

**ГЕМОСОВМЕСТИМОСТЬ И АДсорбЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ
ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НАНОДИСПЕРСНЫХ АЛМАЗОВ****Д.А. Макаревич¹, Т.В. Рябцева¹, Н.Н. Ковганко¹, Р.Г. Штемплук², Т.Н. Принькова¹**¹*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*²*НП ЗАО «Синта», Минск, Беларусь**demkarevich@yandex.ru*

Наноалмазы (НА), получаемые при взрыве в замкнутом объеме конденсированных взрывчатых веществ с отрицательным кислородным балансом [1,2], представляют собой особый тип алмазных материалов. Это типичный наноматериал со средним размером зерен ~ 4 нм, обладающих преимущественно сферической формой. При среднем диаметре частицы НА 4.2 нм доля поверхностных атомов составляет $\sim 15\%$ [3,4]. За счет кристаллической решетки типа алмаза данные наночастицы обладают уникальными физико-химическими свойствами по сравнению с другими углеродными материалами. Для биомедицинского использования наноалмазов важными критериями являются: аномально высокая адсорбционная способность, большая удельная поверхность, обилие свободных электронов на поверхности (множественный радикал-донор), нанометрические размеры, большое количество кислородсодержащих функциональных групп на поверхности кристаллов, химическая инертность зерна, гидрофильный характер поверхности [5,6]. Исследования, проведенные в ИСМ НАН Украины по изучению адсорбционных свойств микropорошков синтетических алмазов различных зернистостей и по модифицированию их поверхности, показали, что алмазы являются селективными адсорбентами компонентов биологических сред. Так, например, модифицированные кислородсодержащими группами алмазы (гидрофилизированные) наиболее полно очищают биологические среды (кровь) от белка, а модифицированные водородом (гидрофобизированные) наиболее активно адсорбируют ионы тяжелых металлов [7].

Существующие углеродные гемосорбенты (СКТ-6А, БАУ, ВНИИТУ-1, Гемос-Бел) имеют ряд недостатков: низкое качество углеродных гранул с высоким содержанием минеральных примесей (зола) и шероховатым рельефом поверхности, способных травмировать оболочки элементов крови и удерживать их на своей поверхности, а также недостаточная адсорбционная активность по отношению к азотсодержащим токсическим продуктам обмена белков и нуклеиновых кислот, накапливающимся в организме при различных заболеваниях, в частности, билирубин, креатинин и мочевины. Данные недостатки ограничивают применение сорбентов в эфферентной терапии. Таким образом, разработка эффективных и безопасных угольных сорбентов является актуальной задачей современной биохимии [8].

Цель исследования – изучить гемосовместимость и адсорбционные свойства иммобилизованных на полимерном носителе нанодисперсных алмазов.

Материалы и методы.

В работе использовали четыре образца наноалмазов детонационного синтеза: УДА-ЧОШ (1), УДА-ГО-СП (2), УДА-СП М1 (3); УДА-СП+М2 (4) (табл.1). Гемосовместимость иммобилизованных наноалмазов оценивали после инкубации с разведенной в 5 раз цельной кровью здоровых добровольцев. Адсорбционную способность определяли по адсорбции красителя метиленовый синий. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программ Statistica 12. Значения представляли в виде Me (25–75), где Me – медиана, а 25 и 75 – интерквартильный размах в виде 25-й и 75-й процентилей.

Учитывая небольшой объем выборки, для сравнения групп данных и изучения корреляционных взаимосвязей использовали непараметрические методы. Для сравнения двух независимых выборок использовали U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения трех групп независимых данных был использован метод рангового анализа вариаций Краскела-Уоллиса. В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости $p < 0,05$.

