаратами сравнения [144 – 153]. Обнаружено изменение спектра фармакологического действия конъюгата — не только усиление фармакологического эффекта по сравнению с глицином, но и появление новых свойств, которые глицин ранее не проявлял. Фармакологический эффект полученного конъюгата ДНА с глицином в ряде случаев превосходит действие высокоэффективного отечественного препарата мексидола и лучших зарубежных аналогов. Использование обнаруженного эффекта позволяет разработать новый класс оригинальных лекарственных средств, превосходящих по своей эффективности существующие препараты для

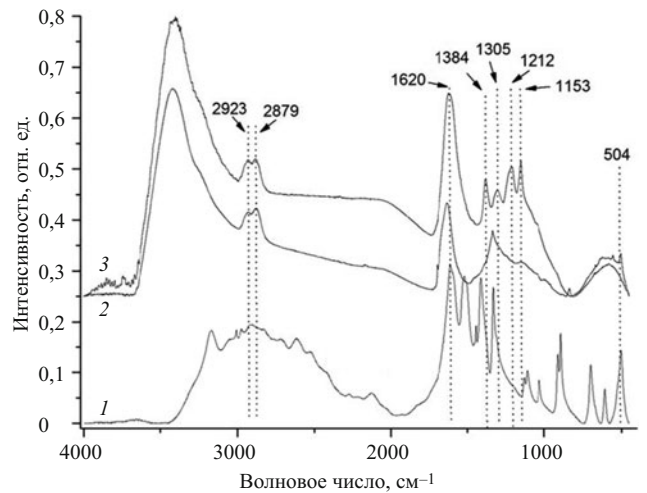


Рис. 7. ИК-спектры поглощения: 1 — глицина; 2 — ДНА; 3 — конъюгата ДНА – глицин.

лечения и профилактики ряда заболеваний центральной нервной системы.

Заключение

Попытки использования ДНА в биомедицинских приложениях известны с 1995 г., в частности, в качестве носителя для доставки антигенов в организм. Широкое изучение ДНА началось с 2000 г., при этом ДНА рассматривали как БАВ. Отмечено [154, 155], что применение суспензий ДНА облегчает состояние онкологических больных, по-видимому, вследствие снижения уровня интоксикации организма. Кроме того, ДНА был использован как средство коррекции процессов перекисидного окисления белков и липидов при росте злокачественных новообразований.

Привлекательность биомедицинских приложений ДНА обусловлена совокупностью его свойств: биосовместимостью, возможностью конструирования функциональной поверхности частиц, сильной и специфической адсорбцией/конъюгированием с ЛВ и биомолекулами, большой удельной площадью поверхности, наличием стабильной флуоресценции. Уже предложено применять ДНА для создания биомаркеров, биосенсоров, высокоэффективных адсорбентов, покрытый хирургических инструментов, косметических композиций, например, кремов, защищающих от УФ излучения; как добавку в стоматологические материалы и, особенно, как носитель БАВ и/или ЛВ [156]. Развитая поверхность ДНА, несущая определенный набор функциональных групп, идеальна для конъюгации с различными веществами [157]. Назначение носителя

Таблица 3
Данные РФЭС конъюгата ДНА – глицин [143]

Наименование характеристики	Химический элемент		
	C	O	N
Атомные, %	$80,1 \pm 0,1$	$11,5 \pm 0,1$	$8,4 \pm 0,1$
Энергии связи, эВ	$285,2 \pm 0,5$	$530,7 \pm 0,5$	$399,6 \pm 0,5$

определяется его несущей способностью (емкостью загрузки), а также способностью сохранять и поддерживать терапевтический эффект иммобилизованных веществ. Большая несущая способность означает высокую концентрацию доставляемого вещества при малом количестве самого носителя. В настоящее время ДНА являются объектом интенсивных исследований, направленных на усовершенствование доставки низкомолекулярных веществ и биотехнологических продуктов и в особенности химиотерапевтических агентов.

