

ПОЛУЧЕНИЕ МЕЧЕННОГО ТРИТИЕМ ВАНКОМИЦИНА И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО АДСОРБЦИИ НА НАНОАЛМАЗАХ

© 2023 г. Т. Шэнь, М. Г. Чернышева*, Г. А. Бадун

*Химический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3*

**e-mail: chernyshevamg@my.msu.ru*

Поступила в редакцию 16.08.2023, после доработки 16.11.2023, принята к публикации 17.11.2023

Разработан способ получения меченного тритием ванкомицина с помощью метода термической активации и определено влияние массы мишени на общую и удельную активность соединения. С помощью [³H]ванкомицина определены равновесная адсорбция ванкомицина на наноалмазах детонационного синтеза и количество прочно связанного ванкомицина, не удаляемого после промывки сорбента водой. Найдено, что при адсорбции из водного раствора ванкомицин прочно связывается с наноалмазами и не удаляется при промывке. Использование 0.028 М фосфатного буфера (рН 6.7 и 2.7) увеличивало равновесную адсорбцию ванкомицина примерно в полтора раза, однако после отмывки водой содержание ванкомицина в составе адсорбционного комплекса с наноалмазами существенно снижалось. Такое поведение ванкомицина связано с влиянием фосфат-ионов, которые способствуют адсорбции ванкомицина, однако удаляются при промывке водой. Компьютерное моделирование позволило сделать предположение, что для получения прочного адсорбционного комплекса ванкомицина с наноалмазом требуется образование множественных водородных связей.

Ключевые слова: меченные тритием соединения, метод термической активации трития, ванкомицин, адсорбция, наноалмазы.

DOI: 10.31857/S0033831123060102, **EDN:** NVXSVC

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время активно разрабатываются материалы, которые могут быть использованы для доставки и/или как носители лекарственных средств. Среди таких материалов особое место занимают наночастицы, способные адсорбировать и удерживать на своей поверхности лекарственное вещество, при этом быть инертными по отношению к организму. Под описанные характеристики подходят детонационные наноалмазы – частицы алмаза, которые получают в результате взрыва в закрытом объеме взрывчатых веществ [1–4]. На поверхности образующихся алмазных частиц находятся разнообразные функциональные группы, состав которых определяется составом взрывной смеси, а также способом выделения наноалмазов из алмазосодержащей шихты. Детонационные наноалмазы являются малотоксичным биосовместимым материалом с достаточно большой поверхностью (около 250 м²/г), функциональные группы на которой способствуют связы-

ванию биологически активных молекул, включая лекарственные вещества.

В настоящее время публикуется большое количество обзоров и экспериментальных работ, показывающих потенциально возможное применение детонационных наноалмазов в качестве платформы для доставки лекарственных средств [2, 5–10]. В таких исследованиях важно определять количество лекарственного средства в составе композита. Связывание вещества с поверхностью наноалмаза можно найти из изменения его концентрации в растворе, что не всегда возможно. Еще труднее определить количество вещества, прочно связанного с сорбентом, после его отмывки. В этой связи меченные тритием соединения являются удобным инструментом для исследования адсорбции на твердой поверхности, включая наноалмазы детонационного синтеза [11–14]. Помимо определения радиоактивности раствора можно измерять и радиоактивность композита наноалмаз–[³H]вещество после его осаждения.

Пример потенциального использования наноалмазов как платформы для лекарственных средств –

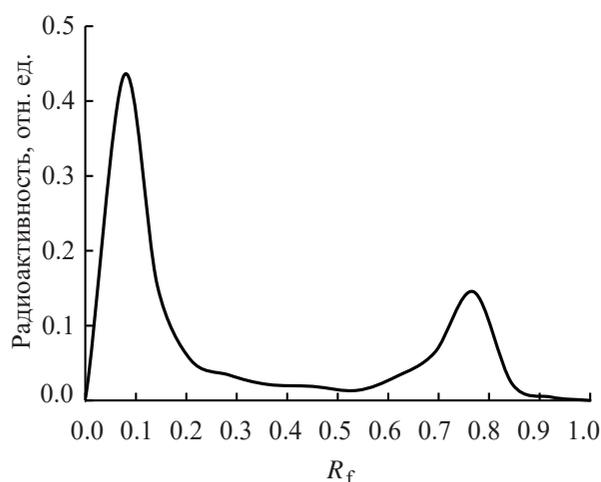


Рис. 1. Распределение радиоактивности по хроматографической пластинке при анализе меченного тритием ванкомицина в системе бутанол–уксусная кислота–вода (3 : 1 : 1). R_f ванкомицина 0.08.

