

Наноалмаз как средство доставки цитостатиков

В.В. Андреева, М.А. Марьясов, Н.П. Ромашов, О.Е. Насакин

Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова,
Российская Федерация, 428015, Чебоксары, Московский пр., д. 15

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Андреева Вера Владимировна – старший преподаватель кафедры органической и фармацевтической химии Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова (ЧувГУ). Тел.: +7 (909) 300-43-88. E-mail: ver.92.92@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3992-4158

Марьясов Максим Андреевич – доцент кафедры органической и фармацевтической химии ЧувГУ, кандидат фармацевтических наук. Тел.: +7 (909) 117-51-22. E-mail: marsikprovisor@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4935-0250

Ромашов Никита Павлович – магистрант кафедры органической и фармацевтической химии, ЧувГУ. Тел.: +7 (927) 858-20-58. E-mail: romashov.nikita.98@mail.ru. ORCID: 0000-0001-6335-5077

Насакин Олег Евгеньевич – профессор кафедры органической и фармацевтической химии ЧувГУ, доктор химических наук. Тел.: +7 (903) 357-40-10. E-mail: ecoran21@inbox.ru. ORCID: 0000-0002-5603-7385

РЕЗЮМЕ

Введение. Доставка лекарственного вещества непосредственно к биологической мишени является одной из главных проблем в химиотерапии. Инновационные лекарственные препараты на наноносителях могут решить данную проблему. Углеродные наноструктуры являются одними из основных претендентов на роль «идеальных» носителей для систем доставки лекарственных веществ. Наименьшим токсическим действием среди углеродных наноструктур обладает наноалмаз.

Цель исследования: иммобилизация биологически активных поликарбонитрилов на поверхности детонационного наноалмаза для получения кандидатов в субстанции с антипролиферативной активностью.

Материал и методы. Объектами служили синтезированные цианоорганические соединения. Их посадку на поверхность детонационных наноалмазов осуществляли механохимическим методом. Цитотоксичность проверяли с помощью пролиферативного МТТ-теста.

Результаты. Проведена адсорбция карбонитрильных соединений 6 классов на поверхность детонационного наноалмаза и исследована антипролиферативная активность 3 полученных кандидатов в фармацевтические субстанции.

Заключение. Разработан метод, позволяющий получать нитрилсодержащие субстанции на наноалмазах, которые могут использоваться при создании лекарственных препаратов.

Ключевые слова: наноалмаз, детонационный синтез, цианоорганические соединения, антипролиферативная активность.

Для цитирования: Андреева В.В., Марьясов М.А., Ромашов Н.П., Насакин О.Е. Наноалмаз как средство доставки цитостатиков. Фармация, 2021; 70 (7): 11–17. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-07-02>

NANODIAMOND AS AN AGENT FOR DELIVERY OF CYTOSTATICS

V.V. Andreeva, M.A. Maryasov, N.P. Romashov, O.E. Nasakin

I.N. Ulyanov Chuvash State University, 15, Moskovsky Pros., Cheboksary 428015, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Andreeva Vera Vladimirovna – Senior lecturer of the Department of Organic and Pharmaceutical Chemistry of Chuvash State University named after I.N. Ulyanov (ChuvSU). Tel.: +7 (909) 300-43-88. E-mail: ver.92.92@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3992-4158

Mar'yasov Maksim Andreevich – Associate professor of the Department of Organic and Pharmaceutical Chemistry of ChuvSU, PhD. Tel.: +7 (909) 117-51-22. E-mail: marsikprovisor@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4935-0250

Romashov Nikita Pavlovich – Candidate for Master's degree of the Department of Organic and Pharmaceutical Chemistry of ChuvSU. Tel.: +7 (927) 858-20-58. E-mail: romashov.nikita.98@mail.ru. ORCID: 0000-0001-6335-5077

Nasakin Oleg Evgenyevich – Professor of the Department of Organic and Pharmaceutical Chemistry of ChuvSU, Doctor of Chemical Sciences. Tel.: +7 (903) 357-40-10. E-mail: ecoran21@inbox.ru. ORCID: 0000-0002-5603-7385

SUMMARY

Introduction. To deliver a drug directly to the biological target is one of the main problems with chemotherapy. Innovative nanocarrier-based drugs can solve this problem. Carbon nanostructures are one of the main contenders for the role of ideal carriers for drug delivery systems. Nanodiamond has the least toxic effect among the carbon nanostructures.

