

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М. В. ЛОМОНОСОВА
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи



СИНОЛИЦ АРТЁМ ВАДИМОВИЧ

**АДСОРБЦИОННАЯ МОДИФИКАЦИЯ НАНОАЛМАЗОВ
МЕЧЕННЫМИ ТРИТИЕМ КАТИОННЫМИ ПОВЕРХНОСТНО-
АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ И ПОЛИСАХАРИДАМИ**

Специальность 02.00.14 - радиохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва - 2022

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

Научные руководители: **Чернышева Мария Григорьевна** - кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры радиохимии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова
Бадун Геннадий Александрович - кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры радиохимии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

Официальные оппоненты: **Проскурнин Михаил Алексеевич** - доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова
Костина Юлия Вадимовна - доктор химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник ФГБУН Институт нефтехимического синтеза имени А.В.Топчиева РАН
Герман Константин Эдуардович - кандидат химических наук, доцент, заведующий лабораторией химии технеция Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физической химии и электрохимии имени А.Н.Фrumкина РАН

Защита диссертации состоится «27» апреля 2022 года в 15³⁰ часов на заседании диссертационного совета МГУ.02.11 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП–1, ул. Ленинские Горы, д. 1, стр. 10, аудитория 313. E-mail: severin@radio.chem.msu.ru (Северин А.В., учёный секретарь диссертационного совета МГУ.02.11), mighty-mouser@yandex.ru (Синолиц А.В., соискатель).

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М. В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27). Со сведениями о регистрации участия в защите в удаленном интерактивном режиме и с диссертацией в электронном виде можно ознакомиться на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/438174702/>

Автореферат разослан «26» марта 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

Северин Александр Валерьевич



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Детонационные наноалмазы (ДНА) - наноуглеродный материал, который получают из взрывчатых веществ и свойства которого зависят от состава взрывной смеси и способа очистки. Высокая теплопроводность, твердость, устойчивость к трению, низкая токсичность обуславливают перспективы их использования в составе композиционных и смазочных материалов, полирующих составов, в качестве носителей катализаторов и активного компонента каталитических систем. Функционально развитая поверхность ДНА и наличие на ней преимущественно кислородсодержащих функциональных групп позволяет проводить их химическую модификацию, а также использовать наноалмазы в качестве сорбентов для различных веществ. Работы по модифицированию ДНА способствуют поиску новых областей их применения и являются актуальными. Адсорбционная модификация поверхности, когда прочность удерживания вещества можно регулировать изменением состава среды, перспективна для применения ДНА в качестве платформы для доставки лекарственных веществ.

При проведении исследований по модификации ДНА очень важно определять количество вещества, связанного с поверхностью, в широком диапазоне значений. С этой точки зрения метод радиоактивных индикаторов с применением меченных тритием соединений является надежным инструментом исследования адсорбционных процессов. Предел обнаружения меченного тритием соединения при использовании метода жидкостной сцинтилляционной спектрометрии составляет 10^{-14} моль. Изменяя удельную радиоактивность меченого соединения, можно работать в очень широком диапазоне концентраций, а присутствие других нерадиоактивных компонентов мало влияет на регистрацию излучения трития или это влияние можно учесть.

Для использования меченных тритием соединений необходимо располагать удобным и универсальным способом их получения. В работе применили метод термической активации трития, который включает обработку вещества атомами, получающимися при диссоциации молекул трития на вольфрамовой проволоке, нагретой электрическим током до 1600-2000 К. Этот метод позволяет ввести тритий в вещества разных классов от низкомолекулярных соединений до биополимеров.

Степень разработанности темы. Адсорбционная модификация наноалмазов является важным направлением развития их применения. Появились работы, в которых предлагается использовать ДНА как платформы для

лекарственных препаратов. Однако количественное определение состава получаемых комплексов не производится, либо осуществляется косвенными методами с большой погрешностью. Чаще всего адсорбцию определяют из изменения концентрации раствора адсорбата, но при этом невозможно различить равновесную обратимую адсорбцию вещества и образование комплексов, в которых вещество прочно удерживается длительное время. Для полиэлектролитов, а также диссоциирующих на ионы низкомолекулярных соединений прежде всего рассматривается адсорбция на поверхности наноалмазных частиц с противоположным знаком заряда поверхности. Взаимодействие веществ с наночастицами одинакового знака заряда поверхности изучено мало, и механизм образования комплексов не определен.

При использовании ДНА как носителя лекарственного вещества необходимо рассмотреть возможность увеличения продолжительности действия. Изоляцию лекарственного вещества от окружающей среды и регулирование его высвобождения можно осуществить с помощью дополнительных покрытий. Природные полисахариды являются перспективными для создания таких покрытий. Однако в литературе отсутствует количественное описание нековалентных комплексов наноалмаз-малая молекула-полисахарид.

Универсальным подходом для определения количества молекул, связанных с наноалмазом, может быть применение метода радиоактивных индикаторов. Для органических молекул удобной радиоактивной меткой является тритий. Однако публикаций по применению меченных тритием соединений для определения количества вещества, адсорбированного на поверхности наноматериалов, не так много, метод требует дальнейшей проработки.

Цель работы: получение и характеристика новых комплексов наноалмаз-катионное поверхностно-активное вещество и тройных комплексов наноалмаз-мирамистин-полисахарид (хитозан или гиалуроновая кислота).

Для достижения цели было необходимо решить следующие задачи:

1. Разработать методику получения меченной тритием гиалуроновой кислоты с помощью метода термической активации трития. Адаптировать методики получения меченных тритием амикацина, мирамистина, бромидов алкилтриметиламмония (алкил - додецил, тетрадецил, цетил), хитозана для применения их в адсорбционных экспериментах с наноалмазами.

2. Получить двойные адсорбционные комплексы детонационных наноалмазов с индивидуальными веществами: амикацином, мирамистином, бромидами

алкилтриметиламмония, хитозаном и гиалуроновой кислотой и определить их состав с помощью меченных тритием соединений.

3. Выявить сходство и различие в образовании адсорбционных комплексов вещества-сорбата и наноалмазов, отличающихся зарядом поверхности.

4. Получить и охарактеризовать тройные адсорбционные комплексы наноалмаз-мирамистин-полисахарид (хитозан и гиалуроново́я кислота).

Методология диссертационного исследования

В работе использованы современные физико-химические методы анализа наноматериалов в совокупности с радиохимическим подходом. Введение трития в органические вещества проводили с помощью метода термической активации трития. Для выделения и анализа меченных тритием соединений использовали современные методы жидкостной хроматографии (обращенно-фазная, эксклюзионная) и тонкослойную хроматографию. Для регистрации β -излучения трития использовали жидкостную сцинтилляционную спектрометрию. Наноалмазы были охарактеризованы методами ИК-спектроскопии, тепловой десорбции азота, динамического и электрофоретического светорассеяния.

Научная новизна работы

1. Впервые разработаны условия введения трития в гиалуроновую кислоту с помощью метода термической активации без изменения ее молекулярно-массового распределения и с высокой удельной радиоактивностью.

2. Впервые получены адсорбционные комплексы детонационных наноалмазов, отличающихся функциональным составом поверхности, с мечеными тритием бромидами алкилтриметиламмония, хитозаном и гиалуроново́й кислотой и определена прочность удерживания сорбата в комплексах наноалмаз-сорбат в растворах с разной ионной силой и в присутствии сывороточного альбумина.

