

УДК 615.011

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF2115-22>

Обзорная статья



# Токсикология наноструктур углерода. Часть 2. Наноразмерные материалы на основе графеновых листов

Е.В. Литасова, В.В. Ильин, М.А. Брусина, Л.Б. Пиотровский

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Обзор представляет собой продолжение опубликованной ранее работы по токсичности сферических наноструктур углерода: фуллеренов и наноокионов. В настоящей статье обсуждаются данные по исследованию токсичности наноструктур углерода с  $sp^2$ -гибридизацией атомов, которые можно рассматривать как образованные из графеновых листов, и наноструктур, образованных атомами углерода в  $sp^3$ -гибридизации, а именно наноалмазы. К сожалению, следует повторить вывод, сделанный в предыдущем обзоре, что на данный момент не хватает данных, позволяющих использовать наноструктуры углерода в медицинской практике, и поэтому необходима разработка более эффективных и информативных тестов на животных, с учетом особенностей каждого типа наноматериалов.

**Ключевые слова:** однослойные нанотрубки; многослойные нанотрубки; нанохорны; графены; наноалмазы; токсичность.

#### Как цитировать:

Литасова Е.В., Ильин В.В., Брусина М.А., Пиотровский Л.Б. Токсикология наноструктур углерода. Часть 2. Наноразмерные материалы на основе графеновых листов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии 2023. Т. 21. № 1. С. 5–22. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF2115-22>

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF2115-22>

Review Article

# Toxicology of carbon nanostructures.

## Part 2. Nanoscale materials based on graphene sheets

Elena V. Litasova, Viktor V. Iljin, Maria A. Brusina, Levon B. Piotrovsky

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

The review is a continuation of the previously published one on the toxicity of spherical nanostructures of carbon, namely fullerenes and nanonions. This review considers data on the toxicity of carbon nanostructures in  $sp^2$ -hybridization of carbon atoms, which can be considered as formed from graphene sheets, and nanostructures formed by carbon atoms in  $sp^3$ -hybridization, namely, nanodiamonds. Unfortunately, it should be repeated the conclusion made in the previous review that at the moment there is not enough data to use carbon nanostructures in practice, and therefore it is necessary to develop more effective and informative tests on animals, taking into account the characteristics of each type of nanomaterials.

**Keywords:** single wall nanotubes; multiwall nanotubes; nanohorns; graphenes; nanodiamonds; toxicity.

**To cite this article:**

Litasova EV, Iljin VV, Brusina MA, Piotrovsky LB. Toxicology of carbon nanostructures. Part 2. Nanoscale materials based on graphene sheets. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2023;21(1):5–22. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF2115-22>

Received: 18.11.2022

Accepted: 21.03.2023

Published: 31.03.2023

В предыдущем обзоре были рассмотрены вопросы токсичности сферических наноструктур углерода размерностью 0 D — фуллеренов и наноионов [1]. Их главное отличие от других наноструктур углерода заключается в том, что они представляют собой классические молекулы, состоящие только из атомов углерода. Остальные наноструктуры, а именно углеродные нанотрубки, углеродные нанохорны (размерностью 1D), графен и его производные (размерностью 2D), о которых пойдет речь в этом обзоре, содержат атомы углерода в  $sp^2$ -гибридизации и их можно рассматривать как образованные графеновыми листами, то есть как производные графена. Исключения составляют наноалмазы (размерность 3D), образованные атомами в  $sp^3$ -гибридизации. Все эти наноструктуры представляют собой материалы, состоящие из смеси однотипных молекул, отличающихся друг от друга набором и/или числом составляющих атомов, иначе говоря, являются физической смесью различных химических соединений [2]. Они могут содержать на краях структур другие атомы — кислорода, водорода, различных металлов, а также целые функциональные группы [3]. Крайние атомы наноалмазов могут быть атомами углерода в  $sp^2$ -гибридизации, что в данном случае представляет собой загрязнение. Естественно, что эти примеси будут вносить свой вклад в биологические свойства, и, следовательно, токсичность образцов будет зависеть от метода их получения и степени очистки.

### Нанотрубки

Углеродные нанотрубки (УНТ) представляют собой цилиндрические структуры, получаемые при свертывании плоской гексагональной сетки графена (рис. 1) [4].

Считается, что нанотрубки впервые наблюдались С. Иидзимой в 1991 г. [5, 6]. Но еще в 1974–1975 гг. М. Эндо с коллегами опубликовали ряд работ с описанием тонких трубок диаметром менее 100 Å, полученных конденсацией паров. Однако детального исследования структуры проведено не было [7]. Нанотрубки, образованные одним слоем графена, называются однослойными углеродными нанотрубками (ОСУНТ, рис. 1), их диаметр около 1 нм [6, 8]. Если слоев несколько, то это многослойные углеродные нанотрубки (МСУНТ). Расстояние между слоями в МСУНТ составляет около 0,34 нм [5]. Концы нанотрубок могут быть открыты или закрыты полусферами, составленными из пяти- и шестиугольников и напоминающими по строению полусферы молекулу фуллерена. В принципе есть некоторое сходство между нанотрубками и фуллеренами. Так, молекула фуллерена  $C_{70}$  отличается от молекулы фуллерена  $C_{60}$  «наличием» на экваторе молекулы пояса из 5 гексагонов. Длина нанотрубок может достигать нескольких микрометров [9].

Различия между ОСУНТ и МСУНТ заключаются в том, что последние представляют собой многослойную структуру, при их синтезе не нужны катализаторы, они могут быть получены в достаточно чистом виде. Их структуры

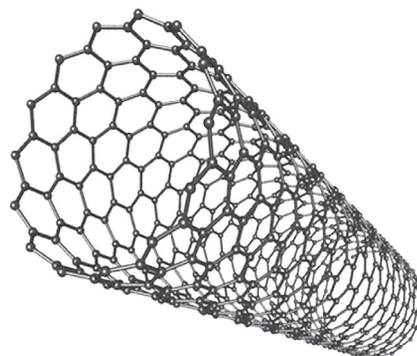


Рис. 1. Однослойная углеродная нанотрубка [4]

содержат мало дефектов, и они аккумулируются в организме. В отличие от МСУНТ у ОСУНТ однослойная структура. При их синтезе нужны металлические катализаторы, очистка от которых представляет определенные трудности, эти структуры содержат много дефектов, особенно после функционализации, и они аккумулируются в организме значительно меньше, нежели их многослойные аналоги [10, 11]. Таким образом, МСУНТ доступны в больших количествах и относительно дешевы, ОСУНТ дороги и их трудно получать в больших количествах. К этому еще можно добавить, что ОСУНТ обладают теплопроводностью в интервале 6000 Вт/(м · К) и проявляют свойства полупроводников и металлов (автоэлектронная эмиссия), а у МСУНТ этот параметр лежит в области 3000 Вт/(м · К), и свойствами полупроводников они не обладают [10]. Уже такое сравнение свойств УНТ позволяет утверждать, что ОСУНТ и МСУНТ представляют собой различные материалы, и, следовательно, биологические данные, полученные для одного типа материала, нужно с осторожностью переносить на другой.

При изучении нанотрубок большое внимание уделяется пульмонарной токсичности. УНТ содержатся в выхлопных газах автомобилей, и, следовательно, человечество постоянно подвергается их воздействию [12]. Еще одна причина — нанотрубки представляют собой волокнистые материалы, а канцерогенность подобных материалов, например, асбеста, хорошо известна [13]\*.

Возможность возникновения патологических состояний из-за повреждений тканей при контакте с различными веществами достаточно очевидна. Особенно неприятно в этом случае ингаляционное воздействие, так как повреждающее действие наночастиц на дыхательный аппарат может быть чисто механическим [15, 16]. Попадая в организм в виде аэрозолей, частицы распределяются в дыхательном тракте в зависимости от формы, размера и плотности. В частности, частицы размером меньше 300 нм накапливаются в альвеолярной

\* О «fiber pathogenicity paradigm» («парадигме токсичности волокон»), определяемой шириной, длиной и биологической устойчивостью, а также высоким соотношением «толщина – длина» (aspect ratio) волокнистых наноматериалов, включая УНТ, как критических детерминант заболевания легких, включая мезотелиому, см. [14].

части легких. Следовательно, при ингаляционном воздействии именно эти параметры (форма, размер и плотность), а не состав частиц, становятся определяющими в проявлении токсического действия [17]. В частности, в случае МСУНТ показано, что ингаляционная токсичность определяется размерами, отношение длины к толщине (*aspect ratio*), жесткостью, модификациями поверхности и способностью продуцировать активные формы кислорода [18].

Среди относительно недавних обзоров по токсичности УНТ можно упомянуть [19–22].

Действие УНТ *in vivo* на легкие исследовалось неоднократно [23–27]. Хотя в одной из этих работ не было обнаружено никаких токсических проявлений при введении в трахею морских свинок нанотрубок (25 мг) [25], в появившихся позднее более детальных исследованиях были уже предъявлены доказательства токсического действия нанотрубок на легкие. Однако использованные почти во всех этих работах экспериментальные процедуры не совсем адекватны реальным условиям, которые могут возникать, например, при производстве нанотрубок. В частности, маловероятно появление нанотрубок в воздухе в достаточных концентрациях [28]. Недостаточно охарактеризованы с точки зрения физико-химических параметров и использованные в этих работах образцы нанотрубок [29]. Тем не менее возможность кумулятивных эффектов не должна исключаться. Более подробно данные по действию нанотрубок на дыхательную систему рассмотрены в работе [30]. Как отмечается в этой работе, результаты по изучению токсичности УНТ зачастую не полны и противоречивы. В случае неочищенных нанотрубок токсические эффекты часто вызваны примесями металлов, используемых в качестве катализаторов при их производстве.

Напомним еще раз, что вопросы «ингаляционной токсичности» стоят остро в отношении к любым наноматериалам, а не только наноструктурам углерода [17, 24], так как она определяется, в первую очередь, размерами частиц и лишь затем химическими и биологическими свойствами материала. Об этом, в частности, свидетельствуют и данные работы [31], в которой показано, что токсическое действие МСУНТ (диаметр ~20 нм, отношение размеров 80–90), углеродных нанонитей (диаметр ~150 нм, отношение размеров 30–40) и наночастиц углерода (*carbon black*, отношение размеров 1) *in vitro* на культуре клеток зависит от размера наночастиц.

На альвеолярных макрофагах было показано *in vitro*, что ОСУНТ проявляют выраженную цитотоксичность. В ряду исследованных соединений цитотоксичность падала с уменьшением массы частицы: ОСУНТ > МСУНТ > кварц >  $C_{60}$ . При этом МСУНТ и  $C_{60}$  проявляли цитотоксичность только в высоких дозах (3,1 мкг/см<sup>2</sup>), тогда как в случае ОСУНТ эффект наблюдался уже при 0,38 мкг/см<sup>2</sup> [32]. При экспозиции эпидермальных кераноцитов человека с МСУНТ (0,1, 0,2 и 0,4 мг/мл) последние, по данным

просвечивающей электронной микроскопии, накапливались в цитоплазматических вакуолях и вызывали выброс из кераноцитов противовоспалительного цитокина (интерлейкина 8) [33]. ОСУНТ дозозависимо ингибировали рост клетки почек эмбрионов человека (HEK293), причем выраженность эффекта зависела и от времени инкубирования [34].

Восемнадцатичасовая экспозиция эпидермальных кераноцитов человека с ОСУНТ приводит к окислительному стрессу, выражающемуся в появлении свободных радикалов, накоплении продуктов перекисного окисления и потери жизнеспособности клеток. При контакте ОСУНТ с клетками кожи в культуре также наблюдаются ультраструктурные и морфологические изменения. Эти данные свидетельствуют о возможности кожных поражений при работе с нанотрубками [35].

Потенциальные токсические эффекты нанотрубок, используемых в качестве противоопухолевых препаратов, описаны в работе [36].

В первой части обзора уже отмечалось, что было проведено сравнение действия многослойных углеродных нанотрубок (MWCNO, многослойных гигантских фуллеренов диаметром ~30 нм) и МСУНТ (диаметром ~30 нм) на фибробласты кожи человека [37]. По данным этой работы получается, что МСУНТ более опасны, нежели MWCNO такого же размера.

По данным некоторых работ, сами УНТ в действительности не токсичны, а наблюдаемые токсические проявления вызваны примесями. Заметные количества ОСУНТ могут также поглощаться клетками макрофагов без проявления каких-либо токсических эффектов [38]. Высокоочищенные ОСУНТ, по данным работы [39], при относительно короткой экспозиции не проявляют токсического действия на культуру кардиомиоцитов, что также свидетельствует об их биосовместимости, а появление через 3 сут «токсических» эффектов, по мнению авторов, связано скорее с физическим, а не химическим взаимодействием нанотрубок с клеточными стенками.

Функционализированные нанотрубки, проникая через клеточные мембраны и накапливаясь в цитозоле или даже в ядре, не проявляют цитотоксичности в концентрациях до 10 мкМ [40]. На развитие фибробластов и остеобластов не влияет наличие в среде МСУНТ [41]. Предварительное нагревание, приводящее к снижению числа дефектов на поверхности МСУНТ, как ни странно, усиливает их цитотоксичность [42].

Подводя итог, следует отметить, что исследования по токсичности УНТ указывают, в принципе, на относительно невысокую токсичность высокоочищенных образцов. Что касается зависимости структура – активность, то работ, в которых систематически изучалось бы влияние на токсичность размеров и иных физических параметров углеродных нанотрубок, практически нет. Правда, следует отметить, что это касается не только УНТ, но, в частности, и нанополупроводников.

## Нанохорны

Замена в графеновом слое гексагона на пентагон приводит к искривлению его поверхности. При замене одного гексагона на один пентагон образуется коническая структура, называемой наноконом (угол  $120^\circ$ ). Дальнейшая замена гексагонов, конденсированных с этим пентагоном, на пентагоны приводит к дальнейшему искривлению поверхности. При максимально возможном числе конденсированных пентагонов, равном пяти, образуется структура с углом около  $20^\circ$ . Такая структура, «острие» которой образовано пятью пентагонами, называется нанохорном (УНХ, углеродные нанохорны, CNH, рис. 2) [43]. Подробнее о строении нанохорнов см. [44].

