

Н.Т. Картель¹, Л.В. Иванов¹, А.Н. Ляпунов², О.А. Нардид³, Я.О. Черкашина³,
О.В. Щербак⁴, О.А. Гурова⁵, А.В. Окотруб^{5,6}

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ДЕТОНАЦИОННЫХ НАНОАЛМАЗОВ НА МИКРОВЯЗКОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС МЕТОДОМ СПИНОВЫХ ЗОНДОВ

¹ Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, E-mail: nikar@kartel.kiev.ua

² Институт монокристаллов Национальной академии наук Украины
просп. Науки, 60, Харьков, 61072, Украина

³ Институт криобиологии и криомедицины Национальной академии наук Украины
ул. Переяславская, 23, Харьков, 61016, Украина

⁴ Харьковская зооветеринарная академия
ул. Академическая, 1, Малая Даниловка, Харьковская обл., 62341, Украина

⁵ Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН
просп. Академика М.А. Лаврентьева, 3, Новосибирск, 630090, Россия

⁶ Новосибирский государственный университет
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Россия

Методом спиновых зондов исследовали влияние различных концентраций детонационных наноалмазов (ДНА): 25, 50 и 75 мкг/мл на микровязкость мембран эритроцитов крысы. Для этого в мембрану эритроцитов вводили липофильный спиновый зонд на основе пальмитиновой кислоты. Введение ДНА во взвесь эритроцитов в концентрации 25 мкг/мл не приводило к существенным изменениям микровязкости мембран эритроцитов в пределах ошибки эксперимента. В то же время повышение концентрации ДНА во взвеси эритроцитов до 50 и 75 мкг/мл приводило к заметному уменьшению микровязкости мембран эритроцитов (повышению текучести мембран) на 20 и 28 % соответственно. Заметное снижение интенсивности спектра ЭПР через 4 ч инкубации эритроцитов с ДНА (50 мкг/мл) указывает на антиоксидантную активность наноалмаза – способность быть донором электронов и восстанавливать нитроксильный стабильный радикал (спиновый зонд) до непарамагнитного гидроксилламина. Физиологически увеличение текучести мембран эритроцитов имеет большое значение для организма, т.к. позволяет эритроцитам лучше проникать через тонкие или суженные капилляры и более эффективно питать кислородом ткани и органы организма. Кроме этого, увеличение текучести мембран клеток повышает активность мембранных ферментов, что должно приводить к активизации обменных и регуляторных процессов в клетках и в организме в целом. Возможно, этим можно объяснить успешное применение ДНА в онкологии, лечении желудочно-кишечного тракта и т.д. В то же время, чрезмерное увеличение текучести мембран клеток при больших концентрациях ДНА может приводить к необратимым изменениям в нативной структуре мембран клеток.

Ключевые слова: метод спиновых зондов, мембраны эритроцитов, детонационные наноалмазы, микровязкость мембран, синглет, антиоксидантная активность

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в качестве носителей лекарственных веществ (ЛВ) стали рассматриваться детонационные наноалмазы (ДНА). Ранее были разработаны технологии, обеспечивающие высокую коллоидную устойчивость наноалмазов в водных суспензиях, включая их стерилизацию. Это открыло новые возможности для использования наноалмазов в качестве адресных носителей фармацевтических © Н.Т. Картель, Л.В. Иванов, А.Н. Ляпунов, О.А. Нардид, Я.О. Черкашина, О.В. Щербак, О.А. Гурова, А.В. Окотруб, 2019

субстанций [1–5]. В отличие от других углеродных наночастиц, таких как нанотрубки, графены и нанохорны, ДНА имеют в структуре свободные радикалы (парамагнитные центры), а спектры ЭПР ДНА представляют синглет с шириной около 10 Гс [6–9]. Проведенное ЭПР-исследование ДНА показало, что химическое модифицирование их поверхности и обработка воздухом не влияют на g-фактор (2.0021 ± 0.0001), форму линии спектра и

