

На правах рукописи



Мясников Иван Юрьевич

**Изучение свойств и поведения детонационных
наноалмазов, модифицированных биологически-
активными веществами, с применением трития**

02.00.14 —
«Радиохимия»

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Москва — 2019

Работа выполнена на кафедре радиохимии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Научный руководитель: кандидат химических наук, доцент кафедры радиохимии химического факультета МГУ
Бадун Геннадий Александрович

Официальные оппоненты: **Шевченко Валерий Павлович,**
доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории изотопно-меченных физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук

Герман Константин Эдуардович,
кандидат химических наук, доцент, заведующий лабораторией химии технеция Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина Российской академии наук

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (РХТУ имени Д.И. Менделеева)

Защита состоится «11» апреля 2019 года в 14 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 002.109.01 по аналитической химии и радиохимии при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Института геохимии и аналитической химии имени В.И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Косыгина, д.19.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГЕОХИ РАН и на сайте Института: http://intranet.geokhi.ru/Thesis/2019/Кандидатские/Мясников/Диссертация_Мясников_ИЮ.pdf. Текст автореферата размещен на сайте ВАК России <http://vak.ed.gov.ru/>.

Автореферат разослан

Ученый секретарь
диссертационного совета
канд. хим. наук



Жахарченко Елена Александровна

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Благодаря уникальным физико-химическим свойствам и низкой стоимости производства, детонационные наноалмазы (ДН) обладают высоким потенциалом применения в различных областях, в том числе в качестве компонента покрытий, входят в состав смазочных материалов и масел. С ростом объемов производства увеличивается необходимость исследования последствий возможного попадания материала в окружающую среду. Потенциальная токсичность вещества связана со способностью усвоения его живыми организмами, распределением по органам и тканям, влиянием на протекающие биологические процессы. При моделировании поведения ДН в природе и их взаимодействия с растениями необходимо учитывать влияние природных органических соединений, основным компонентом которых являются гуминовые вещества.

С другой стороны, продолжается рост интереса к созданию на основе углеродных наноматериалов систем доставки биологически активных веществ. Применение таких систем направлено на снижение токсических эффектов, уменьшение дозировки и увеличение эффективности их применения. При изучении возможного применения ДН в медицинской и биохимической практике, помимо детального анализа сорбционных процессов, необходима возможность продолжительного исследования распределения материала по организму.

Изучение локализации ДН в системах, содержащих области различной полярности, необходимо для интерпретации данных о взаимодействии ДН с клеточными мембранами. Для таких исследований в качестве модельных служат системы, содержащие полярную и неполярную жидкости. В последние годы проведен ряд исследований, посвященных модификации поверхности ДН с целью получения стабильных дисперсных систем в различных средах, информация о распределении ДН между водной и органической фазами отсутствует.

Радионуклидные методы обладают огромными возможностями в исследовании поведения веществ в живых организмах и модельных системах. Применение радиоактивных индикаторов позволяет с высокой точностью и достоверностью определить содержание вещества в многокомпонентных системах, в том числе в живых организмах, а также в отдельных его органах. Тритий является удобным, недорогим и наиболее безопасным в работе радионуклидом, поэтому получение меченных тритием ДН и их применение в качестве радиоактивных индикаторов представляется чрезвычайно перспективным. На данный момент известно два способа получения меченных тритием ДН, первый основан на применении микроволновой плазмы трития, во втором осуществляют генерацию реакционных атомов трития диссоциацией молекул трития на нагретой вольфрамовой проволоке (метод термической активации). Метод термической активации трития представляется более удобным, и согласно литературным данным, является более эффективным, однако подробный анализ влияния условий проведения реакции на удельную радиоактивность меченого продукта не проводился.

Цель настоящей работы – определить влияние биологически-активных веществ на свойства детонационных наноалмазов в модельных системах для прогнозирования их поведения в биологических объектах.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. Определить влияние предварительной подготовки ДН (химический состав поверхности, гидродинамический диаметр агрегатов) на величину удельной радиоактивности.
2. С помощью меченных тритием соединений получить количественные характеристики

адсорбции выборки веществ на ДН, агрегативной и седиментационной устойчивости образующихся конъюгатов, прочности удерживания веществ в их составе. Выбранные вещества различаются поверхностно-активными свойствами, а их конъюгаты с ДН могут быть интересны с точки зрения дальнейшего применения.

3. Использовать коэффициент распределения частиц в системах вода/органическая жидкость (ксилол, октан, октанол) для количественной оценки сродства ДН и их комплексов с биологически-активными веществами к гидрофобным средам.

4. Определить поглощение меченных тритием ДН проростками мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. и их поступление в стебли и листья, выявить влияние на этот процесс гуминовых веществ.

5. Определить токсичность ДН и их конъюгатов по отношению к колонии патогенного гриба *Aspergillus niger* Tiegh. и клеточной культуре MCF-7. Оценить эффективность связывания ДН с клетками.

Научная новизна работы заключается в **положениях, выносимых на защиту**:

1. Методом термической активации трития получены меченные тритием ДН с удельной радиоактивностью до 8 ТБк/г, что соответствует практически полному замещению водорода на тритий по связям С-Н на поверхности ДН. Показано, что увеличению удельной активности [³H]ДН способствует ультразвуковая обработка, приводящая к уменьшению гидродинамического диаметра агрегатов ДН в водной суспензии, из которой готовят мишень для введения трития.

2. Усовершенствована методика определения концентрации [³H]ДН в водных суспензиях, которая позволяет корректно определять концентрации [³H]ДН с применением универсальной калибровочной зависимости, учитывающей изменение распределения агрегатов наночастиц по размеру.

3. Получены изотермы адсорбции на ДН поверхностно-активных веществ (мирамистин, плуроник P123, олеиламин), производных пантотеновой кислоты, гуминовых веществ (гуминовые кислоты угля и торфа, речные гуминовые и фульвокислоты).

4. Продемонстрировано влияние ζ-потенциала коллоидных растворов ДН на величину адсорбции веществ, удерживаемых за счет ионных взаимодействий (мирамистин, гуминовые кислоты угля). Установлено воздействие таких веществ на электрокинетический потенциал частиц в суспензии, что оказывает влияние на дальнейшую величину коадсорбции. Обнаружено, что адсорбционные слои гуминовых кислот на ДН способствуют увеличению последующей адсорбции мирамистина на ДН.

5. Найдено, что адсорбционные слои плуроника P123 и олеиламина эффективно гидрофобизируют поверхность ДН и значительно увеличивают коэффициент распределения ДН в системах органическая жидкость/вода.

6. Разработана методика определения меченных тритием наноалмазов в тканях растений. С помощью радионуклидных методов получены количественные характеристики поступления наноалмазов в корни и побеги мягкой пшеницы *Triticum aestivum*. Количество наноалмазов в корнях в 10³ раз превышает его содержание в побегах. Показано неравномерное распределение наноалмазов в побегах растений: максимальная концентрация наноалмазов наблюдалась в апикальной части листьев. Обнаружено влияние природных гуминовых веществ на поглощение наноалмазов проростками пшеницы: адсорбция гуминовых веществ на ДН снижала их поглощение растениями.

7. Обнаружено различие в токсическом действии мирамистина, адсорбированного на наноалмазах, различающихся знаком ζ-потенциала. Комплекс мирамистина с наноалмазами, обладающими положительным ζ-потенциалом, не проявляет токсичности

по отношению к колонии патогенного гриба *Aspergillus niger* и клеткам аденокарциномы человека MCF-7. Обработка ДН окислителями, а также при адсорбции гуминовых кислот, приводит к перезарядке ζ -потенциала, что увеличивает количество связываемого мирамистина с ДН, при этом не происходит полного подавления токсичности мирамистина в образовавшемся комплексе. Можно предположить, что это связано с различием механизма адсорбции на ДН, отличающихся знаком ζ -потенциала, либо в результате медленного высвобождения мирамистина в процессе эксперимента.

Практическая значимость. Полученные в рамках настоящей работы значения коэффициентов распределения ДН в системах двух несмешивающихся жидкостей и методы их изменения могут быть использованы для контроля локализации наночастиц в многофазных системах (в объеме полярной/неполярной жидкости или на границе раздела фаз), что может быть полезно при биомедицинском применении ДН и при разработке полимерных композитов с добавлением ДН.