Таблица 1. – Характеристика наноалмазов детонационного синтеза, использованных для иммобилизации

	УДА-ЧОШ-СП	УДА-ГО-СП	УДА-СП М1	УДА-СП+ М2
Метод получения	Селективное окисление АШ-В	Химическая очистка АШ-В	Высокотемпературная обработка наноалмаза в газовой среде	Комплексное жидкофазное и газофазное модифицирование
Внешний вид	Черный порошок	Серый порошок	Серый порошок	Серый порошок
Форма частиц	Частицы неправильной округлой формы	Сферические частицы	Сферические частицы	Сферические частицы
Размер единичного кристалла	10 нм	30-900 нм	4-6 нм	4-6 нм
Окисляемые формы углерода, %	38,4	1,2	0,8	0,8
Удельная поверхность, м ² /г	399	295	255	255
Объем пор, см ³ /г	0,993	0,840	0,810	0,810
Функциональные поверхностные группы	CO ₂ H, CO ₂ R, CH _x , C ₆ H _x	CO ₂ H, CO ₂ R, CH _x , C-N, C=N, C-O-O, OH, CO	CO ₂ H, CO ₂ R, CH _x , N-H	CO ₂ H, CO ₂ R, CH _x , N-H
Электрокинетический потенциал водной суспензии	-83,88 мВ (рН=10)	-59,44 мВ (рН=10)	+66,06 мВ (рН=3)	+66,06 мВ (рН=3)

Результаты. В результате химического синтеза из 10 мл раствора для полимеризации и 50 мг углеродных наночастиц было синтезировано по 30 г каждого образца для изучения адсорбционной активности иммобилизованных наночастиц углерода. Качество полимеризации и иммобилизации оценивали с помощью визуального и спектрофотометрического анализа растворов после промывки полученных образцов (табл. 2).

Анализ показал, что при промывке происходит установление рН раствора в диапазоне нейтральных значений. Снижение оптической плотности промывочных растворов при 230 нм до нулевых значений свидетельствует об удалении из объема геля всех практически всего непрореагировавшего акриламида и других соединений. Визуальный анализ показал, что промывочные растворы не содержат черных или серых частиц исходного сырья для иммобилизации. Первый промывочный раствор после иммобилизации частиц типа УДА-ЧОШ-СП оказался желтого цвета, что свидетельствует о возможном содержании примесей железа в образце.

Исследование влияния контакта иммобилизованных углеродных наночастиц на целостность эритроцитов показало, что после длительного контакта полиакриламидного геля с наночастицами наблюдается гемолиз, не превышающий 10 %. Минимальные значения гемолиза наблюдали после контакта крови с иммобилизованными частицами типа УДА-СП+(М2). Максимальный гемолиз – после контакта с частицами УДА-ЧОШ-СП (рис.1). Полученные результаты свидетельствуют о влиянии метода получения углеродных наночастиц и степени очистки на их гемосовместимость.

Таблица 2. – Физико-химические показатели геля с иммобилизованными углеродными наночастицами

Наименование показателя	УДА-ЧОШ-СП	УДА-ГО-СП	УДА-СП М1	УДА-СП+ М2
Характеристика исходного сырья для лигандизации,	Тонкодисперсный порошок черного цвета	Тонкодисперсный порошок серого цвета	Тонкодисперсный порошок серого цвета	Тонкодисперсный порошок серого цвета
Внешний вид иммобилизованных частиц наноглериода	Тонкие нити (диаметром 1-2 мм) полимера (ПААГ) с включениями черного цвета	Тонкие нити (диаметром 1-2 мм) полимера (ПААГ) с включениями серого цвета	Тонкие нити (диаметром 1-2 мм) полимера (ПААГ) с включениями серого цвета	Тонкие нити (диаметром 1-2 мм) полимера (ПААГ) с включениями серого цвета
pH раствора при хранении геля с НА	6,61	6,45	6,51	6,55
1-ая промывка	9,19 [9,10-9,30]	9,57 [9,40-9,80]	10,20 [10,0-10,35]	8,79 [8,50-8,90]
2-ая промывка	8,58 [8,18-8,60]	9,27 [9,10-9,75]	9,76 [9,50-10,10]	8,30 [8,15-8,68]
3-я промывка	7,93 [7,50-8,15]	8,10 [8,05-8,48]	8,20 [8,05-8,30]	7,40 [7,15-7,70]
4-я промывка	7,95 [7,30-8,05]	7,67 [7,54-7,86]	7,40 [7,15-7,65]	7,10 [6,80-7,20]
5-я промывка	7,25 [7,15-7,64]	6,90 [6,40-7,10]	6,70 [6,50-6,80]	6,60 [6,50-6,65]
Спектральная характеристика раствора после промывки, $\lambda=230\text{nm}$				
1-ая промывка	3,53 [3,20-3,80]	1,74 [1,50-1,80]	3,34 [3,30-3,60]	3,31 [3,28-3,40]
2-ая промывка	2,17 [2,10-2,60]	1,13 [1,10-1,18]	2,01 [1,98-2,15]	1,93 [1,88-1,96]
3-я промывка	0,28 [0,26-0,33]	0,16 [0,10-0,22]	0,29 [0,20-0,36]	0,29 [0,15-0,32]
4-я промывка	0,10 [0,06-0,15]	0,06 [0,03-0,10]	0,09 [0,07-0,11]	0,08 [0,05-0,12]
5-я промывка	0,01 [0,01-0,02]	0,01 [0,01-0,05]	0,01 [0,01-0,02]	0,03 [0,01-0,06]