лечение онкологических заболеваний, и на первом месте здесь доксорубин, доза которого существенно снижается при использовании композита с нанодиамазами [5, 15–18]. Другим способом применения нанодиамазов в медицине является включение их в покрытия материалов, используемых для изготовления протезов, в том числе биологических протезов сердечного клапана [19, 20]. В этом случае критически важно антибактериальное действие покрытия, которое снижает риск осложнений в постоперационный период. Ранее мы показывали, что на поверхности нанодиамазов можно адсорбировать вещества, проявляющие антибактериальные свойства, однако механизм сорбции должен быть таков, чтобы образующийся комплекс сохранил антимикробные действия [21]. Было показано, что основным механизмом адсорбции на нанодиамазах является электростатическое взаимодействие сорбент–сорбат с участием связанных с поверхностью нанодиамазов молекул воды. Также необходимо учитывать наличие функциональных заряженных групп на поверхности, что приводит к широкому распределению наночастиц по величине электрокинетического потенциала в водных суспензиях [22, 23].

В данной работе с помощью метода радиоактивных индикаторов исследована адсорбция ванкомицина – антибиотика из группы трициклических гликопептидов, который проявляет активность в отношении грамположительных микроорганизмов, включая золотистый стафилококк – наиболее распространенный возбудитель заболеваний в по-

стоперационный период [24, 25]. Для получения [^3H]ванкомицина впервые использовали метод термической активации. Меченный тритием препарат позволил определить количество ванкомицина, который прочно связывается с поверхностью нанодиамазов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Введение тритиевой метки в ванкомицин. В работе использовали ванкомицин (Sigma–Aldrich). Для приготовления растворов использовали воду, очищенную с помощью системы Milli-Q, MilliPore. На стенки стеклянного реакционного сосуда равномерно наносили 0.6 мл водного раствора ванкомицина с концентрацией 0.083, 0.167, 0.333 и 0.633 г/л и удаляли растворитель лиофилизацией. Реакционный сосуд с мишенью присоединяли к специальной вакуумной установке для работы с газообразным тритием и вакуумировали до остаточного давления 0.01 Па. Стенки реакционного сосуда охлаждали жидким азотом и заполняли систему протий–третиевой смесью. При достижении давления 0.5 Па вольфрамовую спираль, расположенную в центре реакционного сосуда, нагревали электрическим током в течение 10 с до 1820 К. После этого откачивали остаточный газ, размораживали реакционный сосуд и отсоединяли его от установки. Провели 2 серии экспериментов, в которых содержание трития в смеси изотопов водорода составляло 40 и 50%. При нормировании на процентное содержание трития в газе были получены близкие результаты.

Ванкомицин смывали со стенок реакционного сосуда водой двумя порциями по 2 мл, выдерживали раствор 1 сут при 4°C, после чего упаривали досуха с помощью роторного испарителя и снова растворяли ванкомицин в воде. Достаточно было двух процедур для полного удаления трития из лабильных положений молекулы. Затем проводили анализ с помощью тонкослойной хроматографии на пластинках TLC Plates, Silica Gel on Aluminium, 20 X (Aldrich) в системе бутанол–уксусная кислота–вода, соотношение компонентов 3 : 1 : 1 по объему. Положение ванкомицина на пластинке определяли с помощью УФ лампы. Типичное распределение радиоактивности по хроматографической пластинке представлено на рис. 1.

Очистку препарата проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием оборудования Waters (Breeze): хроматографическая колонка Waters Nova-Pak C18 (150 × 3.9 мм), подвижная фаза 0.1%-ная трифто-

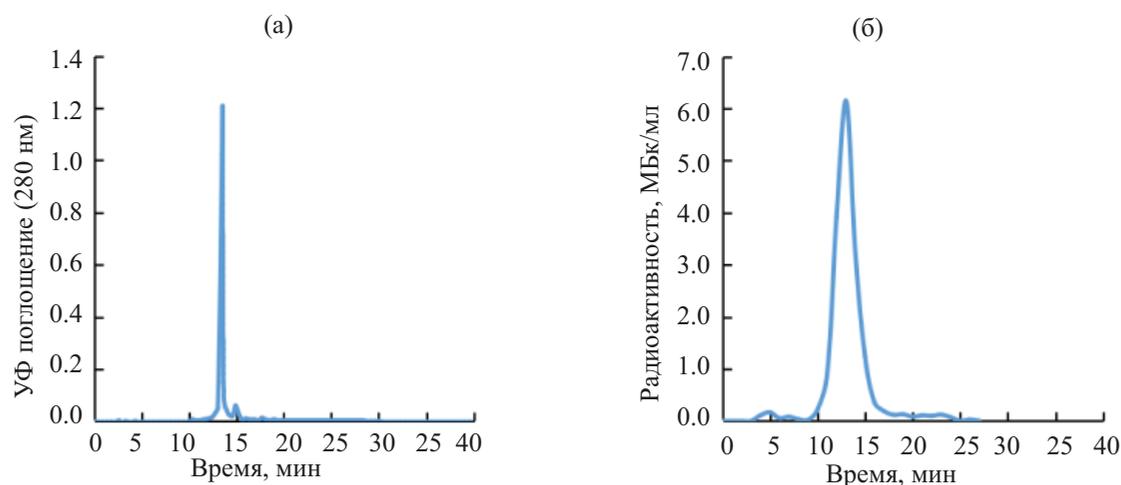


Рис. 2. ВЭЖХ меченного тритием ванкомицина: (а) УФ поглощение при 280 нм, (б) радиоактивность.