3. Из совокупности данных, полученных с помощью метода радиоактивных индикаторов и других физико-химических методов, для исследованных веществ выявлены сходства и различия в образовании адсорбционных комплексов с наноалмазами, имеющими одинаковый и разный заряд поверхности по отношению к сорбату.

4. Впервые получены и количественно охарактеризованы тройные комплексы наноалмаз-мирамистин-хитозан и наноалмаз-мирамистин-гиалуроново́я кислота.

Практическая значимость работы:

1. Разработаны практические рекомендации применения меченных тритием соединений - как низкомолекулярных, так и полимеров - в качестве радиоактивных индикаторов для определения состава адсорбционных комплексов

с нанодиамаами. Обнаруженные закономерности адсорбционной модификации нанодиамааов могут быть использованы при разработке биосовместимых материалов, содержащих нанодиамааы в своем составе.

2. Разработана методика получения меченной тритием гиалуруновой кислоты с удельной радиоактивностью до 52 ГБк/г. Меченная тритием гиалуруновая кислота может быть использована как индикатор ее содержания в различных системах, включая биологические.

3. Предложено использовать нанодиамааы как компонент покрытий материалов медицинского назначения (патент RU 2711544 C1 «Биоматериал для изготовления протезов клапанов сердца и способ получения биоматериала»).

Положения, выносимые на защиту:

1. Содержание сорбатов на поверхности нанодиамааов определяется из радиоактивности меченных тритием соединений, измеренной с помощью метода жидкостной сцинтилляционной спектрометрии. Результат измерения не зависит от присутствия других веществ.

2. Разработанная методика позволяет получать меченную тритием гиалуруновую кислоту с удельной радиоактивностью до 52 ГБк/г без изменения ее молекулярно-массового распределения.

3. Разработанная методика позволяет получать адсорбционные комплексы нанодиамаа-мирамистин-полисахарид (хитозан, гиалуруновая кислота) и контролировать количество мирамистина и полисахарида в составе комплекса по их радиоактивности.

4. Количество адсорбированного на нанодиамааах хитозана и гиалуруновой кислоты определяется прежде всего зарядом поверхности. Предварительная адсорбция мирамистина позволяет изменять этот заряд и соответственно регулировать адсорбцию полисахаридов.

Соответствие паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 02.00.14 – Радиохимия по областям исследований: Получение и идентификация меченых соединений. Метод радиоактивных индикаторов. Химические аспекты использования радионуклидов в биологии и медицине.

Степень достоверности. Достоверность полученных в работе результатов определяется использованием стандартных методик измерения, использованием современного оборудования и воспроизводимостью полученных результатов.

Личный вклад автора состоял в анализе литературы, планировании и проведении экспериментов и обсуждении результатов, изложенных в работе, и

подготовке публикаций. Эксперименты по получению и изучению комплексов соли четвертичных аммониевых оснований-ДНА выполнены совместно со студентом Гуськовым А.В. Эксперименты по получению и изучению комплексов ДНА с гиалуроновой кислотой и комплексов гиалуроновая кислота-мирамистин-ДНА выполнены совместно со студентками Петровой В.И и Вотяковой В.С. Элементный анализ проведен с.н.с., к.х.н. Волковым Д.С. ИК-Фурье-спектры получены к.х.н. Поповым А.Г. ПЭМ-микрофотографии получены к.х.н. Егоровым А.В. и м.н.с. Егоровой Т.Б.

Апробация работы. Основные результаты данной работы были представлены на всероссийских и международных конференциях в форме стендовых и устных докладов: Международные научные конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (2017, 2018, 2019, 2020, 2021), Международная конференция со школой и мастер-классами для молодых ученых «Химическая технология функциональных наноматериалов» (2017), Молодежная конференция Scientific work of graduate students on Chemistry Department of Lomonosov MSU (2018), IX Российская конференция с международным участием «Радиохимия 2018» (2018), Открытый конкурс-конференция научно-исследовательских работ по химии элементоорганических соединений и полимеров ИНЭОС OPEN CUP (2018), 14th and International Conference «Advanced Carbon NanoStructures» (ACNS'2019, 2021), II Школа-конференция для молодых ученых «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (с международным участием) (2020), Восьмая всероссийская Каргинская конференция. Полимеры в стратегии научно-технического развития РФ. «Полимеры - 2020» (2020).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 19-33-90151 «Аспиранты», № 18-33-20147-мол-а-вед, № 17-03-00985-а).

Публикации. Основные результаты диссертации опубликованы в 6 статьях, индексируемых в системе Web of Science, и 11 тезисах докладов. По результатам работы получен патент РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 169 страницах, содержит 59 рисунков, 16 таблиц, список цитируемой литературы включает 257 ссылок.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и основные задачи, перечислены объекты и предмет исследования, описана методология исследования, отражены научная новизна, научная и практическая

значимость работы, приведены положения, выносимые на защиту, сведения об апробации результатов работы, публикации по теме исследования.

Главы 1 и 2 содержат **обзор литературы** с описанием наноалмазов, способов их получения и характеристики их поверхности. Описаны способы модификации поверхности наноалмазов различными веществами, в том числе биополимерами. Проанализированы данные по получению меченой гиалуроновой кислоты.

Глава 3 содержит описание исследуемых веществ; наноалмазы охарактеризованы с помощью ПЭМ, ИК-спектроскопии и низкотемпературной адсорбции-десорбции азота. Также приведены методики экспериментов по получению меченных тритием соединений, по адсорбции соединений на наноалмазах, по определению прочности удерживания веществ в составе полученных комплексов, по определению размеров агрегатов наночастиц и их электрокинетического потенциала. В работе использованы наноалмазы разных производителей, характеристики наноалмазов: удельная поверхность ($S_{уд}$), средний диаметр пор ($d_{пор}$), электрокинетический потенциал в воде и pI приведены в **таблице 1**. В эксперименте по взаимодействию амикацина с наноалмазами также использовали наноалмазы, подвергнутые жидкофазному окислению и отжигу в среде водорода (ДНА- H_2).

Таблица 1. Характеристики наноалмазов

Компания производитель	Форма поставки	Обозначение в работе	$S_{уд}$, м ² /Г	$d_{пор}$, нм	ζ -потенциал, мВ	pI
ФГУП СТКБ «Технолог»	Порошок	ДНА	290	10	+28±5	10,5
Aldrich	Порошок	ДНА	280	10	+29±7	7,9
		ДНА- O_2	280	11	-38±5	-
AdamasNano	Порошок	ДНА	270	10	+27±2	10,8
		ДНА- O_2	270	10	-40±7	-
PlasmaChem	Порошок	ДНА	250	20	+21±2	11,4
		ДНА- O_2	280	12	-40±7	-
	Суспензия 10 масс %	SDND	390	5	-41±5	-

Индекс O_2 означает отжиг на воздухе 1 ч при 450°C

Тритиевую метку в гиалуроновую кислоту, хитозан, катионные поверхностно-активные вещества (ПАВ) и амикацин вводили с помощью метода термической активации трития. Для очистки препаратов использовали методы тонкослойной, гельпроникающей и высокоэффективной жидкостной хроматографии. С помощью меченных тритием соединений определяли содержание вещества в составе адсорбционного комплекса с наноалмазами на основании методик, использованных в работе [1]. Важно отметить, что в

настоящей работе определяли количество сорбата, прочно связанного с поверхностью наноалмаза после отделения комплекса и отмывки от остатков раствора, по его радиоактивности.

