

Оценка гемосовместимости и адсорбционной способности иммобилизированных детонационных наноалмазов

Ковганко Н. Н., Рябцева Т. В., Макаревич Д. А., Гриневич В. Ю., Жалейко Г. А.

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Изучена адсорбционная способность и гемосовместимость образцов наноалмазов детонационного синтеза. Показано, что все изученные образцы (УДА-ЧОШ, УДА-ГО-СП, УДА-СПМ1; УДА-СП+М2) обладают высокой гемосовместимостью и не вызывают гемолиз в значительном количестве. Адсорбционная способность изучена по изменению светопропуска-



ния раствора нейтрального красителя — метиленового синего. Показано, что наиболее перспективными образцами для создания сорбентов являются образцы наноалмазов УДА-ГО-СП и УДА-СП.

Ключевые слова: гемосовместимость, адсорбция, наноалмазы, иммобилизация, суспензия.

Введение. Наноалмазы (НА), получаемые при взрыве в замкнутом объеме конденсированных взрывчатых веществ с отрицательным кислородным балансом [1–3], представляют собой особый тип алмазных материалов. Это типичный наноматериал со средним размером зерен около 4 нм, обладающих преимущественно сферической формой. К наноалмазам относят достаточно разнородные по атомной структуре и физико-химическим свойствам углеродные наноматериалы, которые образованы атомами углерода, имеющими свойственные алмазу координационное число 4 и электронные конфигурации, близкие к sp^3 .

Каждая частица НА, как и любого твердого тела, согласно остовой теории [4–7], представляет собой надмолекулу, имеющую монокристаллическое алмазное ядро (остов), окруженное химически связанным с ядром покровом («шубой») из функциональных групп, который и определяет химическое состояние поверхности НА.

В настоящее время нет данных по гемосовместимости и степени неспецифической адсорбции из водных растворов иммобилизованными наночастицами углерода детонационного синтеза.

Цель работы — исследование адсорбционной способности и гемосовместимости иммобилизованных наноалмазов детонационного синтеза.

Материалы и методы. В работе использовали четыре образца наноалмазов детонационного синтеза: УДА-ЧОШ (1), УДА-ГО-СП (2), УДА-СПМ1 (3); УДА-СП+М2 (4) (таблица 1).

Таблица 1 — Характеристика наноалмазов детонационного синтеза, использованных для иммобилизации

Показатель	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)

Иммобилизацию наноалмазов проводили на полиакриламидном геле классическим методом радикальной полимеризации [2].



Адсорбционную способность определяли по изменению светопропускания раствора нейтрального красителя — метиленового синего с исходной концентрацией 150 мг/л. Концентрация углеродных наночастиц составила 50 мг на 10 мл полиакриламидного геля (15 %, соотношение акриламида к метилбисакриламиду 29:1). Нитигеля массой 2 г упаковывали в пробирки, добавляли 4,5 мл раствора метиленового синего. Несколько раз переворачивали пробирку для равномерного распределения геля и раствора метиленового синего. Инкубировали 1 ч при комнатной температуре. Затем центрифугировали 15 мин при 3500 об/мин. Надосадочную жидкость (100 мкл) добавляли в пробирку с 4,9 мл дистиллированной воды и измеряли оптическую плотность при 400 нм. Концентрацию метиленового синего [МС, мг/л] рассчитывали по формуле с учетом разведения раствора для спектрофотометрирования (получена по результатам построения калибровочного графика): $[МС, \text{мг/л}] = \{(ОП - 0,0012)/0,0020\} \cdot 50$. Адсорбционную способность рассчитывали в мг адсорбированного МС на 1 г полимера с иммобилизованными НА или на 1 мг суспендированного НА.

Для оценки гемосовместимости к 2 г геля добавляли 4,5 мл разведенной в 5 раз крови здорового добровольца. Инкубировали 1 ч при комнатной температуре. Центрифугировали 15 мин при 3500 об/мин. Надосадочную жидкость спектрофотометрировали при 540 нм. В качестве образца с отсутствием гемолиза (0 % гемолиза) принимали оптическую плотность раствора 100 мкл разведенной крови с 4,4 мл физиологического раствора. В качестве 100 % гемолиза принимали оптическую плотность раствора 100 мкл разведенной крови с 4,4 мл дистиллированной воды. Гемолиз рассчитывали в процентах относительно оптической плотности контрольного раствора с гемолизом 100 мкл крови.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ Statistica. Значения показателей представлены в виде Me (25–75), где Me — медиана, а 25 и 75 — интерквартильный размах в виде 25-й и 75-й перцентилей.

Результаты и их обсуждение. 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 (таблица 2).

Анализ показал, что при промывке происходит установление pH раствора в диапазоне нейтральных значений. Снижение оптической плотности промывочных растворов при 230 нм до нулевых значений свидетельствует об удалении из объема геля практически всего не прореагировавшего акриламида и других ненасыщенных 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.