Objective: to immobilize biologically active polycarbonitriles on the surface of a detonation nanodiamond (DND) to obtain candidates in the substance with antiproliferative activity.

Material and methods. The objects of the investigation were synthesized organic cyano compounds. The latter were placed on the surface of DNDs, by using the mechanochemical technique. Cytotoxicity was verified by a proliferative MTT assay.

Results. The adsorption of carbonitrile compounds of Class 6 on the surface of DND was carried out and the antiproliferative activity of the three obtained candidates for pharmaceutical substances was investigated.

Conclusion. The authors have developed a method that can obtain nanodiamond-based nitrile-containing substances that can be used in the design of medicines.

Key words: nanodiamond, detonation synthesis, organic cyano compounds, antiproliferative activity.

For reference: Andreeva V.V., Maryasov M.A., Romashov N.P., Nasakin O.E. Nanodiamond as an agent for delivery of cytostatics. *Farmatsiya*, 2021; 70 (7): 11–17. <https://doi.org/10/29296/25419218-2021-07-02>

Введение

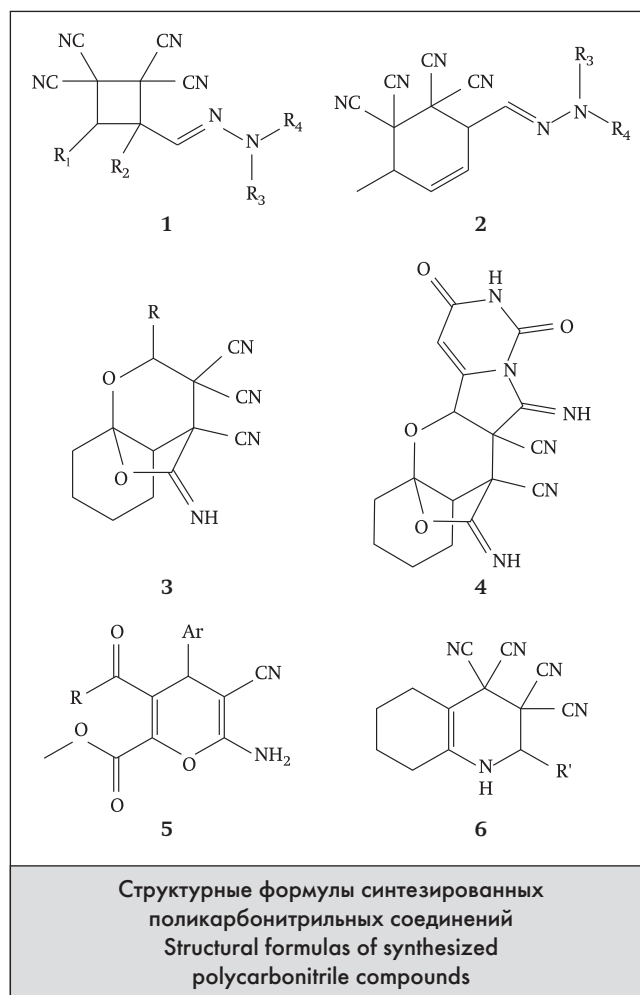
Доставка лекарственного вещества непосредственно к биологической мишени является одной из главных проблем в химиотерапии. Известно, что только одна молекула из 10 тыс. введенных в организм достигает цели [1]. Введение в медицинскую практику инновационных лекарственных препаратов на наноносителях может решить данную проблему.