Результаты и их обсуждение изложены в главах 4-8.

В работе получены меченные тритием бромиды додецилтриметиламмония (ДТАБ), тетрадецилтриметиламмония (ТТАБ) и цетилтриметиламмония (ЦТАБ), мирамистин, амикацин и хитозан с помощью метода термической активации трития. Использовали рекомендации, предложенные в работах [2,3]. При их применении удельная радиоактивность меченых соединений соответствовала полученным ранее величинам или превышала их благодаря выбору более оптимальных условий проведения реакции. Введение трития в гиалуроновую кислоту (ГК) с помощью метода термической активации трития сделано впервые в рамках данной работы. При отработке методики введения трития исследовали влияние молекулярной массы ГК, проведения предварительного диализа, температуры атомизатора и стенок реактора (298 и 77 К) на удельную радиоактивность ГК. В **таблице 2** приведены условия введения трития и значения удельной радиоактивности ГК.

Таблица 2. Параметры введения трития и радиоактивность [³H]ГК

M _w , кДа	Варьируемые параметры подготовки препаратов и проведения реакции изотопного обмена				Изменение радиоактивности препарата при очистке, A _i /A ₀ , %		Удельная радиоактивность препарата ^A , ГБк/г
	Предварительный диализ, сут	Лиофилизация мишени, мин	Вакуумирование мишени, мин	Температура атомизатора (T _w), К	после удаления лабильной метки	после диализной очистки	
1200	-	30	-	1850	26	22	4
1200	-	30	-	1850 ^B	26	21	10
1200	20	30	30 ^B	1850	59	53	11
1200	-	30	30 ^B	1850	37	6	1
100	-	30	30	1850	9	4	20
350	-	30	30	1850	16	6	14
100	21	50	60	1850	28	21	43
350	21	75	60	1850	39	31	52
200	28	75	60	1960	40	22	7
200	28	75	60	1850	40	16	49
200	28	75	60	1730	53	27	26

^(A) Удельная радиоактивность нормирована на исходное содержание трития в газе
^(B) Вакуумирование мишени проводили при температуре 353 К
^(B) Температура мишени составляла 295 К

Для введения трития в ГК с помощью метода термической активации наиболее оптимальными являются условия: предварительный диализ при 4°C в течение 20 сут, вакуумирование мишени ГК в течение 1 ч без дополнительного нагревания, атомизация трития в течение 10 с при давлении газа 0,5 Па и температуре атомизатора 1850 К, температура мишени ГК 77 К. Для удаления трития из лабильных положений ГК и низкомолекулярных меченых фрагментов необходимо проводить диализ меченого препарата в течение 7 сут при 4°C через мембраны, сохраняющие молекулярно-массовое распределение препарата.

Меченные тритием вещества использовали для изучения их адсорбции на наноалмазах.

Бромиды алкилтриметиламмония (ДТАБ, ТТАБ и ЦТАБ) и мирамистин.

На **Рисунках 1 и 2** показаны зависимости поверхностной концентрации мирамистина и катионных ПАВ (ДТАБ, ТТАБ и ЦТАБ) на наноалмазах, обладающих изначально положительным и отрицательным ζ -потенциалом, от концентрации сорбатов в растворе, а также значения ζ -потенциала частиц после адсорбции этих веществ.

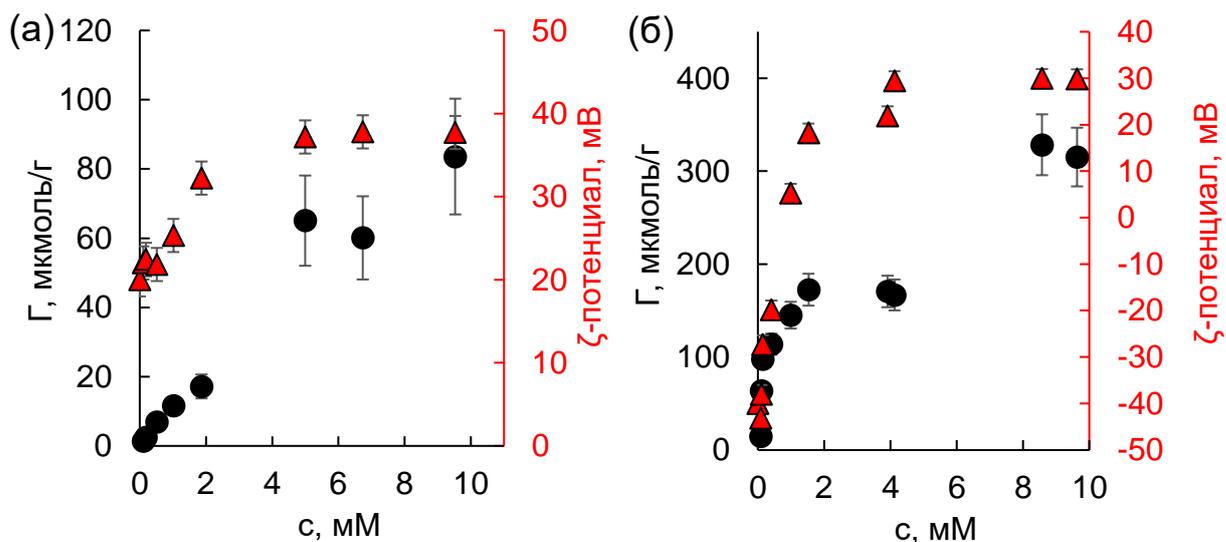


Рисунок 1. Зависимости поверхностной концентрации мирамистина (●) и значения ζ -потенциала частиц (▲) от концентрации в растворе при адсорбции на наноалмазах с изначально положительным (а) и отрицательным (б) ζ -потенциалом.