Синтез нанохорнов не требует применения металлов-катализаторов, что сразу же снимает вопрос о токсичности, вызванной примесями [45]. И действительно, токсикологические тесты с использованием нанохорнов в некоторых исследованиях не показали каких-либо выраженных эффектов: нанохорны в тестах *in vitro* и *in vivo* не обладают раздражающим действием и не вызывают сенсбилизацию кожи.

Внутривенное введение УНХ в течение 26 нед. не привело ни к каким выраженным токсическим эффектам. Это подтверждалось нормальным внешним видом животных, нормальным увеличением веса и отсутствием аномалий в тканях при гистологических наблюдениях [46].

Сравнение токсичности различных окисленных наноструктур, а именно окисленных углеродных наноионов (*oxi*-CNOs), окисленных углеродных нанохорнов (*oxi*-CNHs) и оксида графена (GO) было проведено на рыбах *Danio rerio* [47]. Наиболее токсичным оказался GO, а *oxi*-CNHs несколько более токсичен, нежели *oxi*-CNOs. Это, вероятно, связано с тем, что небольшая токсичность в клетках при использовании CNH вызвана его способностью вырывать активные формы кислорода (АФК) [48].

В работе [49] исследовалась экологическая роль порошка УНХ на двух видах: полихетах *Hediste diversicolor* и мидиях *Mytilus galloprovincialis*. Результаты показали, что УНХ влияет на окислительную и лизосомальную системы гепатопанкреаса и приводит к лизосомным изменениям гемоцитов в мышцах. Это значит, что в будущем будет, вероятно, необходимо изучение длительного воздействия УНХ на морские виды.

В двух работах изучалась зависимость биологических свойств УНХ от размеров частиц (больших и малых): биораспределение и накопление на мышах [50] и цитотоксичности [51]. В первой работе с использованием агрегатов УНХ 100 нм (большие) и 30–50 нм (малые) было показано, что небольшие УНХ медленнее накапливаются в печени и селезенке, не накапливаются в коже, легких и почках, и при этом отсутствует очевидная гематологическая или иммунологическая токсичность. Во второй работе определяли цитотоксичность частиц УНХ на эпителиальных клетках дыхательной системы человека (использовали две фракции размера первичных частиц: 60–80 и 60–200 нм).

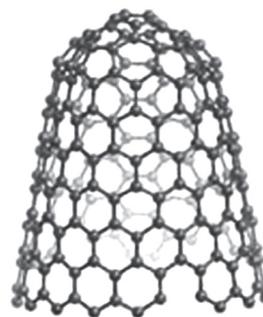


Рис. 2. Однослойный углеродный нанохорн

Следует отметить, что, как правило, образцы УНХ отличаются от образцов наноалмазов, УНТ и графена более узким интервалом размеров агрегатов [52].

Не токсичны также и комплексы УНХ. На модели фибробластов эмбрионов мышей *in vitro* было показано отсутствие цитотоксичности системы УНХ – липосома [53]. Нетоксичным оказался также и комплекс УНХ с бычьим сывороточным альбумином, который способен эффективно превращать световую энергию в термическую [54].

По данным Н. Isobe и соавт. [55], функционализированные производные (*f*CNH) также не проявляют токсических эффектов. Они быстро интернализируются клетками фибробластов и при этом, в отличие от таких неорганических наночастиц, как кварц и  $TiO_2$ , не влияют на жизнеспособность клеток. Водная гомогенная дисперсия функционализированных нанохорнов, полученная без использования сурфактантов, не вызывает гибель первичных фагоцитирующих клеток, что указывает на то, что даже после проникновения в клетки они не оказывают летального действия (как минимум в течение трех суток) [56].

Известные данные позволяют также высказать предположение об отсутствии у нанохорнов канцерогенных свойств. При пероральном введении (вплоть до дозы 2000 мг/кг) острой токсичности так же установить не удалось. Отсутствие острых эффектов было показано при ингаляционном введении [57]. Несмотря на то что УНХ проникают внутрь клеток [58], канцерогенной активности при этом не наблюдалось [57].

Однако в литературе можно найти данные, свидетельствующие о токсичности УНХ как *in vitro* на разных клеточных линиях [58, 59], так и *in vivo* при респираторной, оральной и кожной или глазной сенсбилизации [57, 60]. Предполагается, что токсичность УНХ связана с дестабилизацией мембран и генерацией АФК [61].

УНХ вызывают *in vitro* гибель клеток линии HepG2 (Human hepatoma cell lines), что связано с ингибированием пролиферации клеток, вызванной апоптозом [62]. При этом их токсичность, определенная на нормальных клетках печени L02 (Human normal liver cell lines), была ниже. Авторы считают, что это может быть связано с различиями в поверхности этих типов клеток и может, в принципе, иметь значение при разработке различных систем доставки лекарственных веществ [63].

Следует особо подчеркнуть, что нанохорны могут образовывать в воде дисперсии и эмульсии, что снижает вероятность образования пыли и аэрозолей, а также уменьшается потребность в токсичных органических растворителях при работе с ними. Сферические георгино-подобные структуры нанохорнов [44] создают менее стабильные аэрозоли, чем другие наночастицы. А отсюда следует, что нанохорны в работе будут в целом безопаснее, чем другие наноматериалы [57, 64].

### Графен

Наноматериалы на основе графена (GP) представляют собой целое семейство: сам однослойный графен (GP), многослойный графен (GP), оксид графена (GO), восстановленный оксид графена (rGO), нанолитики графена, графеновые ленты и графеновые квантовые точки (GQD) [65, 66]. На рис. 3 приведены три основных представителя этого семейства.

Обзоры по токсичности графеновых наноструктур см. [68–74]. Особо выделяется обзор [75], в котором основное внимание сосредоточено на токсическом воздействии графеновых наноматериалов на лабораторных млекопитающих *in vivo*, так как именно это дает действительно реальную картину токсичности любого материала. Его ценность заключается также и в детальном анализе данных по токсичности разных типов графена и его аналогов с учетом конкретных данных по основным параметрам образцов использованных наноструктур.

На биологические эффекты графеновых наноматериалов (GNM) сильно влияют их физико-химические свойства: морфология, химия поверхности и чистота. Форма и размер могут влиять на поглощение клетками, функциональные группы могут изменять их взаимодействие с белками, биомолекулами и микроэлементами. Степень дисперсности суспензии также влияет на токсичность, а покрытие поверхности биосовместимыми фрагментами (образование «биокороны») может ее снижать [71].

Если углеродные наноматериалы (УНМ) представлены волокнами с высоким «aspect ratio», то есть тонкими и длинными, то они могут вызывать легочные реакции, сходные с реакцией на асбест [76, 77]. Длинные волокна медленнее выводятся, на них хуже действуют макрофаги,

что приводит к нарушению фагоцитоза. Эта концепция принята в качестве ключевого механизма токсичности длинных волокон [78, 79].

Однако эти выводы не относятся к плоским структурам. После внутривенной инъекции GP (многослойный графен,  $d = 25$  мкм) в плевральных макрофагах также наблюдались четкие признаки расстроенного фагоцитоза. Но это явление исчезало через 7 дней, и поэтому было высказано предположение, что GP разлагается на мелкие фрагменты, которые могут быть утилизированы макрофагами. Было также высказано предположение о биодegrадации пегилированных (полиэтиленгликоль, ПЭГ – GP) и карбоксилированных (COOH – GP) производных графена [80].

Предполагается также, что не имеющие волокнистой формы наноструктуры GP с точки зрения безопасности лучше, нежели дисперсии углеродных нанотрубок [70].

На токсичность GP также влияют размеры частиц — большие частицы GO вызывали более сильное воспаление, нежели маленькие [81]. После многократных внутривенных инъекций большие частицы оксида графена (L-GO) проявляли более сильное токсическое действие, чем малые (S-GO), причем после многократных инъекций S-GO наблюдалась воспалительная инфильтрация печени [82]. Эти результаты согласуются с исследованиями по биораспределению. Так, установлено, что печень является основным органом, ответственным за накопление маленьких частиц GO, тогда как большие частицы накапливаются в легких [82, 83]. Зависит от размера и экскреция GO — частицы небольших размеров выводятся через почки [84]. При этом покрытие ПЭГ частиц GO ослабляет вызываемые ими повреждения тканей (печени, легких и почек, а также хронический фиброз печени и легких) [85].

Большинство GNM заряжено, и поэтому в физиологических условиях они способны к агрегации. Функционализация частиц улучшает растворимость и биосовместимость, снижая одновременно и токсичность [86].

Имеющиеся на сегодня данные свидетельствуют, что и неизмененные и функционализированные GNM обладают потенциальной токсичностью и генотоксичностью. Тем не менее данные все еще очень ограничены, тем более, что в отличие от других наноструктур углерода

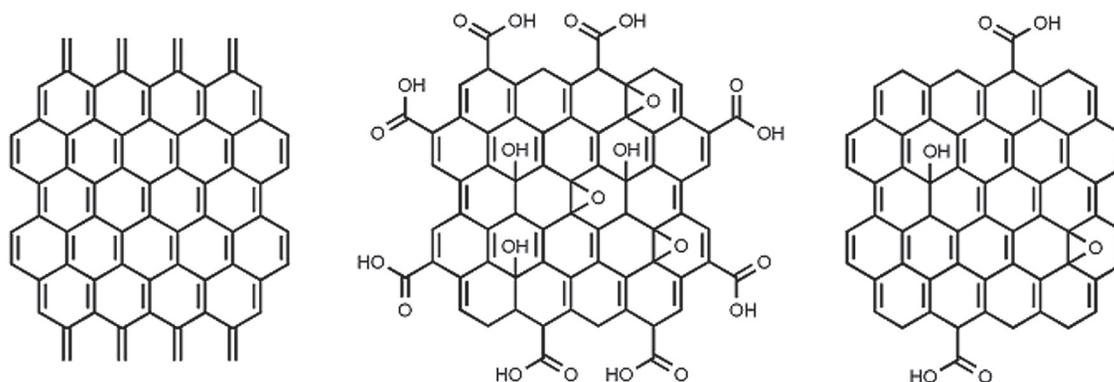


Рис. 3. Графен, оксид графена и восстановленный оксид графена [67]

существует и используется множество различных типов GNM и их модификаций. Так, при сравнении образцов GO разного размера было показано, что частицы большего размера дают и более сильный ответ [87]. Отмечается также, что реакционная способность поверхности и размер частиц играют важную роль в индукции легочного фиброза. Сообщалось также о более сильных воспалительных ответах в легких мышей после однократной глоточной аспирации более крупного GO (750–1300 нм) по сравнению с более мелким GO (50–350 нм) [81].

При обсуждении работ по ингаляционному воздействию GP и GO обычно указываются концентрации частиц во вдыхаемом воздухе [88, 89], их размеры (толщина, площадь и т. п.) [90], а также содержание углерода (от 84 до 77 %) [88, 89]. Тем не менее, например, в работе [91] приведены данные лишь по одному образцу GO, поэтому имеющиеся данные трудно сравнивать между собой. Однако использование разными авторами отличающихся образцов позволяет сделать общий вывод, что ингаляции GP и GO приводят к относительно слабой и обратимой легочной токсичности и воспалению.

Сравнение данных по легочной токсичности графена и оксида графена, вводимых мышам и крысам путем однократной интратрахеальной инстилляцией, аспирации из глотки и внутривенной инъекции, показало, что агрегированный GP сохранялся в легких и вызывал перибронхиальное воспаление и легкий фиброз, а диспергированный GP не вызывал фиброз легких. Тем не менее GO индуцировал сильные повреждения легких, включая повышение уровня провоспалительных цитокинов и апоптотических клеток в жидкость бронхоальвеолярного лаважа, а также нарушение альвеолярно-капиллярного барьера [92]. Авторы отмечают, что ковалентное окисление GP является основным фактором его легочной токсичности, и предполагают, что дисперсия неизмененного GP определяет безопасность обращения и потенциального биомедицинского применения двумерных углеродных наноматериалов. Важную роль в индукции легочного фиброза играют площадь поверхности и размер частиц [подробности см. 75].

Высказывается также предположение, что острые повреждения легких GP и его производными связаны с окислительным стрессом [79, 93–95]. В целом GP проявляет меньшую легочную токсичность, чем GO. Однако GO считается более биосовместимым, чем GP, из-за его большей растворимости и диспергируемости, в результате чего он менее токсичен для клеток [69]. Воздействие GNM на дыхательные пути не вызывало явной системной токсичности, даже несмотря на то, что после интратрахеальной инстилляцией меченые частицы GP и GO были обнаружены в основных органах [94, 95]. Отсюда следует, что частицы GP и GO могут переходить из легких в системную циркуляцию, пересекая альвеолярно-капиллярный барьер, и что GP и GO менее токсичны, чем ОСУНТ.

В обзоре М. Ета и соавт. [75] приведены данные 22 работ по внутрибрюшному введению. Из всего массива данных следует отметить то, что после однократного внутрибрюшного введения очищенного от побочных продуктов и контаминантов GO никаких воспалительных реакций или образования гранулем в диафрагмах у мышей не наблюдалось [96]. А многократные внутрибрюшные инъекции ПЭГ-GO в дозе 20 мг/кг приводили к гибели 3 из 12 мышей, вероятно, из-за агрегации ПЭГ-GO и образования тромба [97]. Таким образом, можно сделать вывод, что при внутривенном введении GP и GO в высоких дозах вызывали летальные исходы из-за скопления в легких и их механического повреждения, что подтверждает способность GNM преодолевать альвеолярно-капиллярный барьер. В более низких дозах GP вызывал иммунные ответы, а GO — острые воспалительные реакции в легких и субхронический фиброз печени и легких, а поверхностные модификации ослабляли токсичность GO.

Но ограниченность данных связана еще и с существованием множества различных типов GNM и их потенциальных модификаций [75]. Отметим, что окислительный стресс и воспаление могут быть связаны с их токсичностью. В проявлении токсичности и биораспределении GNM важная роль принадлежит реакционной способности поверхности, размеру и степени дисперсности.