Улучшенная методика спектрофотометрического определения концентрации $[^3\text{H}]\text{ДН}$ позволяет сократить количество выполняемых процедур с радиоактивными препаратами для определения их концентрации и обладает универсальной калибровочной зависимостью для всех исследуемых в работе ДН. Предложенный в работе метод может быть использован для определения концентрации ДН, в том числе и в системах в которых происходит изменение размера частиц.

Разработанные методы увеличения удельной радиоактивности $[^3\text{H}]\text{ДН}$ позволяют понизить предел обнаружения ДН, что является важным параметром для применения $[^3\text{H}]\text{ДН}$ в качестве радиоактивного индикатора. На основании проведенных исследований получен патент РФ № 2672741.

Апробация работы. Основной материал диссертации представлен на следующих конференциях: VIII и IX Всероссийских конференциях по радиохимии («Радиохимия-2015» Железногорск, 2015 и «Радиохимия-2018» Санкт-Петербург, 2018), The First Russian-Nordic Symposium on Radiochemistry (Москва, 2013), 10 и 11-ой Международных конференциях «Углерод: фундаментальные проблемы науки, материаловедение, технология» (Троицк, 2016 и 2018 год), 27th International Conference on Diamond and Carbon Materials (Монпелье, 2016), III International Conference of CIS IHSS НГТ-2014 «Humic Substances and Other Biologically Active Compounds in Agriculture». (Москва, 2014), XII International Conference on Nanostructured Materials (Москва, 2014), 13th International Conference Advanced Carbon NanoStructures – ACNS'2017 (Санкт-Петербург, 2017), Международной конференции «Химическая технология функциональных наноматериалов» (Москва, 2017), IX - XII Международных научных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2015», «Ломоносов-2014», «Ломоносов-2013», «Ломоносов-2012» (Москва, 2012 - 2015), VIII, IX, XI Всероссийских конференциях «СТРУКТУРА И ДИНАМИКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ СИСТЕМ» (Яльчик, 2011, 2012, 2014).

Личный вклад. Все результаты получены, обработаны и представлены автором лично. Эксперименты с композитными пленками выполнены совместно с к.х.н. О.А. Соболевой, авторрадиограммы получены совместно с к.х.н. М.Г. Чернышевой и к.х.н. В.И. Коробковым, хроматограммы меченых препаратов получены совместно с к.х.н. В.Н. Ташлицким и к.б.н Н.В. Федеровой, эксперименты с колониями патогенного гриба *Aspergillus niger* проведены совместно с к.б.н О.И. Кляйн; регистрация ИК-спектров выполнена к.х.н. А.Г. Поповым, анализ примесей металлов в ДН с помощью ИСП-АЭС И.В. Михеевым, фитотоксичность препаратов определена д.б.н. Н.А. Куликовой

и д.б.н. Д.Н. Маториным, регистрация фотографий ПЭМ с высоким разрешением к.х.н. А.В. Егоровым, эксперименты по цитотоксичности и связыванию наноалмазов с MCF-7/R д.х.н. Н.С. Мелик-Нубаровым.

Публикации. Основные результаты по теме диссертации изложены в 8 печатных изданиях, в том числе 8 статей в международных рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных работ, и 28 — тезисов докладов на международных и национальных научных конференциях, получен патент РФ.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, трёх глав, заключения и приложения. Полный объём диссертации составляет **176** страниц, включая **50** рисунков и **27** таблиц. Список литературы содержит **222** наименования.

Содержание работы

Во **введении** обоснована актуальность, излагается научная новизна и практическая значимость исследований, проводимых в рамках данной диссертационной работы. Сформулирована цель работы и поставлены задачи для ее достижения.

Первая глава является обзором литературы и состоит из трех разделов. Приведены исторические этапы развития методик синтеза алмазоподобных структур и особенности детонационного синтеза. Далее рассмотрены общие характеристики ДН, описаны методы характеризации ДН и их дисперсных систем.

Проведен анализ методов детекции и визуализации ДН в биологических объектах. Обзор литературы показал, что несмотря на большое количество инструментальных методов детектирования ДН, остается ряд задач, в решении которых могут быть полезны методы с применением радиоактивных индикаторов.

Вторая глава — экспериментальная часть, в которой даны сведения об использованных реактивах и инструментальных методах, описаны методики синтеза и очистки меченных тритием соединений, представлен метод расчета концентрации [³H]ДН; методика проведения экспериментов по адсорбции веществ на ДН; изучение распределения ДН и взаимодействия с биологическими объектами в модельных экспериментах. Общие сведения о наноалмазах, используемых в работе, приведены в таблице 1. Типичное для ДН изображение ПЭМ и распределение первичных частиц по размеру представлены на рисунке 1 на примере ДН-15.

Третья глава посвящена обсуждению результатов. Важным аспектом работы являлось получение и применение меченных тритием соединений в исследованиях ДН для адресной доставки биологически активных веществ. Получение меченых веществ осуществляли методом термической активации, который основан на генерации реакционных атомов трития диссоциацией молекул трития на нагретой вольфрамовой проволоке. В работе получены меченные тритием соединения: производные пантотеновой кислоты (ППК) — натриевая соль пантотеновой кислоты (ПК), натриевая соль гопантеновой кислоты (ГПК), кальциевая соль 4-D-фосфопантотеновой кислоты (ФПК); бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммонийхлорид моногидрат (торговое название «мирамистин»); блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена «плюроник P123»; цис-1-амино-9-октадецен (олеиламин); гуминовые вещества из разных источников; ДН.

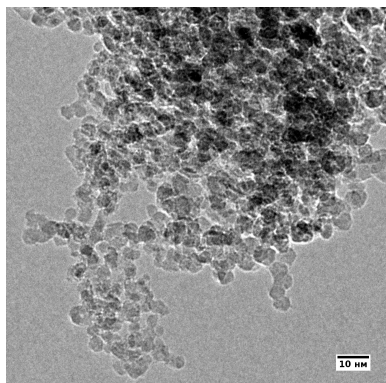
Таблица 1 — Общие сведения о наноалмазах, использованных в работе

обозначение	описание	производитель
УДА-ТАН	порошок наноалмазов	СКТБ «Технолог», Санкт-Петербург, РФ
ТАН-Н	синтез из УДА-ТАН	
ТАН-О	синтез из УДА-ТАН	
ДН-С	порошок наноалмазов	НП ЗАО «Синта», Беларусь
ДН-С-ША	алмазосодержащая шихта	
ДН-С-О	синтез из ДН-С	
ДН-100	гидрозоль	ООО «СКН», Снежинск, РФ
ДН-30		
ДН-15		
ДН-С-УЗ	получен из ДН-С	
ДН-100-УЗ	получен из ДН-100	
ДН-15-УЗ	получен из ДН-15	
RUDDM-150	порошок наноалмазов	ООО «Реал-Дзержинск», РФ

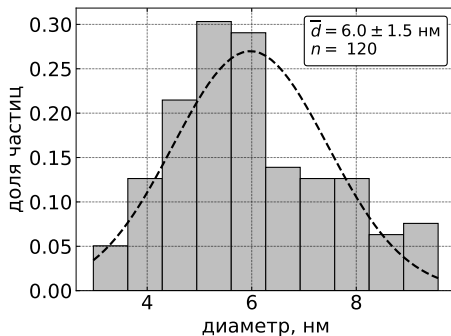
Исследовано влияние температуры мишени на скорость образования меченых ППК при времени активации 10 с. Фосфатная группа является хорошим акцептором термализованных атомов трития, что приводит к увеличению количества трития в лабильных положениях молекулы и снижению удельной радиоактивности [³H]фосфопантотената по сравнению с [³H]пантотенатом и [³H]гопантотенатом. Увеличение температуры мишени от 77 до 295 К приводит к двукратному увеличению удельной радиоактивности продукта [³H]ПК и [³H]ГПК. Для [³H]ФПК с увеличением температуры мишени удельная радиоактивность продукта несколько снижается, увеличение содержания трития в лабильных положениях приводит к предположению, что фосфатная группа оказывает дезактивирующее действие на скорость изотопного обмена атомарного трития с пантотеновой кислотой.