Для практического использования ДНА и конъюгатов на его основе требуется на основе стандартизованных ДНА проведение комплексных доклинических и клинических исследований. В частности, предстоит выполнить систематические химико-фармацевтические и доклинические исследования конъюгатов ДНА с ЛВ, содержащих привитые векторные молекулы, ответственные за направленный транспорт препаратов [158]. Существенно, что в ряде стран, в том числе и в России налажено промышленное производство ДНА, а стоимость его составляет в среднем всего \$5/г, что делает его доступным для фармацевтического производства препаратов на его основе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 18-73-00336 (экспериментальные исследования биораспределения наноалмаза в организме).

ЛИТЕРАТУРА

- R. K. Keservani, A. K. Sharma (eds.), *Nanoparticulate drug delivery systems*, Apple Academic Press, Toronto (2019), pp. 4 – 5.
- H. Jahangirian, E. G. Lemraski, T. J. Webster, et al., *Int. J. Nanomedicine*, **12**, 2957 – 2978 (2017); doi: 0.2147 / ijn.s127683.
- M. Mohajeri, B. Behnam, and A. Sahebkar, *J. Cellular Physiol.*, **234**(1), 298 – 319 (2018); doi: 10.1002/jcp. 26899.
- K. Turcheniuk and V. N. Mochalin, *Nanotechnology*, **28**(25), 252001 (2017); doi: 10.1088/1361-6528/aa6ae4.
- G. Hong, J. Z. Wu, J. T. Robinson, et al., *Nature Commun.*, **3**, 700 (2012); doi: 10.1038/ncomms1698.
- A. P. Francis and T. Devasena, *Toxicol. Industr. Health*, **34**(3), 200 – 210 (2018); doi: 10.1177/0748233717747472.
- K. Aschberger, H. J. Johnston, V. Stone, et al., *Regulat. Toxicol. Pharmacol.*, **58**(3), 455 – 473 (2010); doi: 10.1016/j.yrtph. 2010.08.017.
- K. Yang, Y. Li, X. Tan, et al., *Small*, **9**(9 – 10), 1492 – 1503 (2012); doi: 10.1002/smll.201201417.
- A. A. Shvedova, A. Pietroiusti, B. Fadeel, and V. E. Kagan, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **261**, 121 – 133 (2012); doi: 10.1016/j.taap. 2012.03.023.
- A. M. Schrand, L. Dai, J. J. Schlager, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **16**, 2118 – 2123 (2007); doi: 10.1016/j.diamond. 2007.07.020.
- W. Zhang, J. Hu, L. Li, and Y. Tao, *Toxicol. Res.*, **1**, 62 – 68 (2012); doi: 10.1039/c2tx20006f.
- H. B. Man and D. Ho, *J. Lab. Autom.*, **18**(1), 12 – 18 (2012); doi: 10.1177/2211068212456198.
- Int. Conf. “Diamond and Carbon Materials”, Madrid, Spain (2014).
- A. E. Alexensky, M. A. Yagovkina, A. Y. Vul’, *Phys. Solid State*, **46**, 685 – 686 (2004); doi: 10.1134/1.1711452.
- I. I. Kulakova, V. V. Korol’kov, R. Y. Yakovlev, and G. V. Lisichkin, *Nanotechol. in Russia*, **5**(7 – 8), 474 – 485 (2010); doi: 10.1134/s1995078010070074.
- O. A. Shenderova and G. E. McGuire, *Biointerphases*, **10**, 030802 (2015); doi: 10.1116/.4927679.
- D. P. Mitev, A. T. Townsend, B. Paull, and P. N. Nesterenko, *J. Mater. Sci.*, **49**, 3573 – 3591 (2014); doi: 10.1007/s10853-014- 8036-3.
- R. Y. Yakovlev, N. N. Dogadkin, I. I. Kulakova, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **55**, 77 – 86 (2015); doi: 10.1016/j.diamond. 2015.03.010.
- T. Tsubota, O. Hirabayashi., S. Ida, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **11**(7), 1360 – 1365 (2002); doi: 10.1016/s0925- 9635(01)00742-7.
- T. Ando, M. Nishitani-Gamo, R. E. Rawles, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **5**, 1136 – 1142 (1996); doi: 10.1016/0925- 9635(96)00529-8.
