













УДК 543.06 + 577.15 + 543.555

## ПРУСЬКА БЛАКИТЬ І ЇЇ АНАЛОГИ ЯК ШТУЧНІ ЕНЗИМИ Й ПЕРСПЕКТИВИ ЇХНЬОГО ВИКОРИСТАННЯ

**О. М. Демків** <sup>1,2</sup>, **Н. Є. Стасюк** <sup>1</sup>, **Г. З. Гайда** <sup>1</sup>, **А. Є. Закальський** <sup>1</sup>,  
**Н. М. Гринчишин** <sup>2</sup>, **М. Р. Грицина** <sup>2</sup>, **О. Т. Новікевич** <sup>2</sup>,  
**М. Л. Застрижна** <sup>2</sup>, **О. В. Семійон-Лучишин** <sup>3</sup>, **М. В. Гончар** <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14/16, Львів 79005, Україна

<sup>2</sup> Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, Львів 79010, Україна

<sup>3</sup> Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна

Demkiv, O. M., Stasyuk, N. Ye., Gayda, G. Z., Zakalskiy, A. E., Grynchysyn, N. M., Hrytsyna, M. R., Novikevych, O. T., Zastryzhna, M. L., Semiion-Luchyshyn, O. V., & Gonchar, M. V. (2023). Prussian blue and its analogues as artificial enzymes and prospects for their application. *Studia Biologica*, 17(1): 99–114. doi:[10.30970/sbi.1701.700](https://doi.org/10.30970/sbi.1701.700)

Упродовж останніх років у нанотехнології значна увага зосереджена на вивченні властивостей наночастинок пруської блакиті та її аналогів, яким притаманна підвищена каталітична активність. Такі наночастинки розглядають як альтернативу природним енізимам, котрі інтенсивно використовують у біосенсорах, діагностичних наборах і біомедичних дослідженнях. Нещодавно з'ясовано, що завдяки оксидоредуктазній активності (оксидазній, пероксидазній, супероксиддисмутазній) наночастинок пруської блакиті та її аналогів, які ще називають нанозимами, можна застосовувати як скавенджери активних форм Оксигену, а також як антибактеріальні та протизапальні препарати. Їхня біосумісність і біодеградабельність робить їх ідеальними кандидатами для використання *in vivo*. Наночастинок пруської блакиті є високоефективними переносниками електронів, що мають окиснювальну та відновлювальну активність, тому їх можна розглядати як перспективні медіатори й каталізатори окисно-відновних реакцій. Окрім цього, наночастинок пруської блакиті можна застосовувати як носії наноліків і як біологічні датчики завдяки значній питомій площі їхньої поверхні, унікальним хімічним характеристикам і змінним фізико-хімічним властивостям, а це може значно збільшити терапевтичний вплив



медичних препаратів. Застосування наночастинок пруської блакиті як терапевтичних і діагностичних засобів досягло значних успіхів у біологічній наномедицині. Цей огляд присвячено методам синтезу наночастинок пруської блакиті, дослідженню структури, властивостей, їхньої ролі у створенні аналітичних датчиків, а також перспективам їхнього застосування в біомедицині.

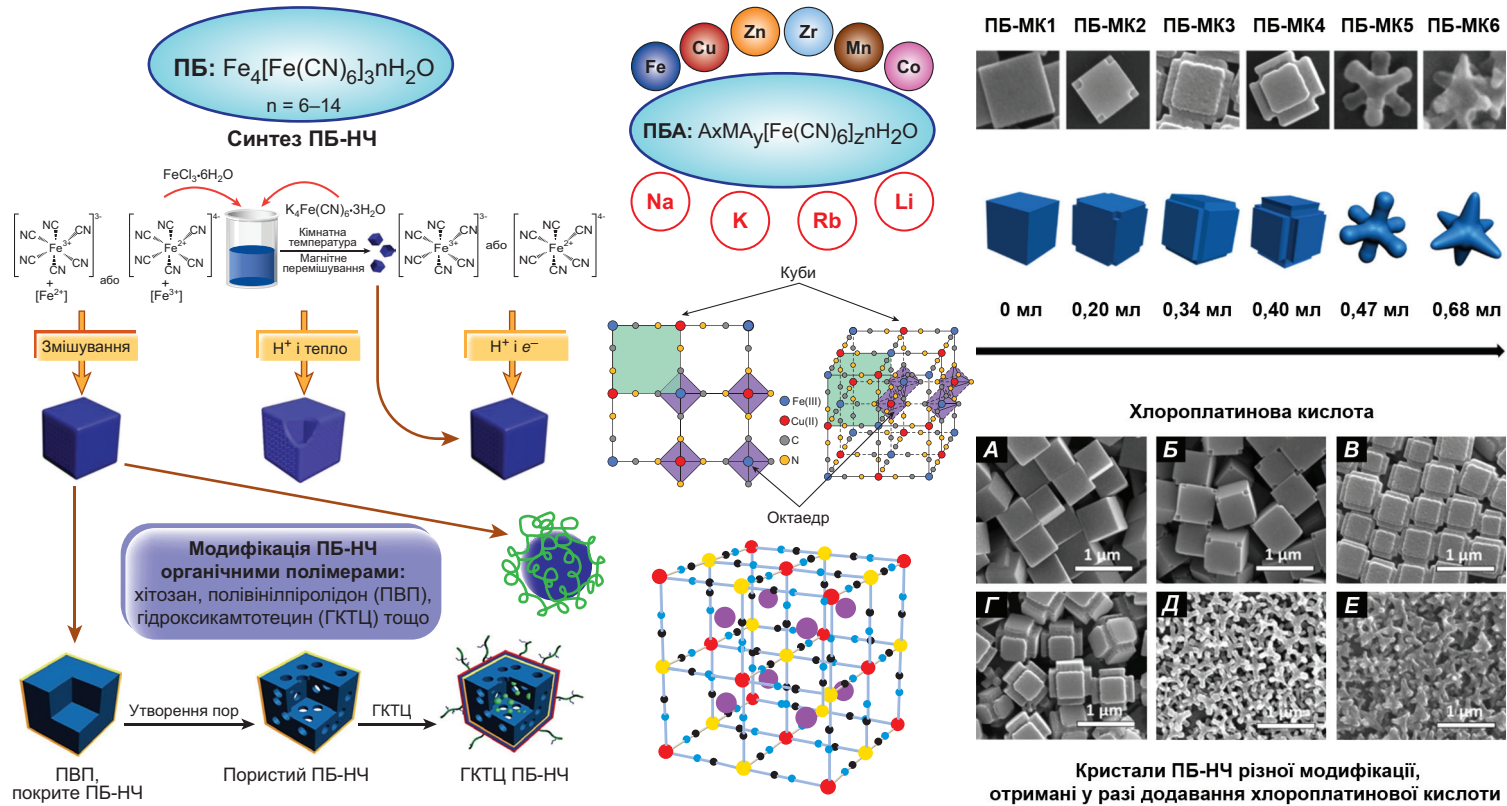
**Ключові слова:** нанотехнології, наночастинки, пруська блакить і її аналоги, нанозим, штучний ензим

