

УГЛЕРОДНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРЫ: ЗА И ПРОТИВ (PRO ET CONTRA).

I. ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ И ТОКСИЧНОСТЬ

© 2022 г. О. И. Большакова¹, А. Д. Слободина¹, С. В. Саранцева^{1,*}

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ “Курчатовский институт”, Гатчина, Россия

*E-mail: Sarantseva_SV@nrcki.npi.ru

Поступила в редакцию 21.06.2021 г.

После доработки 21.06.2021 г.

Принята к публикации 23.06.2021 г.

Открытые в течение нескольких последних десятилетий углеродные структуры – фуллерены, эндо-фуллерены, нанотрубки, наноалмазы и графены, обладая целым рядом уникальных свойств, могли бы стать основой для создания нового класса нейропротекторных лекарств, однако до сих пор этого не произошло, несмотря на годы исследований. В первой части обзора описывается значимость функционализации углеродных наночастиц для их использования в биологии и медицине, а также обсуждаются данные об их токсичности. Во второй части представлены работы российских и зарубежных ученых, демонстрирующие нейропротекторные свойства углеродных наночастиц и возможности применения их в нейробиологии и неврологии; описан успешный опыт таких экспериментов и обозначены существующие проблемы.

DOI: 10.56304/S1992722322020054

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение

1. Роль функционализации углеродных наночастиц в биосовместимости

2. Токсичность углеродных наночастиц

2.1. Токсичность углеродных наночастиц в исследованиях *in vitro*

2.2. Токсичность углеродных наночастиц в исследованиях *in vivo*

Заключение

ВВЕДЕНИЕ

Успехи здравоохранения и быстрое развитие медицинских технологий приводят к парадоксальным последствиям: увеличение продолжительности жизни способствует росту заболеваемости различными нейродегенеративными расстройствами. Болезни Альцгеймера (БА), Паркинсона (БП) и Хантингтона (БХ), боковой амиотрофический склероз и другие тяжелые заболевания нервной системы встречаются все чаще. Они сложны и связаны со многими факторами, такими как предрасположенность, влияние окружающей среды, нарушенный иммунитет и в меньшей степени генетическая предрасположенность [1]. При анализе причин, приводящих к развитию БА, были вы-

явлены патогенные факторы, которые могут участвовать в инициации заболевания и осложнять его течение. Активные формы кислорода (АФК), ионы металлов, нарушение процессинга белка предшественника амилоида и аномальная агрегация амилоидного пептида бета (Аβ), а также еще множество факторов предложены в качестве потенциальных [2]. Каждый из них может привести к БА как сам по себе, так и во взаимосвязи с другими. Например, ионы металлов, взаимодействуя с Аβ, стимулируют его агрегацию и накопление [3, 4], что, в свою очередь, может привести к окислительному стрессу (ОС) и в итоге к нейродегенерации [5, 6]. Описанная выше схема является общей и для других нейродегенеративных заболеваний (НЗ). Например, БП характеризуется накоплением и агрегацией α-синуклеина, БХ – мутантного белка хаггинтина с увеличенным числом полиглутаминовых повторов. Оба заболевания, так же как и БА, сопровождаются ОС и нейродегенерацией. В то же время существующие методы лечения имеют ограниченную эффективность, и поиск лекарственных препаратов для терапии НЗ, способных препятствовать агрегации амилоидных белков и ОС, является приоритетным направлением исследований. Использование наноматериалов обещает революционные изменения и в диагностике, и в лечении многих заболева-

ний. Эти структуры способны взаимодействовать с биологическими системами на молекулярном и надмолекулярном уровнях, могут быть адаптированы для удовлетворения конкретных условий клеток: вызвать в них желательные физиологические реакции или свести к минимуму нежелательные побочные эффекты [7]. Большими перспективами для применения в нейробиологии и неврологии обладают углеродные наночастицы (УНЧ), характеризующиеся уникальными свойствами. Однако необходимо, чтобы они обладали хорошей биосовместимостью, не были токсичными и не откладывались в органах и тканях. Годы исследований не привели к положительному результату, и на основе наночастиц (НЧ) пока не удастся создать эффективных лекарств. Причины этого можно искать, в том числе, в отсутствии системных исследований и продуктивного анализа имеющихся на сегодня данных.

1. РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИИ УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ В БИОСОВМЕСТИМОСТИ

В интактном состоянии большинство УНЧ обладает низкой биосовместимостью и это препятствует их применению в качестве терапевтических агентов, в частности, в клинической неврологии. Например, использование фуллеренов затруднено их нерастворимостью в воде. Следовательно, необходимы их очистка и химическая модификация, направленные на увеличение их растворимости и снижение токсичности [7]. В настоящее время предложено достаточно много способов получения водорастворимых производных фуллеренов с помощью присоединения к ним различных групп и молекул. Последние обладают большей биосовместимостью, чем нативные фуллерены, и в то же время они не теряют своих уникальных свойств, таких как способность препятствовать агрегации амилоидных белков и антиоксидантная активность. В зависимости от того, какие группы пришиваются к молекуле, можно сформировать на поверхности НЧ различные структуры, от количества и положения которых будут зависеть их поведение в среде и биологическая активность. Так, соединение фуллеренов с биомолекулами может изменить их функции и обеспечить встраивание в мембраны и проникновение в органеллы клеток. Образование супрамолекулярных комплексов фуллеренов с терапевтическими агентами улучшает биодоступность и фармакокинетику последних, способствуя адресной доставке лекарственных веществ [8]. Нерастворимость фуллеренов в воде можно преодолеть путем синтеза водорастворимых комплексов с полимерами [9]. Для этих целей применяют полиэтиленгликоль (ПЭГ), декстран, полиэтиленамин и др. Самым биосовместимым из них

считается декстран [10]. Благодаря своим свойствам этот полисахарид легко связывается с различными функциональными группами и обеспечивает комплексу с НЧ нужные физико-химические характеристики [11]. Однако чаще всего используют гидроксильные фуллерены. При этом не только число, но и различная локализация гидроксильных групп на поверхности кейджа определяет баланс гидрофильных и гидрофобных взаимодействий фуллеренолов между собой и с окружением. Получение индивидуальных биологически активных производных остается сложной задачей, и к настоящему времени синтезировано лишь несколько десятков водорастворимых соединений с индивидуальной структурой. Согласно [12] две фракции фуллеренола, имеющие различный поверхностный электрический заряд и различающиеся процентным содержанием гидроксильных и карбонильных групп, могут по-разному взаимодействовать с активными филаментами в клетке. При этом ни один образец не обладал заметной цитотоксичностью. Большое значение имеет степень агрегирования фуллеренов и их производных в биологических системах [13]. При функционализации поверхности агрегация частиц может быть снижена и это повышает и биосовместимость, и коллоидную стабильность НЧ.