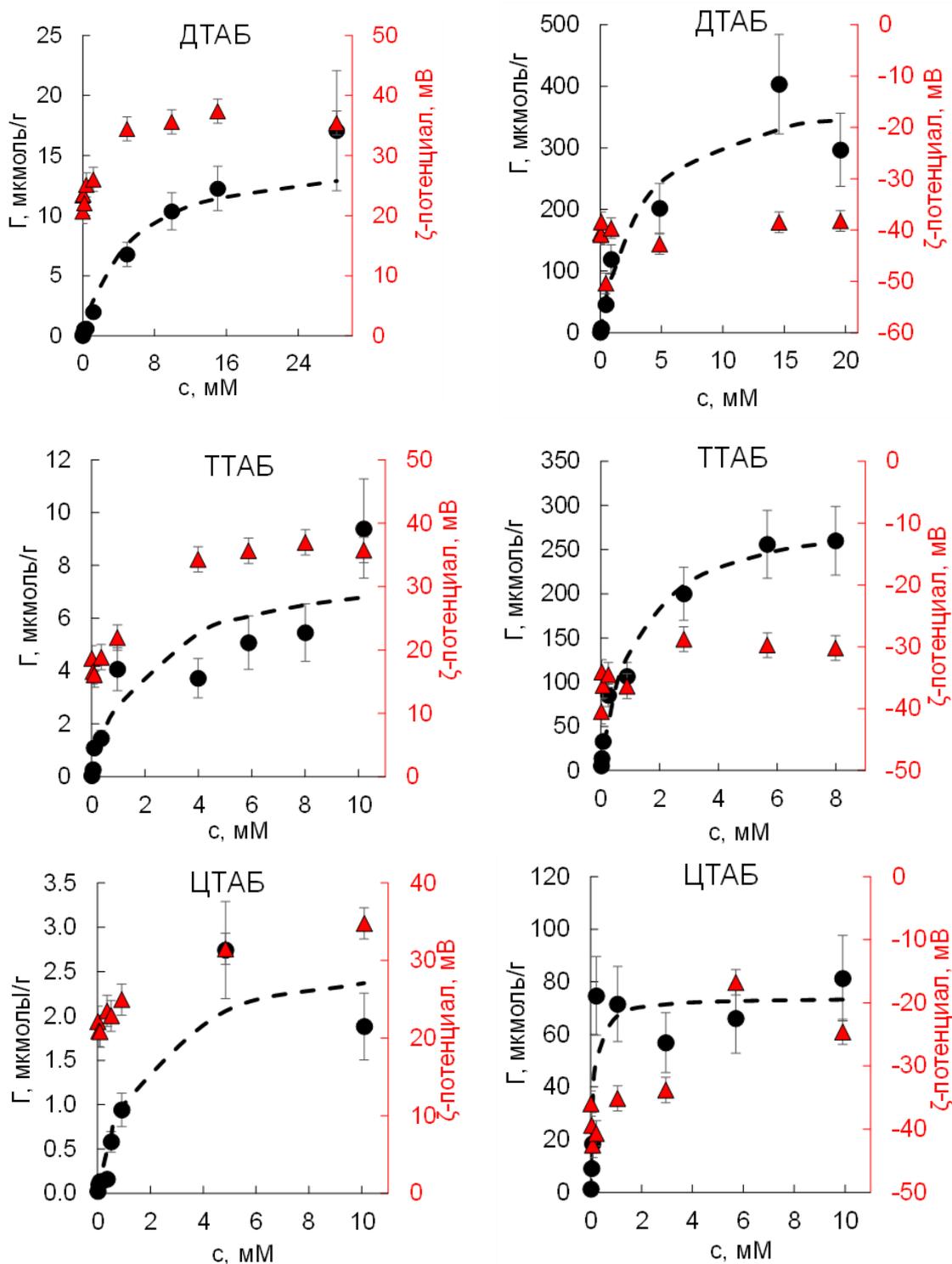


Рисунок 2. Зависимости поверхностной концентрации катионных ПАВ ДТАБ, ТТАБ и ЦТАБ (●) и значения ζ -потенциала частиц (▲) от концентрации ПАВ в растворе при адсорбции на нанодиазах с изначально положительным (левая колонка) и отрицательным (правая колонка) ζ -потенциалом.

Для гомологического ряда бромидов алкилтриметиламмония найдено, что максимальная величина адсорбции уменьшается в ряду ДТАБ > ТТАБ > ЦТАБ, то есть соответствует уменьшению критической концентрации мицеллообразования

(ККМ). При этом на наноалмазах с отрицательным электрокинетическим потенциалом поверхности адсорбция выше примерно в 30 раз. Уменьшение адсорбции с увеличением длины углеводородного фрагмента ПАВ, вероятно, связано с тем, что адсорбция происходит прежде всего за счет электростатических взаимодействий между карбоксильными группами на поверхности ДНА и заряженной группой катионных ПАВ. Вклад в адсорбцию гидрофобных взаимодействий между углеводородным фрагментом ПАВ и графитизированной частью наноалмаза оказался малым. Выход адсорбции на постоянное значение происходит при концентрации, близкой к ККМ, что и объясняет обнаруженную зависимость предельной адсорбции в рассмотренном ряду катионных ПАВ.

Отметим, что для наноалмазов с изначально положительным зарядом поверхности при адсорбции бромидов алкилтриметиламмония электрокинетический потенциал в водной суспензии стремился к +40 мВ, в то время как для наночастиц с изначально отрицательным зарядом поверхности он увеличивался, но оставался отрицательным даже при максимальной величине адсорбции ПАВ. Было обнаружено, что в ряду ДТАБ-ТТАБ-ЦТАБ адсорбция ПАВ с большим углеводородным фрагментом сильнее влияет на изменение электрокинетического потенциала. Можно предположить, что увеличение длины углеводородного фрагмента у катионных ПАВ затрудняет проникновение молекул между частицами наноалмазов в составе существующих в растворе агломератов, а именно адсорбция на поверхности агломератов и определяет изменение электрокинетического потенциала.

Адсорбция мирамистина на исследованных наноалмазах имеет сходные черты с катионными ПАВ, однако наблюдаются и существенные различия, что связано с его химической структурой. Для мирамистина адсорбция оказалась выше и приводила к увеличению электрокинетического потенциала обоих типов наноалмазов. Для ДНА с изначально положительным ζ -потенциалом при поверхностной концентрации мирамистина 40 мкмоль/г электрокинетический потенциал достигал величины $+36 \pm 1$ мВ. При модифицировании поверхности SDND ζ -потенциал возрастал и при поверхностной концентрации мирамистина выше 110 мкмоль/г становился положительным.

Вероятно, как и в случае с ЦТАБ, мирамистин в меньшей степени способен проникать в пространство между частицами наноалмаза. Вероятно, это связано с тем, что в структуре четвертичной аммониевой группы мирамистина есть бензильный фрагмент. Таким образом, мирамистин, как и ЦТАБ, адсорбируется в значительной степени на поверхности агломератов ДНА и оказывает более

заметное влияние на электрокинетический потенциал. Для предельной величины адсорбции мирамистина наблюдается полислойная адсорбция на поверхности агрегатов, о чем свидетельствует появление второго плато на изотерме.

С помощью меченных тритием соединений определили прочность удерживания катионных ПАВ наноалмазами в воде и 0,9% растворе NaCl. Для мирамистина использовали также раствор 40 г/л альбумина в солевом фосфатном буфере (PBS). Полученные значения десорбции приведены в **таблице 3**.

Таблица 3. Десорбция катионных ПАВ с наноалмазов

Электрокинетический потенциал наноалмаза до модификации катионных ПАВ	Катионное ПАВ	Десорбирующий агент		
		вода	0,9% NaCl	40 г/л альбумин в PBS
Положительный (ДНА)	ДТАБ	26%	38%	-
	ТТАБ	25%	52%	-
	ЦТАБ	58%	72%	-
	Мирамистин	50% *	70% *	88%
Отрицательный (SDND)	ДТАБ	33%	59%	-
	ТТАБ	29%	49%	-
	ЦТАБ	31%	59%	-
	Мирамистин	- 11% *	41% 29% *	77%
Примечание. * данные работы [5]				

Для всех катионных ПАВ десорбция с поверхности наноалмазов как с положительным, так и отрицательным электрокинетическим потенциалом была выше в присутствии 0,9 % NaCl, чем в воде. Увеличение десорбции мирамистина в 0,9 % NaCl по сравнению с водой было обнаружено ранее [5]. Эти результаты подтверждают существенный вклад электростатических взаимодействий при образовании адсорбционных комплексов. Так как отрицательный заряд поверхности наноалмазов обеспечивается прежде всего карбоксильными группами, то состав адсорбционного комплекса наноалмаз-ПАВ (где ПАВ = ДТАБ, ТТАБ, ЦТАБ и мирамистин) будет определяться их концентрацией на поверхности наночастиц. Так как таких групп у наноалмазов с положительным зарядом поверхности много меньше, то и связывание катионных ПАВ с наноалмазами также существенно меньше.