## ВСТУП

Пруська блакить (ПБ) — це сполука з Ферумом в активному центрі  $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ , де атоми Феруму мають різні ступені окиснення ( $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ), а  $x$  — кількість молекул води. ПБ є однією з найбільш охарактеризованих координаційних сполук (Davidson, 1937). З моменту випадкового відкриття ПБ Йоганном Якобом Дізбахом у 1704 р. знадобилося більш ніж 300 років для їхнього застосування як електроактивної плівки (Kong *et al.*, 2014). Модифікацією ПБ можна одержати низку нових координаційних сполук на основі перехідних металів, які називають аналогами пруської блакиті (ПБА) (Matos-Peralta & Antuch, 2020). Співіснування  $\text{Fe}^{3+}$  і  $\text{Fe}^{2+}$  іонів надають ПБ цінні магнітні, електричні й оптичні властивості. Наночастинки (НЧ) ПБ та деяких ПБА (ПБ-НЧ і ПБА-НЧ) є штучними ензимами або нанозимами (НЗ), оскільки вони мають каталітичні властивості. У галузі електрохімії ПБ-НЧ і ПБА-НЧ (далі — ПБ/ПБА) застосовують як каталізатори й ефективні медіатори перенесення електронів у складі (біо)паливних комірок і (біо)сенсорів (Zhang *et al.*, 2016; Matos-Peralta & Antuch, 2020; Chen *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2019). ПБ/ПБА мають надзвичайні характеристики, такі як мультиензимна активність (Estelrich *et al.*, 2021), біосумісність і здатність до біологічного розкладання. Завдяки простоті процедури синтезу та низькій вартості виробництва цих сполук, а також можливості контролювати їхню форму та розмір, ПБ/ПБА є ідеальними молекулярними носіями для різноманітних біомолекул. Такі наноносії широко використовують у біомедицині для цільової доставки ліків, діагностики і терапії (Xu *et al.*, 2019), зокрема, як антибактеріальних, протизапальних і протипухлинних препаратів (Li *et al.*, 2022).

У цьому огляді ми подаємо методи синтезу та характеристики ПБ/ПБА, звертаючи особливу увагу на їхні мультиензимні властивості й біомедичне значення. Мета роботи — обґрунтувати важливість подальших досліджень у галузі розробки ПБ/ПБА та вивчення перспектив їхнього використання в біомедицині як нових терапевтичних і діагностичних засобів.

**Пруська блакить і її аналоги.** ПБ, або Феруму (III) гексаціаноферат (II) належить до добре вивченої родини синтетичних координаційних сполук із 300-річною історією. У минулому ПБ виробляли комерційно і використовували як пігмент для фарб, лаків, барвників для прання (Matos-Peralta & Antuch, 2020). ПБ і її аналоги (ПБА) легко синтезувати, вони дешеві, екологічно безпечні, мають потенційне застосування у багатьох сферах, включаючи фундаментальні дослідження та промислові галузі, а також у медицині (Qin *et al.*, 2018). ПБА мають складну будову, яка значною мірою залежить від методів синтезу й умов зберігання (Komkova *et al.*, 2019; Ivanov *et al.*, 2020; Qin *et al.*, 2018), що визначає їхню багатофункціональність. Загальною формулою гексаціанофератів (HCF) є  $\text{M}_x[\text{Fe}(\text{CN})_6]_y \cdot x\text{H}_2\text{O}$ , де  $\text{M}$  — перехідний метал (**рис. 1**).



**Рис. 1.** Гексацианоферати перехідних металів: склад, структура, модифікація та SEM зображення кристалів різної морфології. **А** – ПБ-МК1: мікрокуби; **Б** – ПБ-МК2: мікрокуби зі зрізаними кутами; **В** – ПБ-МК3: мікрокуби з гострими краями; **Г** – ПБ-МК4: ПБ з виступаючими краями; **Д** – ПБ-МК5: шестиногі; **Е** – ПБ-МК6: шестигранні зірки (Stasyuk *et al.*, 2020; Estelrich *et al.*, 2021; Matos-Peralta & Antuch, 2020, Wang *et al.*, 2019)

**Fig. 1.** Hexacyanoferrates of transition metals: composition, structure, modification and SEM images of crystals of different morphologies. **A** – PB-MC1: microcubes; **B** – PB-MC2: PB cub with truncated corners; **B** – PB-MC3: PB cub with truncated edges; **Г** – PB-MC4: PB cub with protrusive faces; **Д** – PB-MC5: hexapods; and **Е** – PB-MC6: hexapod stars (Stasyuk *et al.*, 2020; Estelrich *et al.*, 2021; Matos-Peralta & Antuch, 2020, Wang *et al.*, 2019)

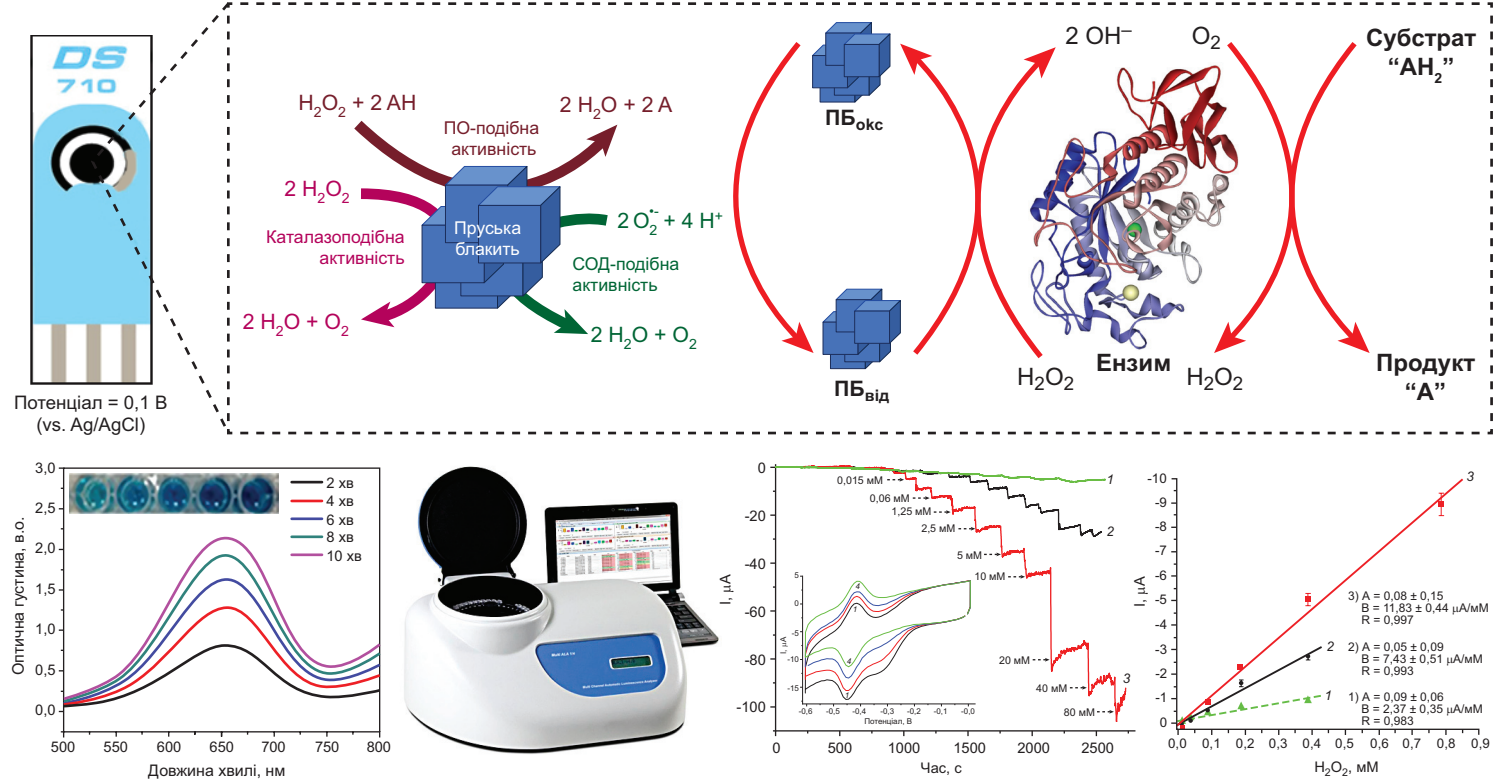
ПБА зазвичай отримують різними методами, включаючи хімічні (Ojwang *et al.*, 2017; Komkova *et al.*, 2019; Komkova *et al.*, 2018) та біологічні методи (Gayda *et al.*, 2021). Найпопулярнішим є змішування  $\text{FeCl}_3$  і  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , зазвичай за наявності лимонної кислоти, яка утворює комплекси з іонами Феруму і забезпечує більш однорідні НЧ завдяки зменшенню швидкості зародження (Shokouhimehr *et al.*, 2010). Інші методи включають гідротермальний розклад одного прекурсора (наприклад,  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) (Zheng *et al.*, 2007) або відновлення  $\text{FeCl}_3/\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$   $\text{H}_2\text{O}_2$  (Liu *et al.*, 2002). Останній підхід дає змогу отримувати НЗ “штучної пероксидази”. Кількість досліджень, присвячених регулюванню розмірів НЧ, отриманих редуруючим методом, досить обмежена. Зокрема, С. К. Лю та ін. описують отримання НЧ невеликого розміру (приблизно 50 нм) способом поступового додавання  $\text{FeCl}_3$  до  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , причому обидва розчини містять  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Liu *et al.*, 2002). Обробка ультразвуком дає змогу додатково зменшити розмір НЧ до 5 нм (Fiorito *et al.*, 2005).