Предполагается, что основным механизмом токсичности наноматериалов — это генерация АФК, приводящая к окислительному стрессу и стимулирующая воспалительные реакции [98, 99]. В присутствии GP в клетках потенцируется выработка АФК [92, 100].

Однако, поскольку GO не изменял уровни GSH или MDA в печени, селезенке или легких при внутривенном введении, окислительный стресс, вероятно, не служит основным механизмом проявления токсичности GNM [101]. В качестве механизма проявления токсичности было предложено прямое взаимодействие между клеточной мембраной и GO, поскольку его цитотоксичность заметно снижалась при инкубации с сывороткой, что, возможно, связано с высокой способностью белков адсорбировать GO [102]. GP может вызвать также прямое физическое повреждение, приводящее к дестабилизации мембраны и потере целостности клеток [71]. Размеры GP могут влиять на взаимодействие с различными рецепторами, ответственными за энергезависимые механизмы проникновения в клетки [66]. Заметно гидрофобная поверхность некоторых GNM может привести к их взаимодействию с мембранными липидами, то есть прямому физическому воздействию, приводящему к гибели клетки (прямая токсичность), или же «косвенной токсичности», вызванной абсорбцией биологических молекул [65, 66]. Однако для окончательного установления механизма проявления токсичности GNM необходимы дальнейшие исследования. Следовательно, варианты воздействия GNM на клетки разнообразны и требуют дальнейшего изучения.

Таким образом, в настоящее время какая-либо специфическая токсичность для GNM не установлена. Это не очень удивительно, так как существует множество форм GP с уникальными физическими свойствами и, следовательно, вызываемые ими токсические эффекты должны различаться [103]. Для изучения особых свойств GNM необходима разработка новых методов исследования, хотя для выявления вредного воздействия наноматериалов могут применяться и существующие протоколы испытаний на токсичность [104]. Токсикологические исследования GNM должны проводиться с особым вниманием к физико-химическим свойствам исследуемых образцов. Очень важны сведения о такой характеристике GNM, как толщина (число слоев), поскольку именно она является ключевой переменной, влияющей на поглощение клетками: число слоев влияет на осаждение и площадь поверхности, а химический состав поверхности — на абсорбцию и диспергируемость [65]. Однако, к сожалению, далеко не во всех исследованиях эти данные представлены.

И что крайне немаловажно, практически нет исследований хронической токсичности. А они необходимы. Без этих знаний даже не стоит думать о путях практического применения GNM. Эти исследования должны проводиться *in vivo* с использованием различных хорошо охарактеризованных образцов GNM, с использованием стандартных протоколов изучения хронической токсичности [105].

### Наноалмазы

Среди других наноструктур углерода наноалмазы (ND) занимают особое место. Во-первых, в ND атомы углерода находятся в  $sp^3$ -гибридизации, а во-вторых, существует несколько методов получения ND. V.N. Mochalin и соавт. [106] отмечают около десяти методов [детонационный синтез (DND), дробление алмазов, полученных при высоких давлениях и температурах (HPHT), химическое

осаждение из пара (CVD) и т. д.]. Но для использования в биологических исследованиях можно выделить два метода, которые по терминологии нанотехнологий можно назвать «top down» или «bottom up»: дробление алмазов, получаемых статическим синтезом (HPHT), или же их получение динамическим синтезом (DND) [107]. Существует еще один тип ND, очень важный для биологических исследований — так называемые флуоресцирующие наноалмазы (FND). Такие ND благодаря наличию дефектных NV-центров в кристаллической решетке при возбуждении светом с определенной длиной волны могут излучать беспрецедентно стабильную флуоресценцию [108, 109]. Поскольку эти флуоресцирующие дефекты защищены кристаллической решеткой, они стабильны в процессе исследования и не отбеливаются [110, 111]. Более того, образование флуоресцентной метки происходит внутри кристаллической решетки и никак не влияет на поверхность частиц [112].

Но в целом следует отметить, что чистота ND оставляет желать лучшего. Очищенный детонационный углерод может содержать до 90–97 % различных видов ND и 3–10 % наноалмазного углерода и других примесей [113]. Биологические аспекты использования ND изучают очень интенсивно (см. обзоры [114–116]).

Упоминание об использовании алмаза в качестве яда встречается уже в автобиографии Бенвенуто Челлини [117]. Он описывает, как его пытались убить добавлением в еду толченого алмаза. Естественно, что механизм токсичности такого алмаза связан напрямую с механическим воздействием частичек с острыми краями на стенки желудка, а не с каким-то биологическим действием. Поэтому-то от алмазов не ожидают также особых «неприятностей». В частности, от них не ждут канцерогенности, так как в алмазных структурах атомы углерода находятся в  $sp^3$ -гибридизации, реакционная способность которых относительно невысока. Вероятно, поэтому ND и обладают наименьшей токсичностью среди наноструктур углерода [118, 119].

Тем не менее, как видно из рис. 4, поверхность частиц ND неоднородна, и может содержать как различные функциональные группы, так и отдельные атомы. Это, с одной стороны, облегчает функционализацию, с другой — такое разнообразие заместителей должно в принципе отрицательно влиять на токсичность.

Более того, строение поверхности частиц ND зависит от метода получения. Так, на поверхности DND имеется существенная доля атомов углерода в  $sp^2$ -гибридизации [121]. Соотношение атомов углерода  $sp^3/sp^2$  зависит от степени очистки ND. И это один из факторов, влияющих на токсичность, — была показана корреляция потенциала АФК с соотношением углерода  $sp^3/sp^2$  — генерация АФК увеличивалась по мере уменьшения этого соотношения [122]. Хотя и считается, что ND статического синтеза не вызывают окислительного стресса, есть работа, в которой показано, что повреждающее

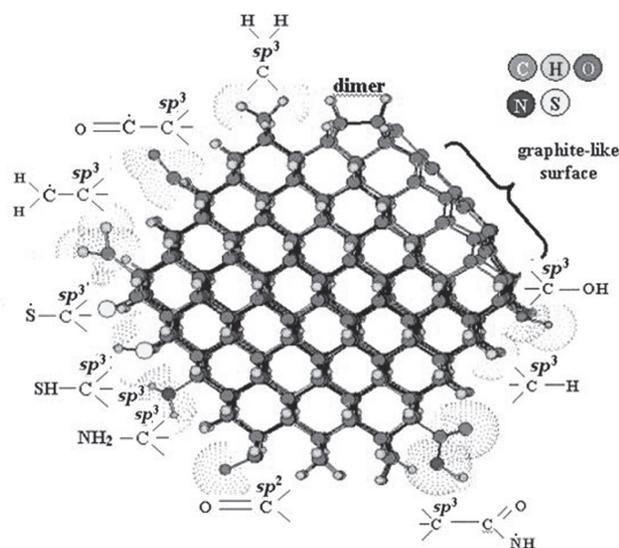


Рис. 4. Строение частицы наноалмаза [120]

действие ND на насекомых, *Acheta domesticus* (Orthoptera), хронически получавших их в рационе, объясняется окислительным стрессом (хотя воздействие, по-видимому, менее серьезно, чем у других наночастиц) [123].

О токсичности ND и зависимости ее, в частности, от чистоты образцов и функционализации см. также [124, 125].

Со времени пионерских исследований токсичности ND [118, 119] были проведены многочисленные исследования на разных объектах для получения всеобъемлющих токсикологических профилей этих наночастиц [126–128]. Основной задачей этих исследований было определение типа токсичности и основных механизмов ее проявления. И общий вывод, который можно сделать из многочисленных исследований токсичности, заключается в том, что производные ND различного происхождения и размеров не повреждают основные функции клеток, органов и организмов в разумном диапазоне концентраций.

Что касается конкретные примеры, то А.М. Schrand и соавт. [118] с использованием различных методов анализа жизнеспособности клеток показали, что ND статического синтеза (размером от 2 до 10 нм) не токсичны для различных типов клеток. Кроме того, они не генерируют значительных количеств активных форм кислорода. Отсутствие токсичности неоднократно доказали другие авторы [106, 118, 129, 130]. Не токсичны, естественно, и FND [131–133].

Про токсичность ND *in vivo* известно очень мало, хотя доступные сведения позволяют говорить об их нетоксичности. Так, при замене в рационе мышей воды гидрозолями ND (в течение 3–6 мес.) было показано, что ND не вызывают их гибели и не влияют на нормальный рост внутренних органов [134]. Именно благодаря своей нетоксичности флуоресцирующие ND представляют альтернативу для квантовых точек, которые как раз и отличаются высокой токсичностью [135, 136]. Отсутствие токсичности и безвредность ND в опытах *in vivo* была также показана на эмбрионах zebrafish [137], хотя есть данные о дозозависимой токсичности ND на этой же модели [138].

У беспозвоночных *Caenorhabditis elegans* не наблюдалось изменений в продолжительности жизни, репродуктивном потенциале или уровне стресса в ответ на ND [139]. При кормлении этих червей суспензией FND видно, что конъюгаты с декстраном и с BSA проникают в клетки кишечника, а сами ND, распределенные в просвете кишечника, выделяются после кормления их *Escherichia coli* [139].

Модификация или функционализация развитой и разнообразной по свойствам поверхности ND имеют большое значение для их использования в биологии и медицине. Влияние модификации поверхности ND на их токсичность рассмотрены в работе [140].

Карбоксилированные наноалмазы (DNA), в концентрациях до 1000 мкг/мл, не токсичны для клеток и способны проникать во внутриклеточное пространство [141, см. также 118]. Хотя поглощение крупных частиц модифицированных DNA (размером порядка 100 нм) не безразлично

для клеток HeLa — их жизнеспособность понижается по сравнению с чистыми DNA [142]. Но вряд ли это наблюдение можно считать показателем «обычной» токсичности, так как использовались достаточно крупные частицы, способные повреждать клетку чисто механически.

Доступные литературные данные указывают, что различные типы ND практически не токсичны. Вероятно, этого и следовало ожидать, так как системы метаболизма живых организмов не могут действовать на ND. В частности, показано, что цитохром P450 способен окислять поверхность ND, но не разрушать их [143]. Более того, показано, что DNA, равно как GO и ND графита, ингибировали каталитическую активность цитохромов P450 в микросомальных моделях (см. также [144]). Уже алмазодиды типа диамантана, триамантана, 2-изопропенил-2-метиладамантана и 3-изопропенил-3-метилдиамантана ингибируют активный центр ферментов подсемейства 2В цитохромов P450 подсемейства IIB путем связывания с активным центром [145]. Все эти данные однозначно свидетельствуют о высокой метаболической устойчивости ND, причем как детонационного синтеза, так и синтеза под высоким давлением. Следовательно, и токсичность этих наночастиц будет низкой, и вероятно, что именно ND можно считать наименее токсичными из всех углеродных наноматериалов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Токсичность любого вещества связана, как правило, с тем, что оно вмешивается в какие-либо биохимические процессы в организме. Однако наноструктуры углерода не способны сами по себе вступать в какие-либо процессы в качестве реагентов. Поэтому проявлять токсичность они могут только опосредованно, например, генерируя АФК. Тем не менее в подавляющем большинстве случаев эта способность у наноструктур углерода (за исключением фуллеренов) выражена слабо. Поэтому наноструктуры углерода относятся к малотоксичным соединениям.

Несмотря на то что биологические свойства и возможность применения в биологии и медицине наноструктур углерода изучаются уже около 30 лет, многие вопросы остаются неисследованными. Поэтому сделанный выше вывод относится только к острой токсичности.

Что касается хронической токсичности наноструктур углерода, то этот вопрос, по нашим данным, практически не исследовался. И относится это в том числе и к сферическим наноструктурам, особенно фуллеренам, которые представляют собой наиболее изученные наноструктуры. А без знания возможности проявления хронических эффектов трудно прогнозировать практические перспективы применения какого-либо соединения, в том числе и наноструктур углерода, какими бы они перспективными не выглядели [19]. Хотя некоторый оптимизм внушает тот факт, что для наноструктур углерода не обнаружена острая токсичность.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого автора: Е.В. Литасова, В.В. Ильин, М.А. Брусина — написание статьи, анализ данных; Л.Б. Пиотровский — редактирование статьи, разработка общей концепции.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-01135-22-00 Минобрнауки России.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Литасова Е.В., Ильин В.В., Мызников Л.В., Пиотровский Л.Б. Токсикология наноструктур углерода. Часть I. Сферические наночастицы (фуллерены и наноионы) // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022. Т. 20, № 1. С. 5–15. DOI: 10.17816/RCF2015-15
2. Пиотровский Л.Б. *Очерки по наномедицине*. Санкт-Петербург: Европейский дом. 2013. 207 с.
3. Jabeen S., Kausar A., Muhammad B., et al. A Review on polymeric nanocomposites of nanodiamond, carbon nanotube, and nanofiller: structure, preparation and properties // *Polym Plast Technol Eng*. 2015. Vol. 54, No. 13. P. 1379–1409. DOI: 10.1080/03602559.2015.1021489
4. Endo M., Iijima S., Dresselhaus M., eds. *Carbon nanotubes*. Pergamon, 1996. 183 p.
5. Iijima S. Helical microtubules in graphitic carbon // *Nature*. 1991. Vol. 354. P. 56–58. DOI: 10.1038/354056a0
6. Iijima S., Ichihashi T. Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter // *Nature*. 1993. Vol. 363. P. 603–605. DOI: 10.1038/363603a0
7. Oberlin A., Endo M., Koyama T. High resolution electron microscope observations of graphitized carbon fibers // *Carbon*. 1976. Vol. 14. P. 133–135. DOI: 10.1016/0008-6223(76)90124-X
8. Bethune D.S., Kiang C.H., de Vries M.S., et al. Cobalt-catalysed growth of carbon nanotubes with single-atomic-layer walls. *Nature*. 1993. Vol. 363. P. 605–607. DOI: 10.1038/363605a0
9. Popov V. Carbon nanotubes: properties and application // *Mater Sci Engin R*. 2004. Vol. 43, No. 3. P. 61–102. DOI: 10.1016/j.mser.2003.10.001
10. He H., Pham-Huy L., Dramou P., et al. Carbon nanotubes: applications in pharmacy and medicine // *BioMed Res Int*. 2013. Vol. 2013. P. 578290. DOI: 10.1155/2013/578290
11. Patel D.K., Kim H.B., Dutta S.D., et al. Carbon nanotubes-based nanomaterials and their agricultural and biotechnological applications // *Materials (Basel)*. 2020. Vol. 13, No. 7. P. 1679. DOI: 10.3390/ma13071679
12. Kolosnjaj-Tabi J., Just J., Hartman K.B., et al. Anthropogenic carbon nanotubes found in the airways of parisian children // *EBio Medicine*. 2015. Vol. 2, No. 7. P. 1697–1704. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.10.012
13. Aoki K., Saito N. Biocompatibility and carcinogenicity of carbon nanotubes as biomaterials // *Nanomaterials (Basel)*. 2020. Vol. 10, No. 2. P. 264. DOI: 10.3390/nano10020264

## ADDITIONAL INFORMATION

**Authors' contribution.** Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. The contribution of each author: E.V. Litasova, V.V. Ilyin, M.A. Brusina — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; L.B. Piotrovsky — paper re-conceptualization and general concept discussion.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Funding source.** This study was supported by State Programme No. 075-01135-22-00, Ministry of Science and High Education of Russia.