Амикацин. Эксперименты с амикацином проводили на наноалмазах ФГУП СТКБ «Технолог», подвергнутых жидкофазному окислению и отжигу в среде водорода (ДНА-H₂). Оказалось, что предельная величина адсорбции амикацина на поверхности наноалмазов, подвергнутых дополнительному жидкофазному

окислению, оказалась сопоставимой с величиной, полученной для ДТАБ на наноалмазах с отрицательным электрокинетическим потенциалом. Адсорбция амикацина на ДНА-Н₂, имеющем положительный электрокинетический потенциал, была меньше в 10 раз, чем на окисленном. Однако наличие гидроксильных и аминогрупп в составе амикацина приводит к тому, что амикацин, как и мирамистин, адсорбируется в большем количестве, чем катионные ПАВ, на поверхности наноалмаза с положительным электрокинетическим потенциалом, вероятно, благодаря образованию водородных связей.

Десорбционные эксперименты в воде и PBS показали, что амикацин лучше удерживается на поверхности наноалмазов с отрицательным зарядом поверхности по сравнению с ДНА-Н₂. Высокая величина адсорбции и прочность удерживания амикацина на поверхности исходных наноалмазов ФГУП СТКБ «Технолог» объяснена присутствием в них нитрогрупп.

Хитозан и гиалуроновая кислота выбраны как потенциальные инкапсулирующие агенты комплекса наноалмаз-лекарственное средство. Зависимость поверхностной концентрации хитозана от его концентрации в растворе при адсорбции на исходных наноалмазах, а также наноалмазах, на которых был предварительно адсорбирован мирамистин, показана на **рисунке 3**. Были использованы наноалмазы (Aldrich и AdamasNano) как в исходном виде, так и подвергнутые отжигу на воздухе.

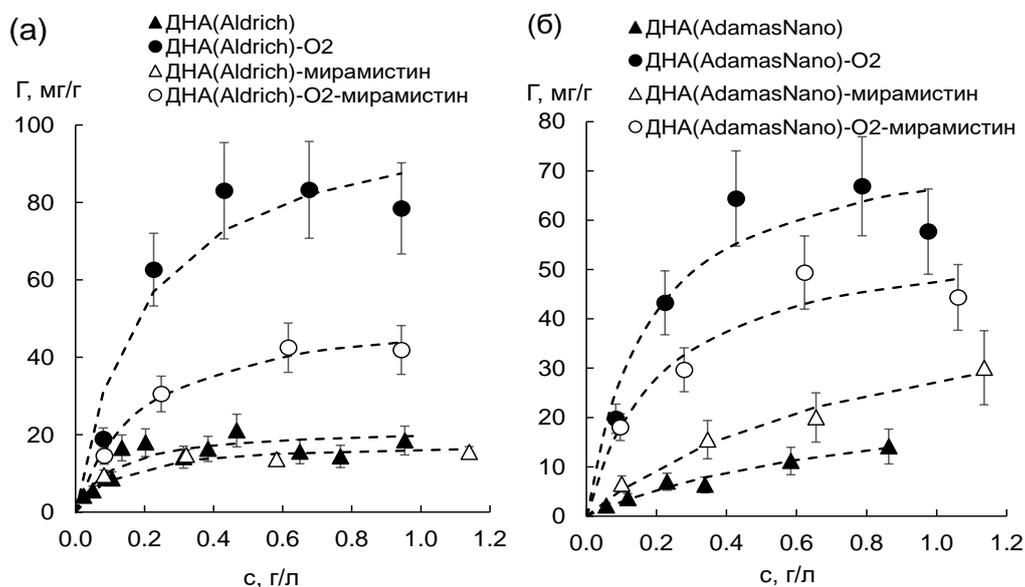


Рисунок 3. Зависимость поверхностной концентрации хитозана на наноалмазах (Aldrich) (а) и (AdamasNano) (б) от концентрации в растворе ▲-наноалмаз без дополнительной модификации, ●- наноалмаз, отожженный на воздухе, белые символы - наноалмаз с адсорбированным мирамистином.

Оказалось, что предварительная адсорбционная модификация мирамистином неотожженных наноалмазов приводила к стабилизации их в водной суспензии, однако мало влияла на адсорбцию хитозана. То есть мирамистин и хитозан не конкурируют за места связывания на поверхности неотожженных наноалмазов. Адсорбция хитозана на отожженных наноалмазах была выше, чем на исходных, благодаря изменению заряда поверхности. При этом предварительная модификация мирамистином снижала адсорбцию хитозана. Можно предположить, в этом случае мирамистин и хитозан занимают одинаковые адсорбционные центры на поверхности наночастиц.

В экспериментах с ГК использовали наноалмазы, обладающие положительным (ДНА) и отрицательным (SDND) ζ -потенциалом в воде. Оказалось, что при образовании адсорбционного комплекса с ДНА изменение концентрации раствора было достаточным, чтобы определить значение равновесной адсорбции ГК на поверхности наноалмазов. Для SDND изменение концентрации при адсорбции было незначительным. Поэтому для него определяли только количество ГК, прочно связанной с SDND.

На **рисунке 4** показаны зависимости равновесного и прочно связанного количества ГК на поверхности наноалмаза от равновесной концентрации ГК в растворе. Пунктирными линиями показана аппроксимация графиков линейным уравнением для SDND и уравнением, аналогичным уравнению Ленгмюра, для ДНА. Параметры уравнений и коэффициент корреляции приведены в **таблице 4**.

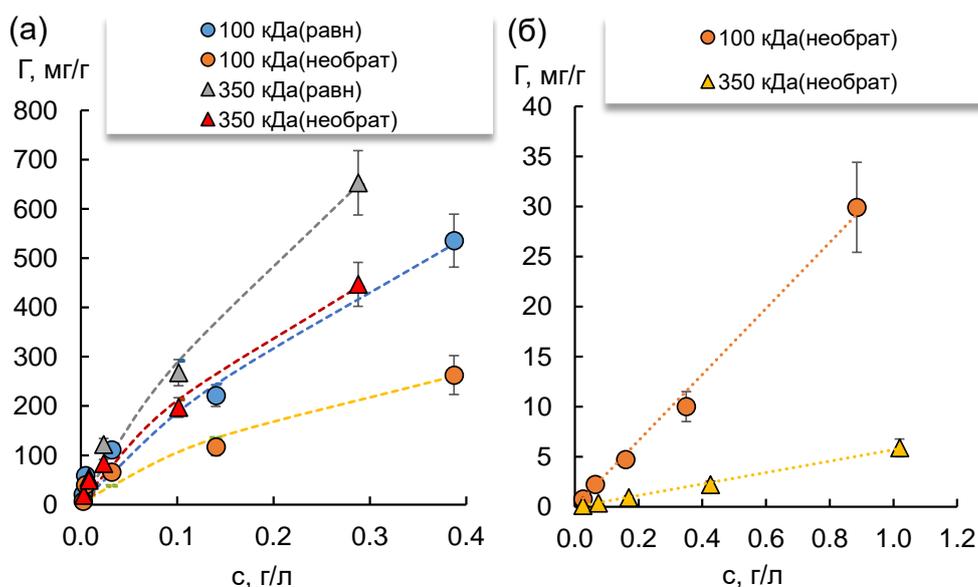


Рисунок 4. Зависимость адсорбции (равновесной и необратимой) гиалуроновой кислоты на наноалмазах от равновесной концентрации гиалуроновой кислоты. Наноалмазы (а) ДНА, (б) SDND. В легенде приведена средняя молекулярная масса ГК.