Углеродные нанотрубки (УНТ), так же как и фуллерены, нерастворимы в большинстве органических и водных растворителей. Кроме того, они имеют сильную склонность к агрегации. Для улучшения биосовместимости поверхность УНТ модифицируют [14], и химия поверхности играет очень важную роль при взаимодействии УНТ с клеткой и ее компартментами [15]. Двумя основными методами модификации поверхности нанотрубок являются: ковалентное присоединение к ним амфифильных молекул (липидов, полимеров и др.), позволяющее сохранить ароматическую структуру УНТ без вредного влияния на их электронные характеристики, а также ковалентное модифицирование путем пришивания различных групп непосредственно к углеродному скелету [16]. Функционализированные УНТ могут связывать нуклеиновые кислоты, пептиды, белки, углеводы и др., при этом способность проникать через мембраны клеток в цитоплазму делает их перспективной основой для систем целевой доставки различных веществ [17, 18], а также для визуализации и биосенсирования [19]. Кроме того, химическая модификация УНТ является мощным инструментом для конструирования субстратов, которые могут контролировать рост и морфологию нейрональных клеток [16].

Материалы на основе графена обычно агрегируют в водной среде, содержащей соли, белки или другие ионы, и требуют химической модификации для придания им необходимых свойств. Гра-

фен может быть легко функционализирован в растворимый в воде оксид графена (ОГ). Часто используется так называемый восстановленный ОГ, который имеет преимущества перед ОГ и графеном, поскольку обладает проводящими свойствами последнего и в то же время имеет отрицательно заряженные группы ОГ [20]. Добавление ПЭГ к НЧ ОГ позволяет дополнительно нековалентно связывать гидрофобные лекарственные средства с помощью π - π -упаковки [21]. Химическую структуру графена можно модифицировать путем присоединения реакционноспособных функциональных групп, таких как амино-, карбоксильная, гидроксильная, алкилгалогеновая или азидная группы. На поверхность модифицированного таким способом графена можно конъюгировать пептиды, антитела, контрастные агенты, лекарственные средства. Подобные конъюгаты имеют перспективу при обнаружении метаболических нарушений в мозге [22].

Наноалмазы (НА), синтезированные различными методами (например, детонацией, лазерной абляцией и прочими способами), как и другие УНЧ, имеют тенденцию образовывать агрегаты различных размеров, т.е. обладают низкой коллоидной устойчивостью. Их поверхность покрыта функциональными группами, природа которых зависит от условий и способа синтеза, а также методов очистки [23]. Для использования в биологии и медицине получают НА с высокой коллоидной устойчивостью в дисперсионных средах. В этом случае применяют технологии дополнительной очистки, позволяющие снизить содержание примесей металлов и органических веществ на поверхности [24]. Одним из решений проблемы агрегации НА является модификация их поверхности с помощью окисления в жидких средах или озоне с использованием синглетного кислорода. Чтобы увеличить их диспергирующую способность, детонационные наноалмазы (ДНА) можно функционализировать через карбоксильную группу [25]. Для обеспечения устойчивости дисперсий в воде поверхности монокристаллов алмазов функционализировали с помощью гидрофильных групп [26]. Положительно заряженные гидрированные НА, а также НА, покрытые оболочкой из полимера, способны образовывать комплексы с нуклеиновыми кислотами. В целом результаты медико-биологических исследований свидетельствуют в пользу биосовместимости и малой токсичности НЧ алмаза. Например, в [27] показано, что НА более биосовместимы, чем большинство других углеродных материалов. Химический состав их поверхности дает возможность для конъюгации с биомолекулами, а уникальные оптические, механические и термические свойства делают НА перспективными кандидатами для широкого спектра применений при доставке лекарств [28].

Таким образом, все УНЧ для увеличения биодоступности, биосовместимости и придания им необходимых качеств требуют функционализации (рис. 1). При этом НЧ могут потерять свои первоначальные свойства и стать как менее, так и, наоборот, более токсичными. То есть функционализация НЧ и их свойства тесно связаны между собой.

2. ТОКСИЧНОСТЬ УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Оценка токсичности НЧ и различных производных является первостепенной задачей при создании новых лекарств. Взаимодействуя со структурами внутри клетки, НЧ способны оказывать как терапевтическое, так и вредное воздействие. Важен их вклад и в токсичность комплексных препаратов. Кроме того, широкое применение НЧ увеличивает вероятность неблагоприятного воздействия на окружающую среду [29]. Использование ими внутриклеточных путей, не доступных для более крупных частиц, например эндцитоза, способствует токсичности [30].

2.1. Токсичность углеродных наночастиц в исследованиях *in vitro*

Имеющиеся в настоящее время данные о токсичности НЧ очень неоднозначны. Это связано с тем, что в исследованиях используются сильно отличающиеся друг от друга препараты, изготовленные различными способами. Кроме того, применяются разные методы оценки и тест-системы. Однако и эти разрозненные, но довольно многочисленные данные позволяют сделать определенные выводы. Например, цитотоксические эффекты фуллеренов связывают с высвобождением АФК, прямым окислением мембраны, ее разрушением, нарушением структуры и функций мембранных белков, продукцией АФК внутри клетки, приводящей к повреждению белков и органелл [31]. Показано, что фуллеренолы и некоторые их производные влияют на гомеостаз клеток, способны блокировать ионные каналы мембран [32]. Однако в последнее время появляется все больше фактов, подтверждающих тезис о том, что сам по себе фуллерен типа C_{60} является практически безвредным [33–35]. Токсичность препаратов часто связана с несовершенством применяемых для их изготовления методов. В частности, для очистки фуллеренов и получения, например, фуллеренолов используются органические растворители, остатки которых способны сохраняться в структуре фуллеренолов в адсорбированном состоянии или в виде химически связанных с фуллереновым каркасом фрагментов и функциональных групп [29]. Например, в нескольких исследованиях было подтверждено,