Таблица 2 — Физико-химические показатели геля с иммобилизованными углеродными наночастицами

Показатель	Образец НА-1	Образец НА-2	Образец НА-3	Образец НА-4
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 наночастиц углерода	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-я 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-я 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]



Окончание табл. 2

Показатель	Образец НА-1	Образец НА-2	Образец НА-3	Образец НА-4
Спектральная характеристика раствора после промывки, $\lambda = 230\text{nm}$				
1-я 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-я 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]

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 (рисунок 1). Полученные результаты свидетельствуют о влиянии метода получения углеродных наночастиц и степени очистки на их гемосовместимость.

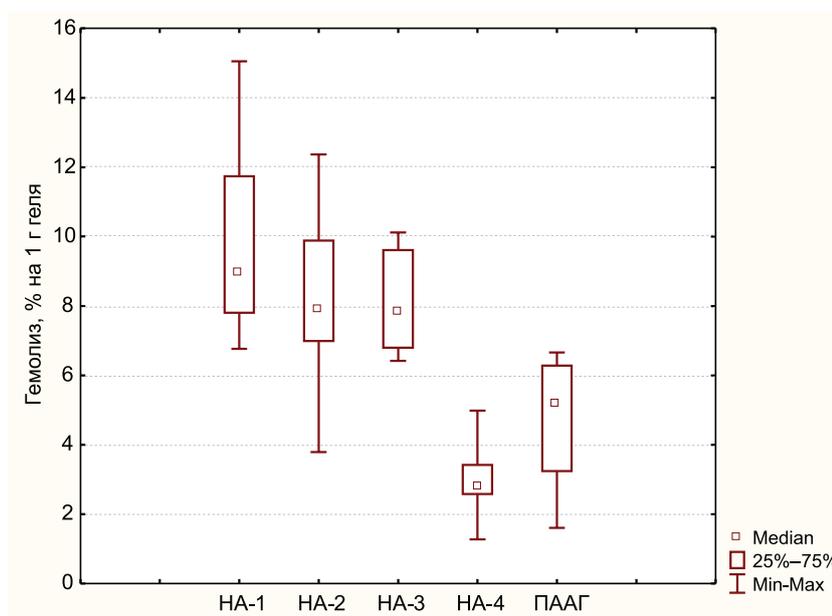


Рисунок 1 — Оценка гемолиза после длительного (60 мин) контакта крови с иммобилизованными на полиакриламидном геле углеродными наночастицами

Тем не менее, иммобилизованные углеродные наночастицы можно считать гемосовместимыми, так как кратковременный контакт (менее 5 мин) крови с иммобилизованными НА, который происходит при перфузии крови через емкость с гелем, не вызывал значимого гемолиза (таблица 3).

Таблица 3 — Процент гемолиза крови после кратковременного контакта с полиакриламидным гелем лигандизированным наноалмазами

Образец	Процент гемолиза, %
Кровь + дистиллированная 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 НА в растворе показало, что максимально эффективными являются НА типа УДА-ЧОШ-СП (НА-1). На 1 мг НА сорбция МС составляет 25,63 [23,53–28,49] мг (рисунок 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 НА типа УДА-ЧОШ-СП обладают удельной поверхностью 399 м²/г, которая больше, чем у других образцов НА (см. таблицу 1).

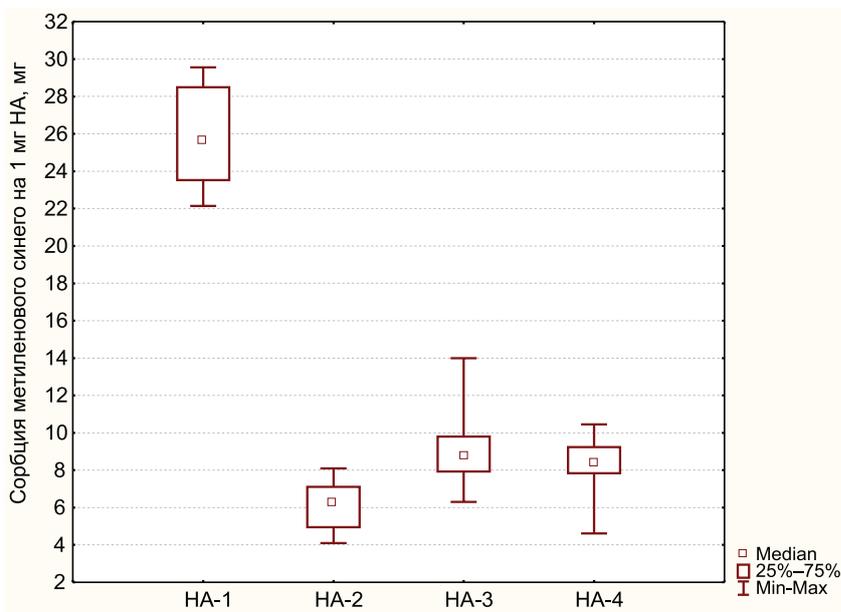


Рисунок 2 — Адсорбция метиленового синего наноалмазами (50 мг) различной модификации

Исследование адсорбционных свойств иммобилизованных НА подтвердило тенденцию: максимальной адсорбционной активностью обладают НА типа УДА-ЧОШ-СП (рисунок 3). При этом, значение адсорбции иммобилизованными НА по сравнению со свободными, увеличивается в несколько раз, что объясняется собственной неспецифической адсорбционной способностью полиакриламидного геля по отношению к метиленовому синему.