К настоящему времени в литературе описано >400 видов наночастиц, из которых наиболее изученными являются липосомы, полимерные наночастицы, нанокристаллы, частицы металлов, мицеллы, эмульсии, дендримеры, белки, конъюгаты, ДНК и др. [2]. Углеродные наноструктуры являются одними из основных претендентов на роль «идеальных» носителей для систем доставки лекарственных веществ, так как их поверхность можно направленно функционализировать для ковалентной или адсорбционной иммобилизации биологически активных и лекарственных веществ. Они могут пассивно проникать через мембраны различных типов клеток. Наименьшим токсическим действием среди углеродных наноструктур обладает наноалмаз благодаря оптимальному комплексу его физико-химических, биофармацевтических и фармакотоксикологических характеристик. В данный момент рассматривается возможность применения наноалмазов в медицине для борьбы с онкологическими заболеваниями [3–5].

Ранее нами был синтезирован ряд поликарбонитрильных соединений (см. рисунок): 10-иминотетрагидро-8а,4-(эпоксиметано)хромен-3,3,4(2Н,4аН)-трикарбонитрилы (3), 11,13-диамино-1,3-диоксо-1,2,3,4b,7,8,9,9а-октагидро-5а,10-(эпоксиметано)хромено[2',3':3,4]пирроло[1,2-с]пиримидин-10,10а(6Н,11Н)дикарбонитрил (4), 3-((R-гидразоно)метил)циклобутан-1,1,2,2-тетракарбонитрилы (1),

3-((2-R-гидразоно)метил)-6-метилциклогекс-4-ен-1,1,2,2-тетракарбонитрилы (2), цианозамещенные пираны (5) и 1,2,5,6,7,8-гексагидрохиолин-3,3,4,4-тетракарбонитрилы (6) и изучена их антипролиферативная активность [6–8].

Целью настоящего исследования является иммобилизация биологически активных поликарбонитрилов на поверхности детонационного наноалмаза (ДНА), для получения кандидатов в субстанции с антипролиферативной активностью.



Материал и методы

Целевые продукты 1 получены реакцией [2+2] циклоприсоединения тетрацианоэтилена с гидразонами α -, β -непредельных альдегидов, а продукты 2 – реакцией Дильса–Альдера тетрацианоэтилена с гидразонами сорбинового альдегида. Продукты 3 и 4 были получены циклизацией 1-(2-оксоциклогексил)этан-1,1,2,2-тетракарбонитрила с α -, β -непредельными альдегидами и оротовым альдегидом соответственно. Продукты 5 синтезированы в ходе реакции Михаэля 2-арилиденмалонитрилов с 2,4-диоксобутаноатами и последующей реакцией гетероциклизации. Продукты 6 получены в ходе реакции гетероциклизации 4-оксоциклогексил-1,1,2,2-тетракарбонитрила с гидробензамидами. Чистоту синтезированных веществ определяли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), строение синтезированных соединений подтверждали спектральными методами исследований [6–8].

Для исследования антипролиферативной активности данных соединений использовали модель *in vitro*, позволяющую стандартизовать условия эксперимента для повторяющихся серий по методике CI-60 One-DoseScreen [9]. Опухолевые клетки выращивали в среде RPMI 1640, содержащей 5% фетальной бычьей сыворотки и 2 мМ L-глутамин. Клетки инокулировали в 96-луночные микротитрационные планшеты по 100 мкл при плотности посева от 5000 до 40000 кл/луночка в зависимости от времени удвоения отдельных клеточных линий. После инокуляции клеток планшеты инкубировали при 37°C, 5% CO₂, 95% воздуха и 100% относительной влажности в течение 24 ч. Затем клеточные линии фиксировали *in situ* трихлоруксусной кислотой (ТХК). Испытуемые соединения растворяли в диметилсульфоксиде в 400-кратной тестовой концентрации и хранили в замороженном виде перед использованием. Аликвоту концентрата размораживали и разбавляли до двойной тестовой концентрации полной средой, содержащей 50 мкг/мл гентамицина. Аликвоту 100 мкл данного разведения добавляли в соответствующие лунки, уже содержащие 100 мкл среды. Далее планшеты инкубировали еще 48 ч при тех же условиях. Для прикрепленных клеток анализ завершили добавлением холодной ТХК. Клетки фиксировали *in situ* путем осторожного добавления 50 мкл холодной 50% (масс./об.) ТХК (конечная концентрация, 10% ТХК) и инкубировали в течение 60 мин при 4°C. Супернатант сливали, планшеты пять раз промывали деионизирован-