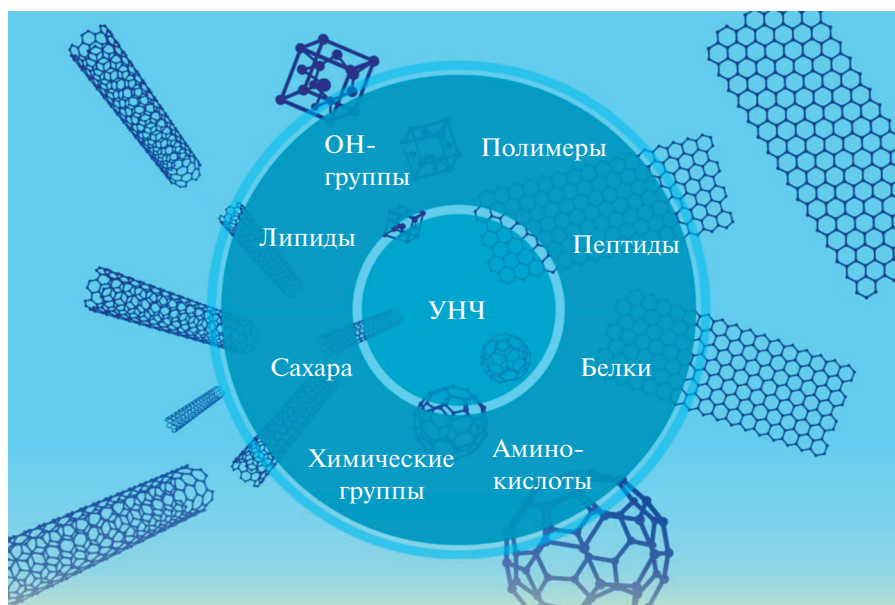


Рис. 1. Функционализация углеродных наночастиц. Функционализация УНЧ осуществляется посредством присоединения к ним различных химических групп и молекул. Данные модификации делают УНЧ растворимыми и биосовместимыми, а значит, более пригодными для использования в биологии и медицине.

что увеличение смертности при воздействии C_{60} , диспергированного с тетрагидрофураном, вызвано остаточными продуктами разложения растворителя, а не самим фуллереном [35–38]. Если фуллеренолы получены способом, позволяющим производить особо чистый продукт, они абсолютно безвредны [39]. Есть также мнение, что токсичность фуллеренов и их производных является проявлением характеристик присоединенных функциональных групп [40], и в зависимости от конкретных характеристик биологический эффект меняется от цитопротекторного до цитотоксического [32]. Например, токсичность катионных производных фуллеренов [40, 41] может объясняться их взаимодействием с отрицательно заряженными нуклеиновыми кислотами. При этом карбоксильные производные фуллерена [41] и гидроксифуллерены [42] практически безвредны. В предыдущей главе указано, что самым биосовместимым агентом для функционализации фуллеренов является декстран. Однако в исследовании [29] препарат С6 Дех- C_{60} , содержащий декстран, при использовании нескольких методов оценки продемонстрировал дозозависимый токсический ответ в глиальных клетках. Токсичность растворов фуллеренов может быть связана и с некоторыми их свойствами. Так, в [43, 44] считают, что она коррелирует с размерами кластеров частиц, поскольку разница в размерах и геометрии приводит к различному взаимодействию с биологическими структурами. Считается, что агрегаты меньших размеров более токсичны [43, 45]. Однако при исследовании связи токсичности раство-

ров фуллеренов с их физическими характеристиками в различных условиях, было показано, что основным негативным фактором является не размер кластеров, а использование в качестве растворителя *N*-метилпирролидона, позволяющего уменьшить агрегаты до 10 нм. При снижении концентрации фуллеренов значительно уменьшались и токсические эффекты остаточного *N*-метилпирролидона [13]. Таким образом, для использования в медицине необходимо стандартизировать критерии чистоты препаратов на основе фуллеренов и определить критерии качества [33].

Активно обсуждается возможная токсичность УНТ. Согласно [17, 46–48] важную роль здесь играют геометрия, степень агрегации, функционализация. Гораздо меньшее значение имеет присутствие примесей. Однако показано, что на токсичность УНТ влияет наличие примесей различных металлов (Co, Ni, Fe и редкоземельных элементов), а также графита и аморфного углерода, которые образуются в процессе производства. Например, очистка коммерческих УНТ от примесей железа приводила к снижению образования свободных радикалов [49]. В [50] продемонстрировано, что очищенные УНТ не продуцируют свободные радикалы, а наоборот, снижают активность гидроксильных и супероксидных радикалов. При этом полное удаление примесей может привести и к обратному эффекту за счет увеличения площади поверхности [51] и большой плотности образующихся на ней карбоксильных и гидроксильных групп при кислотной обработке [48, 52].

На основе анализа собранных данных о цитотоксичности различных типов УНТ в отношении разных клеток млекопитающих был сделан вывод, что токсичность часто зависит от дозы препарата [53]. Таким образом, как и в случае с фуллеренами, основными факторами, определяющими цитотоксичность УНТ, являются их гидрофобность, склонность к агрегации и наличие примесей. Немаловажную роль играют конъюгированные с ними функциональные группы и молекулы, адсорбированные на их поверхности [53].