Розмір НЧ можна регулювати зміною концентрації відновника (аскорбінової кислоти) і додаванням попередньо сформованих НЧ у реакційну суміш, у цьому разі діаметр генерованих НЧ не перевищував 150 нм (Fiorito *et al.*, 2005). Використання лимонної та щавлевої кислот як відновників дає змогу одержувати НЧ не тільки певного розміру (Khramtsov *et al.*, 2022), але й з підвищеною каталітичною активністю, порівняно з НЧ, які синтезовано традиційним методом. Використання полімерів є ще одним із варіантів регулювання розміру ПБ (Shiba *et al.*, 2019; Uemura *et al.*, 2003).

В останні десятиліття із розвитком нанотехнологій знову зростає інтерес учених-електрохіміків до ПБ/ПБА, спричинений надзвичайними властивостями цих сполук, а саме окисно-відновною активністю і надмагнітними характеристиками. Передача заряду від металу до металу між двома іонами перехідних металів у солі комплексної сполуки, а також нанорозмір ПБ/ПБА визначають такі властивості, які є необхідними для застосування у біосенсорах (Matos-Peralta & Antuch, 2020; Komkova *et al.*, 2018) і альтернативних джерелах енергії (He *et al.*, 2019).

Ензимоподібні властивості ПБА у розчині важко аналізувати через здатність ПБ та ПБА одночасно імітувати активність кількох ензимів, що генерують активні форми Оксигену (пероксидази (ПО), супероксиддисмутази (СОД) та каталази). Численні роботи описують здатність ПБА реагувати з типовими субстратами цих ензимів, такими як 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ), 2,2'-азинобіс [3-етилбензотіазолін-6-сульфонова кислота] (АБТС) та NADH (Wang *et al.*, 2020). У ході детальних досліджень ПБ як ПО-подібного НЗ спостерігали каталітичну активність окиснення АБТС Гідроген пероксидом (Zhang *et al.*, 2014). Каталіз відбувався згідно з кінетикою Міхаеліса–Ментен, причому виявлено високу спорідненість НЗ до  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Інші науковці досліджували кубічні кристали ПБ діаметром 15 нм, які мали високу каталітичну ПО-подібну активність (Čunderlová *et al.*, 2016). Значення  $K_M$  для ТМБ становило 0,76 мкМ, а для  $\text{H}_2\text{O}_2$  – 840 мМ. Природна ПО хропу для тих же субстратів має значення  $K_M$  0,147 та 3,7 мМ, відповідно. З'ясовано, що модифіковані нанокристали ПБ придатні для використання в біоаналізі у процесі зв'язування з біотином і сироватковим альбуміном людини. Встановлено, що НЗ на основі композиції біотин-ПБ зберігають свою каталітичну активність щодо ТМБ та  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Čunderlová *et al.*, 2016).

ПБ та ПБА успішно використовують у біосенсорах завдяки їхнім ПО-подібним властивостям (**рис. 2**) (Wang *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2016; Matos-Peralta & Antuch,



**Рис. 2.** ПО-подібна каталітична активність ПБА як платформа для розробки амперометричних і колориметричних (біо)сенсорів (Stasuk *et al.*, 2020)  
**Fig. 2.** PO-like catalytic activity of PBA as a platform for the development of amperometric and colorimetric (bio)sensors (Stasuk *et al.*, 2020)

2020; Stasuk *et al.*; 2021, Gayda *et al.*; 2021). Перше повідомлення щодо електрохімічного відновлення  $H_2O_2$  на ПБ-модифікованому електроді з'явилося ще в 1986 р. (Itaya *et al.*, 1986). У 2000 р. ПБ одержала назву “штучна ПО” (Karyakin *et al.*, 2001). Протягом останніх десятиліть опубліковано багато наукових праць про використання ПБ як штучної ПО в амперометричних біосенсорах (Karyakin *et al.*, 2001; Zang *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2019; He *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2020; Komkova *et al.*, 2020).

Дослідження ПО-подібної активності чотирьох неорганічних кластерів, утворених ПБ і ПБА, дало можливість виявити хемілюмінесценцію за наявності люмінолу та  $H_2O_2$ , каталітичне окиснення дофаміну до амінохрому та каталітичне окиснення NADH до  $NAD^+$  за наявності  $H_2O_2$  (Vázquez-González *et al.*, 2017). Каталітична активність була різною для кожної сполуки: ПБ-НЧ були найефективнішими під час окиснення дофаміну та NADH за допомогою  $H_2O_2$ , тоді як для генерації хемілюмінесценції найефективнішим був ПБА, утворений Fe та Co (CoFe-ПБ).

ПБ з високою ПО-подібною активністю було синтезовано за допомогою відновлення суміші реагентів, що утворюють ПБ, з використанням  $H_2O_2$  або поліаніліну (Komkova *et al.*, 2018). Авторизначили, що початкова швидкість реакції відновлення  $H_2O_2$ , каталізована ПБ, лінійно залежить від концентрації  $H_2O_2$ , що ніколи не спостерігали ні для ПО-подібних НЗ, ні для природних ПО. Цей факт свідчить, що активація  $H_2O_2$  НЧ відбувається набагато краще навіть порівняно з природним ферментом. Варто зазначити, що використані ПБ-НЧ не виявляли оксидазоподібної активності (відновлення молекулярного кисню). Навпаки, “наноклітки” (від англ. *cage* – клітка) ПБА, що імітують оксидазоподібну активність, було застосовано для безперервного аналізу гідроген сульфідів (Wang *et al.*, 2020). Описаний раніше Co-ПБА (Cunderlová *et al.*, 2016) використовували для каталізу окиснення L-тироzinу в допахром за наявності L-аскорбінової кислоти/ $H_2O_2$  (Hou *et al.*, 2018). На першому етапі L-тирозин гідроксильється з утворенням L-DOPA, а потім окиснюється до допахрому. Суміш L-аскорбінова кислота/ $H_2O_2$  є ключовим фактором, що проковує гідроксильовання L-тироzinу.

ПБ, кон'юговані безпосередньо з антитілами, було застосовано в імуноензимному аналізі з використанням ТМБ для діагностики альбумінуриї (Farka, 2018). Методом колориметричного моніторингу забарвленого продукту, генерованого під час окиснення ТМБ, було виявлено сироватковий альбумін людини в сечі, а також антиген *Salmonella typhimurium* у сухому молоці.