ной водой и сушили на воздухе. Раствор сульфородамина В (SRB) (100 мкл при 0,4% (масс./об.) в 1%-й уксусной кислоте добавляли в каждую лунку, планшеты инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. После окрашивания несвязанный краситель удаляли пятикратной промывкой 1% уксусной кислотой и планшеты сушили на воздухе. Связанный краситель растворяли с помощью 10 мМ основания трисаминаметана (Трис) и оптическую плотность измеряли на автоматическом планшет-ридере при длине волны 515 нм. Для суспензионных клеток (например, лейкоз) методика такая же, за исключением того, что анализ завершают фиксацией осевших клеток на дне лунок путем осторожного добавления 50 мкл 80% ТХК (конечная концентрация 16% ТХК). Данные об оптической плотности (OD) с каждого микротитровального планшета автоматически передавались из планшет-ридера в микрокомпьютер, где оптическая плотность измерения вычиталась из соответствующих значений контрольной лунки и где соответствующие холостые измерения препарата вычитались от соответствующих значений испытательной лунки. Рассчитывали среднее значение \pm стандартное отклонение данных из повторяющихся лунок. Данные выражали в $(OD_{\text{обработанных клеток}}/OD_{\text{контроль, \%}}) \cdot 100\%$ [9].

Синтез детонационного наноалмаза (ДНА) проводят при высоком давлении (до 20 ГПа) и температуре (до 3000°K), с образованием «алмазной шихты» – алмазосодержащего конденсированного углерода, которую подвергают дополнительной химической очистке для выделения самого ДНА [5, 10]. Для наноалмазов характерно наличие «шубы» из поверхностных кислородсодержащих и других функциональных групп. Помимо углерода, в составе ДНА могут присутствовать атомы кислорода и водорода, большая часть которых сосредоточена в функциональных группах поверхности самой частицы. А также быть в составе воды, углекислого газа и других молекул, которые адсорбированы на самой поверхности ДНА. Так как для синтеза наноалмазов используются в основном азотсодержащие взрывчатые вещества, атомы азота всегда входят как в состав алмазного ядра, так и в функциональное обрамление (NH₂, NO₂, NO₃). Атомы углерода в ядре ДНА находятся в sp³-гибридизации, а на поверхности – sp², что можно объяснить наличием фулереноподобной «шапки» и наличием других форм углерода, например, графит или луковичный углерод,

содержание которых будет зависеть от условий последующей очистки ДНА [10]. Наноалмазы образуются из конденсированных взрывчатых веществ с отрицательным кислородным балансом (например, тринитротолуол), т.е. разлагающихся с выделением «свободного углерода» при детонации зарядов в охлаждающей среде. Синтез проводят во взрывных камерах объемом от 1 до 20 м³, которые изготавливают из низко- или высоколегированных сталей. Таким образом, частица ДНА представляет собой надмолекулу с кристаллическим алмазным ядром, нарушенной углеродной оболочкой, окруженной функциональными группами.

Иммобилизация наработанных цианоорганических соединений была проведена на поверхность детонационного наноалмаза марки УДА-ТАН, полученных в «СКТБ «Технолог» (ЗАО «Алмазный центр») и очищенных по известной методике [11]. Посадку веществ на наноалмаз осуществляли механохимическим методом. Подготовленные и очищенные образцы и сами ДНА растирали в агатовой ступке, помещали в эппендорф на 2 мл, добавляли 1 мл растворителя, который выбирали по растворимости в нем исходных цианоорганических соединений, отдавая предпочтение легколетучим соединениям. После интенсивного перемешивания в течение 20–24 ч, полученный осадок центрифугировали, промывали несколькими порциями растворителя и 0,9% раствора NaCl по 1 мл и сушили в сушильном шкафу до постоянной массы. Для количественного определения был использован весовой метод (с точностью до 5-го знака после запятой), из-за отсутствия стандартных методик. Для качественной характеристики использовали ИК-спектроскопию. В спектрах полученных субстанций наблюдался характерный для цианогруппы пик в области 2190–2235 см⁻¹