Токсичность наноматериалов на основе графена плохо изучена. Считается, что графен способен преодолевать клеточную мембрану и взаимодействовать и с самой плазматической мембраной, и с органеллами цитоплазмы. Попадая в ядро, он взаимодействует с ДНК, чем создает угрозу как для генома, так и для эпигенома [54]. Считается, что основной механизм токсичности графена связан с генерацией АФК внутри клетки [55]. Трудности в оценке его эффектов возникают из-за различий в морфологии и размерах НЧ. Токсичность может зависеть от заряда, присутствующих функциональных групп, методов синтеза, способа введения, от дозы и времени воздействия, влияют также остаточные загрязнители, и все это является причиной расхождений между данными различных авторов [56]. В обзорах [56, 57] проанализированы исследования о токсичности графена, систематизированные в зависимости от описанных выше параметров, и показана сложная взаимосвязь физико-химических свойств графена и получаемых биологических эффектов. Из приведенных в них данных можно сделать вывод, что токсичность графена мало зависит от времени инкубации с препаратом, но сильно зависит от применяемой дозы, функциональных групп (функционализации), типа клеток и, возможно, размера частиц. Все это необходимо учитывать при создании препаратов на его основе.

В обзоре [58] в числе других УНЧ подробно описана токсичность НА. Из приведенных в работе литературных данных нельзя сделать однозначных выводов. Так, в ряде исследований показано, что НА не токсичны или малотоксичны для различных перевиваемых клеточных культур. В других работах продемонстрировано обратное как для перевиваемых линий, так и для культивируемых клеток крови человека, причем эффекты носят дозозависимый характер. Однако анализ литературы свидетельствует в пользу того, что токсичность НА *in vitro* или незначительна, или вовсе отсутствует. Приведем здесь лишь некоторые данные. Показано, что НА не оказывали существенного влияния на пролиферацию и дифференциацию клеток, клеточный цикл и экспрессию белков [59]. В других экспериментах НА не были токсичны для клеток HeLa в полной среде для культивирования клеток, а их цитотоксич-

ность была связана с отсутствием в ней сыворотки [60]. Похожие результаты были получены в отношении лимфоцитов периферической крови человека и перевиваемых опухолевых линий A549 и HT29, кроме того, продемонстрировано влияние на цитотоксичность очистки и функционализации НА [61]. Для понимания того, как ведут себя частицы внутри клетки, были использованы НА без функционализации поверхности. Показано, что НА локализуются отдельными группами в ранних эндосомах, лизосомах и вблизи плазматической мембраны. Предположительно НА проникают в клетку посредством непрерывного эндоцитоза и, как показал метод сокультивирования, не накапливаются в клетке, а удаляются из нее с помощью экзоцитоза. НА не были идентифицированы в ядре, митохондриях, аппарате Гольджи и не оказывали негативного воздействия [62]. Изучение эффектов НА на уротелиальных клетках также показало их локализацию в эндосомах и отсутствие токсичности [63]. Согласно данным обзора [64] НА обладают низкой токсичностью по отношению к различным видам клеток и не приводят к заметной генерации АФК. Такие же выводы можно сделать из работ [27, 65–67]. Кроме того, НА могут способствовать снижению неблагоприятной реакции на препарат. Например, показано, что НА, допированные Fe, очень мало влияют на живые клетки, несмотря на то, что токсичность Fe общеизвестна [68].

Если рассматривать исследования, в которых продемонстрировано вредное воздействие НА, то существует несколько гипотез, объясняющих этот феномен. Так, при сравнении различных групп НА оказалось, что НА–NH₃⁺ обладают более высокой цитотоксичностью, чем НА–COOH и НА–ПЭГ. Предполагается, что это может быть связано со способностью положительно заряженных частиц легче проходить через клеточную мембрану благодаря свойствам самой мембраны: внутренняя часть ее липидного бислоя гидрофобна и отрицательно заряжена [69]. В то же время НА–NH₂ и НА–COOH в отличие от НА–ПЭГ вызывали дозозависимую токсичность, при этом НА с аминогруппой большую, чем НА с карбоксильной группой при одинаковых условиях воздействия [70]. Это свидетельствует в пользу того, что, как и в случае с фуллеренами, биологические свойства НА тесно связаны с характеристиками присоединенных функциональных групп. Возможно, имеет значение и размер частиц (маленькие частицы более токсичны), но несмотря на это, токсичность НА в первую очередь связана с наличием примесей (например, углерода) в образце [71].

Таким образом, токсичность *in vitro* всех описанных УНЧ связывают с одинаковыми факторами: чистота препарата, доза, размер НЧ и присо-

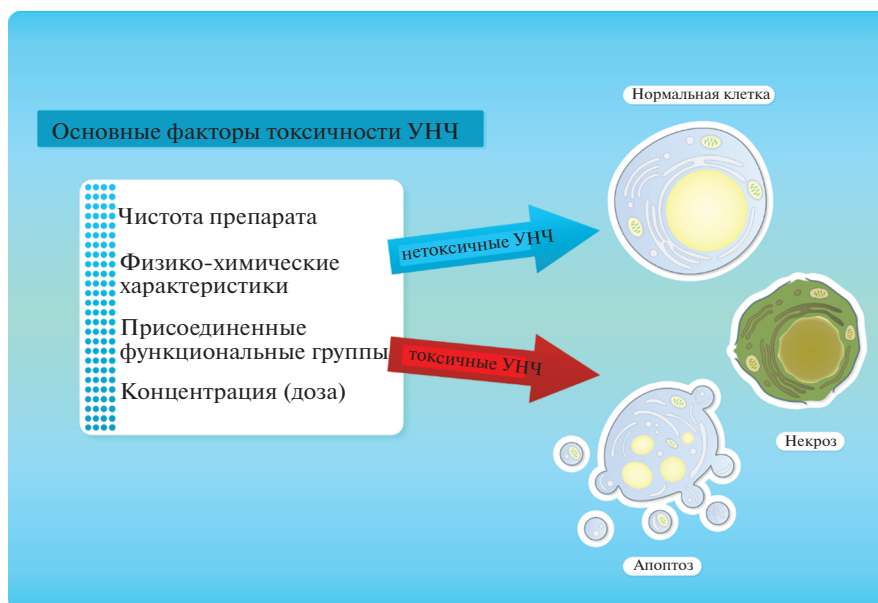


Рис. 2. Токсичность углеродных наночастиц. Токсичность УНЧ связана с рядом факторов, которые необходимо учитывать, чтобы соотношение риск: польза при их применении в биологии и медицине было оптимальным.

единенные функциональные группы (рис. 2). Токсичность на организменном уровне (*in vivo*) может быть обусловлена дополнительными причинами.