руксусная кислота (ТФУ)–0.1%-ная ТФУ в ацетонитриле (линейный градиент от 0 до 80% органической фазы в течение 20 мин, скорость потока 0.5 мл/мин), детектирование при 280 нм, время выхода ванкомицина 13.5 мин (рис. 2). Фракции, содержащие ванкомицин, объединяли, упаривали с помощью роторного испарителя и растворяли вещество в воде.

Для уточнения удельной радиоактивности полученного [^3H]ванкомицина определяли концентрацию растворов с помощью спектрофотометрии. Предварительно получали калибровочную зависимость оптического поглощения при 280 нм от концентрации немеченого ванкомицина, которая была линейной в диапазоне от 13 до 67 мкмоль/л. Радиоактивность растворов на всех стадиях работы измеряли с помощью жидкостного сцинтилляционного спектрометра RackBeta 1215 (LKB, Финляндия).

Для удобства представления данные по радиоактивности меченого ванкомицина пересчитаны на 100% содержания трития в исходной газовой смеси.

Адсорбция ванкомицина на нанодиамазах.

Адсорбцию ванкомицина изучали на нанодиамазах детонационного синтеза (PlasmaChem), которые суспензировали в воде с помощью ультразвуковой ванны Град (Россия). Согласно данным метода динамического рассеяния света, диаметр частиц в суспензии нанодиамазов был около 100 нм.

Растворы [^3H]ванкомицина смешивали с суспензией нанодиамазов до конечного объема 1 мл таким образом, чтобы количество твердой фазы было 1 мг, а концентрацию ванкомицина варьировали от 0.025 до 1 мг/мл, удельная радиоактивность раствора составляла 74 кБк/мл. Эксперимент проводили в воде,

а также в 0.028 М фосфатном буфере при pH 6.7 и 2.7.

Суспензии инкубировали при 25°C в течение 3 сут, затем центрифугировали в течение 15 мин при 12100g и отбирали аликвоту раствора супернатанта (объем аликвоты V_1) в сцинтилляционную жидкость Gold Star (Triskem) для измерения радиоактивности с помощью жидкостной сцинтилляционной спектрометрии. Значение концентрации ванкомицина (c) и его адсорбцию (Γ_1) рассчитывали по уравнениям (1) и (2) соответственно.

$$c = \frac{I_1}{\varepsilon V_1 \cdot \alpha_{\text{уд}}}, \quad (1)$$

$$\Gamma_1 = \frac{(c_0 - c) \cdot V}{m}, \quad (2)$$

где I_1 – скорость счета β -излучения трития с эффективностью регистрации ε , $\alpha_{\text{уд}}$ – удельная радиоактивность ванкомицина, c_0 – начальная концентрация ванкомицина, V – объем суспензии, m – масса нанодиамазов в суспензии.

Осадок нанодиамазов декантировали, дважды промывали водой, затем ресуспензировали в воде и измеряли значение ζ -потенциала с помощью системы Zetasizer Nano (Malvern). Расчёт электрокинетического потенциала проводили с помощью программного обеспечения в комплекте прибора. После измерения нанодиамазы центрифугировали при 12100g в течение 15 мин, отбирали раствор над осадком, осадок нанодиамазов заливали сцинтилляционной жидкостью и измеряли радиоактивность. Значение оставшегося количества ванкомицина (Γ) рассчитывали по уравнению (3).

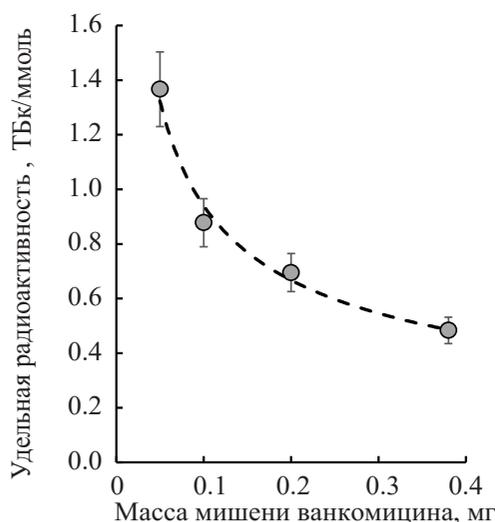


Рис. 3. Зависимость удельной радиоактивности [^3H]ванкомицина от массы препарата, использованного для приготовления мишени.

$$\Gamma = \frac{I}{\varepsilon a_{\text{уд}} \cdot m}, \quad (3)$$

где I – скорость счета наноалмазов.