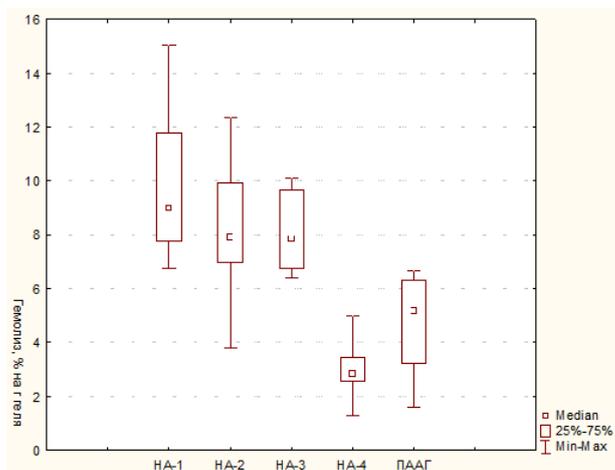


Рисунок 1 – Оценка гемолиза после длительного (60 мин.) контакта крови с иммобилизованными на полиакриламидном геле углеродными наночастицами

Тем не менее, иммобилизованные углеродные наночастицы можно считать гемосовместимыми, так как кратковременный контакт (менее 5 минут) крови с иммобилизованными наноалмазами, который происходит при перфузии крови через ёмкость с гелем не вызывал значимого гемолиза (табл.3).

Таблица 3. – Процент гемолиза крови после кратковременного контакта с полиакриламидным гелем, лигандизованным наноалмазами

Образец	Процент гемолиза, %
кровь + дист. вода	100
УДА-ЧОШ-СП-ПААГ	0,38 (0,32;0,43)
УДА-ГО-СП-ПААГ	0,18 (0,12;0,25)
УДА-СП - ПААГ	0,14 (0,09;0,19)
УДА-СП+(М2)- ПААГ	0,30 (0,26;0,37)
ПААГ	0,48 (0,42;0,53)

Изучение неспецифической адсорбции метиленового синего наноалмазами в растворе показало, что максимально эффективными являются наноалмазы типа УДА-ЧОШ-СП (НА-1). На 1 мг наноалмазов сорбция МС составляет 25,63 [23,53-28,49] мг (рис.2). Адсорбция остальных образцов по сравнению с НА-1 невелика и примерно одинаковая: для НА-2 – 6,25[4,95-7,10] мг, для НА-3 – 8,72 [7,93-9,80] мг, для НА-4 – 8,41 [7,84-9,23] мг. Полученная разница в адсорбции объясняется тем, что наноалмазы типа УДА-ЧОШ-СП обладают удельной поверхностью 399 м²/г, которая больше, чем у других образцов наноалмазов.

Исследование адсорбционных свойств иммобилизованных наноалмазов подтвердило тенденцию: максимальной адсорбционной активностью обладают наноалмазы типа УДА-ЧОШ-СП (рис.2).