концентрацию парамагнитных центров ($7-9 \cdot 10^{19}$ спин/г). Парамагнетизм ДНА обусловлен структурными дефектами наночастицы («разорванные» С–С связи, азотные примесные центры) и, по-видимому, не связан с поверхностными центрами. Распределение парамагнитных азотных центров в алмазах различается в зависимости от происхождения алмаза. Так, для синтетического алмаза наблюдается случайное распределение различных примесных центров. В азотсодержащих синтетических алмазах за счет обменных взаимодействий возникают слабые линии на краях спектра. Подобные линии наблюдались также и для природных алмазов. Во взаимодействующих парах и более сложных комплексах азота природных и синтетических алмазов появляется характерная широкая линия в спектре ЭПР [6–9].

Установлено, что размер первичной частицы наноалмаза составляет ~ 5 нм. Ядро наночастицы (2.5 нм) структурно идентично природному алмазу и остается неизменным в процессах химического модифицирования. Приповерхностный слой наночастиц представляет собой дефектную алмазную структуру; углерода неалмазного типа на поверхности частиц наноалмаза (исходного, модифицированного и спеченного) не обнаружено [6–9].

Подавляющее число публикаций по изучению ДНА связано с исследованиями их физических или физико-химических свойств. Применение ДНА в биологии и медицине требует других исследований и других, более тонких, биофизических методов: мембранотропных свойств, механизмов взаимодействия и влияния на структуру белков, ферментов, мембран различных клеток, ДНК и др. Актуальным и важным является вопрос оценки порога цитотоксичности ДНА.

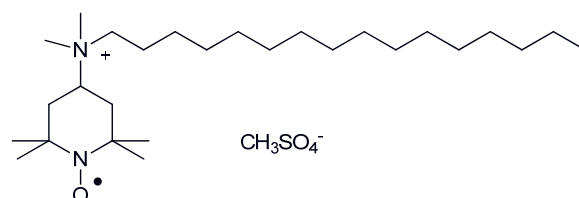
Целью настоящей работы явилось изучение влияния водных взвесей ДНА различной концентрации на микровязкость мембран эритроцитов крысы методом спиновых зондов. Показатель микровязкости является важным параметром, т.к. активность ферментов мембран, структура и функционирование ионных каналов в мембранах, их проницаемость,

биодоступность лекарственных веществ, а также скорость прохождения нервного импульса (в нейронах) напрямую зависят от микровязкости мембран клеток [6–9].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использован метод спиновых зондов, который успешно применяется в биофизике, молекулярной биологии, фармакологии и медико-биологических исследованиях. Благодаря этому методу по спектрам электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) спинового зонда (например, стабильного нитроксильного радикала), вводимого в биообъект, можно получить разнообразную информацию относительно последнего. Так, опосредованно можно получить данные о микровязкости и полярности микроокружения зонда, конформационных изменениях в белках и мембранах, текучести липидов мембран и их целостности, митохондриальной активности различных тканей, сродстве веществ и ЛВ к мембранам и белкам, топографии больших и сложных ферментов [10, 11]. Ранее в наших работах [12, 13] на основе анализа спектров ЭПР нитроксильного радикала на основе пальмитиновой кислоты (что позволяет ему внедриться в липофильный слой мембран эритроцитов) была дана оценка времени корреляции броуновской вращательной диффузии зондов в мембранах клеток.

Для изучения микровязкости мембран эритроцитов в присутствии ДНА был выбран также спиновый зонд на основе пальмитиновой кислоты с нитроксильным центром, который в своем составе имеет четвертичный аммониевый фрагмент [4-(N,N-диметил-N-гексадециламмоний) -ТЕМПО]. Этот зонд может рассматриваться как ионогенное ПАВ:



Введение зонда в водную взвесь эритроцитов осуществляли добавлением его концентрированного раствора в ДМСО таким образом, чтобы конечная концентрация

ДМСО во взвеси эритроцитов не превышала 0.5–1 %.