С помощью полученных меченных тритием соединений определили количественные характеристики сорбционных процессов. Применение метода радиоактивных индикаторов позволило наблюдать адсорбцию при малых концентрациях, в смеси веществ и изучить влияние адсорбционного слоя вещества на последующую коадсорбцию. Определить изменение концентрации при адсорбции ГВ другими методами затруднительно. Прочность удерживания веществ оценивали в воде, буферных системах, в том числе изотонических, и в присутствии альбуминов. При изучении коадсорбции определили прочность удерживания в среде коадсорбируемого адсорбтива. Агрегативную и седиментационную устойчивость полученных конъюгатов определяли визуально, методом динамического рассеяния света и по изменению ζ-потенциала.

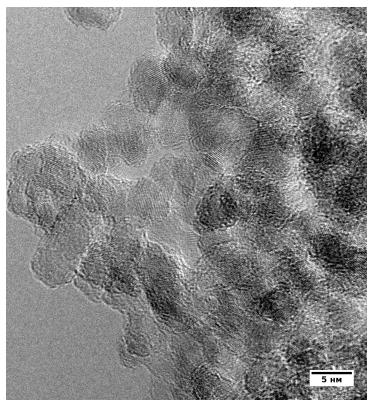
Для определения кинетики адсорбции веществ проводили определение адсорбции через 6 часов, 2 и 6 суток. Установлено, что выдерживание систем более 2 суток не приводит к изменению величины адсорбции, например: при начальной концентрации 3.4 мМ величина адсорбции мирамистина на ДН-С (производитель «Синта») составила 26±3, 63±6, 60±4 ммоль/г после 6 часов, 2 и 6 суток выдерживания соответственно.



а)



б)



в)

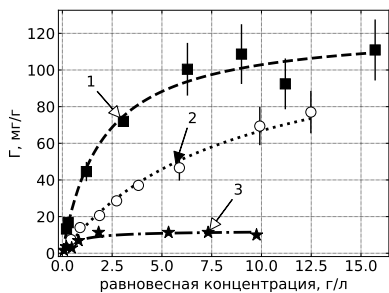
Рис. 1 — ПЭМ изображения (а),(в) и гистограмма (б) распределения первичных частиц ДН-15 по размерам, пунктирная линия – аппроксимация нормальным распределением.

Изотермы адсорбции описали моделью, аналогичной модели Ленгмюра:

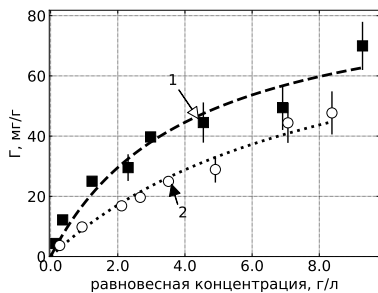
$$\Gamma = \Gamma_{\text{макс}} \times \frac{A \cdot c}{1 + A \cdot c} \quad (1)$$

где Γ — адсорбция мг/г, $\Gamma_{\text{макс}}$ — максимальная адсорбция, мг/г, c — концентрация адсорбата г/л, A — адсорбционная активность л/г.

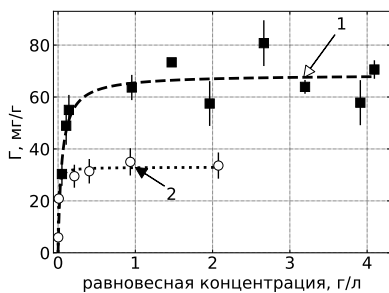
Эксперимент по адсорбции гопантената проводили на суспензии ДН, приготовленной обработкой коллоидного раствора ультразвуком и отделением осадка, и на исходном порошке ДН-С, рисунок 2 (а). Величина адсорбции ГПК и ПК при термостатировании в диапазоне 277-310 К различается незначительно, рисунок 3. При адсорбции ГПК на порошке ДН-С максимальная адсорбция составляет 12 ± 1 мг/г, что в 10 раз ниже, чем на суспензии ДН-С. Подобный эффект наблюдали и при адсорбции фульвокислот. По данным метода тепловой десорбции азота, удельная поверхность порошка ДН-С составила $310 \text{ м}^2/\text{г}$ и $265 \text{ м}^2/\text{г}$ для ДН-С из суспензии. Эти результаты находятся, на первый взгляд, в противоречии, однако различие в способности адсорбировать ГПК связана с разной



а)



б)



в)

Рис. 2 – Изотермы адсорбции ППК на наноалмазах: а – ГПК, б – ПК, в – ФПК; 1 – водная суспензия, 2 – в физиологическом растворе, 3 – адсорбция на порошке ДН-С (для ГПК); линии – расчет по уравнению (1)

доступностью поверхности материалов к адсорбатам (молекулярный азот и ГПК). При получении устойчивых водных суспензий наноалмазов происходит разрушение агрегатов порошка по мезо- и макропорам и отделение аморфного углерода. Это приводит к тому, что удельная поверхность частиц ДН в водной суспензии становится меньше, чем в исходном порошке, однако она полностью доступна адсорбируемому веществу. Таким образом, для достижения максимальной адсорбции веществ из растворов на частицах ДН требуется обеспечение максимальной доступности поверхности, что достигается в результате предварительного получения устойчивых гидрозолей. При подготовке суспензий ДН следует уделять внимание приданию необходимых коллоидно-химических свойств, включая минимальный размер частиц и седиментационную устойчивость при хранении длительное время. Адсорбция производных пантотеновой кислоты мало зависела от первоначального размера агрегатов в устойчивых коллоидных растворах наноалмазов производства «СКН» и была близка к величинам, полученным для ДН-С. Обнаружено, что размер агрегатов наноалмазов увеличивается после контакта с исследуемыми веществами. Предположительно, это связано с тем, что при адсорбции исследуемых веществ из-за компенсации заряда уменьшается стабильность наночастиц. Снижение электрокинетического потенциала приводит к слипанию частиц. Адсорбция ПК и ГПК рисунок 2 (в) и (г) на наноалмазах способствует увеличению размера частиц в 2-3 раза (размер наноалмазов ДН-100 и ДН-С возрастает с 70 и 90 до 190 нм, ДН-30 и ДН-15 с 40 до 140 нм по

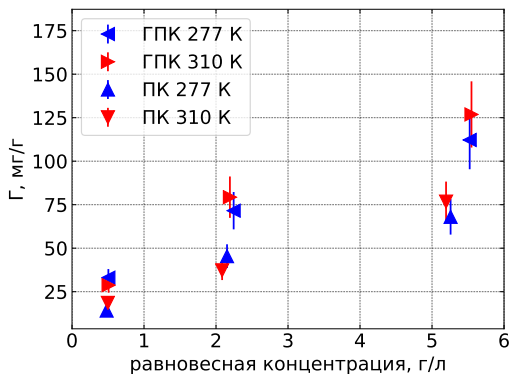


Рис. 3 — Изотермы адсорбции ГПК и ПК при температурах 277 и 310 К (сравнению с немодифицированными суспензиями). Наиболее сильные изменения происходят при добавлении ФПК. Частицы, модифицированные ФПК, имели средний размер порядка нескольких сотен нанометров, а суспензия полностью потеряла устойчивость и образовывался осадок. Устойчивость коллоидных растворов оценивали визуально, по времени образования осадка из столба жидкости высотой 2 см и объемом 1.5 мл.