Антипролиферативную активность кандидатов в субстанции на наноалмазах проверяли с помощью пролиферативного МТТ-теста (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид) (Promega, США) [12]. Суть МТТ-теста заключается в следующем. МТТ-реагент под действием митохондриальных дегидрогеназ жизнеспособных клеток превращается в нерастворимый в воде формазан, имеющий фиолетовую окраску. При лизисе клеток кристаллы формазана легко переходят в раствор таких органических растворителей, как изопропанол или ДМСО. По данным оптической плотности раствора формазана (500–600 нм)

определяют активность митохондриальных дегидрогеназ, и, соответственно, жизнеспособность клеток [3, 13].

Результаты обрабатывали с использованием программного обеспечения OriginPro 8. Расчет процента жизнеспособных клеток в каждой опытной лунке проводили относительно лунок положительного контроля, жизнеспособность которых принимали за 100%. Строили графики зависимости жизнеспособности клеток (%), относительно десятичного логарифма концентраций добавленных соединений и определяли концентрацию полумаксимального ингибирования роста клеток (IC₅₀).

Результаты и обсуждение

Проведена иммобилизация 6 классов полицианоорганических соединений на поверхность детонационного наноалмаза. Ряд соединений показал высокий процент адсорбции – более 13,5% (табл. 1). Среди них отобраны 3 соединения: **циклобутан 1** (2-((3,3,4,4-тетрациано-8,8-диметилтрицикло[5.1.1.0^{2,5}]нонан-2-ил)метил)ен)гидразин-1-карботиоамида); **продукт 4** (11,13-диамино-1,3-диоксо-1,2,3,4b,7,8,9,9a-октагидро-5a,10-(эпоксиметано)хромено[2',3':3,4]пирроло[1,2-c]пиримидин-10,10a(6H,11H)-дикарбонитрил); **цианзамещенный гексагидрохинолин 6** (2-изопропил-1,2,5,6,7,8-гексагидрохинолин-3,3,4,4-тетракарбонитрил). Структуры отобраны по наибольшей антипролиферативной активности [5–7], иммобилизации на ДНА и хорошей растворимости в органических растворителях.

Антипролиферативная активность субстанций на наноалмазах была исследована в НОЦ Фармацевтики (Казань). Объектами исследования стали образцы из трех синтезированных классов с максимальным процессом иммобилизации. Проведено экспериментальное исследование антипролиферативной активности перечисленных соединений в отношении опухолевых клеток человека из коллекции АТСС (аденокарцинома молочной железы MCF-7, аденокарцинома простаты PC-3, карцинома почек A-498, глиобластома SNB-19, меланома M-14, аденокарцинома яичников OVCA4-4, немелкоклеточная бронхиолоальвеолярная карцинома NCI-H322M, метастатическая аденокарцинома молочной железы MDA-MB-231, карцинома кишечника HCT-116) и условно-нормальных первичных фибробластов, выделенных из кожи человека.

Таблица 1

Процент адсорбции синтезированных веществ на поверхность ДНА

Table 1

Percentage of adsorption of synthesized substances on the DND surface

Соединение	Процент адсорбции, %	Соединение	Процент адсорбции, %
	10,1		17,3
	11,7		13,5
	12,3		13,7
	8,7		12,1
	7,0		11,0
	9,9		10,7
	14,7		12,3
	8,3		11,6
	7,5		10,3

Продолжение таблицы 1

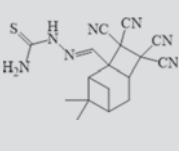
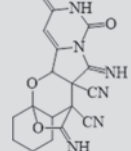
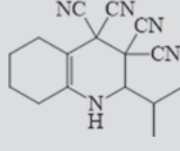
Continuing of table 1

Соединение	Процент адсорбции, %	Соединение	Процент адсорбции, %
	4,1		9,2
	4,2		8,3
	3,6		9,9
	13,6		10,3
	14,8		10,7
	11,2		

В результате проведенного исследования (табл. 2) отмечено, что исследованные кандидаты в субстанции с нанодиамазами обладают более высокой селективностью действия, но меньшей цитотоксической активностью в отношении опухолевых клеток вследствие своей безопасности для условно-нормальных фибробластов кожи.