Регистрацию спектров ЭПР осуществляли на радиоспектрометре ESR Spectrometer CMS 8400 (фирмы ADANI). Оценка микровязкости мембран эритроцитов проводилась на основе обработки интенсивности и ширины линий триплета ЭПР-спектров нитроксильных радикалов – спинового зонда, находящегося в липидном бислое мембран эритроцитов [10, 11]. Для расчета времени корреляции броуновской вращательной диффузии зонда (τ_c) используются такие характеристики спектров: ширина центральной компоненты (ΔH_0), интенсивности компонентов спектра ЭПР (h_0, h_{+1}, h_{-1}) с магнитным квантовым числом ядра ^{14}N ($M = 0, +1, -1$), изотропная константа расщепления ($A_{\text{изо}}$).

$$1/\tau_{c(-1)} = 3,6 \cdot 10^9 / [(h_0/h_{-1})^{1/2} - 1] \Delta H_0 \text{ с}^{-1} \quad (1 \text{ а})$$

$$1/\tau_{c(+1-1)} = 6,65 \cdot 10^{10} [(h_{+1}/h_{-1})^{1/2} - 1] \Delta H_{+1} \text{ с}^{-1}, \quad (1 \text{ б})$$

где τ_c – время корреляции спинового зонда (время, за которое спиновый зонд поворачивается на 1 радиан, 57°) [10, 11].

Базовым уравнением для оценки вязкости любых сред является уравнение Стокса-Эйнштейна:

$$\tau = 4\pi a^3 \cdot \eta / 3kT, \quad (2)$$

где τ – время корреляции, η – вязкость среды, a – эффективный радиус частиц [10, 11].

Для оценки влияния ДНА на ориентацию фосфолипидов в мембране эритроцитов использовали параметр анизотропии спектров ЭПР зондов в липидах мембран ε . В работе [10] рассмотрено влияние анизотропии тензора вращательной диффузии нитроксильных радикалов (спиновых зондов) на параметры их спектров ЭПР. Теория спектров ЭПР связывает экспериментальный параметр анизотропии спектров (ε) с величиной анизотропии вращательной диффузии радикала. Параметр анизотропии определяется из спектров ЭПР согласно следующей формуле:

$$\varepsilon = [(h_0/h_{+1})^{1/2} - 1] / [(h_0/h_{-1})^{1/2} - 1]. \quad (3)$$

Эритроциты крыс для исследований получали из крови крыс самцов трехкратной отмывкой физиологическим раствором (0.89 % хлорида натрия), приготовленном на натрий-фосфатном буфере (5 ммоль/л), рН 7.2–7.4 путем центрифугирования при 3000 об/мин в течение 20 мин [12, 13]. ДНА марки УДА-Ф9 со средним размером агрегатов около 20 нм произведены в г. Бийск (Россия). Целью работы не являлось измерение абсолютных значений вязкости мембран эритроцитов, а регистрация относительных изменений микровязкости мембран в присутствии суспензии ДНА различных концентраций. Данную работу выполняли в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными V Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013) и согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Для статистической обработки полученных данных применяли пакет прикладных программ «Statistica 6.0» (США). Статистическую значимость различий между значениями оценивали с помощью t – критерия Стьюдента; значимыми считали различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлен спектр ЭПР изученного нами ДНА, синглет которого имеет ширину 7.6 Гс. В соответствии с данными в литературе для разных образцов ДНА ширина линии синглета ΔH_0 колеблется в пределах 10 ± 3 Гс [5–9].

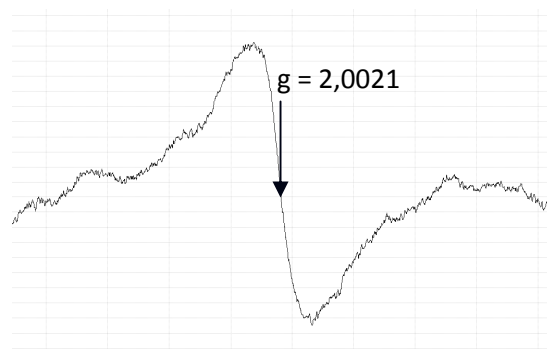


Рис. 1. Собственный спектр ЭПР водной взвеси изучаемых ДНА при концентрации наночастиц 1 мг/мл и температуре 25 °С

Разбавление исходной взвеси ДНА (1 мг/мл) водой показало пропорциональное уменьшение интенсивности синглета, что свидетельствовало об отсутствии агрегации наночастиц ДНА при больших концентрациях.