Таблица 4. Параметры уравнений адсорбции: максимальная адсорбция ($G_{\text{макс}}$), константа адсорбционного равновесия в уравнении, аналогичном уравнению Ленгмюра (K_L), константа линейного уравнения (K_H), коэффициент корреляции (r)

Гиалуроновая кислота	Наноалмазы ДНА			Наноалмазы SDND	
	$G_{\text{макс}}$, мг/г	K_L , л/г	r	K_H , л/г	r
100 кДа	1560*	1,3*	0,993	33,0	0,997
	550	2,3	0,984		
350 кДа	1950*	1,7*	0,996	5,7	0,999
	1060	2,5	0,996		

(*) Параметры для равновесной адсорбции

Сопоставление данных по адсорбции ГК и хитозана подтверждает определяющую роль заряда поверхности: полисахариды лучше сорбируются на поверхности, заряд которой противоположен заряду полиэлектролита. Но вместе с тем наблюдаются и определенные различия в адсорбции этих биополимеров. На противоположно заряженной поверхности адсорбция ГК выше, чем хитозана. На одноименно заряженной поверхности наблюдался практически линейный рост адсорбции ГК вплоть до концентрации 1 г/л (**Рисунок 4**), в то время как для хитозана наблюдалась тенденция к выходу на плато (**Рисунок 3**).

Показано, что у наноалмазов с изначально положительным ζ -потенциалом при адсорбции ГК заряд поверхности приближался к нулю при достижении поверхностной концентрации ГК 0,2-0,4 мкмоль/г и при большей концентрации становился отрицательным. Для SDND электрокинетический потенциал оставался отрицательным на уровне -40 мВ и не зависел от количества ГК на поверхности. Можно предположить, что основным механизмом, по которому происходит взаимодействие ГК с поверхностью наноалмаза, является электростатическое притяжение положительных групп на поверхности наноалмаза (в том числе и SDND) и карбоксильных групп гиалуроновой кислоты. На **рисунке 5** показана схема образования адсорбционного комплекса гиалуроновой кислоты с наноалмазами разного типа, аналогичная образованию комплексов наноалмазов с положительно заряженными сорбатами.

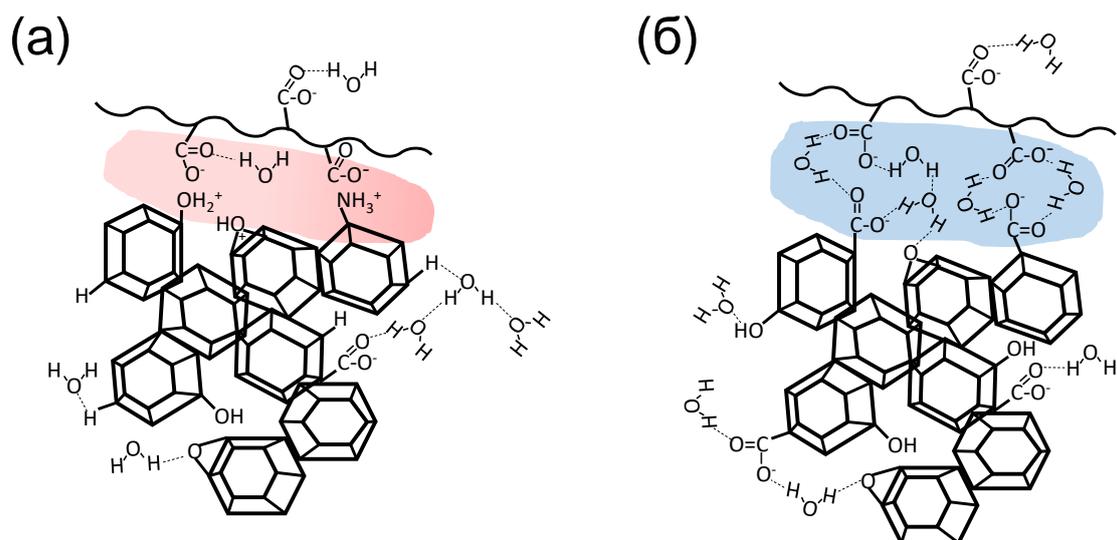


Рисунок 5. Схема образования комплексов между наноалмазами и ГК. (а) изначально положительный наноалмаз, (б) изначально отрицательный наноалмаз

Адсорбцию ГК также исследовали на наноалмазах с предварительно адсорбированным мирамистином. Показано, что в случае наноалмазов, несущих положительный заряд, модифицирование мирамистином не привело к изменениям в адсорбции ГК (как и в случае с хитозаном). Таким образом, стабилизация положительного наноалмаза мирамистином в водной суспензии не приводит к увеличению количества центров связывания ГК, что подтверждает предложенный механизм образования адсорбционного комплекса между катионными ПАВ и наноалмазами, обладающими положительным электрокинетическим потенциалом. В то же время модификация мирамистином SDND, привела к тому, что адсорбция ГК на композите стала в 18 раз выше, чем на исходном наноалмазе.

Для выявления влияния количества мирамистина в комплексе на покрытие поверхности наноалмаза ГК использовали адсорбционные комплексы мирамистин-SDND, в которых концентрацию мирамистина на поверхности варьировали от 0,2 до 175 мкмоль/г, при этом ζ -потенциал изменялся от -40 до +30 мВ. Эксперимент проводили при постоянной концентрации [^3H]ГК (0,16 г/л).

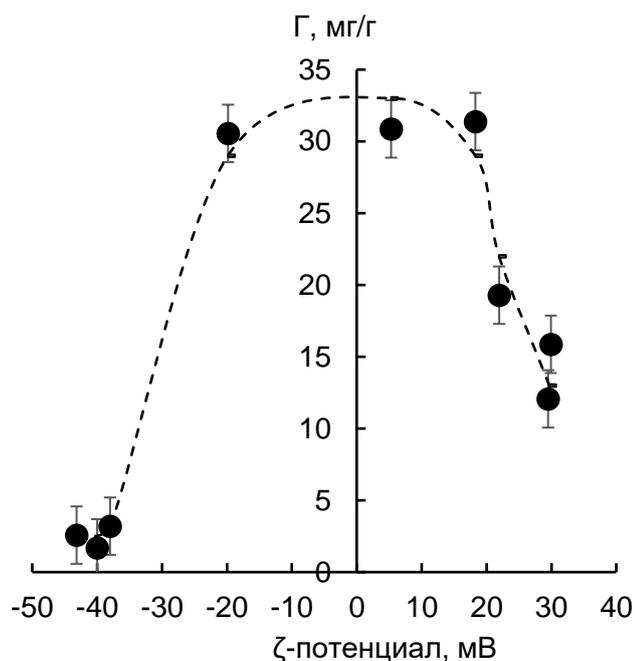


Рисунок 6. Зависимость поверхностной концентрации гиалуроновой кислоты от электрокинетического потенциала модифицированной поверхности.