- V. V. Korolkov, I. I. Kulakova, B. N. Tarasevich, and G. V. Lisichkin, *Diamond Relat. Mater.*, **16**, 2129 – 2132 (2007); doi: 0.1016/j.diamond.2007.07.018.
- J. C. Arnault, T. Petit, H. Girard, et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **13**, 11481 – 11487 (2011); doi: 10.1039/c1cp20109c.
- T. Kondo, I. Neitzel, V. N. Mochalin, et al., *J. Appl. Phys.*, **113**, 214307 (2013); doi: 10.1063/1.4809549.
- B. V. Spitsyn, J. L. Davidson, M. N. Gradoboev, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **15**, 296 – 299 (2006); doi: 10.1016/j.diamond.2005.07.033.
- R. Y. Yakovlev, A. S. Solomatin, N. B. Leonidov, et al., *Rus. J. Gen. Chem.*, **84**, 379 – 390 (2012); doi: 10.1134/ s1070363214020406.
- Y. Liu, Z. Gu, J. L. Margrave, and V. N. Khabashesku, *Chem. Mater.*, **16**(20), 3924 – 3930 (2004); doi: 10.1021/cm048875q.
- I. P. Chang, K. C. Hwang, J.-A. Ho, et al., *Langmuir*, **26**(5), 3685 – 3689 (2010); doi: 10.1021/la903162v.
- Y. Ikeda, T. Saito, K. Kusakabe, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **7**(6), 830 – 834 (1998); doi: 10.1016/s0925-9635(97)00304-x.
- R. Y. Yakovlev, I. I. Kulakova, N. B. Leonidov, G. V. Lisichkin, *Mendeleev Commun.*, **22**(4), 213 – 214 (2012); doi: 10.1016/j.mencom.2012.06.015.
- O. A. Williams (Ed.), *Nanodiamond*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge (2014).
- B. V. Spitsyn, S. A. Denisov, N. A. Skorik, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **19**, 123 – 127 (2010); doi: 10.1016/j.diamond. 2009.10.020.
- Y. Yuan, Y. Chen, J.-H. Liu, et al., *Diamond. Relat. Mater.*, **18**(1), 95 – 100 (2009); doi: 10.1016/j.diamond.2008.10.031.
- J. M. Say, C. Vreden, D. J. Reilly, et al., *Biophys. Rev.*, **3**, 171 – 184 (2011); doi: 10.1007/s12551-011-0056-5.
- X. Zhang, J. Yin, C. Kang, et al., *Toxicol. Lett.*, **198**(2), 237 – 243 (2010); doi: 10.1016/j.toxlet.2010.07.001.
- Y. Yuan, X. Wang, G. Jia, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **19**(4), 291 – 299 (2010); doi: 10.1016/j.diamond.2009.11.022.
- Q. Wei., L. Zhan, B. Juanjuan, et al., *Nanoscale Res. Lett.*, **7**, 473 (2012); doi: 10.1186/1556-276x-7-473.
- S. Rojas, J. D. Gispert, R. Martin, et al., *ACS Nano*, **5**(7), 5552 – 5559 (2011); doi: 10.1021/nn200986z.
- Патент РФ 2560697 (2015).
- В. Ю. Долматов, *Детонационные наноалмазы. Получение, свойства, применение*, Изд. НПО “Профессионал”, Санкт-Петербург (2011).
- K.-K. Liu, C.-C. Wang, C.-L. Cheng, and J.-I. Chao, *Biomater.*, **30**(26), 4249 – 4259 (2009); doi: 10.1016/j.biomaterials.2009. 04.056.
- V. Vijayanthimala, Y.-K. Tzeng, H.-C. Chang, and C.-L. Li, *Nanotechnol.*, **20**(42), 425103 (2009); doi: 10.1088/0957-4484 / 20/42/425103.
- T. Bursleson, N. Yusuf, and A. Stanishevsky, *J. Achiev. Mater. Manufact. Eng.*, **37**(2), 258 – 263 (2009).
- A. M. Schrand, H. Huang, C. Carlson, et al., *J. Phys. Chem. B*, **111**(1), 2 – 7 (2007); doi: 10.1021/jp066387v.
- A. V. Karpukhin, N. V. Avkhacheva, R. Y. Yakovlev, et al., *Cell Biol. Int.*, **35**(7), 727 – 733 (2011); doi: 10.1042/cbi20100548.
- I. P. Chang, K. C. Hwang, and C.-S. Chiang, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**(46), 15476 – 15481 (2008); doi: 10.1021/ja804253y.
- B. Zhang, Y. Li, C.-Y. Fang, et al., *Small*, **5**(23), 2716 – 2721 (2009); doi: 10.1002/smll.200900725.