Основними особливостями застосування ПБА як амперометричних хімічних сенсорів на  $H_2O_2$  є висока стабільність, чутливість і селективність до  $H_2O_2$  у надзвичайно широких лінійних діапазонах. ПБА забезпечують більшу стабільність у нейтральних і лужних розчинах, порівняно з ПБ (Karyakin *et al.*, 2001; Komkova *et al.*, 2020; Sitnikova *et al.*, 2011), що дає змогу працювати у фізіологічно сумісному середовищі з елементами біорозпізнавання. Деякі з цих ПБА мають хорошу селективність і не розщеплюють легкоокиснюваних супутніх сполук (Matos-Peralta & Antuch, 2020). НЗ на основі ПБА, як ПО-міметики, можуть стати перспективною платформою для конструювання біосенсорів у клінічній діагностиці, терапії, для контролю ефективності терапії, росту і проліферації клітин/тканин (Matos-Peralta & Antuch, 2020; Komkova *et al.*; 2019, He *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2022).

**Гібридні наночастинки.** Й. Гу та Й. Жанг уперше повідомили, що НЧ  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ , модифіковані ПБ, мають ПО-подібну активність (Zhang *et al.*, 2010). З такими

нанокompозитами створено прототип імуноензимного аналізу. У цьому методі стафілококовий білок А був кон'югований на поверхні НЧ, і нанозонд слугував для виявлення IgG, іммобілізованого на планшетах. Пізніше ця група вивчала застосування у біоаналізі НЧ феритину, модифікованих ПБ (Zhang *et al.*, 2013). Ця ж група синтезувала нанокompозити з полістиролу, модифікованого Аурумом (полістирол-Ау-ПБ) (Zhang *et al.*, 2016). Пізніше автори відзначили, що ПБ-НЧ демонструють слабку ПО-активність у нейтральних розчинах. Більш того, в лужному середовищі вони були майже неактивними.

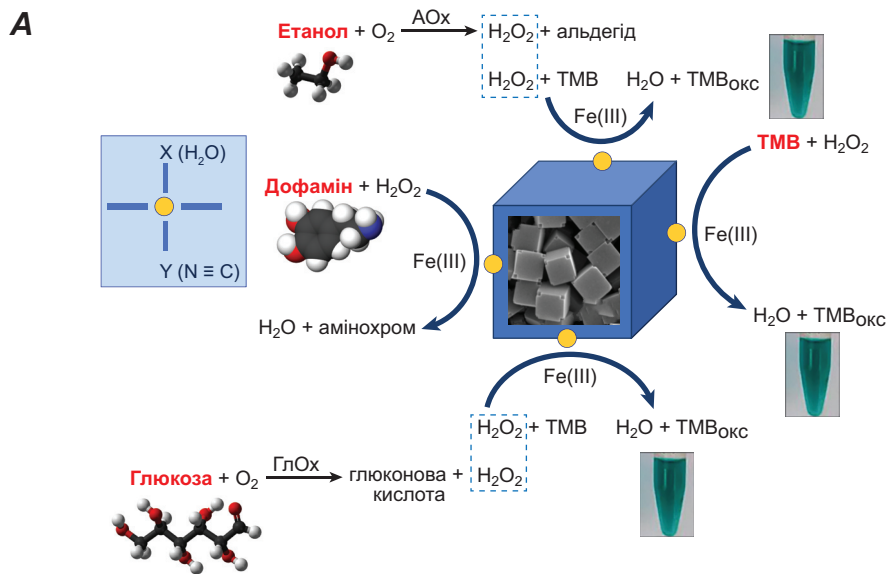
Способом вирощування ПБ на мікропористій металоорганічній основі MIL-101 (Fe) було синтезовано нанокompозит ПБ/MIL101 (Fe) (Cui *et al.*, 2015). Значення  $K_M$  для цього композиту за спорідненістю до ТМБ та  $H_2O_2$  становлять 0,127 мМ і 0,0058 мМ, відповідно, що суттєво нижче, ніж значення для MIL-101 (Fe) для тих самих сполук (0,490 і 0,620 мМ, відповідно). Відмінність значень  $K_M$  пояснюється тим, що наявність ПБ у композиті включає у дію більш активні сайти для субстратів ПО. Повідомлено про синтез гібридного органічно-/неорганічного гідрогелю, який може імітувати кілька ензимів (ПО, СОД і КАТ) у природній каскадній системі (Sahar *et al.*, 2020). ПБ частково окиснювали до берлінського зеленого і змішували його з тріоксованадатом натрію за наявності полівінілпіролідону. Після перемішування та нагрівання утворювався гібридний гідрогель, який було використано як каскадну систему для детекції глюкози, фотолітографії гідрогелю, окиснення дофаміну та фотокаталітичної окиснювальної деградації деяких субстратів у водних середовищах.

Збільшення каталітичної активності було досягнуто в ПБА-НЧ, легованих Молібденом (Wang *et al.*, 2020). ПО-подібна активність була підвищена більш ніж у 37 разів порівняно з немодифікованим ПБА. Крім цього, ПБ/ПБА було використано для виявлення кількох сполук, зокрема, глюкози, глутатіону, Гідроген пероксиду, Гідроген сульфідну й етанолу.

У більшості випадків основою спектрофотометричних методів аналізу практично важливих аналітів слугують: оксидаза, пероксидаза та хромоген. На сьогодні перспективним заміником істинної пероксидази є хемоміметик пероксидаз, наприклад, нерозчинні комплекси гексаціанофератних металів. На **рис. 3** показано основні реакції, що відбуваються за використання ПБ-НЧ як ПО-подібних НЗ, хромогену й оксидаз. Наприклад, аеробне окиснення глюкози за наявності глюкозооксидази (ГлОх) дає глюконову кислоту і  $H_2O_2$ . Гідроген пероксид у супряженій пероксидазній реакції за участі нанозиму окиснює хромоген до кольорового продукту, який визначають фотометрично.

З наведеного вище аналізу літературних даних видно, що ПБ-НЧ, як ПО-подібні НЗ, можна використовувати як універсальний засіб для побудови каскадів каталітичних реакцій, придатних для аналітичних цілей. ПБ-НЧ можна використовувати для виявлення кількох речовин, зокрема, глюкози, глутатіону, Гідроген пероксиду, дофаміну й етанолу (**рис. 3**). Створені методи є чутливими, селективними та дешевшими від ензиматичних.

Для ефективної дії ПБ-НЧ як датчиків у сенсорах такі НЗ мають відповідати певним вимогам, зокрема: високе співвідношення поверхня/об'єм; сумісність з природними ензимами, наявними в реакційній суміші; оптимальне значення рН для відповідних ензимів; можливість використання для НЗ тих самих хімічних субстратів, що й для природних ензимів.



**Б** Наночастинки пруської блакиті (ПБ) як аналітичні датчики

Наночастинки	Розмір, нм	Аналіт	Лінійний діапазон, мкМ	Нижня межа визначення, мкМ	Посилання
Пруська блакить	<50	Глюкоза	0,1–50	0,03	Stasyuk <i>et al.</i> , 2020; Matos-Peralta & Antuch, 2020
Пруська блакить	<50	Гідроген пероксид	0,05–50	0,031	
Біотинільований ПБ	15	Людський сироватковий альбумін	0,35–0,27	0,27	
"Нанозими" ПБА	60	Гідроген сульфід	0,1–15	33	
Полістирол-Ау-ПБ	20	Глюкоза	15,6–250,0	3,9	
ПБ, модифікований Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	~200	Глутатіон	0,1–10	0,021	
ПБ-Ti <sub>3</sub> C <sub>2</sub> Tx	–	Гідроген пероксид	2–240	0,4667	
ПБ-Ti <sub>3</sub> C <sub>2</sub> Tx	–	Дофамін	5–120	3,36	
ПБ-Ti <sub>3</sub> C <sub>2</sub> Tx	–	Глюкоза	10–350	6,52	
Пустотілий ПБ	~20	Глюкоза	50–7300	40	
Пустотілі нанокуби ПБ	80	Етанол	0,043–11	0,03	
ПБ/поліпірол	–	Гідроген пероксид	5–2775	1,6	

**Рис. 3.** Реакції для окремих аналітів, вміст яких визначають за допомогою ПБ/ПБА як ПО-подібних НЗ (А). Використання ПБ/ПБА у ролі аналітичних датчиків (Б) (Chen *et al.*, 2018)