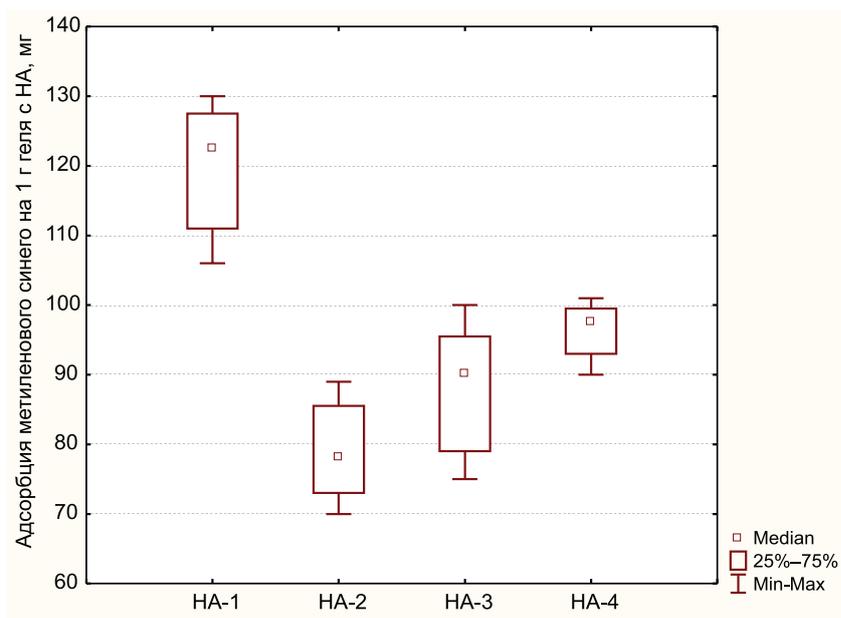


Рисунок 3 — Адсорбция метиленового синего иммобилизованными наноалмазами

Заключение. Исследована адсорбционная способность и гемосовместимость иммобилизованных НА детонационного синтеза. Показано, что все исследованные образцы НА 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.

Литература

1. Bogatyreva, G. P., Surface modification of diamond film adsorbents for blood plasma cleaning / G. P. Bogatyreva, M. Marinich // Surface Eng. — 2003. — Vol. 19, № 1. — P. 65–66.
2. Электрофорез в полиакриламидном геле: ОФС 1.2.1.0023.15 [общая фармакопейная статья]: введ. 01.01.2016 / М-во здравоохранения и соц. развития РФ // Государственная фармакопея Российской Федерации. — XIII изд. — Т. I. — 2015.
3. Cytokine adsorptive property of various adsorbents in immunoadsorption columns and a newly developed adsorbent: an in vitro study / O. Shigeto [et al.] // Blood. Purif. — 2004. — Vol. 22. — P. 530–536.
4. Saturable absorption in detonation nanodiamond dispersions / V. Vanyukov [et al.] // J. Nanophoton. — 2017. — Vol. 11, № 3 — P. 506–511.
5. Absorption spectra of nanodiamond aqueous dispersions by optical absorption and optoacoustic spectroscopies / L. O. Usoltseva [et al.] // Photoacoustics. — 2018. — Vol. 12. — P. 55–66.
6. Nanodiamonds for device applications: An investigation of the properties of boron-doped detonation nanodiamonds / A. Afandi [et al.] // Sci. Rep. — 2018 — Vol. 8. — P. 3270–3277.
7. Use of nanodiamond for absorption of aerosol particles / A. L. Vereschagin [et al.] // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. — 2020. — Vol. 28, № 1. — P. 14–19.

Estimation of hemocompatibility and adsorption capacity of immobilized detonation nanodiamonds

Kauhanka N. N., Ryabtseva T. V., Makarevich D. A., Grinevich V. Yu., Zhaleika H. A.

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

The adsorption capacity and hemocompatibility of detonation synthesis nanodiamond samples have been studied. It was shown that all studied samples have high hemocompatibility and do not cause hemolysis in significant amounts. It is shown that the most promising samples for creating sorbents are samples of nanodiamonds UDA-GO-SP and UDA-SP.

Keywords: hemocompatibility, adsorption, nanodiamonds, suspension, immobilization.

Поступила 23.06.2021