На рис. 2 представлены спектры ЭПР зонда в мембранах эритроцитов в отсутствие (контроль) и в присутствии водных взвесей ДНА с разными концентрациями наноалмазов: 25, 50 и 75 мкг/мл. Предварительные эксперименты по разбавлению водой исходной взвеси показали, что присутствие во взвеси эритроцитов 50 или 75 мкг/мл ДНА означало бы присутствие в спектрах ЭПР достаточно заметных по интенсивности синглетов,

которые могли бы помешать расчету изменения времени корреляции спинового зонда в мембранах эритроцитов (изменения микровязкости мембран) под действием ДНА вследствие наложения спектров зонда и частиц наноалмаза. Однако никаких признаков присутствия синглетов ДНА в спектрах ЭПР зонда в мембране эритроцитов обнаружено не было, по-видимому, вследствие обменного и диполь-дипольного взаимодействий между спиновым зондом и свободными радикалами парамагнитных центров наноалмаза. Это позволило оценить влияние ДНА на микровязкость мембран эритроцитов. Эти данные представлены в таблице.

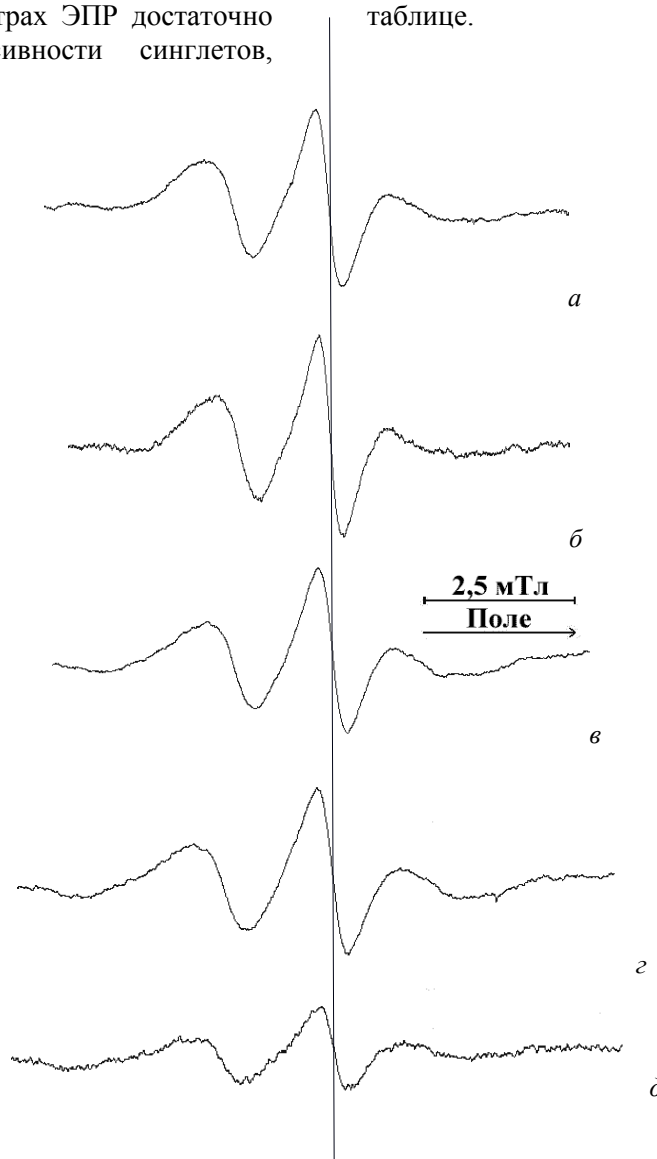


Рис. 2. Спектр ЭПР зонда ($2 \cdot 10^{-4}$ моль/л) в мембране эритроцитов: *а*) в отсутствие ДНА при температуре 25 °С (контроль); *б-г*) в присутствии ДНА (25, 50 и 75 мкг/мл, соответственно) при температуре 25 °С; *д*) в присутствии ДНА (50 мкг/мл) через 4 ч инкубации эритроцитов с ДНА при температуре 25 °С