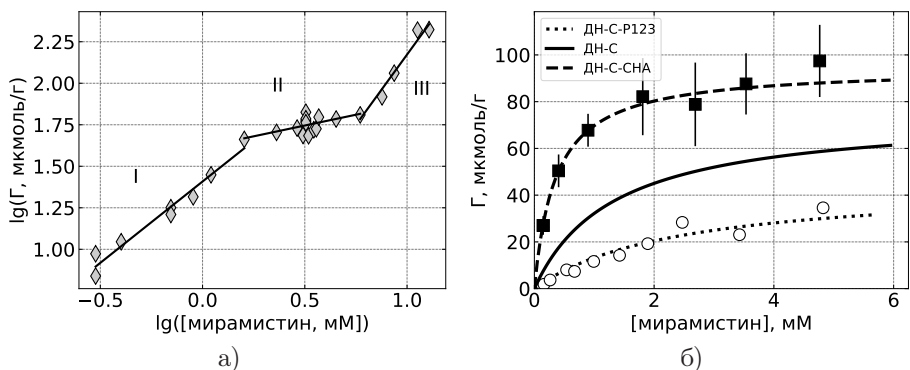


Рис. 4 — а) изотерма адсорбции мирамистина на наноалмазах ДН-С в логарифмических координатах, I — область Генри, II — участок насыщения монослоя, III — полислояная адсорбция; б) изотермы адсорбции мирамистина на наноалмазах детонационного синтеза. Линии — расчет адсорбции мирамистина по уравнению (1)

Величина адсорбции мирамистина на наноалмазах ДН-С, модифицированных гуминовыми кислотами угля (образец ДН-С-СНА), значительно выше, чем на немодифицированных наноалмазах, в области концентраций до 1 мМ. Количество адсорбированного мирамистина на ДН-С-СНА с увеличением концентрации до 1 мМ растет быстрее, чем на ДН-С, и достигает плато при концентрации 2 мМ. С увеличением

концентрации до 5 мМ разница между величиной адсорбции мирамистина на ДН-С и ДН-С-СНА сглаживается, рисунок 4 (б). При адсорбции мирамистина на ДН-СНА ζ -потенциал изменяется с отрицательного на положительный и происходит уширение сигнала, но находится полностью в области положительных значений. Следует отметить, что конъюгат ДН-С-СНА-мирамистин образует устойчивые водные дисперсии. Такие тенденции являются благоприятными для потенциального применения полученных конъюгатов в качестве систем для доставки лекарственных средств. Можно предположить, что причиной большей адсорбции мирамистина на ДН-С-СНА является различие ДН-С и ДН-С-СНА по знаку электрокинетического потенциала. Молекула мирамистина в условиях эксперимента несет положительный заряд, что способствует усилению взаимодействия с ДН-С-СНА, обладающими отрицательным знаком ζ -потенциала. Подобный эффект был обнаружен при адсорбции мирамистина на ДН-С-О, обладающих отрицательным ζ -потенциалом, величина которой составила 190 ± 30 мкмоль/г при равновесной концентрации мирамистина 3 мМ, а также при изучении адсорбции гуминовых кислот на наноалмазах ДН-С и ДН-С-О.

В исследовании ДН для применения в качестве адресной доставки веществ изучили взаимодействие конъюгата ДН-мирамистин с клеточной культурой аденокарциномы человека МСF-7 и колонией патогенного гриба *Aspergillus niger*. Определение токсичности мирамистина в конъюгатах с различными ДН проводили с целью изучения изменения активности веществ при их иммобилизации на ДН. Выживаемость клеток определяли с помощью МТТ-теста. Цитотоксичность оценивали как концентрацию образца, соответствующую выживаемости 50% клеток (IC_{50}), которую определяли по уравнению:

$$\text{Выживших, \%} = \frac{100\%}{1 + \left(\frac{IC_{50}}{C}\right)^p} \quad (2)$$

где C – концентрация образца, p – параметр. Используемые в работе наноалмазы ДН-С обладали положительным ζ -потенциалом (+30 мВ) в водной суспензии. Диспергирование наноалмазов ДН-С в среде DMEM (среда Игла, модифицированная по способу Дульбекко) приводит к изменению знака электрокинетического потенциала – ζ -потенциал становится -10 ± 3 мВ из-за сорбции анионов среды на поверхности. Адсорбция мирамистина на ДН-С не приводит к заметному изменению размера агрегатов и величины ζ -потенциала. Отрицательный заряд наноалмазов в среде DMEM приводит к его незначительной цитотоксичности при концентрациях вплоть до 0.5 г/л. Мирамистин проявлял очень высокую цитотоксичность – значение IC_{50} , рассчитанное по уравнению (2), составило 27 ± 0.9 мкМ. Максимально допустимая концентрация мирамистина составила около 13 мкМ. Цитотоксичность мирамистина, адсорбированного на поверхности наноалмазов ДН-С, отсутствует, рисунок 5.

На колонии патогенного гриба *Aspergillus niger* оценили токсичность наноалмазов ДН-С и ДН-С-О (отожженные на воздухе), их конъюгатов с мирамистином. Также оценили влияние на рост колонии гуминовых кислот угля и их конъюгатов с наноалмазами и мирамистином, полученных коадсорбцией гуминовых кислот угля и мирамистина на наноалмазах ДН-С. Образцы ДН не токсичны для колонии при концентрациях до 4 г/л, рисунок 6 (а). Не проявляет антисептическую активность мирамистин сорбированный на наноалмазах ДН-С при концентрациях до 0.3 мМ. Максимальный эффект подавления роста колонии свободный мирамистин проявляет при концентрации 32 мкМ и, с ростом концентрации до 0.32 мМ, эффект не усиливается, рисунок 6 (б). Мирамистин, адсорбированный на наноалмазах ДН-С-О, по антисептическому эффекту

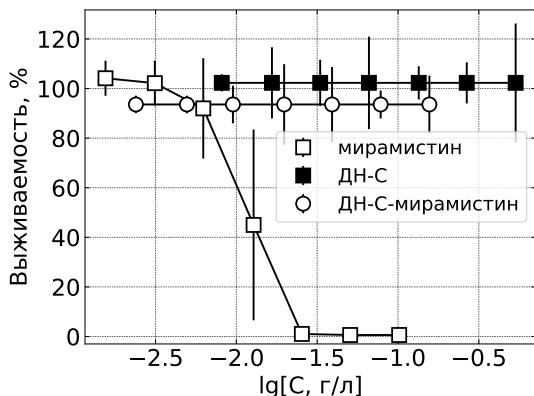


Рис. 5 — Выживаемость клеток MCF-7 в присутствии мирамистина, ДН-С и модифицированных мирамистином ДН-С

близок к эффекту свободного мирамистина. Гуминовые вещества при концентрации в системе 5 и 15 мг/л, что соответствует концентрации гуминовых веществ при оценке токсичности конъюгата ДН-С-СНА-мирамистин, несколько увеличивают рост и развитие гриба. Мирамистин, адсорбированный на наноалмазах, модифицированных гуминовыми кислотами угля, подавляет рост колонии патогенного гриба *Aspergillus niger*, однако в меньшей степени, чем свободный мирамистин.

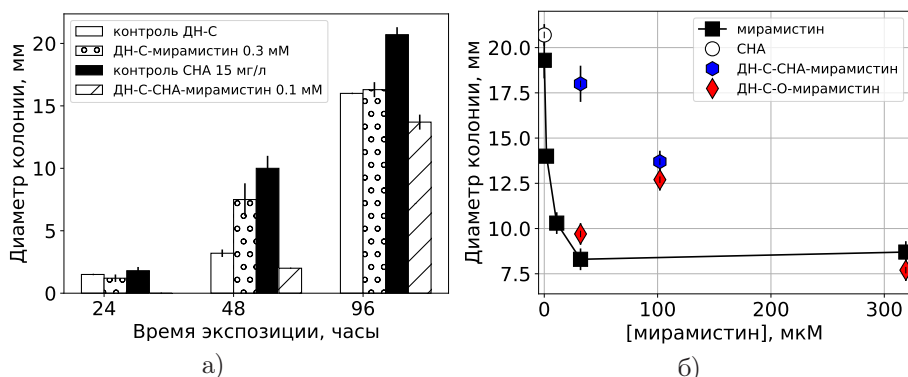


Рис. 6 — Оценка токсичности мирамистина, гуминовых кислот угля (СНА), наноалмазов ДН-С, модифицированных мирамистином ДН (ДН-С-мирамистин и ДН-С-О-мирамистин) и модифицированных СНА и мирамистином ДН (ДН-С-СНА-мирамистин) на колонии гриба *Aspergillus Niger*, зависимость размера колонии от: а) времени экспозиции, б) концентрации мирамистина при времени экспозиции 96 часов

Различие в антисептической активности мирамистина в конъюгате с различными наноалмазами связано с разными механизмами адсорбции мирамистина и/или прочностью его удерживания. Образование конъюгата мирамистина с ДН-С происходит в основном за счет гидрофобных взаимодействий, что приводит к прочному удерживанию мирамистина, и снижению его токсичности в составе конъюгата. Адсорбция гуминовых кислот на ДН-С приводит к перезарядке поверхности, что увеличивает количество связываемого мирамистина с ДН. Наноалмазы ДН-С-О также обладают отрицательным электрокинетическим потенциалом и величина адсорбции мирамистина на ДН-С-О в три раза превышает значение при адсорбции на ДН-С. Можно предположить, что в случае наноалмазов с отрицательным ζ -потенциалом реализуется механизм адсорбции, при котором сохраняется токсичность иммобилизованного мирамистина; либо происходит медленное высвобождение мирамистина в процессе эксперимента с колониями гриба *Aspergillus niger*, что приводит к подавлению роста колонии, однако в меньшей степени, чем свободным мирамистином.