2.2. Токсичность углеродных наночастиц в исследованиях *in vivo*

Использование НЧ в качестве лекарственных препаратов, компонентов лекарств или диагностических средств подразумевает необходимость учитывать реакцию всего организма и должно предваряться оценкой их влияния на всех этапах воздействия: от первоначального введения до проникновения в эндотелий ткани, в межклеточное пространство и через клеточную мембрану внутрь клетки, в ее компартменты и далее в ядро [72]. Важно, как данный препарат распределяется внутри организма, в каких органах и тканях аккумулируется, как выводится, каким образом реагирует иммунная система, будет ли на него воспалительная реакция и т.д. В этой связи встают задачи оценки прямых и отдаленных последствий введения НЧ *in vivo*.

В 2012 г. было показано, что фуллерен C_{60} , растворенный в оливковом масле, при пероральном введении крысам (1.7 мг/кг) удваивал продолжительность их жизни [73]. Производные фуллерена демонстрировали очень низкую цитотоксичность, а также низкую острую токсичность у мышей. У одного из этих соединений она была в 4 раза меньше, чем у аспирина и сопоставима с таковой у поваренной соли или сахара [74]. Не было обнаружено вредного воздействия фуллере-

нов и в работе [75]. Изучение влияния фуллеренолов $C_{60}(OH)_{30}$, $C_{70}(OH)_{30}$ и $C_{120}(OH)_n$ на *Drosophila melanogaster* показали, что даже очень высокие дозы препаратов (2 мг/мл) не изменяли продолжительность жизни и поведение мух. В [76] не было обнаружено гистопатологических изменений в органах дыхания крыс при вдыхании частиц C_{60} разного размера. В ряде исследований показано, что фуллерены и их производные не только не обладают высокой токсичностью *in vivo*, но и могут иметь некоторые защитные функции [77–80]. Такая реакция организма может быть связана с низким поглощением и эффективным выведением этих частиц из желудочно-кишечного тракта. Например, было продемонстрировано, что водорастворимые производные фуллеренов после внутривенного введения широко распространяются в тканях, детектируются в печени, почках, селезенке и костях, а затем выводятся с мочой или калом [81–83].

Однако сообщение об образовании антител к фуллерену говорит о том, что за введением препарата может последовать иммунная реакция [84]. Есть данные о зависящем от дозы токсическом ответе организма на введенный препарат [85]. Вероятно, на реакцию *in vivo*, так же как и *in vitro*, может влиять то, каким способом были изготовлены препараты и каковы их характеристики.

Ответ на введение нанотрубок также может быть различным: если попадающие в организм животных через дыхательные пути НЧ способны вызвать воспалительную реакцию в результате ОС, то перорально введенные в основном выво-

дятся с калом [86]. Имеющиеся в литературе данные по их токсичности неоднозначны. Разница между результатами различных авторов, как и в случае с фуллеренами, может быть связана с тем, что каждый тип нанотрубок следует рассматривать как отдельное вещество с индивидуальной оценкой гигиенических нормативов. В [72] собраны данные об исследовании УНТ *in vivo*. Они не многочисленны и в большинстве своем связаны с влиянием УНТ на органы дыхания. Как показывает анализ, основная масса работ, демонстрирующих токсичность УНТ, описывает нефункционализированные нанотрубки, попадающие в организм через дыхательные пути. Большой интерес представляет биораспределение НЧ. При исследовании УНТ, меченых радиоактивными изотопами, было показано, что они легко распространяются по органам и тканям мышей, накапливаются в желудке, почках и костях и далее выводятся с мочой и калом. Никаких повреждений тканей не обнаружено [87]. Нанотрубки, функционализированные диэтилтриаминпентауксусной кислотой, после внутривенного введения не задерживались ни в одном из органов ретикулоэндотелиальной системы (печень, селезенка) и быстро выводились из системы кровообращения через почки. Электронно-микроскопический анализ образцов мочи показал, что нанотрубки выделяются в интактном виде [88]. По некоторым данным УНТ не обладают внутренней иммуногенностью [89].

В упомянутых выше обзорах, посвященных наноматериалам на основе графена [56, 57], представлены данные о его токсичности *in vivo*. Результаты исследований внутривенного введения различных производных графена экспериментальным животным чрезвычайно разнородны. В ряде работ показаны тяжелая легочная тромбоэмболия и снижение веса после воздействия препаратов. Препарат накапливался в селезенке и печени, поступал в легкие, желудок, почки, проходил через гематоэнцефалический барьер. В других случаях патологических изменений отмечено не было. Показана зависимость эффекта от дозы препарата и функциональных групп. При внутрибрюшинном введении в большинстве случаев никаких неблагоприятных последствий не наблюдалось. При пероральном введении самкам наблюдались значительное снижение массы тела и другие изменения у потомства, а также кратковременные нарушения поведения.

Согласно [90, 91] поведение НА *in vivo* похоже на поведение фуллеренов и нанотрубок. Проблемой может быть их высокая склонность к агрегации в условиях повышенной ионной силы после внутривенного введения. Этот процесс неконтролируем и может влиять на способность проникать в клетки и на их жизнеспособность [26]. В этой связи очень важным представляется использова-