47. M.-F. Weng, S.-Y. Chiang, N.-S. Wang, and H. Niu, *Diamond Relat. Mater.*, **18**(2–3), 587–591 (2009); doi: 10.1016/j.diamond.2008.07.012.
48. C.-Y. Cheng, E. Perevedentseva, J.-S. Tu, et al., *Appl. Phys. Lett.*, **90**, 163903 (2007); doi: 10.1063/1.2727557.
49. Д. В. Нещадим, С. А. Архипов, В. А. Шкурупий и др., *Фундамент. исслед.*, № 2 (часть 6), 1222–1226 (2015).
50. L. W. Tsai, Y. C. Lin, E. Perevedentseva, et al., *Int. J. Molecular Sci.*, **17**(7), 1111 (2016); doi: 10.3390/ijms17071111.
51. K. Saha, S. T. Kim, B. Yan, et al., *Small*, **9**(2), 300–305 (2013); doi: 10.1002/smll.201201129.
52. D. Ho (ed.), *Nanodiamonds: Applications in Biology and Nanoscale Medicine*, Springer, Berlin (2009).
53. Y. Xing, W. Xiong, L. Zhu, et al., *ACS Nano*, **5**(3), 2376–2384 (2011); doi: 10.1021/nn200279k.
54. J. Wehling, R. Dringen, R. N. Zare, et al., *ACS Nano*, **8**(6), 6475–6483 (2014); doi: 10.1021/nn502230m.
55. R. Silbajoris, W. Linak, O. Shenderova, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **58**, 16–23 (2015); doi: 10.1016/j.diamond.2015.05.007.
56. G. A. Dominguez, M. D. Torelli, J. T. Buchman, et al., *Environ. Res.*, **167**, 267–275 (2018); doi: 10.1016/j.envres.2018.07.024.
57. V. Paget, J. A. Sergeant, R. Grall, et al., *Nanotoxicol.*, **8**(1), 46–56 (2014); doi: 10.3109/17435390.2013.855828.
58. V. Paget, J. A. Sergeant, S. Chevillard, *J. Phys. Conf. Ser.*, **304**, 012080 (2011); doi: 10.1088/1742-6596/304/1/012080.
59. L. Moore, J. Yang, T. T. H. Lan, et al., *ACS Nano*, **10**(8), 7385–7400 (2016); doi: 10.1021/acsnano.6b00839.
60. S. H. Alawdi, E. S. El-Denshary, M. M. Safar, et al., *Mol. Neurobiol.*, **54**(3), 1906–1918 (2017); doi: 10.1007/s12035-016-9762-0.
61. O. A. Mogilnaya, A. P. Puzyr, A. V. Baron, and V. S. Bondar, *Nanoscale Res. Lett.*, **5**(5), 908–912 (2010); doi: 10.1007/s11671-010-9571-8.
62. K. Bakowicz and S. Mitura, *J. Wide Bandgap Mater.*, **9**(4), 261–272 (2002); doi: 10.1106/152451102024429.
63. Z. Cui, Y. Zhang, K. Xia, et al., *Nature Commun.*, **9**(1), 4347 (2018); doi: 10.1038/s41467-018-06749-2.
64. D. G. Deryabin, E. S. Aleshina, and A. S. Plyagulova, *Nanotechnol. in Russia*, **6**, 528–534 (2011); doi: 10.1134/s1995078011040057.
65. А. Г. Тянь, *Дис. канд. мед. наук*, ГМА им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск (2005).
66. Л. И. Лазаренко, *Дис. канд. мед. наук*, ГМА им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск (2009).
67. D. Zupancic, M. E. Kreft, M. Grdadolnik, et al., *Protoplasma*, **255**(1), 419–423 (2018); doi: 10.1007/s00709-017-1146-4.