На **рисунке 6** показана зависимость поверхностной концентрации гиалуроновой кислоты в зависимости от ζ -потенциала образцов SDND-мирамистин. Оказалось, что поверхностная концентрация гиалуроновой кислоты выше на наноалмазах, электрокинетический потенциал которых близок к нейтральному. Объяснить полученную зависимость можно на основании того, что гиалуроновая кислота - слабый полиэлектролит (полианион) - в отсутствие солей (работа проводилась в водных растворах), на нейтральной и отрицательно заряженной поверхности будет принимать более вытянутые конформации за счет отталкивания от поверхности и от звеньев цепи; в то же время на положительно заряженной поверхности будет адсорбироваться в плоской конформации за счет электростатического притяжения [6]. Таким образом, в работе найдены условия получения адсорбционных комплексов наноалмаз-мирамистин-гиалуроновая кислота с наибольшим содержанием полимера.

Прочность удерживания ГК в составе комплексов с наноалмазами и их композитами с мирамистином исследовали в PBS и в растворе сывороточного альбумина в PBS с концентрацией белка 40 г/л. Величины десорбции (D) приведены в **таблице 5**.

Таблица 5. Десорбция ГК из адсорбционных комплексов с наноалмазами

Наноалмазсодержащие частицы	D (%)	
	PBS	40 г/л сывороточный альбумин в PBS
ДНА	69	88
SDND	41	67
ДНА-мирамистин	67	87
SDND-мирамистин	86	96

$D (\%) = \left(1 - \frac{\Gamma_2}{\Gamma_1}\right) \times 100\%$ где Γ_1 и Γ_2 - значения поверхностной концентрации ГК до и после действия десорбирующего агента соответственно.

Обнаружено, что десорбция ГК в присутствии сывороточного альбумина выше, чем в PBS. Предварительная адсорбция мирамистина увеличивает десорбцию гиалуроновой кислоты из комплекса с отрицательным наноалмазом и практически не влияет на десорбцию из комплекса с наноалмазом, обладающим положительным электрокинетическим потенциалом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, поставленная цель работы достигнута. Получены следующие **основные результаты**.

Впервые получена меченная тритием гиалуроновая кислота с помощью метода термической активации трития. Обнаружено, что в значительной степени на удельную радиоактивность меченой гиалуроновой кислоты влияют следующие факторы: предварительный диализ, максимальное удаление воды из препарата перед введением трития, выбор времени реакции и температуры атомизатора. В результате удалось получить препарат с удельной радиоактивностью 52 ГБк/г. Для выполнения поставленной цели также были получены меченные тритием бромиды алкилтриметиламмония, мирамистин, амикацин, хитозан.

Использование меченных тритием соединений позволило определить количество сорбата, непосредственно связанного с поверхностью наноматериала. Для таких веществ как бромиды алкилтриметиламмония, хитозан и гиалуроновая кислота это сделано впервые.

Адсорбция катионных ПАВ на наноалмазах с положительно заряженной поверхностью приводит к стабилизации их водной суспензии, что может быть использовано при нанесении алмазосодержащих пленок на различные материалы, в том числе медицинского назначения (патент RU 2711544 С1).

Проведенная работа показала, что, помимо ключевой роли электростатических взаимодействий при образовании адсорбционных комплексов, существенный вклад вносят водородные связи с участием молекул воды на поверхности нанодIAMAZOV. На поверхности нанодIAMAZOVA адсорбция мирамистина и хитозана происходит за счет одних и тех же центров связывания, предположительно, карбоксильных групп.

Впервые получены адсорбционные комплексы состава нанодIAMAZOV-лекарственное вещество-полисахарид, где в качестве лекарственного вещества использован мирамистин, а в качестве полисахарида – хитозан или гиалуроновая кислота. Использование при этом меченных тритием соединений позволило определить состав образующихся комплексов и подобрать состав с наибольшим содержанием гиалуроновой кислоты.

ВЫВОДЫ

1. С помощью метода термической активации трития получена меченая гиалуроновая кислота с удельной радиоактивностью до 52 ГБк/г без изменения молекулярно-массового распределения. Определены факторы, повышающие удельную радиоактивность гиалуроновой кислоты, а именно: предварительный диализ, максимальное удаление воды из препарата перед введением трития, выбор времени реакции и температуры атомизатора.
2. С помощью меченных тритием соединений определен состав адсорбционных комплексов нанодIAMAZOV с бромидом алкилтриметиламмония, мирамистином, хитозаном и гиалуроновой кислотой. Найдены зависимости количества сорбата, прочно связанного с поверхностью нанодIAMAZOVA, от концентрации вещества в растворе. Обнаружено, что адсорбция исследованных веществ на поверхности нанодIAMAZOV с одинаковым зарядом поверхности происходит в значительно меньшем количестве, чем при разном заряде сорбата и нанодIAMAZOVA, однако такая модификация приводит к стабилизации наночастиц в растворе. Определена прочность удерживания адсорбированных веществ на поверхности нанодIAMAZOV при длительном (несколько суток) контакте с десорбирующими растворами.
3. Совокупность данных, полученных с применением метода радиоактивных индикаторов, по адсорбции и прочности удерживания низкомолекулярных веществ и полиэлектролитов на нанодIAMAZOVA с разным зарядом поверхности позволила выявить существенный вклад в образование адсорбционных комплексов водородных связей с участием молекул воды на поверхности

наноалмазов помимо электростатических взаимодействий. С увеличением углеводородного фрагмента бромидов алкилтриметиламмония усиливается влияние содержания адсорбированного катионного ПАВ на электрокинетический потенциал комплексов с наноалмазами.

4. Впервые получены и описаны с помощью метода радиоактивных индикаторов тройные адсорбционные комплексы состава наноалмаз-мирамистин-хитозан и наноалмаз-мирамистин-гиалуроновая кислота. Показано, что модифицирование положительно заряженных наноалмазов мирамистином не влияет на адсорбцию полисахаридов, в то время для отрицательно заряженных наноалмазов такая модификация увеличивает адсорбцию гиалуроновой кислоты, но снижает адсорбцию хитозана.