Таблица. Параметры спектров ЭПР спинового зонда в мембранах эритроцитов

Образец	$A_{\text{изо}}$, Гс	$\tau_1 \cdot 10^{-9}$, с	$\tau_{+1/-1} \cdot 10^{-9}$, с	ϵ
Эритроциты (контроль)	14.0	1.37±0.12	6.05±0.52	0.25
Эритроциты +25 мкг/мл ДНА	14.1	1.31±0.11	5.87±0.50	0.22
Эритроциты +50 мкг/мл ДНА	14.2	1.82±0.15	3.85±0.33	0.27
Эритроциты +75 мкг/мл ДНА	14.0	1.73±0.15	3.48±0.30	0.30

Рис. 2 д демонстрирует отсутствие синглета ДНА в спектре ЭПР при достаточно долгой инкубации эритроцитов со взвесью частиц наноалмаза, а заметное снижение интенсивности спектра ЭПР через 4 ч инкубации эритроцитов с ДНА указывает на антиоксидантную активность наноалмаза – способность быть донором электронов и восстанавливать нитроксильный стабильный радикал (спиновый зонд) до гидроксилamina. В таблице приведены значения времени корреляции τ для спектров зонда в эритроцитах в отсутствие ДНА (контроль), и в присутствии взвеси ДНА различной концентрации.

ВЫВОДЫ

Введение ДНА во взвесь эритроцитов в концентрации 25 мкг/мл не приводит к существенным изменениям времени корреляции зонда в мембране, а следовательно, и микровязкости мембран эритроцитов в пределах ошибки эксперимента. В то же время повышение концентрации ДНА во взвеси эритроцитов до 50 и 75 мкг/мл приводит к заметному

уменьшению микровязкости мембран эритроцитов (повышению текучести мембран) на 20 и 28 % соответственно. Физиологически увеличение текучести мембран эритроцитов имеет большое значение для организма, т.к. позволяет эритроцитам лучше проникать через тонкие или суженные капилляры и более эффективно питать кислородом ткани и органы организма. Кроме этого, увеличение текучести мембран клеток повышает активность мембранных ферментов, что должно приводить к активизации обменных и регуляторных процессов в клетках и в организме в целом. Возможно, этим можно объяснить успешное применение ДНА в онкологии, лечении желудочно-кишечного тракта и т.д. В то же время, чрезмерное увеличение текучести мембран клеток при больших концентрациях ДНА может приводить к необратимым изменениям в нативной структуре мембран клеток. Имеются публикации о повреждающем действии ДНА на лимфоциты и эритроциты крови [14, 15].

Study of the effect of detonation nanodiamonds on the microviscosity of rat erythrocyte membranes by the spin probe method

N.T. Kartel, L.V. Ivanov, A.N. Lyapunov, O.A. Nardid, Ya.O. Cherkashina,
E.V. Shcherbak, O.A. Gurova, A.V. Okotrub

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, nikar@kartel.kiev.ua
Institute of Monocrystals of National Academy of Sciences of Ukraine
60 Nauky Ave., Kharkov, 61001, Ukraine*

*Institute of Cryobiology and Cryomedicine of National Academy of Sciences of Ukraine
23 Pereyaslivska Str., Kharkiv, 61015, Ukraine
Kharkov Veterinary Academy
1 Academic Str., smt Mala Danylivka, Kharkiv region, 62341, Ukraine
A.V. Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry, SB RAS
3 Academician Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia
Novosibirsk State University
2 Pirogov Str., Novosibirsk, 630090, Russia*