Анализ распределения форм ванкомицина при разных значениях pH. Потенциометрическое титрование ванкомицина проводили с помощью титратора 848 Titrino plus (Metrohm) гидроксидом натрия, концентрацию которого определяли по стандартному раствору хлорной кислоты. Титрование проводили в диапазоне pH от 2.7 до 11 добавкой раствора NaOH (0.0775 M) порциями по 30 мкл к 15 мл 0.2 ммоль/л раствора ванкомицина в 0.9%-ном хлориде натрия. Кривую титрования описывали с помощью программы SurTitor с использованием констант протонирования групп ванкомицина, приведенных в работе [24].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Получение меченого тритием ванкомицина.

Так как ванкомицин представляет собой циклический пептид, содержащий в своем составе также глюкозу и оксibenзойную кислоту, для введения трития методом термической активации использовали результаты оптимизации условий, отработанных на аминокислотах и сахарах [26–29]. Реакцию проводят при низком давлении газа, когда обеспечивается пролет «горячих» атомов трития от атомизатора до мишени, охлажденной до 77 К. При температуре атомизатора 1800–1850 К за 10 с достигается достаточно высокая радиоактивность меченого материнского соединения в тонком поверхностном

слое, а количество побочных продуктов минимально [30]. Применение таких условий к ванкомицину обеспечило эффективное использование трития: доля трития в лабильных положениях составила около 50%, а радиоактивность побочных продуктов реакции после удаления лабильной метки была в диапазоне от 34 до 55%.

Так как в этих условиях тритий включается преимущественно в поверхностный слой молекул, удельная радиоактивность меченого материнского соединения должна возрастать при уменьшении массы мишени. На величину общей и удельной радиоактивности меченого соединения влияет как химический состав соединения, так и плотность упаковки молекул в мишени [31]. Из серии экспериментов с мишенями разной массы (средняя толщина слоя вещества на стенках реакционного сосуда от 2.5 до 19 мг/м²) было найдено, что максимальная величина удельной активности [^3H]ванкомицина в указанных условиях достигает 1.37 ТБк/ммоль и снижается до 0.48 ТБк/ммоль при увеличении массы мишени до 0.38 мг (рис. 3). Наибольшая величина удельной радиоактивности была получена при массе мишени 0.05 мг, при этом произошло уменьшение химического выхода [^3H]ванкомицина до 48%, а доля радиоактивности в побочных продуктах возросла до 55%.

Предприняли попытку увеличить удельную активность препарата, используя сосуд с шероховатыми стенками, удельная поверхность которых примерно в 2 раза больше гладких. Однако в таком сосуде удельная активность [^3H]ванкомицина при массе мишени 0.1 мг, наоборот снизилась с 0.88 (гладкие стенки) до 0.46 ТБк/ммоль (шероховатые стенки). Вероятно, это связано с тем, что межмолекулярные взаимодействия в ванкомицине предпочтительнее, чем взаимодействие ванкомицин–стекло. В результате молекулы ванкомицина не создают равномерную пленку на поверхности стекла при подготовке мишени, а образуют агрегаты. На шероховатых стенках сосуда такие агрегаты прежде всего заполняют «углубления», и доступная атомам трития поверхность вещества становится меньше, чем для гладких стенок. Для гладких стенок реактора уменьшение массы мишени ниже 0.05 мг при геометрической площади стенок 200 см² представляется также нецелесообразным, так как будет невозможно обеспечить равномерное покрытие поверхности сосуда веществом.

Если при использовании меченого ванкомицина не требуется предельно высокая удельная радиоактивность, то можно использовать мишень с массой

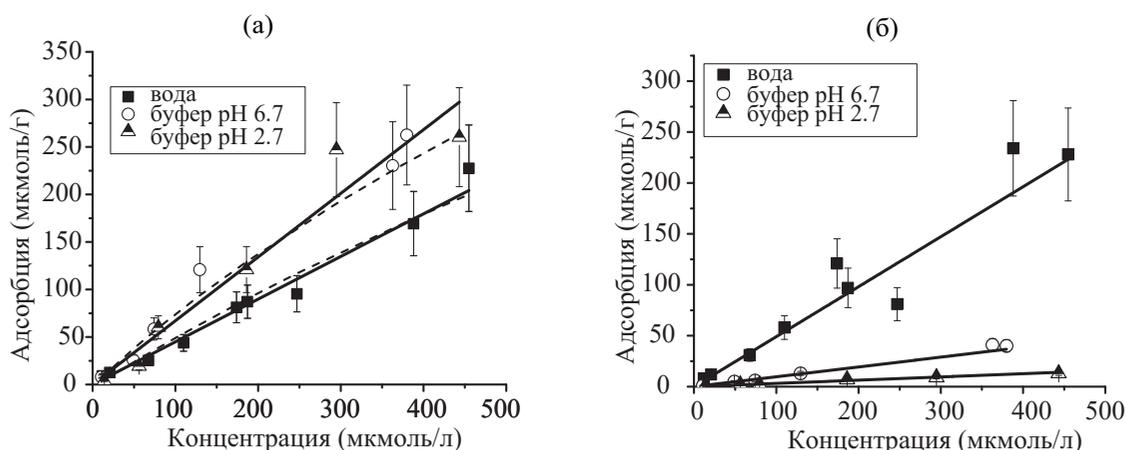


Рис. 4. Изотермы равновесной адсорбции ванкомицина на наноалмазах (а) и остаточного количества после отмывки водой (б). Адсорбцию ванкомицина проводили из воды и фосфатного буфера рН 6.7 и 2.7. Линиями показаны результаты расчета по модели Дубинина–Радушкевича (пунктир) и по линейной модели (сплошная линия) (см. текст).