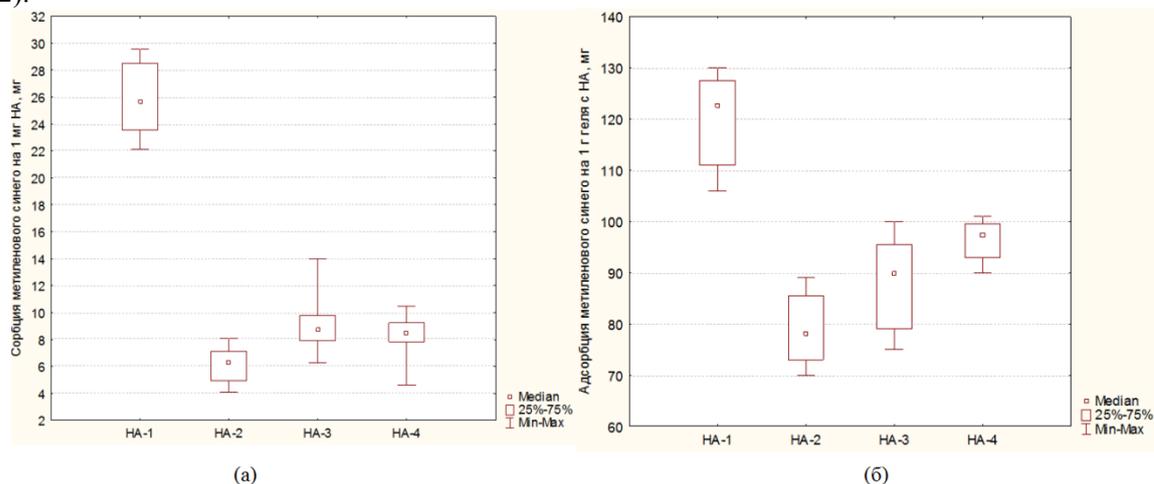


Рисунок 2. – Адсорбция метиленового синего: наноалмазами (50мг) различной модификации (а), иммобилизованными наноалмазами (б)

Значение адсорбции иммобилизованными наноалмазами по сравнению со свободными увеличивается в несколько раз. Это объясняется собственной неспецифической адсорбционной способностью полиакриламидного геля по отношению к метиленовому синему.

Выводы: Проведенная научно-исследовательская работа показала, что исследованные образцы наноалмазов не вызывают при кратковременном воздействии гемолиз и обладают высокими сорбционными свойствами. К перспективным образцам для создания сорбентов можно отнести образцы наноалмазов УДА-ГО-СП и УДА-СП.

Список использованных источников

1. Даниленко, В.В. Из истории открытия синтеза наноалмазов // Физика твердого тела. – 2004. – Т. 46, № 4. – С. 581–584.
2. Osawa, E. “Superaromacity” / E. Osawa, Kagaku (Kyoto) // Chem. Abs. 1970 – Vol. 25. – P. 854–863.
3. Kiffer, A. D. Confidential memorandum: synthesis of diamond from carbon monoxide. / A.D. Kiffer, W.G. Eversole // Tonawanda laboratories, Linde air products Co. – 1956.
4. Angus, J. C. Diamond synthesis at low pressure. / J. Angus // Internal 3M Report. 1960.

5. Angus, J. C. Growth of diamond seed crystals by vapor deposition / J.C. Angus, H.A. Will, W.S. Stanko // *Appl. Phys.* 1968 –Vol. 39. – P. 2915–2922.

6. Matsumoto, S. Vapor deposition of diamond particles from methane / S. Matsumoto [et al.] // *Jpn. J. Appl. Phys.* 1982. – Vol. 21. – P.183–185.

7. Bogatyreva, G. P. Diamond — an adsorbent of a new type / G.P. Bogatyreva, M.A. Marinich, V.L. Gvyazdovskaya // *Diamond relat. mater.* 2000. – 9, N. 12. – P. 2002—2005.

8. Gharbi, N. Fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity. / N. Charbi [et al.] // *Nano Letters.* 2005. – Vol. 5, N.12. – P. – 2578–2585.