**Fig. 3.** Reactions for individual analytes, the content of which is analyzed using PB/PBA as PO-like nanozymes (A). A table on the use of PB/PBA as analytical sensors (B) (Chen *et al.*, 2018)

**Біомедичне застосування.** Завдяки чудовим характеристикам, які вже було описано вище, ПБ/ПБА-НЗ широко використовують у біомедичних галузях, таких як цільова доставка ліків (Wu *et al.*, 2015), а також як агенти візуалізації (Nagarwal *et al.*, 2011). У 2003 р. управління з контролю за якістю харчових продуктів і меди-



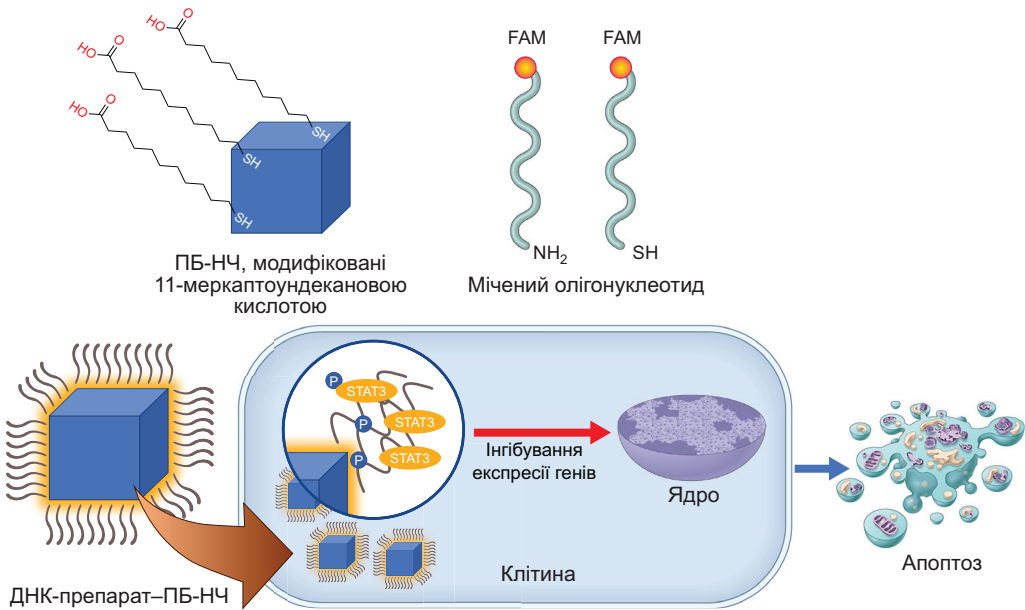
каментів США схвалило ПБ-НЧ як препарат для лікування гострого та хронічного отруєння талієм або забруднення церієм (Vincent *et al.*, 2014; Qian *et al.*, 2017). Зовсім недавно виник інтерес до використання ПБ-НЧ як фототермічних агентів у біомедицині та допоміжної терапії з різними методами лікування раку.

Описано застосування ПБ-НЗ як антибактеріальних і протизапальних засобів для відновлення та регенерації тканин, загоєння ран, запобігання рестенозу судин і лікування хвороби Паркінсона (Wang *et al.*, 2022; Ma X., 2022). Абхішек Саху та ін. оцінювали на моделі рани шкіри терапевтичний ефект і з'ясували, що НЧ прискорюють загоєння ран, відкладення колагену та можуть ефективно стимулювати диференціювання кератиноцитів і неоваскуляризацію (Sahu *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022).

Останні дослідження В. Хоу та ін. на моделі щурів вказують на можливість використання ПБ-НЗ, отриманих гідротермальним методом, як препарату під час лікування остеоартриту (Hou *et al.*, 2021). Препарат ПБ-НЧ значною мірою захищає хондроцити і затримує початок остеоартриту через сигнальний шлях ROS і Rac1-NF-κB, послаблює запалення, деградацію позаклітинного матриксу хряща (ECM), збільшуючи експресію колагену COL2 й агрекану. Комбінована терапія ПБ-НЧ у поєднанні з ультразвуковими засобами низької інтенсивності (LIPUS) знижувала вміст активних форм Оксигену, індукувала апоптоз, матриксні металопротеїнази й експресію запальних цитокінів, а також пригнічувала деградацію руйнування позаклітинного матриксу.

Поява наномедицини надала ПБ-НЧ нового значення в галузі системи доставки ліків. ПБ/ПБА-НЧ є перспективними наноносіями ліків завдяки неперевершеним характеристикам, таким як висока стабільність дисперсії, легкість синтезу, низька вартість, здатність до біологічного розкладання та контрольована форма. Наприклад, ПБ-НЧ можна отримати у великих кількостях простими методами за низьких температур, а порожнисті або мезопористі ПБ-НЧ зі збільшеною площею поверхні можна синтезувати на основі їхніх координаційних каркасних структур. Чен та ін. розробили нанокомпозит на основі ПБ-НЧ, який містить доксорубіцин і 1-тетрадеканол, що виступає як потенційний навантажувач для доставки ліків у клітини під час хіміотерапії, як фототермічний агент і чудовий контрастний агент для магнітно-резонансної томографії (Chen *et al.*, 2018; Fu *et al.*, 2021). Під лазерним опроміненням NIR фототермічна реакція ПБ-НЧ з ліками може генерувати тепло, спричинити плавлення та вивільнення інкапсульованих фармацевтичних препаратів, ефективно індукуючи апоптоз. Створена система доставки ліків є дуже перспективною у лікуванні онкологічних та інших захворювань.

С. Ю. Ванг та ін. продемонстрували першу спробу використання ПБ-НЧ для доставки ДНК-препаратів до ракових клітин на моделі клітин карциноми простати людини 22rv1 (Wang *et al.*, 2013). ДНК-препаратом—ПБ-НЧ (dODN@MUA–PBNP) був олігодезоксинуклеотид (dODN), який пригнічує експресію гена STAT3, і два види FAM-мічених dODN з аміно- й тіоловим лінкерами, приєднаними до модифікованих ПБ-НЧ 11-меркаптоундекановою кислотою (MUA), який успішно поглинався раковими клітинами 22rv1, індукуючи апоптоз (рис. 4). Отже, поверхнева функціональність ПБ-НЧ може не тільки забезпечити доставку препаратів до ракових клітин, але й сприяти інтерналізації та рівномірному розподілу у досліджуваних клітинах, індукуючи апоптоз. Крім того, білкові, пептидні та ДНК-препарати залишаються передовими для дослідження системи доставки ліків на основі ПБ-НЧ. Їх розглядають як нову терапевтичну молекулу для лікування онкологічних та інфекційних захворювань.



**Рис. 4.** Склад і механізм дії ДНК-препарату-ПБ-НЧ, який індукує знищення ракових клітин (Wang *et al.*, 2013)

**Fig. 4.** Composition and mechanism of action of the DNA preparation-PBNP, which leads to the destruction of cancer cells (Wang *et al.*, 2013)

З безперервним розвитком наномедицини ПБ-НЧ привертають дедалі більшу увагу з точки зору їхнього потенційного використання в біомедицині. Однак на сьогодні воно все ще обмежується експериментами на тваринах і досі офіційно не застосовувалося для досягнення клінічного ефекту з перспективою систематичного лікування людей у майбутньому.