14. Kane A.B., Hurt R.H., Gao H. The asbestos-carbon nanotube analogy: an update // *Toxicol Appl Pharmacol*. 2018. Vol. 361. P. 68–80. DOI: 10.1016/j.taap.2018.06.027
15. Born P.J.A. Particle toxicology: from coal mining to nanotechnology // *Inhal Toxicol*. 2002. Vol. 14, No. 3. P. 311–324. DOI: 10.1080/08958370252809086
16. Bermudez E., Mangum J.B., Wong B.A., et al. Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles // *Toxicol Sci*. 2004. Vol. 77, No. 2. P. 347–357. DOI: 10.1093/toxsci/kfh019
17. Oberdörster G., Oberdörster E., Oberdörster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles // *Environ Health Perspect*. 2005. Vol. 113, No. 7. P. 823–839. DOI: 10.1289/ehp.7339
18. Hamilton R.F. Jr., Tsuruoka S., Wu N., et al. Length, but not reactive edges, of cup-stack MWCNT is responsible for toxicity and acute lung inflammation // *Toxicol Pathol*. 2018. Vol. 46, No. 1. P. 62–74. DOI: 10.1177/0192623317732303
19. Francis A.P., Devasena T. Toxicity of carbon nanotubes: A review // *Toxicol Ind Health*. 2018. Vol. 34, No. 3. P. 200–210. DOI: 10.1177/0748233717747472
20. Mohanta D., Patnaik S., Sood S., Das N. Carbon nanotubes: Evaluation of toxicity at biointerfaces // *J Pharmac Analysis*. 2019. Vol. 9, No. 5. P. 293–300. DOI: 10.1016/j.jpha.2019.04.003
21. Samak D.H., El-Sayed Y.S., Shaheen H.M. et al. Developmental toxicity of carbon nanoparticles during embryogenesis in chicken // *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020. Vol. 27, No. 16. P. 19058–19072. DOI: 10.1007/s11356-018-3675-6
22. Saleemi M.A., Hosseini Fouladi M., et al. Toxicity of carbon nanotubes: molecular mechanisms, signaling cascades, and remedies in biomedical applications // *Chem Res Toxicol*. 2021. Vol. 34, No. 1. P. 24–46. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.0c00172
23. Lam C., James J.T., McCluskey R., Hunter R. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation // *Toxicol Sci*. 2004. Vol. 77. P. 126–134. DOI: 10.1093/toxsci/kfg243
24. Warheit D.B., Laurence B.R., Reed K.L., et al. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats // *Toxicol Sci*. 2004. Vol. 77, No. 1. P. 117–125. DOI: 10.1093/toxsci/kfg228

- 25.** Huczko A., Lange H., Bystrzejewski M., et al. Pulmonary toxicity of 1-D nanocarbon materials // *Fullerenes Nanotubes, Carbon Nanostructures*. 2005. Vol. 13. P. 141–145. DOI: 10.1081/FST-200050691
- 26.** Grubek-Jaworska H., Nejman P., Czuminiska K., et al. Preliminary results on the pathogenic effects of intratracheal exposure to one-dimensional nanocarbons // *Carbon*. 2006. Vol. 44. P. 1057–1063. DOI: 10.1016/j.carbon.2005.12.011
- 27.** Shvedova A.A., Kisin E.R., Mercer R., et al. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005. Vol. 289, No. 5. P. 698–708. DOI: 10.1152/ajplung.00084.2005
- 28.** Maynard AD. Nanotechnology assessing the risks // *Nano Today*. 2006. Vol. 1, No. 2. P. 22–33. DOI: 10.1016/S1748-0132(06)70045-7
- 29.** Muller J., Huaux F., Lison D. Respiratory toxicity of carbon nanotubes: how worried should we be? // *Carbon*. 2006. Vol. 44, No. 6. P. 1048–1056. DOI: 10.1016/j.carbon.2005.10.019
- 30.** Smart S.K., Cassady A.I., Lu G.Q., Martin D.J. The biocompatibility of carbon nanotubes // *Carbon*. 2006. Vol. 44, No. 6. P. 1034–1047. DOI: 10.1016/j.carbon.2005.10.011
- 31.** Magrez A., Kasas S., Salicio V., et al. Cellular toxicity of carbon-based nanomaterials // *Nano Lett*. 2006. Vol. 6, No. 6. P. 1121–1125. DOI: 10.1021/nl060162e
- 32.** Jia G., Wang H., Yan L., et al. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene // *Environ Sci Technol*. 2005. Vol. 39, No. 5. P. 1378–1383. DOI: 10.1021/es0487291
- 33.** Monteiro-Riviere N.A., Inman A.O. Challenges for assessing carbon nanomaterial toxicity to the skin // *Carbon*. 2006. Vol. 44, No. 6. P. 1070–1078. DOI: 10.1016/j.carbon.2005.11.004
- 34.** Cui D., Tian F., Ozkan C.S., et al. Effect of single wall carbon nanotubes on human HEK293 cells // *Toxicol Lett*. 2005. Vol. 155, No. 1. P. 73–85. DOI: 10.1016/j.toxlet.2004.08.015
- 35.** Shvedova A.A., Castranova V., Kisin E.R., et al. Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells // *J Toxicol Environ Health A*. 2003. Vol. 66, No. 20. P. 1909–1926. DOI: 10.1080/713853956
- 36.** Yan H., Xue Z., Xie J., et al. Toxicity of carbon nanotubes as anti-tumor drug carriers // *Internat J Nanomedicine* 2019. Vol. 14. P. 10179–10194. DOI: 10.2147/IJN.S220087
- 37.** Ding L., Stilwell J., Zhang T., et al. Molecular characterization of the cytotoxic mechanism of multiwall carbon nanotubes and nanofibers on human skin fibroblast // *Nano Lett*. 2005. Vol. 5, No. 12. P. 2448–2464. DOI: 10.1021/nl051748o
- 38.** Cherukuri P., Bachilo S.M., Litovsky S.H., Weisman R.B. Near-infrared fluorescence microscopy of single-walled carbon nanotubes in phagocytic cells // *J Am Chem Soc*. 2004. Vol. 126, No. 48. P. 15638–15639. DOI: 10.1021/ja0466311
- 39.** Garibaldi S., Brunelli C., Bavastrello V., et al. Carbon nanotube biocompatibility with cardiac muscle cells // *Nanotechnology*. 2006. Vol. 17, No. 2. P. 391–397. DOI: 10.1088/0957-4484/17/2/008
- 40.** Pantarotto D., Briand J.P., Prato M., Bianco A. Translocation of bioactive peptides across cell membranes by carbon nanotubes // *J Chem Soc Chem Commun*. 2004. No. 1. P. 16–17. DOI: 10.1039/B311254C
- 41.** Chlopek J., Czajkowska B., Szaraniec B., et al. *In vitro* studies of carbon nanotubes biocompatibility // *Carbon*. 2006. Vol. 44, No. 6. P. 1106–1111. DOI: 10.1016/j.carbon.2005.11.022
- 42.** Requardt H., Braun A., Steinberg P., et al. Surface defects reduce carbon nanotube toxicity *in vitro* // *Toxicol In Vitro*. 2019. Vol. 60. P. 12–18. DOI: 10.1016/j.tiv.2019.03.028
- 43.** Ebbesen T. Cones and tubes: geometry in the chemistry of carbon // *Acc Chem Res*. 1998. Vol. 31. P. 558–566. DOI: 10.1021/ar960168i
- 44.** Piotrovskiy L.B., Kudryavtseva T.A., Litasova E.V. Properties and biological potential of single wall carbon nanohorns (SWCNH) // *Rev Clinical Pharmacol Drug Ther*. 2020. Vol. 18, No. 3. P. 185–195. DOI: 10.17816/RCF183185-195
- 45.** Shvedova A.A., Castranova V., Kisin E.R., et al. Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells // *J Toxicol Environ Health A*. 2003. Vol. 66, No. 20. P. 1909–1926. DOI: 10.1080/713853956
- 46.** Tahara Y., Miyawaki J., Zhang M., et al. Histological assessments for toxicity and functionalization-dependent biodistribution of carbon nanohorns // *Nanotechnology*. 2011. Vol. 22, No. 26. P. 265106. DOI: 10.1088/0957-4484/22/26/265106
- 47.** d'Amora M., Camisasca A., Lettieri S., Giordani S. Toxicity assessment of carbon nanomaterials in zebrafish during development // *Nanomaterials (Basel)*. 2017. Vol. 7, No. 12. P. 414. DOI: 10.3390/nano7120414
- 48.** Zhang M., Yang M., Bussy C., et al. Biodegradation of carbon nanohorns in macrophage cells // *Nanoscale* 2015. Vol. 7, No. 7. P. 2834–2840. DOI: 10.1039/C4NR06175F
- 49.** Moschino V., Nesto N., Barison S., et al. A preliminary investigation on nanohorn toxicity in marine mussels and polychaetes // *Sci Total Environ*. 2014. Vol. 468–469. P. 111–119. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.08.020
- 50.** Zhang M., Yamaguchi T., Iijima S., Yudasaka M. Size-dependent biodistribution of carbon nanohorns *in vivo* // *Nanomedicine*. 2013. Vol. 9, No. 5. P. 657–664. DOI: 10.1016/j.nano.2012.11.011
- 51.** Schramm F., Lange M., Hoppmann P., Heutelbeck A. Cytotoxicity of carbon nanohorns in different human cells of the respiratory system // *J Toxicol Environ Health A*. 2016. Vol. 79, No. 22–23. P. 1085–1093. DOI: 10.1080/15287394.2016.1219594
- 52.** Karousis N., Suarez-Martinez I., Ewels C.P., Tagmatarchis N. Structure, properties, functionalization, and applications of carbon nanohorns // *Chem Rev*. 2016. Vol. 116, No. 8. P. 4850–4883. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00611
- 53.** Pippa N., Stangel C., Kastanas I., et al. Carbon nanohorn/liposome systems: Preformulation, design and *in vitro* toxicity studies // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019. Vol. 105. P. 110114. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110114
- 54.** Miyako E., Deguchi T., Nakajima Y., et al. Photothermal regulation of gene expression triggered by laser-induced carbon nanohorns // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012. Vol. 109, No. 19. P. 7523–7528. DOI: 10.1073/pnas.1204391109
- 55.** Isobe H., Tanaka T., Maeda R., et al. Preparation, purification, characterization, and cytotoxicity assessment of water-soluble, transition-metal-free carbon nanotube aggregates // *Angew Chem Int Ed Engl*. 2006. Vol. 45, No. 5. P. 6676–6680. DOI: 10.1002/anie.200601718
- 56.** Lacotte S., Garcia A., Decossas M., et al. Interfacing functionalized carbon nanohorns with primary phagocytic cells // *Adv Mater*. 2008. Vol. 20, No. 12. P. 2421–2426. DOI: 10.1002/adma.200702753
- 57.** Miyawaki J., Yudasaka M., Azami T., et al. Toxicity of single-walled carbon nanohorns // *ACS Nano*. 2008. Vol. 2, No. 2. P. 213–226. DOI: 10.1021/nl00185t
- 58.** Xiang G., Zhang J., Huang, R. Single-walled carbon nanohorn (SWNH) aggregates inhibited proliferation of human liver cell lines and promoted apoptosis, especially for hepatoma cell lines // *Int J Nanomedicine*. 2014. Vol. 9, No. 1. P. 759–773. DOI: 10.2147/IJN.S56353