Для интерпретации данных о взаимодействии конъюгатов ДН с биологическими объектами предложена оценка локализации [^3H]ДН в системах, содержащих области различной полярности. При изучении таких систем полезно определить влияние гидрофобности поверхности на коэффициенты распределения конъюгатов ДН. В системах вода/органическая жидкость ДН преимущественно находятся в водной фазе, их содержание в органических фазах разной природы в 10–100 раз меньше, чем в воде. При модифицировании поверхности неионогенным ПАВ плуроником P123 сохраняется агрегативная устойчивость дисперсии в воде и, при необратимом связывании плуроника P123 на поверхности ДН, повышается в несколько раз концентрация наноалмазов ДН-С в органической фазе. Адсорбционные слои плуроника P123 и олеиламина на наноалмазах приводят к частичной гидрофобизации поверхности, что подтверждается данными тензиометрии и смачивания.

Добавление олеиламина в систему октан – гидрозоль наноалмазов ТАН-О приводит к увеличению коэффициента распределения ДН в три раза и способствует концентрированию ДН на границе раздела фаз. При диспергировании в октане высушенного порошка наноалмазов ТАН-О получить стабильные суспензии удастся только при добавлении в систему олеиламина до концентрации 0.3% и выше. Приготовление системы при изучении распределения ДН в системах вода/органическая жидкость в обратном порядке – диспергирование ТАН-О в октане, затем добавление воды, способствует увеличению коэффициента распределения ДН в два раза.

С использованием метода автордиографии обнаружено, что наноалмазы ТАН-О, добавленные в поливиниловый спирт при синтезе композитных пленок, распределены в полученных композитных пленках равномерно. Иммобилизация олеиламина на поверхности ДН приводит к увеличению гидрофобности ДН, о чем свидетельствует концентрирование наноалмазов ТАН-О в нижней части пленки, что происходит в следствие агрегации и последующей седиментации гидрофобизированного конъюгата ТАН-О-олеиламин в растворе поливинилового спирта.

Изучено влияние свойств ДН на эффективность реакции с атомами трития, полученными при диссоциации на вольфрамовой проволоке в методе термической активации трития. Исследование проводили в двух режимах: кинетическом, при времени реакции 20 секунд, и при достижении равновесия/полного насыщения – 80-160 секунд. Полученные зависимости удельной радиоактивности препарата от

времени реакции описали следующим уравнением:

$$A = A_{max} \cdot (1 - \exp(-k_{eff} \cdot t)) \quad (3)$$

где A_{max} – предельное значение радиоактивности, которое определяется количеством активных центров или позиций, доступных для связывания с тритием; k_{eff} – эффективная константа, характеризующая скорость связывания трития с нанодиамазами; t – время реакции. Результаты расчета представлены в таблице 2 и на рисунке 7 (а) – линиями.

Удельная радиоактивность 8.7 ТБк/г соответствует содержанию 0.8% трития в ДН, при этом содержание водорода в ДН по литературным данным составляет от 0.5 до 1.5%. Следовательно, происходит замещение водорода на тритий, близкое к полному. На рисунке 7 (б) показана зависимость рассчитанного значения A_{max} от диаметра частиц ДН в водных суспензиях.

Таблица 2 — Параметры уравнения (3)

ДН	A_{max} , ТБк/г	k_{eff} , c^{-1}	R^2
ТАН-О	3.6	0.013	0.77
ДН-С	3.4	0.015	0.82
ДН-С-УЗ	7.8	0.020	0.85
ДН-100	4.5	0.025	0.96
ДН-100-УЗ	6.9	0.062	0.80
ДН-15	7.4	0.033	0.80
ДН-15-УЗ	8.7	0.041	0.96

Для оценки влияния изменения условий проведения реакции на удельную радиоактивность продукта была усовершенствована методика определения концентрации ДН спектрофотометрическим способом. Отличие разработанной методики заключается в наличии поправки к оптической плотности при изменении распределения агрегатов по размеру в растворе. Использовали эмпирическое уравнение Геллера, которое применяется для расчета размера частиц в нанодисперсных системах. Обнаружено, что коэффициент k линейно зависит от концентрации $k = B \cdot c$, а множитель B от показателя n – экспоненциально, рисунок 8 (а):

$$A = B \cdot c \cdot \lambda^{-n} \quad (4)$$

где A – оптическая плотность, B – коэффициент, c – концентрация, λ – длина волны, n – показатель степени. На рисунке 8 (б) приведены результаты оценки точности методики.

Отжиг ДН в токе водорода и обработка ультразвуком позволяют ускорить процесс насыщения материала тритием в методе термической активации. При использовании окисленных ДН наблюдается значительно меньше потерь продукта в результате его выделения и очистки.

Ультразвуковая обработка суспензий ДН с размером агрегатов меньше 100 нм, которая приводит к уменьшению их гидродинамического радиуса, способствует

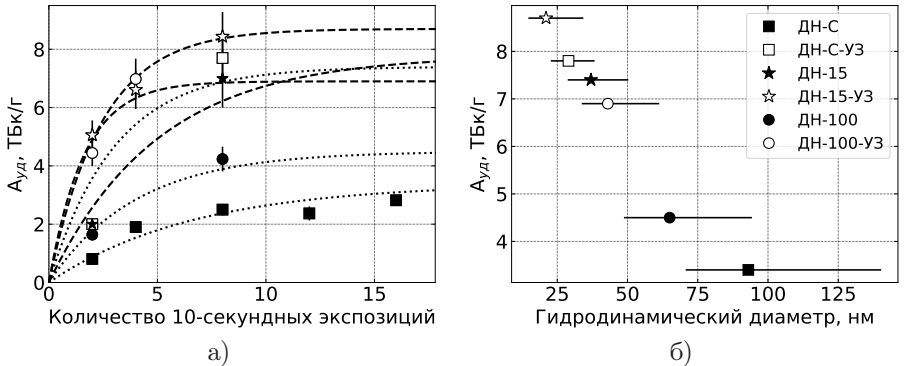


Рис. 7 — а) зависимость удельной радиоактивности ДН от количества 10-секундных воздействий; б) зависимость рассчитанной максимальной удельной радиоактивности ДН от гидродинамического диаметра агрегатов в суспензиях. Символы относятся к полученным экспериментальным данным, пунктирной линией и точечным пунктиром показаны результаты расчета по уравнению (3) для образцов ДН, обработанных ультразвуком и исходных соответственно

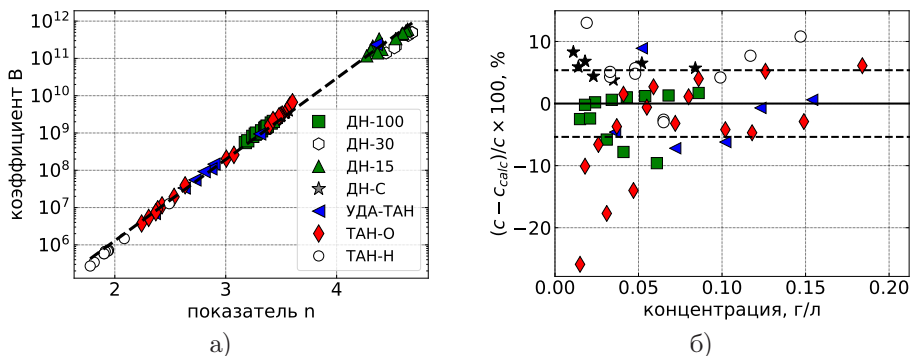


Рис. 8 — а) зависимость B от n , пунктирная линия – аппроксимация экспоненциальной функцией, символы – значения коэффициентов, полученные по уравнению (4); б) относительное отклонение модели, сплошная линия – модель, пунктир – среднее относительное отклонение.