от 0.2 до 0.4 мг, и тогда будет достигаться высокая общая активность препарата. При массе мишени 0.38 мг общая активность [^3H]ванкомицина составила 110 ГБк (3.0 мКи), а удельная радиоактивность – 0.48 ТБк/ммоль. При массе мишени 0.05 мг общая активность [^3H]ванкомицина уменьшилась до 23 ГБк (0.6 мКи), но была получена максимальная удельная радиоактивность 1.37 ТБк/ммоль, которая нужна для проведения ряда исследований, например, при радиолуминесцентной визуализации высвобождения лекарственного средства [32].

Адсорбция ванкомицина на наноалмазах. На рис. 4, а показана адсорбция ванкомицина на наноалмазах из воды и фосфатного буфера, которую определили по изменению концентрации раствора. На рис. 4, б представлены данные по зависимости количества ванкомицина, остающегося в составе комплекса с наноалмазами после промывки водой, от концентрации адсорбционного раствора перед отмывкой. Оказалось, что равновесная адсорбция ванкомицина при адсорбции из буфера при двух значениях рН была выше примерно в полтора раза, чем из воды. Однако адсорбция ванкомицина из воды была практически необратимой и не изменялась в процессе отмывки. В то же время при адсорбции из буферного раствора наблюдалось существенное уменьшение содержания ванкомицина при отмывке водой (рис. 4, б): для буфера рН 2.7 адсорбция снижалась в 22 раза, а для буфера рН 6.7 – в 7 раз.

Такое различие может быть связано с различием в механизмах адсорбции. Как равновесная изотерма, так и зависимость необратимой адсорбции от концентрации насыщающего раствора достаточно

хорошо описываются линейным уравнением, аналогичным уравнению Генри. Коэффициенты уравнения приведены в табл. 1. Кроме того, изотермы равновесной адсорбции описали с помощью модели Дубинина–Радушкевича (уравнения (4)–(6)).

$$\Gamma = \Gamma_{\text{макс}} e^{-\beta \epsilon^2}, \quad (4)$$

$$E = (2\beta)^{-1/2}, \quad (5)$$

$$\epsilon = RT \ln(1 + 1/c). \quad (6)$$

Здесь $\Gamma_{\text{макс}}$ – значение максимальной адсорбции, β – константа в уравнении Дубинина–Радушкевича, связанная с энергией адсорбции согласно уравнению (5), ϵ – потенциал Поляни, отражающий изотермическую работу переноса моля вещества из раствора к поверхности сорбента, который рассчитывается по уравнению (6). Подбор параметров проводили методом наименьших квадратов. Значения параметров уравнения Дубинина–Радушкевича также приведены в табл. 1. Поскольку полученные значения свободной энергии (E) (уравнение (5)) ниже 8 кДж/моль, то можно предположить физический характер адсорбции ванкомицина на наноалмазах как из воды, так и из фосфатного буфера.

Для определения форм существования ванкомицина в воде при разных значениях рН провели его потенциометрическое титрование. Распределение форм ванкомицина показано на рис. 5. При расчете использовали константы протонирования шести групп в составе ванкомицина (одна карбоксильная, три фенольные, две аминогруппы), приведенные в работе [24]. Значения рК этих групп в составе молекулы ванкомицина указаны на рис. 5 слева.