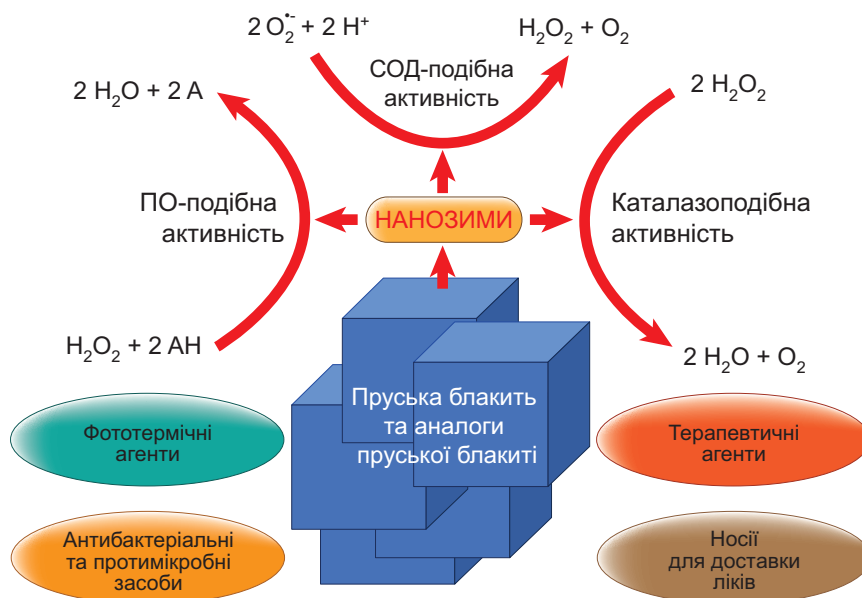
## ВИСНОВОК

Наночастинки ПБ і ПБА зі сприятливою біосумісністю й унікальними властивостями привертають увагу багатьох дослідників. Ці частинки докладно досліджені з точки зору синтезу і великого асортименту композицій, розмірів (від кількох до кількох сотень нанометрів), здатності демонструвати каталітичні активності. Унікальні властивості ПБ/ПБА-НЧ роблять їх перспективними кандидатами для застосування в кількох напрямках (рис. 5).

Розроблено та досліджено ефективне використання ПБ-НЧ як нанозондів для різних типів зображень, таких як МРТ, фотоакустичне зображення або як об'єкти фототермічної терапії для лікування раку та захоплення іонів  $Cs^+$  і  $Tl^+$ .

На їхній основі розроблено багато методів детекції практично важливих аналітів. ПБ-НЧ привертають дедалі більшу увагу завдяки каталітичній активності, що сприяє зв'язуванню активних форм Оксигену і зменшенню запалення. Систематичні токсикологічні дослідження *in vitro* показують низьку токсичність цих наночастинок і їхню високу стабільність у біологічних рідинах. Завдяки біосумісності та великій поверхні зв'язування, ПБ-НЧ здатні доставляти ліки і ДНК-зонди в клітини,

що необхідно для терапії раку. Усі ці дослідження є першим кроком до використання ПБ-НЧ як нових засобів у наномедицині, проте дуже важливим і необхідним є підтвердження їхньої клінічної придатності.



**Рис. 5.** Пруська блакить і її аналоги як штучні ензими та перспективи їхнього використання  
**Fig. 5.** Prussian blue and its analogues as artificial enzymes and prospects for their use

## ACKNOWLEDGMENTS

This research was partially supported by the National Research Foundation of Ukraine (project Nos.: 2020.02/0100 and 2021.01/0010) and FEBS Ukrainian Short-Term Fellowships 2022.

## COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

**Conflict of Interest:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization, [G.M.V.; D.O.M.]; methodology, [-]; validation, [-]; formal analysis, [G.N.M.; N.O.T.]; investigation, [-]; resources, [-]; data curation, [-]; writing – original draft preparation, [S.-L. O.V.; G.M.V.; G.N.M.; N.O.T.]; writing – review and editing, [G.G.Z.; Z.M.L.; Z.A.E.]; visualization, [-] supervision, [G.M.V.; D.O.M.]; project administration, [G.M.V.]; funding acquisition, [-].

All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

## REFERENCES

- Chen, J., Wang, Q., Huang, L., Zhang, H., Rong, K., Zhang, H., & Dong, S. (2018). Prussian blue with intrinsic heme-like structure as peroxidase mimic. *Nano Research*, 11(9), 4905–4913. doi:10.1007/s12274-018-2079-8  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Chen, J., Wei, L., Mahmood, A., Pei, Z., Zhou, Z., Chen, X., & Chen, Y. (2020). Prussian blue, its analogues and their derived materials for electrochemical energy storage and conversion. *Energy Storage Materials*, 25, 585–612. doi:10.1016/j.ensm.2019.09.024  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Cui, F., Deng, Q., & Sun, L. (2015). Prussian blue modified metal–organic framework MIL-101(Fe) with intrinsic peroxidase-like catalytic activity as a colorimetric biosensing platform. *RSC Advances*, 5(119), 98215–98221. doi:10.1039/c5ra18589k  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Čunderlová, V., Hlaváček, A., Horňáková, V., Peterek, M., Němeček, D., Hampl, A., Eyer, L., & Skládal, P. (2015). Catalytic nanocrystalline coordination polymers as an efficient peroxidase mimic for labeling and optical immunoassays. *Microchimica Acta*, 183(2), 651–658. doi:10.1007/s00604-015-1697-z  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Davidson, D. (1937). The Prussian blue paradox. *Journal of Chemical Education*, 14(5), 238–241. doi:10.1021/ed014p238  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Estelrich, J., & Busquets, M. A. (2021). Prussian blue: a nanozyme with versatile catalytic properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5993. doi:10.3390/ijms22115993  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)
- Farka, Z., Čunderlová, V., Horáček, V., Pastucha, M., Mikušová, Z., Hlaváček, A., & Skládal, P. (2018). Prussian blue nanoparticles as a catalytic label in a sandwich nanozyme-linked immunosorbent assay. *Analytical Chemistry*, 90(3), 2348–2354. doi:10.1021/acs.analchem.7b04883  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Fiorito, P. A., Gonçalves, V. R., Ponzio, E. A., & de Torresi, S. I. C. (2005). Synthesis, characterization and immobilization of Prussian blue nanoparticles. A potential tool for biosensing devices. *Chemical Communications*, 3, 366–368. doi:10.1039/b412583e  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Fu, J., Wu, Q., Dang, Y., Lei, X., Feng, G., Chen, M., & Yu, X.-Y. (2021). Synergistic therapy using doxorubicin-loading and nitric oxide-generating hollow Prussian blue nanoparticles with photoacoustic imaging potential against breast cancer. *International Journal of Nanomedicine*, 16, 6003–6016. doi:10.2147/ij.n.s327598  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)
- Gayda, G. Z., Demkiv, O. M., Gurianov, Y., Serkiz, R. Ya., Klepach, H. M., Gonchar, M. V., & Nisnevitch, M. (2021). “Green” Prussian blue analogues as peroxidase mimetics for amperometric sensing and biosensing. *Biosensors*, 11(6), 193. doi:10.3390/bios11060193  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)
- He, L., Li, Z., Guo, C., Hu, B., Wang, M., Zhang, Z., & Du, M. (2019). Bifunctional biplatform based on NiCo Prussian blue analogue: label-free impedimetric aptasensor for the early detection of carcino-embryonic antigen and living cancer cells. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 298, 126852. doi:10.1016/j.snb.2019.126852  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Hou, J., Vázquez-González, M., Fadeev, M., Liu, X., Lavi, R., & Willner, I. (2018). Catalyzed and electrocatalyzed oxidation of L-tyrosine and L-phenylalanine to dopachrome by nanozymes. *Nano Letters*, 18(6), 4015–4022. doi:10.1021/acs.nanolett.8b01522  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Hou, W., Ye, C., Chen, M., Gao, W., Xie, X., Wu, J., Zhang, K., Zhang, W., Zheng, Y., & Cai, X. (2021). Excavating bioactivities of nanozyme to remodel microenvironment for protecting chondrocytes and delaying osteoarthritis. *Bioactive Materials*, 6(8), 2439–2451. doi:10.1016/j.bioactmat.2021.01.016  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)