The method of spin probes investigated the effect of various concentrations of detonation nanodiamonds (DND) 25, 50 and 75 µg/ml on the microviscosity of rat erythrocyte membranes. For this, a lipophilic spin probe based on palmitic acid was introduced into the erythrocyte membrane. The introduction of DND into a suspension of erythrocytes at a concentration of 25 µg/ml did not lead to any changes in the microviscosity of erythrocyte membranes within the experimental error. At the same time, an increase in the concentration of DND in suspension of erythrocytes to 50 and 75 µg/ml resulted in to a marked decrease in the microviscosity of erythrocyte membranes (increase in membrane fluidity) by 20 and 28 %, respectively. A noticeable decrease in the intensity of the EPR spectrum after 4 h of incubation of erythrocytes with DNA (50 µg/ml) indicates the antioxidant activity of nanodiamond — the ability to be an electron donor and restore the nitroxyl stable radical (spin probe) to hydroxylamine. Physiologically, an increase in erythrocyte membrane turnover is of great importance for the organism, since allows red blood cells to better penetrate thin or narrowed capillaries and more efficiently nourish the tissues and organs of the body with oxygen. In addition, an increase in cell membrane fluidity increases the activity of membrane enzymes, which should lead to activation of metabolic and regulatory processes in cells and in the body as a whole. Perhaps this may explain the successful use of DND in oncology, treatment of the gastrointestinal tract, etc. At the same time, an excessive increase in the fluidity of cell membranes at high concentrations of DND can lead to irreversible changes in the native structure of cell membranes.

Keywords: spin probe method, erythrocyte membranes, detonation nanodiamonds, membrane microviscosity, singlet, antioxidant activity

Вивчення впливу детонаційних наноалмазів на мікрів'язкість мембран еритроцитів щурів методом спінових зондів

**М.Т. Каргель, Л.В. Иванов, О.М. Ляпунов, О.А. Нардід, Я.О. Черкашина,
О.В. Щербак, О.А. Гурова, А.В. Окотруб**

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, nikar@kartel.kiev.ua
Інститут монокристалів Національної академії наук України
пр. Науки 60, Харків, 61001, Україна*

*Інститут кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України
вул. Переяславська, 23, Харків, 61015, Україна
Харківська зооветеринарна академія
вул. Академічна, 1, смт Мала Данилівка, Харківська обл., 62341, Україна
Інститут неорганічної хімії ім. А.В. Ніколаєва СВ РАН
пр. Академіка Лаврент'єва, 3, Новосибірськ, 630090, Росія
Новосибірській державний університет
вул. Пирогова, 2, Новосибірськ, 630090, Росія*

Методом спінових зондів досліджували вплив різних концентрацій детонаційних наноалмазів (ДНА) 25, 50 і 75 мкг/мл на мікрів'язкість мембран еритроцитів щура. Для цього у мембрану еритроцитів був введений спіновий зонд на основі пальмітинової кислоти. Введення ДНА в суспензію еритроцитів в концентрації 25 мкг/мл не приводило до будь-яких змін мікрів'язкості мембран еритроцитів в межах помилки експерименту. У той же час підвищення концентрації ДНА в суспензії еритроцитів до 50 і 75 мкг/мл призводило до помітного зменшення мікрів'язкості мембран еритроцитів (підвищення плинності мембран) на 20 і 28 % відповідно. Помітне зниження інтенсивності спектру ЕПР зонду в еритроцитах через 4 год інкубації еритроцитів з ДНА (50 мкг/мл) вказує на антиоксидантну активність наноалмазу -

здатність бути донором електронів і відновлювати нітроксильний стабільний радикал (спіновий зонд) до гідроксиламіну. Фізіологічно збільшення плинності мембран еритроцитів має велике значення для організму, тому що дозволяє еритроцитам краще проникати через тонкі або звужені капіляри і більш ефективно жити киснем тканини і органи організму. Крім цього, збільшення плинності мембран клітин підвищує активність мембранних ферментів, що повинно призводити до активізації обмінних та регуляторних процесів в клітинах і в організмі в цілому. Можливо, цим можна пояснити успішне застосування ДНА в онкології, лікуванні шлунково-кишкового тракту і т.д. У той же час, надмірне збільшення плинності мембран клітин при великих концентраціях ДНА може призводити до незворотних змін в нативній структурі мембран клітин.