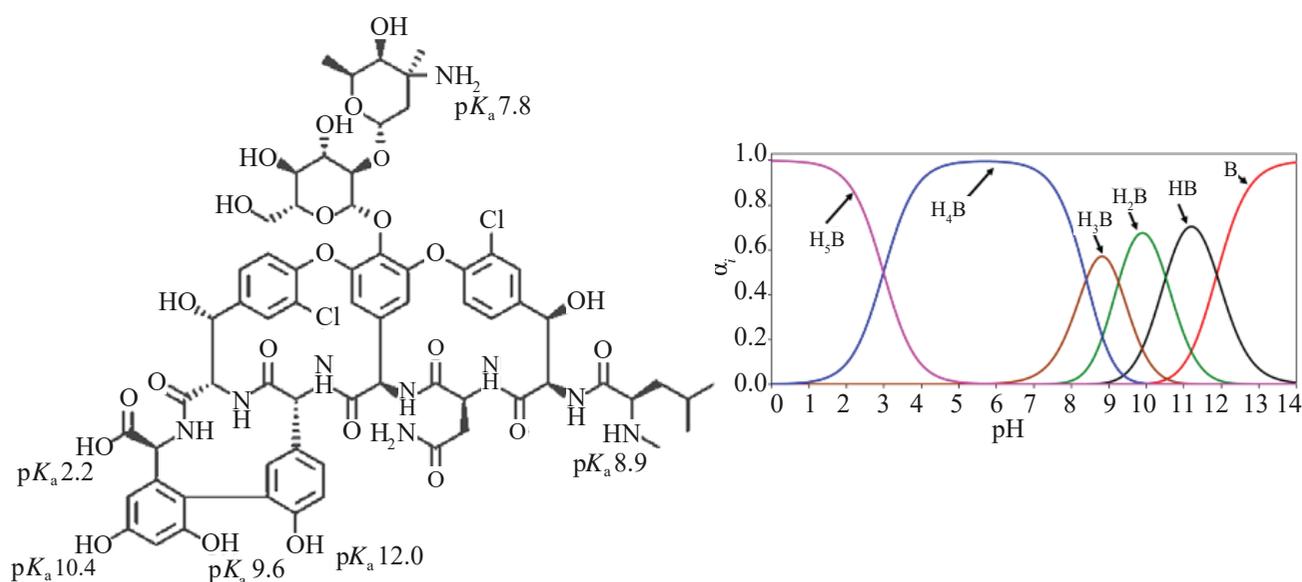


Рис. 5. Распределение форм ванкомицина при разных значениях pH.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что при исследуемых значениях pH у ванкомицина депротонирована карбоксильная группа, остальные группы не несут заряда.

Для наноалмазов и комплексов наноалмазов с ванкомицином определили электрокинетический потенциал. Для суспензии наноалмазов в воде при pH 6.5 электрокинетический потенциал составлял 25 мВ и не изменялся после адсорбции ванкомицина. Приготовление суспензии наноалмазов в фосфатном буфере приводило к снижению электрокинетического потенциала до 5 и 14 мВ при pH 6.7 и 2.7. Снижение электрокинетического потенциала связано с тем, что поверхность наночастиц покрывали

фосфатные группы, входящие в состав буфера. В результате снижалась агрегативная устойчивость наночастиц, но одновременно повышалась адсорбция ванкомицина за счет взаимодействия аминогрупп с фосфатными группами [33]. Однако при промывке водой фосфатные группы удалялись с поверхности наноалмазов вместе с молекулами ванкомицина, и только небольшая часть ванкомицина оставалась в составе комплекса.

Для объяснения прочного удержания ванкомицина в составе адсорбционного комплекса, полученного из воды, необходимо учесть возможность образования водородных связей с группами, входящими в состав ванкомицина. Можно предпо-

Таблица 1. Константы уравнений Дубинина–Радускевича и линейной модели при описании изотерм адсорбции ванкомицина на наноалмазах

Условия адсорбции (25°C)	Модель Дубинина–Радускевича (равновесная адсорбция)				Линейная модель (равновесная адсорбция ванкомицина)		Линейная модель (остаточное количество ванкомицина)	
	$\Gamma_{\text{макс}}$, ммоль/г	β , моль ² /кДж ²	E , кДж/моль	r	K	r	K	r
Вода	5.2	0.0090	7.47	0.925	0.45 ± 0.02	0.981	0.45 ± 0.01	0.973
буфер pH 6.7	6.2	0.0086	7.63	0.939	0.67 ± 0.03	0.989	0.10 ± 0.01	0.994
буфер pH 2.7							0.030 ± 0.001	0.964

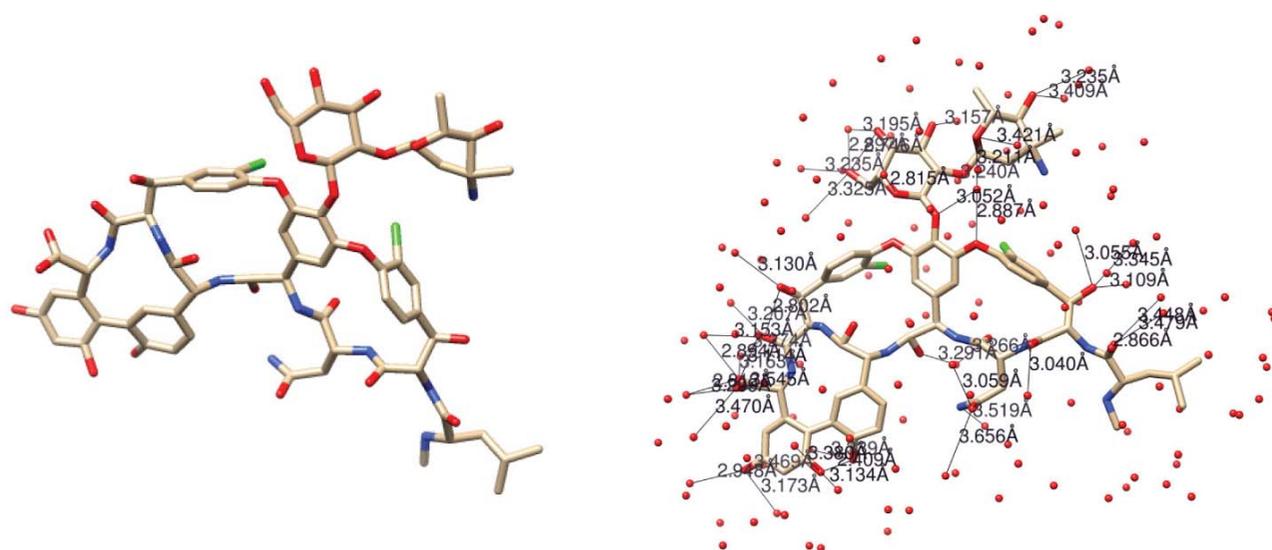


Рис. 6. Структура ванкомицина в воде (слева) с указанием водородных связей с молекулами воды (справа).