59. Yang M., Zhang M., Tahara Y., et al. Lysosomal membrane permeabilization: carbon nanohorn-induced reactive oxygen species generation and toxicity by this neglected mechanism // *Toxic Appl Pharmacol.* 2014. Vol. 280, No. 1. P. 117–126. DOI: 10.1016/j.taap.2014.07.022
60. Nakamura M., Tahara Y., Murakami T., et al. Gastrointestinal actions of orally-administered single-walled carbon nanohorns // *Carbon* 2014. Vol. 69. P. 409–416. DOI: 10.1016/j.carbon.2013.12.043
61. Tahara Y., Nakamura M., Yang M., et al. Lysosomal membrane destabilization induced by high accumulation of single-walled carbon nanohorns in murine macrophage RAW 264.7 // *Biomaterials.* 2012. Vol. 33, No. 9. P. 2762–2769. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.12.023
62. Romero G., Estrela-Lopis I., Castro-Hartmann P., et al. Step-wise surface tailoring of carbon nanotubes with polyelectrolyte brushes and lipid layers to control their intracellular distribution and 'in vitro' toxicity // *Soft Matter.* 2011. Vol. 7, No. 15. P. 6883–6890. DOI: 10.1039/C0SM01511C
63. Zhang J., Sun Q., Bo J., et al. G. Single-walled carbon nanohorn (SWNH) aggregates inhibited proliferation of human liver cell lines and promoted apoptosis, especially for hepatoma cell lines // *Int J Nanomedicine.* 2014. Vol. 9. P. 759–773. DOI: 10.2147/IJN.S56353
64. Lynch R.M., Voy B.H., Glass D.F., et al. Assessing the pulmonary toxicity of single-walled carbon nanohorns // *Nanotoxicology.* 2007. Vol. 1, No. 2. P. 157–166. DOI: 10.1080/17435390701598496
65. Sanchez V.C., Jachak A., Hurt R.H., Kane A.B. Biological interactions of graphene-family nanomaterials: an interdisciplinary review // *Chem Res Toxicol.* 2012. Vol. 25, No. 1. P. 15–34. DOI: 10.1021/tx200339h
66. Bianco A. Graphene: safe or toxic? The two faces of the medal // *Angew Chem Int Ed.* 2013. Vol. 52, No. 19. P. 4986–4997. DOI: 10.1002/anie.201209099
67. Tadzysak K., Wychowanec J., Litowczenko J. Biomedical applications of graphene-based structures // *Nanomaterials* 2018. Vol. 8, No. 11. P. 944. DOI: 10.3390/nano8110944
68. Guo X., Mei N. Assessment of the toxic potential of graphene family nanomaterials // *J Food Drug Anal.* 2014. Vol. 22, No. 1. P. 105–115. DOI: 10.1016/j.jfda.2014.01.009
69. Nezakati T., Cousins B.G., Seifalian A.N. Toxicology of chemically modified graphene-based materials for medical application // *Arch Toxicol.* 2014. Vol. 88, No. 11. P. 1987–2012. DOI: 10.1007/s00204-014-1361-0
70. Seabra A.B., Paula A.J., de Lima R., et al. Nanotoxicity of graphene and graphene oxide // *Chem Res Toxicol.* 2014. Vol. 27, No. 2. P. 159–168. DOI: 10.1021/tx400385x
71. Lalwani G., D'Agati M., Khan A.M., Sitharaman B. Toxicology of graphene based nanomaterials // *Adv Drug Deliv Rev.* 2016. Vol. 105, Pt B. P. 109–144. DOI: 10.1016/j.laddr.2016.04.028
72. Ou L., Song B., Liang H., et al. Toxicity of graphene-family nanoparticles: a general review of the origins and mechanisms // *Part Fibre Toxicol.* 2016. Vol. 13, No. 1. P. 57. DOI: 10.1186/s12989-016-0168-y
73. Devasena T., Francis A.P., Ramaprabhu S. Toxicity of Graphene: An Update // *Rev Environ Contam Toxicol.* 2021. Vol. 259. P. 51–76. DOI: 10.1007/398\_2021\_78
74. Rhazouani A., Gamrani H., El Achaby M., et al. Synthesis and toxicity of graphene oxide nanoparticles: a literature review of *in vitro* and *in vivo* studies // *Biomed Res Int.* 2021. Vol. 2021. P. 5518999. DOI: 10.1155/2021/5518999
75. Ema M., Gamo M., Honda K. A review of toxicity studies on graphene-based nanomaterials in laboratory animals // *Regulatory Toxicol Pharmacol.* 2017. Vol. 85. P. 7–24. DOI: 10.1016/j.yrtph.2017.01.011
76. Poland C.A., Duffin R., Kinloch I., et al. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study // *Nat Nanotechnol.* 2008. Vol. 3, No. 7. P. 423–428. DOI: 10.1038/nnano.2008.111
77. Braakhuis H.M., Park M.V.D.Z., Gosens I., et al. Physicochemical characteristics of nanomaterials that affect pulmonary inflammation // *Part Fibre Toxicol.* 2014. Vol. 11. P. 18. DOI: 10.1186/1743-8977-11-18
78. Donaldson K., Murphy F.A., Duffin R., Poland C. Asbestos, carbon nanotubes and the pleural mesothelium: a review of the hypothesis regarding the role of lung fibre retention in the parietal pleura, inflammation and mesothelioma // *Part Fibre Toxicol.* 2010. Vol. 7. P. 5. DOI: 10.1186/1743-8977-7-5
79. Schinwald A., Murphy F., Askounis A. et al. Minimal oxidation and inflammogenicity of pristine graphene with residence in the lung // *Nanotoxicology.* 2014. Vol. 8, No. 8. P. 824–832. DOI: 10.3109/17435390.2013.831502
80. Sasidharan A., Swaroop S., Koduri C.K. et al. Comparative *in vivo* toxicity, organ biodistribution and immune response of pristine, carboxylate and PEGylated few-layer graphene sheets in Swiss albino mice: a three month study // *Carbon* 2015. Vol. 95. P. 511–524. DOI: 10.1016/j.carbon.2015.08.074
81. Ma J., Liu R., Wan X., et al. Crucial role of lateral size for graphene oxide in activating macrophages and stimulating pro-inflammatory responses in cells and animals // *ACS Nano* 2015. Vol. 9, No. 10. P. 10498–10515. DOI: 10.1021/acsnano.5b04751
82. Liu J.H., Wang T., Wang H., et al. Biocompatibility of graphene oxide intravenously administered in mice—effects of dose, size and exposure protocols // *Toxicol Res.* 2015. Vol. 4. P. 83–91. DOI: 10.1039/C4TX00044G
83. Liu J.H., Yang S.T., Wang H., et al. Effect of size and dose on the biodistribution of graphene oxide in mice // *Nanomedicine (Lond).* 2012. Vol. 7, No. 12. P. 1801–1812. DOI: 10.2217/nmm.12.60
84. Zhang X., Yin J., Peng C., et al. Distribution and biocompatibility studies of graphene oxide in mice after intravenous administration // *Carbon* 2011. Vol. 49, No. 3. P. 986–995. DOI: 10.1016/j.carbon.2010.11.005
85. Li B., Zhang X.Y., Yang J.Z., et al. Influence of polyethylene glycol coating on biodistribution and toxicity of nanoscale graphene oxide in mice after intravenous injection // *Int J Nanomed.* 2014. Vol. 9. P. 4697–4707. DOI: 10.2147/IJN.S66591
86. Guo J.X., Zhang X., Li Q.N., Li W.X. Biodistribution of functionalized multiwall carbon nanotubes in mice // *Nucl Med Biol.* 2007. Vol. 34, No. 5. P. 579–583. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2007.03.003
87. Wang X., Duch M.C., Mansukhani N., et al. Use of a pro-fibrogenic mechanism-based predictive toxicological approach for tiered testing and decision analysis of carbonaceous nanomaterials // *ACS Nano* 2015. Vol. 9, No. 3. P. 3032–3043. DOI: 10.1021/nn507243w
88. Ma-Hock L., Strauss V., Treumann S., et al. Comparative inhalation toxicity of multi-wall carbon nanotubes, graphene, graphite nanoplatelets and low surface carbon black // *Part Fibre Toxicol.* 2013. Vol. 10. P. 23. DOI: 10.1186/1743-8977-10-23
89. Shin J.H., Han S.G., Kim J.K., et al. 5-day repeated inhalation and 28-day post-exposure study of graphene // *Nanotoxicology.* 2015. Vol. 9, No. 8. P. 1023–1031. DOI: 10.3109/17435390.2014.998306
90. Kim J.K., Shin J.H., Lee J.S., et al. 28-day inhalation toxicity of graphene nanoplatelets in Sprague-Dawley rats // *Nanotoxicology* 2016. Vol. 10, No. 7. P. 891–901. DOI: 10.3109/17435390.2015.1133865
91. Han S.G., Kim J.K., Shin J.H., et al. Pulmonary responses of Sprague-Dawley rats in single inhalation exposure to graphene oxide nanomaterials // *Biomed Res Int.* 2015. Vol. 2015. P. 376756. DOI: 10.1155/2015/376756

92. Duch M.C., Budinger G.R.S., Liang Y.T., et al. Minimizing oxidation and stable nanoscale dispersion improves the biocompatibility of graphene in the lung // *Nano Lett.* 2011. Vol. 11, No. 12. P. 5201–5207. DOI: 10.1021/nl202515a
93. Park E.J., Lee G.H., Han B.S., et al. Toxic response of graphene nanoplatelets *in vivo* and *in vitro* // *Arch Toxicol.* 2015. Vol. 89, No. 9. P. 1557–1568. DOI: 10.1007/s00204-014-1303-x
94. Mao L., Hu M., Pan B., et al. Biodistribution and toxicity of radio-labeled few layer graphene in mice after intratracheal instillation // *Part Fibre Toxicol.* 2016. Vol. 13. P. 7. DOI: 10.1186/s12989-016-0120-1
95. Lee J.K., Jeong A.Y., Bae J., et al. The role of surface functionalization on the pulmonary inflammogenicity and translocation into mediastinal lymph nodes of graphene nanoplatelets in rats // *Arch Toxicol.* 2017. Vol. 91, No. 2. P. 667–676. DOI: 10.1007/s00204-016-1706-y
96. Ali-Boucetta H., Bitounis D., Raveendran-Nair R., et al. Purified graphene oxide dispersions lack *in vitro* cytotoxicity and *in vivo* pathogenicity // *Adv Health Mater.* 2013. Vol. 2, No. 3. P. 433–441. DOI: 10.1002/adhm.201200248
97. Chong Y., Ma Y., Shen H., et al. The *in vitro* and *in vivo* toxicity of graphene quantum dots // *Biomaterials.* 2014. Vol. 35, No. 19. P. 5041–5048. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.03.021
98. Stone V., Johnston H., Schins R.P. Development of *in vitro* systems for nanotoxicology: methodological considerations. *Crit Rev Toxicol.* 2009. Vol. 39, No. 7. P. 613–626. DOI: 10.1080/10408440903120975
99. Moller P., Jacobsen N.R., Folkman J.K., et al. Role of oxidative damage in toxicity of particulates. *Free Rad Res.* 2010. Vol. 44, No. 1. P. 1–46. DOI: 10.3109/10715760903300691
100. Zhang Y., Ali S.F., Dervishi E. et al. Cytotoxicity effects of graphene and single-wall carbon nanotubes in neuralphaeochromocytoma-derived PC12 cells // *ACS Nano.* 2010. Vol. 4, No. 6. P. 3181–3186. DOI: 10.1021/nn1007176
101. Liu L., Zhu C., Fan M., et al. Oxidation and degradation of graphitic materials by naphthalene-degrading bacteria // *Nanoscale.* 2015. Vol. 7, No. 32. P. 13619–13628. DOI: 10.1039/C5NR02502H
102. Hu W., Peng C., Lv M., et al. Protein corona-mediated mitigation of cytotoxicity of graphene oxide // *ACS Nano.* 2011. Vol. 5, No. 5. P. 3693–3700. DOI: 10.1021/nn200021j
103. Gebel T., Foth H., Damm G., et al. Manufactured nanomaterials: categorization and approaches to hazard assessment // *Arch Toxicol.* 2014. Vol. 88, No. 12. P. 2191–2211. DOI: 10.1007/s00204-014-1383-7
104. Khan H., Shanker R. Toxicity of nanomaterials // *Biomed Res Int.* 2015. Vol. 2015. P. 521014. DOI: 10.1155/2015/521014
105. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева: 2-изд., перераб. и доп. Москва: Медицина, 2005. 832 с.
106. Mochalin V.N., Shenderova O., Ho D., Gogotsi Y. The properties and applications of nanodiamonds // *Nat Nanotechnol.* 2012. Vol. 7, No. 1. P. 11–23. DOI: 10.1038/nnano.2011.209
107. Tang G.F., Zhang M.R., Liu Q.Q., et al. Applications of nanodiamonds in the diagnosis and treatment of neurological diseases // *J Nanopart Res.* 2022. Vol. 24, No. 3. P. 55. DOI: 10.1007/s11051-022-05434-2
108. Vlasov I.I., Shiryayev A.A., Rendler T., et al. Molecular-sized fluorescent nanodiamonds // *Nat Nanotechnol.* 2014. Vol. 9, No. 1. P. 54–58. DOI: 10.1038/nnano.2013.255
109. Boudou J.P., Tisler J., Reuter R., et al. Fluorescent nanodiamonds derived from HPHT with a size of less than 10 nm // *Diamond Related Materials.* 2013. Vol. 37. P. 80–86. DOI: 10.1016/j.diamond.2013.05.006
110. Laan van der K., Hasani M., Zheng T., Schirhagl R. Nanodiamonds for *in vivo* applications // *Small.* 2018. Vol. 14, No. 19. P. e1703838. DOI: 10.1002/smll.201703838
111. Yu S.J., Kang M.W., Chang H.C., et al. Bright fluorescent nanodiamonds: no photobleaching and low cytotoxicity // *J Am Chem Soc.* 2005. Vol. 127, No. 50. P. 17604–17605. DOI: 10.1021/ja0567081
112. Schirhagl R., Chang K., Loretz M., Degen C.L. Nitrogen-vacancy centers in diamond: nanoscale sensors for physics and biology // *Annu Rev Phys Chem.* 2014. Vol. 65. P. 83–105. DOI: 10.1146/annurev-physchem-040513-103659
113. Mukherjee A., Majumdar S., Servin A.D., et al. Carbon Nanomaterials in Agriculture: A Critical Review // *Front Plant Sci.* 2016. Vol. 7. P. 172. DOI: 10.3389/fpls.2016.00172
114. Terada D., Genjo T., Segawa T.F., et al. Nanodiamonds for bioapplications — specific targeting strategies // *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2020. Vol. 1864, No. 2. P. 129354. DOI: 10.1016/j.bbagen.2019.04.019
115. Liu Y.Y., Chang B.M., Chang H.C. Nanodiamond-enabled biomedical imaging // *Nanomedicine (Lond).* 2020. Vol. 15, No. 16. P. 1599–1616. DOI: 10.2217/nnm-2020-0091
116. Tinwala H., Wairkar S. Production, surface modification and biomedical applications of nanodiamonds: A sparkling tool for theranostics // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019. Vol. 97. P. 913–931. DOI: 10.1016/j.msec.2018.12.073
117. The Autobiography of Benvenuto Cellini. (Penguin Classics); Revised ed. Edition. 1999. P. 465.
118. Schrand A.M., Huang H., Carlson C., et al. Are diamond nanoparticles cytotoxic? // *J Phys Chem B.* 2007. Vol. 111, No. 1. P. 2–7. DOI: 10.1021/jp066387v
119. Schrand A.M., Hens S.A.C., Shenderova O.A. Nanodiamond particles: properties and perspectives for bioapplication, // *Critical Rev Solid State Mater Sci.* 2009. Vol. 34, No. 1. P. 18–74. DOI: 10.1080/10408430902831987
120. Долматов В.Ю. Детонационные наноалмазы. Получение, свойства, применение. Санкт-Петербург: Профессионал, 2011. 534 с.
121. Bondon N., Raehm L., Charnay C., et al. Nanodiamonds for bioapplications, recent developments // *J Mater Chem B.* 2020. Vol. 8, No. 48. P. 10878–10896. DOI: 10.1039/d0tb02221g
122. Lee D.K., Ha S., Jeon S., et al. The  $sp^3/sp^2$  carbon ratio as a modulator of *in vivo* and *in vitro* toxicity of the chemically purified detonation-synthesized nanodiamond via the reactive oxygen species generation // *Nanotoxicology.* 2020. Vol. 14, No. 9. P. 1213–1226. DOI: 10.1080/17435390.2020.1813825
123. Karpeta-Kaczmarek J., Kędziorski A., Augustyniak-Jabłotkow M.A., et al. Chronic toxicity of nanodiamonds can disturb development and reproduction of *Acheta domesticus L* // *Environmental Research* 2018. Vol. 166. P. 602–609. DOI: 10.1016/j.envres.2018.05.027
124. Turcheniuk K., Mochalin V.N. Biomedical applications of nanodiamonds // *Nanotechnology.* 2017. Vol. 28, No. 25. P. 252001. DOI: 10.1088/1361-6528/aa6ae4
125. Jariwala D.H., Patel D., Wairkar S. Surface functionalization of nanodiamonds for biomedical applications // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020. Vol. 113. P. 110996. DOI: 10.1016/j.msec.2020.110996
126. Zhang X., Yin J., Kang C., et al. Biodistribution and toxicity of nanodiamonds in mice after intratracheal instillation // *Toxicology Letters* 2010. Vol. 198, No. 2. P. 237–243. DOI: 10.1016/j.toxlet.2010.07.001
127. Raja I.S., Song S.J., Kang M.S., et al. Toxicity of zero- and one-dimensional carbon nanomaterials // *Nanomaterials (Basel).* 2019. Vol. 9, No. 9. P. 1214. DOI: 10.3390/nano9091214