- Iatya, K., Uchida, I., & Neff, V. D. (1986). Electrochemistry of polynuclear transition metal cyanides: Prussian blue and its analogues. *Accounts of Chemical Research*, 19(6), 162–168. doi:10.1021/ar00126a001  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Ivanov, V. D. (2019). Four decades of electrochemical investigation of Prussian blue. *Ionics*, 26(2), 531–547. doi:10.1007/s11581-019-03292-y  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Jia, Z., & Sun, G. (2007). Preparation of prussian blue nanoparticles with single precursor. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 302(1–3), 326–329. doi:10.1016/j.colsurfa.2007.02.053  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Karyakin, A. A. (2001). Prussian blue and its analogues: electrochemistry and analytical applications. *Electroanalysis*, 13, 10, 813–819. doi:10.1002/1521-4109(200106)13:10<813::AID-ELAN813>3.0.CO;2-Z  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Khrantsov, P., Kropaneva, M., Minin, A., Bochkova, M., Timganova, V., Maximov, A., Puzik, A., Zamorina, S., & Rayev, M. (2022). Prussian blue nanozymes with enhanced catalytic activity: size tuning and application in ELISA-like immunoassay. *Nanomaterials*, 12(10), 1630. doi:10.3390/nano12101630  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)
- Komkova, M. A., Andreev, E. A., Ibragimova, O. A., & Karyakin, A. A. (2019). Prussian blue based flow-through (bio)sensors in power generation mode: new horizons for electrochemical analyzers. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 292, 284–288. doi:10.1016/j.snb.2019.04.134  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Komkova, M. A., Karyakina, E. E., & Karyakin, A. A. (2018). Catalytically synthesized Prussian blue nanoparticles defeating natural enzyme peroxidase. *Journal of the American Chemical Society*, 140(36), 11302–11307. doi:10.1021/jacs.8b05223  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Komkova, M. A., Pasquarelli, A., Andreev, E. A., Galushin, A. A., & Karyakin, A. A. (2020). Prussian blue modified boron-doped diamond interfaces for advanced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> electrochemical sensors. *Electrochimica Acta*, 339, 135924. doi:10.1016/j.electacta.2020.135924  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Kong, B., Tang, J., Selomulya, C., Li, W., Wei, J., Fang, Y., Wang, Y., Zheng, G., & Zhao, D. (2014). Oriented mesoporous nanopyramids as versatile plasmon-enhanced interfaces. *Journal of the American Chemical Society*, 136(19), 6822–6825. doi:10.1021/ja501517h  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Li, D., Liu, M., Li, W., Fu, Q., Wang, L., Lai, E., Zhao, W., & Zhang, K. (2022). Synthesis of Prussian blue nanoparticles and their antibacterial, antiinflammation and antitumor applications. *Pharmaceuticals*, 15(7), 769. doi:10.3390/ph15070769  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)
- Li, W. J., Han, C., Cheng, G., Chou, S., Liu, H., & Dou, S. (2019). Chemical properties, structural properties, and energy storage applications of Prussian blue analogues. *Small*, 15(32), 1900470. doi:10.1002/smll.201900470  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Liu, S.-Q., Xu, J.-J., & Chen, H.-Y. (2002). Electrochemical behavior of nanosized Prussian blue self-assembled on Au electrode surface. *Electrochemistry Communications*, 4(5), 421–425. doi:10.1016/s1388-2481(02)00336-3  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Ma, X., Hao, J., Wu, J., Li, Y., Cai, X., & Zheng, Y. (2022). Prussian blue nanozyme as a pyroptosis inhibitor alleviates neurodegeneration. *Advanced Materials*, 34(15), 2106723. doi:10.1002/adma.202106723  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Matos-Peralta, Y., & Antuch, M. (2020). Prussian blue and its analogs as appealing materials for electrochemical sensing and biosensing. *Journal of The Electrochemical Society*, 167(3), 037510. doi:10.1149/2.0102003jes  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)

- Nagarwal, R. C., Kumar, R., Dhanawat, M., Das, N., & K. Pandit, J. (2011). Nanocrystal technology in the delivery of poorly soluble drugs: an overview. *Current Drug Delivery*, 8(4), 398–406. doi:10.2174/156720111795767988  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Qian, J., Cai, S., Yang, S., & Hua, D. (2017). A thermo-sensitive polymer network crosslinked by Prussian blue nanocrystals for cesium adsorption from aqueous solution with large capacity. *Journal of Materials Chemistry A*, 5(42), 22380–22388. doi:10.1039/c7ta08025e  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Qin, Z., Li, Y., & Gu, N. (2018). Progress in applications of Prussian blue nanoparticles in biomedicine. *Advanced Healthcare Materials*, 7(20), 1800347. doi:10.1002/adhm.201800347  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Sahar, S., Zeb, A., Ling, C., Raja, A., Wang, G., Ullah, N., Lin, X.-M., & Xu, A.-W. (2020). A hybrid VO<sub>x</sub> incorporated hexacyanoferrate nanostructured hydrogel as a multienzyme mimetic via cascade reactions. *ACS Nano*, 14(3), 3017–3031. doi:10.1021/acsnano.9b07886  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Sahu, A., Jeon, J., Lee, M. S., Yang, H. S., & Tae, G. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory activities of Prussian blue nanozyme promotes full-thickness skin wound healing. *Materials Science and Engineering: C*, 119, 111596. doi:10.1016/j.msec.2020.111596  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Shiba, F., Mameuda, U., Tatejima, S., & Okawa, Y. (2019). Synthesis of uniform Prussian blue nanoparticles by a polyol process using a polyethylene glycol aqueous solution. *RSC Advances*, 9(59), 34589–34594. doi:10.1039/c9ra07080j  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)
- Shiba, F., Nito, M., Kawakita, K., & Okawa, Y. (2015). Size control of monodisperse Prussian blue nanoparticles by enforced-nucleation and additional-growth procedures in a citrate reduction system. *Particulate Science and Technology*, 33(6), 671–676. doi:10.1080/02726351.2015.1020181  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Shokouhimehr, M., Soehnen, E. S., Khitrin, A., Basu, S., & Huang, S. D. (2010). Biocompatible Prussian blue nanoparticles: preparation, stability, cytotoxicity, and potential use as an MRI contrast agent. *Inorganic Chemistry Communications*, 13(1), 58–61. doi:10.1016/j.inoche.2009.10.015  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Sitnikova, N. A., Borisova, A. V., Komkova, M. A., & Karyakin, A. A. (2011). Superstable advanced hydrogen peroxide transducer based on transition metal hexacyanoferrates. *Analytical Chemistry*, 83(6), 2359–2363. doi:10.1021/ac1033352  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Stasyuk, N., Smutok, O., Demkiv, O., Prokopiv, T., Gayda, G., Nisnevitch, M., & Gonchar, M. (2020). Synthesis, catalytic properties and application in biosensorics of nanozymes and electronanocatalysts: a review. *Sensors*, 20(16), 4509. doi:10.3390/s20164509  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)
- Uemura, T., & Kitagawa, S. (2003). Prussian blue nanoparticles protected by poly(vinylpyrrolidone). *Journal of the American Chemical Society*, 125(26), 7814–7815. doi:10.1021/ja0356582  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Vázquez-González, M., Torrente-Rodríguez, R. M., Kozell, A., Liao, W.-C., Ceconello, A., Campuzano, S., Pingarrón, J. M., & Willner, I. (2017). Mimicking peroxidase activities with Prussian blue nanoparticles and their cyanometalate structural analogues. *Nano Letters*, 17(8), 4958–4963. doi:10.1021/acs.nanolett.7b02102  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Vincent, T., Taulemesse, J.-M., Dauvergne, A., Chanut, T., Testa, F., & Guibal, E. (2014). Thallium(I) sorption using Prussian blue immobilized in alginate capsules. *Carbohydrate Polymers*, 99, 517–526. doi:10.1016/j.carbpol.2013.08.076  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Wang, Y., Liang, Z., Liang, Z., Lv, W., Chen, M., & Zhao, Y. (2022). Advancements of Prussian blue-based nanoplatfoms in biomedical fields: progress and perspectives. *Journal of Controlled Release*, 351, 752–778. doi:10.1016/j.jconrel.2022.10.007  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)