Ключові слова: метод спінових зондів, мембрани еритроцитів, детонаційні наноалмази, мікров'язкість мембран, синглет, антиоксидантна активність

ЛИТЕРАТУРА

1. Яковлев Р.Ю., Соломатин А.С., Леонидов Н.Б. и др. Детонационный наноалмаз – перспективный носитель для создания систем доставки лекарственных веществ // Российский химический журнал. – 2012. – Т. 56, № 56. – С. 114–125.
2. Badun G.A., Chernysheva M.G., Yakovlev R.Y. et al. A novel approach radiolabeling detonation nanodiamonds through the tritium thermal activation method // Radiochim. Acta. – 2014. – V. 102, N 10. – P. 941–946.
3. Yakovlev R.Y., Lisichkin G.V., Leonidov N.B. Development and investigation of functionalized nanodiamonds for pharmaceutical and medical applications // In: Mediterranean – East-Europe Meeting Multifunctional Nanomaterials: NanoEuroMed 2011. – Uzhgorod, 2011. – P. 169–170.
4. Yakovlev R.Yu., Badun G.A., Chernysheva M.G. et al. Tritium labeling nanodiamond and its applications in transmembrane diffusion and biodistribution studies // In: Intern. Conf. Diamond & Carbon Materials. (2013, Riva del Garda, Italy). – Poster 1.096.
5. Долматов В.Ю. Ультрадисперсные алмазы детонационного синтеза: свойства и применение // Успехи химии. – 2001. – Т. 70, № 7. – С. 687–708.
6. Пузырь А.П., Bondar V.S., Bukayemsky A.A. et al. Physical and chemical properties of modified nanodiamonds // Synthesis, Properties and Applications of Ultrananocrystalline Diamond. – 2005. – V. 192. – P. 261–270.
7. Солтамова А.А., Ильин И.В., Шахов Ф.М. и др. Обнаружение методом электронного парамагнитного резонанса гигантской концентрации азотно-вакантных дефектов в детонационных наноалмазах, подвергнутых спеканию // Письма в ЖЭТФ. – 2010. – Т. 92, № 2. – С. 106–109.
8. Самсоненко Н.Д., Жмыхов Г.В., Зон В.Ш., Аксенов В.К. Особенности электронного парамагнитного резонанса поверхностных центров алмаза // Журнал структурной химии. – 1979. – Т. 20, № 6 – С. 1116–1118.
9. Белобров П.И., Гордеев С.К., Петраковская Э.А., Фалалеев О.В. Парамагнитные свойства наноалмаза // Доклады Академии наук. – 2001. – Т. 379, № 1. – С. 38–41.
10. Лихтенштейн Г.И. Метод спиновых меток в молекулярной биологии. – Москва: Наука, 1974. – 256 с.
11. Берлинера Л. Метод спиновых меток. Теория и применения. – Москва: Мир, 1979. – 639 с.
12. Иванов Л.В., Ляпунов А.Н., Картель Н.Т. и др. Доставка липофильных спиновых зондов углеродными нанотрубками в эритроциты и плазму крови // Поверхность. – 2014. – Вып. 6(21). – С. 292–304.
13. Картель Н.Т., Иванов Л.В., Ляпунов А.Н. и др. Оценка влияния углеродных нанотрубок на микровязкость мембран эритроцитов // Доповіді НАН України. – 2015. – № 3. – С. 114–121.
14. Пузырь А.П., Нешумаев Д.А., Тарских С.В. и др. Деструкция клеток крови человека при взаимодействии с детонационными наноалмазами в экспериментах *in vitro* // Биофизика. – 2005. – Т. 50, № 1. – С.101–106.
15. Пузырь А.П., Тарских С.В., Макарская Г.В. и др. Повреждающее действие детонационных алмазов на клетки белой и красной крови человека *in vitro* // Доклады Академии наук. – 2002. – Т. 385, № 4. – С. 561–564.

REFERENCES

1. Yakovlev R.Yu., Solomatin A.S., Leonidov N.B., Kulakova I.I., Lisichkin G.V. Detonation nanodiamond – a promising carrier for the creation of drug delivery systems. *Russ. Chem. J.* 2012. **56**(56): 114. [in Russian].