- 128.** Yuan Y., Wang X., Jia G., et al. Pulmonary toxicity and translocation of nanodiamonds in mice // *Diamond Relat Mater.* 2010. Vol. 19, No. 4. P. 291. DOI: 10.1016/j.diamond.2009.11.022
- 129.** Ma Q., Zhang Q., Yang S., et al. Toxicity of nanodiamonds to white rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* through oxidative stress // *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2020. Vol. 187. P. 110658. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110658
- 130.** Chow E.K., Zhang X.Q., Chen M., et al. Nanodiamond therapeutic delivery agents mediate enhanced chemoresistant tumor treatment // *Sci Trans Med.* 2011. Vol. 3, No. 73. P. 73ra21. DOI: 10.1126/scitranslmed.3001713
- 131.** Mitura K.A., Włodarczyk E. Fluorescent nanodiamonds in biomedical applications // *J AOAC Int.* 2018. Vol. 101, No. 5. P. 1297–1307. DOI: 10.5740/jaoacint.18-0044
- 132.** Hemelaar S.R., Saspaanithy B., L'Hommelet S.R.M., et al. The response of HeLa cells to fluorescent nanodiamond uptake // *Sensors.* 2018. Vol. 18, No. 2. P. 355. DOI: 10.3390/s18020355
- 133.** Prabhakar N., Khan M.H., Peurla M., et al. Intracellular trafficking of fluorescent nanodiamonds and regulation of their cellular toxicity // *ACS Omega.* 2017. Vol. 2, No. 6. P. 2689–2693. DOI: 10.1021/acsomega.7b00339
- 134.** Puzyr A.P., Baron A.V., Purtov K.V., et al. Nanodiamonds with novel properties: a biological study // *Diamond Relat Mater.* 2007. Vol. 16, No. 12. P. 2124–2128. DOI: 10.1016/j.diamond.2007.07.025
- 135.** Chang I.P., Hwang K.C., Chiang C.S. Preparation of fluorescent magnetic nanodiamonds and cellular imaging // *J Am Chem Soc.* 2008. Vol. 130, No. 46. P. 15476–15481. DOI: 10.1021/ja804253y
- 136.** Mochalin V.N., Gogotsi Y. Wet chemistry route to hydrophobic blue fluorescent nanodiamond // *J Am Chem Soc.* 2009. Vol. 131, No. 13. P. 4594–4595. DOI: 10.1021/ja9004514
- 137.** Chang C.C., Zhang B., Li C.Y., et al. Exploring cytoplasmic dynamics in zebrafish yolk cells by single particle tracking of fluorescent nanodiamonds // *Proc SPIE.* 2012. Vol. 8272. P. 827205–827208. DOI: 10.1117/12.907181
- 138.** Lin Y.C., Wu K.T., Lin Z.R., et al. Nanodiamond for biolabelling and toxicity evaluation in the zebrafish embryo *in vivo* // *J Biophotonics.* 2016. Vol. 9, No. 8. P. 827–836. DOI: 10.1002/jbio.201500304
- 139.** Mohan N., Chen C.S., Hsieh H.H., et al. *In vivo* imaging and toxicity assessments of fluorescent nanodiamonds in *Caenorhabditis elegans* // *Nano Lett.* 2010. Vol. 10, No. 9. P. 3692–3699. DOI: 10.1021/nl1021909
- 140.** Chauhan S., Jain N., Nagaich U. Nanodiamonds with powerful ability for drug delivery and biomedical applications: Recent updates on *in vivo* study and patents // *J Pharm Anal.* 2020. Vol. 10. No. 1. P. 1–12. DOI: 10.1016/j.jpha.2019.09.003
- 141.** Chao J.I., Perevedentseva E., Chung P.H., et al. Nanometer-sized diamond particle as a probe for biolabeling // *Biophysical J.* 2007. Vol. 93, No. 6. P. 2199–2208. DOI: 10.1529/biophysj.107.108134
- 142.** Hemelaar S.R., Saspaanithy B., et al. The Response of HeLa Cells to Fluorescent Nano Diamond Uptake // *Sensors (Basel).* 2018. Vol. 18, No. 2. P. 355. DOI: 10.3390/s18020355
- 143.** Su S., Wang S., Qiu J. Biofunctionalization of nanodiamonds through facile cytochrome P450 catalysis // *Sci Adv Mater.* 2014. Vol. 6, No. 1. P. 203–208. DOI: 10.1166/sam.2014.1689
- 144.** Pan Y., Ong C.E., Pung Y.F., Chieng J.Y. The current understanding of the interactions between nanoparticles and cytochrome P450 enzymes — a literature-based review // *Xenobiotica.* 2019. Vol. 49, No. 7. P. 863–876. DOI: 10.1080/00498254.2018.1503360
- 145.** Hodek P., Bortek-Dohalská L., Sopko B., et al. Structural requirements for inhibitors of cytochromes P450 2B: assessment of the enzyme interaction with diamondoids // *J Enzyme Inhib. Med Chem.* 2005. Vol. 20, No. 1. P. 25–33. DOI: 10.1080/14756360400024324

## REFERENCES

- 1.** Litasova EV, Iljin VV, Myznikov LV, Piotrovskiy LB. Toxicology of carbon nanostructures. Part I. Spherical nanoparticles (fullerenes and nanooxions). *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2022;20(1):5–15. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF2015-15
- 2.** Piotrovskiy LB. Essays on nanomedicine. Saint Petersburg: Evropeyskiy dom; 2013, 207 p. (In Russ.)
- 3.** Jabeen S, Kausar A, Muhammad B, et al. A Review on polymeric nanocomposites of nanodiamond, carbon nanotube, and nanobifiller: structure, preparation and properties. *Polym Plast Technol Eng.* 2015;54(13):1379–1409. DOI: 10.1080/03602559.2015.1021489
- 4.** Endo M, Iijima S, Dresselhaus M, eds. Carbon nanotubes. Pergamon, 1996, 183 p.
- 5.** Iijima S. Helical microtubules in graphitic carbon. *Nature.* 1991;354:56–58. DOI: 10.1038/354056a0
- 6.** Iijima S, Ichihashi T, Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *Nature.* 1993;363:603–605. DOI: 10.1038/363603a0
- 7.** Oberlin A, Endo M, Koyama T. High resolution electron microscope observations of graphitized carbon fibers. *Carbon.* 1976;14:133–135. DOI: 10.1016/0008-6223(76)90124-X
- 8.** Bethune DS, Kiang CH, de Vries MS, et al. Cobalt-catalysed growth of carbon nanotubes with single-atomic-layer walls. *Nature.* 1993;363:605–607. DOI: 10.1038/363605a0
- 9.** Popov V. Carbon nanotubes: properties and application. *Mater Sci Engin R.* 2004;43(3):61–102. DOI: 10.1016/j.mser.2003.10.001
- 10.** He H., Pham-Huy L., Dramou P., et al. Carbon nanotubes: applications in pharmacy and medicine. *BioMed Res Int.* 2013;2013:578290. DOI: 10.1155/2013/578290
- 11.** Patel DK, Kim HB, Dutta SD, et al. Carbon nanotubes-based nanomaterials and their agricultural and biotechnological applications. *Materials (Basel).* 2020;13(7):1679. DOI: 10.3390/ma13071679
- 12.** Kolosnjaj-Tabi J, Just J, Hartman KB, et al. Anthropogenic carbon nanotubes found in the airways of parisian children. *EBio Medicine.* 2015;2(7):1697–1704. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.10.012
- 13.** Aoki K, Saito N. Biocompatibility and carcinogenicity of carbon nanotubes as biomaterials. *Nanomaterials (Basel).* 2020;10(2):264. DOI: 10.3390/nano10020264
- 14.** Kane AB, Hurt RH, Gao H. The asbestos-carbon nanotube analogy: an update. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2018;361:68–80. DOI: 10.1016/j.taap.2018.06.027
- 15.** Born P.J.A. Particle toxicology: from coal mining to nanotechnology. *Inhal Toxicol.* 2002;14(3):311–324. DOI: 10.1080/08958370252809086
- 16.** Bermudez E, Mangum JB, Wong BA, et al. Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles. *Toxicol Sci.* 2004;77(2):347–357. DOI: 10.1093/toxsci/kfh019

17. Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect.* 2005;113(7):823–839. DOI: 10.1289/ehp.7339
18. Hamilton RF Jr, Tsuruoka S, Wu N, et al. Length, but not reactive edges, of cup-stack MWCNT is responsible for toxicity and acute lung inflammation. *Toxicol Pathol.* 2018;46(1):62–74. DOI: 10.1177/0192623317732303
19. Francis AP, Devasena T. Toxicity of carbon nanotubes: A review. *Toxicol Ind Health.* 2018;34(3):200–210. DOI: 10.1177/0748233717747472
20. Mohanta D, Patnaik S, Sood S, Das N. Carbon nanotubes: Evaluation of toxicity at biointerfaces. *J Pharmac Analysis.* 2019;9(5):293–300. DOI: 10.1016/j.jpha.2019.04.003
21. Samak DH, El-Sayed YS, Shaheen HM, et al. Developmental toxicity of carbon nanoparticles during embryogenesis in chicken. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2020;27(16):19058–19072. DOI: 10.1007/s11356-018-3675-6
22. Saleemi MA, Hosseini Fouladi M, et al. Toxicity of carbon nanotubes: molecular mechanisms, signaling cascades, and remedies in biomedical applications. *Chem Res Toxicol.* 2021;34(1):24–46. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.0c00172
23. Lam C, James JT, McCluskey R, Hunter R. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicol Sci.* 2004;77:126–134. DOI: 10.1093/toxsci/kfg243
24. Warheit DB, Laurence BR, Reed KL, et al. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. *Toxicol Sci.* 2004;77(1):117–125. DOI: 10.1093/toxsci/kfg228
25. Huczko A, Lange H, Bystrzejewski M, et al. Pulmonary toxicity of 1-D nanocarbon materials. *Fullerene Nanotubes, Carbon Nanostructures.* 2005;13:141–145. DOI: 10.1081/FST-200050691
26. Grubek-Jaworska H, Nejman P, Czuminiska K, et al. Preliminary results on the pathogenic effects of intratracheal exposure to one-dimensional nanocarbons. *Carbon.* 2006;44:1057–1063. DOI: 10.1016/j.carbon.2005.12.011
27. Shvedova AA, Kisin ER, Mercer R, et al. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005;289(5):698–708. DOI: 10.1152/ajplung.00084.2005
28. Maynard AD. Nanotechnology assessing the risks. *Nano Today.* 2006;1(2):22–33. DOI: 10.1016/S1748-0132(06)70045-7
29. Muller J, Huaux F, Lison D. Respiratory toxicity of carbon nanotubes: how worried should we be? *Carbon.* 2006;44(6):1048–1056. DOI: 10.1016/j.carbon.2005.10.019
30. Smart SK, Cassady AI, Lu GQ, Martin DJ. The biocompatibility of carbon nanotubes. *Carbon.* 2006;44(6):1034–1047. DOI: 10.1016/j.carbon.2005.10.011
31. Magrez A, Kasas S, Salicio V, et al. Cellular toxicity of carbon-based nanomaterials. *Nano Lett.* 2006;6(6):1121–1125. DOI: 10.1021/nl060162e
32. Jia G, Wang H, Yan L, et al. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. *Environ Sci Technol.* 2005;39(5):1378–1383. DOI: 10.1021/es048729I
33. Monteiro-Riviere NA, Inman AO. Challenges for assessing carbon nanomaterial toxicity to the skin. *Carbon.* 2006;44(6):1070–1078. DOI: 10.1016/j.carbon.2005.11.004
34. Cui D, Tian F, Ozkan CS, et al. Effect of single wall carbon nanotubes on human HEK293 cells. *Toxicol Lett.* 2005;155(1):73–85. DOI: 10.1016/j.toxlet.2004.08.015
35. Shvedova AA, Castranova V, Kisin ER, et al. Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells. *J Toxicol Environ Health A.* 2003;66(20):1909–1926. DOI: 10.1080/713853956
36. Yan H, Xue Z, Xie J, et al. Toxicity of carbon nanotubes as anti-tumor drug carriers. *Internat J Nanomedicine.* 2019;14:10179–10194. DOI: 10.2147/IJN.S220087
37. Ding L., Stilwell J., Zhang T., et al. Molecular characterization of the cytotoxic mechanism of multiwall carbon nanotubes and nanoions on human skin fibroblast. *Nano Lett.* 2005;5(12):2448–2464. DOI: 10.1021/nl051748o
38. Cherukuri P, Bachilo SM, Litovsky SH, Weisman RB. Near-infrared fluorescence microscopy of single-walled carbon nanotubes in phagocytic cells. *J Am Chem Soc.* 2004;126(48):15638–15639. DOI: 10.1021/ja0466311
39. Garibaldi S, Brunelli C, Bavastrello V, et al. Carbon nanotube biocompatibility with cardiac muscle cells. *Nanotechnology.* 2006;17(2):391–397. DOI: 10.1088/0957-4484/17/2/008
40. Pantarotto D, Briand JP, Prato M, Bianco A. Translocation of bioactive peptides across cell membranes by carbon nanotubes. *J Chem Soc Chem Commun.* 2004;1:16–17. DOI: 10.1039/B311254C
41. Chlopek J, Czajkowska B, Szaraniec B, et al. *In vitro* studies of carbon nanotubes biocompatibility. *Carbon.* 2006;44(6):1106–1111. DOI: 10.1016/j.carbon.2005.11.022
42. Requardt H, Braun A, Steinberg P, et al. Surface defects reduce carbon nanotube toxicity *in vitro*. *Toxicol in Vitro.* 2019;60:12–18. DOI: 10.1016/j.tiv.2019.03.028
43. Ebbesen T. Cones and tubes: geometry in the chemistry of carbon. *Acc Chem Res.* 1998;31:558–566. DOI: 10.1021/ar960168i
44. Piotrovskiy LB, Kudryavtseva TA, Litasova EV. Properties and biological potential of single wall carbon nanohorns (SWCNH). *Rev Clinical Pharmacol Drug Ther.* 2020;18(3):185–195. DOI: 10.17816/RCF183185-195
45. Shvedova AA, Castranova V, Kisin ER, et al. Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells. *J Toxicol Environ Health A.* 2003;66(20):1909–1926. DOI: 10.1080/713853956
46. Tahara Y, Miyawaki J, Zhang M, et al. Histological assessments for toxicity and functionalization-dependent biodistribution of carbon nanohorns. *Nanotechnology.* 2011;22(26):265106. DOI: 10.1088/0957-4484/22/26/265106
47. d'Amora M, Camisasca A, Lettieri S, Giordani S. Toxicity assessment of carbon nanomaterials in zebrafish during development. *Nanomaterials (Basel).* 2017;7(12):414. DOI: 10.3390/nano7120414
48. Zhang M, Yang M, Bussy C, et al. Biodegradation of carbon nanohorns in macrophage cells. *Nanoscale.* 2015;7(7):2834–2840. DOI: 10.1039/C4NR06175F
49. Moschino V, Nesto N, Barison S, et al. A preliminary investigation on nanohorn toxicity in marine mussels and polychaetes. *Sci Total Environ.* 2014;468–469:111–119. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.08.020
50. Zhang M, Yamaguchi T, Iijima S, Yudasaka M. Size-dependent biodistribution of carbon nanohorns *in vivo*. *Nanomedicine.* 2013;9(5):657–664. DOI: 10.1016/j.nano.2012.11.011
51. Schramm F, Lange M, Hoppmann P, Heutelbeck A. Cytotoxicity of carbon nanohorns in different human cells of the respiratory system. *J Toxicol Environ Health A.* 2016;79(22–23):1085–1093. DOI: 10.1080/15287394.2016.1219594
52. Karousis N, Suarez-Martinez I, Ewels CP, Tagmatarchis N. Structure, properties, functionalization, and applications of carbon nanohorns. *Chem Rev.* 2016;116(8):4850–4883. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00611
53. Pippa N, Stangel C, Kastanas I, et al. Carbon nanohorn/liposome systems: Preformulation, design and *in vitro*

- toxicity studies. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;105:110114. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110114
54. Miyako E, Deguchi T, Nakajima Y, et al. Photothermic regulation of gene expression triggered by laser-induced carbon nanohorns. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109(19):7523–7528. DOI: 10.1073/pnas.12043911109
55. Isobe H, Tanaka T, Maeda R, et al. Preparation, purification, characterization, and cytotoxicity assessment of water-soluble, transition-metal-free carbon nanotube aggregates. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2006;45(5):6676–6680. DOI: 10.1002/anie.200601718
56. Lacotte S, Garcia A, Decossas M, et al. Interfacing functionalized carbon nanohorns with primary phagocytic cells. *Adv Mater.* 2008;20(12):2421–2426. DOI: 10.1002/adma.200702753
57. Miyawaki J, Yudasaka M, Azami T, et al. Toxicity of single-walled carbon nanohorns. *ACS Nano.* 2008;2(2):213–226. DOI: 10.1021/nn700185t
58. Xiang G, Zhang J, Huang R. Single-walled carbon nanohorn (SWNH) aggregates inhibited proliferation of human liver cell lines and promoted apoptosis, especially for hepatoma cell lines. *Int J Nanomedicine.* 2014;9(1):759–773. DOI: 10.2147/IJN.S56353
59. Yang M, Zhang M, Tahara Y, et al. Lysosomal membrane permeabilization: carbon nanohorn-induced reactive oxygen species generation and toxicity by this neglected mechanism. *Toxic Appl Pharmacol.* 2014;280(1):117–126. DOI: 10.1016/j.taap.2014.07.022
60. Nakamura M, Tahara Y, Murakami T, et al. Gastrointestinal actions of orally-administered single-walled carbon nanohorns. *Carbon.* 2014;69:409–416. DOI: 10.1016/j.carbon.2013.12.043
61. Tahara Y, Nakamura M, Yang M, et al. Lysosomal membrane destabilization induced by high accumulation of single-walled carbon nanohorns in murine macrophage RAW 264.7. *Biomaterials.* 2012;33(9):2762–2769. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.12.023
62. Romero G, Estrela-Lopis I, Castro-Hartmann P, et al. Stepwise surface tailoring of carbon nanotubes with polyelectrolyte brushes and lipid layers to control their intracellular distribution and 'in vitro' toxicity. *Soft Matter.* 2011;7(15):6883–6890. DOI: 10.1039/C0SM01511C
63. Zhang J, Sun Q, Bo J, et al. G. Single-walled carbon nanohorn (SWNH) aggregates inhibited proliferation of human liver cell lines and promoted apoptosis, especially for hepatoma cell lines. *Int J Nanomedicine.* 2014;9(9):759–773. DOI: 10.2147/IJN.S56353
64. Lynch RM, Voy BH, Glass DF, et al. Assessing the pulmonary toxicity of single-walled carbon nanohorns. *Nanotoxicology.* 2007;1(2):157–166. DOI: 10.1080/17435390701598496
65. Sanchez VC, Jachak A, Hurt RH, Kane AB. Biological interactions of graphene-family nanomaterials: an interdisciplinary review. *Chem Res Toxicol.* 2012;25(1):15–34. DOI: 10.1021/tx200339h
66. Bianco A. Graphene: safe or toxic? The two faces of the medal. *Angew Chem Int Ed.* 2013;52(19):4986–4997. DOI: 10.1002/anie.201209099
67. Tadzysak K, Wychowanec J, Litowczenko J. Biomedical applications of graphene-based structures. *Nanomaterials.* 2018;8(11):944. DOI: 10.3390/nano8110944
68. Guo X, Mei N. Assessment of the toxic potential of graphene family nanomaterials. *J Food Drug Anal.* 2014;22(1):105–115. DOI: 10.1016/j.jfda.2014.01.009
69. Nezakati T, Cousins BG, Seifalian AN. Toxicology of chemically modified graphene-based materials for medical application. *Arch Toxicol.* 2014;88(11):1987–2012. DOI: 10.1007/s00204-014-1361-0
70. Seabra AB, Paula AJ, de Lima R, et al. Nanotoxicity of graphene and graphene oxide. *Chem Res Toxicol.* 2014;27(2):159–168. DOI: 10.1021/tx400385x
71. Lalwani G, D'Agati M, Khan AM, Sitharaman B. Toxicology of graphene based nanomaterials. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;105(Pt B): 109–144. DOI: 10.1016/l.addr.2016.04.028
72. Ou L, Song B, Liang H, et al. Toxicity of graphene-family nanoparticles: a general review of the origins and mechanisms. *Part Fibre Toxicol.* 2016;13(1):57. DOI: 10.1186/s12989-016-0168-y
73. Devasena T, Francis AP, Ramaprabhu S. Toxicity of Graphene: An Update. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2021;259:51–76. DOI: 10.1007/398\_2021\_78
74. Rhazouani A, Gamrani H, El Achaby M, et al. Synthesis and toxicity of graphene oxide nanoparticles: a literature review of *in vitro* and *in vivo* studies. *Biomed Res Int.* 2021;2021:5518999. DOI: 10.1155/2021/5518999
75. Ema M, Gamo M, Honda K. A review of toxicity studies on graphene-based nanomaterials in laboratory animals. *Regulatory Toxicol Pharmacol.* 2017;85:7–24. DOI: 10.1016/j.yrtph.2017.01.011
76. Poland CA, Duffin R, Kinloch I, et al. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nat Nanotechnol.* 2008;3(7):423–428. DOI: 10.1038/nnano.2008.111
77. Braakhuis HM, Park MVDZ, Gosens I, et al. Physicochemical characteristics of nanomaterials that affect pulmonary inflammation. *Part Fibre Toxicol.* 2014;11:18. DOI: 10.1186/1743-8977-11-18
78. Donaldson K, Murphy FA, Duffin R, Poland C. Asbestos, carbon nanotubes and the pleural mesothelium: a review of the hypothesis regarding the role of lung fibre retention in the parietal pleura, inflammation and mesothelioma. *Part Fibre Toxicol.* 2010;7:5. DOI: 10.1186/1743-8977-7-5
79. Schinwald A, Murphy F, Askounis A, et al. Minimal oxidation and inflammogenicity of pristine graphene with residence in the lung. *Nanotoxicology.* 2014;8(8):824–832. DOI: 10.3109/17435390.2013.831502
80. Sasidharan A, Swaroop S, Koduri CK, et al. Comparative *in vivo* toxicity, organ biodistribution and immune response of pristine, carboxylate and PEGylated few-layer graphene sheets in Swiss albino mice: a three month study. *Carbon.* 2015;95:511–524. DOI: 10.1016/j.carbon.2015.08.074
81. Ma J, Liu R, Wan X, et al. Crucial role of lateral size for graphene oxide in activating macrophages and stimulating pro-inflammatory responses in cells and animals. *ACS Nano.* 2015;9(10):10498–10515. DOI: 10.1021/acsnano.5b04751
82. Liu JH, Wang T, Wang H, et al. Biocompatibility of graphene oxide intravenously administered in mice-effects of dose, size and exposure protocols. *Toxicol Res.* 2015;4:83–91. DOI: 10.1039/C4TX00044G
83. Liu JH, Yang ST, Wang H, et al. Effect of size and dose on the biodistribution of graphene oxide in mice. *Nanomedicine (Lond).* 2012;7(12):1801–1812. DOI: 10.2217/nmm.12.60
84. Zhang X, Yin J, Peng C, et al. Distribution and biocompatibility studies of graphene oxide in mice after intravenous administration. *Carbon.* 2011;49(3):986–995. DOI: 10.1016/j.carbon.2010.11.005
85. Li B, Zhang XY, Yang JZ, et al. Influence of polyethylene glycol coating on biodistribution and toxicity of nanoscale graphene oxide in mice after intravenous injection. *Int J Nanomed.* 2014;9:4697–4707. DOI: 10.2147/IJN.S66591
86. Guo JX, Zhang X, Li QN, Li WX. Biodistribution of functionalized multiwall carbon nanotubes in mice. *Nucl Med Biol.* 2007;34(5): 579–583. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2007.03.003
87. Wang X, Duch MC, Mansukhani N, et al. Use of a pro-fibrogenic mechanism-based predictive toxicological approach for tiered testing and decision analysis of carbonaceous nanomaterials. *ACS Nano.* 2015;9(3):3032–3043. DOI: 10.1021/nn507243w