68. В. Ю. Долматов, *Ультрадисперсные алмазы детонационного синтеза. Получение, свойства, применение*, Изд. СПбГПУ, Санкт-Петербург (2003).
69. X. Chen, H. Wang, H. Wang, et al., *Physica Status Solidi (a)*, **215**(6), 1700715 (2018); doi: 10.1002/pssa.201700715.
70. J. K. Iyer, A. Dickey, and P. Rouhani, et al., *PLoS One*, **13**(1), e0191020 (2018); doi: 10.1371/journal.pone.0191020.
71. В. И. Берёзкин, *Углерод: замкнутые наночастицы, макроструктуры, материалы*, АртЭго, Санкт-Петербург (2013).
72. T.-L. Wee, Y.-W. Mau, C.-Y. Fang, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **18**(2–3), 567–573 (2009); doi: 10.1016/j.diamond.2008.08.012.
73. D. G. Lim, K. H. Kim, E. Kang, et al., *Int. J. Nanomedicine*, **11**, 2381–2395 (2016); doi: 10.2147/ijn.s104859.
74. H. M. Leung, M. S. Chan, L. S. Liu, et al., *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **6**(8), 9671–9681 (2018); doi: 10.1021/acssuschemeng.8b00446.
75. E. V. Rodina, A. V. Valueva, R. Y. Yakovlev, et al., *Biointerphases*, **10**, 041005 (2015); doi: 10.1116/1.4934483.
76. A. E. Pentecost, C. E. Witherel, Y. Gogotsi, and K. L. Spiller, *Biomaterials Sci.*, **5**(10), 2131–2143 (2017); doi: 10.1039/c7bm00294g.
77. U. Roy, V. Drozd, A. Durygin, et al., *Sci. Rep.*, **8**(1), 1603 (2018); doi: 10.1038/s41598-017-16703-9.
78. Y. L. Liu and K. W. Sun, *Nanoscale Res. Lett.*, **5**, 1045–1050 (2010); doi: 10.1007/s11671-010-9600-7.
79. W. S. Yeap, Y. Y. Tan, and K. P. Loh, *Anal. Chem.*, **80**(12), 4659–4665 (2008); doi: 10.1021/ac800009v.
80. E. K. Chow, X.-Q. Zhang, M. Chen, et al., *Sci. Trans. Med.*, **3**(73), 73ra21 (2011); doi: 10.1126/scitranslmed.3001713.
81. J. Xiao, X. Duan, Q. Yin, et al., *Biomater.*, **34**(37), 9648–9656 (2013); doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.08.056.
82. A. D. Salaam, P. T. Hwang, A. Poonawalla, et al., *Nanotechnology*, **25**(42), 425103 (2014); doi: 10.1088/0957-4484/25/42/425103.
83. C. M. Jimenez, N. Z. Knezevic, Y. G. Rubio, et al., *J. Mater. Chem. B*, **4**(35), 5803–5808 (2016); doi: 10.1039/c6tb01915c.
84. H. Zhu, Y. Wang, A. Hussain, et al., *J. Mater. Chem. B*, **5**(19), 3531–3540 (2017); doi: 10.1039/c7tb00449d.
85. P. Wang, W. Su, and X. Ding, *Diamond Relat. Mater.*, **88**, 43–50 (2018); doi: 10.1016/j.diamond.2018.06.024.
86. H. Li, D. Zeng, Z. Wang, et al., *Nanomedicine*, **13**(9), 981–996 (2018); doi: 10.2217/nnm-2017-0375.
87. W.-S. Liao, Y. Ho, Y.-W. Lin, et al., *Acta Biomaterialia*, **86**(1), 395–405 (2016); doi: 10.1016/j.actbio.2019.01.025.