- Wang, C., Wang, M., Zhang, W., Liu, J., Lu, M., Li, K., & Lin, Y. (2019). Integrating Prussian blue analog-based nanozyme and online visible light absorption approach for continuous hydrogen sulfide monitoring in brains of living rats. *Analytical Chemistry*, 92(1), 662–667. doi:10.1021/acs.analchem.9b04931  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Wang, D., Shi, R., Zhou, J., Shi, S., Wu, H., Xu, P., Wang, H., Xia, G., Barnhart, T. E., Cai, W., Guo, Z., & Chen, Q. (2018). Photo-enhanced singlet oxygen generation of Prussian blue-based nanocatalyst for augmented photodynamic therapy. *iScience*, 9, 14–26. doi:10.1016/j.isci.2018.10.005  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)
- Wang, H., Wan, K., & Shi, X. (2018). Recent advances in nanozyme research. *Advanced Materials*, 31(45), 1805368. doi:10.1002/adma.201805368  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Wang, S.-J., Chen, C.-S., & Chen, L.-C. (2013). Prussian blue nanoparticles as nanocargoes for delivering DNA drugs to cancer cells. *Science and Technology of Advanced Materials*, 14(4), 044405. doi:10.1088/1468-6996/14/4/044405  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)
- Wang, Z., Long, Y., Fan, J., Xiao, C., Tong, C., Guo, C., Chen, X., Liu, B., & Yang, X. (2020). Biosafety and biocompatibility assessment of Prussian blue nanoparticles *in vitro* and *in vivo*. *Nanomedicine*, 15(27), 2655–2670. doi:10.2217/nnm-2020-0191  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Wu, M., Wang, Q., Liu, X., & Liu, J. (2015). Highly efficient loading of doxorubicin in Prussian blue nanocages for combined photothermal/chemotherapy against hepatocellular carcinoma. *RSC Advances*, 5(39), 30970–30980. doi:10.1039/c4ra16138f  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Xu, Y., Zhang, Y., Cai, X., Gao, W., Tang, X., Chen, Y., Chen, J., Chen, L., Tian, Q., Yang, S., Zheng, Y., & Hu, B. (2018). Large-scale synthesis of monodisperse Prussian blue nanoparticles for cancer theranostics via an “in situ modification” strategy. *International Journal of Nanomedicine*, 4, 271–288. doi:10.2147/ijn.s183858  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [PMC](#) • [Google Scholar](#)
- Yang, W., Hao, J., Zhang, Z., & Zhang, B. (2015). PB@Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as both oxidase and peroxidase mimics and their application for colorimetric detection of glutathione. *New Journal of Chemistry*, 39(11), 8802–8806. doi:10.1039/c5nj01744k  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Zhang, C., Xu, Y., Zhou, M., Liang, L., Dong, H., Wu, M., Yang, Y., & Lei, Y. (2016). Potassium Prussian blue nanoparticles: a low-cost cathode material for potassium-ion batteries. *Advanced Functional Materials*, 27(4), 1604307. doi:10.1002/adfm.201604307  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Zhang, W., Hu, S., Yin, J.-J., He, W., Lu, W., Ma, M., Gu, N., & Zhang, Y. (2016). Prussian blue nanoparticles as multienzyme mimetics and reactive oxygen species scavengers. *Journal of the American Chemical Society*, 138(18), 5860–5865. doi:10.1021/jacs.5b12070  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Zhang, W., Ma, D., & Du, J. (2014). Prussian blue nanoparticles as peroxidase mimetics for sensitive colorimetric detection of hydrogen peroxide and glucose. *Talanta*, 120, 362–367. doi:10.1016/j.talanta.2013.12.028  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Zhang, W., Zhang, Y., Chen, Y., Li, S., Gu, N., Hu, S., Sun, Y., Chen, X., & Li, Q. (2013). Prussian blue modified ferritin as peroxidase mimetics and its applications in biological detection. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 13(1), 60–67. doi:10.1166/jnn.2013.6871  
[Crossref](#) • [PubMed](#) • [Google Scholar](#)
- Zhang, X.-Q., Gong, S.-W., Zhang, Y., Yang, T., Wang, C.-Y., & Gu, N. (2010). Prussian blue modified iron oxide magnetic nanoparticles and their high peroxidase-like activity. *Journal of Materials Chemistry*, 20(24), 5110–5116. doi:10.1039/c0jm00174k  
[Crossref](#) • [Google Scholar](#)
- Zhang, X.-Z., Zhou, Y., Zhang, W., Zhang, Y., & Gu, N. (2016). Polystyrene@Au@prussian blue nanocomposites with enzyme-like activity and their application in glucose detection.

*Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 490, 291–299.  
doi:10.1016/j.colsurfa.2015.11.035

[Crossref](#) • [Google Scholar](#)

Zheng, X.-J., Kuang, Q., Xu, T., Jiang, Z.-Y., Zhang, S.-H., Xie, Z.-X., Huang, R.-B., & Zheng, L.-S. (2007). Growth of Prussian blue microcubes under a hydrothermal condition: possible nonclassical crystallization by a mesoscale self-assembly. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(12), 4499–4502. doi:10.1021/jp065055n

[Crossref](#) • [Google Scholar](#)

## PRUSSIAN BLUE AND ITS ANALOGUES AS ARTIFICIAL ENZYMES AND PROSPECTS FOR THEIR APPLICATION

O. M. Demkiv<sup>1,2</sup>, N. Ye. Stasyuk<sup>1</sup>, G. Z. Gayda<sup>1</sup>, A. E. Zakalskiy<sup>1</sup>,  
N. M. Grynchyshyn<sup>2</sup>, M. R. Hrytsyna<sup>2</sup>, O. T. Novikevych<sup>2</sup>, M. L. Zastrzhna<sup>2</sup>,  
O. V. Semiion-Luchyshyn<sup>3</sup>, M. V. Gonchar<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine, Drahomanov St. 14/16, Lviv 79005, Ukraine

<sup>2</sup> Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies  
50 Pekarska St. , Lviv 79010, Ukraine

<sup>3</sup> Danylo Halytsky Lviv National Medical University, 69 Lviv, Pekarska St. , Lviv 79010, Ukraine

In recent years, Prussian blue nanoparticles (PB-NPs) and their analogues, that exhibit an increased catalytic activity, have attracted considerable attention in nanotechnology. Such nanoparticles are regarded as an alternative to natural enzymes and are intensively used in biosensors, diagnostics and experimental biomedicine. Recently, it has been shown that Prussian blue nanoparticles and their analogs, also referred to as “nanozymes”, can be used as active oxygen scavengers and antibacterial or anti-inflammatory drugs due to their polyenzymatic activities, namely oxidase, peroxidase, superoxide dismutase. Their excellent biocompatibility and biodegradability mean that they are ideal for *in vivo* use. Prussian blue nanoparticles are highly efficient electron transporters that engage in oxidation and reduction activity, which makes them promising mediators and catalysts of reactions. They also show great promise as nanodrug carriers and biological detection sensors due to their large specific surface area, unique chemical characteristics, and variable qualities, which, more importantly, can significantly increase their therapeutic effect. Prussian blue nanoparticles, as therapeutic and diagnostic tools, have achieved significant success in biological nanomedicine. This review is devoted to the methods of synthesis of Prussian blue nanoparticles, the study of their structure, properties and role in the creation of analytical sensors and their promising significance for biomedicine.

**Keywords:** nanotechnology, nanoparticles, Prussian blue and its analogues, nanozyme, artificial enzyme