2. Badun G.A., Chernysheva M.G., Yakovlev R.Y., Leonidov N.B., Semenenko M.N., Lisichkin G.V. A novel approach radiolabeling detonation nanodiamonds through the tritium thermal activation method. *Radiochim. Acta*. 2014. **102**(10): 941.
3. Yakovlev R.Y., Lisichkin G.V., Leonidov N.B. Development and investigation of functionalized nanodiamonds for pharmaceutical and medical applications. In: *Mediterranean – East-Europe Meeting Multifunctional Nanomaterials: NanoEuroMed 2011*. (Uzhgorod, 2011). P. 169.
4. Yakovlev R.Yu., Badun G.A., Chernysheva M.G., Leonidov N.B., Lisichkin G.V. Tritium labeling nanodiamond and its applications in transmembrane diffusion and biodistribution studies. In: *Intern. Conf. Diamond & Carbon Materials*. (Riva del Garda, Italy, 2013). Poster 1.096.
5. Dolmatov V.Yu. Detonation synthesis ultradispersed diamonds: properties and applications. *Russ. Chem. Rev.* 2001. **70**(7): 607. [in Russian].
6. Puzyr A.P., Bondar V.S., Bukayemsky A.A., Selyutin G.E., Kargin V.F. Physical and chemical properties of modified nanodiamonds. *Synthesis, Properties and Applications of Ultrananocrystalline Diamond*. 2005. **192**: 261.
7. Soltamova A.A., Il'in I.V., Shakhov F.M., Kidalov S.V., Vul' A.Ya., Yavkin B.V., Mamin G.V., Orlinskii S.B., Baranov P.G. Electron paramagnetic resonance detection of the giant concentration of nitrogen vacancy defects in sintered detonation nanodiamonds. *JETP Letters*. 2010. **92**(2): 102. [in Russian].
8. Samsonenko N.D., Zhmykhov G.V., Zon V.Sh., Aksenov V.K. Features of the electron paramagnetic resonance of the surface centers of diamond. *Russ. J. Structural. Chem.* 1979. **20**(6): 1116. [in Russian].
9. Belobrov P.I., Gordeev S.K., Petrakovskaya É.A., Falaleev O.V. Paramagnetic properties of nanodiamond. *Doklady Physics*. 2001. **46**(7): 459. [in Russian].
10. Liechtenstein G.I. *The Method of Spin Labels in Molecular Biology*. (Moscow: Science, 1974). [in Russian].
11. Berliner L. *The Method of Spin Labels. Theory and Applications*. (Moscow: Mir, 1979). [in Russian].
12. Ivanov L.V., Lyapunov A.N., Kartel N.T., Nardid O.A., Okotrub A.V., Kirilyuk I.A., Cherkashina Ya.O. Delivery of lipophilic spin probes by carbon nanotubes to erythrocytes and blood plasma. *Surface*. 2014. **6**(21): 292. [in Russian].
13. Kartel N.T., Ivanov L.V., Lyapunov A.N., Nardid O.A., Okotrub A.V., Kirilyuk I.A., Cherkashina Ya.O. Estimation of the effect of carbon nanotubes on the microviscosity of erythrocyte membranes. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*. 2015. **3**: 114. [in Russian].
14. Puzyr A.P., Neshumaev D.A., Bondar V.S., Tarskikh S.V., Makarskaya G.V., Dolmatov V.Yu. Destruction of human blood cells in the interaction with detonation nanodiamonds *in vitro* experiments. *Biofizika*. 2005. **50**(1): 94. [in Russian].
15. Puzyr A.P., Tarskikh S.V., Makarskaya G.V., Chiganova G., Larionova I.S., Detkov P.Ya., Bondar V.S. The damaging effect of detonation diamonds on the cells of white and red human blood *in vitro*. *Reports of the Russian Academy of Sciences*. 2002. **385**(4): 561. [in Russian].

Получена 02.04.2019, принята 21.05.2019