увеличению максимальной удельной радиоактивности [^3H]ДН, полученных методом термической активации трития. Выдвинуто предположение, что неполное удаление адсорбированной на поверхности ДН воды может оказывать решающее значение на удельную радиоактивность продукта при введении трития в материал методом термической активации, поскольку с уменьшением размеров агрегатов и увеличении удельной радиоактивности продукта уменьшается доля включения в материал лабильного трития.

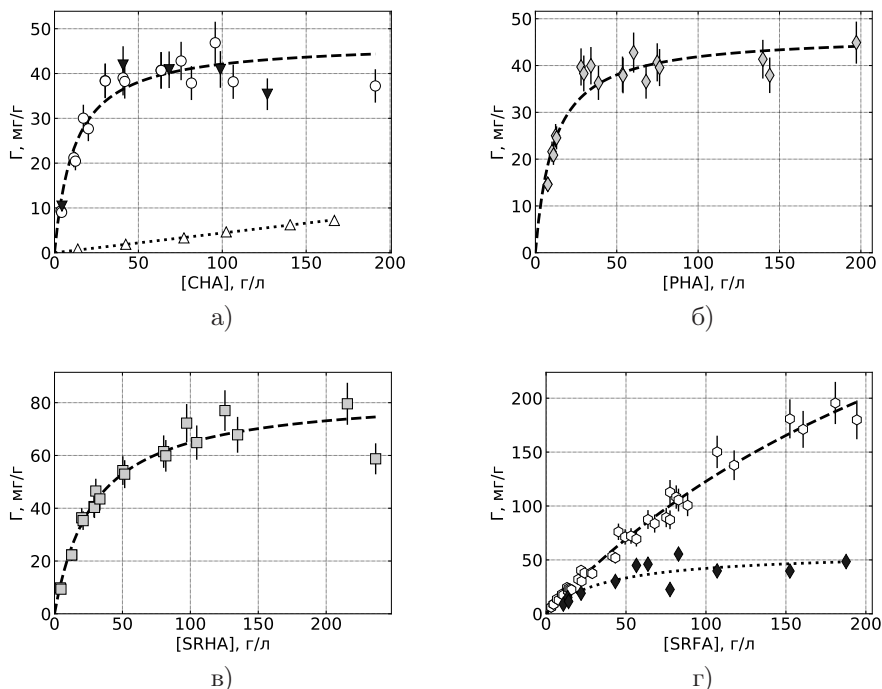


Рис. 9 — Изотермы адсорбции гуминовых веществ на наноалмазах: а — гуминовые кислоты угля, круги — система в буфере, треугольники вершиной вниз — система в воде, треугольники вершиной вверх — адсорбция на наноалмазах ДН-С-О; б — гуминовые кислоты торфа; в — речные гуминовые кислоты; г — речные фульвокислоты, шестиугольники — обратимая и необратимая составляющие адсорбции, ромбы — необратимая адсорбция.

Меченные тритием ДН далее в работе применяли для изучения возможных последствий при попадании в окружающую среду, а именно, для определения способности растений поглощать ДН корневой системой и транспортировать их в листья. Ввиду необходимости учитывать наличие ГВ в природе, с помощью $[^3\text{H}]\text{ГВ}$ определили количественные характеристики взаимодействия ГВ с ДН.

Изотермы адсорбции гуминовых веществ (ГВ) представлены на рисунке 9. Гуминовые кислоты необратимо сорбируются на поверхности наноалмазов: десорбция гуминовых кислот фосфатным буфером менее 10%. Адсорбция гуминовых кислот на наноалмазах с окисленной поверхностью (образец ДН-С-О) значительно ниже и в исследуемом диапазоне концентраций возрастает линейно, рисунок 9 (а). Абсолютное значение адсорбции фульвокислот в 10 раз превышало значение для гуминовых кислот, рисунок 9 (г), однако десорбция фульвокислот достигала 85%. По-видимому, происходит образование полислоев фульвокислот на поверхности ДН, большой вклад вносит обратимая составляющая адсорбции — часть молекул, которая непосредственно не связана с поверхностью ДН. Необратимая составляющая по абсолютному значению близка к значению, полученному для гуминовых кислот. При адсорбции всех изученных

ГВ на наноалмазах ДН-С происходит изменение знака ζ -потенциала на отрицательный. Только фульвокислоты снижают абсолютное значение знака ζ -потенциала суспензий, что может указывать на уменьшение коллоидной стабильности системы. Гуминовые вещества образуют конъюгат с ДН, размеры которых соизмеримы с размерами частиц в исходных гидрозолях. Причем размер частиц не зависит ни от типа, ни от размера фракций, ни от источника гуминовых веществ.

Исследовано влияние гуминовых кислот угля, торфа, речных гуминовых и фульвокислот на взаимодействие наноалмазов ДН-С с проростками пшеницы *Triticum aestivum* L. Суспензии ДН теряют устойчивость после взаимодействия с растениями, средний диаметр частиц в суспензии увеличивается. Особенно сильно проявились изменения свойств суспензии ДН-С при отсутствии ГВ. Вероятно, изменение агрегационной устойчивости ДН происходило из-за взаимодействия с веществами, которые выделяются в результате жизнедеятельности растения. По-видимому, эти вещества адсорбируются на поверхность ДН и способствуют агрегации частиц.

По данным автордиографии величина адсорбции ДН на поверхности корня определяется, прежде всего, размером корня, а не составом золя. Контроль поглощения наноалмазов проростками пшеницы проводили растворением частей растений в азотной кислоте с последующим измерением радиоактивности [^3H]ДН-С с помощью жидкостного сцинтилляционного счета. Обнаружено, что количество ДН в корнях в 10^3 раз превышает его содержание в стеблях и листьях. Гуминовые кислоты, по сравнению с фульвокислотами, сильнее препятствуют поступлению наноалмазов в корни. Фульвокислоты практически не изменяли количество ДН в корнях. Показано, что чем выше максимальная адсорбция ГВ на ДН, тем выше их поглощение корнями растений. Обнаружено, что содержание ДН в корнях растения коррелирует с ζ -потенциалом суспензии, рисунок 10.

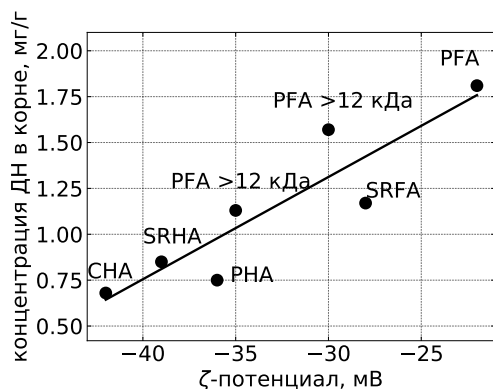


Рис. 10 — Зависимость содержания наноалмазов ДН-С в корнях растения от ζ -потенциала образующихся конъюгатов наноалмазов с гуминовыми веществами

Для гуминовых кислот наблюдается зависимость: чем выше значение максимальной адсорбции, тем лучше они принимают в стебли и листья растений. Фульвокислоты препятствуют поступлению ДН в надземные части растения. Содержание ДН в разных листьях одного растения от основания листа к апексу меняется одинаковым образом, при этом до 40% [^3H]ДН концентрируется в апикальной зоне.

Фитотоксичность ДН и их конъюгатов с гуминовыми веществами оценили на проростках пшеницы *Triticum aestivum* L. С использованием флуоресцентного анализа хлорофилла показано, что наноалмазы ДН-С при концентрации 0.15 г/л не ингибировали фотосинтез. При чрезмерном освещении ДН проявляли некоторую токсичность, по-видимому, из-за ингибирования переноса электронов между Q_A и Q_B и образования трансмембранного потенциала тилакоида. Введение гуминовых кислот в суспензии ДН подавляло ингибирующий эффект от ДН, тогда как присутствие фульвокислот подавляло не столь значимо.

Заключение.