ложить, что адсорбция ванкомицина происходит посредством образования водородных связей с молекулами воды на поверхности наноалмазов. Провели оптимизацию структуры ванкомицина в окружении молекул воды (рис. 6). Оптимизацию структуры проводили в условиях периодического ящика $49.16374 \times 49.16374 \times 49.16374 \text{ \AA}$ с максимальным количеством молекул воды 3925 и минимальным расстоянием между растворителем и оптимизируемой молекулой 2.3 \AA , расчёт проводили, пока градиент не становился меньше 0.01.

Показано, что ОН-группы ванкомицина способны образовывать водородные связи с молекулами воды, длина которых от 2.8 до 3.6 \AA . При этом молекула ванкомицина сохраняет структуру и, поскольку на поверхности наноалмазов обязательно присутствует адсорбированная вода, то можно предположить, что ванкомицин адсорбируется на поверхности наноалмазов за счет образования таких водородных связей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен способ введения трития в ванкомицин с помощью метода термической активации. Найдены условия получения $[^3\text{H}]$ ванкомицина с удельной радиоактивностью 1.4 ТБк/ммоль. Показано, что увеличение выхода и радиоактивности меченого соединений происходит при увеличении массы мишени, однако удельная активность снижается до 0.5 ТБк/ммоль. Меченый ванкомицин позволил определить его адсорбцию на наноалмазах в диапазоне равновесных концентраций от 10 до

450 мкМ. Показано, что равновесная величина адсорбции и остаточное количество ванкомицина на поверхности наноалмазов после промывки водой зависят от присутствия фосфат-ионов в растворе. Прочность адсорбционного комплекса ванкомицина с наноалмазом при адсорбции из воды объясняется образованием множественных водородных связей.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность к.ф.-м.н. Чащину И.С. (ИНЭОС РАН) за предоставление препарата ванкомицина и к.х.н. Егоровой Б.В. (химический факультет МГУ) за помощь в проведении потенциометрического титрования ванкомицина.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 22-23-00019.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие конфликтов интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *van der Laan K., Hasani M., Zheng T., Schirhagl R. // Small. 2018. Vol. 14. Article 1703838.*
2. *El-Say K.M., Mohamed E.-S.K., El-Say K.M. // J. Appl. Pharm. Sci. 2011. Vol. 1. P. 29–39.*