ние НА, стабилизированных адсорбцией биосовместимого полимера или поверхностно-активного вещества, способного также сорбировать и десорбировать лекарственные вещества. В то же время результаты изучения биосовместимости НА, проведенные на приматах и крысах, показали, что они хорошо переносятся в клинически значимых дозах. Исследование на крысах длилось две недели и включало в себя гистологический анализ, анализ крови и мочи. Приматов комплексно тестировали 6 мес, анализируя сыворотку крови, мочи, гистологическую картину тканей и учитывая массу тела. В обоих случаях было использовано несколько доз препаратов [92]. С помощью радиоактивной метки (^{188}Re) было проанализировано биораспределение ДНА [90]. НЧ в этом исследовании вводились интрахеально. Оказалось, что большая часть ДНА скапливается в легких, откуда выводится очень медленно. Они попадают в селезенку, печень, кости и сердце и демонстрируют острую токсичность в мышцах Kun Ming. Однако согласно [93] НА обладают низкой легочной токсичностью, так как их количество в альвеолах с течением времени уменьшается при участии легочных макрофагов в этом процессе. При нанесении на кожу НА не вызывают аллергических реакций, а в случае подкожных инъекций локализуются в месте укола, образуют кластеры в межклеточных пространствах, при этом деструкции клеток не наблюдалось [94]. Отметим, что метаболизм НА в организме изучен недостаточно, тем не менее уже есть данные об их применении в клинике. В [95] провели рандомизированное исследование восстановления после лечения корневых каналов, сравнивая материал (полимер) без НА и с НА. Из отчета следует, что при использовании НА наблюдались заживление поражения, уменьшение послеоперационной боли и отсутствие повторного инфицирования. Через 3 и 6 мес побочных эффектов не наблюдалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из анализа многочисленных данных о токсичности УНЧ можно сделать вывод: реакция клетки или организма на их введение может быть очень разной и в настоящее время еще нет достаточного понимания связи физико-химических свойств исследуемых материалов с биологическими процессами. Кроме того, отсутствует надлежащий контроль качества во время процессов синтеза. Вместе с тем понятно, что чистота синтезируемых УНЧ и их правильная функционализация играют первостепенную роль на пути к созданию на их основе лекарственных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mayeux R.* // *Annu. Rev. Neurosci.* 2003. V. 26. № 1. P. 81.
<https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.26.043002.094919>
2. *Armstrong R.A.* // *Folia Neuropathol.* 2019. V. 57. № 2. P. 87.
<https://doi.org/10.5114/fn.2019.85929>
3. *Lee M., Kim J.I., Na S., Eom K.* // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2018. V. 20. № 13. P. 8951.
<https://doi.org/10.1039/C7CP05072K>
4. *Istrate A.N., Kozin S.A., Zhokhov S.S. et al.* // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. № 1. P. 21734.
<https://doi.org/10.1038/srep21734>
5. *Cheignon C., Tomas M., Bonnefont-Rousselot D. et al.* // *Redox Biol.* 2018. V. 14. P. 450.
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.10.014>
6. *Liu Y., Nguyen M., Robert A., Meunier B.* // *Acc. Chem. Res.* 2019. V. 52. № 7. P. 2026.
<https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00248>
7. *Gilmore J.L., Yi X., Quan L., Kabanov A.V.* // *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2008. V. 3. № 2. P. 83.
<https://doi.org/10.1007/s11481-007-9099-6>
8. *Пиотровский Л.Б., Литасова Е.В., Думнис М.А. и др.* // Докл. РАН. 2016. Т. 468. № 1. С. 108.
<https://doi.org/10.7868/S0869565216130259>
9. *Пиотровский Л.Б., Киселев О.И.* Фуллерены в биологии. С.-Пб.: Росток, 2006. 336 с.
10. *Gamarra L.F., Brito G.E.S., Pontuschka W.M. et al.* // *J. Magn. Magn. Mater.* 2005. V. 289. P. 439.
<https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2004.11.123>
11. *Sun G., Mao J.J.* // *Nanomed.* 2012. V. 7. № 11. P. 1771.
<https://doi.org/10.2217/nnm.12.149>
12. *Jin J., Dong Y., Wang Y. et al.* // *J. Biomed. Nanotechnol.* 2016. V. 12. № 6. P. 1234.
<https://doi.org/10.1166/jbn.2016.2251>
13. *Кызыма О.А., Avdeev M.V., Bolshakova O.I. et al.* // *Appl. Surf. Sci.* 2019. V. 483. P. 69.
<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.03.167>
14. *Bianco A., Kostarelos K., Prato M.* // *Chem. Commun.* 2011. V. 47. № 37. P. 10182.
<https://doi.org/10.1039/c1cc13011k>
15. *Lee Y., Geckeler K.E.* // *Adv. Mater.* 2010. V. 22. № 36. P. 4076.
<https://doi.org/10.1002/adma.201000746>
16. *John A.A., Subramanian A.P., Vellayappan M.V. et al.* // *Int. J. Nanomed.* 2015. V. 10. P. 4267.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S83777>
17. *Митрофанова И.В., Мильто И.В., Суходоло И.В., Васюков Г.Ю.* // Бюллетень Сибирской Медицины. 2014. Т. 13. № 1. С. 135.
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2014-1-135-144>
18. *Negri V., Pacheco-Torres J., Calle D., López-Larrubia P.* // *Top. Curr. Chem.* 2020. V. 378. № 1. P. 15.
<https://doi.org/10.1007/s41061-019-0278-8>
19. *Mann F.A., Horlebein J., Meyer N.F. et al.* // *Chem. Eur. J.* 2018. V. 24. № 47. P. 12241.
<https://doi.org/10.1002/chem.201800993>
20. *Carneiro P., Morais S., Pereira M.C.* // *Nanomater. Basel. Switz.* 2019. V. 9. № 12. P. 1663.
<https://doi.org/10.3390/nano9121663>
21. *Liu Z., Robinson J.T., Sun X., Dai H.* // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. № 33. P. 10876.
<https://doi.org/10.1021/ja803688x>
22. *Biju V.* // *Chem. Soc. Rev.* 2014. V. 43. № 3. P. 744.
<https://doi.org/10.1039/c3cs60273g>
23. *Кулакова И.И.* // ФТТ. 2004. Т. 46. № 4. С. 621.
<https://doi.org/10.1134/1.1711440>
24. <http://www.nanonewsnet.ru/blog/nikst/detonatsionnye-nanoalmazy-ispolzovanie-v-oblasti-meditsiny-biologii>
25. *Lim D., Kim K., Lim S. et al.* // *Int. J. Nanomed.* 2016. V. 11. P. 2381.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S104859>
26. *Пиотровский Л.Б., Николаев Д.Н., Шендерова О.А.* // Детонационные наноалмазы. Технология, структура, свойства и применения / Под ред. Вуля А.Я., Шендеровой О.А. С.-Пб.: ФТИ им. А.Ф. Иоффе, 2016. С. 317.
27. *Schrand A.M., Huang H., Carlson C. et al.* // *J. Phys. Chem. B.* 2007. V. 111. № 1. P. 2.
<https://doi.org/10.1021/jp066387v>
28. *Namdar R., Nafisi S.* // *Drug Discov. Today.* 2018. V. 23. № 5. P. 1152.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.04.006>
29. *Biby T.E., Prajitha N., Ashtami J. et al.* // *Brain Res. Bull.* 2020. V. 155. P. 191. Doi:
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.11.014>
30. *Hubbs A.F., Sargent L.M., Porter D.W. et al.* // *Toxicol. Pathol.* 2013. V. 41. № 2. P. 395.
<https://doi.org/10.1177/0192623312467403>
31. *Zhang Q., Cui Y., Gu C., Zhang C.* // *Sci. Total. Environ.* 2020. V. 728. P. 138754.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138754>
32. *Орлова М.А., Трофимова Т.П., Орлов А.П. и др.* // Онкогематология. 2013. Т. 8. № 1. С. 65.
<https://doi.org/10.17650/1818-8346-2013-8-1-65-71>
33. *Keykhosravi S., Rietveld I.B., Couto D. et al.* // *Materials.* 2019. V. 12. № 16. P. 2571.
<https://doi.org/10.3390/ma12162571>
34. *Aschberger K., Johnston H.J., Stone V. et al.* // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2010. V. 58. № 3. P. 455.
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.08.017>
35. *Spohn P., Hirsch C., Hasler F. et al.* // *Environ. Pollut.* 2009. V. 157. № 4. P. 1134.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.08.013>
36. *Oberdörster E.* // *Environ. Health. Perspect.* 2004. V. 112. № 10. P. 1058.
<https://doi.org/10.1289/ehp.7021>
37. *Henry T.B., Menn F.-M., Fleming J.T. et al.* // *Environ. Health. Perspect.* 2007. V. 115. № 7. P. 1059.
<https://doi.org/10.1289/ehp.9757>
38. *Yang S., Mulet X., Gengenbach T. et al.* // *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 2017. V. 514. P. 21.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.11.021>
39. *Bolshakova O., Borisenkova A., Suyasova M. et al.* // *Mater. Sci. Eng. C.* 2019. V. 104. P. 109945.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109945>
40. *Kolosnjaj J., Szwarc H., Moussa F.* // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007. V. 620. P. 168.
https://doi.org/10.1007/978-0-387-76713-0_13