Таблица 2
Концентрации полумаксимального ингибирования роста (CC₅₀ и IC₅₀, мкМ) соединений для условно-нормальных и опухолевых клеток человека

Table 2
The half-maximal growth inhibitory concentrations (CC₅₀ and IC₅₀, μM) of compounds for human apparently normal and tumor cells

Клеточные линии	Соединение			Доксорубин*
				
MCF-7	149	34,7	34,7	0,125±0,050
HSF	>250	>250	>250	0,80±0,01
M-14	>250	>250	223	0,14±0,09
PC-3	69	19	42,5	0,10±0,06
NCI-H322M	149	192	35,5	0,15±0,07
SNB-19	86,2	22,2	31,2	0,10±0,02
A-498	111	28	30,9	0,10±0,02
HCT-116	92	37	39,3	0,08±0,03
MDA-MB 231	134	12,2	24,2	0,2±0,1
OVCAR	>250	>250	>250	0,15±0,07

Примечание: * – средние значения ± стандартное отклонение.
 Note: * – mean values ± standard deviation.

Эти данные не учитывают процент иммобилизации, навески брали относительно доксорубина. При учете процента адсорбции на поверхность ДНА, активность увеличивается на порядок.

Заключение

Детонационные наноалмазы являются наиболее перспективными носителями поликарбонитрильных соединений, а разработанный метод позволяет получать нитрилсодержащие субстанции на наноалмазах, которые могут использоваться при создании лекарственных препаратов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература

1. Демина Н.Б. Скатков С.А. Стратегии развития и биофармацевтические аспекты систем доставки лекарств. Российский химический журнал. 2012; 56 (3–4): 5–10.

2. Наноструктуры в биомедицине. (под ред. К. Гонсалес). М.: Бином. Лаборатория знаний, 2012; 519.

3. Zhang X., Hu W., Li J. et al. A comparative study of cellular uptake and cytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes, graphene oxide, and nanodiamond. Toxicol. Res. 2012; 1 (1): 62–8.

4. Schrand A.M. et al. Differential biocompatibility of carbon nanotubes and nanodiamonds. Diamond Relat. Mater. 2007; 16 (12): 2118–23.

5. Яковлев Р.Ю. Мингалев П.Г. Леонидов Н.Б. и др. Детонационный наноалмаз как перспективный носитель лекарственных веществ. Химико-фармацевтический журнал. 2020; 54 (4): 29–44. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-4-29-44

6. Марьясов М.А. Давыдова В.В. Насакин О.Е. и др. Антипролиферативная активность продуктов циклизации 1-(2-оксоциклогексил)этан-1,1,2,2-тетракарбонитрила с -непределыми альдегидами. Химико-фармацевтический журнал. 2021; 55 (1): 29–32. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-1-29-32

7. Марьясов М.А. Давыдова В.В. Насакин О.Е. и др. Антипролиферативная активность цианозамещенных пиранов и 1,2,5,6,7,8-гексагидрохинолин-3,3,4,4-тетракарбонитрилов. Химико-фармацевтический журнал. 2016; 50 (12): 26–7.

8. Марьясов М.А., Давыдова В.В., Насакин О.Е. и др. Синтез и антипролиферативная активность 3-((R-гидразоно)метил) циклобутан-1,1,2,2-тетракарбонитрилов и 3-((2-R-гидразоно)метил)-6-метилциклогекс-4-ен-1,1,2,2-тетракарбонитрилов. Химико-фармацевтический журнал. 2020; 54 (3): 11–5. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-3-11-5

9. NCI 60 Cell Line Screen. Encyclopedia of Cancer. 2011; 2468. DOI: 10.1007/978-3-642-16483-5_3987

10. Basso L., Cazzanelli M., Orlandi M., Miotello A. Nanodiamonds: Synthesis and Application in Sensing, Catalysis, and the Possible Connection with Some Processes Occurring in Space. Applied Sciences. 2020; 10 (12): 4094. DOI: 10.3390/app10124094