3. Долматов В.Ю. // Успехи химии. 2001. Т. 70. С. 687–708.
4. Долматов В.Ю., Озерин А.Н., Кулакова И.И., Бочечка А.А., Лапчук Н.М., Мюллюмаки В., Веханен А. // Успехи химии. 2020. Т. 89. С. 1428–1462.
5. *Vaijayanthimala V., Lee D.K., Kim S.V., Yen A., Tsai N., Ho D., Chang H.-C.C., Shenderova O.* // *Expert Opin. Drug Deliv.* 2015. Vol. 12. P. 735–749.
6. *Guan B., Zou F., Zhi J.* // *Small.* 2010. Vol. 6. P. 1514–1519.
7. *Zhang X.-Q., Lam R., Xu X., Chow E.K., Kim H.-J., Ho D.* // *Adv. Mater.* 2011. Vol. 23. P. 4770–4775.
8. *Chauhan S., Jain N., Nagaich U.* // *J. Pharm. Anal.* 2020. Vol. 10. P. 1–12.
9. *Mengesha A.E., Youan B.-B.C.* *Nanodiamonds for drug delivery systems // Diamond-Based Materials for Biomedical Applications.* Elsevier, 2013. P. 186–205.
10. *Osawa E., Ho D.* // *J. Med. Allied Sci.* 2012. Vol. 2. P. 31–40.
11. Бадун Г.А., Мясников И.Ю., Казаков А.Г., Федорова Н.В., Чернышева М.Г. // *Радиохимия.* 2019. Т. 61. С. 168–73.
12. *Chernysheva M.G., Myasnikov I.Y., Badun G.A.* // *Diam. Relat. Mater.* 2015. Vol. 55. P. 45–51.
13. *Chernysheva M.G., Myasnikov I.Y., Badun G.A.* // *Mendeleev Commun.* 2012. Vol. 22. P. 290–291.
14. Чернышева М.Г., Бадун Г.А., Синолиц А.В., Егоров А.В., Егорова Т.Б., Попов А.Г., Ксенофонтов А.Л. // *Радиохимия.* 2021. Т. 63. С. 185–192.
15. *Li X., Shao J., Qin Y., Shao C., Zheng T., Ye L.* // *J. Mater. Chem.* 2011. Vol. 21. P. 7966–7973.
16. *Salaam A.D., Hwang P.T.J., Poonawalla A., Green H.N., Jun H.W., Dean D.* // *Nanotechnology.* 2014. Vol. 25. Article 425103.
17. *Xi G., Robinson E., Mania-Farnell B., Vanin E.F., Shim K.W., Takao T., Allender E.V., Mayanil C.S., Soares M.B., Ho D., Tomita T.* // *Biol. Med.* 2014. Vol. 10. P. 381–391.
18. *Mochalin V.N., Pentecost A., Li X.-M., Neitzel I., Nelson M., Wei C., He T., Guo F., Gogotsi Y.* // *Platform Mol. Pharm.* 2013. Vol. 10. P. 3728–3735.
19. *Chernysheva M.G., Chaschin I.S., Sinolits A.V., Vasil'ev V.G., Popov A.G., Badun G.A., Bakuleva N.P.* // *Fullerenes, Nanotub. Carbon Nanostruct.* 2020. Vol. 28. P. 256–261.
20. *Chernysheva M.G., Chaschin I.S., Badun G.A., Vasil'ev V.G., Mikheev I.V., Shen T., Sinolits M.A., Bakuleva N.P.* // *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 2023. Vol. 656. Article 130373.
21. *Chernysheva M.G., Melik-Nubarov N.S., Grozdova I.D., Myasnikov I.Y., Tashlitsky V.N., Badun G.A.* // *Mendeleev Commun.* 2017. Vol. 27. P. 421–423.
22. *Shen T., Chernysheva M.G., Badun G.A., Popov A.G., Egorov A.V., Anuchina N.M., Chaschin I.S., Bakuleva N.P.* // *Colloids Interfaces.* 2022. Vol. 6. P. 35–48.
23. *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.* // *Fullerenes, Nanotub. Carbon Nanostruct.* 2020. Vol. 28. P. 361–367.
24. *Jia Z., O'Mara M.L., Zuegg J., Cooper M.A., Mark A.E.* // *FEBS J.* 2013. Vol. 280. P. 1294–1307.
25. *Cong Y., Yang S., Rao X.* // *J. Adv. Res.* 2020. Vol. 21. P. 169–176.
26. Бадун Г.А., Лукашина Е.В. Ксенофонтов А.Л., Федосеев В.М. // *Радиохимия.* 2001. Т. 43. С. 272–276.
27. Бадун Г.А., Ксенофонтов А.Л., Лукашина Е.В., Позднякова В.Ю., Федосеев В.М. // *Радиохимия.* 2005. Т. 47. С. 281–283.
28. Сидоров Г.В., Бадун Г.А., Баитова Е.А., Баитов А.А., Платошина А.М., Мясоедов Н.Ф., Федосеев В.М. // *Радиохимия.* 2005. Т. 47. С. 284–288.
29. Чернышева М.Г., Бадун Г.А., Тясто З.А., Позднякова В.Ю., Федосеев В.М., Ксенофонтов А.Л. // *Радиохимия.* 2007. Т. 49. С. 166–169.
30. Бадун Г.А., Чернышева М.Г. // *Радиохимия.* 2023. Т. 65. С. 158–171.
31. Бадун Г.А., Федосеев В.М. // *Радиохимия.* 2001. Т. 43. С. 267–271.
32. *Schober G.B., Anker J.N.* // *Adv. Funct. Mater.* 2022. Vol. 32. Article 2106508.
33. *Carmona P., Rodriguez M.L.* // *J. Mol. Struct.* 1986. Vol. 143. P. 365–368.

Tritium Labeling Vancomycin and Studying its Adsorption on Nanodiamonds

Shen T., Chernysheva M. G. and Badun G. A.

*Dpt. Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia
chernyshevamg@my.msu.ru*

Received August 16, 2023; revised November 16, 2023; accepted November 17, 2023

Procedure of tritium labeling vancomycin using tritium thermal activation method has been developed. The influence of target mass on the specific and total radioactivity was revealed. [^3H]vancomycin was used for studying its equilibrium adsorption on nanodiamonds as well as its number that tightly bonded with surface and didn't remove with water. It was found that adsorption from aqueous solution results in tightly bonded vancomycin with nanodiamonds that didn't removed with water. Application of 0.028 M phosphate buffer (pH 6.7 and 2.7) leads to the equilibrium adsorption growth as much as one and a half times, while vancomycin number in the adsorption complex with nanodiamonds after washing with water was significantly reduced. Such behavior of vancomycin is due to the presence of phosphate-ions that contribute to vancomycin adsorption, but are removed during washing with water. Molecular mechanics simulation allows us to suggest the formation of multiple hydrogen bonds for formation of a durable adsorption complex of vancomycin with nanodiamonds.