88. D. G. Lim, J. H. Jung, H. W. Ko, et al., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **8**(36), 23558–23567 (2016); doi: 10.1021/acsami.6b08079.
89. Y.-W. Lin, E. N. Raj, W.-S. Liao, et al., *Sci. Rep.*, **7**(1), 9814 (2017); doi: 10.1038/s41598-017-09983-8.
90. J. Giammarco, V. N. Mochalin, J. Haeckel, and Y. Gogotsi, *J. Colloid Interface Sci.*, **468**(15), 253–261 (2016); doi: 10.1016/j.jcis.2016.01.062.
91. X. Wang, X. C. Low, W. Hou, et al., *ACS Nano*, **8**(12), 12151–12166 (2014); doi: 10.1021/nn503491e.
92. T.-B. Toh, D.-K. Lee, W. Hou, et al., *Mol. Pharmaceutics*, **11**(8), 2683–2691 (2014); doi: 10.1021/mp5001108.
93. P. Rouhani, N. Govindaraju, J. K. Iyer, et al., *Mater. Sci. Eng.: C*, **63**(1), 323–332 (2016); doi: 10.1016/j.msec.2016.02.075.
94. M. Chen, E. D. Pierstorff, R. Lam, et al., *ACS Nano*, **3**(7), 2016–2022 (2009); doi: 10.1021/nn900480m.
95. Z. Cui, Y. Zhang, J. Zhang, et al., *Carbon*, **97**, 78–86 (2016); doi: 10.1016/j.carbon.2015.07.066.
96. A. T. N. Lam, J.-H. Yoon, N. H. Ly, and S. W. Joo, *BioChip J.*, **12**(2), 163–171 (2018); doi: 10.1007/s13206-017-2209-5.
97. *US Appl.* 20180289836 (2018).
98. R. A. Shimkunas, E. Robinson, R. Lam, et al., *Biomaterials*, **30**(29), 5720–5728 (2009); doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.07.004.
99. K. V. Purtov, A. I. Petunin, A. E. Burov, et al., *Nanoscale Res. Lett.*, **5**, 631–636 (2010); doi: 10.1007/s11671-010-9526-0.
100. H. Lai, F. Chen, M. Lu, et al., *ACS Macro Lett.*, **6**(8), 796–801 (2017); doi: 10.1021/acsmacrolett.7b00389.
101. В. Т. Иванова, М. В. Иванова, Е. И. Бурцева и др., *Вопр. вирусол.*, **57**(2), 9–13 (2012).
102. T.-K. Ryu, S.-W. Baek, R.-H. Kang, et al., *J. Control. Rel.*, **270**, 237–245 (2018); doi: 10.1016/j.jconrel.2017.12.008.
103. B. Cheng, H. Pan, D. Liu, et al., *Int. J. Pharm.*, **540**(1–2), 162–170 (2018); doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.02.014.
104. Y. Xia, X. Deng, M. Cao, et al., *RSC Adv.*, **8**(25), 13789–13797 (2018); doi: 10.1039/c8ra00907d.
105. K. V. Purtov, L. P. Burakova, A. P. Puzyr, and V. S. Bondar, *Nanotechnology*, **19**(32), 325101 (2008); doi: 10.1088/0957-4484/19/32/325101.
106. E. Perevedentseva, P.-J. Cai, Y.-C. Chiu and C.-L. Cheng, *Langmuir*, **27**(3), 1085–1091 (2010); doi: 10.1021/la103155c.
107. A. S. Solomatin, R. Y. Yakovlev, N. B. Leonidov, et al., *Moscow Univ. Chem. Bul.*, **73**(3), 91–98 (2018); doi: 10.3103/s0027131418030082.
108. T.-K. Ryu, G.-J. Lee, C.-K. Rhee, and S.-W. Choi, *Macromolec. Biosci.*, **15**(10), 1469–1475 (2015); doi: 10.1002/mabi.201500176.