5. Показано, что можно регулировать количество полисахарида в комплексе наноалмаз-мирамистин-гиалуроновая кислота посредством изменения электрокинетического потенциала комплекса наноалмаз-мирамистин. Наибольшее содержание полисахарида достигается для комплексов, электрокинетический потенциал которых в водной суспензии близок к нулевому.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДИССЕРТАЦИИ ИЗЛОЖЕНЫ В СЛЕДУЮЩИХ РАБОТАХ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень Минобрнауки РФ, а также индексируемых в базах данных РИНЦ, Web of Science, Scopus

1. **Sinolits A.V.**, Chernysheva M.G., Popov A.G., Egorov A.V., Badun G.A. Hyaluronic acid adsorption on nanodiamonds: Quantitative characteristics and mechanism // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2021. V. 618. № 5. 126461 (Импакт-фактор: 4,539. WoS, Scopus.) (40%)
2. Badun G.A., Chernysheva M.G., Gus'kov A.V., **Sinolits A.V.**, Popov A.G., Egorov A.V., Egorova T.B., Kulakova I.I., Lisichkin G.V. Adsorption of alkyltrimethylammonium bromides on nanodiamonds// *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures*, 2020. V. 28. № 5. P. 361–367 (Импакт-фактор: 1,648. WoS, Scopus) (20%)
3. **Sinolits A.V.**, Chernysheva M.G., Matveeva O.D., Popov A.G., Badun G.A. Chitosan adsorption on nanodiamonds: stability and mechanism // *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures*. 2020. V. 28. № 4. P. 299-303 (Импакт-фактор: 1,648. WoS, Scopus) (50%)
4. Chernysheva M.G., Chaschin I.S., **Sinolits A.V.**, Vasil'ev V.G., Popov A.G., Badun G.A., Bakuleva N.P. Chitosan-nanodiamond composites for improving heart valve biological prostheses materials: preparation and mechanical trial // *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures*. 2020. V. 28. № 4. P. 256-261 (Импакт-фактор: 1,648. WoS, Scopus) (20%)

5. Badun G.A., **Sinolits A.V.**, Chernysheva M.G., Popov A.G., Kulakova I.I., Lisichkin G.V. Mechanism of formation of adsorption complexes amikacin–detonation nanodiamond // *Mendeleev Communications*. 2019. V. 29. № 3. P. 318–319 (Импакт-фактор: 1,786. WoS, Scopus) (30%)
6. **Синолиц А.В.**, Чернышева М.Г., Бадун Г.А. Получение меченной тритием гиалуроновой кислоты методом термической активации трития // *Радиохимия*. 2021. Т. 63 № 4. С. 395-400 (Импакт-фактор: 0,66. Scopus. РИНЦ) (Перевод статьи на английский язык: Preparation of Tritium-Labeled Hyaluronic Acid by Tritium Thermal Activation Method // *Radiochemistry* 2021 V. 63. № 4. P. 507-511) (50%)

Иные публикации

1. Чернышева М.Г., Бадун Г.А., **Синолиц А.В.**, Чашин И.С. Биоматериал для изготовления протезов клапанов сердца и способ получения биоматериала. Патент на изобретение № RU 2711544 Заявка № 2018147465/04(079373). Приоритет изобретения 29.12.2018. Опубликовано: 17.01.2020 Бюл. № 2
2. **Sinolits A.V.**, Votyakova V.S., Petrova V.I., Chernysheva M.G., Badun G.A. Preparation and properties of Myramistin-hyaluronic acid coatings on the nanodiamond surface // *Book of Abstr. 15th Int. Conf. “Advanced Carbon Nanostructures” (ACNS’2021)*, Saint-Petersburg, Russia, 2021 P. 151.
3. G.A. Badun, M.G. Chernysheva, A.V. Gus'kov, **A.V. Sinolits**, A.G. Popov, A.V. Egorov, T.B. Egorova, I.I. Kulakova, G.V. Lisichkin. Adsorption of alkyltrimethylammonium bromides on nanodiamonds // *Book of Abstr. 14th Int. Conf. “Advanced Carbon Nanostructures” (ACNS'2019)*, St. Petersburg, Russia, 2019. P. 98.
4. В.И. Петрова, **А.В. Синолиц**. Влияние фракционного состава гиалуроновой кислоты на её адсорбцию на поверхности наноалмазов с разным дзета-потенциалом // *Материалы Междунар. молодежного научного форума Ломоносов-2021 [Электронный ресурс]*, Москва, 2021.
5. **А.В. Синолиц**. Влияние условий подготовки гиалуроновой кислоты на эффективность введения в нее трития методом термической активации // *Материалы Междунар. молодежного научного форума Ломоносов [Электронный ресурс]*, с. 54, Москва, 2020.
6. **А.В. Синолиц**, М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун. О возможности получения меченной тритием гиалуроновой кислоты // *Сборник тезисов 8 Всеросс. Каргинской конф. Полимеры в стратегии научно-технического развития РФ Полимеры-2020*. Москва. 9-13 ноября 2020. С. 335.
7. **А.В. Синолиц**, М. Г. Чернышева, Г. А. Бадун. Меченная тритием гиалуроновая кислота в исследовании комплексов гиалуроновая кислота-наноалмаз // *Тезисы докладов II Школы-конф. для молодых ученых: Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы (с международным участием)* Россия, Казань, 2020. С. 39.
8. M.G. Chernysheva, I.S. Chaschin, **A.V. Sinolits**, V.G. Vasil'ev, A.G. Popov, G.A. Badun, N.P. Bakuleva. Nanodiamonds-film as a modifier for improving heart valve biological prostheses materials // *Book of Abstr. 14th Int. Conf. “Advanced Carbon Nanostructures” (ACNS'2019)*, St. Petersburg, Russia, 2019. P. 308–308.
9. **A.V. Sinolits**, M. G. Chernysheva, A. G. Popov, G. A. Badun. Chitosan adsorption on nanodiamonds: composite stability and mechanism // *Abstr. 14th Int.*

Conf. “Advanced Carbon Nanostructures” (ACNS'2019), St. Petersburg, Russia, 2019. P. 208.

10. **А.В. Синолиц.** Адсорбционные комплексы наноалмаз-мирамистин-хитозан: получение и стабильность по данным метода радиоактивных индикаторов // Материалы Междунар. молодежного научного форума Ломоносов-2019 [Электронный ресурс], С. 756, Москва, 2019.

11. **А. В. Синолиц,** М. Г. Чернышева, А. Г. Попов, И. С. Чашин, Т. Б. Егорова, А. В. Егоров, Д. С. Волков, Г. А. Бадун. Адсорбция хитозана на наноалмазах детонационного синтеза //Сб. тезисов IX Росс. Конф. по радиохимии Радиохимия 2018. Санкт-Петербург, 2018. С. 518.

12. **А.В. Синолиц,** М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун, А.Г. Попов, А.В. Егоров, Т.Б. Егорова, А.А. Возняковский, С.В. Кидалов, Т.С. Кольцова. Адсорбция мирамистина на гибридном материале детонационные наноалмазы-углеродные нанотрубки //Сб. матер. Международной конференции Химическая технология функциональных наноматериалов, Москва, 2017. С. 243–244.

В автореферате использованы ссылки на работы:

1. Мясников И.Ю. Изучение свойств и поведения детонационных наноалмазов, модифицированных биологически-активными веществами, с применением трития. Дис. ... канд. хим. наук. М. 2019. 176 с.

2. Badun G.A., Chernysheva M.G., Ksenofontov A.L. // Radiochim. Acta. 2012. V. 100, № 6. P. 401–408.

3. Gallyamov M.O. et al // Mater. Sci. Eng. C. 2014. V. 37, № 1. P. 127–140.

4. Соломатин А.С. и др. // Вестник Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. 2018. Т. 59, № 3. С. 179–188.

5. Chernysheva M.G. et al. // Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Asp. 2019. V. 565. P. 25–29.

6. Carnal F., Stoll S. // J. Phys. Chem. B. 2011. V. 115, № 42. P. 12007–12018.