11. Yakovlev R. Yu., Osipova A. S., Solomatin A. S., Kulakova I. I., Murav'eva G. P., Avramenko N. V., Leonidov N. B., Lisichkin G. V. An approach to unification of the physicochemical properties of commercial detonation nanodiamonds. Russian J. of General Chemistry. 2015; 85 (6): 1565–74. DOI: 10.1134/s1070363215060365

12. Präbst K., Engelhardt H., Ringgeler S., Hübner H. Basic Colorimetric Proliferation Assays: MTT, WST, and Resazurin. Methods in Molecular Biology. 2017; 1–17. DOI: 10.1007/978-1-4939-6960-9_1

13. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. ОФС.1.1.0014.15 Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами. [Электронное издание]. Режим доступа: <http://femb.ru/feml>

References

1. Demina N.B. Skatkov S.A. Development strategies and biopharmaceutical aspects of drug delivery systems. *Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal*. 2012; 56 (3–4): 5–10 (in Russian)
2. Nanostructures in biomedicine. (by ed.. K. Gonsalves) Moscow: Binom. Laboratoriya znaniy, 2012; 519 (in Russian)
3. Zhang X., Hu W., Li J. et al. A comparative study of cellular uptake and cytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes, graphene oxide, and nanodiamond. *Toxicol. Res.* 2012; 1 (1): 62–8.
4. Schrand A. M. et al. Differential biocompatibility of carbon nanotubes and nanodiamonds. *Diamond Relat. Mater.* 2007; 16 (12): 2118–23.
5. Yakovlev R.Yu., Mingalev P.G., Leonidov N.B. et al. Detonation nanodiamonds as promising drug carriers. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 2020; 54 (4): 29–44. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-4-29-44 (in Russian)
6. Mar'yasov M.A., Davydova V.V., Nasakin O.E. et al. Antiproliferative activity of the products of 1-(2-oxocyclohexyl) ethane-1,1,2,2-tetracarbonitrile cyclization with -unsaturated aldehydes. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 2021; 55 (1): 29–32. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-1-29-32 (in Russian)
7. Mar'yasov M.A., Davydova V.V., Nasakin O.E. et al. Antiproliferative activity of cyanosubstituted pyranes and 1,2,5,6,7,8-hexahydroquinoline-3,3,4,4-tetracarbonitriles. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 2016; 50 (12): 26–7 (in Russian)

8. Mar'yasov M.A., Davydova V.V., Nasakin O.E. et al. Synthesis and antiproliferative activity of 3-((R-hydrazono)methyl)cyclobutane-1,1,2,2-tetracarbonitriles and 3-((2-R-hydrazono)methyl)-6-methylcyclohex4-en-1,1,2,2-tetracarbonitriles. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 2020; 54 (3): 11–5. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-3-11-15 (in Russian)
9. NCI 60 Cell Line Screen. *Encyclopedia of Cancer*. 2011; 2468. DOI: 10.1007/978-3-642-16483-5_3987
10. Basso L., Cazzanelli M., Orlandi M., Miotello A. Nanodiamonds: Synthesis and Application in Sensing, Catalysis, and the Possible Connection with Some Processes Occurring in Space. *Applied Sciences*. 2020; 10 (12): 4094. DOI: 10.3390/app10124094
11. Yakovlev R. Yu., Osipova A. S., Solomatin A. S., Kulakova I. I., Murav'eva G. P., Avramenko N. V., Leonidov N. B., Lisichkin G. V. An approach to unification of the physicochemical properties of commercial detonation nanodiamonds. *Russian J. of General Chemistry*. 2015; 85 (6): 1565–74. DOI: 10.1134/s1070363215060365
12. Präbst K., Engelhardt H., Ringgeler S., Hübner H. Basic Colorimetric Proliferation Assays: MTT, WST, and Resazurin. *Methods in Molecular Biology*. 2017; 1–17. DOI: 10.1007/978-1-4939-6960-9_1
13. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV-ed. ОФС.1.1.0014.15 Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами. [Electronic resource]. Access mode: <http://femb.ru/feml> (in Russian)

Поступила 11 октября 2021 г.

Received 11 October 2021

Принята к публикации 23 октября 2021 г.

Accepted 23 October 2021