109. A. Gismondi, V. Nanni, G. Reina, et al., *Int. J. Nanomedicine*, **11**, 557 – 674 (2016); doi: 10.2147/ijn.s96614.
110. A. Adnan, R. Lam, H. Chen, et al., *Mol. Pharmaceutics*, **8**(2), 368 – 374 (2011); doi: 10.1021/mp1002398.
111. T.-F. Li, K. Li, Q. Zhang, et al., *Biomaterials*, **181**, 35 – 52 (2018); doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.07.035.
112. D. Li, X. Chen, H. Wang, et al., *J. Biophotonics*, **10**(12), 1636 – 1646 (2017); doi: 10.1002/jbio.201700011.
113. X. Chen, D. Li, H. Wang, et al., *RSC Adv.*, **6**(50), 44543 – 44551 (2016); doi: 10.1039/c6ra04753j.
114. Патент РФ 2561592 (2016).
115. Z. Wang, Z. Tian, Y. Dong, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **58**, 84 – 93 (2015); doi: 10.1016/j.diamond.2015.06.008.
116. H.-L. Chu, H.-W. Chen, S.-H. Tseng, et al., *Chem. Med. Chem.*, **9**(5), 1023 – 2019 (2014); doi: 10.1002/cmdc.201300541.
117. Y.-K. Tzeng, O. Faklaris, B.-M. Chang, et al., *Angewandte Chemie Int. Ed.*, **50**(10), 2262 – 2265 (2011); doi: 10.1002/anie.201007215.
118. L. Wei, W. Zhang, H. Lua, and P. Yang, *Talanta*, **80**(3), 1298 – 1304 (2010); doi: 10.1016/j.talanta.2009.09.029.
119. S. A. Golyshev, A. K., Berkovich, R. Y. Yakovlev, et al., *Bio-interphases*, **12**(3), 031004 (2017); doi: 10.1116/1.4996108.
120. T. Meinhardt, D. Lang, H. Dill, and A. Krueger, *Adv. Funct. Mater.*, **21**(3), 494 – 500 (2011); doi: 10.1002/adfm.201001219.
121. Y.-Y. Chen, H. Shu, Y. Kuo, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **20**(5 – 6), 803 – 807 (2011); doi: 10.1016/j.diamond.2011.03.039.
122. W. Zhao, S. Wei, H. Zhao, et al., *Diamond Relat. Mater.*, **77**, 171 – 180 (2017); doi: 10.1016/j.diamond.2017.07.003.
123. K.-K. Liu, W.-W. Zheng, C.-C. Wang, et al., *Nanotechnology*, **21**(31), 315106 (2010); doi: 10.1088/0957-4484/21/31/315106.
124. S. Alwani, R. Kaur, D. Michel, et al., *Int. J. Nanomedicine*, **11**, 687 – 702 (2016); doi: 10.2147/ijn.s92218.
125. T.-K. Ryu, S. W. Baek, G.-J. Lee, et al. *Macromol. Biosci.*, **17**(2), 1600180 (2017); doi: 10.1002/mabi.201600180.
126. M. Lu, Y.-K. Wang, J. Zhao, et al., *Macromol. Rapid Commun.*, **37**(24), 2023 – 2029 (2016); doi: 10.1002/marc.201600344.
127. J. Zhao, M. Lu, H. Lai, et al., *Biomacromolecules*, **19**(2), 481 – 489 (2018); doi: 10.1021/acs.biomac.7b01592.
128. A. S. Solomatina, R. Y. Yakovlev, O. V. Efremenkova, et al., *Nanosystems: physics, chemistry, mathematics*, **8**(4), 531 – 534 (2017); doi: 10.17586/2220-8054-2017-8-4-531-534.
129. R. D. Akiel, X. Zhang, C. Abeywardana, et al., *J. Phys. Chem. B*, **120**(17), 4003 – 4008 (2016); doi: 10.1021/acs.jpcc.6b00790.
130. Y. Bi, Y. Zhang, C. Cui, et al., *Int. J. Nanomed.*, **11**, 5771 – 5787 (2016); doi: 10.2147/ijn.s117611.
131. R. Kaur, J. M. Chitanda, D. Michel, et al., *Int. J. Nanomed.*, **7**, 3851 – 3866 (2012); doi: 10.2147/ijn.s32877.
132. T.-K. Ryu, S.-W. Baek, R.-H. Kang, and S.-W. Choi, *Adv. Func. Mater.*, **26**(35), 6428 – 6436 (2016); doi: 10.1002/adfm.201601207.
133. N. Mohan, C.-S. Chen, H.-H. Hsieh, et al., *Nano Let.*, **10**(9), 3692 – 3699 (2010); doi: 10.1021/nl1021909.