41. *Bosi S., Feruglio L., Da Ros T. et al.* // J. Med. Chem. 2004. V. 47. № 27. P. 6711.
<https://doi.org/10.1021/jm0497489>
42. *Monteiro-Riviere N.A., Linder K.E., Inman A.O. et al.* // J. Toxicol. Environ. Health. A. 2012. V. 75. № 7. P. 367.
<https://doi.org/10.1080/15287394.2012.670894>
43. *Song M., Yuan S., Yin J. et al.* // Environ. Sci. Technol. 2012. V. 46. № 6. P. 3457.
<https://doi.org/10.1021/es2039008>
44. *Guichard Y., Fontana C., Chavinier E. et al.* // Toxicol. Ind. Health. 2016. V. 32. № 9. P. 1639.
<https://doi.org/10.1177/0748233715572562>
45. *Lyon D.Y., Adams L.K., Falkner J.C., Alvarez P.J.J.* // Environ. Sci. Technol. 2006. V. 40. № 14. P. 4360.
<https://doi.org/10.1021/es0603655>
46. *Harik V.M.* // Toxicol. Lett. 2017. V. 273. P. 69.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.03.016>
47. *Alshehri R., Ilyas A.M., Hasan A. et al.* // J. Med. Chem. 2016. V. 59. № 18. P. 8149.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01770>
48. *Magrez A., Kasas S., Salicio V. et al.* // Nano Lett. 2006. V. 6. № 6. P. 1121.
<https://doi.org/10.1021/nl060162e>
49. *Pulskamp K., Diabaté S., Krug H.F.* // Toxicol. Lett. 2007. V. 168. № 1. P. 58.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.11.001>
50. *Fenoglio I., Tomatis M., Lison D. et al.* // Free Radic Biol. Med. 2006. V. 40. № 7. P. 1227.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.11.010>
51. *Tian F., Cui D., Schwarz H. et al.* // Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA. 2006. V. 20. № 7. P. 1202.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2006.03.008>
52. *Jos A., Pichardo S., Puerto M. et al.* // Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA. 2009. V. 23. № 8. P. 1491.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.07.001>
53. *Lee Y., Geckeler K.E.* // Adv Mater. 2010. V. 22. № 36. P. 4076.
<https://doi.org/10.1002/adma.201000746>
54. *Dasmahapatra A.K., Dasari T.P.S., Tchounwou P.B.* // Rev. Environ. Contam. Toxicol. 2018. V. 247. P. 1.
https://doi.org/10.1007/398_2018_15
55. *Li Y., Liu Y., Fu Y. et al.* // Biomaterials. 2012. V. 33. № 2. P. 402.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.09.091>
56. *Liao C., Li Y., Tjong S.* // Int. J. Mol. Sci. 2018. V. 19. № 11. P. 3564.
<https://doi.org/10.3390/ijms19113564>
57. *Lahwani G., D'Agati M., Khan A.M., Sitharaman B.* // Adv. Drug Deliv. Rev. 2016. V. 105. P. 109.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.028>
58. *Raja I.S., Song S.-J., Kang M.S. et al.* // Nanomaterials. 2019. V. 9. № 9. P. 1214.
<https://doi.org/10.3390/nano9091214>
59. *Zhu Y., Li J., Li W. et al.* // Theranostics. 2012. V. 2. № 3. P. 302.
<https://doi.org/10.7150/thno.3627>
60. *Li J., Zhu Y., Li W. et al.* // Biomaterials. 2010. V. 31. № 32. P. 8410.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.07.058>
61. *Adach K., Fijalkowski M., Gajek G. et al.* // Chem. Biol. Interact. 2016. V. 254. P. 156.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.06.004>
62. *Prabhakar N., Khan M.H., Peurla M. et al.* // ACS Omega. 2017. V. 2. № 6. P. 2689.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.7b00339>
63. *Zupančič D., Kreft M.E., Grdadolnik M. et al.* // Protol. Plasma. 2018. V. 255. № 1. P. 419.
<https://doi.org/10.1007/s00709-017-1146-4>
64. *Chauhan S., Jain N., Nagaich U.* // J. Pharm. Anal. 2020. V. 10. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2019.09.003>
65. *Liu K.K., Cheng C.L., Chang C.C., Chao J.I.* // Nanotechnology. 2007. V. 18. № 32. P. 325102.
<https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/32/325102>
66. *Schrand A.M., Dai L., Schlager J.J. et al.* // Diam. Relat. Mater. 2007. V. 16. № 12. P. 2118.
<https://doi.org/10.1016/j.diamond.2007.07.020>
67. *Yu S.J., Kang M.W., Chang H.C. et al.* // J. Am. Chem. Soc. 2005. V. 127. № 50. P. 17604.
<https://doi.org/10.1021/ja0567081>
68. *Lin B.R., Chen C.H., Kunuku S. et al.* // Sci. Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 7058.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25380-1>
69. *Zhang Y., Zhang W., Fedutik Y. et al.* // J. Nanosci. Nanotechnol. 2019. V. 19. № 9. P. 5426.
<https://doi.org/10.1166/jnn.2019.16545>
70. *Zhang H., Zhang L., Li Z. et al.* // J. Nanosci. Nanotechnol. 2018. V. 18. № 2. P. 815.
<https://doi.org/10.1166/jnn.2018.13949>
71. *Keremidarska M., Ganeva A., Mitev D. et al.* // Biotechnol. Biotechnol. Equip. 2014. V. 28. № 4. P. 733.
<https://doi.org/10.1080/13102818.2014.947704>
72. *Lacerda L., Bianco A., Prato M., Kostarelos K.* // Adv. Drug Deliv. Rev. 2006. V. 58. № 14. P. 1460.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.015>
73. *Baati T., Bourasset F., Gharbi N. et al.* // Biomaterials. 2012. V. 33. № 19. P. 4936.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.03.036>
74. *Bobylev A.G., Kraevaya O.A., Bobyleva L.G. et al.* // Colloids Surf. B. 2019. V. 183. P. 110426.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110426>
75. *Гендриксон О.Д., Жердев А.В., Гмошинский И.В., Дзантеев Б.Б.* // Российские нанотехнологии. 2014. Т. 9. № 11. С. 5.
76. *Baker G.L., Gupta A., Clark M.L. et al.* // Toxicol. Sci. J. Soc. Toxicol. 2008. V. 101. № 1. P. 122.
<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm243>
77. *Halenova T.I., Vareniuk I.M., Roslova N.M. et al.* // RSC Adv. 2016. V. 6. № 102. P. 100046.
<https://doi.org/10.1039/C6RA20291H>
78. *Vereshchaka I.V., Bulgakova N.V., Maznychenko A.V. et al.* // Front. Physiol. 2018. V. 9. P. 517.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00517>
79. *Gharbi N., Pressac M., Hadchouel M. et al.* // Nano Lett. 2005. V. 5. № 12. P. 2578.
<https://doi.org/10.1021/nl051866b>
80. *Gonchar O.O., Maznychenko A.V., Bulgakova N.V. et al.* // Oxid. Med. Cell. Longev. 2018. V. 2018. № 4. P. 1.
<https://doi.org/10.1155/2018/2518676>