88. Ma-Hock L, Strauss V, Treumann S, et al. Comparative inhalation toxicity of multi-wall carbon nanotubes, graphene, graphite nanoplatelets and low surface carbon black. *Part Fibre Toxicol.* 2013;10:23. DOI: 10.1186/1743-8977-10-23
89. Shin JH, Han SG, Kim JK, et al. 5-day repeated inhalation and 28-day post-exposure study of graphene. *Nanotoxicology.* 2015;9(8):1023–1031. DOI: 10.3109/17435390.2014.998306
90. Kim JK, Shin JH, Lee JS, et al. 28-day inhalation toxicity of graphene nanoplatelets in Sprague-Dawley rats. *Nanotoxicology.* 2016;10(7):891–901. DOI: 10.3109/17435390.2015.1133865
91. Han SG, Kim JK, Shin JH, et al. Pulmonary responses of Sprague-Dawley rats in single inhalation exposure to graphene oxide nanomaterials. *Biomed Res Int.* 2015;2015:376756. DOI: 10.1155/2015/376756
92. Duch MC, Budinger GRS, Liang YT, et al. Minimizing oxidation and stable nanoscale dispersion improves the biocompatibility of graphene in the lung. *Nano Lett.* 2011;11(12):5201–5207. DOI: 10.1021/nl202515a
93. Park EJ, Lee GH, Han BS, et al. Toxic response of graphene nanoplatelets *in vivo* and *in vitro*. *Arch Toxicol.* 2015;89(9):1557–1568. DOI: 10.1007/s00204-014-1303-x
94. Mao L, Hu M, Pan B, et al. Biodistribution and toxicity of radio-labeled few layer graphene in mice after intratracheal instillation. *Part Fibre Toxicol.* 2016;13:7. DOI: 10.1186/s12989-016-0120-1
95. Lee JK, Jeong AY, Bae J, et al. The role of surface functionalization on the pulmonary inflammogenicity and translocation into mediastinal lymph nodes of graphene nanoplatelets in rats. *Arch Toxicol.* 2017;91(2):667–676. DOI: 10.1007/s00204-016-1706-y
96. Ali-Boucetta H, Bitounis D, Raveendran-Nair R, et al. Purified graphene oxide dispersions lack *in vitro* cytotoxicity and *in vivo* pathogenicity. *Adv Health Mater.* 2013;2(3):433–441. DOI: 10.1002/adhm.201200248
97. Chong Y, Ma Y, Shen H, et al. The *in vitro* and *in vivo* toxicity of graphene quantum dots *Biomaterials.* 2014;35(19):5041–5048. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.03.021
98. Stone V, Johnston H, Schins RP. Development of *in vitro* systems for nanotoxicology: methodological considerations. *Crit Rev Toxicol.* 2009;39(7):613–626. DOI: 10.1080/10408440903120975
99. Moller P, Jacobsen NR, Folkman JK, et al. Role of oxidative damage in toxicity of particulates. *Free Rad Res.* 2010;44(1):1–46. DOI: 10.3109/10715760903300691
100. Zhang Y, Ali SF, Dervishi E, et al. Cytotoxicity effects of graphene and single-wall carbon nanotubes in neuralphaeochromocytoma-derived PC12 cells. *ACS Nano.* 2010;4(6):3181–3186. DOI: 10.1021/nn1007176
101. Liu L, Zhu C, Fan M, et al. Oxidation and degradation of graphitic materials by naphthalene-degrading bacteria. *Nanoscale.* 2015;7(32):13619–13628. DOI: 10.1039/C5NR02502H
102. Hu W, Peng C, Lv M, et al. Protein corona-mediated mitigation of cytotoxicity of graphene oxide. *ACS Nano.* 2011;5(5):3693–3700. DOI: 10.1021/nn200021j
103. Gebel T, Foth H, Damm G, et al. Manufactured nanomaterials: categorization and approaches to hazard assessment. *Arch Toxicol.* 2014;88(12):2191–2211. DOI: 10.1007/s00204-014-1383-7
104. Khan H, Shanker R. Toxicity of nanomaterials. *Biomed Res Int.* 2015;2015:521014. DOI: 10.1155/2015/521014
105. Рукководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Кhabriev RU, ed. 2 edition. Moscow: Meditsina; 2005. 832 p. (In Russ.)
106. Mochalin VN, Shenderova O, Ho D, Gogotsi Y. The properties and applications of nanodiamonds. *Nat Nanotechnol.* 2012;7(1):11–23. DOI: 10.1038/nnano.2011.209
107. Tang GF, Zhang MR, Liu QQ, et al. Applications of nanodiamonds in the diagnosis and treatment of neurological diseases. *J Nanopart Res.* 2022;24(3):55. DOI: 10.1007/s11051-022-05434-2
108. Vlasov II, Shiryayev AA, Rendler T, et al. Molecular-sized fluorescent nanodiamonds. *Nat Nanotechnol.* 2014;9(1):54–58. DOI: 10.1038/nnano.2013.255
109. Boudou JP, Tisler J, Reuter R, et al. Fluorescent nanodiamonds derived from HPHT with a size of less than 10 nm. *Diamond Related Materials.* 2013;37:80–86. DOI: 10.1016/j.diamond.2013.05.006
110. Laan van der K, Hasani M, Zheng T, Schirhagl R. Nanodiamonds for *in vivo* applications. *Small.* 2018;14(19): e1703838. DOI: 10.1002/sml.201703838
111. Yu SJ, Kang MW, Chang HC, et al. Bright fluorescent nanodiamonds: no photobleaching and low cytotoxicity. *J Am Chem Soc.* 2005;127(50):17604–17605. DOI: 10.1021/ja0567081
112. Schirhagl R, Chang K, Loretz M, Degen CL. Nitrogen-vacancy centers in diamond: nanoscale sensors for physics and biology. *Annu Rev Phys Chem.* 2014;65:83–105. DOI: 10.1146/annurev-physchem-040513-103659
113. Mukherjee A, Majumdar S, Servin AD, et al. Carbon Nanomaterials in Agriculture: A Critical Review. *Front Plant Sci.* 2016;7:172. DOI: 10.3389/fpls.2016.00172
114. Terada D, Genjo T, Segawa TF, et al. Nanodiamonds for bioapplications — specific targeting strategies. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2020;1864(2):129354. DOI: 10.1016/j.bbagen.2019.04.019
115. Liu YY, Chang BM, Chang HC. Nanodiamond-enabled biomedical imaging. *Nanomedicine (Lond).* 2020;15(16):1599–1616. DOI: 10.2217/nmm-2020-0091
116. Tinwala H, Wairkar S. Production, surface modification and biomedical applications of nanodiamonds: A sparkling tool for theranostics. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;97:913–931. DOI: 10.1016/j.msec.2018.12.073
117. The Autobiography of Benvenuto Cellini. (Penguin Classics); Revised ed. Edition. 1999. 465 p.
118. Schrand AM, Huang H, Carlson C, et al. Are diamond nanoparticles cytotoxic? *J Phys Chem B.* 2007;111(1):2–7. DOI: 10.1021/jp066387v
119. Schrand AM, Hens SAC, Shenderova OA. Nanodiamond particles: properties and perspectives for bioapplication. *Critical Rev Solid State Mater Sci.* 2009;34(1):18–74. DOI: 10.1080/10408430902831987
120. Dolmatov VYu. Detonatsionnye nanoalmazy. Poluchenie, svoistva, primeneniye. Saint Petersburg: Professional; 2011. 534 p. (In Russ.)
121. Bondon N, Raehm L, Charnay C, et al. Nanodiamonds for bioapplications, recent developments. *J Mater Chem B.* 2020;8(48):10878–10896. DOI: 10.1039/d0tb02221g
122. Lee DK, Ha S, Jeon S, et al. The  $sp^3/sp^2$  carbon ratio as a modulator of *in vivo* and *in vitro* toxicity of the chemically purified detonation-synthesized nanodiamond via the reactive oxygen species generation. *Nanotoxicology.* 2020;14(9):1213–1226. DOI: 10.1080/17435390.2020.1813825
123. Karpeta-Kaczmarek J, Kędziorski A, Augustyniak-Jabłokow MA, et al. Chronic toxicity of nanodiamonds can disturb development and reproduction of *Acheta domesticus* L. *Environmental Research.* 2018;166:602–609. DOI: 10.1016/j.envres.2018.05.027
124. Turcheniuk K, Mochalin VN. Biomedical applications of nanodiamonds. *Nanotechnology.* 2017;28(25):252001. DOI: 10.1088/1361-6528/aa6ae4
125. Jariwala DH, Patel D, Wairkar S. Surface functionalization of nanodiamonds for biomedical applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020;113:110996. DOI: 10.1016/j.msec.2020.110996
126. Zhang X, Yin J, Kang C, et al. Biodistribution and toxicity of nanodiamonds in mice after intratracheal instillation. *Toxicology Letters.* 2010;198(2):237–243. DOI: 10.1016/j.toxlet.2010.07.001

- 127.** Raja IS, Song SJ, Kang MS, et al. Toxicity of zero- and one-dimensional carbon nanomaterials. *Nanomaterials (Basel)*. 2019;9(9):1214. DOI: 10.3390/nano9091214
- 128.** Yuan Y, Wang X, Jia G, et al. Pulmonary toxicity and translocation of nanodiamonds in mice. *Diamond Relat Mater*. 2010;19(4):291. DOI: 10.1016/j.diamond.2009.11.022
- 129.** Ma Q, Zhang Q, Yang S, et al. Toxicity of nanodiamonds to white rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* through oxidative stress. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2020;187:110658. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110658
- 130.** Chow EK, Zhang XQ, Chen M, et al. Nanodiamond therapeutic delivery agents mediate enhanced chemoresistant tumor treatment. *Sci Trans Med*. 2011;3(73):73ra21. DOI: 10.1126/scitranslmed.3001713
- 131.** Mitura KA, Włodarczyk E. Fluorescent nanodiamonds in biomedical applications. *J AOAC Int*. 2018;101(5):1297–1307. DOI:10.5740/jaoacint.18-0044
- 132.** Hemelaar SR, Saspaanithy B, L'Hommelet SRM, et al. The response of HeLa cells to fluorescent nanodiamond uptake. *Sensors*. 2018;18(2):355. DOI: 10.3390/s18020355
- 133.** Prabhakar N, Khan MH, Purla M, et al. Intracellular trafficking of fluorescent nanodiamonds and regulation of their cellular toxicity. *ACS Omega*. 2017;2(6):2689–2693. DOI: 10.1021/acsomega.7b00339
- 134.** Puzyr AP, Baron AV, Purtov KV, et al. Nanodiamonds with novel properties: a biological study. *Diamond Relat Mater*. 2007;16(12):2124–2128. DOI: 10.1016/j.diamond.2007.07.025
- 135.** Chang IP, Hwang KC, Chiang CS. Preparation of fluorescent magnetic nanodiamonds and cellular imaging. *J Am Chem Soc*. 2008;130(46):15476–15481. DOI: 10.1021/ja804253y
- 136.** Mochalin VN, Gogotsi Y. Wet chemistry route to hydrophobic blue fluorescent nanodiamond. *J Am Chem Soc*. 2009;131(13):4594–4595. DOI: 10.1021/ja9004514
- 137.** Chang CC, Zhang B, Li CY, et al. Exploring cytoplasmic dynamics in zebrafish yolk cells by single particle tracking of fluorescent nanodiamonds. *Proc SPIE*. 2012;8272:827205–827208. DOI: 10.1117/12.907181
- 138.** Lin YC, Wu KT, Lin ZR, et al. Nanodiamond for biolabelling and toxicity evaluation in the zebrafish embryo *in vivo*. *J Biophotonics*. 2016;9(8):827–836. DOI:10.1002/jbio.201500304
- 139.** Mohan N, Chen CS, Hsieh HH, et al. *In vivo* imaging and toxicity assessments of fluorescent nanodiamonds in *Caenorhabditis elegans*. *Nano Lett*. 2010;10(9):3692–3699. DOI: 10.1021/nl1021909
- 140.** Chauhan S, Jain N, Nagaich U. Nanodiamonds with powerful ability for drug delivery and biomedical applications: Recent updates on *in vivo* study and patents. *J Pharm Anal*. 2020;10(1):1–12. DOI: 10.1016/j.jpha.2019.09.003
- 141.** Chao JI, Perevedentseva E, Chung PH, et al. Nanometer-sized diamond particle as a probe for biolabeling. *Biophysical J*. 2007;93(6):2199–2208. DOI: 10.1529/biophysj.107.108134
- 142.** Hemelaar SR, Saspaanithy B, et al. The Response of HeLa Cells to Fluorescent Nano Diamond Uptake. *Sensors (Basel)*. 2018;18(2):355. DOI: 10.3390/s18020355
- 143.** Su S, Wang S, Qiu J. Biofunctionalization of nanodiamonds through facile cytochrome P450 catalysis. *Sci Adv Mater*. 2014;6(1):203–208. DOI: 10.1166/sam.2014.1689
- 144.** Pan Y, Ong CE, Pung YF, Chieng JY. The current understanding of the interactions between nanoparticles and cytochrome P450 enzymes — a literature-based review. *Xenobiotica*. 2019;49(7):863–876. DOI: 10.1080/00498254.2018.1503360
- 145.** Hodek P, Bortek-Dohalská L, Sopko B, et al. Structural requirements for inhibitors of cytochromes P450 2B: assessment of the enzyme interaction with diamondoids. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2005;20(1):25–33. DOI: 10.1080/14756360400024324

## ОБ АВТОРАХ

\***Елена Викторовна Литасова**, канд. биол. наук, вед. научн. сотр. лаборатории синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; адрес: Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0999-8212>; eLibrary SPIN: 5568-8939; e-mail: [llitasova@mail.ru](mailto:llitasova@mail.ru)

**Виктор Владимирович Ильин**, канд. хим. наук, научн. сотр. лаборатории синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1012-7561>; eLibrary SPIN: 5559-8089; e-mail: [victor.iljin@mail.ru](mailto:victor.iljin@mail.ru)

**Мария Александровна Брусина**, канд. хим. наук, мл. научн. сотр. лаборатории синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8433-120X>; eLibrary SPIN: 8953-8772; e-mail: [mashasemen@gmail.com](mailto:mashasemen@gmail.com)

**Левон Борисович Пиотровский**, д-р. биол. наук, заведующий лаборатории синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8679-1365>; eLibrary SPIN: 2927-6178; e-mail: [levon-piotrovsky@yandex.ru](mailto:levon-piotrovsky@yandex.ru)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## AUTHORS' INFO

\***Elena V. Litasova**, Cand. Sci. (Biol.), leading research associate of the Laboratory of synthesis and nanotechnology of drug, Department of neuropharmacology; address: 12, Akademika Pavlova st., Saint Petersburg, 197022, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0999-8212>; eLibrary SPIN: 5568-8939; e-mail: [llitasova@mail.ru](mailto:llitasova@mail.ru)

**Victor V. Iljin**, Cand. Sci. (Chem.), research associate of the Laboratory of synthesis and nanotechnology of drug, Department of neuropharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1012-7561>; eLibrary SPIN: 5559-8089; e-mail: [victor.iljin@mail.ru](mailto:victor.iljin@mail.ru)

**Maria A. Brusina**, Cand. Sci. (Chem.), junior research associate of the Laboratory of synthesis and nanotechnology of drug, Department of neuropharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8433-120X>; eLibrary SPIN: 8953-8772; e-mail: [mashasemen@gmail.com](mailto:mashasemen@gmail.com)

**Levon B. Piotrovskiy**, Dr. Sci. (Biol.), head of the Laboratory of synthesis and nanotechnology of drug, Department of neuropharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8679-1365>; eLibrary SPIN: 2927-6178; e-mail: [levon-piotrovsky@yandex.ru](mailto:levon-piotrovsky@yandex.ru)