134. N. Rammohan, K. W. MacRenaris, L. K. Moore, et al., *Nano Let.*, **16**(12), 7551 – 7564 (2016); doi: 10.1021/acs.nanolett.6b03378.
135. D. E. Waddington, M. Sarracanie, H. Zhang, et al., *Nature Commun.*, **8**, 15118 (2017); doi: 10.1038/ncomms15118.
136. Y. Zhang, K. Y. Rhee, D. Hui, and S.-J. Park, *Composites Part B: Eng.*, **143**, 19 – 27 (2018); doi: 10.1016/j.compositesb.2018.01.028.
137. R. Namdar and S. Nafisi, *Drug Discov. Today*, **23**(5), 1152 – 1158 (2018); doi: 10.1016/j.drudis.2018.04.006.
138. H.-S. Jung, K.-J. Cho, Y. Seol, et al., *Adv. Funct. Mater.*, **28**(33), 1801252 (2018); doi: 10.1002/adfm.201801252.
139. Y. Zhang, Z. Cui, H. Kong, et al., *Adv. Mater.*, **28**(14), 2699 – 2708 (2016); doi: 10.1002/adma.201506232.
140. Y. Yu, M. Nishikawa, M. Liu, et al., *Nanoscale*, **10**(19), 8969 – 8978 (2018); doi: 10.1039/c8nr00641e.
141. W. W. Hsiao, H. H. Lin, and H. C. Chang, In: *Carbon-Based Nanosensor Technology*, C. Kranz (ed.), Springer, Cham. (2017), pp. 119 – 140; doi: 10.1007/5346_2017_11.
142. D. Ho, A. Zarrinpar, and E. K.-H. Chow, *ACS Nano*, **10**(10), 9087 – 9092 (2016); doi: 10.1021/acsnano.6b06174.
143. Патент РФ 2560700 (2015).
144. Патент РФ 2506074 (2014).
145. Патент РФ 2506075 (2014).
146. Патент РФ 2508098 (2014).
147. Патент РФ 2519755 (2014).
148. Патент РФ 2519759 (2014).
149. Патент РФ 2519760 (2014).
150. Патент РФ 2519761 (2014).
151. Патент РФ 2521404 (2014).
152. Патент РФ 2566713 (2015).
153. Патент РФ 2574001 (2016).
154. Патент РФ 2203068 (2001).
155. V. Y. Dolmatov and L. N. Kostrova, *J. Superhard Mater.*, **3**, 79 – 82 (2000).
156. J. Sung, *J. Lin. Diamond Nanotechnology. Syntheses and Applications*, Pan Stanford Publishing, Singapore (2010).
157. H. B. Man, H. Kim, H.-J. Kim, et al., *Nanomedicine: Nanotechnology, Biol. Med.*, **10**(2), 359 – 269 (2014).
158. E. S. Severin, *Rus. Chem. Rev.*, **84**(1), 43 – 60 (2015); doi: 10.1070/rcr4468.

Поступила 29.01.20

DETONATION NANODIAMONDS AS PROMISING DRUG CARRIERS

R. Yu. Yakovlev¹, P. G. Mingalev², N. B. Leonidov³, and G. V. Lisichkin^{2*}

¹ V. I. Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

² Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

³ I. P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, 390026 Russia

* e-mail: lisich@petrol.chem.msu.ru

Information on the use of detonation nanodiamonds (DNDs) in biomedical applications is summarized. Literary and proprietary data on the preparation of DND conjugates with biologically active substances and the distribution of diamond nanoparticles *in vivo* are presented. Methods for adsorption and covalent immobilization of biologically active substances on the DND surface are considered. The main directions of development in the field of creating systems for the delivery of biologically active and medicinal substances based on DNDs are identified. Biomedical DND applications offer attractive combination of properties such as biocompatibility, capacity of creating functional particles with specific adsorption/conjugation of drugs and biomolecules, large specific surface, and stable fluorescence.

Keywords: nanodiamonds; surface modification; drugs; biologically active substances; conjugates.