81. *Cagle D.W., Kennel S.J., Mirzadeh S. et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. 1999. V. 96. № 9. P. 5182.
<https://doi.org/10.1073/pnas.96.9.5182>
82. *Qingnuan L., Yan X., Xiaodong Z. et al.* // Nucl. Med. Biol. 2002. V. 29. № 6. P. 707.
[https://doi.org/10.1016/s0969-8051\(02\)00313-x](https://doi.org/10.1016/s0969-8051(02)00313-x)
83. *Yamago S., Tokuyama H., Nakamura E. et al.* // Chem. Biol. 1995. V. 2. № 6. P. 385.
[https://doi.org/10.1016/1074-5521\(95\)90219-8](https://doi.org/10.1016/1074-5521(95)90219-8)
84. *Hendrickson O., Fedyunina N., Zherdev A. et al.* // Analyst. 2012. V. 137. № 1. P. 98.
<https://doi.org/10.1039/c1an15745k>
85. *Prylutska S.V., Grebinyk A.G., Lynchak O.V. et al.* // Fuller. Nanotub. Carbon Nanostructures. 2019. V. 27. № 9. P. 715.
<https://doi.org/10.1080/1536383X.2019.1634055>
86. *Świdwińska-Gajewska A., Czerczak S.* // Med. Pr. 2017. V. 68. № 2. P. 259.
<https://doi.org/10.13075/mp.5893.00504>
87. *Wang H., Wang J., Deng X. et al.* // J. Nanosci. Nanotechnol. 2004. V. 4. № 8. P. 1019.
<https://doi.org/10.1166/jnn.2004.146>
88. *Singh R., Pantarotto D., Lacerda L. et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. 2006. V. 103. № 9. P. 3357.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0509009103>
89. *Pantarotto D., Partidos C.D., Hoebeke J. et al.* // Chem. Biol. 2003. V. 10. № 10. P. 961.
<https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2003.09.011>
90. *Yuan Y., Chen Y., Liu J.-H. et al.* // Diam. Relat. Mater. 2009. V. 18. № 1. P. 95.
<https://doi.org/10.1016/j.diamond.2008.10.031>
91. *Xu J.Y., Li Q.N., Li J.G. et al.* // Carbon. 2007. V. 45. № 9. P. 1865.
<https://doi.org/10.1016/j.carbon.2007.04.030>
92. *Moore L., Yang J., Lan T.T.H. et al.* // ACS Nano. 2016. V. 10. № 8. P. 7385.
<https://doi.org/10.1021/acsnano.6b00839>
93. *Yuan Y., Wang X., Jia G. et al.* // Diam. Relat. Mater. 2010. V. 19. № 4. P. 291.
<https://doi.org/10.1016/j.diamond.2009.11.022>
94. *Say J.M., van Vreden C., Reilly D.J. et al.* // Biophys. Rev. 2011. V. 3. № 4. P. 171.
<https://doi.org/10.1007/s12551-011-0056-5>
95. *Lee D.K., Kee T., Liang Z. et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. 2017. V. 114. № 45. P. E944.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1711924114>