В работе впервые установлено влияние размера агрегатов ДН в суспензиях на эффективность введения трития в ДН методом термической активации. Увеличение удельной радиоактивности продукта [^3H]ДН наблюдается при уменьшении гидродинамического радиуса частиц в результате ультразвуковой обработки раствора из которого готовили мишень. Исследование влияния условий подготовки мишени на удельную радиоактивность [^3H]ДН стало возможным благодаря усовершенствованию методики спектрофотометрического определения концентрации ДН в суспензиях. Универсальная калибровочная зависимость для ДН из разных источников позволяет связать размер частиц в растворе с его оптической плотностью при одинаковых весовых концентрациях ДН. Поскольку процедуры подготовки мишени и выделения продукта [^3H]ДН неизбежно ведут к изменению распределения размера частиц, разработанный метод позволяет сократить количество процедур с радиоактивными препаратами при определении их концентрации. Разработанный метод применим не только для определения концентрации меченных ДН, но и для других систем, в которых возможно изменение размера частиц или их весовое содержание. Например, при изучении устойчивости коллоидных растворов ДН.

Полученные меченные тритием соединения применяли для моделирования двух принципиальных задач: поведения ДН в результате попадания в природу и возможность применения [^3H]ДН в исследованиях адресной доставки БАВ. В первом случае изучали влияние ГВ на свойства ДН и их взаимодействие с растениями мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. Впервые установлено поступление ДН через корни в листья растений. Определено количество ДН в разных частях растения, установлено концентрирование ДН в апикальной зоне листа. Содержание ДН в корнях растений в тысячу раз превышает их содержание в надземной части и определяется в первую очередь устойчивостью суспензий – выявлена корреляция содержания ДН в корнях от ζ -потенциала суспензии в присутствии ГВ. ГК способствуют поступлению ДН в растения, эффект коррелирует с максимальной адсорбцией ГК на ДН. ФК напротив, способствуют уменьшению количества ДН в надземной части растения. В присутствии ГК наблюдается снижение негативного эффекта фитотоксичности ДН.

Адсорбционная емкость ДН зависит от устойчивости коллоидных растворов в присутствии адсорбата и с образованием стабильных суспензий, размер агрегатов в которых меньше 100 нм, не зависит от размера частиц. В диапазоне температур от 277 до 310 К величина адсорбции ППК значительно не изменяется. ДН значительно лучше адсорбируют ионы с зарядом, противоположным знаку ζ -потенциала ДН, при этом следует уделять внимание коллоидной устойчивости образующихся конъюгатов и сохранению активности иммобилизованного препарата. Адсорбционные слои веществ способны существенно изменять свойства ДН. Плороник Р123 и олеиламин эффективно гидрофобизируют поверхность ДН и значительно увеличивают коэффициент распределения ДН в системах органическая жидкость/вода. Мирамистин, адсорбированный на нанодиамазах ДН-С-О значительно увеличивает коэффициент распределения в системе вода-октанол, что может быть показателем увеличения сродства к клеточной мембране.

Выводы по проделанной работе:

1. Впервые получены меченные тритием детонационные наноалмазы с удельной радиоактивностью 8 ТБк/г, что соответствует практически полному замещению водорода на тритий по связям С-Н.
2. Определены параметры адсорбции и прочности связывания на детонационных наноалмазах меченных тритием производных пантотеновой кислоты (пантотеновая, фосфопантотеновая, гопантеновая кислоты), поверхностно-активных веществ (мирамистин, пллороник P123 и олеиламин), гуминовых веществ (гуминовые кислоты угля и торфа, речные гуминовые и фульвокислоты).
3. Показано, что с помощью адсорбционного модифицирования можно регулировать свойства суспензий детонационных наноалмазов: изменять знак электрокинетического заряда наночастиц, гидрофобизировать их поверхность, что можно использовать для получения композитов с другими биологически активными соединениями. Найдено, что модифицирование наноалмазов неионогенным ПАВ пллороник P123 уменьшает адсорбцию мирамистина. Для увеличения эффективности связывания мирамистина предложено использовать модифицирование наноалмазов гуминовыми кислотами.
4. Впервые определены коэффициенты распределения наноалмазов и их конъюгатов с модифицирующими соединениями между водой и органической жидкостью (ксилол, октан, октанол). Коэффициенты распределения отражают сродство наноалмазов к гидрофобным средам и могут быть использованы для прогнозирования их поведения в живых организмах.
5. Обнаружено изменение антисептической активности мирамистина в конъюгате с наноалмазами по отношению к клеткам аденокарциномы человека MCF-7 и патогенного гриба *Aspergillus Niger*. Антисептическая активность мирамистина полностью подавляется в составе конъюгата с наноалмазами, имеющими положительный ζ -потенциал, тогда как при адсорбции мирамистина на детонационных наноалмазах с отрицательным ζ -потенциалом полного подавления антисептической активности мирамистина не происходит. Предполагается, что различие в токсичности конъюгатов мирамистина с наноалмазами связано с разным строением поверхностного адсорбционного слоя и прочностью его удерживания. Обнаруженные закономерности могут быть использованы при создании средств доставки на основе детонационных наноалмазов.

Публикации автора по теме диссертации

1. Chernysheva M.G., **Myasnikov I.Yu**, Badun G.A., Matorin D.N., Gabbasova D.T., Konstantinov A.I., Korobkov V.I., Kulikova N.A. Humic substances alter the uptake and toxicity of nanodiamonds in wheat seedlings // Journal of Soils and Sediments. 2018. Vol.18, No.4, P.1335-1346, Impact Factor 2017 (IF2017) **2.627**.
2. Soboleva O.A., **Myasnikov I.Yu**, Dolmatov V.Yu, Chernysheva M.G., Badun G.A., Karpushkin E.A. Transfer of nanodiamonds from the aqueous phase to the organic phase in the presence of oleylamine // Diamond and Related Materials. 2018. Vol.87, P.115-123, IF2017 **2.232**
3. Chernysheva M.G., Melik-Nubarov N.S., Grozdova I.D., **Myasnikov I.Yu**, Tashlitsky V.N., Badun G.A. Reduction of cytotoxicity of Myramistin by adsorption on nanodiamonds // Mendeleev Communications. 2017. Vol.27, No.4, P.421-423. IF2017 **2.098**
4. **Myasnikov I.Yu.**, Gopin A.V., Mikheev I.V., Chernysheva M.G., Badun G.A. Presonication of nanodiamonds hydrosols in radiolabelling by a tritium thermal activation method // Mendeleev Communications. 2018. Vol. 28, P. 495–496. IF2017 **2.098**
5. **Myasnikov I.Yu**, Soboleva O.A., Chernysheva M.G., Badun G.A. Colloidal behavior of detonation nanodiamonds in the aqueous-organic liquid systems in the presence of pluronic P123 // Mendeleev Communications. 2016. Vol.26, P.293-294. IF2017 **2.098**
6. Chernysheva M.G., **Myasnikov I.Yu**, Badun G.A. Myramistin adsorption on detonation nanodiamonds in the development of drug delivery platforms // Diamond and Related Materials. 2015. Vol.55, P.45-51. IF2017 **2.232**
7. Chernysheva M.G., **Myasnikov I.Yu**, Badun G.A. Radionuclide diagnostics of biologically active substances adsorption on detonated nanodiamonds // Mendeleev Communications. 2012. Vol.22, P.290-291. IF2017 **2.098**
8. Soboleva O.A., Porodenko E.V., Chernysheva M.G., Korobkov V.I., **Myasnikov I.Yu**, Badun G.A. Composite films based on polyvinyl alcohol and detonation nanodiamond with modified surface // Materials Today: Proceedings. 2018. Vol.5, no.12, P.25907–25910.

Иные публикации. Патент РФ № 2672741 от 10.08.2017 года. Патентообладатель: МГУ имени М.В.Ломоносова, опубликовано в официальном бюллетене ФИПС «Изобретения. Полезные модели» № 32 от 19.11.2018 (ISSN 2313-7436).

Тезисы докладов конференций.

1. О.А. Соболева, М.Г. Чернышева, В.И. Коробков, И.Ю. Мясников, Г.А. Бадун. Использование метода автораддиографии для изучения распределения меченых тритием наноалмазов в композиционных пленках. Сборник тезисов IX Российской конференции по радиохимии Радиохимия 2018, С. 94–94. Санкт-Петербург, 2018.
2. О.А. Соболева, Е.В. Породенко, М.Г. Чернышева, В.И. Коробков, И.Ю. Мясников, Г.А. Бадун. Композиционные пленки на основе поливинилового спирта и детонационных наноалмазов с модифицированной поверхностью. 11-я международная конференция «Углерод: фундаментальные проблемы науки, материаловедение, технология», С. 432–432. Москва, Троицк, 2018.
3. M.G. Chernysheva, M.E. Alexeev, I.Yu Myasnikov, A.G. Popov, G.A. Badun. Effect of surface oxidation of detonation nanodiamonds on myramistin adsorption. Book of Abstracts

- 13th International conference Advanced Carbon Nanostructures (ACNS'2017), pages 42–42. St. Petersburg, 2017.
4. O.A. Soboleva, I.Yu Myasnikov, M.G. Chernysheva, G.A. Badun. Influence of surfactant adsorption on the distribution of nanodiamonds in water/organic liquid systems. Book of Abstracts 13th International conference Advanced Carbon Nanostructures (ACNS'2017), pages 113–113. St. Petersburg, 2017.
5. O.A. Соболева, И.Ю. Мясников, Е.В. Породенко, М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун. Влияние адсорбции поверхностно-активных веществ на распределение наноалмазов в системах вода/органическая жидкость. Материалы II Всероссийской научной конференции (с международным участием) «Актуальные проблемы адсорбции и катализа», С. 148–150. Плес, Иваново, 2017.
6. И.Ю. Мясников, О.И. Кляйн, Н.А. Куликова, М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун. Влияние модификации поверхности наноалмазов детонационного синтеза на их токсичность. Сборник материалов Международной конференции Химическая технология функциональных наноматериалов, С. 185–185. РХТУ им. Д.И. Менделеева Москва, 2017.
7. И.Ю. Мясников. Влияние условий подготовки наноалмазов на их удельную радиоактивность при введении трития с помощью метода термической активации. XXIV Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2017». Москва, 2017.
8. O.A. Soboleva, I.Yu. Myasnikov, M.G. Chernysheva, G.A. Badun. Распределение наноалмазов, модифицированных олеиламином, в системе вода/октан и в композиционной пленке на основе поливинилового спирта. Сборник материалов Международной конференции Химическая технология функциональных наноматериалов, С. 254–255. РХТУ им. Д.И. Менделеева Москва, 2017.
9. I.Yu Myasnikov, M.G. Chernysheva, O.A. Soboleva, N.A. Kulikova, G.A. Badun. Tritium labeled nanodiamonds: preparation and application in studying its behavior in liquid-liquid and biological systems. Abstract book: 27th International Conference on Diamond and Carbon Materials (ICDCM), pages 27–27. Montpellier, 2016.
10. И.Ю. Мясников, М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун. Адсорбция биологически активных веществ на наноамазах детонационного синтеза. Сборник тезисов докладов 10 Международной конференции Углерод: фундаментальные проблемы науки, материаловедение, технология, С. 290–291. Москва, г. Троицк, 2016.
11. И.Ю. Мясников, М.Г. Чернышева, О.А. Соболева, Г.А. Бадун. Изменение коллоидно-химических свойств наноалмазов при их модификации плурониками. Сборник тезисов докладов 10 Международной конференции Углерод: фундаментальные проблемы науки, материаловедение, технология, С. 296–297. Москва, г. Троицк, 2016.
12. И.Ю. Мясников, М.Г. Чернышева, В.Н. Ташлицкий, Н.С. Мелик-Нубаров, Г.А. Бадун. Перспективы использования наноалмазов как платформы доставки лекарственных средств (на примере мирамистина). Сборник тезисов докладов 10 Международной конференции Углерод: фундаментальные проблемы науки, материаловедение, технология, С. 292–293. Москва, г. Троицк, 2016.
13. И.Ю. Мясников, М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун, В.И. Коробков, А. И. Константинов, Д.Т. Габбасова, Д.Н. Маторин, Н.А. Куликова. Поступление наноалмазов в проростки пшеницы и их влияние на фотосинтез. Сборник тезисов докладов 10 Международной конференции Углерод: фундаментальные проблемы науки, материаловедение, технология, С. 294–295. Москва, г. Троицк, 2016.
14. И.Ю. Мясников, М.Г. Чернышева, А.В. Гошин, М.Н. Семенов, Г.А. Бадун. Введение трития в наноалмазы с помощью метода термической активации: влияние на удельную радиоактивность условий подготовки препаратов и их обработки атомами трития. Тезисы докладов VIII Всероссийской конференции по радиохимии Радиохимия-2015 г. С. 461–461. Железногорск, 2015.
15. И.Ю. Мясников, В.А. Костин, О.А. Соболева, М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун. Изменение

- физико-химических свойств наноалмазов при их нековалентной модификации плоронином P123. Тезисы докладов VIII Всероссийской конференции по радиохимии Радиохимия-2015 г. С. 460–460. Железногорск, 2015.
16. И.Ю. Мясников, А.Г. Казаков, М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун. Использование меченных тритием производных пантотеновой кислоты для выяснения механизма их адсорбции на наноалмазах. Тезисы докладов VIII Всероссийской конференции по радиохимии Радиохимия-2015 г. С. 459–459. Железногорск, 2015.
17. А.Г. Казаков, И.Ю. Мясников. Получение меченных тритием производных пантотеновой кислоты и их адсорбция на наноалмазах. Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2015». Москва, 2015.
18. И.Ю. Мясников, В.А. Костин. Применение радиоактивных индикаторов для изучения систем наноалмаз/поверхностно-активное вещество/вода/органическая жидкость. XXII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2015». Москва, 2015.
19. И.Ю. Мясников. Специфика взаимодействия атомарного трития с наноалмазами. XXII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2015». Москва, 2015.
20. I. Myasnikov, M. Chernysheva, G. Badun, V. Korobkov, N. Kulikova. Humic substances alter uptake of nanodiamonds by wheat plants. Third International Conference of CIS IHSS on Humic Innovative Technologies Tenth International Conference daRostim Humic Substances and Other Biologically Active Compounds in Agriculture HIT-daRostim-2014, pages 59–59. Moscow, 2014.
21. I.Yu. Myasnikov, M.G. Chernysheva, G.A. Badun, N.A. Kulikova, V.I. Korobkov. Tritium labeled detonation nanodiamonds uptake by wheat seedlings in the presence of humic substances of different origin. XII International Conference on Nanostructured Materials (NANO 2014), pages 245–245. Moscow, 2014.
22. И.Ю. Мясников. Поглощение меченных тритием наноалмазов проростками пшеницы. Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2014». Москва, 2014.
23. I.Yu. Myasnikov, M.G. Chernysheva, G.A. Badun. Change of colloidal chemical properties of nanodiamond after the adsorption of myramistin. book of. Book of Abstracts IV International conference on colloid chemistry and physicochemical mechanics, pages 264–266. Moscow, Russia, 2013.
24. I.Yu. Myasnikov, M.G. Chernysheva, G.A. Badun. Tritium labeled compounds in nanodiamonds modification. The First Russian-Nordic Symposium on Radiochemistry «RNSR-2013»: Abstracts, pages 175–175. Moscow, 2013.
25. И.Ю. Мясников. Адсорбция мирамистина на наноалмазах детонационного синтеза НПО Синга. Материалы XIX Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2013», Москва, 2013.
26. И.Ю. Мясников, М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун. Изменение размеров агрегатов детонационного наноалмаза при адсорбции биологически-активных веществ. Сборник тезисов доклада на XIX Всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем», С. 119–119. Москва: ИФХЭ РАН, 2012.
27. И.Ю. Мясников. Радионуклидный подход к исследованию адсорбции белков и гомопантотеновой кислоты на детонационных наноалмазах. Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2012», Москва, 2012.
28. И.Ю. Мясников, М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун. Модификация детонационных наноалмазов биологически-активными веществами. Сборник тезисов докладов XVIII Всероссийской конференции с элементами научной школы для молодежи Структура и динамика молекулярных систем, С. 101–101. Издательство Казанского университета. Казань, 2011.